

## Effects of Extracts from Dried Yam on Antioxidant and Growth of Human Cancer Cell Lines

Joo Ri Jang, Seong Yeon Hwang and Sun-Young Lim\*

Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

Received June 28, 2010 / Accepted August 27, 2010

We investigated the inhibitory effects of solvent extracts from dried yam on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress and growth of cancer cell lines (HT1080 human fibrosarcoma and HT-29 human colon cancer cells). Yam (*Dioscoreacea*) has been recognized as a healthy food due to its various biological activities, such as anti-obesity, anti-constipation, anti-proliferation, and anti-mutagenic activities, as well as its ability to decrease blood glucose and cholesterol levels. In order to determine the protective effect on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress, DCFH-DA (dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay was conducted. Acetone with methylene chloride (A+M) extract of dried yam appeared to reduce the levels of intracellular reactive oxygen species (ROS) with dose responses. Among the fractions, 85% aq. methanol fraction showed the highest protective effect on production of lipid peroxides. Inhibitory effects of A+M and methanol (MeOH) extracts on the growth of HT1080 and HT-29 cancer cells increased in a dose dependent manner. The treatments of *n*-hexane, 85% aq. methanol and *n*-butanol fractions ( $\geq 0.5$  mg/ml concentrations) significantly inhibited the growth of both cancer cells ( $p < 0.05$ ). From these results, 85% aq. methanol fraction showed inhibitory effects on cellular oxidation and growth of human cancer cells, suggesting that this fraction may contain active compounds of dried yam.

**Key words** : Dried yam, human cancer cells, growth inhibition, antioxidant, reactive oxygen species

### 서 론

마(산약, 山藥)는 백합목 마과(*Dioscoreacea*)의 다년생 덩굴 식물로 현재까지 10속 650여 종이 알려져 있으나 이들 중 약 10여 종이 식량자원으로 활용되고 있다[1]. 한국, 일본, 중국 지역과 열대, 아열대 지역에 널리 분포하며, 전세계 생산량의 2/3가 적도 아프리카의 Yam belt에서 생산되어 아프리카 사람들의 중요한 식량자원이 되고 있다[13,22]. 약용작물로 분류되어있는 마(산약)의 경우, 국내 생산량은 1990년대 이후 꾸준히 증가하는 경향을 나타내어 2007년에는 8,043 M/T으로 현재까지 최고치를 나타내었으며, 주로 경북 안동지역과 경남 진주지역에서 많은 양이 생산되고 있다. 국내에서는 *D. batatas* Decne 또는 *D. opposita* Thunb로 분류되는 종류가 주로 재배되며 원주상의 비대한 생근 형태의 뿌리가 식용이나 약용으로 사용된다. 이들의 뿌리는 15~20%의 전분, 1~1.5%의 단백질, 1%의 지질, 미량의 미네랄 및 비타민을 함유하고 있고, saponin, tannin, polyphenol, allantoin, uronic acid, chellidonic acid, sitosterol, mucin, araginine, yonogenin, kryptogenin, diosgenin 등 다양한 생리활성물질들을 함유하고 있다[14]. 또한 특유의 끈끈한 점질물도 다량 함유하고 있는데, 주로 mannan으로 이루어진 식이섬유가 대부분을 차지하며 mannan의

대부분은 아세틸화된 acetylmannan으로 수용성으로 알려져 있다[21,30]. 한편 마에 대해서는 삼국유사에도 기록되어 있는 것으로 보아 오래 전부터 식용의 대상이 되어 왔던 것으로 여겨지며, 예부터 한방에서는 산약이라 부르며 자양강장, 당뇨, 폐결핵, 빈뇨 및 지사에 사용되고 있다. 또한 유용 생리활성 물질에 의한 콜레스테롤 저하효과[15], 항당뇨[7,8], 혈당강하[16], 지질분해효소 저해 활성[12] 및 항돌연변이 활성[19]과 항비만 및 배변 증대 활성을 나타내는 뮤신에 대한 연구[5,6]가 보고되었다. 항산화 활성의 경우에는 열수 및 70% 에탄올 추출물의 전자공여능 및 아질산염 소거능이 일부 보고되었다[24].

마는 부식용이나 건강식으로 찌거나 튀기거나 생으로 갈아 섭취되며 최근에는 플레이크(flake)나 가루형태로 가공되어 인스턴트식품으로 이용되기도 하는데[24], 식품가공기술 발달과 함께 마 분말, 마 꿀차, 마 스낵, 마 케이크 형태의 마를 이용한 다양한 제품이 개발되고 있다[23,28]. 미국 등지에서는 마 전분을 이용하여 소화율이 높은 칼로리 공급원 또는 건강식품으로서 어린이와 병약자를 위한 제빵, 비스킷, 소스, 스프 등의 원료로도 쓰이고 있다[2]. 하지만 마는 수확 후의 장기 저장법이 확립되어 있지 못해, 국내의 경우 주로 11월에서 3월 사이에 한정적으로 유통되는 문제점이 있으며, 또한 왕겨 또는 모래에 묻어 판매되거나, 재배지 토양이 그대로 제품에 부착된 채로 판매되는 등 유통안정성이 취약한 상태이다[26]. 유통안정성을 확보하고, 저장성을 높이기 위한 방법

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-4750  
E-mail : sylim@hhu.ac.kr

중 하나인 건조는 식품을 보존하는 수단으로 오랫동안 사용되어져 왔으며 동결건조, 진공건조, 열풍건조방법 등이 이용되고 있다. Kwon 등[17]은 생것과 동결 및 열풍건조한 마를 비교한 결과 일반성분 및 환원당의 비율이 증가하였음을 알아볼 수가 있는데, 이처럼 건조는 동일함량 대비 영양성분이 압축되어 있기 때문에 건조 분말의 섭취를 통해 생마를 섭취하는 것보다 더 간편하게 유용성분을 섭취할 수 있다는 장점이 있다. 본 연구에서 사용된 저온진공건조기술[10,11]은 건조과정 중 산소가 거의 차단되어 건조과정 중에 일어날 수 있는 부패와 변질을 방지할 수 있을 뿐만 아니라 동결 및 열풍건조에 비하여 건조시간이 3-4배 빠르기 때문에 그만큼 생산성도 높아지는 장점이 있다. 또한 재료의 수분함유량 조절이 간편하고, 재료의 건조온도가 비교적 낮아 열에 의한 변성이 적고 에너지 비용 절약이라는 측면에서도 동결 및 열풍건조와 비교했을 때 결과적으로 생산단가를 1/3~1/4 정도로 낮출 수 있으며, 건조 품질의 향상과 다양한 응용식품의 개발이 가능하다. 마 분말의 제조에 저온진공건조의 도입은 마가 저온에서 건조되어지므로 영양소 손실의 최소화와 시간의 절약 그리고 저장성 향상이라는 관점에서 앞으로 이용가능성이 높은 방법이라 생각된다.

유해산소로 알려져 있는 활성산소종(reactive oxygen species)은 산소 라디칼 및 이것으로부터 파생된 여러 가지 산소화합물을 통칭하는 것으로서 생체 내에서 산소는 그 화학적 성질로 인하여 환원되어 유리 라디칼(free radical)인 superoxide anion radical ( $O_2^-$ ), hydroxyl radical ( $\cdot OH$ )과 같은 oxygen radical 뿐만 아니라 hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), singlet oxygen ( $^1O_2$ )과 같은 몇 종류의 non-radical 그리고 그 외에 피부에 이차적으로 생성된 것( $ROO\cdot$ ,  $RO\cdot$ ,  $NO\cdot$ ,  $HOCl$  등)을 말한다. 하지만 생체에는 계속해서 생기는 이러한 활성산소종들을 제거하는 항산화 효소(superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase)와 비효소적 항산화제(tocopherol, ascorbic acid, carotenoid, flavonoid, glutathione)들로 구성된 항산화 방어망을 통해 활성산소종의 생성과 제거 사이에서 세포 기능을 유지하고 있다. 활성산소종이 너무 많이 생성되거나 항산화 시스템의 기능이 저하되는 상황에서 세포는 활성산소종에 의해 유해작용을 받는데 이를 산화적 스트레스(oxidative stress)라고 한다. 결과적으로 계속된 산화적 스트레스는 생체 내에 가해져 노화나 암 등의 여러 가지 성인병의 원인이 되고 있다[25]. 따라서 이러한 과잉의 활성산소종의 제거 및 생체 내 항산화 방어 시스템의 증진에 대한 관심이 높아지고 있으며 약물이 아닌 천연성분에서 그 효능을 찾는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 따라서 본 연구에서는 저온진공건조기를 도입하여 마를 건조 후 분말화하여 실험에 사용하였으며 건조된 마를 유기용매로 추출하여 마 추출물과 분획물들에 의한 세포 내 활성산소종 억제 및 인체 암세포에 대한 증식 억제 효과에 대해 검토

하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 마(yam, *D. batatas* Decne)는 부산 엄궁농산물 시장에서 구입하여 저온진공건조기(STVD-50, SANYA, Korea)를 이용하여 상당포화온도 15~25°C, 절대압력 15~40 mmHg에서 24시간 건조시켜 마 분말(60 mesh)을 제조하였다.

### 추출 및 분획

건조된 마 분말(191.4 g)은 실험 사용 전까지 -70°C의 deep freezer (NF-400SF, NIHON FREEZER, Japan)에 냉동 보관되었다가 유기용매 추출을 위하여 acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 마 분말이 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40°C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator (N-1000, EYELA, Japan)로 농축하여 acetone/methylene chloride 추출물(A+M) (1.75 g)을 얻었다. A+M 용매로 추출되지 않은 성분을 methanol 용매로 추출하고자 남은 잔사에 2배의 methanol을 부어 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 methanol 추출물(MeOH) (3.73 g)을 얻었다. 두 용매로부터 최대한 추출물을 혼합하여 다시 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 *n*-hexane (0.67 g), 85% aq. MeOH (0.34 g), *n*-butanol (*n*-BuOH) (0.29 g), water (1.49 g) 분획물을 얻었다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 현탁하여 세포배지로 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

### 세포 배양

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 결장암세포(HT-29)와 인체 섬유육종세포(HT1080)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. HT-29 세포와 HT1080 세포를 100 units/ml의 penicillin-streptomycin (GIBCO, USA)과 10% FBS (Hyclone, USA)가 함유된 RPMI 1640과 DMEM을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (MCO-15AC, SANYO Electric Biomedical Co., Ltd., Japan)에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 일주일에 2번 새로운 배지로 바꿔주었다. 일주일 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (GIBCO, USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 cm<sup>3</sup> cell culture flask에 10 ml 씩 일정한 수로 분할하여 주입하고 계속 6~7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

### 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 측정

세포 내 활성산소종은 DCFH-DA (2',7'-dichlorodihydro-

fluorescein diacetate) assay [18,29]로 측정하였다. DCFH-DA (Sigma, USA)는 세포 내 활성산소종과 반응하여 형광물질 (dichlorofluorescein, DCF)을 만들어 내는 것으로 이 시약을 세포 속에 넣어 발생하는 형광을 측정함으로써 세포 내의 활성산소종을 측정할 수 있다. 세포를 96-well cell culture plate에 분주한 후 24시간 배양하고, PBS로 씻은 후 20 μM DCFH-DA을 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 1시간 배양한 후, DCFH-DA을 없애고 세포는 다시 PBS로 씻은 후 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 시간별로 DCF fluorescence를 excitation 488 nm, emission 530 nm에서 microplate reader (VICTOR3, Perkin Elmer, USA)로 측정하였다. 대조군들(blank군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하고, blank군은 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 대신 PBS를 처리하여 측정하였다 [18,29].

**MTT assay**

배양된 암세포는 96-well cell culture plate에 5×10<sup>4</sup> cells/ml이 되도록 100 μl씩 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거한 뒤 각 시료를 배지로 희석하여 각 well당 100 μl 씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 100 μl 씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하였다. 배양 후 MTT assay [3]를 위하여 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약 5 mg을 1 ml PBS로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 ml와 희석하여 100 μl를 첨가하고 3~4 시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 반응 후 남은 MTT가 처리된 배지를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100 μl 씩 분주하여 5~10분간 반응시켜 microplate reader (VICTOR3, Perkin Elmer, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세

포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 생존 수와 비례한다.

**통계분석**

실험결과는 Mean±SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성을 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**항산화 효과**

건조 마 추출물과 그 분획물들의 활성산소종 억제효과를 알아보기 위해 활성산소종 형성과 관련된 실험에 사용되고 있는 인체 섬유육종세포(HT1080)를 사용하여[20], DCFH-DA assay를 행하였다. Fig. 1은 건조 마 A+M 추출물 및 MeOH 추출물을 농도별로 HT1080 세포에 처리하였을 때 결과를 나타낸 것으로 첨가농도 0.1 mg/ml에서 A+M 추출물의 경우 측정시간 120분 동안 500 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 control군에 비해 세포 내 활성산소종을 억제시켰다. 반면 MeOH 추출물에 의한 항산화 효과는 없었다. Fig. 2는 건조 마 추출물을 *n*-hexane, 85% aq. MeOH, *n*-BuOH, water로 다시 추출하여 얻어진 각 분획물들에 의한 HT1080 세포 증식 억제 효과를 나타낸 것으로 85% aq. MeOH 분획물을 첨가농도 0.05 및 0.1 mg/ml로 처리했을 때 다른 분획물들과 비교했을 때 높은 항산화 활성을 보였으며, 다른 분획물들의 항산화 효과는 낮았다. 따라서 세포 내 활성산소종 감소에 의한 항산화 효과는 85% aq. MeOH 분획물에서 높게 나타났다. Kim 등[9]은 마의 메탄올 추출물 및 핵산, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에 대한 항산화 활성을 알아보기 위하여 DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 소거능, SOD (superoxide dismutase) 유사 활성, 환원력 평가(reducing power)를 실시하였는데, DPPH 소거능 평가 결과 에틸아세테이트 분획이 80.5 μg/ml의 IC<sub>50</sub>으로 우수한 소거능을 나타내었으며, 이는 에틸아세테이트 분

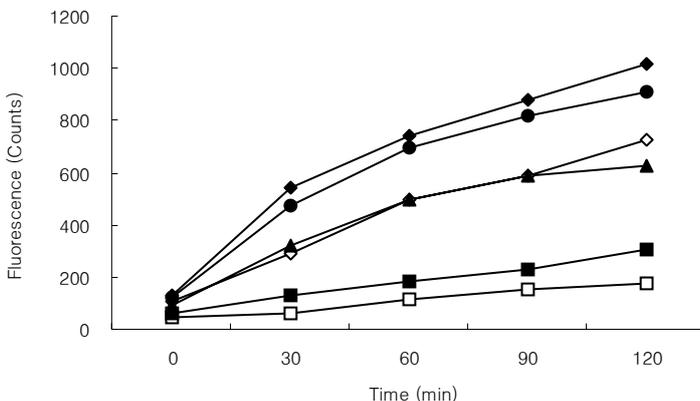


Fig. 1. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from dried yam on levels of reactive oxygen species in HT1080 cells. ◇, Control; □, Blank; ▲, A+M 0.05; ◆, MeOH 0.05; ■, A+M 0.1; ●, MeOH 0.1; A+M 0.05, acetone with methylene chloride extract 0.05 mg/ml; MeOH 0.05, methanol extract 0.05 mg/ml; A+M 0.1, acetone with methylene chloride extract 0.1 mg/ml; MeOH 0.1, methanol extract 0.1 mg/ml.

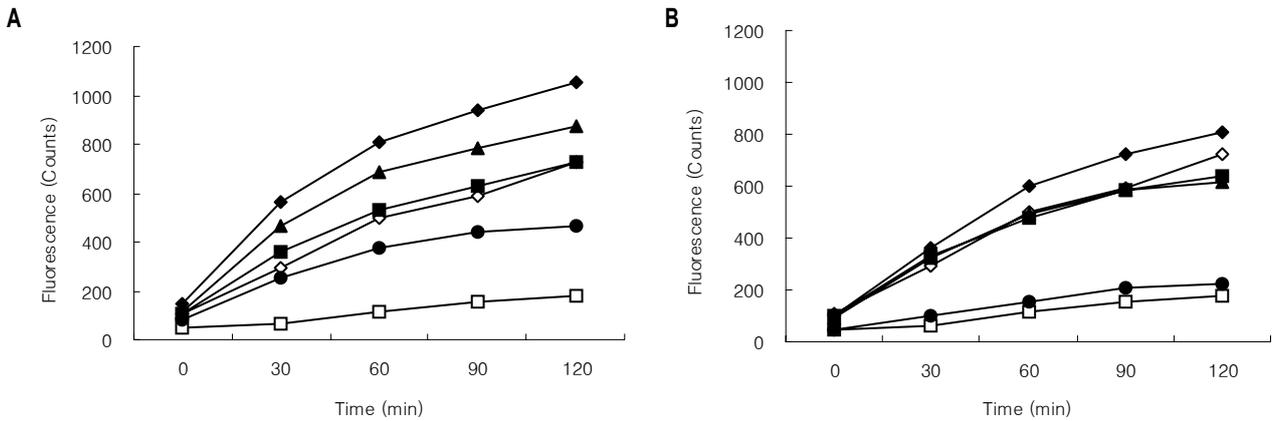


Fig. 2. Inhibitory effect of solvent fractions from dried yam on levels of reactive oxygen species in HT1080 cells.  $\diamond$ , Control;  $\square$ , Blank;  $\blacklozenge$ , *n*-hexane;  $\bullet$ , 85% aq. MeOH;  $\blacktriangle$ , *n*-BuOH;  $\blacksquare$ , Water. A. *n*-hexane 0.05, *n*-hexane fraction 0.05 mg/ml; 85% aq. MeOH 0.05, 85% aqueous methanol fraction 0.05 mg/ml; *n*-BuOH 0.05, *n*-butanol fraction 0.05 mg/ml; Water 0.05, water fraction 0.05 mg/ml. B. *n*-hexane 0.1, *n*-hexane fraction 0.1 mg/ml; 85% aq. MeOH 0.1, 85% aqueous methanol fraction 0.1 mg/ml; *n*-BuOH 0.1, *n*-butanol fraction 0.1 mg/ml; Water 0.1, water fraction 0.1 mg/ml

획이 다른 분획물과 비교하여 상대적으로 높은 폴리페놀 함량을 나타내므로 DPPH 소거능은 마의 폴리페놀 성분에서 기인한다고 추측하였다. 또한 SOD 유사활성과 환원력 평가에서도 에틸아세테이트 분획이 가장 높은 활성을 나타내었으며, SOD 유사활성은 vitamin C와 비교해서 43%, 환원력의 경우 BHT (butylated hydroxytoluene)와 비교할 경우 82.7%를 나타내었다고 보고하였다. Park 등[24]은 산약, 행인, 산사자, 지실 등 4종류의 한약재를 물과 에탄올로 추출하여 전자공여능, 아질산염 소거능을 검토한 결과 전자공여능의 경우 1,000 ppm의 농도에서 물 추출물은 산사자>지실>행인>산약의 순서였으며 에탄올 추출물은 산사자>산약>행인>지실의 순서로 나타났으며, 아질산염 소거능의 경우 물 및 에탄올 추출물 모두에서 산사자>지실>행인>산약의 순서로 나타났다. 마의 기타 기능으로 Ha 등[4]은 마 점질물로부터 isopropanol 농도 차에 의한 두 개의 fraction을 얻어 중금속 제거 효과를 살펴본 결과 Co, Cr 및 Cu 이온에 대하여 약 79% 이상의 우수한 흡착력을 보였으며, ACE (angiotensin converting enzyme) 저해를 실험 결과 두 fraction 모두 ACE 저해 효과가 있었고, 이때 fraction 1과 fraction 2의 IC<sub>50</sub> 값은 8.99  $\mu$ g/ $\mu$ l, 7.10  $\mu$ g/ $\mu$ l이라고 보고하였다.

**암세포 증식 억제효과**

건조 마 추출물과 그 분획물들의 인체 암세포 증식 억제효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. Fig. 3은 건조 마의 A+M 추출물과 MeOH 추출물을 0.05에서 1 mg/ml의 여러 농도로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리했을 때 인체 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것이다. 저온건조방법으로 건조된 마 분말의 A+M 추출물은 0.5 및 1 mg/ml의 첨가농도에

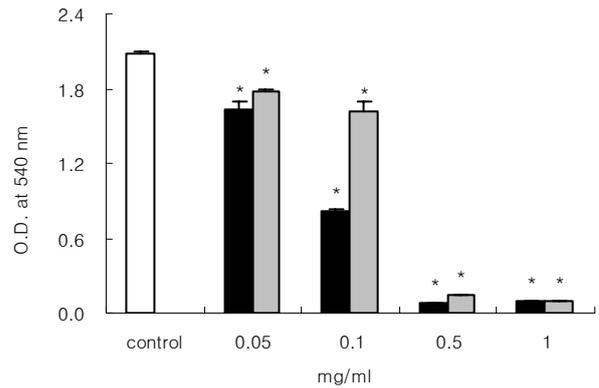


Fig. 3. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of dried yam on the growth of HT1080 human fibrosarcoma cells.  $\blacksquare$ , A+M;  $\blacksquare$ , MeOH; A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol extract. \* $p$ <0.05, significant effect between the control and each extract

서 90% 이상의 높은 억제효과를 나타내었으며( $p$ <0.05), IC<sub>50</sub> 농도는 0.25 mg/ml이었다. MeOH 추출물의 경우, 0.5 및 1 mg/ml의 첨가농도에서 A+M 추출물과 마찬가지로 90% 이상의 암세포 증식 억제효과를 나타내었고( $p$ <0.05), IC<sub>50</sub> 농도도 0.25 mg/ml로 HT1080 세포에 대한 증식억제 효과가 A+M 추출물과 유사하게 나타남을 알 수 있었다. 저온건조건조 마 추출물을 *n*-hexane, 85% aq. MeOH, *n*-BuOH, water로 다시 추출하여 얻어진 각각의 분획물들을 농도별로 처리하였을 때, 건조 마 분획물들 중 water 분획물을 제외하고 농도 의존적으로 암세포의 증식을 억제하였으며, 특히 85% aq. MeOH 분획물에 의한 활성이 높았다. 85% aq. MeOH 분획물의 경우 0.5 mg/ml 이상의 농도에서 90% 이상의 높은 암세포 증식 억제

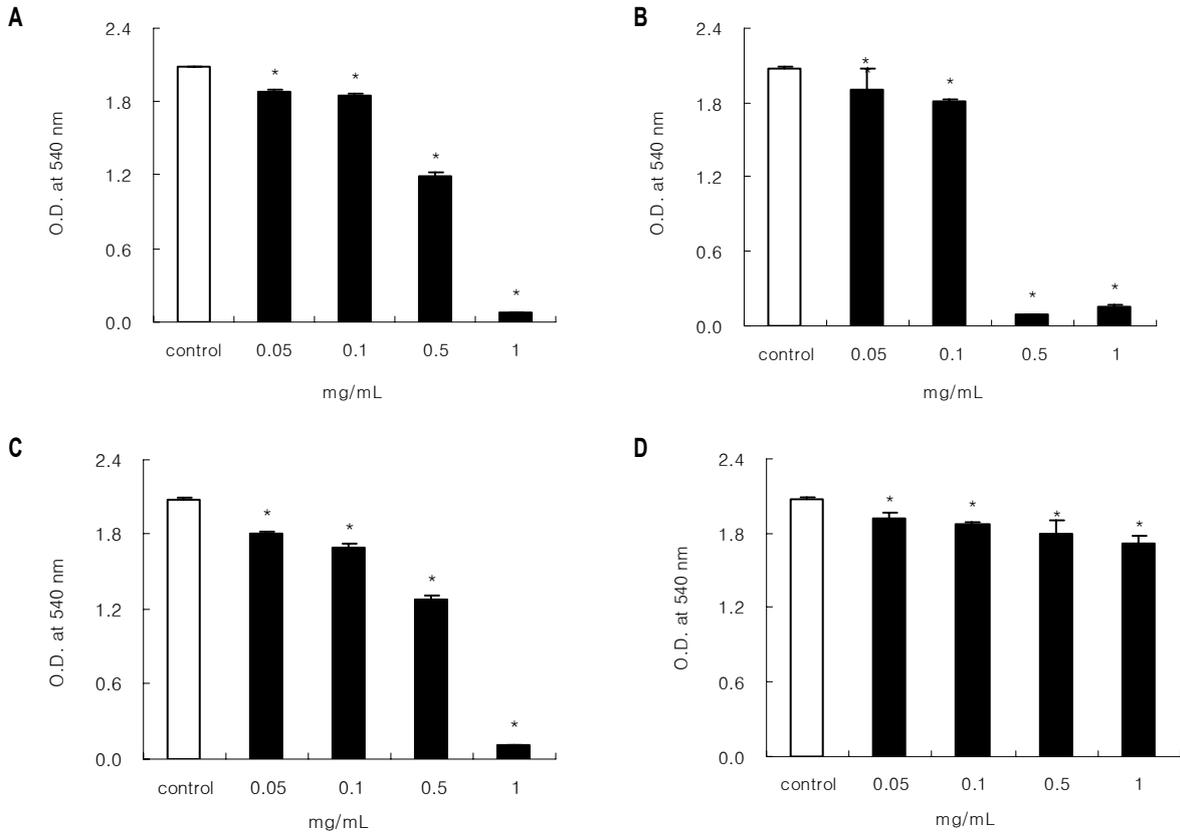


Fig. 4. Inhibitory effect of solvent fractions of extract from dried yam on the growth of HT1080 human fibrosarcoma cells. A. *n*-hexane, *n*-hexane fraction; B. 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; C. *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; D. Water, water fraction. \**p*<0.05, significant effect between the control and each fraction.

효과를 나타내었으며(*p*<0.05)(Fig. 4B), IC<sub>50</sub> 농도는 0.27 mg/ml이었다. *n*-Hexane 분획물의 경우, 1 mg/ml의 농도에서 90% 이상의 암세포 증식 억제효과를 나타내었고(*p*<0.05)(Fig. 4A), *n*-BuOH 분획물도 1 mg/ml 이상의 농도에서 90% 이상의 암세포 증식 억제효과를 나타내었으며(*p*<0.05)(Fig. 4C), *n*-hexane 및 *n*-BuOH 분획물의 IC<sub>50</sub> 농도는 각각 0.53, 0.72 mg/ml이었다. Water 분획물의 경우, 다른 시료들과 동일한 첨가농도에서 암세포 증식 억제 효과를 나타내지 않았다(Fig. 4D). Fig. 5은 인체 결장암세포(HT-29)에 대한 결과를 나타낸 것으로, A+M 추출물은 0.5 및 1 mg/ml의 첨가농도에서 90% 이상의 높은 억제효과를 나타내었으며(*p*<0.05), IC<sub>50</sub> 농도는 0.28 mg/ml이었다. MeOH 추출물의 경우, 0.5 및 1 mg/ml의 첨가농도에서 각각 24, 73%의 암세포 증식 억제효과를 나타내었고, IC<sub>50</sub> 농도는 0.70 mg/ml로 각 추출물들은 HT1080 세포의 결과와 비교했을 때 암세포 증식 억제효과가 낮은 것을 알 수 있었다(*p*<0.05). Fig. 6에는 각각의 분획물들을 농도별로 처리하였을 때 결과를 나타낸 것으로, HT1080 세포와 유사하게 건조 마 분획물들 중 water 분획물을 제외하고 농도 의존적으로 암세포의 증식을 억제하였으며, 특히 85% aq. MeOH 분획물에 의한 활성이 높았다. 85% aq. MeOH 분획물의 경우

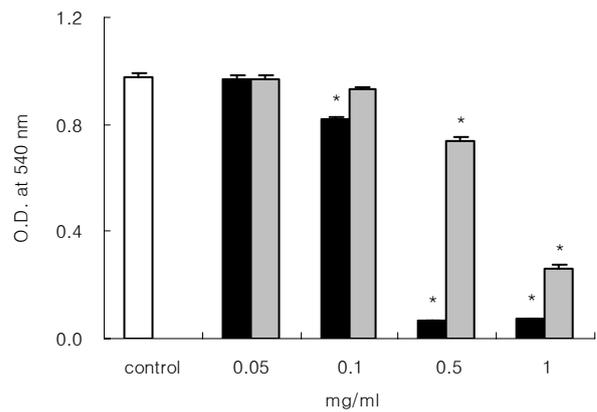


Fig. 5. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of dried yam on the growth of HT-29 human colon cancer cells. ■, A+M; ▒, MeOH; A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol extract. \**p*<0.05, significant effect between the control and each extract.

0.5 mg/ml 이상의 농도에서 90% 이상의 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었으며(*p*<0.05)(Fig. 6B), IC<sub>50</sub> 농도는 0.15

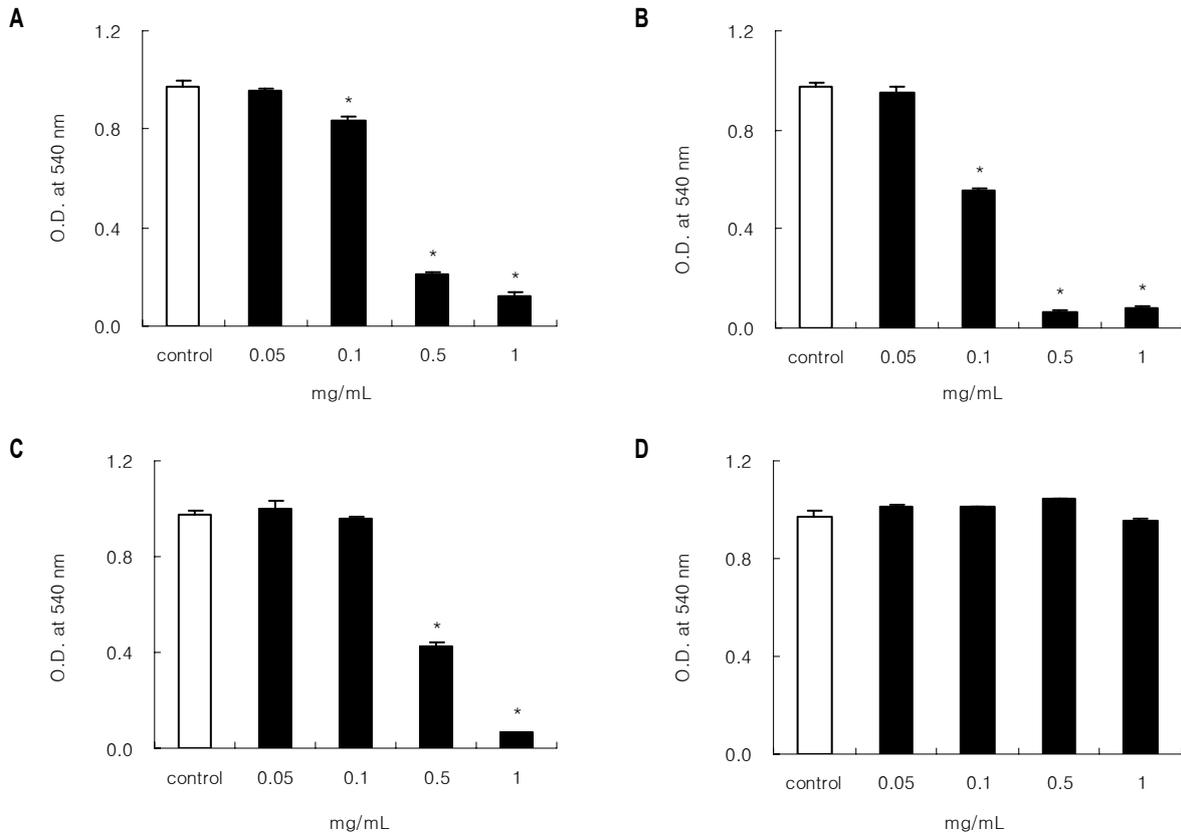


Fig. 6. Inhibitory effect of solvent fractions of extract from dried yam on the growth of HT-29 human colon cancer cells. A. *n*-hexane, *n*-hexane fraction; B. 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; C. *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; D. Water, water fraction. \* $p < 0.05$ , significant effect between the control and each fraction.

mg/ml이었다. *n*-Hexane 및 *n*-BuOH 분획물의 IC<sub>50</sub> 농도는 각각 0.33, 0.46 mg/ml이었으며, water 분획물을 제외한 분획물들은 HT1080 세포와 비교하여 더 높은 암세포 억제효과를 나타내었다. Lee 등[19]은 마 추출물의 돌연변이원에 대한 억제효과를 알아보기 위해 산마와 재배마를 가지고 조리시 형성된 변이원 및 화학적으로 유도된 순수변이원인 2-AF (2-aminofluorene), benzo(a)pyrene, sodium azide에 대해 Ames test를 실시한 결과 변이원 중 2-AF에 대한 산마 CHCl<sub>3</sub>/MeOH 추출물이 plate 당 10 mg 농도에서 억제활성이 91.5%로 나타났으며, plate 당 1 mg 농도에서도 67%의 높은 억제효과를 나타내 추출물 중에서 억제효과가 가장 높은 것으로 나타났다고 보고하였다. Shin 등[27]은 마 식이섬유의 항돌연변이 효과를 보기 위해 총 식이섬유(total dietary fiber, TDF), 불용성 식이섬유인  $\alpha$ -cellulose, 수용성 식이섬유인 pectin을 추출하여 MNNG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)와 2-AF에 대한 억제 효과를 검토한 결과, 산마의 총 식이섬유가 2-AF와 MNNG에 대해서 각각 12.4%, 18.7%, 재배마는 33.2%, 49.1%의 억제효과를 나타내었고, 산마와 재배마에서 추출한  $\alpha$ -cellulose와 pectin은 2-AF에 의해 유발되는 돌연변이원성에

비해 MNNG에 의해 유발되는 돌연변이원성을 더 효과적으로 억제한다고 보고하였다. Park 등[24]은 산약, 행인, 산사자, 지실 등 4종류의 한약재를 물과 에탄올로 추출하여 인체 유방암 세포(MDA-MB-231)와 인체 폐암세포(A549)에 대한 증식억제효과를 살펴본 결과, 산약의 경우 에탄올 추출물보다 물 추출물이 증식억제효과가 높았으나 유의적인 차이가 없다고 보고하였으며, 시료 전처리와 추출 용매 및 방법 등에 따라 본 연구결과와 차이가 나타나는 것으로 생각된다. Kim 등[9]은 건조 마로부터 메탄올 추출물들을 조제하고 이로부터 분획물들을 조제하여 항균, 항산화 및 항혈전 효과를 검토한 결과 마의 메탄올 추출물에서는 항혈전 활성이 높았고 에틸아세테이트 분획물은 항세균 및 항산화 활성이 높았다고 보고하였고 총 polyphenols 및 총 flavonoids 함량은 에틸아세테이트 분획에서 가장 높게 나타났다고 보고하였다. 본 연구 결과로부터 분획물들 중 85% aq. MeOH 분획물에 의한 세포 내 활성 산소종 생성 억제 및 암세포 증식 억제 효과가 높았으므로 이 분획물에 건조 마의 생리활성 물질인 flavonoids 및 polyphenols류가 함유되어 있을 것으로 추정된다.

## References

- Ahn, J. H., K. H. Son, H. Y. Sohn, and S. T. Kwon. 2005. *In vitro* culture of adventitious roots from *Dioscorea nipponica* Makino for the production of steroidal saponins. *Korean J. Plant Biotechnol.* **32**, 317-223.
- Ciaccio, C. F. and B. L. D'appolonia. 1977. Characterization of starches from various tubers and their use in bread-baking. *Cereal Chem.* **54**, 1096-1107.
- Denizot, F. and R. Lang. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271-277.
- Ha, Y. D., S. P. Lee, and Y. G. Kwak. 1998. Removal of heavy metal and ACE inhibition of yam mucilage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 751-756.
- Han, Y. N., S. H. Hahn, and I. R. Lee. 1990. Purification of mucilages from *Dioscorea batatas* and *D. japonica* and their content analysis. *Korean J. Pharmacogn.* **21**, 274-283.
- Hironaka, K., K. Takada, and K. Ishibashi. 1990. Chemical composition of mucilage of Chinese yam. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **37**, 48-51.
- Kang, T. H., S. Choi, T. Lee, M. Son, and S. Y. Kim. 2008. Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea* rhizome (1) - Hypoglycemic effect. *Korean J. Food Nutr.* **21**, 425-429.
- Kang, T. H., S. Choi, T. Lee, M. Son, J. Park, and S. Y. Kim. 2008. Characteristics of antidiabetic effect of *Dioscorea* rhizoma (2)-prevention of diabetic neuropathy by NGF induction. *Korean J. Food Nutr.* **21**, 430-435.
- Kim, J. I., H. S. Jang, J. S. Kim, and H. Y. Sohn. 2009. Evaluation of antimicrobial, antithrombin and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Decne. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 133-139.
- Kim, K. K. 1999. Thermal characteristics of agriculture and fisheries by low temperature vacuum dryer. pp. 1-6, *Proceedings of the KSME 1999 Spring Annual Meeting*.
- Kim, K. K., B. Y. Sung, H. S. Jung, S. Y. Choi, and S. B. Moon. 2000. A study on the thermal characteristics of the large low temperature vacuum dryer for biological drying. *J. Korean Soc. Marine Engineers* **24**, 427-434.
- Kim, M. W. 2001. Effects of H<sub>2</sub>O-fraction of *Dioscorea japonica* Thunb and selenium on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J. Soc. Food Cookery Sci.* **17**, 344-352.
- Kum, E. J., S. J. Park, B. H. Lee, J. S. Kim, K. H. Son, and H. Y. Sohn. 2006. Antifungal activity of phenanthrene derivatives from aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. *J. Life Sci.* **16**, 647-652.
- Kwon, C. S., H. Y. Sohn, S. H. Kim, J. H. Kim, K. H. Son, J. S. Lee, J. K. Lim, and J. S. Kim. 2003. Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 1451-1456.
- Kwon, C. S., I. S. Son, H. Y. Shim, I. S. Kwun, and K. M. Chung. 1999. Effects of yam on lowering cholesterol level and its mechanism. *Korean J. Food Nutr.* **32**, 637-643.
- Kwon, E. G., E. M. Choe, and S. J. Gu. 2001. Effects of mucilage from yam (*Dioscorea batatas* Decne) on blood glucose and lipid composition in alloxan-induced diabetic mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 795-801.
- Kwon, J. H., G. D. Lee, S. J. Lee, S. K. Chung, and J. U. Choi. 1998. Changes in chemical components and physical properties with freeze dring and hot air-drying of *Dioscorea batatas*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 908-913.
- LeBel, C. P., H. Ischiropoulos, and S. C. Bondy. 1992. Evaluation of the probe 2', 7'-Dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* **5**, 227-231.
- Lee, I. S., S. Y. Chung, C. S. Shim, and S. J. Koo. 1995. Inhibitory effect of yam (*Dioscorea batatas* Decne) extracts on the mutagenicity. *Korean J. Soc. Food Sci.* **11**, 351-355.
- Lee, K. J., S. J. Hwang, J. H. Choi, and H. G. Jeong. 2008. Saponins derived from the roots of *Platycodon grandiflorum* inhibit HT-1080 cell invasion and MMPs activities: Regulation of NF- $\kappa$ B activation via ROS signal pathway. *Cancer Letters* **268**, 233-243.
- Ohtani, K. and K. Murakami. 1991. Structure of mannan fractionated from water soluble mucilage of nagaimo (*Dioscorea batatas* Decne). *Agric Biol. Chem.*, **55**, 2413-2414.
- Onayemi, O. 1986. Some chemical factors affecting the quality of processed yam. *J. Food. Sci.* **51**, 161-164.
- Ozo, O. N., J. C. caygill, and K. G. Coursey. 1984. Phenolics of five yam species. *Pytochem.* **23**, 329-331.
- Park, C. S., K. M. Yang, and M. L. Kim. 2006. Functional properties of medicinal plant extracts. *Korean J. Food Cookery Sci.* **23**, 720-727.
- Pryored, W. A. 1984. Free radicals in biology. *Academic Press*. VI. 371.
- Ryu, H. Y., K. H. Bae, E. J. Kum, S. J. Park, B. H. Lee, and H. Y. Sohn. 2007. Evaluation for the antimicrobial, antioxidant and antithrombosis activity of natural spices for Fresh-cut yam. *J. Life Sci.* **17**, 652-657.
- Shin, N. H. and S. J. Koo. 1998. Antimutagenic effect of dietary fiber from yam (*Dioscorea batatas* Decne) against 2-AF and MNNG. *Korean J. Soc. Food Sci.* **14**, 333-338.
- Shin, S. R. 2004. Changes on the components of yam snack by processing methods. *Korean J. Food Preserv.* **11**, 516-521.
- Tsuchiya, M., M. Suematsu, and H. Suzuki. 1994. *In vivo* visualization of oxygen radical-dependent photoemission. *Methods Enzymol.* **233**, 128-140.
- Tomoda, M., K. Ishikawa, and M. Yokoi. 1981. Plant mucilages. Isolation and characterization of a mucilage "Dioscorea-mucilage B" from the rhizophors of *Dioscorea batatas*. *Chem. Pham. Bull.* **29**, 3256-3261.

## 초록 : 건조 마 추출물의 항산화 및 인체 암세포 증식 억제 효과

장주리 · 황성연 · 임선영\*

(한국해양대학교 해양환경생명과학부)

본 연구에서는 마를 건조 후 분말화하여 실험에 사용하였으며, 건조 마 분말에 대한 생리활성에 대한 연구로 건조된 마를 유기용매로 추출하여 마 추출물과 분획물들의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유도된 산화적 스트레스 및 인체 암세포 (HT1080 인체 섬유육종세포, HT-29 인체 결장암세포)에 대한 증식 억제 효과에 대해 검토하고자 하였다. 마는 항비만, 항변비, 항돌연변이, 혈당 및 혈중 콜레스테롤 감소 등의 활성이 있어 건강식품으로 알려져 있다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유도된 산화적 스트레스 저해효과를 알아보기 위하여 DCFH-DA assay를 행하였다. 건조 마 A+M 추출물을 농도별로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리하였을 때 농도 의존적으로 세포 내 활성산소종을 크게 억제시켰다. 각 분획물들 중 85% aq. MeOH 분획물은 다른 분획물과 비교하여 높은 지질 과산화물 생성 억제 효과를 보였다. 인체 암세포에 대한 증식 억제 실험에서 A+M 및 MeOH 추출물은 농도 의존적으로 인체 섬유육종 및 결장암세포의 증식을 억제하였다. 마 추출물로부터 얻어진 *n*-hexane, 85% aq. MeOH 및 *n*-butanol (*n*-BuOH) 분획물들은 첨가농도 0.5 mg/ml 이상 처리했을 때 이들 두 암세포의 증식을 유의적으로 억제하였다( $p < 0.05$ ). 본 연구 결과로부터 건조 마의 암세포 증식 억제 효과는 마의 A+M 추출물이 MeOH 추출물에 비해 높았고, 분획물들의 경우에는 water 분획물을 제외한 분획물들의 암세포 억제 효과가 높았다. 특히 85% aq. MeOH 분획물은 인체 암세포 증식 억제 효과뿐만 아니라 세포 내 활성산소종 감소시키는 효과가 높아 이들 분획물에 활성물질이 있을 것으로 추정된다.