

자동산화에 의한 Phytofluene으로부터 산화개열산물의 생성

김 선 재

목포대학교 식품산업기술연구센터

Formation of Oxidative Cleavage from Phytofluene by Autoxidation

Seon-Jae Kim

Food Industrial Technology Research Center, Mokpo National University,
Chonnam 534-729, Korea

Abstract

Phytofluene was subjected to ozonolysis in ice-cold dichloromethane. The ozonolysis products were fractionated with a silica column and the carbonyl fraction was analyzed by ODS-HPLC with a photodiode array detector. Phytofluene was solubilized in 5% tween 40, and then oxidized by incubating under dim yellow light at 37°C, 24 hr with continuous shaking. Carbonyl compound and acidic compound were produced. In comparison with autoxidation and ozonolysis, each compound showed the same retention time and UV-vis spectra were identical to the reference cleavage products prepared by ozonolysis of phytofluene. Absorption spectrum of acidic compound was similar to that of standard 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid which is known to possess biological activity. Thus, eccentric cleavage of phytofluene was confirmed to occur *in vitro* under oxidation condition.

Key words: phytofluene, ozonolysis, autoxidation, oxidative cleavage

서 론

토마토에 함유된 색소의 조성은 품종 및 계통에 따라 다르지만, lycopene을 중심으로 lutein, lycopene-5,6-epoxide, neurosporene, ζ -carotene, β -carotene, phytofluene 그리고 phytoene 등의 carotenoids가 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다(1,2). Paetau 등(3)은 토마토 주스의 경우 carotenoids 색소의 조성은 lycopene이 75%, phytofluene과 phytoene이 각각 5~6%, lutein과 β -carotene이 각각 2% 내외, cyclolycopene과 ζ -carotene이 각각 0.5% 정도 함유되어 있다고 보고하였으며, 토마토 주스를 사람이 섭취한 후 이들이 인체에 흡수되어 혈장에 존재하는 비율은 lycopene을 비롯한 다른 토마토 carotenoids의 함량은 거의 같은 수준으로 존재하였지만 phytofluene은 lycopene 함량보다 약 3배 정도 높게 존재되어 있음을 확인하였다. 이러한 보고는 생체내에서 phytofluene이 어떤 생리활성을 나타낼 가능성이 시사되고 있지만, 아직 그와 관련된 연구는 미미한 실정이다. Phytofluene(7,8,11,12,7,8'-hexahydro- ϕ , ϕ -carotene)은 탄화수소(C₄₀H₅₆), 비환식 carotenoid이다. 그리고 lycopene 생합성의 중간 대사산물로 lycopene의 구조에 비해 이중결합이 3개 부족한 구조로 되어 있다(4).

Carotenoids의 생리활성으로 유력한 것은 provitamin

A의 활성이 있지만 non-provitamin A인 lycopene은 암, 동맥경화, 당뇨병 등의 질병을 일으키거나 노화촉진 원인 물질 가운데 한가지로 알려진 활성산소 소거능이 가장 강하게 나타났다는 보고(5)와 HL-60 세포(전골수성 백혈병 세포)의 성장억제 그리고 자궁암, 유방암, 폐암의 세포의 성장억제 작용(6)을 하는 것으로 보고되고 있다. 그리고 토마토를 소재로 한 식품이 전립선암 생성의 억제에 영향을 미친다는 보고가 있는데 이는 토마토 중에 함유되어 있는 lycopene에 기인한 것으로 보고되고 있다(7). 또한 zeaxanthin 및 lutein이 노인성 망막 황반 변성증(age-related macular degeneration: AMD)의 발증을 유의적으로 억제한다는 등의 연구(8,9)가 활발히 이루어져 토마토 carotenoids에 대해 관심이 집중되고 있다.

한편 최근의 연구동향은 천연색소 및 그 대사산물, 비타민류, 미네랄, polyphenol, ion화합물, terpenoid, alkaloid 등 비영양소에 속한 식품성분들이 가지고 있는 생리기능, 특히 암 및 노화를 일으키는 질병의 예방이라고 하는 관점의 중요성이 인식되고 있으며(10), 식품성분 전체를 가지고 식품인자(food factor)라는 개념을 도입하여 산화스트레스가 다중다양한 질병의 발증에 큰 관계가 있다는 것에 주목하여 연구가 진행되고 있다(11).

이와 같은 배경을 토대로 실행한 연구 중에서 최근 Araki 등(12) 및 Shidoji와 Muto(13)가 비환식 retinoid가 발암억

제 작용에 대해 보고한 바에 의하면 비환식화합물이 retinoid receptor의 ligand로 작용하는 것으로 밝혀졌으며 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid, geranyl geranyl acid가 all-trans retinoic acid와 동일한 생리활성을 나타내었으며 특히 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid는 간암 유래의 세포주에 대하여 현저한 세포독성작용을 나타냈다고 한다.

본 연구에서는 토마토 carotenoids의 대사산물 중 비환식 retinoid인 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid의 생성이 가능한 phytofluene을 대상으로 자동산화를 통해 생성된 산화개열산물의 거동 및 특성 등을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

Phytofluene은 순도 99.5% 이상의 것을, 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid는 순도 99.7%의 표준품을 사용하였다. Tween 40은 Sigma Chemical사(St. Louis, MO, USA)에서, α -tocopherol은 Wako사(Tokyo, Japan)의 것을 구입하여 사용하였다.

Phytofluene의 산화개열산물 표준품의 조제

Phytofluene의 산화개열산물의 표준품을 얻기 위하여 phytofluene을 dry ice 상에서 오존반응시켜 산화개열산물을 얻었다. 오존은 8W UV lamp가 장착된 오존발생기(Matsui MO-5A, Matsui Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 260 mL/min의 속도로 발생시켰다. Phytofluene(1.0 mM)을 dichloromethane에 용해시킨 후 phytofluene 농도가 감소되는 경향과 산화개열산물의 생성 경향을 HPLC로 관찰하면서 오존을 반응시켰다. 반응용액은 회전감압농축기로 농축하고 질소로 완전히 용매를 휘발시킨 후 silica gel column(Kieselgel, 30~70 mesh, bed volume 80 mL, Merck, Darmstadt, Germany) chromatography를 행하였다. Silica gel column chromatography는 시료를 hexane-ethylacetate(99:1, v/v)로 용해한 후 column에 주입하고 400 mL를 용출하였다. 이어 hexane-ethylacetate(95:5, v/v) 600 mL로 용출하여 이 획분을 오존에 의한 산화개열산물 획분으로 하였다. 얻어진 각각의 산화개열산물은 ODS-HPLC를 통하여 각각의 peak를 분취한 후 용출용매를 완전히 휘발시키고 ampule에 분말상으로 -80°C에서 보관하고 phytofluene의 산화개열산물의 표준품으로 하였다.

Phytofluene의 자동산화

Phytofluene의 자동산화는 Kim 등의 방법(14)에 따라 5% Tween 40의 acetone 용액 1 mL와 dichloromethane에 용해된 phytofluene(50 nmol)을 시험관에 넣어 혼합

하고 질소 gas로 휘발시켰다. 용매가 완전히 제거된 고형물에 대해 초순수 1 mL로 용해하였다. Phytofluene이 함유된 Tween 40 수용액은 황색등하에서 37°C, 24시간 진탕시키면서 자동산화시켰다. 자동산화 반응액에 0.02% α -tocopherol 1 mL를 첨가하여 반응을 정지시키고 추출 및 분석할 때까지 -80°C에서 보관하였다.

산화개열산물의 추출

Tween 40 수용액 내에서 자동산화에 의해 phytofluene으로부터 생성되는 산화개열산물은 Kim 등의 방법(15)에 따라 carbonyl 화합물과 acidic 화합물로 나누어 추출하였다.

Phytofluene의 자동산화에 의해 생성된 carbonyl 화합물의 추출을 위해 자동산화 반응액 1 mL에 대하여 hexane 2 mL로 3번 추출하였다. 모아진 hexane 층을 회전감압농축기를 이용하여 농축하고 질소 gas로 완전히 휘발시켰다. 용매가 완전히 제거된 고형물을 hexane-ethylacetate(99:1, v/v) 300 μ L로 용해하고 Bond Elut solid phase cartridge(SI 100 mg, Varian, Harbor, USA)에 주입하였다. 시료가 주입된 cartridge에 hexane-ethylacetate(99:1, v/v) 1 mL로 용출하고 이어 hexane:ethylacetate(95:5, v/v) 3 mL로 용출한 후 이 획분을 carbonyl 화합물 획분으로 하고 용출액을 농축한 다음 acetonitrile 200 μ L로 용해하여 그 중 100 μ L를 HPLC 분석을 위해 사용하였다.

Phytofluene의 자동산화에 의해 생성된 acidic 화합물의 추출을 위해 phytofluene의 자동산화 반응액 1 mL에 대해 회전감압농축기를 이용하여 농축하고 질소 gas로 완전히 휘발시킨 후 ethanol 1 mL로 용해하고 이어 0.1 N NaOH 1 mL를 첨가하였다. 이 혼합물에 대해 hexane 2 mL로 3번 세척하고 얻어진 수용액층에 대해 6 N HCl 30 μ L로 산성화시키고 hexane 2 mL로 3번 추출하여 acidic 화합물 획분으로 하여 농축하였다. 이어 혼합물의 용매를 질소 gas로 완전히 휘발시키고 200 μ L의 0.1% acetic acid 함유 acetonitrile-methanol-water(70:20:10, v/v/v)로 용해한 후 이 중 100 μ L를 HPLC분석에 사용하였다.

HPLC 분석

Phytofluene 및 그 산화개열산물의 HPLC의 분석 column은 precolumn인 Pelliguard LC-18(2×20 mm, Tosoh, Co., Tokyo, Japan)이 장착된 TSK-GEL ODS 80Ts(4.6×250 mm, Tosoh, Co.)를 사용하였으며 검출기는 MCPD-3600 photodiode array detector(Otsuka Electronics Co. Ltd., Osaka, Japan), 유속은 1.0 mL/min의 조건으로 하였다.

Phytofluene로부터 생성된 산화개열산물 중 carbonyl

화합물의 분석을 위한 용출용매는 0.1% ammonium acetate 함유 acetonitrile-methanol-water(75:15:10, v/v/v)와 0.1% ammonium acetate 함유 methanol-ethylacetate (70:30, v/v)의 두 용매를 10분간 linear gradient시켜 분석하였다. 그리고 acidic 화합물의 분석을 위한 용출용매는 0.1% acetic acid 함유 acetonitrile-methanol-water (70:20:10, v/v/v)로 하였다.

결과 및 고찰

Phytofluene의 오존반응 시간 결정

Phytofluene의 오존반응에 따른 산화개열산물의 생성의 경향을 관찰하고 오존반응시간을 결정하기 위해 경시적으로 Tween 40 수용액 1 mL 중 5 µL를 취하여 HPLC 분석을 행하였다. Phytofluene은 오존반응 시간 25분 부근에서 그 함량이 약 20%정도까지 감소하였으며 이 때 오존반응을 정지하였다. 오존은 phytofluene의 이중결합 부분을 무작위로 산화시키는 것으로 생각되며 HPLC상에서 다수의 산화개열산물의 생성이 관찰되었는데 그 중 중앙개열산물의 함량이 가장 높게 생성된다고 판단되는 시점에서 오존반응을 중지하였다(Fig. 1).

산화개열산물의 HPLC상의 거동 및 분광학적 특성

Phytofluene을 dichloromethane에 용해시키고 ozonolysis를 행한 후 얻어진 산화개열산물에 대하여 HPLC를 행한 결과, Fig. 2에 나타난 것처럼 산화개열산물이 다수 생성되었으며 그 중 6개의 peak를 phytofluene의 carbonyl계 산화개열산물로 인정하였다. 본 실험조건에서의 용출시간은 peak 1은 6.68분, peak 2는 8.15분, peak 3은 9.12분, peak 4는 9.73분 그리고 peak 5는 11.61분 peak 6은 12.02분으로 나타났다. 용출시간 26.12분에 나타나는 peak(화살표)는 phytofluene의 peak이며, phytofluene의

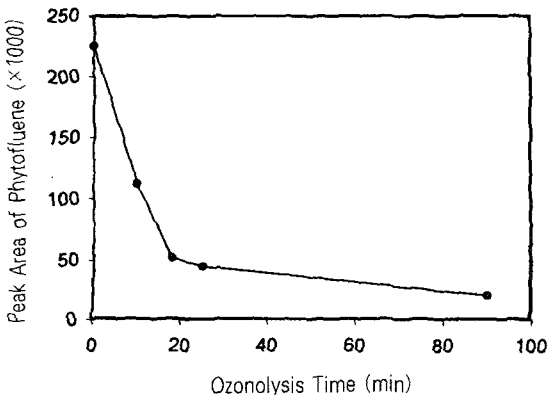


Fig. 1. Degradation of phytofluene in dichloromethane by ozonolysis.

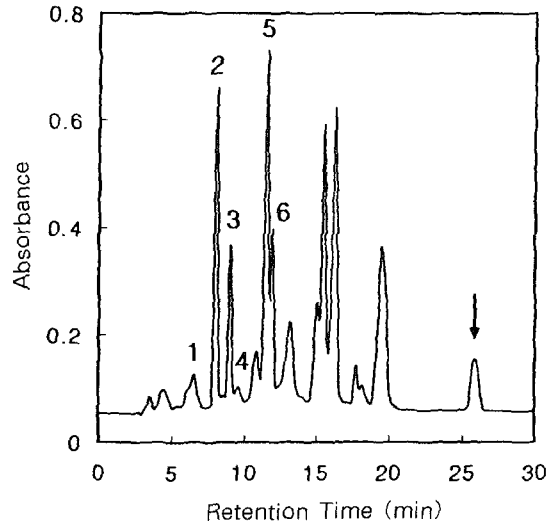


Fig. 2. The formation of cleavage products of phytofluene in dichloromethane by ozonolysis.

The compounds were separated by HPLC on a TSK-GEL ODS 80Ts, 4.6×250 mm, with a linear gradient for 10 min of acetonitrile-methanol-water (75/15/10, v/v/v) containing 0.1% ammonium acetate to methanol-ethylacetate (70/30, v/v) containing 0.1% ammonium acetate at a flow rate of 1 mL/min and measured by use of a photodiode array detector.

분광학적인 특징은 Fig. 3에 나타난 것처럼 350 nm에서 최대흡수극대를 나타냈다. 또한 각각의 peak에 대하여 photo diode array detector를 이용하여 분광학적 특성을 조사한 결과 Fig. 4에 나타난 것과 같이 peak 1은 290 nm, peak 2는 335 nm, peak 3은 365 nm, peak 4는 290 nm, peak 5는 335 nm 그리고 peak 6은 365 nm에서 최대흡수 극대를 나타내어 다양한 흡수극대를 나타내고 있음을 알 수 있었다.

Phytofluene과 ζ -carotene의 중앙개열산물은 3,7,11,

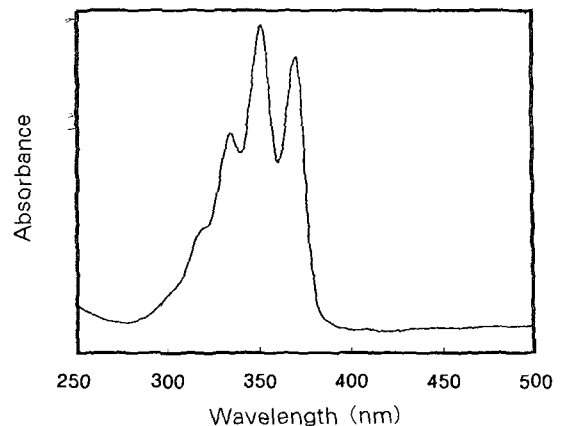


Fig. 3. The UV-vis spectrum of the phytofluene. The spectrum of peak corresponding to phytofluene was measured with photodiode array detector.

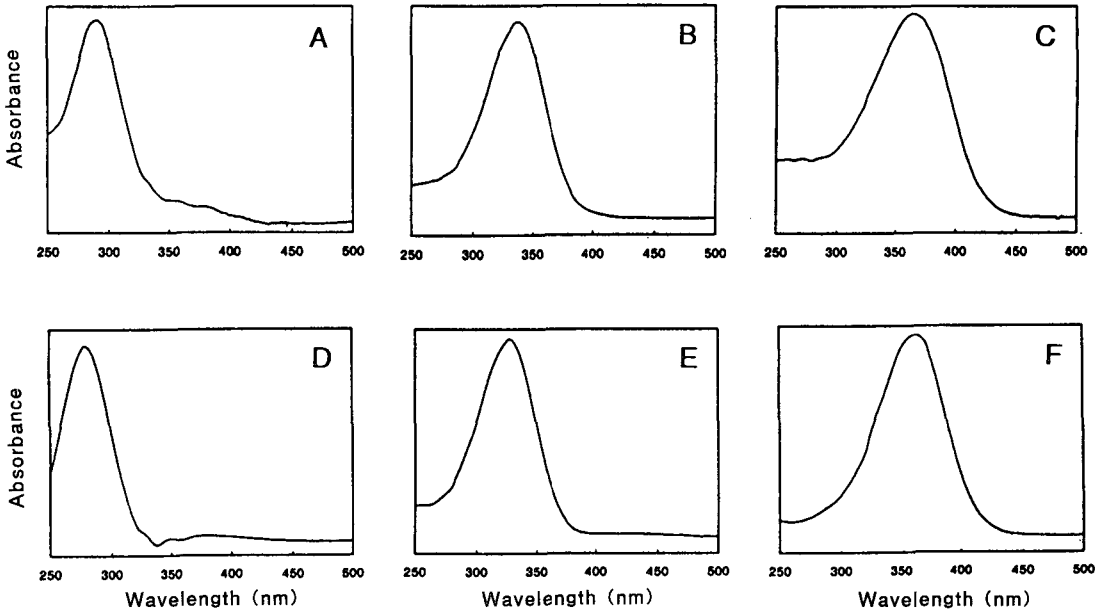


Fig. 4. The UV-vis spectra of cleavage products formed from phytofluene by ozonolysis. λ -max : peak 1, 290 nm (A); peak 2, 335 nm (B); peak 3, 365 nm (C); peak 4, 290 nm (D); peak 5, 335 nm (E); peak 6, 365 nm (F).

15-tetramethylhexadeca-2,4,6,10,14-pentaenal인 구조(16)로 되어 있으며 이 화합물의 분광학적 특성은 최대흡수극대가 335 nm로 나타내었는데 phytofluene의 산화개열산물 중 peak 2는 335 nm에서 최대흡수극대를 나타내어 이것은 phytofluene의 중앙개열산물인 것으로 생각되었다. 또한 HPLC 상에서 peak 6 이후의 peak들은 다양한 흡수극대를 갖는 화합물이 존재함이 관찰되었으며 lycopene을 ozonolysis 그리고 자동산화에 의하여 얻은 산화개열산물 중 HPLC chromatogram의 후미에 epoxide 화합물이 다수 존재한다는 보고(14,15)가 있는데 본 결과에서의 peak 6 이후의 peak들은 phytofluene의 epoxide 화합물로 추정되었다.

Phytofluene의 자동산화 생성물

Phytofluene을 5% Tween 40 수용액 중에 37°C, 24시간 동안 자동산화시키고 HPLC를 행한 결과, Fig. 5에 나타낸 것처럼 phytofluene의 자동산화 생성물이 다수 생성되었다. 각각의 peak 중에 peak 1, 2, 3 그리고 5의 용출시간이 각각 6.66분, 8.13분, 9.13분 그리고 11.60분으로 나타나 phytofluene의 산화개열산물로서 ozonolysis에 의해 얻어진 산화개열산물인 peak 1, 2, 3, 그리고 5의 HPLC 용출위치와 잘 일치하였다. 그러나 phytofluene의 ozonolysis에 의한 생성된 peak 4와 6은 자동산화과정에서는 검출이 되지 않았으며 이 화합물은 자동산화과정 중 상대적으로 미량으로 생성되기 때문에 검출되지 않은 것으로 생각되었다. 그리고 자동산화에 의한 산화개열산물의 분광학적 특성을 조사한 결과 peak 1, 2, 3, 그리고 5의

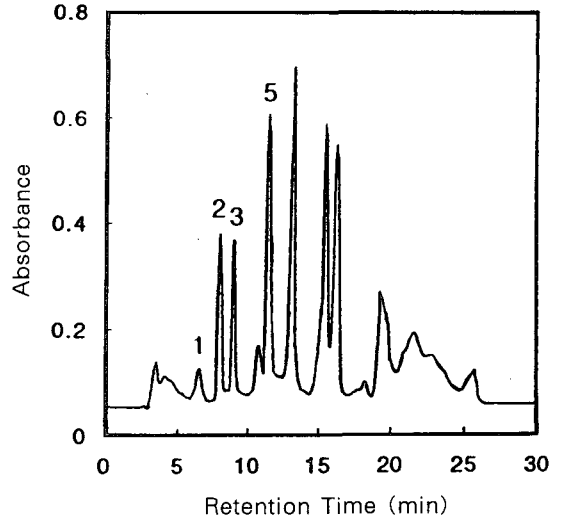


Fig. 5. The formation of cleavage products from phytofluene in 5% Tween 40 solution by autoxidation.

spectra는 phytofluene의 ozonolysis에서 생성되어 얻어진 산화개열산물인 peak 1, 2, 3, 그리고 5의 spectra와 일치하였다.

한편 phytofluene의 자동산화 과정에서 생성되는 acidic 화합물의 확인을 위하여 acidic 화합물의 추출법에 의해 얻어진 회분에 대해 HPLC 분석을 한 결과, Fig. 6에 나타낸 바와 같이 용출시간이 12.55분에 peak가 인정되었다. 이 peak는 phytofluene의 중앙개열 acidic 화합물로 판단되어 이 화합물과 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid의 표준품의 spectra를 비교한 결과 Fig. 7에 나타낸 것

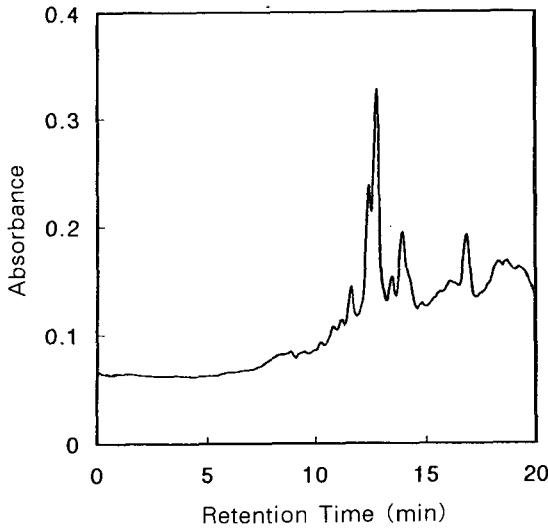


Fig. 6. The formation of acidic compound from phytofluene in 5% Tween 40 solution by autoxidation.

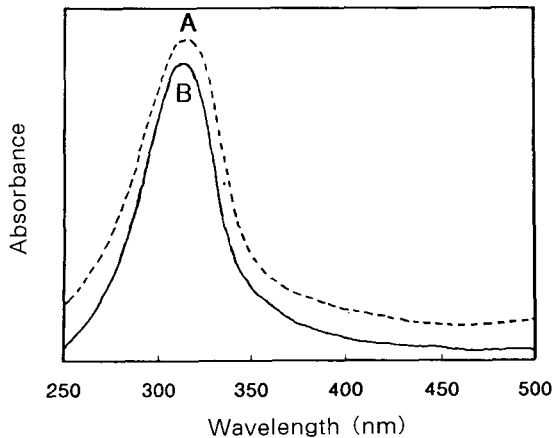


Fig. 7. The UV-vis spectra of standard 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid (A) and cleavage product (acidic compound) in autoxidation of phytofluene (B).

처럼 표준품 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid는 315 nm에서 최대흡수극대를 나타냈으며 자동산화에 의해 생성되는 phytofluene의 중앙개열 acidic 화합물도 동일한 spectra를 나타내었다.

β -Carotene의 경우 산화개열산물의 생성반응(17-19)은 dioxygenase에 의해 β -carotene의 중앙의 이중결합이 산화된 2분자의 retinal이 생성하는 central cleavage 이외에 β -carotene의 여러 이중결합 부위를 산화시키는 eccentric cleavage가 알려져 있다. 그 중 eccentric cleavage반응은 여러 종류의 tissue homogenate에 비특이적으로 나타나며 효소가 촉매한다고 보고되어 있다. 한편, Mordí 등(20)은 benzene에 용해된 β -carotene이 자동산화에 의해 retinal, apocarotenal 등의 산화개열산물이 생성한다고 하였고, canthaxanthine이 세포배양용 배지에

서 산화되어 4-oxo-retinoic acid가 생성하는 것 등(21) carotenoid가 산화적 개열반응을 하여 retinoid로 변환되는 것이 보고되었다. 이들의 보고는 산화스트레스를 받은 조직에 있어서 carotenoid가 비효소적인 산화반응에 의해 대사 분해되어 retinoid와 유사한 물질로 변환하며 분해물들이 생리활성을 발현할 가능성이 있다는 것을 시사하고 있다.

Phytofluene의 산화개열산물은 eccentric cleavage에 의해 여러 종류의 단편을 갖는 화합물로 구성되어 있는 것으로 판단되며 이들의 화학구조를 HPLC상의 거동 및 분광학적 특성을 통해 정리하면 Fig. 8에 나타낸 것처럼 peak 1은 6,10,14-trimethylpentadeca-3,5,9,13-tetraen-2-one, peak 2는 3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,4,6,10,14-pentaenal, peak 3은 5,9,13,17-tetramethyloctadeca-2,4,6,8,12,16-hexaenal, peak 4는 5,9,13,17-tetramethyl-octadeca-2,4,8,12,16-pentaenal, peak 5는 2,7,11,15,19-pentamethylcosa-2,4,6,10,14,18-hexaenal 그리고 peak 6은 4,9,13,17,21-pentamethyldocosa-2,4,6,8,12,16,20-heptaenal로 생각된다.

이러한 화합물의 생성을 추정할 수 있는 근거로서는 이미 보고(14,15)된 lycopene의 산화개열산물들의 거동 및 분광학적 특성으로 유추해 볼 수 있는데, 본 연구와 동일한 조건 하에서 lycopene으로부터 생성되는 자동산화 산화생성물로 3,7,11-trimethyl-2,4,6,10-dodecatetraen-

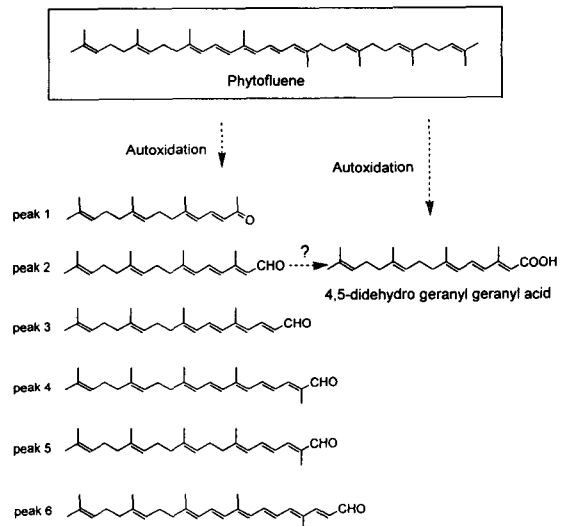


Fig. 8. Possible pathway of formation of 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid by autoxidation of phytofluene.

peak 1; 6,10,14-trimethylpentadeca-3,5,9,13-tetraen-2-one, peak 2; 3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,4,6,10,14-pentaenal, peak 3; 5,9,13,17-tetramethyloctadeca-2,4,6,8,12,16-hexaenal, peak 4; 5,9,13,17-tetramethyl-octadeca-2,4,8,12,16-pentaenal, peak 5; 2,7,11,15,19-pentamethylcosa-2,4,6,10,14,18-hexaenal, peak 6; 4,9,13,17,21-pentamethyldocosa-2,4,6,8,12,16,20-heptaenal.

1-al, 6,10,14-trimethyl-3,5,7,9,13-pentadecapentaen-2-one, acycloretinal, apolycopenal 등이 생성되며 중앙개열산물인 acycloretinoic acid가 자동산화에 의해 생성된다고 하여 phytofluene의 산화개열산물도 lycopene의 자동산화 개열산물의 용출경향과 잘 일치하고 있어 자동산화 과정에서 동일한 eccentric cleavage 경로로 산화개열산물이 생성되는 것으로 생각된다. 또한 phytofluene의 중앙개열 acidic 화합물인 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid도 phytofluene의 자동산화 과정에서 생성 가능함을 알 수 있었다. 그리고 수용액 조건에서 산화개열산물들이 생성되는 경향을 미루어 볼 때 생체내에서도 자동산화에 의해 phytofluene으로부터 산화개열산물이 생성될 수 있음을 시사하고 있다.

Lycopene의 경우, 중앙개열산물인 acycloretinal이 간 조직내 산화효소의 작용에 의해 acycloretinoic acid로 변환된다고 보고(22)하였는데 phytofluene의 중앙개열산물인 3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,4,6,10,14-pentaenal도 조직내에서 효소의 작용에 의해 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid로 변환될 수 있는지에 대해서는 추후 검토가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

Phytofluene를 dichloromethane에 용해하고 dry ice 상에서 ozonolysis를 행하였다. Ozonolysis에 의해 생성된 화합물은 silica gel chromatography를 행하여 분획하고, photodiode array detector를 이용하여 ODS-HPLC로 분석하였다. Phytofluene을 5% Tween 40 수용액에 용해하고 37°C, 24시간 자동산화시킨 결과, 다수의 carbonyl 및 acidic 화합물이 생성되었다. Phytofluene의 자동산화로부터 생성된 carbonyl 화합물의 대부분은 ozonolysis에 얻어진 산화개열산물이 나타내는 HPLC상의 거동과 분광학적 특성이 서로 잘 일치하였다. 또한 phytofluene의 자동산화에 의해 생성된 중앙개열 acidic 화합물은 생물활성을 나타내는 4,5-didehydrogeranyl geranyl acid 표준품과 동일한 분광학적 특성을 나타냈다. 이러한 결과는 *in vitro* 상의 산화적 조건하에서 phytofluene의 자동산화에 의해 eccentric cleavage가 생성됨을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구의 수행에 협조하여 준 목포대학교 식품산업 기술연구센터와 일본 식품종합연구소에 깊이 감사드립니다.

문 헌

1. Daood, H.G., Biacs, P.A., Hoschke, A., Harkay-Vinkler,

M. and Hajdu, F. : Separation and identification of tomato fruit pigments by TLC and HPLC. *Acta Aliment.*, **16**, 339-530 (1987).

2. Mangels, A.R., Holden, J.M., Beecher, G.R., Forman, M. R. and Lanza, E. : Carotenoid content of fruits and vegetable. An evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.*, **93**, 284-296 (1993)

3. Paetau, I., Khachik, F., Brown, E.D., Beecher, G.R., Kramer, T.R., Chittams, J. and Clevidence, B.A. : Chronic ingestion of lycopene-rich tomato juice or lycopene supplements significantly increases plasma concentrations of lycopene and related tomato carotenoids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, **68**, 1187-1195 (1998)

4. Gross, J. : *Pigments in fruit*. Academic Press, London, p.87-91 (1987)

5. Mascio, P., Kaiser, S. and Sies, H. : Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.*, **274**, 532-538 (1989)

6. Rao, A.V. and Agarwal, S. : Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases. *Nutrition Research*, **19**, 305-323 (1999)

7. Giovannucci, E. : Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer. Review of the epidemiologic literature. *J. National Cancer Institute*, **91**, 317-331 (1999)

8. Lim, B.D., Nagao, A., Terao, J., Tanaka, K., Suzuki, T. and Takama, K. : Antioxidant activity of xanthophylls on peroxy radical-mediated phospholipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta*, **1126**, 178-184 (1992)

9. Scheidegger, R., Pande, A.K., Bounds, P.L. and Koppenol, W.H. : The reaction of peroxynitrite with zeaxanthin. *Nitric Oxide*, **2**, 8-16 (1998)

10. Esaki, H., Onozaki, H., Kawakishi, S. and Osawa, T. : New antioxidant isolated from Tenpeh. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 696-700 (1996)

11. Ohigashi, H., Osawa, T., Terao, J. and Watanabe, T. and Yohsikawa, T. : Food factors for cancer prevention. Springer-Verlag, Tokyo, p.39-46 (1997)

12. Araki, H., Shidoji, Y., Yamada, Y., Moriwaki, H. and Muto, Y. : Retinoid agonist activities of synthetic geranyl geranoic acid derivatives. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **209**, 66-72 (1995)

13. Shidoji, Y. and Muto, Y. : Acyclic retinoids and their cancer preventive action (in Japan). *Vitamin*, **71**, 221-234 (1999)

14. Kim, S.J., Kobayashi, H. and Nagao, A. : Formation of γ -retinal and apolycoplenals from lycopene by oxidative cleavage. Paper presented at 9th Ann. Japanese Society for Retinoid Research, Yokyo, Japan (1998)

15. Kim, S.J., Kobayashi, H., Nagao, A. and Terao, J. : Oxidative cleavage products of lycopene. Paper presented 73th Ann. Japanese Society for Bioscience, Biotechnology and Agrochemistry, Hukuoka, Japan (1999)

16. Davis, J.B., Jackman, L.M., Siddons, P.T. and Weedon, C.L. : Carotenoids and related compounds. Part XV. The structure and synthesis of phytoene, phytofluene, ξ -carotene and neurosporene. *J. Chem. Soc.*, 2154-2165 (1966)

17. Goodman, D.S. and Olson, J.A. : The conversion of all-trans β -carotene into retinal. *Methods in Enzymology*, **15**, 462-475 (1969)

18. Nagao, A., During, A., Hoshino, C., Terao, J. and Olson, J.A. : Stoichiometric conversion of all *trans*- β -carotene to retinal by pig intestinal extract. *Arch. Biochem.*

- Biophys.*, **328**, 57-63 (1996)
19. Wang, X.D., Tang, G.W., Fox, J.G., Krinsky, N.I. and Russell, R.M. : Enzymatic conversion of β -carotene into β -apocarotenals and retinoids by human, monkey, ferret, and rat tissue. *Arch. Biochem. Biophys.*, **285**, 8-16 (1991)
 20. Mordt, R.C., Walton, J.C., Burton, G.W., Hughes, L., Ingold, K.U., Lindsay, D.A. and Moffatt, D.J. : Oxidative degradation of β -carotene and β -apo-8'-carotenal. *Tetrahedron*, **49**, 911-928 (1993)
 21. Nikawa, T., Schulz, W.A., Brink, C.E., Hanusch, M., Saag, P., Stahl, W. and Sies, H. : Efficacy of all-*trans*- β -carotene, canthaxanthine, and all-*trans*-, 9-*cis*- and 4-oxoretinoic acids in inducing differentiation of an F9 embryonal carcinoma RAR β -*lac*-Zrepoter cell line. *Arch. Biochem. Biophys.*, **316**, 665-672 (1995)
 22. Nagao, A., Kim, S.J., Nara, E., Kobayashi, H. and Terao, J. : Formation of oxidative cleavage from tomato carotene by autoxidation. Paper presented at 12th Ann. International Carotenoid Symposium., Cairns, Australia (1999)

(2000년 5월 3일 접수)