



SINCE 1992  
KITTOLIFE



# Kittolife

HEALTH FROM NATURE LOVE OUR NEIGHBORS  
CONTINUAL FOCUSED RESEARCH

[www.kittolife.co.kr](http://www.kittolife.co.kr)

# 人和，正直，創造



## 자연과 생명을 존중하는 '키토라이프' 가 고객의 건강한 미래를 만들어 갑니다!

(주)키토라이프는 자연과 인간의 조화를 통하여 건강한 삶을 영위하기 위해 다양한 생명공학제품을 개발하는 바이오 벤처기업입니다.

1992년 설립 이래로 천연자원물질인 키토산과 키토올리고당 연구에 주력하여 왔으며 화장품, 생활용품, 건강기능식품, 연구용시약, 의약품 중간체 등 다양한 고부가가치 제품을 연구 개발하고 있습니다.

(주)키토라이프는 생명공학분야에서도 해양바이오테크놀로지를 활용한 미래형 의약품, 신물질, 신소재 개발을 통하여 생명공학분야의 세계화 의지를 실천하고 있으며, 끊임없는 연구개발과 양질의 원료, 최신설비 시스템으로 최고의 제품만을 만들고 있습니다.

(주)키토라이프는 생명존중 철학을 바탕으로 21세기 인류의 건강과 복지를 책임지는 세계적인 기업으로 뻗어 나갈 것입니다.

감사합니다.

(주)키토라이프 대표이사

## Achievement

### 2020's

- 1992** 키토라이프 설립  
법인전환
- 1996** 세계최초 100% 효소분해 키토산올리고당 양산화 성공  
(해양수산부 수산특정과제 수행)
- 1997** 신약 개발팀 출범  
(Water soluble chitosan nanoparticle for delivering anticancer agent and preparing method thereof)
- 1999** 한국 과학기술부-국산 신기술 인증 KT마크 획득  
(의학 생명 공학부문제 0571호)  
기술연구소(평택) / 고압 유전자연구소(부산) / 팜 연구소 설립(순천)
- 2000** 평택 칠괴공단 신축 공장 준공,  
벤처기업/경기 중소기업 대상/기보 유망중소기업선정/해양수산부장관상 수상
- 2001** 세계 최초 키토올리고당 생산기술 관련 특허등록(제0192308호)  
미국 FDA 승인/일본 후생성 승인/우량 기술 기업 선정/ ISO 9001
- 2002** 의약품 키토산 s-FACOS 개발 완료 / INNO BIZ 기업
- 2003** 산학협동 특별상 수상 / 대통령직속 중소기업 특별위원회 표창 /  
식약청장 수상 / 국무총리 표창
- 2004** 수용성 유리아민 키토산 ( s-FACOS ) 제조 기술 특허등록(제0441270호)
- 2005** 과학기술부 NET마크 획득(제 K064호)
- 2006** 항암제의 전달체용 수용성 키토산 나노입자 및 그 제조 방법 특허등록(제 578382호)  
메톡시 폴리에틸렌글리콜이 그래프트된 키토산 공중 합체  
메토티렉세이트가 담지된 고분자 미셀 및 이의 제조방법 특허등
- 2007** 트랜스페린 수용체 영상제제 및 그 제조방법 특허등록 (제735740호)(조영제)  
시프로플록사신이 담지된 폴리락타이드글리콜라이드  
공중합체의 서방출 및 생분해성 나노입자 및 그 제조방법 특허등록  
항암제가 봉입된 소수성 담즙산이 결합된 친수성 키토산  
나노입자 및 그 제조 방법 특허등록 (제762954호)
- 2008** Method for preparing water-soluble free amine chitosan  
US 7,345,165 B2, 미국, 영국, 중국등 특허 등록 ( 외 32건)
- 2009** KITTOTAXOL 인도 K-LAB기술이전 ( 2009. 11. 14 )  
비만 전구세포 분화 억제 임상 (강남 카톨릭 성모병원)  
표적 리간드로서 폴릭산이 도입된 유전자 전달체용 저분자량 수용성 키토산  
나노입자 및 이의 제조방법 특허등록 (제0882611호)
- 2010** 보건가족부장관상수상/산업기술진흥협회기술경영인상
- 2011** 비만 전구세포 분화 억제 임상 완료 (강남 카톨릭 성모병원)
- 2012** 식약청 개별인증(내장 복부 지방 감소)  
성체줄기세포 배양(SCM) (코스메슈티칼, 양모)
- 2013** 청년 비만 임상실험 진행 ( 02 . 15 ), 임상완료( 07. 06 )  
러시아 DIPLOMAT Clinic 수출계약 ( 10. 03 )  
제로존 다이어트 식약처 개별인증, 출시  
농림식품부 잣송이 비만개선(체지방감소) 전임상 실험 완료  
농림식품부 anthocyanin 유도체 안구건조및 시력 개선제 소재 개발
- 2015** 러시아 국가 인증  
anthocyanin 유도체 소재 전임상 실험 진행 중.
- 2016** 농림식품부 잣송이 비만개선(체지방감소) 임상 중  
anthocyanin 유도체(안구건조 및 시력개선) 전임상 완료.
- 2017** anthocyanin 유도체(안구건조 및 시력개선) IRB 승인, 임상 진행.  
아스퍼질러스속 균 유래의 조효소를 이용하는 안토시아닌올리고머의 제조방법 특허등록(제10-1756123호)
- 2018** anthocyanin 유도체(안구건조 및 시력개선) 소재 임상 완료
- 2019** anthocyanin 유도체(안구건조 및 시력개선) 식약처 개별인증(제2019-27호)  
독일특허등록(11 2016 006 321)  
anthocyanin 유도체 신기술(NET) 신청
- 2020** anthocyanin 유도체 농림식품 신기술(NET) 인증 인증번호: 제32-080호(2020.05.29)  
미국특허등록(US 10,774,351 B2)



# 건강한 세상, 건강한 기업

## licence / Certification / Grape



USA Patent



영국특허(2005)



중국특허



제0291308호  
(2단계 반응시스템)



제0441270호  
(유리아민키토산)



제578382호  
(항암제의 전달체용..)



제735740호  
(트랜스페린 수용체..)



제735826호(NAG)



제780014호  
(교순도 수용성 키토올리고당)



인도 특허증



일본 특허증



제1062799호

# -(주)키토라이프

자연을 소중히 하며 고객의 건강을 위해 끊임없이 노력합니다.



체지방감소  
기능성원료인정서



기술연구소인증서



벤처기업확인서  
(2012)



신기술인증서  
(2006.NET)



INNO-BIZ



ISO 인증서



ISO 인증서



경기중소기업대상



국무총리표창장



식약청장상



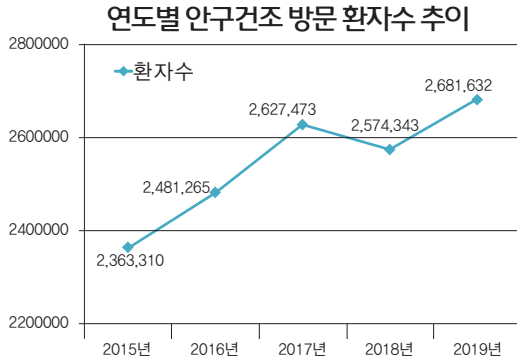
신지식인 표창



해양수산부상

## 안구건조증이란?

눈물이 부족하거나 눈물이 지나치게 증발하거나 눈물 구성 성분의 균형이 맞지 않아서 생기는 눈의 질환입니다. 안구건조증이 있으면 안구 표면이 손상되고 눈에 자극감, 이물감, 건조감 같은 자극 증상을 느끼게 됩니다.

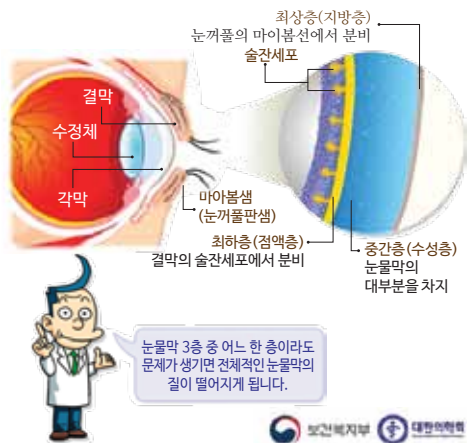


출처 [건강보험심사평가원 국민관심질병통계]

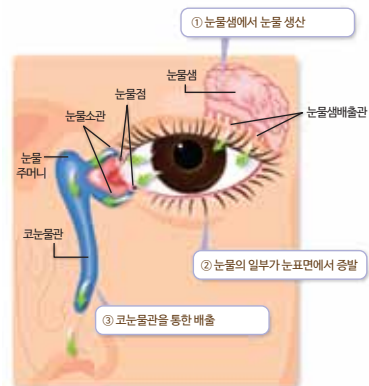
## 안구건조증의 원인은?

- “눈물의 분비량이 적음 = 양적 이상과 눈물의 성분이나 눈의 표면에 문제가 있다 = 질적 이상” 2가지에 있습니다.
- 눈물은 안구의 표면을 덮고 안구를 보호 장벽 같은 것. 따라서 눈물의 양과 질에 이상이 있으면 눈의 건강에 큰 영향을 미칩니다.
  - 눈물은 본래 수분의 증발을 방지 피막의 역할을 하는 “지방층”.
  - 눈을 촉촉하게 덮고 있는 “수성층”.
  - 각막에 눈물을 보급하고 안정시키는 ‘뮤신(점액)층’이라는 3개의 층으로 구성되어 있습니다.

〈그림 눈물막의 구성〉



〈눈물의 생산과 소실과정〉

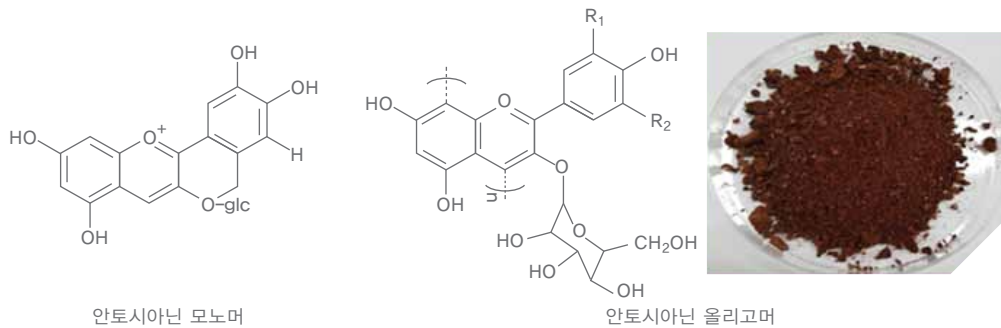


출처 [질병관리본부 국가건강정보포털]

## 안토시아닌 올리고머란? 안토시아닌 모노머 2~7분자가 결합된 구조입니다.

### 모노머와 어떤 차이점이 있나요?

안토시아닌 모노머는 중성 또는 알칼리성 용액에서 불안정하고 빛에 노출 시 구조적으로 불안정해져 고유 기능이 저하됩니다. 따라서 추출공정에서 산성과 암실환경이 필수적입니다. 반면, 안토시아닌 올리고머는 모노머에 비해 빛과 열에 안정하며 효과적인 생리활성을 가집니다.



## 포도과피 효소발효추출물(KL-GEFE)이란?

제조원 및 판매원 : (주)키토라이프

- 세계최초 “건조한 눈 개선”기능성을 가진 식약처로부터 개별인정받은 건강기능식품 기능성 원료.
- “포도과피 효소발효추출물(KL-GEFE)”은 동물시험, 안전성시험, 인체적용시험을 거쳐 식약처로부터 개별인정받음.
- 기능성 : “건조한 눈을 개선하여 눈 건강에 도움을 줄 수 있음” - 일일섭취량 : 800mg/일
- 농림축산식품부 농림식품 신기술 인증(NET) 획득 인증일 : 20.05.29 인증번호 : 32-080

### 농림식품 신기술 [NET]인증제도 란?

농산업체 또는 연구기관, 대학 등에서 개발한 농림 식품과학기술 중 국내에서 최초로 개발하거나 기존의 기술을 혁신적으로 개선, 개량한 우수한 기술을 국가에서 인증하는 제도

번호	기술분야		기술명	기관명	대표자	유효기간
	대분류	중분류				
2	식품 기술	기능성·영양	효소를 이용한 안토시아닌 올리고머 제조기술	(주)키토라이프	정특래	2년

내용 : 자연계에 많이 함유되어 있는 천연색소인 안토시아닌의 불안정성을 효소(발효)기술을 이용하여 안토시아닌의 용매 불안정, 온도 또는 빛 노출시 파괴되는 단점을 개선\*한 천연물소재로써 안구건조증, 눈의 피로와 안정에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품 원료\*\* 개발함

\*겔투과크로마토그래피(GPC) 분석법과 말디토프 질량분석법 (MALDI-TOF MS) 측정결과, 분자량 2,055의 약 7 당까지 올리고머로써 온도 비교시험(25℃와 37℃) 과 산화스트레스 시험(t-BHP처리)에서 대조군 모노머에 비해 안정성이 더 우수함을 확인

\*\*식약처 개별인정 획득(인정번호 제2019-27호, 2919.11.11.)

특징 : 본 기술은 효소(발효)기술을 이용하여 안토시아닌 올리고머를 제조하여 안전성 및 동물실험과 인체적용 시험을 통해 식품의약품안전처로부터 건강기능식품 원료 개별인정을 획득(인정번호 제2019-27호) 항산화 및 항염증 활성이 매우 우수하고, 독성실험결과 안전성을 확인하였으며, 인체적용시험결과 눈물량(Schirmer test)과 눈물막파괴시간(TBUT)의 증가, 비침습성 눈물막파괴시간(NIKBUT) 및 안구표면질산화수(OSDI)의 유의한 개선 효과를 확인함 기준규격 검사, 소재의 표준화 유통기한 설정시험, 독성에 대한 안전성시험, 건강기능식품 대량 생산체계 구축함 적용제품의 개요 : 적용제품명(시제품) : 포도과피 효소발효추출물(KL-GEFE), 눈애존 적용 효능·효과 : 동물실험에서 항산화, 항염증 활성이 우수함/ 인체적용 12주 시험에서 눈물량과 눈물막파괴 시간의 증가 비침습성 눈물막파괴시간 증가, 안구표면질산화수(OSDI)의 유의한 개선효과를 확인(건조한 눈 개선에 도움을 줄 수 있음)

-국내특허 3건(등록 1건, 출원 2건), 국외특허 5건(등록-미국, 독일 / 출원-중국, 인도, 일본)

등록번호 - 미국 : 10,774, 351 B2, 독일 : 2016 006 312

개별인정 원료정보



## 동물시험 결과

[기능성원료:포도과피 효소발효추출물(KL-GEFE)]

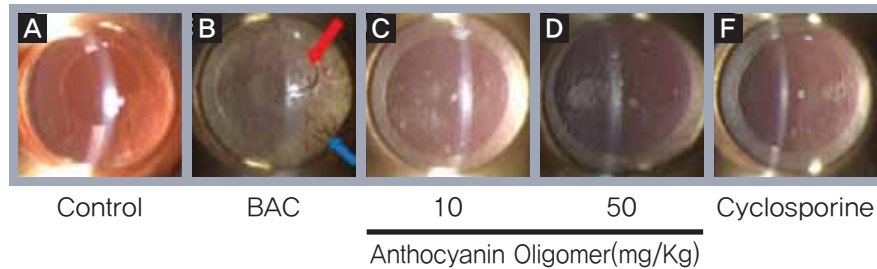
시험제목	마우스 안구건조증 모델에서 안토시아닌 올리고머의 효과에 관한 연구
시험기관	가톨릭의과대학교 인천성모병원 안과 [인천광역시 부평구 동수로 56]
시험 책임자	가톨릭의과대학교 인천성모병원 안과 강규동교수
시험물질	안토시아닌 올리고머(AO)
시험동물[종 및 계통]	Male BALB/c mice[6주령], 수컷 40마리, 29~33g
약제투여 및 군구성	경구투여, 8마리씩 5군으로 구성 대조군, BAC[Benzalkonium Chloride]점안군, AO[10mg/kg], AO[50mg/kg], 양성대조군[Cyclosporine]



## 실험결과

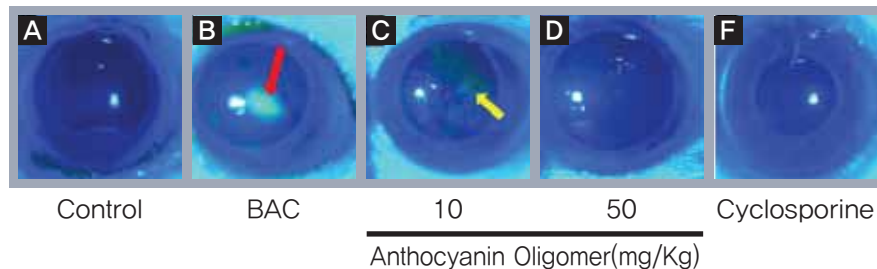
### 1. 각막사진

현미경하 각막 사진



- BAC 점안군은 대조군에 비해 각막의 신생혈관, 각막상피의결손, 각막혼탁 등이 관찰
- AO 투여군과 cyclosporine 점안군은 BAC 점안군에 비해서 뚜렷하지 않음

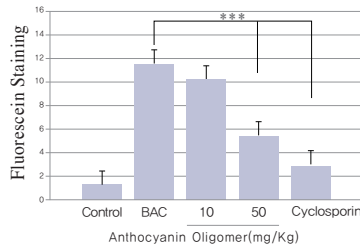
형광염색하 각막 사진



- BAC 처리군은 각막의 상피결손에 형광염색이 관찰되고, 각막의 미란정도가 전반적으로 보임
- AO 50mg/kg 투여군, cyclosporine 점안군은 각막미란 정도가 심하지 않고, 각막의 결손이 관찰되지 않음

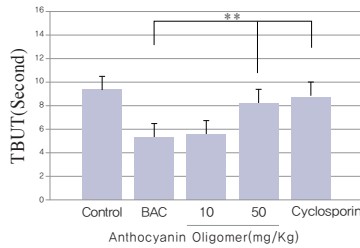


2. 각막손상의 정량화 (NEI grading system) NEI : 플루오레세인 각막염색점수



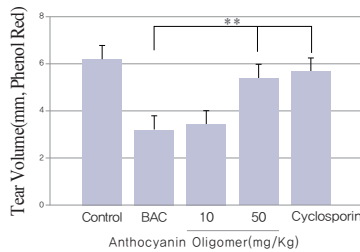
안구건조증 유발 위해 투약한 BAC(염화벤질코늄) 점안군과 AO(안토시아닌 올리고머) 50mg/kg 투여군, Cyclosporine 0.1% 점안한 군 각각 각막미란(손상) 점수 비교 시 통계학적인 차이가 있었음 (\*\*\*) : p<0.001  
▶ 각막손상 점수가 낮아짐

3. 눈물막 파괴시간(TBUT; tear film break-up time)



AO(안토시아닌 올리고머) 50mg/kg 투여군과 Cyclosporine 0.1% 점안한 군에서 눈물막 파괴 시간의 증가가 나타났고, 통계학적으로도 유의하였음 (\*\*: P <0.01)

4. 눈물분비 기능검사(phenol red test)



AO(안토시아닌 올리고머) 50mg/kg 투여군과 Cyclosporine 0.1% 점안한 군 각각 BAC 점안 군과 비교시 눈물분비의 양이 유의하게 증가함 (\*\*: p<0.01)

5. 조직검사(Hematoxylin & Eosin staining)



- ①대조군, BAC 점안군 비교(A,B) : 각막상피층의 각질화 및 두께 증가
- ②대조군과 AO(안토시아닌 올리고머) 투여군, Cyclosporine 0.1% 점안군 비교 (A,C,D,E) : 각막상피층 두께의 증가의 정도가 명확하지 않았음

개별인정 원료정보

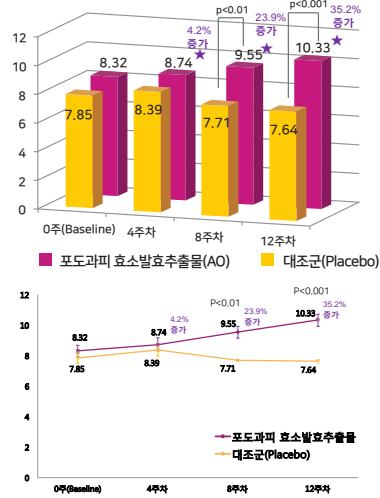


## 인체적용시험 결과 [기능성원료: 포도과피 효소발효추출물(KL-GEFE)]

시험제목	안토시아닌 올리고머의 안구건조증 개선에 대한 위약대조, 맹검연구			
시험기관	삼육서울병원[서울 동대문구 망우로 83]			
시험 책임자	삼육서울병원 안과 김수아			
시험물질	안토시아닌 올리고머[AO]			
시험대상	경증의 안구건조증 증상이 있는 자			
시험디자인	12주간, 이중맹검, 무작위배정, 위약대조			
섭취방법	시험군 : 1일 2회, 1회 2캡셀, 총 4캡셀[총 섭취량: 800mg/일] 대조군: 동일한 방법으로 섭취[총 섭취량: 말토덱스트린 800mg/일]			
시험자 수		Test group (Anthocyanin oligomer)	Control group (Placebo)	total
	Final evaluation(PP)	45	45	90
	Drop-out(18%)	54	54	108

안구가 건조한 18세 이상 남녀(108명)에게 신원료 800mg/일 12주간 섭취시킨 인체시험에서 눈물생성능 검사(schirmer test), 비침습성 눈물막 파괴시간 (NIK BUT), 눈물막 파괴시간(TBUT)등이 유의적으로 증가하였다.

### 1. 쉬르머 검사 (Shirmer's test)



쉬르머 검사란? 눈에서 눈물이 충분히 생성되는지 측정하는 방법  
 (1) 시험결과(군간) : 포도과피 효소발효추출물(AO) 섭취군 대조군 (Placebo) 대비 8, 12주차에서 측정치 통계적으로 유의하게 증가  
 \* 그래프 P값 : 통계처리의 신뢰도  
 \* P < 0.001 : 100번 실험 기준하여 0.1% 오차발생

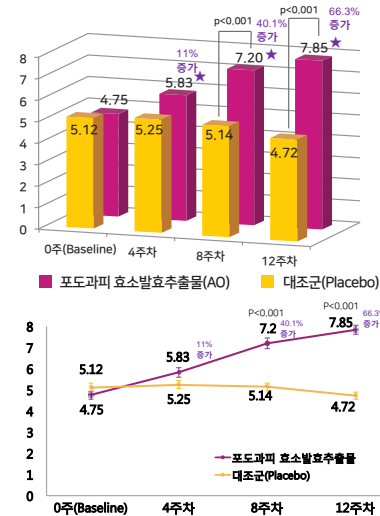
Table 1. Change of Schirmer test values between AO (Anthocyanin Oligomer) and Placebo.

	Week 0 (Baseline)	Week 4	Week 8	Week 12
Anthocyanin Oligomer	8.32±0.38	8.74±0.42	9.55±0.40	10.33±0.40
Placebo	7.85±0.35	8.39±0.41	7.71±0.38	7.64±0.32
P-value	0.50	0.57	0.001	<0.001

Values are expressed as Average±SEM

★섭취 후 4, 8, 12주차 각 4.2%, 23.9%, 35.2% 개선증가를 보임

### 2. 비침습성 눈물막 파괴시간(NIKBUT) 검사



NIKBUT (Non-Invasive Keratograph Break-Up Time) 검사란? 건조한 눈을 측정하는 검사방법 중 가장 유용한 검사법이며, 눈물막의 유지시간을 측정하는 검사방법  
 (1) 시험결과(군간) : 포도과피 효소발효추출물(AO) 섭취군 대조군 (Placebo) 대비 8, 12주차에서 측정치 통계적으로 유의하게 증가  
 \* 그래프 P값 : 통계처리의 신뢰도 \* P < 0.001 : 100번 실험 기준하여 0.1% 오차발생

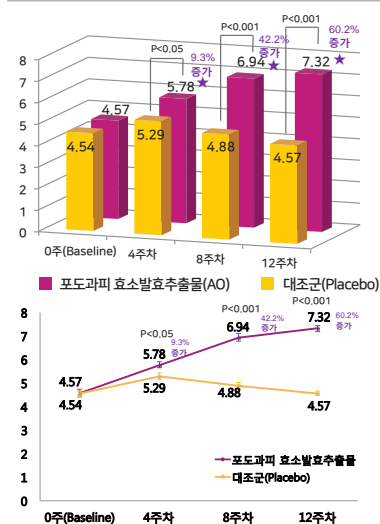
Table 2. Change of NIKBUT values between AO (Anthocyanin Oligomer) and Placebo.

	Week 0 (Baseline)	Week 4	Week 8	Week 12
Anthocyanin Oligomer	4.75±0.19	5.83±0.23	7.20±0.25	7.85±0.22
Placebo	5.12±0.21	5.25±0.20	5.14±0.19	4.72±0.17
P-value	0.21	0.068	<0.001	<0.001

Values are expressed as Average±SEM

★섭취 후 4, 8, 12주차 각 11%, 40.1%, 66.3% 개선증가를 보임

### 3. 눈물막파괴시간(TBUT) 검사(Tear film break-up time)



눈물막파괴시간 검사란? 건조한 눈을 측정하는 검사방법이며 눈물 지방층이 파괴되어 눈의 건조화가 촉진되는 것을 측정하는 검사방법(측정시간이 길어질수록 안정적인 상태의 눈물막형성)  
 (1) 시험결과(군간) : 포도과피 효소발효추출물(AO) 섭취군 대조군 (Placebo) 대비 4, 8, 12주차에서 측정치 통계적으로 유의하게 증가  
 \* 그래프 P값 : 통계처리의 신뢰도 \* P < 0.001 : 100번 실험 기준하여 0.1% 오차발생

Table 3. Change of Tear Break Up Time(TBUT) between AO (Anthocyanin Oligomer) and Placebo.

	Week 0 (Baseline)	Week 4	Week 8	Week 12
Anthocyanin Oligomer	4.57±0.16	5.78±0.13	6.94±0.16	7.32±0.14
Placebo	4.54±0.13	5.29±0.13	4.88±0.14	4.57±0.10
P-value	0.89	0.012	<0.001	<0.001

Values are expressed as Average±SEM

★섭취 후 4, 8, 12주차 각 9.3%, 42.2%, 60.2% 개선증가를 보임

\* 시험결과가 모든 분들에게 동일하게 적용되지는 않을 수 있습니다.



## 안토시아닌 올리고머 인증사항



식약처 개별인증 인정서 (제2019-27호)    농림식품신기술(NET) 인증서 (제32-080호)    국내특허(제10-1756123호)    미국특허(US 10,774,351 B2)    독일특허(11 2016 006 312)



## 안토시아닌 올리고머 투고논문 표지





## 안토시아닌 올리고머 투고논문과 학술대회 초록

### 2011년

Anthocyanin effectively scavenges free radicals and protects retinal cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-triggered G2/M arrest

Jin-Woo Hwang • Eun-Kyung Kim • Seung-Jae Lee • Yon-Suk Kim • Dong-Kug Choi • Tae-Kyu Park • Sang-Ho Moon • Byong-Tae Jeon • Pyo-Jam Park

### 2012년

Antioxidant Activity and Protective Effect of Anthocyanin Oligomers on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-triggered G2/M Arrest in Retinal Cells

Jin-Woo Hwang,† Eun-Kyung Kim,† Seung-Jae Lee,† Yon-Suk Kim,† Sang-Ho Moon,‡  
Byong-Tae Jeon,‡ Si-Heung Sung,‡ Eun-Tae Kim,§ and Pyo-Jam Park\*,†

### 2017년

Biosynthesis of Oligomeric Anthocyanins from Grape Skin Extracts

Jin-Woo Hwang <sup>1,2</sup>, Sithranga Boopathy Natarajan <sup>2</sup>, Yon-Suk Kim <sup>1,2</sup>, Eun-Kyung Kim <sup>1,3</sup>, Jae Woong Lee <sup>2</sup>, Sang-Ho Moon <sup>1,3</sup>, Byong-Tae Jeon <sup>1,3</sup> and Pyo-Jam Park <sup>1,2,\*</sup>

### 2019년

1. 마우스 안구건조증 모델에서 포도껍질 추출물인 안토시아닌 올리고머의 효과에 관한 연구  
황형빈, 양현필, Ramsha Afzal, 정재균, 강규동
2. In Vivo Effects of Polymerized Anthocyanin from Grape Skin on Benign Prostatic Hyperplasia  
Young-Jin Choi <sup>1</sup>, Meiqi Fan <sup>1</sup>, Yujiao Tang <sup>1,2</sup>, Hyun Pil Yang <sup>3</sup>, Ji-Young Hwang <sup>4</sup>, Eun-Kyung Kim <sup>1,\*</sup>

### 그외

[대한안과학회 학술대회] 안토시아닌 올리고머가 망막 세포의 허혈성 및 산화성 손상 및 뇌막의 지질과산화에 미치는 영향

공예슬, 정재균, 황형빈, 이나영, 강규동

[대한안과학회 학술대회] 망막세포의 허혈 및 산화 손상과 뇌조직의 지질과산화에 대한 안토시아닌 올리고머의 대응효과

이여진, 김용찬, 황형빈, 강규동

논문1

Anthocyanin effectively scavenges free radicals and protects retinal cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-triggered G2/M arrest

Jin-Woo Hwang • Eun-Kyung Kim • Seung-Jae Lee • Yon-Suk Kim • Dong-Kug Choi • Tae-Kyu Park • Sang-Ho Moon • Byong-Tae Jeon • Pyo-Jam Park

Eur Food Res Technol(2012) 224 : 431-439 DOI 10.1007/s00217-011-1648-9  
Received : 6 July 2011 / Revised : 7 December 2011  
Accepted : 15 December 2011 / Published online: 28 December 2011 © Springer-Verlag 2011

**Abstract** : It has been previously shown that anthocyanins effectively neutralize free radicals and can act as an antioxidative and anti-aging agent and prevent dementia. In addition, anthocyanins promote expression of rhodopsin, which facilitates night vision impairment, blurred vision, eye fatigue due to physical and mental fatigue, and a loss in rhodopsin has been shown to result from various eye diseases. In this study, the free radical scavenging properties of anthocyanins were evaluated for the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, alkyl radical, and hydroxyl radical using electron spin resonance spectroscopy. The DPPH radical scavenging activity of anthocyanins increased in a dose-dependent manner, with a 50% inhibitory concentration (IC50) value of 2.9 lg/mL. The alkyl radical scavenging activity of anthocyanin was also high, with a IC50 value of 52.2 lg/mL.

In addition, the hydroxyl radical scavenging activity of anthocyanins was concentration-dependent. The inhibitory effect of anthocyanins on lipid peroxidation was examined using the ferric thiocyanate and thiobarbituric acid assays. The inhibitory activity of anthocyanins was found to be comparable to that of Vitamin E. In addition, the ability of anthocyanins to reduce oxidative DNA damage was assessed in vitro by measuring the conversion of supercoiled pBR322 plasmid DNA to the open circular form.

Also, we have found that anthocyanins' inhibitory activity of the H2O2-induced G2/M phase arrest in ARPE-19 cells. Anthocyanins enhanced the activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione S-transferase in ARPE-19 cells. Taken together, the present results demonstrate that anthocyanins possess potent antioxidative activity.

**Keywords** : Antioxidation, Anthocyanin, ARPE-19, G2/M phase arrest

Antioxidant Activity and Protective Effect of Anthocyanin Oligomers on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Triggered G2/M Arrest in Retinal Cells

Jin-Woo Hwang,<sup>†</sup> Eun-Kyung Kim,<sup>†</sup> Seung-Jae Lee,<sup>†</sup> Yon-Suk Kim,<sup>†</sup> Sang-Ho Moon,<sup>‡</sup> Byong-Tae Jeon,<sup>‡</sup> Si-Heung Sung,<sup>‡</sup> Eun-Tae Kim,<sup>§</sup> and Pyo-Jam Park<sup>\*,†</sup>

<sup>†‡</sup> Department of Biotechnology, Korean Nokyong Research Center, and <sup>§</sup> Department of Family Medicine, School of Medicine, Konkuk University, Chungju, 380-701, Korea

**Abstract** :In this study, the free-radical-scavenging properties of anthocyanin oligomers for 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical, alkyl radical, and hydroxyl radical were evaluated using electron spin resonance (ESR) spectroscopy. The DPPH radical, alkyl radical, and hydroxyl radical scavenging activity of anthocyanin oligomers increased in a dose-dependent manner, with the 50% inhibitory concentration (IC50) value of 13.0, 14.0, and 448.0 µg/mL, respectively.

The inhibitory effect of anthocyanin oligomers on lipid peroxidation was examined with ferric thiocyanate (FTC) and thiobarbituric acid (TBA). The inhibitory activity of anthocyanin oligomers was found to be comparable to that of vitamin E. In addition, anthocyanin oligomers enhanced the activities of superoxide dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), glutathione peroxidase (GPx,EC1.11.1.9), and glutathione-S-transferase (GST, EC 2.5.1.18) in ARPE-19 cells.

In addition, anthocyanin oligomers inhibited the H2O2-induced G2/M phase arrest in ARPE-19 cells. Taken together, the present results demonstrate that anthocyanin oligomers have high antioxidative activity.

**Keywords** : antioxidation, anthocyanin oligomers, ARPE-19, G2/M phase arrest

Biosynthesis of Oligomeric Anthocyanins from Grape Skin Extracts

Jin-Woo Hwang <sup>1,2</sup>, Sithranga Boopathy Natarajan <sup>2</sup>, Yon-Suk Kim <sup>1,2</sup>, Eun-Kyung Kim <sup>1,3</sup>, Jae Woong Lee <sup>2</sup>, Sang-Ho Moon <sup>1,3</sup>, Byong-Tae Jeon <sup>1,3</sup> and Pyo-Jam Park <sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Korean Nokyong Research Center, Konkuk University, 380-701 Chungju, Korea; croucard@kku.ac.kr (J.-W.H.), kimyonsuk@kku.ac.kr (Y.-S.K.), eunkyungkim@kku.ac.kr (E.-K.K.), moon204@kku.ac.kr (S.-H.M.), hamokwon@kku.ac.kr (B.-T.J.)  
<sup>2</sup> Department of Biotechnology, Konkuk University, 380-701 Chungju, Korea; nsboopathy@gmail.com (S.B.N.), ehdjd112@naver.com (J.W.L.)  
<sup>3</sup> Division of Food Bioscience, Konkuk University, 380-701 Chungju, Korea  
\* Correspondence: parkj@kku.ac.kr; Tel.: +82-43-840-3588; Fax: +82-43-852-3616  
Academic Editors: Giancarlo Cravotto and Francisco J. Barba  
Received : 3 January 2017; Accepted : 10 March 2017; Published : 21 March 2017

**Abstract** : We synthesized oligomeric anthocyanins from grape skin-derived monomeric anthocyanins such as anthocyanidin and proanthocyanidin by a fermentation technique using *Aspergillus niger*, crude enzymes and glucosidase. The biosyntheses of the oligomeric anthocyanins carried out by the conventional method using *Aspergillus niger* and crude enzymes were confirmed by ESI-MS.

The molecular weight of the synthesized anthocyanin oligomers was determined using MALDI-MS. The yield of anthocyanin oligomers using crude enzymes was higher than that of the synthesis using *Aspergillus* fermentation. Several studies have been demonstrated that oligomeric anthocyanins have higher antioxidant activity than monomeric anthocyanins. Fermentation-based synthesis of oligomeric anthocyanins is an alternative way of producing useful anthocyanins that could support the food industry.

**Keywords** : oligomeric anthocyanin; fermentation; crude enzyme; *Aspergillus niger*; glucosidase

Effects of Grape Skin Extract, Anthocyanin Oligomer, on a Murine Dry Eye Model

Kuidong Kang<sup>1</sup>, Jae Gyun Jeung<sup>1</sup>, Ramsha Afza<sup>1</sup>, Hyunpil Yang<sup>2</sup>, and Hyung Bin Hwang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Ophthalmology, Incheon St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea  
<sup>2</sup> Technical R&D Center, Kittlelife Co., Ltd.

**Abstract**: This study was conducted to investigate the effects of anthocyanin oligomers on dry eye disease through animal experiments. To accomplish this, 80 eyes of 40 mice were used, and dry eyes were induced by administration of 0.02% benzalkonium chloride (BAC). Anthocyanin oligomers of two doses (10 mg/kg and 50 mg/kg) were administered once a day for 2 weeks, while the control group received 0.1% cyclosporine A (CA) eye drops twice a day. Under a slit lamp microscope, the degree of corneal erosion (NEI grading system), tear break up time (TBUT) and phenol red test were observed. Moreover, histopathologic analysis of the lacrimal gland and corneal tissue was also performed.

In the anthocyanin oligomer group (50 mg/kg), NEI score was significantly lower than that of the BAC treated group, while the TBUT and the wet length of phenol red thread were significantly higher than in the BAC group (P<0.01). Analysis of corneal tissue by hematoxylin and eosin (H&E) staining showed that keratinization and thickening of the cornea epithelial layer was not more prominent than those of eyes treated with anthocyanin oligomer (50 mg/kg) and CA eye drops. Overall, our results demonstrated that this natural compound has potential positive effects on the clinical index of dry eyes in the murine dry eye model.

**Keywords** : anthocyanin oligomer, anti-inflammatory effects,benzalkonium chloride, dry eye, tear film

# 논문2

## MDPI nutrients

### In Vivo Effects of Polymerized Anthocyanin from Grape Skin on Benign Prostatic Hyperplasia

Young-Jin Choi <sup>1</sup>, Meiqi Fan <sup>1</sup>, Yujiao Tang <sup>1,2</sup>, Hyun Pil Yang <sup>3</sup>, Ji-Young Hwang <sup>4</sup>, Eun-Kyung Kim <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Division of Food Bioscience, College of Biomedical and Health Sciences, Konkuk University, Chungju 27478, Korea; choijang11@kku.ac.kr(Y.-J.C.), fanmeiqi@kku.ac.kr(M.F.), yuans00@126.com(Y.T)  
<sup>2</sup> Changchun University of Science and Technology, Changchun 130-600, China; yuans00@126.com(Y.T)  
<sup>3</sup> Technical R&D Center, Kinto Life Co., LTD, Pyongsong 17749, Korea; yanghp41@naver.com  
<sup>4</sup> Department of Food Science & Technology, Dong-Eui University, Busan 47340, Korea; hyj@deu.ac.kr  
 \*Correspondence: eunkyoungkim@kku.ac.kr; Tel.: +82-043-840-3581

**Abstract** Benign prostatic hyperplasia (BPH) is a common chronic disease of the urinary system among elderly men. Especially, the metabolic imbalance of androgen in elderly men is one of the leading causes of BPH. Dihydrotestosterone (DHT) and converted testosterone by 5- $\alpha$  reductase type 2 (5 $\alpha$ R2), binding with androgen receptor (AR), affect prostate proliferation and growth. In BPH, levels of androgen signaling-related protein expression are shown highly. Androgen signaling induces the overexpression of prostate-specific antigen (PSA) and cell proliferation factor such as proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and cyclin D1. Grape skin anthocyanins are well known for their antioxidative, anti-cancer, anti-diabetes, anti-inflammatory, antimicrobial, and anti-aging activities. Polymerized anthocyanin (PA) downregulated the expression of androgen signaling-related proteins such as 5 $\alpha$ R2, AR, and PSA in LNCaP cell lines. Furthermore, we investigated the effects on PA in testosterone propionate-induced BPH rat experiments. The oral administration of PA decreased the prostate weight in rats with TP-induced BPH. PA decreased the AR, 5 $\alpha$ R2, SRC1, PSA, PCNA, and cyclin D1 expression in prostate tissues and the serum DHT levels, ameliorated the BPH-mediated increase of Bcl-2 expression, and increased the Bax expression. These results suggest that PA may be a potential natural therapeutic agent for BPH treatment.

**Keywords** : anthocyanin oligomers; grape skin; benign prostatic hyperplasia

### 대한안과학회 학술대회 발표 연재 초록(1)

- 발표일자 : 2018년 4월 7일(토) 10:00 ~ 4월 7일
- 발표번호 : P(e-poster)-054
- 발표장소 : 부산 벡스코

#### 안토시아닌 올리고머가 망막 세포의 허혈성 및 산화성 손상 및 뇌막의 지질과산화에 미치는 영향

가톨릭대학교 의과대학 안과학교실, 인천성모병원  
공예습, 정재균, 황현빈, 이나영, 강규동

**목적** : 본 연구의 목적은 플라보노이드, 안토시아닌 올리고머가 쥐 망막의 허혈/재관류의 부정적인 영향을 완화시키는데 효과적이지, 배양된 망막 전구세포(R28)에 대한 다양한 손상을 완화 시키는데 효과적이지를 결정하는데 있다.

**방법** : 배양된 R28은 빛 (2 일 동안 1000 lux), 과산화수소 (24 시간 동안 200  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 24시간), 혈청결핍 (48시간)을 주어 배양하고 세포 생존과 활성산소(ROS) 형성을 분석하였다. 지질 과산화 분석은 안토시아닌 올리고머의 항 산화 기능을 비교하기 위해 사용되었다. 동물 실험에서 안토시아닌 올리고머는 허혈성 손상 전후에 복강 내 투여되었고 허혈성 손상은 50분동안 수축기 혈압 이상으로 안압을 상 승시켜 전달하였다. 여러 형질의 국소적인 반응을 알아보기 위해 망막을 분석하였고 다양한 mRNA에 대한 망막 추출물도 분석 하였다.

**결과** : 망막의 허혈/재관류는 Thy-1과 ChAT의 국소화와 다양한 단백질과 mRNA의 할 량에 영향을 주었다. 안토시아닌 올리고머는 허혈/재관류에 의해 유도 된 영향의 대부분을 통계적으로 완화시켰다. 허혈/재관류에 의한 caspase-8의 증가 만이 안토시아닌 올리고머에 영향을 받지 않았다. 안토시아닌 올리고머는 R28 세포에 대한 빛, 과산화수소 및 혈청 결핍의 부정적 손상을 상당히 감소시켰다. 지질 과산화 반응 연구에서 안토시아닌 올리고머는 항산화제 역할을 하는 EGCG와 동등하게 효과적인 것으로 밝혀졌다. 유의하게, R28 세포 생존에 대한 혈청 박탈에 의한 손상은 안토시아닌 올리고머에 의해 완화되 었지만, EGCG에 의해서는 완화되지 않았다.

**결론** : 이러한 결과는 안토시아닌 올리고머의 강력한 항산화 특성을 입증한다. 안토시아닌 올리고머의 항-세포 사멸 효과와 함께 산화 스트레스가 질병 원인의 여러 측면에 관여하는 것으로 알려져 있는 녹내장과 같은 다양한 안구 질환의 치료에 잠재적으로 사용될 수 있음을 시사한다. 이 연구는 in vivo 및 in vitro 연구를 통해 안토시아닌 올리고머의 항산화 특성을 입증한다. 안토시아닌 올리고머의 항산화 특성이 EGCG에 필적하는 것은 흥미롭다. 안토시아닌 올리고머는 산화적 스트레스가 중요한 역할을 하는 다양한 안구 질환 치료에 사용될 수 있을 것이다.

### 대한안과학회 학술대회 발표 연재 초록(2)

- 발표일자 : 2019년 11월 1일(금) ~ 7일
- 발표번호 : P(e-poster)-177
- 발표장소 : B3 Parking Area

#### 망막세포의 허혈 및 산화 손상을 뇌조직의 지질 과산화에 대한 안토시아닌 올리고머의 대응효과

가톨릭대학교 의과대학 안과학교실, 인천성모병원 이이진, 김용찬, 황현빈, 강규동

**목적** : 본 연구의 목적은 플라보노이드계인 안토시아닌 올리고머가 허혈/재관류 된 쥐의 망막과 다양한 세포사멸 자극을 받은 망막전구세포(R28 세포)에 있어서 그 손상에 대한 보호 효과가 있는지 알아보는 것이다.

**방법** : R28 세포에 3가지 다른 손상, 빛 (1000 lux, 2일 간), 과산화수소 (200  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 24시간), 혈청결핍 (48시간)을 주어 배양하고 세포 생존과 활성산소(ROS) 형성을 분석하였다. 지질 과산화 분석은 안토시아닌 올리고머의 항산화능력을 비교하는데 사용되었다. 허혈은 50분간 안압을 수축기 혈압 이상으로 올려 만들었다. 웨스턴블롯을 이용한 단백질 분석을 시행하였고, 망막의 추출물 또한 다양한 mRNAs로 분석하였다.

**결과** : 망막의 허혈/재관류는 Thy-1와 choline acetyltransferase의 위치, 다양한 단백질(시신경과 망막)의 내용물, mRNA(망막)에 영향을 준다. 통계적 유의하게 허혈/재관류가 발생시킨 세포독성의 영향을 안토시아닌 올리고머가 완화시켰다. 허혈/재관류에 의한 caspase-8 증가만 안토시아닌 올리고머 투여군에서 대조군과 비교하여 차이가 없었다. 안토시아닌 올리고머는 R28 세포에 빛, 과산화수소, 혈청결핍에 의한 손상을 현저히 경감시켜 세포생존을 증가시켰다. 의미가 있는 것은 안토시아닌 올리고머는 R28 세포의 혈청결핍에 의한 손상을 완화시켰지만 플라보노이드의 다른 특성을 나타내는 epigallocatechin gallate(EGCG)는 그렇지 못했다.

**결론** : 본 연구를 통하여 우리는 안토시아닌 올리고머의 강력한 항산화 특성을 입증하였다. 이것은 안토시아닌 올리고머의 항 세포사멸사 효과와 함께 허혈성 안질환 및 녹내장과 같은 다양한 안질환의 잠재적 치료제로 사용될 수 있는 가능성을 의미한다.



본사·공장·기술연구소 : 경기도 평택시 산단로 197번길 73 (칠괴동)  
Tel. 031-666-7805 Fax. 031-666-7804 Homepage [www.kittolife.co.kr](http://www.kittolife.co.kr)