

## 품종별 청고추의 항산화 효과 및 유방암 세포주에서의 세포 사멸 연구

윤효진 · 이 슬 · 황인경\*  
서울대학교 식품영양학과

### Effects of Green Pepper (*Capsicum annuum* var.) on Antioxidant Activity and Induction of Apoptosis in Human Breast Cancer Cell Lines

Hyo-Jin Yoon, Seul Lee, and In-Kyeong Hwang\*

Department of Food and Nutrition, Seoul National University

**Abstract** This study investigated flavonoid, total phenol, total flavonoid content, antioxidant and antiproliferative activity on human breast cancer cells (MCF-7, MDA-MB-231). Four varieties of Korean green peppers (KP: kkuri pepper, PP: phut pepper, CP: cheongyang pepper, OP: ohi pepper) and one foreign green pepper (JP: jalapeno) were used. The contents of luteolin, quercetin and apigenin, which are abundant flavonoids in green pepper, were the highest in KP. Also, the contents of total phenol, and total flavonoids were the highest in KP, followed by CP, JP, PP, and OP (KP: total phenol 13.29±0.45 mg GAE/g D.W., total flavonoid 7.02±0.13 mg QE/g D.W. In DPPH·ABTS radical-scavenging activity, KP showed the most potent antioxidant activity. In the result of viability in human breast cancer cells, KP had the highest antiproliferative effect. These results suggest that green peppers have significant antioxidant activity and can be a possible candidate for treatment of breast cancer.

**Keywords:** green pepper, flavonoid, antioxidant, antiproliferative, apoptosis

## 서 론

고추(*Capsicum annuum* L.)는 아시아를 포함하여 전 세계적으로 가장 많이 섭취하고 있는 채소 중 하나이다. 특히 우리나라에서는 대표음식인 김치의 주재료 중 하나로써, 오래전부터 식생활에 있어 식재료로 가장 많이 사용되고 있다. 고추에는 capsaicin을 비롯하여 비타민 A, C 등 다양한 영양성분을 함유하고 있다. 이러한 영양성분으로 인하여 고추 섭취로 인한 대사증후군의 예방 및 항암, 항산화, 항염 효과 등에 관한 다양한 연구가 진행되고 있다(1-4).

이렇듯 고추에는 많은 생리 활성 물질을 포함하고 있음에도 불구하고, red pepper의 capsaicin 등의 연구에 치우쳐 green pepper의 flavonoids에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 또한 국외의 green vegetable flavonoids에 관한 많은 연구에서 green pepper를 다루고 있으나, pepper의 영양성분은 성숙도, 유전자형, 재배환경 및 공정과정에 따라 많은 영향을 받기 때문에, 국내 green pepper에 관한 연구는 별도로 수행되어야 한다.

Flavonoids는 다양한 식물에 존재하고 있으며 carotenoid 색소와 함께 중요한 색소종의 하나이다. 식물체에 있는 flavonoids는 방어기작으로 인하여 2차 대사산물의 결과 생성된 것으로, 세포

에서의 유도인자 및 항독성 물질 역할을 한다(5,6). 이에 식물체에 식물 영양소로서의 역할과 더불어 비독성일 뿐만 아니라, 인간에게도 잠재적으로 이로인 영향을 갖고 있다(7). Flavonoids의 기능성에 대한 연구로는 항산화, 항염, 항알러지 효과(8)와 더불어 항암효과(9-11) 등의 다양한 생리활성이 보고되고 있다. 또한 flavonoids는 estrogen과 구조가 유사하기 때문에, estrogen-like activity 뿐만 아니라 estrogen antagonistic activity를 기대할 수 있다(12,13). 이에 유방암의 예방 및 치료에 있어서 그 가치를 기대해 볼 수 있으며, 이에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있다(14-17).

유방암은 여성의 가장 흔한 암 중의 하나로써, 통계에 따르면 국내 여성 10만명 당 1만 3천여 명 정도의 발병률을 지니고 있다. 또한 암의 발병 종류 중에서 지속적으로 높은 발생률을 차지하고 있다(18). 미국의 경우, 2005년 약 130만 명의 유방암의 발병과 약 57만 명의 여성이 유방암으로 사망하였으며, 매년 백만명 이상의 여성들이 유방암으로 진단받는 것으로 보고되었다(19,20). 이처럼 유방암은 전 세계적으로 여성에게 있어서 위협적인 존재이며, 국내 유방암의 발생률 또한 식생활의 변화로 인하여 꾸준히 증가하고 있는 추세이다(21).

유방암을 일으키는 여러 요인으로 성별, 나이, 유전자 변형, 가족력, 호르몬, 방사선 치료력, 알코올, 인종 등이 있으며, 특히, 식생활에 의한 유병률이 약 35%에 이르고 있다(22).

이러한 유방암의 예방 및 치료에 있어서 다양한 연구가 끊임 없이 진행되고 있으며, 그 중 phytochemical에 의한 효과가 주목받고 있다. Phytochemical은 과일과 야채에 들어있는 화학물질로 인체 내에서 산화 물질의 제거, 면역체계의 자극, 세포 증식과 세포사멸에 관련된 유전자의 조절 등에 효과가 있다(23).

세포 사멸에는 외부 자극에 의해 수동적으로 일어나는 necrosis

\*Corresponding author: In Kyeong Hwang, Dept. Food & Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea  
Tel: 82-2-880-6837  
Fax: 82-2-882-5708  
E-mail: ikhwang@snu.ac.kr  
Received June 21, 2012; revised September 17, 2012; accepted October 18, 2012

와 세포내에서 능동적으로 일어나는 apoptosis가 있다. 다양한 apoptosis mechanism 중 하나로, 세포의 수용체와 관련된 외적 pathway와 미토콘드리아와 관련된 내적 pathway로 나눌 수 있다 (24).

Apoptosis로 인한 세포 사멸은 미토콘드리아 막에 존재하는 Bcl-2 family(bcl-2, bax) 유전자의 발현과 cytochrome-C의 분비 현상이 나타나게 된다. 여기에서 이러한 Bcl-2 family와 분비된 cytochrome-C를 측정하여 apoptosis가 일어나는 것을 확인할 수 있다.

이러한 세포 사멸을 일으키는 주체는 단백질 분해효소인 caspase (cysteine-aspartic protease or cysteine-dependent aspartate-directed protease)로 기질이 되는 단백질의 특정한 aspartic acid를 인지하여 세포 내 단백질과 핵단백질을 분해하는 역할을 한다. 이에 이러한 활성화된 caspase를 측정하는 것 또한 apoptosis가 일어난 것을 최종적으로 알 수 있는 지표가 된다(25-27).

이에 본 연구의 목적은 국내의 품종별 green pepper에 있는 비타민 C, 총 폴리페놀, 총 플라보노이드를 비롯하여 고추에 주로 함유된 flavonoids인 luteolin, quercetin, apigenin의 양을 측정하고, 이들로 인한 항산화 효과와 더불어 유방암 세포에서의 apoptosis를 통한 세포 사멸 효과에 관한 연구를 수행하였다. 이에 국내산 green pepper의 flavonoids에 대한 기초 자료를 제공하고, 이들의 항산화 및 유방암에서의 apoptosis의 세포 사멸 효과를 통하여 암을 비롯한 다양한 질병의 예방에 있어 잠재적인 가치를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에서는 풋고추(녹광), 파리고추(노홍), 오이고추(길상), 청양고추(신홍)의 4종류와 Jalapeno pepper를 사용하였다. 국내산 고추는 2011년 10월 경남 진주에서 재배한 것이며, Jalapeno pepper power는 <http://www.amazon.com>에서 구입하였다. 국내산 고추 4종은 수세 후 물기를 제거한 후, 세로로 잘라 꼭지와 씨를 제거하여 동결 건조하였다. 동결 건조한 시료는 믹서기(HR-2860, Philips, Seoul, Korea)로 분쇄하여 분말형태로 -80°C에 보관하면서 사용하였다. Jalapeno pepper power 역시 -80°C에서 보관하였다.

### 추출

동결 건조한 분말 10 g에 80% 메탄올 100 mL을 넣고 교반기(Shaking incubator, SI-600R, Jeio Co LTD., Incheon, Korea)를 이용하여 12시간 동안 27°C에서 교반하며 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman, No. 1)로 거른 후, 남은 잔사는 동일한 방법으로 반복 추출하여 총 300 mL의 메탄올 추출물을 얻었다. 추출물은 회전 진공농축기(Rotavapor, Büchi, Flawil, Germany)로 감압·농축하여 동결 건조한 후, -80°C에서 보관하였다.

### 플라보노이드 분석

배당체의 형태로 존재하고 있는 플라보노이드를 비배당체의 형태로 분석하기 위하여 Michael 등의 방법(28)을 참고하여 산 가수분해법을 이용하였다. 동결건조한 추출물 50 mg을 methanol 5 mL에 녹인 후, 증류수 4.5 mL과 황산 0.5 mL을 첨가하였다. 이후 90°C에서 30분간 가열하여 산 가수분해를 실시하였다. 가수분해물을 냉각 후 감압·농축하여 methanol을 제거하였다. 회수하여 증류수를 이용하여 10 mL이 되도록 정용하였다. 이 용액을 ethyl acetate 10 mL로 3회 반복 추출(용매분획)하여 얻어진 ethyl

**Table 1. Operating condition of HPLC**

Condition		
Column	ODS-80Ts, 4.6×250 mm, Tosoh, Kyoto, Japan	
Flow rate	1.0 mL/min	
Detection	360 nm	
Mobile phase		
Time (min)	35% Methanol (containing 2% acetic acid)	70% Methanol (containing 2% acetic acid)
0	100	0
30	0	100
40	0	100

acetate 층을 농축하였다. 농축물을 methanol로 회수하여 4 mL이 되도록 정용한 후, 그중 0.5 mL을 취하여 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음, HPLC 분석에 사용하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

### 비타민 C 함량

동결 건조한 메탄올 추출물 분말 1 g에 동량의 10% 메타인산 1 mL을 가하여 현탁시킨 후, 5% 메타인산 19 mL을 넣어 20 mL로 정용하였다. 이를 1분간 잘 혼합하고 20분간 방치한 후 1000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 취해 HPLC용 0.2 µm membrane filter로 여과하여 HPLC 분석시료로 사용하였다. 컬럼은 µ-bondapack C18을 사용하였으며, 이동상은 0.05M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: acetonitrile(60:40)을 흘려주었다. Flow rate는 1.0 mL/min이었으며, 시료는 10 µL 주입하여 254 nm 파장에서 측정하였다. 표준물질은 L-ascorbic acid를 사용하여 500-2000 µg/mL의 농도로 용해시켜 분석하였으며, 비타민 C 함량은 건조중량 100 g 당 mg 함량으로 나타내었다.

### 총 폴리페놀 화합물 분석

Folin-Ciocalteu 방법(29)을 이용하여 총 폴리페놀 함량을 분석하였다. 추출물을 1 mg/mL의 농도로 녹인 시료 40 µL에 증류수 200 µL를 가한 다음, 2 N Folin-Ciocalteu phenol reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 200 µL을 넣은 후 교반하였다. 이 용액에 포화 30% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 600 µL와 증류수 160 µL를 가한 후 2시간동안 상온에서 반응시켜 분광광도계(DU 530 spectrophotometer, Bekman, CT, USA)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 표준물질로 사용하였으며, 0-500 µg/mL 농도로 녹여 표준 검량 곡선을 작성하였고, 총 폴리페놀 함량은 1 g 건조중량에 대한 mg gallic acid equivalents(GAE)로 환산하여 표시하였다.

### 총 플라보노이드 화합물 분석

총 플라보노이드 함량은 Meda 등(30)의 연구를 참고하여 Dowd 법으로 측정하였다. 추출물을 1 mg/mL 농도로 녹인 시료 700 µL에 2% NaNO<sub>2</sub> 700 µL를 가하여 10분간 실온에 방치하고 분광광도계(DU 530 spectrophotometer, Bekman, USA)로 415 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 건조중량 1 g에 대한 mg quercetin equivalents(QE)로 환산하여 표시하였다.

### DPPH radical scavenging activity

산화적 스트레스의 원인이 되는 유리 라디칼의 소거 활성을 측정하기 위하여 DPPH(α,α-diphenyl-picrylhydrazyl, Sigma Chemi-

cal Co.)를 사용하였다. 농도별(200, 400, 600, 800 µg/mL)로 희석한 추출물 80 µL에 0.2 mM DPPH 용액 320 µL를 가하여 37°C의 암실에서 30분간 반응시켰다. 그 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 다음의 식에 대입하여 DPPH 자유기 소거 활성능을 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 비첨가구의 흡광도

#### ABTS radical scavenging activity

ABTS(2,2'-azobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid)) 자유기 소거 활성능은 Berg 등(31)의 방법을 참고하여 측정하였다. PBS(100 mM potassium phosphate buffer, pH 7.4)에 녹인 1.0 mM AAPH(2,2'-azobis(2-methylpropion-amidine)dichloride, Sigma Chemical Co.)와 2.5 mM ABTS(Sigma Chemical Co.)를 1:1로 섞어 68°C 항온수조에서 1시간정도 반응시켜 ABTS 자유기를 생성하였다. 이 용액의 흡광도가 0.70 ± 0.02가 되도록 분광광도계를 이용하여 734 nm 파장에서 흡광도를 측정하여, PBS로 희석하거나 항온수조에서 반응시켜 주었다. 농도별로 희석한 추출물 20 µL에 ABTS 용액 980 µL을 넣어 37°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 다음의 식에 대입하여 ABTS 자유기 소거 활성능을 계산하였다. 또한 양성 대조군으로 L-ascorbic acid를 사용하여 0-250 µg/mL 범위에서 표준곡선을 작성한 후, L-ascorbic acid의 활성에 대비하여 상대적인 항산화력을 알아보았다. 항산화력은 Vitamin C equivalent antioxidant capacity(mg VCEAC/g, dry basis)로 환산하여 나타내었다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100$$

A: 추출물 첨가구의 흡광도

B: 추출물 비첨가구의 흡광도

#### 세포주배양

본 실험에서 사용된 human breast cancer cell line MCF-7, MDA-MB-231은 한국세포주은행(KCLB, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. DMEM 배지(Gibco-BRL, Rockville, MD, USA)에 10% fetal bovine serum(Gibco-BRL), 100 µg/mL penicillin(Gibco-BRL), 100 µg/mL streptomycin(Gibco-BRL)을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 2-3일에 한 번씩 계대배양하였다.

#### Antiproliferative activity

고추 추출물의 세포 사멸 효과를 측정하기 위하여 MTT(3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay를 이용하였다. MTT assay는 살아있는 세포에 MTT 시약을 처리하였을 때, mitochondrial dehydrogenase에 의해 환원되어 tetrazolium salt의 cleavage로 형성된 보라색 formazan을 생성하게 되는데, 이를 측정하여 상대적인 세포의 생존율을 측정하는 방법이다. 적절히 배양된 유방암 세포(MCF-7, MDA-MB-231) 세포를 1×10<sup>5</sup> cells/mL 농도로 96 well plate에 분주한 다음, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 24 시간 동안 배양하였다. 배양된 세포의 배지를 제거한 후, 추출물을 농도별로(50, 100, 200, 400 µg/mL) 처리하였다. 추출물은

DMSO에 녹여서 사용하였으며, 200배 농도로 만든 후, 배지에 희석하여 DMSO가 최종 농도의 0.5%에 해당하도록 하였다. 이 후, 72시간 배양한 다음 5 mg/mL 농도의 MTT(Sigma Chemical Co.) 시약을 10 µL/well 분주하고 다시 4시간 동안 배양한 후, 배지를 제거하고 DMSO(Dimethyl Sulfoxide)를 100 µL씩 넣었다. 보라색 formazan이 잘 녹도록 37°C 인큐베이터에 20분간 보관한 후, shaking하여 ELISA microplate reader(Bio-rad, Benchmark, CA, USA)의 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 0.5% DMSO가 포함된 배지만 처리하였으며 결과는 대조군의 흡광도를 100으로 하여 %로 나타내었다.

#### Apoptosis(Bax, cleaved caspase-3, PARP) 측정

1×10<sup>5</sup>의 세포에 시료를 400, 800 µg/mL 농도로 첨가하여 37°C의 CO<sub>2</sub> 배양기 내에서 24시간 동안 배양한 후, 수집하여 PBS로 세척하여 200 µL의 용해 버퍼(lysis buffer)를 첨가하여 잘 혼합하여, 얼음에서 30분간 방치하였다. 세포질 용액(cytoplasmic extract)을 만든 후, 15% SDS-polyacrylamide gel 상에서 protein의 양을 10 µg/lane으로 하여 전기 영동했다. 전기 영동된 gel을 PVDF(polyvinylidene difluoride) 막으로 옮긴 후, 차단용액(5% skim milk in TBS-T: trypsin buffered saline, 1% Tween-20)에 담가 상온에서 1 시간 이상 반응시킨 후, 일차항체인 Bax(Cell Signaling Technology, Beverly, USA), cleaved caspase-3(Santa Cruz Biohechnology, Santa Cruz, CA, USA), PARP(Cell Signaling Technology)를 1:1000으로 희석하여 4°C에서 overnight으로 반응 시켰다. 이후 세척과정을 거쳐 이차항체를 이용하여 2시간 동안 반응을 시킨 후, 이입된 단백질 발현을 정량하기 위하여 동량의 단백질로 β-actin에 대한 western blot을 시행하였다. ECL 용액(Amersham Pharmacia Co., Piscataway, NJ, USA)으로 반응시킨 후 X-ray film으로 노출시켜 단백질 변화량을 확인하였다.

#### 통계처리

평가 결과의 통계처리는 IBM SPSS Statistics 19 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였다. 유의적인 차이가 있을 경우 Duncan의 다중범위 시험법(Duncan's multiple range test)으로 통계적 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

#### 플라보노이드 분석

Flavonoids는 Michael 등(28)의 연구를 참고하여 고추에 함유된 주요 flavonoids로써 luteolin, quercetin, apigenin을 분석 대상으로 선정하여 분석하였다.

Luteolin, quercetin, apigenin을 표준물질 500 µg/mL 농도로 처리하여 얻은 HPLC 결과, 고추추출물의 20.85분, 22.85분과 27.23분에 용출되는 피크들이 각각 quercetin, luteolin, apigenin임을 확인할 수 있었다. 이에 고추추출물에서 검출된 flavonoids들의 함량을 각각 표준곡선에 준해 계산한 결과는 Table 2과 같다. Luteolin, quercetin 및 apigenin의 세 가지 flavonoids 중에서 luteolin의 함량이 가장 높았으며, quercetin, apigenin의 순서로 함유되어 있었다. 이는 5가지 품종의 모든 green pepper에서 동일한 결과를 나타내었다. 각각 품종별 함량의 차이를 보면, 파리고추를 제외한 4가지 품종에서는 함량에 있어서 일정한 순서를 갖고 있지 않았다. 하지만 파리고추는 세 가지 flavonoids 모두 가장 높은 함유량을 갖고 있는 것을 확인할 수 있다.

Lee 등(32), Michael 등(28)의 green pepper의 flavonoids 분석

**Table 2. Flavonoid contents of methanol extract from various green peppers**  
(unit: mg/g dry basis)

Variety	Flavonoids		
	Luteolin	Quercetin	Apigenin
PP <sup>1)</sup>	0.39±0.01 <sup>c</sup>	0.36±0.01 <sup>d</sup>	0.13±0.02 <sup>b</sup>
CP	0.46±0.01 <sup>b</sup>	0.43±0.01 <sup>b</sup>	0.09±0.01 <sup>c</sup>
KP	0.60±0.02 <sup>a</sup>	0.50±0.02 <sup>a</sup>	0.15±0.02 <sup>a</sup>
OP	0.31±0.01 <sup>c</sup>	0.33±0.01 <sup>c</sup>	0.08±0.01 <sup>d</sup>
JP	0.34±0.01 <sup>d</sup>	0.39±0.02 <sup>c</sup>	0.08±0.01 <sup>d</sup>

Results are shown as mean±SD

<sup>1)</sup>PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper

<sup>2)</sup>a,b,c,d: Different superscripts within columns are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test

결과를 보면 함량에 있어서 약간의 차이를 나타내고 있다. 이는 고추 개체 간, 시료의 성숙도, 재배 시기 등에 의한 영향을 받은 것으로 사료된다(33,34).

**비타민 C**

대표적인 항산화물질인 비타민 C는 세포에 독성을 나타내지 않고 암 예방 효과를 주는 영양소로 인체 내에서 생성되는 자유라디칼의 위험을 감소시킨다(35).

고추는 가장 높은 비타민 C를 함유하고 있는 채소 중 하나로 알려져 왔다(36). 고추의 비타민 C는 생고추에 46-243 mg/100 g이 함유되어 있는 것으로 보고되었다(37). Sviribeley 등(38)이 보고한 바에 따르면, 고추의 비타민 C는 오렌지 보다 6배 높다고 하였다.

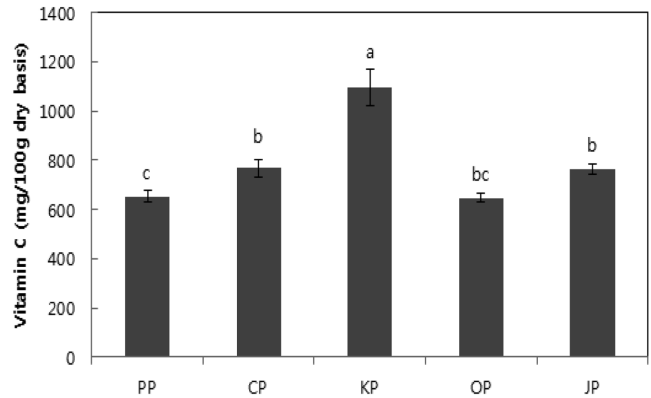
본 연구에서는 메탄올 추출 전·후의 비타민 C 함량의 변화를 살펴보기 위하여, 생고추와 메탄올 추출물의 비타민 C를 각각 측정하였다. 먼저 생고추의 경우, 건조 중량 100 g 당 1000-2100 mg 정도의 비타민 C를 함유하고 있다. 파리고추가 1095 mg으로 가장 높은 비타민 C를 함유하고 있었으며, 오이고추가 647 mg으로 가장 적은 비타민 C를 함유하고 있음을 확인하였다(Fig 1). 이에 추출과정을 거치면서 약 50% 정도의 비타민 C의 손실이 발생하는 것을 확인할 수 있다. 이는 비타민 C가 pH, 온도, 빛, 효소의 유무, 산소, 금속 이온의 유무 등에 따라서 쉽게 파괴되는 성질을 갖고 있기 때문인 것으로 사료된다(34).

비타민 C는 품종, 성숙도, 수확 후 취급방법, 분석방법 등에 따라 함량의 차이가 나타나는 것으로 알려져 있다(37). 또한 Markus 등(39)은 고추 수확시기에 따라 비타민 C 함량의 차이를 보고하였다. 이는 비타민 C가 수용성 비타민으로 수분감소 일조시간 등 여러 환경 요인에 의해 쉽게 파괴되는 성질에서 기인된 것으로 판단되고 있다. 실험에서 사용한 고추는 온실재배를 하였더라도, 여름에 비해 비교적 일조량이 적은 11월에 재배된 것이므로, 이에 대한 영향을 받았을 것으로 보인다.

**총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석**

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포하며 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있는데, 이들은 항산화, 항암, 및 심장질환 예방 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(32,40-43).

5가지 품종의 green pepper에 함유된 폴리페놀의 양을 gallic acid의 양으로 환산하여 표시한 결과(Table 4), 할라피뇨에서 13.39 ± 1.71 mg gallic acid/g dry basis로 가장 높게 측정되었으며 다음으로 파리고추가 13.29 ± 0.45 mg gallic acid/g dry basis로 측정되었으나, 5가지 품종간의 유의적이 차이는 나타나지 않았다. 권



**Fig. 1. Contents of vitamin C in green pepper extracts.** Results are shown as mean±SD. PP: Phut Pepper, CP: Cheonyang Pepper, KP: Kkuari Pepper, OP: Ohi Pepper, JP: Jalapeno Pepper. a,b,c,d: Different superscripts within columns are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test

**Table 3. Total polyphenol and total flavonoid contents of methanol extract from various green peppers**  
(unit: mg/g dry basis)

Variety	Total polyphenol (Gallic acid mg/g)	Total flavonoid (Quercetin mg/g)
PP <sup>1)</sup>	13.19±0.39 <sup>2)</sup>	3.04±0.09 <sup>d</sup>
CP	12.61±0.43 <sup>a</sup>	4.25±0.11 <sup>c</sup>
KP	13.29±0.45 <sup>a</sup>	7.02±0.13 <sup>a</sup>
OP	12.40±0.62 <sup>a</sup>	4.65±0.02 <sup>b</sup>
JP	13.39±1.71 <sup>a</sup>	1.57±0.01 <sup>c</sup>

Results are shown as mean±SD

<sup>1)</sup>PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper

<sup>2)</sup>Different superscripts within columns are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test

(33)의 연구에서 한국산 red pepper 6가지 품종별 폴리페놀의 양은 약 5-7 mg gallic acid/g dry basis로 측정되었다. 이로 보아 green pepper의 폴리페놀의 함량이 red pepper보다 높게 측정되는 것을 알 수 있는데, 이는 Conforti 등(2007)의 연구와 비슷한 결과를 나타내고 있다(34).

플라보노이드는 diphenylpropanes(C6-C3-C6)의 골격구조로 되어 있으며, 야채류, 과일류, 종실류 등 식물계에 널리 분포되어 있다(44). Green pepper 추출물의 총 플라보노이드 함량을 살펴보면(Table 3), 파리고추가 7.02 ± 0.13 mg quercetin/g(dry basis)으로 유의적으로 가장 높게 측정되었고, 할라피뇨가 1.57 ± 0.01 mg quercetin/g(dry basis)로 가장 적게 측정되었다. 할라피뇨가 총 페놀의 함량은 가장 높았던 반면, 총 플라보노이드 함량이 가장 적은 것으로 보아 할라피뇨 안의 페놀 성분 중에 플라보노이드를 제외한 다른 페놀의 함량이 많을 것으로 보인다. 이러한 결과는 Lee 등(32)의 연구결과에서도 비슷한데, 12 품종의 capsicum annum을 측정한 결과, 할라피뇨의 모든 품종에서 가장 적은 flavonoids를 함유하고 있었다.

Chun 등(45)은 30종 이상의 과일과 야채의 총 페놀과 플라보노이드 함량을 측정한 결과, asparagus가 64.15 ± 2.46 mg gallic acid/100 g fresh matter, bell pepper가 52.49 ± 1.07 mg gallic acid/100 g fresh matter의 총 폴리페놀 함량을 갖고 있었다. 총 페놀 함량은 그 식품의 총 항산화력에 기여하는 바가 매우 높은 것으로 보고되었는데(46), 이 점을 고려한다면, green pepper의 총 항

**Table 4. DPPH radical scavenging activity of methanol extract from various green peppers**

(unit: %)

Variety	DPPH radical scavenging activity				
	200 µg/mL	400 µg/mL	600 µg/mL	800 µg/mL	1000 µg/mL
PP <sup>1)</sup>	2.45±0.89 <sup>b</sup>	5.56±1.04 <sup>c</sup>	8.32±0.89 <sup>d</sup>	11.83±1.01 <sup>c</sup>	17.13±1.02 <sup>c</sup>
CP	6.25±0.76 <sup>a</sup>	10.04±1.20 <sup>b</sup>	13.42±0.92 <sup>c</sup>	17.17±1.59 <sup>b</sup>	22.29±1.91 <sup>b</sup>
KP	7.99±1.57 <sup>a</sup>	17.17±0.33 <sup>a</sup>	23.72±0.75 <sup>a</sup>	32.33±2.47 <sup>a</sup>	40.85±0.98 <sup>a</sup>
OP	1.39±0.71 <sup>b</sup>	4.88±0.88 <sup>c</sup>	7.71±1.23 <sup>d</sup>	10.93±0.62 <sup>c</sup>	15.77±1.53 <sup>c</sup>
JP	6.51±1.12 <sup>a</sup>	10.84±0.26 <sup>b</sup>	16.36±2.34 <sup>b</sup>	18.07±0.41 <sup>b</sup>	21.98±1.27 <sup>b</sup>

Results are shown as mean±SD

<sup>1)</sup>PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper<sup>2)</sup>Different superscripts within columns are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test**Table 5. ABTS radical scavenging activity of methanol extract from various green peppers**

(unit: %)

Variety	ABTS radical scavenging activity		
	250 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL
PP <sup>1)</sup>	3.67±1.04 <sup>abc</sup>	7.51±1.22 <sup>b</sup>	18.15±0.59 <sup>b</sup>
CP	4.87±1.06 <sup>a</sup>	8.11±1.36 <sup>b</sup>	17.36±0.73 <sup>b</sup>
KP	4.50±0.16 <sup>ab</sup>	11.39±1.51 <sup>a</sup>	20.37±0.80 <sup>a</sup>
OP	2.96±0.82 <sup>c</sup>	5.18±0.36 <sup>c</sup>	10.98±0.83 <sup>d</sup>
JP	3.23±0.41 <sup>bc</sup>	7.60±1.03 <sup>b</sup>	14.45±2.12 <sup>c</sup>

Results are shown as mean±SD

<sup>1)</sup>PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper<sup>2)</sup>Different superscripts within columns are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test**Table 6. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (mg VCEAC/g, dry basis) of methanol extract from various green peppers**

Variety	Antioxidant capacity	
	DPPH radical	ABTS radical
PP <sup>1)</sup>	3.72±0.21 <sup>c</sup>	27.50±0.95 <sup>a</sup>
CP	4.40±0.37 <sup>b</sup>	24.03±1.10 <sup>b</sup>
KP	8.07±0.19 <sup>a</sup>	28.96±1.22 <sup>a</sup>
OP	3.70±0.34 <sup>c</sup>	16.93±1.47 <sup>b</sup>
JP	4.61±0.26 <sup>b</sup>	20.89±3.37 <sup>b</sup>

Results are shown as mean±SD

<sup>1)</sup>PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper<sup>2)</sup>Different superscripts within columns are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test

산화력이 높을 것으로 사료되며, 이에 고추 추출물의 생리활성에 대한 효과가 기대된다.

#### DPPH radical scavenging activity

DPPH 자유기 소거 활성능 측정에는 항산화 활성 측정에서 많이 사용되는 방법이다.

Green pepper 추출물의 DPPH 자유기 소거 활성능을 측정된 결과, 농도에 따라 통계적으로 유의적인 효과를 보였다(Table 4). 품종별로 살펴보면, 5가지 품종 중에서 파리고추의 소거 활성능이 모든 농도에서 가장 높은 결과를 나타내었다.

한국산 red pepper의 품종별로 DPPH radical 소거능을 측정된 결과(47)에서, 1000 mg/mL 농도에서 약 20-40%의 소거활성을 나타내었다. 같은 농도에서 green pepper의 소거능이 15-40%를 나타내는 것과 비교하였을 때, red pepper와 green pepper의 DPPH radical 소거능이 비슷하다는 것을 알 수 있다.

Bor 등(48)의 연구에서 200 mg/mL 농도에서 양과가 4%의 소거활성을 보이며, 높은 항산화 및 항암능을 갖고 있는 것으로 알려진 벚섯은 8%의 전자공여활성을 나타내었다. 같은 농도에서 파리고추 역시 약 8%의 소거활성을 갖고 있는 것과 비교하면, 파리고추의 항산화 효과가 우수하다는 것을 확인할 수 있다.

#### ABTS radical scavenging activity

ABTS assay는 수용성 및 지용성 물질의 항산화 측정에 모두 적용할 수 있기 때문에 식품의 항산화 활성을 측정하는데 널리 사용되고 있다. 734 nm에서 최대의 흡광도를 가지는 ABTS와 시료를 반응시켜 나타나는 색변화를 측정하여 radical cation의 감소를 확인한다(49).

Green pepper 추출물의 ABTS 자유기 소거 활성능을 측정된 결

과는 Table 5와 같다. DPPH 라디칼 소거능에서와 마찬가지로, 파리고추가 5가지 품종 중에서 유의적으로 가장 높은 활성을 갖고 있었다.

VCEAC 환산값을 이용한 항산화력 공여도 측정 방법은 ABTS 자유기의 색변화로 추출물의 항산화력을 측정할 수 있는 간단한 방법이다(48). 비타민 C는 과일과 야채에 많이 함유되어 있으며, 이를 기준물질로써 나타내어 시료 간 항산화력을 비교하는 것은 매우 편리한 방법으로 사료된다. 그러나 Yoo 등(35)은 비타민 C가 수용성으로 극성 용매에 용해된다는 것을 고려하여 ABTS 자유기 소거 활성능뿐 아니라 DPPH 자유기 소거 활성능도 이같은 비타민 C를 기준으로 표현하는 것이 바람직하다고 하였다. 이에 ABTS 자유기 소거 활성능과 더불어 DPPH 자유기 소거 활성능을 비타민 C에 대비하여 VCEAC로 계산한 결과는 Table 6과 같다.

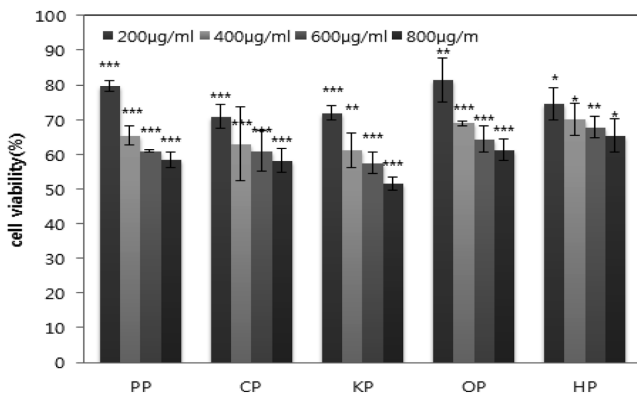
#### Green pepper의 기능성 성분과 항산화 활성 간의 상관관계

Pearson's correlation analysis를 실시하여 green pepper의 기능성 성분들과 자유기 소거 활성간의 상관관계를 측정하였다(Table 7). DPPH 라디칼 소거활성과 luteolin, quercetin, apigenin의 상관관계수는  $r=0.889$ ,  $r=0.977$ ,  $r=0.609$ 로 양의 상관관계를 나타내었다. 특히, DPPH와 quercetin은 가장 높은 상관성을 갖고 있었다. Hanasaki 등(50)의 연구에서 플라보노이드와 항산화 활성과의 상관관계를 비교한 결과, 플라보노이드와 자유기 소거 활성으로 인한 항산화 활성이 높은 관련이 있다는 연구 결과와 일치하였다.

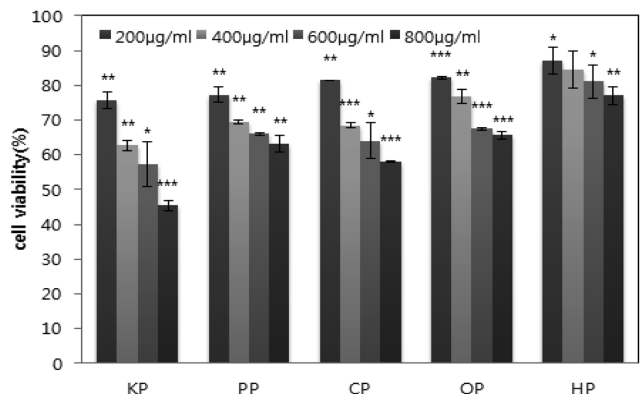
이러한 결과를 통하여 플라보노이드 함량과 항산화성의 상관관계가 크다는 것을 알 수 있고, 이에 따라 green pepper에 함유되어 있는 플라보노이드 성분으로 인한 항산화 작용 효과를 짐작할 수 있다.

**Table 7. Correlation coefficients between the contents of functional substances and antioxidant effects by DPPH, ABTS assay from green pepper extracts**

	Luteolin	Quercetin	Apigenin	Vitamin C	Total Polyphenol	Total flavonoid	DPPH	ABTS
Luteolin								
Quercetin	0.917*							
Apigenin	0.511	0.529						
Vitamin C	0.891*	0.993**	0.559					
Total polyphenol	0.293	0.413	0.928*	0.435				
Total flavonoid	0.816	0.698	0.088	0.698	-0.217			
DPPH	0.889*	0.977**	0.609	0.994*	0.461	0.712		
ABTS	0.773	0.610	0.718	0.560	0.591	0.335	0.562	



**Fig. 2. Effect of methanol extract from various green pepper on cell viability in MCF-7 cells.** Results are shown as mean±SD. 1) PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper. \* significantly different from the values of control at  $p<0.05$ , \*\* significantly different from the values of control at  $p<0.01$ , \*\*\* significantly different from the values of control at  $p<0.001$



**Fig. 3. Effect of methanol extract from various green pepper on cell viability in MDA-MB-231 cells.** Results are shown as mean±SD. 1) PP: Phut pepper, CP: Cheonyang pepper, KP: Kkuari pepper, OP: Ohi pepper, JP: Jalapeno pepper. \* significantly different from the values of control at  $p<0.05$ , \*\* significantly different from the values of control at  $p<0.01$ , \*\*\* significantly different from the values of control at  $p<0.001$

**Antiproliferative activity**

유방암의 약 60%는 estrogen receptor(ER) positive이며, 특정 단백질(ER)을 타겟으로 하는 anti-estrogen 치료로서, 더 좋은 예후를 갖고 있다. 그러나 ER-negative한 유방암은 공격성이 더 강하며 anti-estrogens 치료에 있어서 큰 효과를 갖고 있지 않다(51-54). 때문에 항암치료제로서의 물질의 억제 효과를 측정할 때, ER-positive와 ER-negative한 세포에서 모두 효과를 나타내는지 확인할 필요가 있다. 이에 ER-positive한 MCF-7과 ER-negative한 MDA-MB-231 세포를 사용하여 green pepper 추출물의 암세포 증식 억제 효과를 측정하였다. MCF-7, MDA-MB-231 세포에 200-800 µg/mL 농도로 green pepper 추출물을 처리하여 72시간 동안 배양하여 억제효과를 측정된 결과는 Fig. 2, Fig. 3와 같다. 유방암 세포주에 대한 methanol 추출물의 암세포 증식 억제율은 MCF-7에서 파리고추(800 µg/mL)에서 약 50%, MDA-MB-231에서 파리고추(800 µg/mL)가 약 45%, 청양고추(800 µg/mL)가 55%로 높은 증식억제 활성을 보였다. Kwon 등(55)의 연구에서 항암능이 높다고 알려진 상황버섯 균사체 에탄올 추출물(1000 µg/mL)의 세포 생존율이 약 81%로 측정된 결과와 비교해 볼 때 보다 높은 유방암 세포 억제효과를 갖고 있음을 알 수 있다. 두 세포에서 모두 농도 의존적으로 세포 증식 억제 효과가 있는 것을 확인할 수 있다. 품종별로 비교해 보면, 기능성 성분과 함께 라디칼 소거 활성능이 가장 좋았던 파리고추 추출물이 암세포의 성장 저해능 또한 가장 높았다. 이에 호르몬의 의존성과 상관없이 유방암 세포

**Table 8. Effect of methanol extract from various green peppers on cell viability in MCF-7 cells and MDA-MB-231 cells**

Variety	IC <sub>50</sub> <sup>2)</sup> (unit: µg/mL)	
	MCF-7	MDA-MB-231
PP <sup>1)</sup>	970.85	1336.62
CP	1159.20	962.53
KP	826.07	719.58
OP	1083.48	1281.15
JP	1820.95	2429.17

<sup>1)</sup>PP: Phut Pepper, CP: Cheonyang Pepper, KP: Kkuari Pepper, OP: Ohi Pepper, JP: Jalapeno Pepper

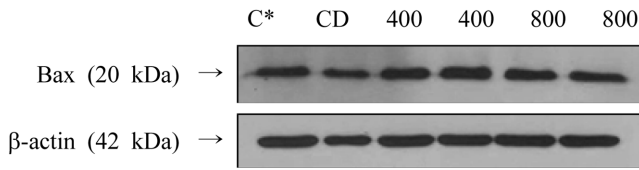
<sup>2)</sup>IC<sub>50</sub> is the concentration 50% inhibition of cell proliferation in MCF-7, MDA-MB-231 cell

에서 green pepper 추출물이 암세포의 성장 억제능을 갖고 있다고 사료된다.

Green pepper 추출물의 유방암 세포 성장 억제효과를 IC<sub>50</sub> 값으로 계산한 결과를 살펴보면(Table 8), 파리고추 추출물의 IC<sub>50</sub>이 MCF-7 세포에서 826.07 µg/mL, MDA-MB-231 세포에서 719.58 µg/mL로 다른 품종에 비해 암세포 증식 억제효과가 우수함을 알 수 있었다.

**Apoptosis 측정**

세포 내적·외적 신호에 의해서 apoptosis가 일어나게 되고, 이



**Fig. 4. Bax induced by Kkuari pepper in MCF-7.** \*C: Control, CD: Control with 0.5% DMSO, 400: 400 µg/mL, 800: µg/mL

러한 apoptosis의 유발에는 caspase cascade를 비롯하여 Bcl-2, Bax 등의 단백질이 관여하며, 이와 관련된 다양한 연구가 활발히 진행되고 있다(56,57). 세포 내적 pathway에서 Bcl-2 family 단백질은 미토콘드리아 내막에 위치하며, anti-apoptotic, pro-apoptotic의 기능을 가진 단백질로 이루어져 있다. Anti-apoptotic Bcl-2 family는 apoptosis를 억제하는 기능을 가지며, Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w 등이 있고, 반대로 apoptosis를 유도하는 pro-apoptotic Bcl-2 family로는 Bax, Bak, Box, Bid 등이 있다(58).

유방암 세포 MCF-7 에서의 apoptosis 여부를 알아보기 위하여 파리고추 추출물을 400 µg/mL과 800 µg/mL 농도로 처리하여 Bax 단백질의 발현을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 대조군과 비교하여 보았을 때, 발현 정도가 더 나타난 것으로 보아, 파리고추로 인한 apoptosis가 일어나는 것을 확인 할 수 있었다.

Caspase-3는 세포질 내에서 핵 안의 PARP로 이어지는 mechanism을 가지고 있다. 즉, 세포 밖의 다양한 조건이나 약물로 인해 caspase-8이 발현되고 이것은 caspase-3으로 이어진다. 이렇게 발현된 caspase-3가 활성화(activation)되면서 cleaved caspase-3로 바뀌고, 세포내의 단백질 PARP(poly ADP-ribose polymerase)의 분해를 촉진시켜 apoptosis를 일으키게 된다(56,59). 이에 파리고추 추출물을 처리하여 유방암 세포내에서 apoptosis로 인하여 활성화되어 cleavage 된 caspase-3와 PARP를 측정하였다.

유방암세포 MCF-7에 파리고추 추출물 400 µg/mL과 800 µg/mL로 처리한 결과, caspase-3가 cleavage되어 17 kDa과 19 kDa에서 발현되었으며(Fig 5), PARP는 효소가 발현되면서 116 kDa가 85 kDa으로 떨어지면서 활성화 되는 것을 확인할 수 있었다(Fig 6).

따라서 파리고추 추출물이 유방암세포에서 세포질 내의 caspase-3 축진을 유도하고, 이렇게 발현된 caspase-3의 활성화로 PARP의

발현이 촉진되어 apoptosis 형태의 세포사멸을 유도하는 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 국내외 품종별 green pepper에 있는 총 폴리페놀, 총 플라보노이드를 비롯하여 고추에 주로 함유된 flavonoids인 quercetin, luteolin, apigenin의 양을 측정하고, 이들로 인한 항산화 효과와 더불어 유방암 세포에서의 세포 증식 억제능을 측정하였다. 이에 국내산 green pepper의 flavonoids에 대한 기초 자료를 제공하고, 이들의 항산화 및 유방암을 비롯한 다양한 질병의 예방에 있어 잠재적인 가치를 알아보고자 하였다.

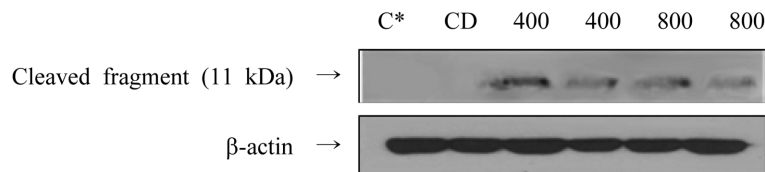
풋고추, 청양고추, 파리고추, 오이고추, 할라피노 5종의 기능성 성분으로 flavonoids 와 vitamin C 함량을 측정된 결과, 주요 플라보노이드는 luteolin, quercetin, apigenin 이었으며, 대부분의 고추에서 luteolin의 함량이 가장 높고, quercetin, apigenin의 순으로 함유되어 있었다. 5가지 품종의 고추 가운데 파리고추에서 luteolin, quercetin, apigenin의 함량이 유의적으로 가장 높게 나타났다. 비타민 C의 함량은 파리고추가 가장 높았으며, 청양고추, 할라피노, 풋고추, 오이고추의 순으로 나타났다.

5가지 품종의 green pepper에 함유된 총 폴리페놀의 양은 할라피노가 가장 높게 측정되었으며 다음으로 파리고추가 높은 함량이 측정되었으나, 품종간의 유의적이 차이는 나타나지 않았다. 총 플라보노이드의 함량은 파리고추가 유의적으로 가장 높게 측정되었고, 할라피노가 가장 적게 측정되었다.

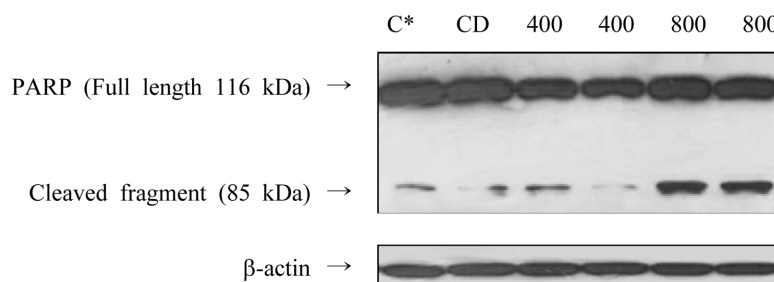
Green pepper 추출물의 DPPH, ABTS 자유기 소거 활성능을 측정된 결과, 농도에 따라 통계적으로 유의적인 효과를 보였다. 품종별로 살펴보면, 5가지 품종 중에서 파리고추의 소거 활성능이 모든 농도에서 가장 높은 결과를 나타내었다.

Green pepper 추출물의 세포 증식 억제 효과를 측정하기 위하여 유방암 세포 MCF-7과 MDA-MB-231 세포를 사용한 결과, 두 세포에서 모두 농도 의존적으로 세포 증식 억제 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다.

기능성 성분과 함께 라디칼 소거 활성능이 가장 좋았던 파리고추 추출물에서 가장 낮은 IC50 값(MCF-7: 826.07 µg/mL, MDA-MB-231: 719.58 µg/mL)을 나타내어 다른 품종에 비해 우수



**Fig. 5. Cleaved caspase-3 induced by Kkuari pepper in MCF-7.** \*C: Control, CD: Control with 0.5% DMSO, 400: 400 µg/mL, 800 : µg/mL



**Fig. 6. PARP cleavage induced by Kkuari pepper in MCF-7.** \*C: Control, CD: Control with 0.5% DMSO, 400: 400 µg/mL, 800: µg/mL

한 증식 억제효과를 보였다.

파리고추 추출물을 처리하여 유방암 세포주 MCF-7에서의 apoptosis 유도 단백질을 측정 한 결과, Bax, cleaved caspase-3, PARP가 발현되어 파리고추 추출물이 apoptosis 형태의 세포 사멸을 유도하는 것을 확인하였다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, green pepper에는 luteolin, quercetin, apigenin의 flavonoids를 비롯하여 vitamin C와 같은 기능성 성분과 페놀 화합물이 풍부하게 함유되어 있으며, 항산화 및 항암 효과가 있음을 확인하였다. 특히 파리고추는 5가지 품종의 green pepper 가운데 가장 우수한 항산화 및 항암능을 나타내었다. 또한 apoptosis 형태의 세포 사멸을 유도하는 것으로 보아 유방암의 치료 및 예방에 잠재적인 효과를 기대해 볼 수 있을 것이다. 하지만 *in vitro* 실험의 한계점이 있을 것으로 생각되며, *in vivo*에 대한 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 문 헌

- Surh YJ, Lee SS. Capsaicin, a double-edged sword: toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sci.* 56: 1845-1855 (1995)
- Song W, Derito CM, Liu K, He S, Liu RH. Cellular antioxidant activity of common vegetables. *J. Agr. Food Chem.* 58: 6621-6629 (2010)
- Kim JP, Kim EH, Kim SU, Kwon TK, Choi KS. Capsaicin sensitizes malignant glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis via DR5 upregulation and survivin downregulation. *Carcinogenesis.* 31: 367-375 (2010)
- Surh YJ, Han SS, Keum YS, Seo HJ, Lee SS. Inhibitory effects of curcumin and capsaicin on phorbol ester-induced activation of enkaryotic transcription factors, NF-Kappa and AP-1. *Biofactors.* 107-112 (2000)
- Dixon RA. The phytoalexin in response: elicitation, signalling and control of host gene expression. *Biological Reviews.* 61: 239-291 (1986)
- Laks PE, Pruner MS. Flavonoid biocides: structure/activity relations of flavonoid phytoalexin in analogues. *Phytochemistry.* 28: 87-91 (1989)
- Keller RB. Flavonoids: biosynthesis, biological effects and dietary sources. Nova science publishers. Hauppauge, NY, USA. pp. 24-52 (2009)
- Havesteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem. Pharmacol.* 32: 1141-1148 (1983)
- Verma AK, Johnson JA, Gould MN. Inhibition of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene- and af-nitrosomethylurea-induced rat mammary cancer by dietary flavonol quercetin. *Cancer Res.* 48: 5754-5758 (1988)
- Hosokawa N, Hirayoshi K, Nakai A, Hosokawa Y, Marui N, Yoshida M, Sakai T, Nishino H, Kawai K. Flavonoids inhibit the expression of heat shock proteins. *Cell Struct Funct.* 15: 393-401 (1990)
- Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hoult JRS, Halliwell B. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability. *Biochemical Pharmacology.* 42: 1673-1681 (1991)
- Ratna WN, Simonelli JA. The action of dietary phytochemicals quercetin, catechin, resveratrol and naringenin on estrogen-mediated gene expression. *Life Sci.* 70: 1577-1589 (2002)
- Schlachterman A, Valle F, Wall KM, Azios NG, Castillo L, Morell L, Washington AV, Cubano LA, Dharmawardhane SF. Combined resveratrol, quercetin, and catechin treatment reduces breast tumor growth in a nude mouse model. *Transl. Oncol.* 1: 19-27 (2008)
- So FV, Guthrie N, Chambers AF, Carroll KK. Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen. *Cancer Lett.* 112: 127-133 (1997)
- Baila JC, Varnata F, Nicolasa JC, Habrioux G. Estrogenic and antiproliferative activities on MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids. *Cancer Lett.* 130(1-2): 209-216 (1998)
- Wang L, Ling Y, Chen Y, Li CL, Feng F, You QD, Lu L, Guo QL. Flavonoid baicalein suppresses adhesion, migration and invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Cancer Lett.* 297: 42-48 (2010)
- Choi EJ, Kim GH. Apigenin induces apoptosis through a mitochondria/caspase-pathway in human breast cancer MDA-MB-453 cells. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 44: 260-265 (2009)
- National Cancer Information Center. Cancer incidence. Available from: <http://www.cancer.gov/cancer/cancer/incidence/index.html>. Accessed Jun. 6, 2012.
- Stewart BW, Kleihues P. World cancer report lyon: WHO/International agency for research on cancer. 20: 175-178 (2003)
- Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Ram C, Ghafoor A, Feuer E, Thun M. Cancer statistics. *CA-Cancer J. Clin.* 55: 10-30 (2005)
- Ministry of Health & Welfare. Annual report of the central cancer registry in Korea. Ministry of Health & Welfare, Seoul, Korea. pp. 5-7 (2005)
- The department of health care services (DHCS). Breast cancer review: Detection and screening. Available from [http://gap.sdsu.edu/education/bcr/Bcr1\\_detectscreen/bcr1\\_detectscreen\\_index.html](http://gap.sdsu.edu/education/bcr/Bcr1_detectscreen/bcr1_detectscreen_index.html). Accessed Jun. 20, 2012.
- Jhons T, Romeo JT. Functionality of food phytochemicals, Recent *Adv. phytochem.* 33: 133-159 (1999)
- Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 15: 269-290 (1999)
- Reed JC. Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature.* 387: 773-776 (1997)
- Schuler M, Green DR. Mechanisms of p53-dependent apoptosis. *Biochem. Soc. Trans.* 29: 684-688 (2001)
- Reed JC, Korsmeyer SJ, Xiao Y, Yang E, Zha J, Sedlak T, Oltvai Z. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *Cell.* 74: 609-619 (1994)
- Michael GL, Hertog ML, Hollman P, Venema DP. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1591-1598 (1992)
- Singleton VL, Joseph A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16(3): 144-158 (1965)
- Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91(3): 571-577 (2005)
- Berg RVD, Haenen GRMM, Berg HVD, Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* 66(4): 511-517 (1999)
- Lee Y, Howard LR, Villalon B. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *J. Food Sci.* 60: 473-476 (1995)
- Kwon JE. Determination of biological activity on methanol extracts of capsicum annuum L. from different varieties. MS thesis, Gyeongbuk National University, Daegu, Korea (2011)
- Conforti F, Statti GA, Menichini F. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. *Food Chem.* 102: 1096-1104 (2007)
- Yoo KM, Lee KW, Park JB, Lee HJ, Hwang IK. Variation in major antioxidants and total antioxidant activity of Yuzu (*Citrus junos* Sieb ex Tanaka) during maturation and between cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 52: 5907-5913 (2004)
- Cho BC. The effects of growing periods and climatic factors on the characteristics red pepper (*Capsicum annuum* L.). PhD thesis, Korea University, Seoul, Korea (2010)
- Mozzafar A. Plant vitamins: agronomic, physiological and nutritional aspects. CRC press, Boca Raton, FL, USA. pp. 2-5 (1994)



38. Sviribeley JL, Szent-Gyorgyi A. The chemical structure of vitamin C. *Biochem. J.* 27: 100-104 (1933)
39. Markus F, Daood HG, Kapinty J, Biacs PA. Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (paprika) as a function of ripening and some technological factors. *J. Agric. Food Chem.* 47: 100-107 (1999)
40. Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Rio DD, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J. Nutr.* 133: 2812-2819 (2003)
41. Stoner GD, Mukhtar H. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J. Cell Biochem.* 59: 169-180 (1995)
42. Vijayaa K, Ananthan S, Nalinib R. Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camellia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp. - a cell culture study. *J. Ethnopharmacol.* 49: 115-118 (1995)
43. Hattori M, Kusumoto IT, Namba T, Ishigami T, Hara Y. Effect of tea polyphenols on glucosyltransferase from streptococcus mutans. *Chem. Pharm. Bulletin.* 38: 717-720 (1990)
44. Khnau J. The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* 24: 117-191 (1976)
45. Chun OK, Kim DO, Smith N, Schroeder D, Han JT, Lee CY. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *J. Sci. Food Agr.* 85: 1715-1724 (2005)
46. Winston GW, Giulioz RT. Prooxidant and antioxidant in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.* 19: 137-161 (1991)
47. Chen L, Hwang JE, Gu KM, Kim JH, Choi BR, Song KS, Park YM, Kang YH. Comparative study of antioxidant effects of five Korean varieties red pepper (*Capsicum annuum* L) extracts from various parts including placenta, stalk, and pericarp. *Food Sci. Biotechnol.* 21: 715-721 (2012)
48. Bor JY, Chen HY, Yen GC. Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 54: 1680-1686 (2006)
49. Yoo KM, Kim DO, Lee CY. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci. Biotechnol.* 16: 177-182 (2007)
50. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Bio. Med.* 16: 845-850 (1994)
51. Lee SN, Kang KJ. The effect of blueberry extract on gene expressions related to apoptosis in human breast cancer MCF7 cells. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* 20: 30-36 (2010)
52. Levy SM, Herberman RB, Maluish AM. Prognostic risk assessment in primary breast cancer by behavioral and immunological parameters. *Health Psychol.* 4: 99-113 (1985)
53. Lerner LJ, Jordan VC. Development of antiestrogens and their use in breast cancer: eighth cain memorial award lecture. *Cancer Res.* 50: 4177-4189 (1990)
54. Rochefort H, Capony F, Garcia M, Cavaills V, Freiss G, Chambon M, Morisset M, Vignon F. Estrogen-induced lysosomal proteases secreted by breast cancer cells: A role in carcinogenesis?. *J. Cell. Biochem.* 35: 17-29 (1987)
55. Kwon SH, Kim CN, Kim CY, Kwon ST, Park KM, Hwangbo S. Antitumor activities of protein-bound polysaccharide extracted from mycelia of mushroom. *Korean J. Food Nutr.* 16: 15-21 (2003)
56. Chiarugi V, Magnelli L, Turchetti A, Cinelli M, Cavari S, Ruggiero M. Cell survival and death programmes. *Pharmacol. Res.* 29: 101-110 (1994)
57. Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell.* 88: 355-365 (1997)
58. Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Gene Dev.* 13: 1899-1911 (1999)
59. Gorman A, Hirt U, Orrenius S, Ceccatelli S. Dexamethasone pretreatment interferes with apoptotic death in glioma cells. *Neuroscience.* 96: 417-425 (2000)
60. Ruvo C, Amodio R, Algeri S, Martelli N, Intilangelo A, D'Ancona G, Esposito E. Nutritional antioxidants as antidegenerative agents. *Int. J. Devl. Neuroscience.* 18: 359-366 (2000)
61. MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: a review. *J. Sci. Food Agr.* 86: 2046-2056 (2006)
62. Biglari F, Abbas FM, Alkarkhi AM. Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chem.* 107: 1636-1641 (2008)
63. Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH, Kim DG. Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 22: 13-19 (2002)
64. Sheikh MS, Shao AM, Li XS, Ordonez JV, Conley BA, Wu S, Dawson MI, Han QX, Chao WR, Quick T, Niles RM, Fontana JA. N-(4-hydroxyphenyl)retinamide (4-HPR)-mediated biological actions involve retinoid receptor-independent pathways in human breast carcinoma. *Carcinogenesis.* 16: 2477-2486 (1995)
65. Wanga X, Yuana S, Wanga J, Lina P, Liub G, Lua Y, Zhanga J, Wangc W, Weid Y. Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer *in vitro* and *in vivo*. *Toxicol. Appl. Pharm.* 215: 166-178 (2006)
66. Stoner GD. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J. Cell. Biochem.* 59: 169-180 (2004)