

인체 암세포주에 대한 당근잎 추출 성분의 세포독성과 Quinone Reductase 유도효과

심선미 · 김미향 · 배송자[†]

신라대학교 식품영양학과

Cytotoxicity and Quinone Reductase Induced Effects of *Daucus carota* L. Leaf Extracts on Human Cancer Cells

Sun-Mi Shim, Mihyang Kim and Song-Ja Bae[†]

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

Abstract

The anticarcinogenic effects of various food components on human cancer cells have received much attention in recent years. The precise effect and mechanisms of anticarcinogens in food materials on cancer cells have rarely been investigated. This study was carried out to determine the effects of *Daucus carota* L. leaf (DCL) extracts on cytotoxic and chemopreventive effect on human cancer cells. The experiment was conducted to determine cytotoxicity of *Daucus carota* L. leaf extracts on HepG2, HeLa and MCF-7 cells by MTT assay. Among various partition layers of *Daucus carota* L. leaf, the ethylacetate partition layer (DCLMEA) at 500 µg/mL was shown to be most effective on MCF-7 cell lines. The four partition layers which are DCLM, DCLMH, DCLMB and DCLMH were less effective in inducing cytotoxicity than DCLMEA was. We also determined the induction of intracellular quinone reductase (QR) activity by adding DCL extracts on HepG2 cells. Among various partition layers of DCL extracts, DCLMH and DCLM were tested to be most effective with results such as 4.9 and 4.73 with a control value of 1.0.

Key words: cytotoxicity, quinone reductase, *Daucus carota* L. leaf, cancer cells

서 론

최근 국민의 식생활 패턴이 서구화됨으로 인해 성인병 유발 등 질병의 발병율이 높아져 가고 있으며 이에 따라 건강에 대한 관심이 더욱 고조되어 가고 있는 실정이다. 특히 그릇된 식생활에 의한 식원병이 만연되고 있는 이때에 질병 예방 차원에서의 식품이 가지는 생리활성물질이, 인체의 생리기능 조절에 미치는 영향에 초점을 맞추어 최근 기능성 식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다. 식품은 단순히 영양적, 기능적, 기호적 기능외에 그 목적에 따라 생체방어 또는 질병에 대한 치료효과를 나타내므로 현대인들의 건강관리 차원에서 식품의 기능성에 대해 많은 관심을 가지고 있다. 한편 해마다 증가일로에 있는 암은 전세계적으로 한해 약 700만명 이상이 사망되고 있는 질환으로서 우리나라에서도 약 5~6만명 정도가 암으로 희생되어 왔으며 암에 의한 사망률은 해가 갈수록 계속 증가하는 추세로서 현대인의 제 1의 사망원인이 될 것으로 추정된다(1).

역학 조사에 의하면 암발생의 80~90%가 환경적 인자에 의해 일어나며 환경성 발암인자의 대부분을 식품이 차지하

고 있으며 추정성분으로는 mycotoxin, nitrosamine 및 plant alkaloids 등의 미량 성분들이 알려져 있다(2,3). 암은 다른 모든 질병에서와 마찬가지로 치료보다는 예방을 함으로서 사전에 미리 그 해결점을 찾는 것이 암의 고통으로부터 벗어나는 근본적인 방법이라 할 수 있으며 이런 환경적 요인을 정확히 규명하고 조절할 수 있다면 암 발생의 50~80%는 예방할 수 있으리라 본다(4,5). 암의 병원적 치료요법으로는 수술요법, 방사선 요법, 면역요법 및 유전자 요법 등을 사용하고 있으나 수술요법, 방사선 요법 등은 국소적인 치료법으로서 일정 조건하에서 한계성이 있으며, 전신요법인 면역요법 또한 그 치료방법이 정립되지 않은 상태이므로 이런 문제의 지속적인 해결을 위하여 천연물 중에서 항암 효능이 우수한 물질을 찾아내고 그 생리활성 물질을 연구 검토함으로서 천연물을 이용한 항발암성물질의 영구적인 개발이 요구되고 있다(6-8). 그리하여 미국 국립암연구소(NCI)를 중심으로 암 예방제를 기존의 화합물 및 새로운 자원으로부터 암예방 활성을 갖는 물질을 다수 확인한 바 있고, 이들 중 독성이 낮고 발암억제가 우수한 물질에 대해서는 임상실험 실시 중에 있으며 그 대표적인 것으로 retinoids 계열의 화합물, β -carotene,

[†] Corresponding author. E-mail: sjbae@silla.ac.kr
Phone: 82-51-309-5462, Fax: 82-51-309-5176

α -difluoromethylornithine, oltipraz 및 dehydroepiandrosterone 등이 있다(9).

당근은 예부터 혈을 보하고 조혈 효과가 있으며 식품 중 색조식품으로 오랫동안 각광받고 있으며 식욕을 돋우고 변비나 신경쇠약 등에 유효하다고 알려져 왔지만(10) 거의 폐기하고 있는 당근잎에 대해서는 생리활성에 관한 연구가 거의 알려진 바가 없다고 생각한다. 당근잎에는 필수 아미노산이 대체로 많이 함유되어 있고 비타민 A, C가 풍부하며 특히 당근 뿌리보다 카로틴이 2배나 많이 함유되어 있다. 당근의 주 성분인 카로틴은 눈과 점막의 저항력을 높여 눈을 보호하고 혈행을 좋게 하므로 빈혈이나 허약체질, 피로회복에 도움이 되고 있다(11).

본 연구는 식품으로서 거의 이용되지 않고 폐기되고 있는 당근잎을 이용하여 폐기식품의 재활용 등의 견지에서 시료를 수거, 건조하고 각 용매별로 분획하여 소정의 양을 암세포주에 첨가함으로써 식품 폐기물 속에서 세포독성과 암예방 QR 유도활성 효과가 있는 생리활성 물질의 영향을 밝혀냄으로써 폐기물을 이용한 환경 보호적 차원에서는 물론 폐기 식품을 이용한 건강 증진 보조제로서의 연구개발 가능성을 타진해 보았다.

재료 및 방법

재료 및 기기

본 실험에 사용된 시료인 당근잎은 1999년에 양산 임기리의 당근밭에서 구입하여 수세, 정선 및 탈수 과정을 거쳐서 잘게 썬 후 건조시켜 분말화하였다. 이 시료를 각 용매별로 분획해서 인체 암세포주에 대한 세포 독성 효과(cytotoxicity)와 quinone reductase(QR)유도 활성 물질 검색에 사용하였다.

세포실험에 사용된 시약 중 NP-40과 menadione은 Sigma (St. Louis, USA)사 제품을 구입하여 실험하였고 flavin adenine dinucleotide(FAD), dicumarol 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase는 Amresco(USA)사 제품을 구입하였으며, minimum essential medium(MEM), Dulbecco's Eagle modified medium(DMEM)과 phosphate buffered saline(PBS) 등은 Gibco-BRL(USA)에서 구입하였으며, 그외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급 또는 일급을 사용하였다. 실험에 사용한 기기는 암세포 배양을 위해 CO₂ incubator(Forma scientific 3546, USA)를 사용하였고, 그외 Clean bench(Vision Scientific Co., LTD., VS-1400 LS), Rotary evaporator(Tokyo rikakikai Co., LTD., NN10522423, Japan), Microscopy(Leica Mikroskopie & systeme GmbH Wetzlar 520802, Germany), Deep freezer(Ilsin Engineering Co., DF 9071) 및 UV-spectrophotometer(Pharmacia Biotech 80-2105-20) 등을 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

시료로 사용된 당근잎(*Daucus carota* L. leaf)은 건조 후 분말화하여 methanol을 일정량 첨가하고 37°C에서 진탕배

양한 후 4시간 동안 3회 반복추출하여 회전식 진공농축기로 감압 농축시킨 후 동결 건조하였으며 이 메탄올 추출물(DCLM)을 다시 ethyl acetate(DCLMEA), hexane(DCLMH), butanol(DCLMB) 및 수층(DCLMA)으로 각각 분획하고 각 층을 감압농축 후 동결건조하여 다시 분말로 만들어 시료로 사용하였다(12).

암세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 간암 세포인 HepG2 (human hepatocellular carcinoma), 자궁경부암 세포인 HeLa (human cervix adenocarcinoma) 및 유방암 세포인 MCF-7(human breast adenocarcinoma)으로서 1999년 3월 대전 소재 한국과학기술원 생명공학연구소로부터 분양받았다. HepG2세포주는 MEM medium, HeLa와 MCF-7세포주는 DMEM medium에 10%의 fetal bovine serum(FBS)과 1% 100 units/mL의 penicillin streptomycin이 함유된 것으로 T-75 flask에 이식한 후, 37°C 5% CO₂ incubator에서 monolayer로 배양하였다. 위 3종의 암세포주는 일주일에 2~3회 정도 새로운 배지로 교환하고 flask에 암세포가 5×10⁴ cells/mL정도 증식되면 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0)으로 2번 세척한 후 trypsin-EDTA를 처리하여 바닥에서 세포를 분리한 후, 배양액으로 암세포가 골고루 분산되도록 희석하여 T-75 flask에 10 mL씩 분할 주입하고 4~5일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양시 각각의 passage number가 10회 이상일때는 액체질소탱크로부터 새로운 세포를 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

세포 독성 측정

당근잎 분획물의 세포 독성 효과는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT assay)를 사용하여 행하였다(13,14). 즉 각각의 인체 암세포주를 1×10⁵ cells/well의 농도로 맞추고 24-well에 각각 1 mL씩 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양한 후 시료의 용매별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 100, 150, 300 및 500 µg/mL의 농도로 첨가하였다. 각 시료의 용매 분획물을 첨가한 시료를 48시간 동안 배양한 후 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT 용액을 100 µL씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 용해되지 않게 상등액을 제거한 후 DMSO와 ethanol을 1:1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하여 천천히 녹인 후 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 570 nm와 690 nm에서 각각 측정하였다. 대조군의 세포수를 100%로 정하고 상대적인 세포성장억제율을 구하였다.

Quinone reductase(QR) 유도 활성 측정

QR생성 유도 효과는 Prochaska와 Santamaria의 방법(15)을 일부 변형하여 측정하였다. T-75 flask의 세포가 80%이상 증식하게 되면 24-well plate의 각 well에 1×10⁴ cells/mL되도록 HepG2세포주를 분주하여, incubator에 24시간 동

안 배양한 후 당근잎 분획물을 각각 DMSO에 녹여 25, 50, 100 및 200 µg/mL의 농도로 첨가하고 다시 24시간 동안 배양한 다음 배양액을 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 250 µL의 lysis buffer(10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 14 mM NaCl, 15 mM MgCl₂, 0.5% NP-40)을 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에 10분간 두면서 세포를 lysis한 후 reaction mixture[10 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.5 mg/mL BSA, 0.008% Tween-20, 40 µM FAD, 0.8 mM glucose-6-phosphate, 2 U/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 µM NADP, 40 µg/mL MTT 및 1 mM menadione]를 혼합하여 well에 1 mL씩 첨가하여 5분 동안 반응시킨 후, 반응 정지용액인 10.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate (pH 7.4) 혼합액을 250 µL씩 첨가하여 효소반응을 정지시키고 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 그리고 단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색방법으로 정량하였다. 시료를 처리하고 24시간 배양한 후 배지를 제거하고 0.2% crystal violet (in 2% EtOH)용액을 1 mL씩 첨가하고 10분간 염색시킨 후 멸균 증류수로 2분간 세척하였다. 각 well에 0.5% SDS용액을 1 mL씩 가하여 37°C incubator에 1시간 방치후 610 nm에서 흡광도를 측정하였다.

인체 암세포의 형태학적 관찰

3종류의 암세포주인 HepG2, HeLa 및 MCF-7에 각각의 시료를 농도에 따라 첨가하고 72시간 배양하면서 대조군과 실험군의 세포모양 변화를 24시간마다 현미경으로 관찰하였으며 본 논문에서는 HepG2세포주에 DCLMEA층과 DCLMB층을 최고농도인 500 µg/mL로 시료를 첨가한 후 세포의 형태를 관찰하였다.

결 과

당근잎 methanol 추출물 및 분획물의 수율

건조된 당근잎 95 g을 methanol로 6시간 반복 추출하여 30 g을 얻었다. 이 methanol 추출물(DCLM)을 n-hexane, ethyl acetate, butanol 및 수층의 각 용매에 따라 분획하였으며 hexane 분획층(DCLMH)은 5.23 g(17.4%), ethyl acetate 분획층(DCLMEA)은 0.45 g 및 butanol 분획층(DCLMB)은 1.9 g(6.3%)씩을 각각 얻었으며 나머지 수층(DCLMA)에서는 18.56 g(61.8%)의 수율을 얻었다.

인체 암세포주에 대한 당근잎의 세포독성 효과

Fig. 1은 인체 간암세포주인 HepG2에 대한 세포독성 효과를 나타낸 것으로 각 시료를 분획물의 농도를 증가시키면서 100, 150, 300, 500 µg/mL로 처리하였을 때 다른층에 비해서 butanol 분획층인 DCLMB에서 비교적 높은 세포독성 효과가 나타났으며 농도를 증가시켜 가면서 최고농도인 500 µg/mL를 가했을때에도 48.5%의 세포독성 효과가 나타나 본 연

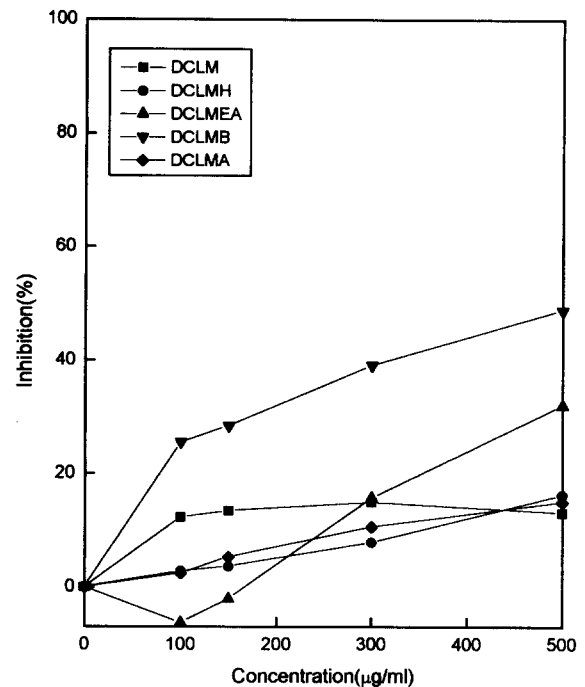


Fig. 1. Inhibitory effect on cell survival of the fractions of *Daucus carota* L. leaf extracts on HepG2 cells.

DCLM: Methanol extracts of DCLM

DCLMH: Hexane partition layer of DCLM

DCLMEA: Ethylacetate partition layer of DCLM

DCLMB: Butanol partition layer of DCLM

DCLMA: Aqueous layer of DCLM

구실에서 실험한 다른 천연물 추출물의 세포독성 효과 결과와 비교해 볼 때 비교적 낮은 효과를 나타내었다. Fig. 2는 인체 자궁암 세포주인 HeLa세포주에 관한 결과로서 HepG2의 결과보다는 DCLMEA에서 비교적 높은 세포독성 효과가 나타났다. 즉 시료농도 100 µg/mL으로 첨가하였을 때 24.7%의 낮은 세포독성 효과를 보였으나 농도 증량에 따라 의존적으로 증가해서 500 µg/mL로 가했을 때 57%의 효과를 보였다. 또 hexane층인 DCLMH를 최종농도인 500 µg/mL 가했을 때 41.3%의 세포독성효과를 보였으며 그 외 층인 DCLM, DCLMB 및 DCLMA층에서는 30%미만의 낮은 효과를 나타내었다. Fig. 3은 인체 유방암 세포주인 MCF-7에 관한 각 시료 분획물의 세포독성 효과를 나타낸 것으로 ethyl acetate층인 DCLMEA에서 HeLa세포주와 비슷한 효과가 나타났으며 저농도에서는 전반적으로 아주 낮은 세포독성을 나타내다가 실험 최고농도인 500 µg/mL로 첨가하였을 때는 62.8%의 효과를 나타내어 다른 세포주에 비해 비교적 높은 효과를 보였다. 그리고 MCF-7세포주의 경우 자궁 경부암 세포주 HeLa에서 효과를 보인 DCLMH층은 거의 미약한 효과를 나타내었다.

이상의 결과로 미루어볼 때 MTT방법에 의한 세포독성 효과의 결과, 당근잎은 전반적으로 다른 천연물 성분 첨가시에 비해서는 비교적 낮은 세포독성 효과를 나타내었으며 여러

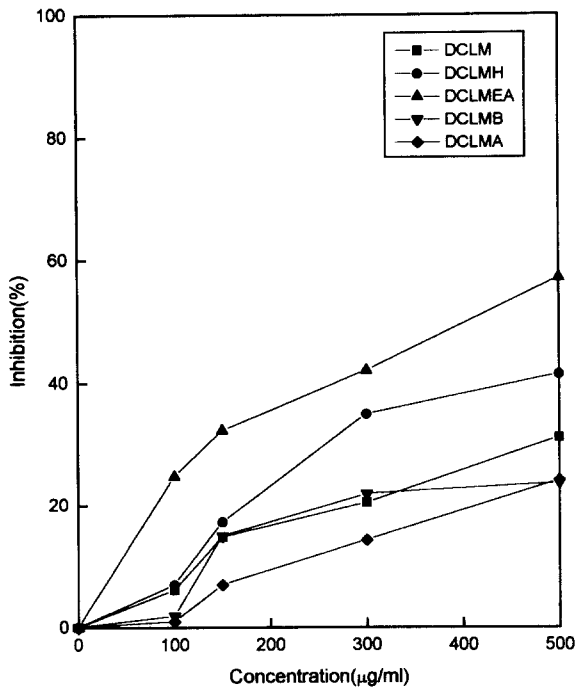


Fig. 2. Inhibitory effect on cell survival of the fractions of *Daucus carota* L. leaf extracts on HeLa cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

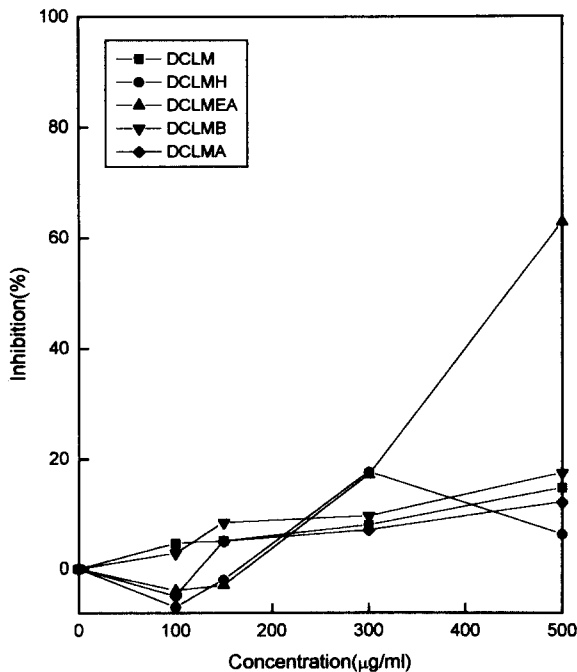


Fig. 3. Inhibitory effect on cell survival of the fractions of *Daucus carota* L. leaf extracts on MCF-7 cells. Experimental groups: refer to Fig. 1.

용매 분획물 중 ethyl acetate층인 DCLMEA에서 비교적 높은 효과를 보였고 HepG2 세포주의 경우에는 ethyl acetate층 다음으로 butanol층인 DCLMB에서 효과가 나타났다.

Quinone reductase(QR)유도 활성 효과

본 연구에 도입된 quinone reductase는 phase II 무독화 효소 중 암예방 물질 탐색의 지표가 되는 대표적인 효소이며 quinone류 자체에 대한 보호 효과가 있고 항암 작용이 있는 많은 화합물에 의해 유도되어진다(16,17). QR유도 활성 측정을 보다 신속하고 정확하게 하기 위해 여러 종류의 동물세포를 이용할 수 있는데 본 실험에서는 HepG2를 도입하여 실험을 행하였으며 그 결과는 Table 1에 나타나 있다. HepG2세포주에 당근잎 분획물을 각각 25, 50, 100 및 200 µg/mL의 농도로 첨가하였을 때 첨가물의 농도에 따라서 QR 활성이 증가하는 경향을 보였으며 특히 hexane층인 DCLMH와 methanol층인 DCLM층에서 매우 괄목할만한 암예방 효과를 나타내었다. 즉 시료 무처리군인 대조군을 1로 보았을 때 DCLMH층은 최저농도인 25 µg/mL에서부터 5.08배의 아주 높은 효소 활성을 나타냈으며 최고농도인 200 µg/mL로 증가시켰을 때는 4.99배의 아주 유의적인 QR유도 활성을 나타내었다. 당근잎 methanol층인 DCLM에서도 hexane을 제외한 다른 층에 비해 매우 높은 QR유도 활성을 보였으며 농도 의존적인 효과를 나타내어 첨가농도 50 µg/mL의 농도에서는 3.83배의 효과를 보이다가 100 µg/mL의 농도를 첨가시켰을 때 DCLMH와 비슷한 4.66배의 QR유도 효과를 나타내었고 200 µg/mL에서는 더 높은 4.73배의 유의적인 효과를 나타내었다. Ethyl acetate층인 DCLMEA와 butanol층인 DCLMB에서는 hexane층에 비해서는 약한 효과이지만 농도 의존적인 경향을 나타내었고 최고농도인 200 µg/mL에서는 무처리군에 비해 각각 1.68배 및 1.47배의 QR유도활성 효과를 나타내었다.

이와같은 결과는 Bae 등(12)에 의해 연구된 당근 뿌리 추출 성분의 QR유도활성 효과에 대한 결과 비슷하며 본 연구에서 사용한 당근잎의 각 분획층 중 DCLMH와 DCLM층의 QR유도 활성 효과가 괄목할만큼 아주 높았으므로 DCLMEA와 DCLMB층의 효과가 아주 약해보였으나 이 결과도 암예방 QR유도효과면에서는 유의성이 인정되는 바이다.

이 결과로 보아 당근잎 분획물의 QR유도 활성은 다른 천연물 분획물의 QR유도활성에 비해서 매우 큰 괄목할 만한 효과를 나타내었으며 특히 DCLMH와 DCLMB층에서 매우 높은 활성을 보였으므로 이 분배층에서 quinone reductase inducer가 존재함을 추정할 수 있으며 더욱더 심도있는 연구를 통해

Table 1. Effects of various partition layers from methanol extract of *Daucus carota* L. leaf on the induction of quinone reductase in HepG2 cells (specific activity : rate)

Conc. (µg/mL)	Fractions ¹⁾				
	DCLM	DCLMH	DCLMEA	DCLMB	DCLMA
0	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
25	3.37	5.08	1.06	1.03	0.76
50	3.83	4.28	1.27	1.28	0.85
100	4.66	4.72	1.53	1.28	1.25
200	4.73	4.99	1.68	1.47	1.26

¹⁾Refer to Fig. 1.

이 생리활성 물질을 분리하여 그 구조를 밝혀낸다면 특히 식품 폐기물을 이용한 본 연구결과 환경 보호적 차원과 경제적 차원에서의 의의가 크다고 보며 식품 산업에 있어서의 암예방 효과를 지닌 기능성 식품의 개발에 중요한 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

암세포의 형태학적 관찰

세포독성 측정에 사용되어진 HepG2 세포주의 형태학적 관찰은 Fig. 4에 나타나 있다. 그림 A는 대조군으로 사용한 HepG2 세포주이며 B는 ethyl acetate층인 DCLMEA, C는 butanol층인 DCLMB를 각각 500 µg/mL씩 첨가하였을 때의 시료의 세포독성 효과에 의한 HepG2 세포주의 비정상적인

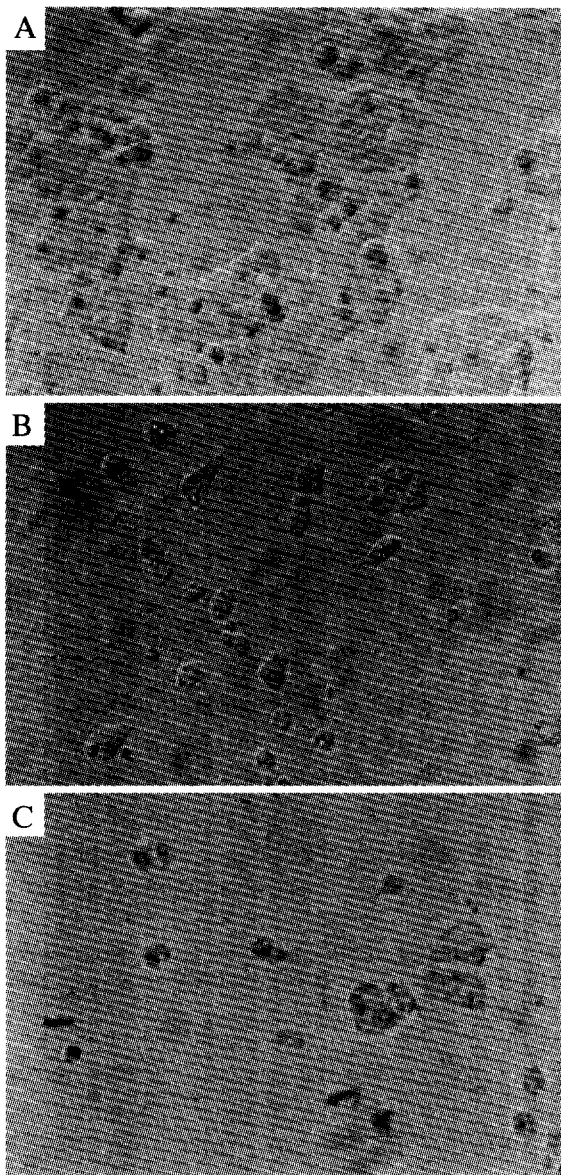


Fig. 4. Photomicrographs ($\times 200$) of HepG2 cells on various partition layers of *Daucus carota* L. leaf at 500 µg/mL. A: HepG2 cells (control), B: DCLMEA, C: DCLMB

성장을 나타낸 사진이다. 즉 HepG2세포주는 균집을 형성하며 서서히 증식하여 세포 주위에는 작은 액포와 검은 과립들이 분포되었으나 첨가시료 분획물의 농도를 증가시킬수록 암세포의 원래 형태는 소멸되어 갔으며 시료의 세포독성 효과에 의해 세포의 모양이 변함을 알 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 거의 이용되지 않고 폐기되고 있는 당근잎을 methanol로 먼저 추출하고 이를 각 용매별로 분획하여 식품 폐기물 속에서의 생리활성 물질을 검색하여 보았다. 3종의 암세포주(HepG2, HeLa 및 MCF-7)를 이용하여 세포독성 실험을 한 결과 전반적으로 당근잎의 ethyl acetate층(DCLMEA)에서 다른 층에 비해서 비교적 높은 세포독성 효과가 나타났다. 특히 MCF-7세포주에서 최고농도인 500 µg/mL로 첨가하였을 때 62.8%의 비교적 높은 세포독성 효과를 보였으며 HeLa세포주에서는 농도에 따른 의존적인 효과를 보였고 다른 세포주에 비해서 hexane층인 DCLMH에서 41.3%의 효과를 보였다. 한편 당근잎의 QR유도활성 효과는 분획물의 농도를 증가시켜 갈수록 QR유도 효과는 매우 증가되었으며 특히 hexane층인 DCLMH에서 다른 식품 추출물에서는 볼 수 없는 매우 괄목할만한 효과를 나타내었다. 즉 무처리군을 1로 하였을 때 최저농도인 25 µg/mL에서 이미 5.08배의 높은 효과를 보였고 실험 첨가 최고농도인 200 µg/mL에서는 4.99배의 효과를 나타내어 농도첨가에 따라 일정효과를 유지하였다. 또 methanol층인 DCLM에서도 나머지층에 비해 높은 QR유도 활성을 보였으며 농도증가에 따라 의존적인 경향을 보여 최고농도인 200 µg/mL에서 4.73배로 DCLMH층과 비슷한 QR효소 활성을 나타내었다.

문 헌

1. American Cancer Society : Cancer Facts and Figures (1997)
2. Weinstein, I.B. : The origins of human cancer molecular mechanism of carcinogenesis and their implications for cancer prevention and treatment. *Cancer Res.*, **48**, 4135 (1998)
3. Cooper, G.M. : *Elements of human cancer*. Jones and Bantlett Publishers, Inc., Boston (1992)
4. Wakabayashi, K., Nagao, M., Esumi, H. and Sugimura, T. : Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res.*, **52**, 2092-2096 (1992)
5. Giampieti, A. : Drug-mediated increase of tumor immunogenicity *in vivo* for a new approach to experimental cancer immunotherapy. *Cancer Res.*, **41**, 681-687 (1981)
6. Kim, H.J., Lee, I.S. and Lee, K.R. : Antimutagenic and anti-cancer effects of *Ramaria botrytis* (Fr.) Rick extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 1321-1325 (1999)
7. Seng, S.S., Kim, E.J., Jung, S.W., Choi, K.P., Zhao, J.L. and Hwang, B.H. : The antimutagenic and anticancer effect of *Taxus cuspidata* extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **12**, 1062-1068 (1996)
8. Goodman, G.E., Yen, P.Y., Cox, C.T. and Crowley, J. : Effect of verapamilon *in vitro* cytotoxicin and vinblastine in human

- tumor cell. *Cancer Res.*, **47**, 2295-2304 (1987)
9. Fish, B. : Clinical trials for the evaluation of cancer therapy. *Cancer*, **54**, 2609-2616 (1984)
 10. Ziegler, R.G. : Review of epidemiologic that carotenoids reduce the risk of cancer. *J. Nutr.*, **119**, 116-120 (1989)
 11. 건강논단. 약이 되는 식품이야기. 11월호. 도서출판 (1999)
 12. Bae, S.J., Roh, S.B. and Han, E.J. : The effects on quinone reductase induction of *Daucus carota* L. *J. Kor. Life Science*, **10**, 79-85 (2000)
 13. Michael, C.A., Dominic, A.S. and Anue, M. : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, **48**, 589-595 (1998)
 14. Carmichael, J., De Graff, W.C., Gazder, A.F., Minna, J.D. and Mitchell, M.B. : Evaluation of a compound found in grapes and colorimetric assay : Assesment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**, 936-942 (1987)
 15. Prochaska, H.J. and Santamaria, A.B. : Direct measurment of NAD(P)H: Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells : A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. *Anal. Biochem.*, **169**, 328-336 (1988)
 16. Prester, T., Holtzclaw, W.D., Zhang, Y. and Talalay, E. : Chemical and detoxify carcinogens. *Proc. Natl. Sci. USA*, **90**, 2965- 2969 (1993)
 17. Kang, H.J. : Screening for anticarcinogenic enzyme inducer from roasted and defatted perilla. *Ph.D. Dissertation*, Pusan National University. (1998)

(2000년 11월 11일 접수)