

당근 추출 성분의 Quinone reductase 유도활성 효과

한은주 · 노승배¹ · 배송자*

신라대학교 자연과학대학 식품영양학과
¹양산 대학 식품가공과

The Effects on Quinone Reductase Induction of *Daucus carota* L.

Eun-Joo Han, Sung-Bae Roh¹ and Song-Ja Bae*

Department of Food and Nutrition, Silla University, Pusan 617-736, Korea

¹Department of Food Science and Technology, Yangsan College, Yangsan 626-800, Korea

Abstract

Chemoprevention is one of the major strategies for cancer control. It is well established that dietary factors play an important role in modulating the development of certain types of human cancer. The experiment was conducted to determine quinone reductase(QR) activity induction of *Daucus carota* L. on HepG2 cells. Among various partition layers of roots of *Daucus carota* L., the ethyl acetate partition layer(DCMEA) and the n-hexane partition layer(DCMH) tested to be most effective which resulted 2.1 and 1.6 respectively compared to the control value of 1.0. In the case of seeds of *Daucus carota* L. n-butanol partition layer (DCMB) on HepG2 cells at a dose of 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ showed the highest induction activity of QR which was 3.0. These results suggest that potentially useful cancer chemoprevention chemicals could be isolated from DCMEA and DCMH of the roots and DCMB of the seeds of *Daucus carota* L.

Key words – Quinone reductase activity, *Daucus carota* L., HepG2,

서 론

질병에 의한 사망 중 암은 심장 질환 다음으로 높은 사망률을 나타내며 이와 같은 추세는 계속 증가될 것으로 전망된다[1,24]. 암 발생의 주요원인은 유전적 인자와 환경적 인자에 의해 일어난다고 보고되어 있으며[6], 이중 대부분은 식이와 연관성이 있다고 보고되어 있다[9]. 일반적으로 식품 중에는 발암 또는 돌연변이 유발물질들이 많이 알려져 있으며 추정되는 성분으로는 mycotoxin, nitrosamine,

polycyclic aromatic hydrocarbons 및 plant alkaloids 등의 미량 성분들이 있다[26]. 현재까지 암을 퇴치하기 위한 노력들이 다방면에 걸쳐 이루어지고 있으나 아직 암을 완전히 치료 할 수 있는 이상적인 방법은 제시되지 않고 있다. 현재 진행되고 있는 암 치료는 외과적 수술(surgery), 방사선 치료(radiation therapy) 및 화학요법(chemotherapy) 등이 주류를 이루고 있으나 화학 약물의 장기투여로 인한 각종 부작용 등이 매우 심각한 것으로 알려져, 최근에는 암 백신 [11], 면역요법 [10], 생물학적 제제 [4]등이 암 예방 및 치료에 대한 근본적인 가능성이 많은 것으로 관심을 끌고 있다.

이러한 과정과 병행하여 예로부터 동양에서는 민간 요법 등이 질병 예방 및 치료 방법으로 쓰여져 왔으며 이와 같

*To whom all correspondence should be addressed
Corresponding author: E-mail: sjbae@silla.ac.kr
Tel: (051) 309-5462, Fax: (051) 309-5176

은 방법은 실질적으로 오랜 세월 동안 인체 임상 실험을 해왔다고 볼 수 있으며 최근에는 천연물로부터 새로운 계열의 선도화합물(lead compound)을 찾으려는 연구가 세계적으로 진행되고 있다. 배[2]등은 김치 재료로 이용되고 있는 고들빼기의 생리활성 물질을 동정 한 바 있고, 함[12]등은 민간약으로 이용되는 더위지기 추출물의 항돌연변이성과 세포독성효과에 대해 연구하였으며, 환[13]은 삼백초로부터 세포독성을 밝혀내었고, 함[14] 등은 주목 에탄올 추출물들의 항암효과를 간암세포(HepG2)에서 조사한 결과 뿌리에서 추출된 불포화 지방산이 암세포 등 표적세포에 직접적인 손상을 일으키며 가장 항암효과가 높았음을 보고하였으며, 김[15]은 다년생 도라지의 항암 및 면역활성 효과를 나타내었다고 하였다.

여러 가지 종양들의 초기반응은 친전자성 발암물질의 대사산물 또는 활성산소들에 의해 DNA에 손상을 주게 됨으로서 일어난다[19]. 포유류의 세포는 그러한 손상에 대해 보호작용을 가지는 복합적이고 정교한 작용 기작을 지니고 있다. 즉, 친전자성 발암물질들이 무독화 효소들에 의해 불활성화 되어 체외로 배출되면 계속 암으로 진행이 되지 않지만 돌연변이과정을 거치면 암으로 진행되게 된다. 이 중 phase II 효소와 높은 glutathione level은 이러한 화학적 물질에 대하여 1차적인 방어기구가 되며 많은 연구 결과들에 의하면 [20, 8], 유도제에 의해 Phase II 무독화 효소와 glutathione level이 증가됨으로써 화학적 발암에 대한 보호작용을 갖는다고 한다. phase II 무독화 효소는 동물세포에서 음식물과 낮은 농도의 여러 가지 화학물질에 의하여 전사조절 되어진다고 한다[3,22,23]. 본 연구에서 도입된 quinone reductase는 phase II 무독화 효소중의 하나로 돌연변이 또는 발암물질 등에 의한 DNA와의 상호 작용을 차단하는 효소이며 NAD(P)H를 이용하여 quinone류의 환원을 촉매하는 flavoprotein으로서 분자량은 54,000 daltons 이다[16]. 구조는 homodimer로 그 각각은 273개의 아미노산으로 구성되어 있고 활성부위에는 flavin adenine dinucleotide (FAD)을 함유하고 있으며, 이 작용기전은 Scheme 2에 나타내었으며 일명 menadione reductase, vitamin K reductase, DT-diaphorase로 부른다.

Quinone reductase의 특징으로는 첫째, NAD(P)H를 전자 공여체로 이용하고 둘째, 2개의 전자를 이동시켜 돌연변이 물질의 중간체 semiquinone을 형성하지 않으며 셋째,

dicoumarol과 같은 항혈액응고제에 의해 강한 저해를 받으며 넷째, 많은 세포와 조직에서 여러 가지 외부 물질들에 의해 유도된다고 한다.

본 연구에 사용된 당근의 생즙은 옛부터 혈을 보하고 조혈(造血)의 효과가 있으며 식욕을 돋우고 변비나 신경쇠약에 유효하였다고 하며, 여자의 미용식으로도 좋은 식품이라고 한다. 또 영양장애가 있는 아이들이나 임산부, 스테미너가 부족한 사람에게 아주 좋으며 체질이 허약하여 기력이 없고 감기에도 잘 걸리는 사람은 당근을 꾸준히 먹고 당근 즙에 벌꿀을 조금 넣어 하루에 한 컵씩 마셔 주기만 해도 건강을 되찾을 수 있다고 한다. 또 당근에 많이 든 pro vitamin A인 β -carotene은 나빠진 눈을 밝게 하고, 질 좋은 칼슘을 얻을 수 있는 채소로서 이와 뼈를 튼튼히 만들어 주는 작용이 뛰어나다고 알려져 있으며, 점막의 저항력을 길러 천식과 위궤양을 미리 막아 주고, 몸을 따뜻하게 하여 혈액순환이 잘 이루어지도록 하므로 냉증과 동상에도 좋다고 하였다[29]. 본 연구는, 색상식품으로 식탁에서 인기가 있고 우리들의 식생활에서 늘 애용되고 있는 당근 추출 성분 중 암세포를 퇴치 할 수 있는 생리활성 물질을 추적하기 위하여 간암 세포주 HepG2에 대한 당근 추출 성분이 quinone reductase(QR)유도 효과에 미치는 영향을 검토하였다.

실험재료 및 방법

재료 및 기기

본 실험에 사용한 당근 (*Daucus carota* L.)의 뿌리와 씨앗은 98년에 수확한 것으로서 뿌리는 양산임기 당근 밭에서, 씨앗은 동부 한농 종묘에서 구입하였다. 이 시료들을 추출·분획하여 각 암세포주에 의한 세포독성효과(cytotoxicity)와 quinone reductase(QR) 유도 활성 물질의 탐색에 사용하였다. 추가 비교 실험을 위해 Sigma(USA)사로부터 β -carotene을 구입하여 실험에 사용하였다.

세포실험에 사용한 시약은 bovine serum albumin(BSA), dicoumarol, flavin adenine dinucleotide(FAD) 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase들로서 Amresco 사(USA)로부터 구입하여 사용하였고, NP-40, β -carotene은 Sigma chemical company(USA)에서, minimum essential media(MEM medium), RPMI 1640 medium, phosphate buffered saline

(PBS) 및 trypsin-EDTA는 Gibco-BRL(USA)에서 구입하여 사용하였으며, 기타 시약 및 용매는 특급 또는 일급을 사용하였다.

실험에 사용한 기기는 CO₂ incubator(Forma Scientific 3546, USA), Clean bench (Vision Scientific Co, LTD. VS-1400LS), Deep freezer(Ilsin Engineering Co, DF 9071), Rotary evaporator(Tokyo rikakikai Co, LTD, NN10522423, Japan), Freeze dryer (IL SHIN Lab Co, LTD FD5525-01, Korea), Microscopy (Leica Mikroskopie & systeme GmbH Wetzlar 520802, Germany) 및 UV - spectrophotometer (Pharmacia Biotech 80-2105-20) 등을 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

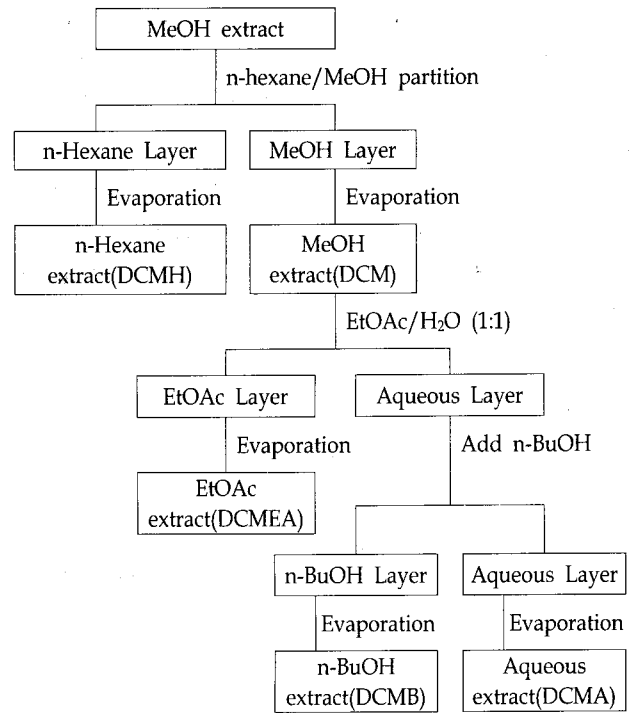
시료로 사용한 당근 뿌리는 흐르는 물에 깨끗이 씻고, 일정한 크기로 자른 후 그늘에서 건조시킨 후 분쇄하여 -30℃의 냉동고에 보관하였다. 건조된 뿌리 시료 220g에 methanol을 1.5 l 넣고 추출·건조하였다. 잘 건조된 당근 씨앗의 경우 975g에 methanol 1.5 l 를 가해 각각 3회씩 추출하여 회전식 진공농축기로 농축한 후 동결 건조하여 methanol 추출물로 사용하였다. Methanol 추출물은 Scheme 1과 같이 n-hexane, methanol, ethylacetate, butanol 및 H₂O 가용부로 각 과정을 거쳐 분배한 후 취하고, 각 분배층은 농축하여 건조시킨 뒤 분말로 만들어 사용하였다.

암세포 배양

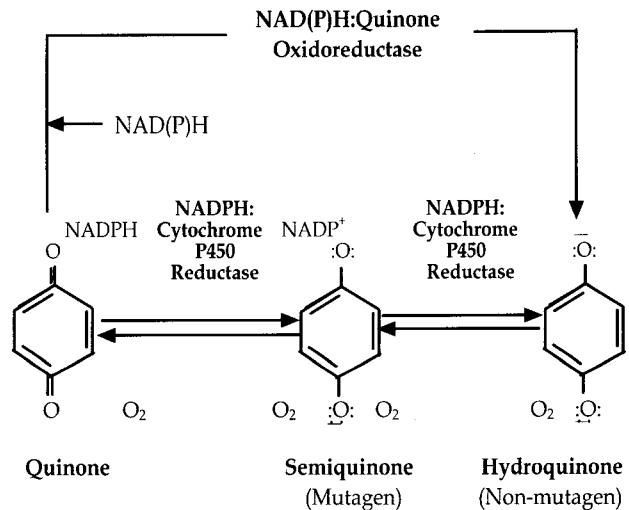
인체의 간암 세포주인 HepG2 cell은 주 2회 계대 배양하였다. 배양액은 3차 증류수에 minimum essential medium (MEM medium) 1봉지, NaHCO₃ 2.2g을 넣어 용해시키고, pH를 7.0으로 조절하여 전체량을 1 l 로 하였다. 그리고, 1% Penicillin-streptomycin, 10% fetal bovine serum(FBS)을 첨가한 후 세균 여과기로 여과하여 사용하였다.

Quinone reductase 유도활성 측정

Quinone reductase 유도활성은 Prochaska 등의 microtitrier method를 일부 변형하여 측정하였다[18,21]. 우선 24-well plate의 각 well에 1×10⁴ cells/ml 되도록 HepG2 세포주를 분주하여, 24시간 배양한 후, 대상 시료를 첨가하고 다시 24시간 배양한 다음 배지를 제거하였으며, 무처리구인 대조 세포군(control)이 균일하게 한 켠의 세포로 덮히는 상태에



Scheme 1. Fractionation procedure of *Daucus carota* L.



Scheme 2. A schematic representation quinoid drug metabolism.

도달했을 때 각 24 well plate에 250 μl의 lysis buffer(10 mM Tris-Cl, pH 8.0, 140 mM NaCl, 15 mM MgCl₂, 0.5% NP-40)을 첨가한 후, 25℃의 온도 하에서 10분간 서서히 흔들며 주면서 cells을 lysis하였다. 여기에 반응액의 최종 농도가 10 mM Tris-Cl(pH 7.4), 0.5 mg/ml BSA, 0.008%

Tween-20, 40 μ M FAD, 0.8 mM glucose 6-phosphate, 2 U/ml glucose 6-phosphate dehydrogenase, 25 μ M NADP, 40 μ g/ml 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)[MTT] 및 1 mM menadione이 되도록 1ml의 효소 용액을 첨가하여, 5분간 반응시킨 후, 250 μ l의 반응 정지용액 10.3 mM dicoumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate(pH 7.4)으로 효소 반응을 정지시킨 다음, UV-visible spectrophotometer (Pharmacia Biotech 80-2105-20)를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색 방법으로 정량하였다. Quinone reductase 활성 측정(nmol/min/mg protein)은 다음과 같이 하였다.

$$\frac{\text{absorbance change of MTT/min}}{\text{absorbance of crystal violet}} \times 3345 \text{ nmol/mg}$$

결과 및 고찰

당근의 methanol 추출물 및 분획물의 수율

건조된 당근 뿌리 220g을 methanol로 추출하여 74.97g을 얻었다. 이 methanol 추출물(DCRM)을 n-hexane, ethyl acetate 및 butanol의 각 용매별 계통분획에 의하여 분획하여 n-hexane 분배층(DCRMH)은 2.85g(3.8%), ethyl acetate 분배층(DCRMEA)은 2.73g(3.64%) 및 n-butanol 분배층(DCRMB)은 11.69g(15.59%)씩을 각각 얻었고 나머지 물가용부(DCRMA)에서는 44.15g(58.89%)의 수율을 얻었다. 같은 방법으로 당근 씨앗(DCS) 975g을 추출하여 methanol 추출물(DCSM) 74.4g을 얻었으며 methanol 추출물을 위와 동일하게 각 용매별 계통분획하여 n-hexane(DCSMH)은 12.10g(16.26%), ethyl acetate 분배층(DCSMEA) 8.28g(11.13%) 및 n-butanol분배층(DCSMB)은 13.28g(17.85%)을 얻었으며 나머지 물가용부(DCSMA)는 37.55g(50.47%)을 얻었다.

Quinone reductase(QR) 유도 활성효과

Quinone reductase 유도 물질 탐색은 인체 암세포 중 유일하게 quinone reductase를 가지고 있는 HepG2세포주를 사용하여 당근 뿌리와 씨앗의 methanol 추출물과 각각 4가지 분배층에서의 QR유도 활성을 측정한 결과는 Fig. 1 및 2와 같다. HepG 2 암세포에 당근 뿌리와 씨앗의 각 용매 추출물 및 분배층을 50, 100, 150 및 200 μ g/ml씩 첨가

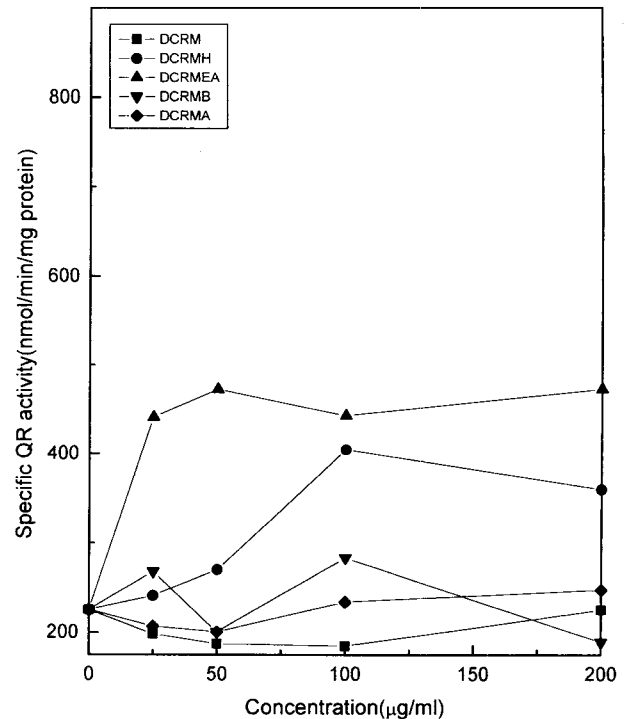


Fig. 1. Effects of the partition layer from methanol extract of *Daucus carota* L. root on the induction of Quinone reductase(QR) in HepG2 cells.

- DCRM: Methanol extracts of DCR.
- DCRMH: n-Hexane partition layer of DCR.
- DCRMEA: Ethyl acetate partition layer of DCR.
- DCRMB: n-Butanol partition layer of DCR.
- DCRMA: Aqueous partition layer of DCR.

하였을 때 첨가물의 농도가 증가함에 따라 QR활성이 증가하였고, 당근 뿌리에서는 DCRMEA와 DCRMH에서 QR유도 활성이 있었고, 당근 씨앗에서는 DCSMB에서 괄목할만하게 그 유도효과가 컸다. 이 결과를 종합해 보면 시료 무처리구인 대조군을 1로 보았을 때 당근 첨가물의 양을 200 μ g/ml로 고정시킨 경우 당근 뿌리의 경우 DCRMEA는 2.1배, DCRMH는 1.6배의 QR유도 효과를 나타내었으며, 씨앗의 경우 DCSMB에서는 3.0배로 아주 현저한 QR유도 효과를 나타내었으며, 전반적으로 당근 씨앗의 butanol분배층이 당근 뿌리에서보다 상대적으로 매우 높은 QR유도활성 효과를 나타내었다. 반면 당근 씨앗의 DCSM의 경우에는 첨가물의 농도를 100 μ g/ml 가했을 때 2.2배의 효과를 나타내었으나, 그 이상 200 μ g/ml까지 첨가시 다시 1.1배로 감소하였고 DCSMEA의 경우에서도 이와 유사한 경향이있

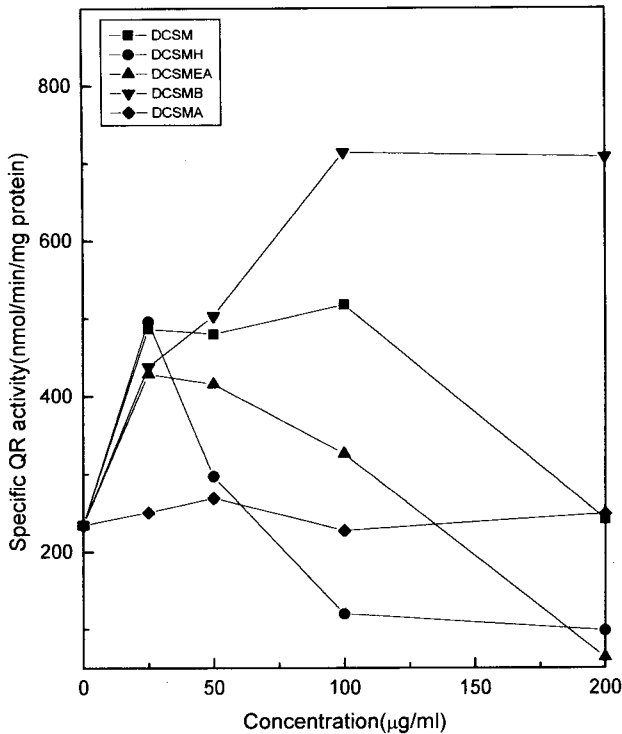


Fig. 2. Effects of the partition layer from methanol extract of *Daucus carota* L. seed on the induction of Quinone reductase(QR) in HepG2 cells.
 DCRM: Methanol extracts of DCR.
 DCRMH: n-Hexane partition layer of DCR.
 DCRMEA: Ethyl acetate partition layer of DCR.
 DCRMB: n-Butanol partition layer of DCR.
 DCRMA: Aqueous partition layer of DCR.

다. 본 연구 결과 HepG2에 대한 암 예방 효소인 QR유도활성 효과는 당근 뿌리의 경우 DCRMEA가 다른 용매 분배층 DCRM 및 DCRMB에 비해 제일 높은 효과를 나타내었고 hexane층인 DCRMH는 DCRMEA보다는 낮은 수준이었지만 유의적으로 QR효소 활성을 증가시키는 것으로 나타났고, 당근 씨앗의 DCRMB에서는 높은 QR유도 효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 당근 뿌리의 DCRMEA와 DCRMH, 당근 씨앗의 DCRMB에서 대조군 보다 높은 QR유도 활성을 보였으므로 이들 분배층에서 인체 암 예방 효소계인 quinone reductase의 inducer가 존재하는 것으로 본 실험을 통하여 추정 할 수 있었다.

β-carotene의 QR유도활성효과

본 실험에서 사용한 당근 중에는 일반적으로 항산화제로

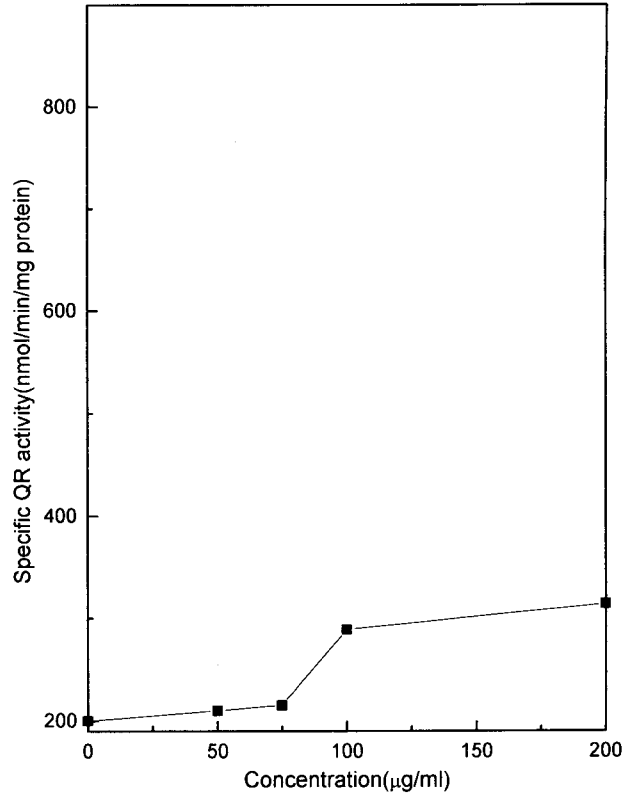


Fig. 3. Effect of β-carotene on the induction of Quinone reductase(QR) in HepG2 cells.

널리 알려져 있는 β-carotene이 함유되어 있으므로 본 실험 결과에서 나타난 여러 용매 추출 물질의 효과와 시판 β-carotene의 효과를 비교하기 위해 QR유도활성효과를 측정하여 Fig. 3에 나타내었다.

HepG2 세포주에 β-carotene을 200 µg/ml 첨가한 후 대조군을 1로 하였을 때 약 1.56배의 QR유도 활성효과를 보였으며, 이 결과는 당근뿌리의 경우 ethyl acetate 분배층에서 2.1배를 보인 결과에 비해서 그 효과가 미약했으나, hexane 분배층과는 거의 비슷하였다. 또한 당근 씨앗의 경우, butanol 분배층에서 약 3.0배의 QR 유도활성효과가 있었으므로 β-carotene 단독 첨가시보다 2배의 높은 효과를 보였다.

고 찰

식품 중에는 항암 효과가 있거나 암을 예방하는 성분들이 많이 존재하는 것으로 알려져 있으며[7,17], 이 중 발암

을 억제한다고 보고된 성분들로서는 카로티노이드, 비타민 C, 비타민 E, 셀레늄(Se), 식이 섬유, dithiothiones, isothiocyanates, indole 화합물, 페놀류, protease inhibitors, allium 화합물, 식물성 스테롤, limonene 등의 식물 성분과 고도불포화 지방산, 천연 및 합성 항산화제 등이 추정되고 있다 [5].

이런 식품이나 천연물들을 대상으로 한 연구 중 박[18]의 연구에서는 황금 중의 baicalin 성분이 인체 암세포에 미치는 세포독성 효과 및 암 예방 효과를 나타낸다고 보고 되었으며, 한방에서는 강장 및 진경제로, 민간약으로는 혈압 및 중풍에 이용되어 온 게오가피 성분의 항암성 실험을 육[27] 등이 실시한 바 있다.

이 연구에 도입된 quinone reductase가 phase II 무독화 효소 중 암 예방 물질 탐색의 지표가 되는 대표적인 효소로 선정된 이유는 quinone류 자체에 대한 보호 효과가 있고 [25,28], 다른 암 예방 효소계와 함께 공통적으로 유도되며, 항암 작용이 있는 많은 화합물에 의해 유도되어지기 때문이다. Quinone reductase의 측정을 보다 신속, 간단하고 정확하게 하기 위해 여러 종류의 동물세포를 이용할 수 있는데 본 실험에서는 HepG2를 도입하여 본 실험에 사용하였다.

본 실험 결과에서와 같이 당근 뿌리와 씨앗의 추출 성분 중 ethyl acetate층과 씨앗의 butanol층에서는 이미 항산화제로 널리 알려져 있고 항암 효과도 있다고 하는 β -carotene 외에 새로운 암 예방 효과를 가지고 있는 QR유도활성을 가진 물질이 존재하고 있음을 본 연구용 통해 확인할 수 있었다.

요 약

대표적인 암 예방 효소로 알려진 quinone reductase의 유도 활성을 알아보기 위하여 HepG2세포주를 사용하여 당근 추출물로부터 quinone reductase를 유도하는 물질을 탐색하여 암예방 물질의 개발에 응용하고자 하였다. 당근 추출물 무처리구를 1로 하였을 때, 당근뿌리의 ethyl acetate 층에서는 QR유도활성효과는 약 2.1배, hexane층에서는 약 1.6배의 효과를 나타내었으며, 씨앗의 butanol층에서는 약 3.0배로 당근 뿌리의 경우보다 높은 QR유도 활성효과를 나타내었다. 즉 당근의 뿌리와 씨앗에는 인체 암예방 효소계인 quinone reductase의 inducer가 존재함으로써 암 예방에 좋은 효과를 가진 물질이 존재하는 것을 추정할 수 있었다.

항산화제로 널리 알려진 β -carotene을 대조군으로 하여 QR유도 활성효과를 비교 실험한 결과 당근 뿌리와 씨앗에서의 결과에 비해 β -carotene의 효과는 아주 미약하였다.

참 고 문 헌

1. American cancer society. 1993. Cancer facts and Figures. American Cancer society.
2. Bae, S. J., S. B. Roh and B. M. Jung. 1998. Effects of Godulbaegi Extracts on the Stability and Fluidity of Phospholipid liposomal Membranes. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 508-517.
3. Benson, A., M. J. Hunkeler and P. Talalay. 1980. Increase of NAD(P)H : quinone reductase by dietary antioxidants. Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **77**, 5216-5220.
4. Budd, G. T., B. Osgood, B. Barna, J. M. Boyett, J. Finke, S. V. Mdendrop, S. Murth and R. M. Bukoski. 1989. Phase I clinical trial Toxicity and immunologic effects. *Cancer Res.* **49**, 6432-6438.
5. Calls, L. M. and P. D. Sullivan. 1982. Screening of antioxidants and other compounds for antimutagenic properties towards benzo(a)pyrene-induced mutagenicity in strain TA98 of Salmonella typhimurium. *Mutat. Res.* **101**, 99-105.
6. Cooper, G. M. Elements of human cancer. Jones and Bantlett publishers, Inc., Boston, pp.31-36, 8th ed.
7. DeWys, W.D., W. F. Malone, R. Butrum and M. A. Setili. 1987. Clinical trials in cancer prevention *Cancer (Phila)*, **60**, 650-656.
8. De Long, M. J., H. J. Prochaska and P. Talalay. 1986. Induction of NAD(P)H : quinone reductase in murine hepatoma cells by phenolic antioxidants, azo dyes and other chemoprotectors. A model system for the study of anticarcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **82**, 787-791.
9. Doll, R. and R. Peto. 1981. The causes of cancer-Quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the united states today. *J. Natl. Cancer Inst.* **66**, 1191-1204.
10. Giampietri, A. 1981. Drug-mediated increase of tumor immunogenicity *in vivo* for a new approach to experimental cancer immunotherapy. *Cancer Res.* **41**, 681-687.
11. Hellman, K., D. Phil. and S. K. Carter. 1987. Funda-

- mental of cancer chemother. pp.64-68, Vol. 102, McGraw Hill Book Co., New York.
12. Ham, S. S., C. K. Chung, J. H. Lee, K. P. Choi, S. W. Jung and E. J. Kim. 1998. Antimutagenicity and cytotoxicity of *Artemisia iwayomogi* Kitamura extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 27, 157-162.
 13. Hyun, J. K. 1997. Studies on the Cytotoxic Constituent of *Saururus chinensis*(LOUR)BAILL. *Yakhak Hoeji.* 41, 704-708.
 14. Hwang, B. H., J. L. Zhao, K. P. Jung, E. J. Kim and S. S. Ham. 1996. The antimutagenic and anticancer effect of *Taxus cuspidata* extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 25, 1062-1068.
 15. Kim, Y. S. 1998. Antitumor and Immunomodulatory Activities of the *P. grandiflorum* Cultivated for More Than 20 Years. *Yakhak Hoeji.* 42, 382-387.
 16. Lind, C., H. Vady and L. Ernster. 1978. Metabolism of benzo(a)pyrene-3,6-quinone and 3-hydroxy benzo(a) pyrene in liver microsomes from 3-methylcholanthrene-treated rats. A possible role of DT-diaphorase in the formation of glucuronyl conjugates. *Arch. Biochem. Biophys.* 190, 97-108.
 17. Murakami, A., H. Ohigashi. and K. Koshimizu. 1996. Anti-tumor promotion with food phytochemicals : A strategy for cancer chemoprevention. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60, 1-28.
 18. Park, H. J. 1998. Induction of quinone reductase and its regulatory mechanism at the transcriptional level by *Scutellaria baicalensis*. Yonsei University.
 19. Prester, T., W. D. Holtzclaw, Y. Zhang and P. Talalay. 1993. Chemical and molecular regulation of enzymes that detoxify carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90, 2965-2969.
 20. Prester, T., S. R. Spencer, C. Wilczak, Y. Zhang and P. Talalay. 1993. The electrophile counterattack response : Protection against neoplasia and toxicity. *Adv. Anz. Regul.* 33, 281-296.
 21. Prochaska H. J. and A. B. Santamaria. 1988. Direct measurement of NAD(P)H: Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells : A Screening assay of anticarcinogenic enzyme in ducers. *Anal. Biochem.* 169, 328-336.
 22. Talalay, P., M. J. De Long and H. J. Prochask. 1988. Identification of a common chemical signal regulation the induction of enzymes that protect against chemical carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85, 8261-8268.
 23. Talalay, P. 1989. Mechanisms of induction of enzymes that protect against chemical carcinogenesis. *Adv. Enz. Regul.* 28, 237-250.
 24. Weinstein, I. B. 1991. Cancer prevention. Recent progress and future opportunities. *Cancer Res.* 51, 5080-5085.
 25. Wefers, H., T. Komai, P. Talalay and H. Sies. 1984. Protection against reactive oxygen species by NAD(P)H: quinone reductase induced by the dietary antioxidant butylated hydroxy anisole(BHA). Decreased hepatic low-level chemiluminescence during quinone reductase redox cycling. *FEBS Lett.* 169, 63-66.
 26. Wakabayashi, K., M. Nagao, H. Esumi and T. Sugimura. 1992. Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res. (suppl)*, 52, 2092-2096.
 27. Yook, C. S., Y. S. Roh, S. H. Seo, J. Y. Leem and D. R. Han. Chemical components of *Acanthopanax divarcatum* and anticancer effect in leaves. *Yakhak Hoeli*, 40, 251-261.
 28. Zhang, Y., P. Talalay, C. G. Cho and G. H. Posner. 1992. A major inducer of anti-carcinogenic protective enzymes from broccol : Isolation and elucidation of structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89, 2399-2403.
 29. Ziegler, R. G. 1989. Review of epidemiologic that cartenoids reduce the risk of cancer. *J. Nutr.* 119, 116-120.