

고추 기관별 항산화 활성과 quinone reductase 유도활성

구강모 · 강영화*

경북대학교 농업생명과학대학 응용생명과학부

Antioxidant and Quinone Reductase Inductive Activities of Various Organs of Pepper

Kang Mo Ku and Young Hwa Kang*

Division of Applied Biosciences, College of Agriculture and Life Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received September 17, 2009; Accepted November 5, 2009

We analyzed antioxidant and quinone reductase (QR) inductive activities of various organs of pepper for utilizing by-product of them. Peppers were separated into fruits, roots, stems, and leaves and extracted with methanol for the analysis. As a result, pepper leaves showed higher phenol content than other organs. Using the DPPH assay, there was not considerably different activity depending on pepper organs, but pepper leaves showed significantly higher antioxidant activity using the ABTS assay. In FTC and TBA assay, stems and leaves showed significantly higher lipidperoxidation inhibitory activity. In QR inductive assay, pepper tissues showed different QR inductive activity: leaves>roots>>stems>fruits. In addition, pepper leaves showed highest antiproliferation activity on hepa1c1c7 among pepper tissues in 50-200 µg/mL. These results indicate that pepper leaves have high potential to be a good functional food material due to high QR inductive and antioxidant activities.

Key words: DPPH, pepper leaves, quinone reductase, total phenol content

서 론

암화과정(Carcinogenesis)은 개시, 촉진, 진행이라는 과정으로 이루어진다는 다단계모델설이 가장 널리 받아들여지고 있다 [Barrett, 1993]. 개시단계는 비교적 짧은 시간에 이루어지는 비가역적반응이다. 이런 암화과정의 개시단계를 조절하여 암을 예방하고자 하는 연구가 암 예방의 전략 중 하나로 시도되고 있다 [Wattenberg, 1985; Dietz 등, 2005]. 항산화제는 발암원인 물질인 활성산소종을 제거하여 발암의 개시단계를 효과적으로 차단시킴으로써 암을 예방할 수 있다. 또한 발암과정을 단계적으로 억제할 수 있는 표적 효소들을 제어함으로써 암을 예방할 수 있는데, 특히 quinone reductase(QR), glutathione S-transferase, UDP-glucuronosyltransferase 등의 해독효소의 유도가 암 예방과 밀접한 관련이 있다 [Talalay 등, 1995]. QR 효소는 반응성이 강한 귀는 화합물들을 환원하여 안정한 hydroquinone류로 만들어 체외로 배출시키는 작용을 하는데, QR 효소를 유도하는 물질

중 일부는 glutathione S-transferase 또한 유도한다고 보고되어 암 예방의 중요한 지표 효소로 생각되어진다 [Talalay 등, 1988].

가지과에 속하는 고추의 원산지는 남미로 추정된다. 고추가 우리나라에 도입된 것은 16세기 전후로 불과 400년 남짓 지났지만 우리 식생활에 없어서는 안 되는 중요한 기호식품이 되었다. 또한 원예작물로서는 재배면적이 가장 넓으며 생산량 또한 가장 높다.

고추의 대표적인 기능성 성분으로는 capsaicin이 꼽히며 이 성분의 암 예방 활성에 대한 많은 연구가 보고되어 있다 [Surh와 Lee, 1995; Surh 등, 1998]. 또한 고춧잎과 관련된 연구로는 과산화지질 생성 억제 효과 [Park 등, 1997], 항돌연변이 효과 [Kweon 등, 1995], 항미생물 효과, tyrosinase 억제효과 [Kim 등, 2003], 고춧잎에서의 DPPH 라디칼 소거 물질 분리 [Choi, 2006] 등의 연구가 행해졌다.

그러나 기존연구에서 품종별로 고춧잎의 플라보노이드 함량이 유의하게 다른 것으로 보고되었으며 [Ku 등, 2009], 또한 고춧잎이 QR 효소를 유도한다는 연구 결과도 보고되었지만 [Ku, 2007] 고추의 기관별 비교 실험결과가 없어 부산물로서의 이용가치를 높이는 자료는 되지 못하였다. 따라서 본 실험에서는 고춧잎의 항산화 및 QR 유도활성을 고추의 다른 기관들과 비교 실험하여 고춧잎의 생리활성측면에서의 이용가치에 대해 알아보하고자 하였다.

*Corresponding author

Phone: +82-53-950-7752; Fax: +82-53-950-5722

E-mail: youngh@knu.ac.kr

doi:10.3839/jabc.2010.006

재료 및 방법

시료 채취와 추출물 조제. 시료는 2007년 6월 15일에 경북대학교 농장에서 재배된 '부영' 품종의 고추를 뿌리째 뽑아 잎, 줄기, 과실, 및 뿌리의 기관별로 나누어 40°C에서 48시간 건조한 후, 메탄올로 추출에 사용하였다. 각 시료는 100% 메탄올과 함께 환류 냉각장치가 된 추출기에서 3시간씩 3회 추출하여 추출물을 얻었다. 추출물은 회전식 감압 농축기를 사용하여 45°C에서 농축하였다. 메탄올 추출물은 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 일정 농도로 만들어 실험에 사용하였다.

시약 및 기구. 세포배양과 관련된 항생제와 α -MEM는 Gibco BRL사(Invitrogen Corp., New York, USA) 제품을 구입하였으며 fetal bovine serum(FBS)은 HyClone사(HyClone Laboratories, Logan, USA) 제품을 구입하였다. Crystal violet, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), tween-20, menadione, digitonin, glucose-6-phosphate, β -NADP, FAD, glucose 6-phosphate dehydrogenase, sodium dodesyl sulfate, naringin, diethylene glycol, sodium carbonate, gallic acid, Folin Ciocalteu's phenol reagent, potassium persulfate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] diammonium salt(ABTS), Trolox, dimethyl sulfoxide(DMSO), linoleic acid, ammonium thiocyanate, FeCl₂, trichloroacetic acid, thiobarbituric acid, α -tocopherol, BHT(butylated hydroxytoluene) 등은 Sigma(St. Louis, MO, USA)사에서 구입하였다. 추출용 용매는 특급시약을 사용하였으며 흡광도 측정을 위한 spectrophotometer는 DI Biotech사의 Power Wave XS(Winooski, VT, USA)를 사용하였다.

총 페놀 함량 측정. 총 페놀함량은 Folin-Denis법을 변형하여 측정하였다[Isabelle 등, 2008]. 96 well plate에 시료와 0.2 N Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 넣고 실온에서 3분 동안 반응시킨 후, 포화 sodium carbonate를 넣고 60분 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로는 gallic acid를 사용하였다. 시료의 페놀 함량은 시료의 메탄올 추출물 4 mg에 해당하는 gallic acid의 용량(mg)으로 표시하였다.

총 플라보노이드 함량 측정. 총 플라보노이드 함량은 spectrophotometer 방법을 96 well plate에 맞게 변형하여 측정하였다[Abeyasinghe 등, 2007]. 96 well plate에 시료와 90% diethylene glycol을 넣고 3분 동안 microplate agitater(Titamax 101, Heidolph, Schwabach, Germany)를 이용하여 흔들어주었다. 1 N NaOH용액을 각 well에 넣은 후 1시간 후에 427 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준품으로는 naringin을 사용하였다. 시료의 총 플라보노이드 함량은 시료의 메탄올 추출물 4 mg에 해당하는 naringin의 용량(mg)으로 표시하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정. DPPH assay는 96 well plate를 이용하여 측정하였다 [Dietz 등, 2005]. 추출물과 400 μ M DPPH 시약을 30분간 반응시킨 후, 515 nm에서 spectrophotometer를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 항산화능은 시료를 녹인 용매인 DMSO를 대조군으로 하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity}=(1-A_{\text{test}}/A_{\text{control}})\times 100$$

ABTS radical cation decolorization의 측정. ABTS assay는 96 well plate를 이용하는 측정방법으로 변형하였다[Re 등, 1999]. ABTS 용액은 7.4 mM ABTS와 2.45 mM K₂S₂O₈를 섞어 16시간 동안 냉암소에 보관하여 준비하였으며, O.D. 값이 1.00이 되도록 PBS (pH 7.4)로 희석하였다. 96 well plate에 ABTS 용액과 시료를 혼합하여 실온에서 6분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화능은 시료를 녹인 용매인 DMSO를 대조군으로 하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity}=(1-A_{\text{test}}/A_{\text{control}})\times 100$$

FTC (ferric thiocyanate) assay. 기존의 연구방법에 따라 FTC실험을 실시하였다[Saha 등, 2004]. 추출물 4 mL에 2.51% linoleic acid 4.1 mL, 0.05 M phosphate buffer(pH 7.0) 8 mL, 증류수 3.9 mL를 혼합한 반응 시료액을 만든 후 40°C에서 암 조건으로 반응시키면서 24시간 마다 반응 시료액 0.1 mL를 취하여 75% 에탄올 9.7 mL에 희석한 후 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL와 20 mM FeCl₂/3.5% HCl 0.1 mL를 가하여 강하게 진탕시킨 다음 3분 후 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 대조구의 흡광도가 최고에 도달할 때까지 진행하였다. 시료의 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구에 대한 시료의 지질과산화 억제능을 백분율로 구하였으며 양성대조군으로 α -tocopherol과 BHT를 사용하였다.

TBA (Thiobarbituric acid) assay. FTC와 같은 방법으로 반응 시료액을 조제하여 FTC 반응이 종료하는 날 (8일 경과) TBA 실험을 실시 하였다[Hah 등, 2005]. 반응 시료액 2 mL에 20% trichloroacetic acid 1 mL와 0.67% thiobarbituric acid 2 mL를 넣은 후 95°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 다음 냉각시켰다. n-Butanol 5 mL를 가하여 격렬히 교반한 후, 3000 rpm에서 10분간 원심분리 후 butanol층을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구에 대한 시료의 지질과산화 억제능을 백분율로 구하였으며 양성대조군으로 α -tocopherol과 BHT를 사용하였다.

동물 세포주 및 배양. QR 유도 활성의 측정을 위해서 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, USA)으로부터 분양 받은 hepalc1c7 murine hepatoma cell을 사용하였다. 세포를 10% FBS를 함유하고 있는 α -MEM배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 상태에서 배양하였다.

Quinone reductase assay. QR 활성의 측정은 Dietz 등 (2005)의 방법에 따라 실시하였다. Hepalcl7 세포를 1.0 \times 10⁴ cells/mL 농도로 96 well plate에 분주하고 37°C, 5% CO₂에서 2시간 배양한 다음, 새로운 배지와 함께 시료를 4개 농도로 희석하여 각 well에 넣어주었다. 4시간 추가 배양하고 배지를 제거한 후, 0.8% digitonin/2 mM EDTA(pH 7.8)를 가하여 37°C에서 10분 동안 세포를 용해하였다. 0.5 M Tris-HCl(pH 7.4), 20 mg bovine serum albumin, 1.5% Tween-20, 7.5 mM FAD, 150 mM glucose-6-phosphate, 50 mM NADP, 60 unit glucose-6-phosphate dehydrogenase, MTT, 50 mM menadione을 혼합

Table 1. Preparation of pepper organs

Organ of pepper	Leaf	Root	Fruit	Stem
Fresh weight g(%)	233.2(34.1) ^a	62.0(9.1)	106.5(15.6)	280.5(41.2)
Dry weight g(%)	41.6(14.4)	12.3(14.2)	10.4(12.0)	51.3(59.4)
MeOH extract g(%)	12.4(53.3)	1.0(4.2)	4.8(20.6)	5.1(21.9)

^aMean percentage of total weight.

Table 2. Constituent of pepper organs

Constituent	Leaf	Root	Fruit	Stem
Total phenol contents	282±15 ^a	208±18 b	177±15 bc	182±8 c
Total flavonoid contents	158±11 a	11±2 c	40±10 b	5±2 c

^aMean±SD (n=3). Contents of 4 mg of MeOH extract. ^bMeans followed by the same letter are not significantly different using Duncan's multiple range test, $p=0.05$.

한 반응액을 96 well plate에 주입하여 10분간 반응시킨 후 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 well의 단백질 함량은 crystal violet assay를 이용하여 측정하였다(Dietz 등, 2005). Specific activity는 살아있는 세포의 단백질 함량에 대한 QR 활성의 정도로 계산하였으며 induction ratio는 대조군에 대한 실험군의 specific activity의 비율로 나타내었다. 양성대조군으로는 브로콜리 추출물을 사용하였다[Zhang 등, 1992].

Crystal violet assay. Hepalclc7 세포를 75 cm² T-type flask에 1.0×10⁴ cells/mL 농도로 분주하고 37°C, 5% CO₂에서 24시간 배양한 다음, 새로운 배지와 함께 추출물을 일정농도로 DMSO에 녹인 시료를 4개 농도로 희석하여 각 well에 넣어주었다. 48시간 추가 배양 후, 배지를 제거하였다. 200 µg의 2% crystal violet/2% ethanol을 각 well에 주입하여 10분간 상온에서 방치하였다. Crystal violet 용액을 버리고 수돗물로 3회 세척하였다. 상온에서 건조한 후 200 µg의 0.5% sodium dodecyl sulfate/50% ethanol을 주입하여 microplate 교반기로 10분간 교반 후 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리. 고추의 기관별 기능성 성분 및 생리활성의 측정결과는 SAS 9.1.3 프로그램(SAS Inc., Cary, NC, USA)에서 ANOVA를 실시한 후, Duncan's multiple range test를 하여 5% 수준에서 시료 평균간의 유의성을 검정하였다. 모든 실험 결과는 3회 이상 실시하여 얻어진 평균값과 표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

고추 기관별 시료 준비과정에 따른 무게비율. 고추의 기관별로 생체중은 줄기가 전체 무게의 41.2%를 차지하였으며 잎은 34.1%, 과실은 15.6%, 뿌리는 9.1%를 차지하였다. 기관별 건조중은 줄기가 전체 무게의 59.4%를 차지하였으며 잎, 뿌리, 과실이 각각 14.4, 14.2, 12%를 차지하였다. 기관별 메탄올 추출물에서는 고춧잎이 전체 무게의 53.3%를 차지하였고 다음이 줄기(21.9%), 과실(20.6%), 뿌리(4.2%)의 순이었다(Table 1).

총 페놀 및 플라보노이드 함량. 준비된 시료로부터 고추의 기관별 기능성 성분을 측정된 결과, 총 페놀 함량은 고춧잎 추출물이 4 mg중 282 µg으로 가장 높았으며 이어서 뿌리(208 µg),

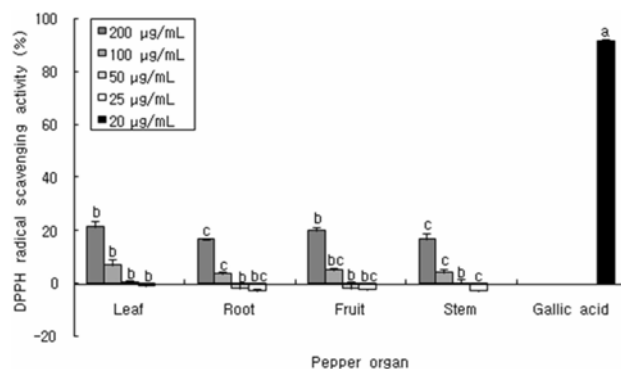


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of various tissue extracts of pepper. The results are the mean±SD (n=3). Different letters within the same concentration indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at $p\leq 0.05$. Gallic acid was used as a common positive control to all concentration in DMRT.

줄기(182 µg), 과실(177 µg) 순으로 페놀 함량이 높았다(Table 2). 총 플라보노이드 함량의 경우 잎이 추출물 4 mg 중 158 µg으로 가장 높았으며 다음으로 과실(40 µg), 뿌리(11 µg), 줄기(5 µg) 순이었다(Table 2). 고춧잎은 메탄올 추출물의 수율이 높을 뿐만 아니라 풍부한 페놀 성분과 플라보노이드 성분을 함유하고 있는 것으로 나타났다.

고추 기관별 DPPH 라디칼 소거활성. 고추의 기관에 따른 항산화 활성을 평가 하기위해 DPPH 실험을 실시한 결과, 고춧잎은 200 µg/mL의 농도에서 뿌리와 줄기에 비해 유의하게 높은 항산화능을 보여주었으나 과실과는 유의한 차이가 없었다. 25 µg/mL의 농도에서는 줄기보다 유의하게 높은 항산화능을 보였지만 뿌리와 과실 기관과는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1).

ABTS radical cation decolorization 활성. ABTS 항산화 측정법은, DPPH와 같은 라디칼 소거법에 의한 항산화능 측정법이라는 점에서는 같지만 항산화능을 측정하는데 적은 시간이 소모되며 DPPH와 달리 pH의 변화에 민감하게 작용하지 않는 장점이 있다[Yoo 등, 2007]. 고추의 기관별 항산화능을 ABTS를 사용하여 측정된 결과, 100 µg/mL의 농도에서 고춧잎이 다른 기관에 비해 유의하게 높은 항산화능을 보였다. 또한 고춧

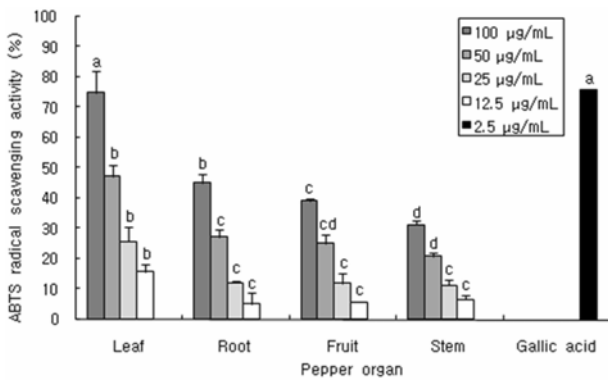


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of various tissue extracts of pepper. The results are the mean±SD (n=3). Different letters within the same concentration indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$. Gallic acid was used as a common positive control to all concentration in DMRT.

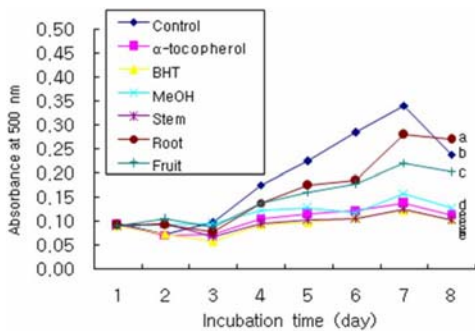


Fig. 3. The inhibitory effect of various tissue extracts of pepper on lipid peroxidation activity using FTC assay. The results are the mean±SD (n=4). Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$. Concentration was 20 µg/mL.

잎 추출물은 50, 25, 12.5 µg/mL의 농도에서도 다른 기관에 비해 유의하게 높은 항산화능을 보였다(Fig. 2). DPPH 실험과 달리, ABTS 실험에서 고춧잎이 다른 기관에 비해 높은 활성을 보인 것은 항산화 실험법마다 작용기작이 달라 특정 물질에 대한 반응이 다르기 때문일 것으로 생각된다[Mun 등, 2003; Huang 등, 2005].

고추 기관별 지질과산화 억제능(FTC). 고추의 기관별 지질과산화 억제능을 FTC 방법을 이용하여 측정한 결과, 줄기 추출물이 가장 높은 지질과산화 억제능을 보였으며 합성 항산화제인 BHT와 α-tocopherol과 같은 수준의 지질과산화 억제능을 갖는 것으로 나타났다. 지질과산화 억제능이 높았던 기관은 줄기, 잎, 과실, 뿌리의 순이며, 뿌리는 대조구인 무침가 처리보다 유의하게 낮은 지질 억제능을 보였다(Fig. 3).

고추 기관별 지질과산화 억제능 (TBA). 고추의 기관별 지질과산화 억제능을 TBA 방법으로 측정한 결과, 줄기, 잎, 과실, 뿌리의 순으로 나타났다. 특히 줄기와 잎은 20 µg/mL의 농도에서 천연 항산화제인 α-tocopherol과 같은 수준의 지질과산화 억제능을 나타내었다(Fig. 4). FTC와 TBA 실험에서 높은 활성을 보인 고추 줄기와 잎은 지질과산화 억제를 위한 유용한 소재가 될 것이다.

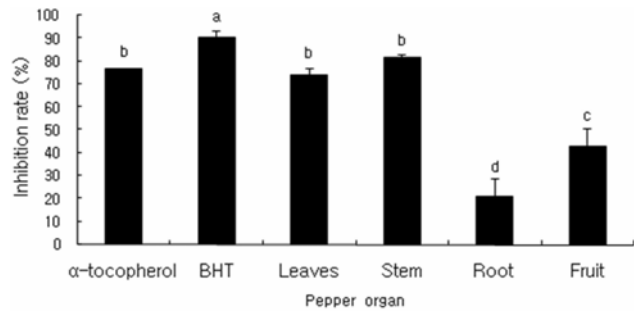


Fig. 4. The inhibitory effect of various tissue extracts of pepper on lipid peroxidation activity using TBA assay. The results are the mean±SD (n=4). Different letters indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$. Concentration was 20 µg/mL.

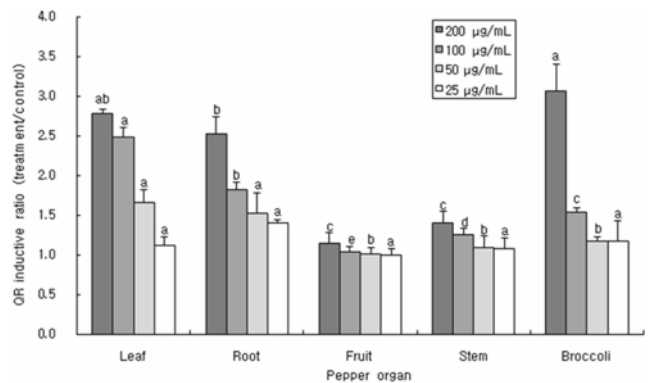


Fig. 5. The effect of various tissue extracts of pepper on QR inductive activity. The results are the mean±SD (n=3). Different letters within the same concentration indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$. Broccoli was used as a positive control.

고추 기관별 QR 유도활성. 고추의 기관별 QR 효소 유도 활성을 측정한 결과, 200 µg/mL의 농도에서는 고춧잎이 브로콜리보다 조금 낮은 QR 유도 활성을 보였지만 줄기와 과실 보다 높은 활성을 나타내었다. 100 µg/mL의 농도에서는 고춧잎의 QR 유도활성이 브로콜리, 뿌리, 과실, 줄기보다 유의하게 높은 것으로 나타났다(Fig. 5). 고추의 capsaicin은 암 예방 활성이 있는 것으로 보고 되어있지만 주로 cyclo-oxygenase-2(COX-2)를 억제하여 암의 진행을 억제하는 작용기작이기 때문에 QR 유도 활성은 높지 않았다[Surh, 2002].

고추 기관별 쥐 간 세포주에 대한 세포성장 억제능. 고추의 기관에 따른 hepa 1c1c7 쥐 간 세포주에 대한 세포성장 억제능을 조사하기 위해 crystal violet 실험을 실시한 결과, 200 µg/mL의 농도에서 고춧잎의 추출물이 다른 기관에 비해 유의하게 높은 세포성장 억제능을 보여주었고 이는 통계적으로 브로콜리와 같은 수준의 세포독성이었다. 25 µg/mL의 저농도에서는 고추의 모든 기관과 브로콜리에서 유의한 세포성장 억제능이 나타나지 않았다(Fig. 6). 고춧잎이 다른 기관보다 높은 세포성장 억제능을 보인 것은 플라보노이드 함량이 상대적으로 높기 때문이라고 생각된다.

결론적으로 고춧잎 추출물은 항산화와 QR 유도활성면에서 다른 기관에 비해 높은 활성을 보였다. 따라서 고춧잎은 항산

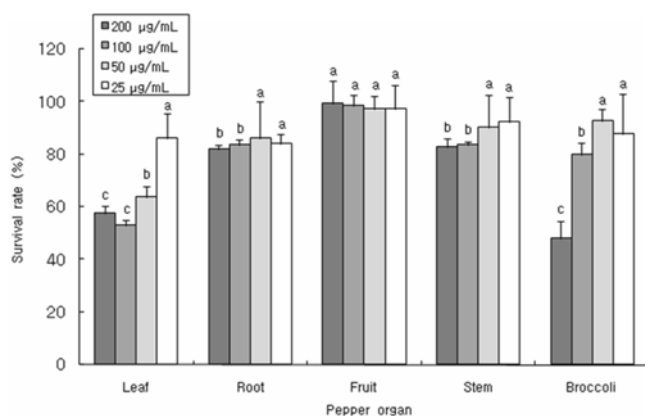


Fig. 6. The effect of various tissue extracts of pepper on the growth of hepa1c1c7 murine cell line. The results are the mean±SD (n=3). Different letters within the same concentration indicate a significant difference by Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$. Broccoli was used as a positive control.

화와 QR 유도를 통한 암 예방에 도움이 되는 건강기능소재로서 이용가치가 높을 것으로 사료된다.

초 록

고추 부산물의 활용을 위해 고추의 각 기관별 추출물에 대한 항산화와 QR 유도 활성을 측정하였다. 고추의 과실, 뿌리, 줄기, 잎을 각각 메탄올로 추출하여 분석한 결과, 고춧잎이 다른 기관에 비해 플라보노이드와 페놀성분이 높은 것으로 나타났다. DPPH 항산화 실험에서는 기관별로 큰 차이가 없었던 반면, ABTS 항산화 실험에서는 고춧잎이 다른 기관에 비해 유의적으로 높은 항산화능을 보였다. FTC와 TBA 실험에서 줄기와 고춧잎이 다른 기관에 비해 유의하게 높은 지질과산화 억제능을 나타냈다. QR 유도활성에서는 고춧잎, 뿌리, 줄기, 과실순으로 높았다. 고춧잎의 경우 50-200 µg/mL 농도에서는 다른 기관에 비해 높은 세포 성장 억제능을 보였다. 결론적으로 고춧잎은 다른 기관에 비해 항산화 활성과 QR 유도 활성이 높아 기능성소재로서의 활용가치가 높다.

Key words: 고춧잎, 항산화, quinone reductase, 총페놀 함량

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 2009O1OFT 071942004)에서 연구비를 지원받았습니다.

참고문헌

Abeyinghe DC, Li X, Sun C, Zhang W, Zhou C, and Chen K (2007) Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food Chem* **104**, 1338-1344.

Barrett JC (1993) Mechanisms of multistep carcinogenesis and carcinogen risk assessment. *Environ Health Perspect* **100**, 9-20.

Choi JG (2006). DPPH radical scavenging activity and isolation of apigenins from the leaves of *Capsicum annuum*. MS Diss., Sunchon National Univ., Sunchon, Korea.

Dietz BM, Kang YH, Liu G, Eggler AL, Yao P, Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR, Mesecar AD, van Breemen RB, and Bolton JL (2005) Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase. *Chem Res Toxicol* **18**, 1296-1305.

Hah DS, Kim CH, Kim GS, Kim EG, and Kim JS (2005) Antioxidative effects of traditional medicinal plants on lipid peroxidation. *Korean J Vet Res* **45**, 341-350.

Huang D, Ou B, and Prior RL (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* **53**, 1841-1856.

Isabelle M, Lee BL, Ong CN, Liu X, and Huang D (2008) Peroxyl radical scavenging capacity, polyphenolics, and lipophilic antioxidant profiles of mulberry fruits cultivated in southern China. *J Agric Food Chem* **56**, 9410-9416.

Kim JH, Jeong CH, and Shim KH (2003) Biological activities of solvent fractions of *Capsicum annuum* leaves. *Korean J Food Preser* **10**, 540-546.

Ku KM (2007) Chemopreventive activity of pepper leaves and its functional constituent. MS Diss., Kyungpook National Univ., Daegu, Korea.

Ku KM, Kim HS, Kim BS, and Kang YH (2009) Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J Appl Biol Chem* **52**, 70-76.

Kweon YM, Rhee SH, and Park KY (1995) Antimutagenic effects of juices from the peppers in *Salmonella* assay system. *J Korean Soc Food Nutr* **24**, 440-445.

Mun GS, Kwon TW, and Lyu SH (2003) Comparison of antioxidative activities of soybean components by different assays. *Korean Soybean Digest* **20**, 28-36.

Park JC, Chung SK, Hur JM, Lee JH, Choi MR, Song SH, and Choi JM (1997) Effects of the components and extracts of some edible and medicinal plants on the formation of lipid peroxide in rat liver homogenate. *Korean Soc Food Sci Nutr* **26**, 1159-1163.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, and Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* **26**, 1231-1237.

Saha K, Lajis NH, Israfi DA, Hamzah AS, Khozirah S, Khamis S, and Syahida A (2004) Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* **92**, 263-267.

Surh YJ (2002) Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food Chem Toxicol* **40**, 1091-1097.

Surh YJ, Lee E, and Lee JM (1998) Chemoprotective properties of some pungent ingredients present in red pepper and ginger. *Mutat Res* **402**, 259-267.

Surh YJ, and Lee SS (1995) Capsaicin, a double-edged sword: toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sci* **56**, 1845-1855.

Talalay P, De Long MJ, and Prochaska HJ (1988) Identification of a common chemical signal regulating the induction of enzymes

- that protect against chemical carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* **85**, 8261-8265.
- Talalay P, Fahey JW, Holtzclaw WD, Presterl T, and Zhang Y (1995) Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicol Lett* **82-83**, 173-179.
- Wattenberg LW (1985) Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* **45**, 1-8.
- Yoo KM, Kim DO, and Lee CY (2007) Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci Biotechnol* **16**, 177-182.
- Zhang Y, Talalay P, Cho CG, and Posner GH (1992) A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 2399-2403.