

유황시비처리가 열무의 Quinone Reductase 유도물질 생성에 미치는 영향

김경아¹ · 노치웅² · 최경락² · 황해준² · 최혜선^{1*}

¹울산대학교 생명과학부

²경상남도농업기술원

Quinone Reductase Inducer from Radish Leaf Cultivated in the Soil Containing Sulfur

Kyung-A Kim¹, Chi-Woong Rho², Kyung-Rak Choi², Hae-Jun Hwang² and Hye-Seon Choi^{1*}

¹Dept. of Biological Sciences and Immunomodulation Research Center,
University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

²Gyeongsangnam-do Agricultural Research and Extension Service, Jinju 660-370, Korea

Abstract

Young radishes which were grown in the soil containing sulfur increased quinine reductase (QR) activity in Hepa 1c1c cells and isothiocyanate-like compound analyzed by HPLC. QR inducing activity was maximum in young radishes grown with 1,818 g/m³ sulfur and was decreased when the soil was neutralized with lime mortar in order to improve a recovery. These results have suggested that consumption of young radishes, especially grown in the presence of sulfur, would prevent from cancer incidence through inducing detoxification enzymes and could have therapeutic effects for chemoprevention.

Key words: young radish, quinone reductase, isothiocyanate, sulfur, chemoprevention

서 론

우리나라 남도지방의 민간요법에서는 열무에 유황을 첨가하여 재배시 열무는 원기를 돋우는 보양제로 신체허약, 고혈압, 신경통, 시력부족에 탁월한 효과가 있고 오래 복용시 시력, 청각, 기억력도 크게 향상시킬 수 있다고 알려져 있다(1). 열무는 십자화과에 속하는 야채로 북반구의 온대와 난대에 퍼져있고, 우리나라에서는 15속 45종, 15개의 변종이 자란다. 이 과의 식물들은 물분해에 의해 시니그린, 시날빈, sulforaphane 같은 유황배당체를 가지고 있고 불포화락톤고리가 있는 steroid 골격의 화합물인 강심배당체를 가진 것도 있다. 배당체는 알콜성, 페놀성 수산기를 가진 물질이 몇 개의 당과 아세탈 형태로 결합되어 있고 이러한 성분이 생리활성에 기여한다고 알려져 있다. Sulforaphane은 유황화합물이므로 토양에 유황을 넣어 열무재배시 식물자체에 높은 농도의 다양한 유황배당체가 생성될 가능성을 가지고 있다.

구미에서는 무우가 구황작물중의 하나로 즐겨먹는 야채가 아니고, 그중 열무는 섭취를 하지 않으므로 열무, 무우에 대한 연구가 부진한 반면 십자화과에 속하는 Saga brocoli에서 항암성분인 sulforaphane [(-)-1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)butane]이 유기용매 추출액에서 발견되는(2) 등,

다른 야채류에 대해서는 비교적 활발한 연구가 되어 있다. 십자화과식물에서 발견되는 sulforaphane은 간에 있는 중요한 phase II detoxification enzyme인 glutathione transferase, NADH:quinone reductase를 유도시키는 물질이고 또한 cytochrome P-450의 합성을 현저히 바꾸지 않고 phase II enzyme의 상승을 통해 해독작용을 상승시키기 때문에 많은 흥미를 끌고 있다(3). Sulforaphane에 의한 enzyme induction은 murine hepatoma, human adult retinal pigment epithelial cell 뿐만 아니라 sulforaphane을 먹인 쥐의 간, 위, 작은 창자, 폐 등을 이용한 보고가 있다(2). Sulforaphane의 oxidative damage에 대한 보호능력의 효용성은 *in vivo* model에서도 증명이 되었는데 쥐에서 DMBA에 의해 유도된 mammary tumor의 incidence, multiplicity, 크기를 감소시켰다(4). Sulforaphane은 *Helicobacter pylori*를 억제하여 benzo(a)pyrene에 의해 유도된 stomach tumor를 예방하고 sulforaphane의 활성과 phase II enzyme의 유도를 조절하는 세포 내 분자수준의 조절자인 Nrf2-Keap1 complex 사이의 직접적 연결이 있다는 것이 제시되었다(5). NF-E2 transcription factor family에 속하는 Nrf2는 antioxidant response element에 부착하여 phase II enzyme을 유도한다. Sulforaphane은 wild-type animal에서는 chemoprotective이지만 Nrf2가

*Corresponding author. E-mail: hschoi@mail.ulsan.ac.kr
Phone: 82-52-259-1545, Fax: 82-52-259-1694

결핍된 mice에서는 benzopyrene-induced gastric tumor에 대한 효용성이 낮았다(6). 다른 십자화과 식물에서 발견되는 isothiocyanate의 경우 animal에서 일어나는 다양한 carcinogenesis에 강력한 inhibitor로 알려져 있다(7-11). 항암효과의 주요 기작은 carcinogen metabolic activation에 포함된 cytochrome P450 enzyme을 선택적으로 억제하고 phase II enzyme을 유도하며 apoptosis를 유발한다(12). Benzyl isothiocyanate(BITC)는 A/J mice에서 benzopyrene에 의해 유도되는 lung tumorigenesis를 억제하는 반면 phenethyl isothiocyanate(PEITC)는 효과가 없다고 알려져 있으며(13), BITC에 의한 효과는 benzopyrene이 활성화되어 benzopyrene-DNA adduct를 형성하는 것을 억제하기 때문으로 추정된다. PEITC는 Fisher rat에 8 mmol/kg을 투여시 carcinogen인 4-(methylnitrosoamino)-1-(3-pyridol)-1-butanone (NNK)에 의한 lung tumorigenesis의 율을 대조군의 67%로, 암 발생율은 9%로 감소시켰다(14). 또 PEITC와 allyl isothiocyanate는 *in vitro* system에서 human leukemia HL 60과 human myeloblastic leukemia cell에서 apoptosis를 유도하여 성장억제 효과를 보였다. Serum 부재 시에는 GC50이 0.8~0.9 μM 이고 serum이 있을 때는 1.49~3.22 μM 로 측정되어 야채 섭취시 암 발생율을 낮추는 기작에 대한 하나의 증거이다(15).

본 연구에서는 열무를 유황함유도양에서 재배시켰을 때 HPLC로 측정시 isothiocyanate 유사물질의 함량이 증가하고 Hepa 1c1c를 이용한 bioassay에서 간의 phase II enzyme인 quinone reductase를 유도할 수 있는 성분이 현저하게 증가됨을 보고하고자 한다. 우리나라도 선진사회로 진입하면서 성인병 환자들의 비율이 날로 높아지고 많은 사람들이 건강식품에 관심을 보이고 있으므로 유황을 처리하여 생육시킨 열무에서 발암억제물질의 생성은 야채로서의 열무를 건강보조용 기능성식품으로 개발 가능성이 기대된다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 Hepa 1c1c murine cell line은 ATCC에서, acetonitrile, methanol은 HPLC grade로 Trizma base, BSA, FAD, NADH, 2,6-dichloroindophenol, Tween 20, dicumarol은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MI)에서 구입하였다. 열무의 재배는 58×38×8 cm의 플라스틱상자에 질소 38, 인산 44, 칼리 39 kg/ha 및 퇴비 15 M/T, 석회 2 M/T를 섞은 다음 황토+유황(1,818 g/m³, 1,364 g/m³, 909 g/m³)+석회처리 및 일반토양 처리를 두어 파종하여 생육시 수확하여 사용했다.

열무의 유효성분의 추출

유효성분의 추출은 열무를 재배후 수확하여 즉시 냉동후 -20°C에서 보관하였으며, 열무잎은 4°C에서 적당량의 50%

methanol을 넣고 ice-chilled bead beater(Bio-Spec)를 이용하여 5분간 pulse를 주고 homogenization시킨 후 homogenate는 A-8.24 rotor를 이용한 T-324 refrigerated centrifuge를 이용하여 10,000×g에서 40분간 원심분리시켜 상등액을 얻었다. 상등액을 evaporation시켜 용매를 날려 보내고 다시 증류수에 녹인후 Amicon membrane filter를 이용하여 PM-10으로 ultrafiltration시켜 10,000 dalton 이하의 filtrate을 얻고, 다시 용매를 없앤 후 용질무게를 측정하여 사용했다.

Quinone reductase(QR)의 inducer potency

Quinone reductase의 측정은 96 well에서 Hepa 1c1c murine hepatoma cell을 사용하여 측정하였다. 세포를 10,000/well로 넣어 24시간 배양하여 부착시킨 후 조사하고자 하는 effector 물질을 투여하여 48시간 더 배양하였다. Effector가 녹아 있는 유기용매는 농도가 0.2% 이하가 되도록 희석하여 사용한다. Inducer activity의 1 unit는 150 μL 배양액을 포함한 1개의 well에 더해졌을 때 QR의 specific activity를 2배로 하는 양으로 정한다. Effector 처리 후 세포를 ice-cold PBS로 2번 씻고 125 mM sucrose를 포함한 25 mM Tris-HCl(pH 7.4) buffer로 현탁액을 만들었다. 세포현탁액은 13,000×g, 20분, 4°C에서 원심분리하고 상등액으로 단백질농도와 QR 활성을 Chang 등의 방법(16)으로 측정했다. 5 μg 의 cytosolic protein을 총부피가 200 μL 가 되도록 assay buffer(25 mM Tris-HCl(pH 7.4), 60 μg BSA, 5 μM FAD, 0.2 mM NADH, 80 μM 2,6-dichloroindophenol, 0.01% Tween 20)에 넣고 cytosolic protein 첨가전, 상온에서 5분 처리후 30 μM dicumarol로 반응을 끝내고 600 nm에서 흡광도를 측정하여 초기 반응속도를 구했다.

Isithiocyanate와 glucosinolate의 측정

열무추출액의 isithiocyanate의 농도는 1,2-benzenedithiol과 cyclocondensation으로 1,3-benzenodithiole-2-thione을 형성하여 spectrophotometer로 365 nm에서 측정한다(17). 황토+유황 1,818 g/m³ 등 8가지 각각 다른 처리를 하여 재배한 열무를 수확하여 그중 100 g을 취하여 DMSO/dimethylformamide/acetonitrile에 담그어 homogenization시킨 후 수용액분획을 evaporation시킨 후 물에 녹여 myrosinase를 첨가하여 glucosinolate를 isithiocyanate로 전환시키고 clocondensation시켜 365 nm에서 흡광도를 측정하고, HPLC에서 확인하기 위해 20 μL 를 C₁₈ column에 loading하여 80% methanol로 isocratic elution한 결과 retention time이 3.9분에서 peak가 나타났다(result not shown). Standard compound인 sulforaphane과 비교하였을 때 유사하게 이동하였으므로 isithiocyanate이거나 그와 유사한 물질로 추정된다. 이후 이 분획을 isithiocyanate-like compound라 포기하였다. Inducer의 함량은 retention time이 3.9분에 나타난 peak의 면적을 계산해서 얻어졌다. Standard로 sulforaphane과 sulforaphene을 사용했다.

결 과

황토와 유황처리에 의한 열무의 생육

열무생육시 토양에 다양한 처리를 하여 재배시험을 실시한 결과 Table 1에서와 같이 처리별 생산량은 일반토양에서 24.15 kg/m²였으나 첨가된 유황의 양이 높아졌을 때 생산량이 줄어 1,818 g/m³ 처리에서는 일반토양 대비 44% 수준으로 감소하였다. 그러나 황토사용자체가 열무의 생산량을 70%로 감소시켰고 유황농도가 909 g/m³ 처리까지는 열무생산량이 오히려 약간 증가하여 열무생육에 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 높은 유황을 함유한 토양을 중화시키기 위하여 석회를 첨가시에 유황이 1,818 g/m³ 처리군에서는 146%의 생산량이 증가되었다. 열무의 생육은 황토보다 일반토양에서 훨씬 증진되고 유황을 1,818 g/m³ 처리시에는 생육이 현저하게 저하하지만 그 이하로 유황의 농도를 낮추었을 때는 생육에 영향을 주지 않았다. 유황농도가 높을 때 석회첨가는 열무의 생육을 증진시켰다.

황토와 유황시비 처리시 열무에서 isothiocyanate-like compound의 양의 측정

토양에 유황처리에 의해 열무의 생리활성 성분이 증가했는지를 조사하기 위해 일단 유황성분중의 하나인 isothio-

cyanate의 함량을 조사했다. 각 생육조건에서 채취한 열무에서 isothiocyanate-like compound의 양은 Table 2에서 보여 주듯이 spectrophotometer의 흡광도의 정도나 HPLC에서 나타난 peak의 상대적 면적을 비교시 비슷한 유형을 보였다. HPLC에서 peak의 면적은 황토+유황 1,818 g/cm³ 처리군에서 가장 높았고 일반토양에서 기른 것보다 2.5배가 높았다. 생육정도를 고려하여 석회첨가시 65%로 양이 줄지만 그래도 일반 토양보다 1.6배 증가됨을 보여 주고 있다. Isothiocyanate-like compound의 양은 황토+유황 1,818 g/m³ 처리시와 기본시비 2배의 석회, 황토+유황 909 g/cm³ 처리의 순서로 검출되었는데, 이 실험에 의해 열무자체에 broccoli같은 십자화과 식물에서 발견되는 강력한 chemoprevention의 능력을 가진 유황화합물이 열무자체에 존재하고 그 양은 토양에 유황을 첨가시 급격히 증가되는 것을 보여주고 있다.

황토와 유황처리시 열무에서 quinone reductase inducing activity

각 생육조건인 열무에서 생물학적 활성을 보기 위해 quinone reductase inducing activity를 Hepa lclc cell line을 이용하여 측정시 Table 3과 같은 결과를 얻었다. 생물학적 활성이 Table 2에서 보여준 화학적인 존재를 나타내주는 isothiocyanate-like compound의 양과 정확히 일치하지는 않지만 두 개의 결과 모두 유황을 1,818 g/m³ 사용시 가장 높은 활성을 보였다. 유황의 농도가 낮거나 석회첨가시에는 quinone reductase inducing activity가 현저히 감소됨을 볼 수 있다.

고 찰

본 연구에서는 열무자체에 이미 발표된 broccoli와 같은 십자화과 식물에서 발견되는 강력한 chemoprevention effect와 anticarcinogenic activity를 가진 isothiocyanate 계열의 유황화합물이 존재하는 것을 두가지 다른 방법을 통해 보여주었다. 한가지는 spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하고, 이를 보강하기 위해 HPLC를 통한 isothiocyanate-like compound의 양을 측정했다. 그러나 HPLC에서 얻어진

Table 1. Effect of sulfur on production of radish

Treatment	Production (kg/m ²)
Yellow soil ¹⁾ +Sulfur 1,818 g/m ³	10.70
Yellow soil+Sulfur 909 g/m ³	18.28
Yellow soil+Sulfur 455 g/m ³	18.51
Yellow soil	17.01
Control soil	24.15
Yellow soil+Sulfur 1,818 g/m ³ +Lime mortar ²⁾	15.60
Yellow soil+Sulfur 909 g/m ³ +Lime mortar	17.16
Yellow soil+Sulfur 455 g/m ³ +Lime mortar	18.07
Yellow soil+Lime mortar	15.60

¹⁾Yellow soil was obtained from local area near Jinju, and it contained low level of P, K, Ca, and Mg, comparing with control soil.

²⁾Lime mortar: commercially available in local market

Table 2. Effect of sulfur on amount of isothiocyanate-like compound from radish

Treatment	A ₃₆₅ /g ¹⁾	Relative area of isothiocyanate/g ²⁾
Yellow soil+Sulfur 1,818 g/m ³	1.30	5434591
Yellow soil+Sulfur 909 g/m ³	0.84	3171916
Yellow soil+Sulfur 455 g/m ³	0.83	2887330
Control soil	0.69	2139170
Yellow soil+Sulfur 1,818 g/m ³ +Lime mortar	0.92	3517271
Yellow soil+Sulfur 909 g/m ³ +Lime mortar	0.75	2823900
Yellow soil+Sulfur 455 g/m ³ +Lime mortar	0.59	1986345
Yellow soil+ Lime mortar	0.89	2912731

¹⁾Each absorbance value at 365 nm was divided by dry weight of each preparation.

²⁾The arbitrary area of peak at retention time of 3.9 min, determined by an integrator attached with HPLC, was divided by dry weight of each preparation.

Table 3. Effect of sulfur on quinone reductase-inducing activity from radish

Treatment	Relative QR-inducing activity ¹⁾
Yellow soil+Sulfur 1,818 g/m ³	5.32
Yellow soil+Sulfur 909 g/m ³	3.51
Yellow soil+Sulfur 455 g/m ³	3.45
Control soil	3.60
Yellow soil+Sulfur 1,818 g/m ³ +Lime mortar	3.75
Yellow soil+Sulfur 909 g/m ³ +Lime mortar	3.95
Yellow soil+Sulfur 455 g/m ³ +Lime mortar	4.20
Yellow soil+Lime mortar	3.80

¹⁾Absorbance change at 600 nm was divided by dry weight of each preparation, which was incubated in Hepa 1c1c cell.

peak에 대한 구조분석을 하지 않았기 때문에 standard compound인 sulforaphane, sulforaphene과 retention time이 유사하다고 해서 같은 물질이라고 할 수는 없다. 그러나 유사한 구조 보유시 HPLC column을 통과할 때 비슷한 시간대에 용출될 것이므로 열무에서 검출된 생리활성물질은 적어도 sulforaphane 유사체라고 할 수 있다. 또 다른 방법으로는 Hepa 1c1c cell line을 이용한 bioassay에서 quinone reductase를 유도하는 활성을 가지고 있는 것을 보였다. 또 이러한 유황 화합물은 일정 농도의 유황을 함유한 토양에서 열무를 생육시 현저히 증가되어졌다. 따라서 sulforaphane과 유사한 구조를 가지고, 같은 생물학적 활성을 보유한 물질이 열무에 존재하고, 토양에 유황첨가시 그 농도가 증가되는 것으로 보인다.

Isothiocyanate는 식물에서 glucosinolate라고 불리는 thioglucoside conjugate 계열의 물질로 watercress, Brussel sprout, broccoli, cabbage, kale, horseradish 등의 십자화과 식물에서 검출된다(18). Glucosinolate는 C=N bond에 부착한 sulfate를 가진 thioglucoside와 side chain으로 구성되어 있는데 종류에 따라 side chain이 달라진다. Glucosinolate는 물 존재하에 myrosinase에 의해 glucose와 불안정한 aglucone이 생성되는데, 불안정한 물질은 곧장 주생성물인 isothiocyanate로 전환된다(19). Myrosinase는 전문화된 myrosin cell에 축적되어 있어 공간적으로 분리되어 있으나 식물이 물리적 요인이나 병원균에 의해 손상이 되었을 때 물리적 접촉이 가능하게 되어, isothiocyanate를 생성할 수 있게 된다(20). 암의 역학연구에 의해 야채와 과일의 섭취가 암발생을 낮추어 준다는 것이 밝혀졌지만 isothiocyanate의 본격적인 연구는 서구인들이 건강식품으로 믿어온 broccoli에서 시작되었다고 할 수 있다. Broccoli에는 화학적 발암물질에 대한 보호 작용을 할 수 있는 isothiocyanate가 존재하고 특히 발암초기의 어린 식물에 10~100배 높은 농도로 존재했고 이것은 DMBA에 의해 유도된 mammary tumor 발생을 억제했다(3). *Wasabia japonica*에서 추출된 6-methylthiohexyl isothiocyanate는 발암물질중의 하나인 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone에 의한 lung tumor의 초기 단계를

억제했다(21). Glucosinolate는 HPLC에 의해 Oriental mustard에서도 검출되었는데 주 degradation product는 allyl isothiocyanate이다(22). Brussel sprout도 적어도 4가지 종류의 생물학적 활성이 있는 glucosinolate를 함유하고 있는데 이것들은 nitrile, 1-cyano-2-hydroxy-3-butene, indole-3-carbinol, 1-isothiocyanato-3-(methylsulfanyl)-propane, phenylethyl isothiocyanate이다. 그중 1-cyano-2-hydroxy-3-butene는 pancreatic glutathione S-transferase를 낮은 농도에서 유도하고 간에서 phase I enzyme인 P-450 1A 활성에 영향을 주지 않고 glutathione S-transferase와 quinone reductase를 유도한다(23). Indole-3-carbinol, phenylethyl isothiocyanate은 간에서 phase I과 phase II detoxification enzyme을 모두 유도하는데 암의 초기발생을 억제하여 화학적 발암물질에 의한 암에 대한 chemoprevention effect를 보유한 것으로 알려져 있다(24). Beet 뿌리 추출액에서도 강력한 항산화물질이 검출되었고 이 물질은 Hapa 1c1c cell에서 quinone reductase를 유도했다(25). 이러한 연구들의 결과는 십자화과 식물에 다양한 isothiocyanate유도체들이 검출되고 간이나 pancreas 등에서 phase II enzyme을 유도하여 암발생을 억제하거나 지연시키는 효과를 보여주고 있어 역학적 연구에서 야채나 과일섭취가 암발생을 줄인다는 연구들에 대한 강력한 지지 근거를 보여주고 있다. 본 연구에서는 여름철 야채로 섭취하고 있는 열무의 생리활성 성분중 chemoprevention과 발암억제에 관여하는 isothiocyanate가 존재하고 이러한 성분이 열무재배 토양에 유황 처리시 유의성 있게 증가되는 것을 보여주었다. 유황 처리 열무에서 quinone reductase inducing activity가 기존의 sulforaphane인지, 아니면 그 유도체인지는 열무추출액의 생리활성 분석을 완전 정제후 구조를 밝히는 작업을 통해 현재 진행 중이다. 그러나 열무에 유황처리시 HPLC에서 sulforaphane과 유사한 분석이 현저하게 증가되고 그와 수반되어 biological activity 역시 증가하므로 유황처리 열무가 섭취시 생체내에서 detoxification enzyme을 유도하여 암발생을 지연시키거나 또 낮출 수 있는 chemoprevention의 효율을 기대할 수 있으리라 생각된다. 또 열무섭취시 암발생을 줄일 수 있는 지에 대한 mouse에서의 *in vivo* 효과도 계획중이다.

요 약

본 연구는 열무에서 다른 십자화과 식물에서 발견되는 sulforaphane 유사물질의 분석과 quinone reductase inducing activity를 측정하였고 열무생육시 유황을 첨가해 주면 이러한 활성이 현저히 증가되는 것을 보았다. Sulforaphane 유사물질의 분석은 유황을 토양에 1,818 g/m³ 첨가시 가장 높았고, 열무의 생산성을 고려하여 토양을 석회로 중화시켰을 때 감소되었다. 유황을 처리하여 키운 열무에 생리활성성분을 가진 유황화합물이 증가되므로 이러한 열무는 생체에 섭취

시 detoxification enzyme를 유도하여 암발생을 지연시키거나 낮출 수 있는 chemoprevention의 효율이 기대된다.

감사의 글

본 연구의 수행은 2003~2005년 농림부의 농림기술개발과제 연구비에 의해 행해졌다. 김경아는 부분적으로 2003~2005년의 두뇌한국사업에 의해 보조되었다.

문헌

1. 김일훈. 1989. 신약. 광제원, 서울. p 80-81.
2. Zhang Y, Talalay P, Cho CG, Posner GH. 1992. A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 2399-2430.
3. Fahey JW, Zhang Y, Talalay P. 1997. Broccoli sprouts: an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 10367-10372.
4. Zhang Y, Kensler TW, Cho CG, Posner GH, Talalay P. 1994. Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 3147-3150.
5. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Yamamoto M, Talalay P. 2002. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 11908-11913.
6. Fahey JW, Haristony X, Dolan PM, Kensler TW, Scholtus I, Stephenson KK, Talalay P, Iozziewski A. 2002. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo(a)pyrene-induced stomach tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 7610-7615.
7. Wallig MA, Kingston S, Staack R, Jeffery EH. 1998. Induction of rat pancreatic glutathione S-transferase and quinone reductase activities by a mixture of glucosinolate breakdown derivatives found in Brussels sprouts. *Food Chem Toxicol* 36: 365-373.
8. Sasaki T, Kudoh K, Uda Y, Ozawa Y, Shimizu J, Kanke Y, Takita T. 1999. Effects of isothiocyanate on growth and metastaticity of B16-F10 melanoma cells. *Nutr Cancer* 33: 76-81.
9. Rose P, Faulkner K, Williamson G, Mithen R. 2000. 7-methylsulfanylheptyl and 8-methylsulfinyloctyl isothiocyanates from watercress are potent inducers of phase II enzymes. *Carcinogenesis* 21: 1983-1988.
10. Laky B, Knasmuller S, Gminski R, Mersch-Sundermann V, Scharf G, Verkerk R, Freywald C, Uhl M, Kassie F. 2002. Protective effects of Brussels sprouts towards B[a]P-induced DNA damage: a model study with the single-cell gel electrophoresis (SCGE)/HepG2 assay. *Food Chem Toxicol* 40: 1077-1083.
11. Zhang J, Svehlikova V, Bao Y, Howie AF, Beckett GJ, Williamson G. 2003. Synergy between sulforaphane and selenium in the induction of thioredoxin reductase I requires both transcriptional and translational modulation. *Carcinogenesis* 24: 497-503.
12. Hecht S. 2000. Chemoprevention of cancer by isothiocyanates, modifiers of carcinogen metabolism. *Drug Metab Rev* 32: 395-411.
13. Sticha KR, Starez ME, Wang M, Liang H, Kenny PM, Hecht SS. 2000. Effects of benzyl isothiocyanate and phenethyl isothiocyanate on benzo[a]pyrene metabolism and DNA adduct formation in the A/J mouse. *Carcinogenesis* 21: 1711-1719.
14. Chung FL, Kelloff G, Steele V, Pittman B, Zang E, Jiao D, Rigorty J, Choi CI, Rivensen A. 1996. Chemopreventive efficacy of arylalkyl isothiocyanates and N-acetylcysteine for lung tumorigenesis in Fischer rats. *Cancer Res* 51: 772-778.
15. Xu K, Thornalley PJ. 2000. Studies on the metabolism of the inhibition of human leukemia cell growth by dietary isothiocyanates and their cysteine adducts in vitro. *Biochem Pharmacol* 60: 221-231.
16. Chang LC, Gerhauser C, Song L, Farnsworth NR, Pezzuto JM, Kinghorn AD. 1997. Activity-guided isolation of constituents of *Tephrosia purpurea* with the potential to induce the phase II enzyme, quinone reductase. *J Natl Prod* 60: 869-873.
17. Zhang Y, Wade KL, Prestera T, Talalay P. 1996. Quantitative determination of isothiocyanates, dithiocarbamates, carbon disulfide, and related thiocarbonyl compounds by cyclocondensation with 1,2-benzenedithiol. *Anal Biochem* 239: 160-167.
18. Conaway CC, Yang YM, Chung FL. 2002. Isothiocyanates as cancer chemopreventive agents: their biological activities and metabolism in rodents and humans. *Curr Drug Metab* 3: 233-255.
19. Brown PD, Morra MJ. 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Adv Agron* 61: 167-231.
20. Hoglund AS, Lenman M, Rask L. 1992. Myrosinase is localized to the interior of myrosin grains and is not associated to the surrounding tonoplast membrane. *Plant Sci* 85: 165-170.
21. Yano T, Yajima S, Virgona N, Yano Y, Otani S, Kumagai H, Sakurai H, Kishimoto M, Ichikawa T. 2000. The effect of 6-methylthiohexyl isothiocyanate isolated from *Wasabia japonica* on 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butane-induced lung tumorigenesis in mice. *Cancer Letters* 155: 115-120.
22. Tsao R, Yu Q, Potter J, Chiba M. 2002. Direct and simultaneous analysis of sinigrin and allyl isothiocyanate in mustard samples by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 50: 4749-4753.
23. March T, Jeffery E, Wallig M. 1995. Cyanohydroxybutan, a cruciferous nitrile, induces hepatic and pancreatic glutathione S-transferase in rats. *Toxicologist* 15: 264.
24. Guo Z, Smith TZ, Wang E, Sadrieh N, Ma Q, Thomas PE, Vang CS. 1992. Effects of phenylisothiocyanate, a carcinogenesis inhibitor, on xenobiotic-metabolizing enzyme nitrosamine metabolism in rats. *Carcinogenesis* 13: 2205-2210.
25. Wettasinghe M, Bolling B, Plhak L, Xiao H, Parkin K. 2002. Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *J Agric Food Chem* 50: 6704-6709.

(2004년 1월 2일 접수; 2004년 6월 22일 채택)