

택란의 일반성분, 지방산 조성 및 세포독성 효과

나 은 · 이정우* · †임선영**

한국해양대학교 해양과학기술전문대학원 대학원생, *한국해양대학교 해양생명과학부 대학원생,
**한국해양대학교 해양생명과학부 교수

Proximate Analysis, Fatty Acid Composition of *Lycopus lucidus* Turcz. and Its Cytotoxic Effect in Cancer Cell Lines

Eun Na, Jung-Woo Lee* and †Sun-Young Lim**

Graduate Student, Ocean Science and Technology School, Korea Maritime & Ocean University, Busan 49112, Korea

*Graduate Student, Division of Marine Bioscience, Korea Maritime & Ocean University, Busan 49112, Korea

**Professor, Division of Marine Bioscience, Korea Maritime & Ocean University, Busan 49112, Korea

Abstract

In this paper, we investigate to determine quality characteristics, fatty acid composition and cytotoxic effect of extracts and fractions from whole *Lycopus lucidus* Turcz. roots. Additionally, we evaluated cytotoxic activity against the growth of human fibrosarcoma cells (HT-1080) and human gastric adenocarcinoma (AGS), human colon cancer cell (HT-29) lines using a 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Acetone+methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from *L. lucidus* Turcz. were obtained through solvent extraction. Then we further fractionated both extracts with n-hexane, 85% aq. MeOH, n-butanol (n-BuOH) and water. In fatty acid composition, *L. lucidus* Turcz. contained 33.2% of 18:1n-9 and 1.81% of 18:3n-3, respectively. The incorporation of treatment with A+M and MeOH extracts and n-hexane, 85% aq. MeOH, n-butanol (n-BuOH) and water fractions dose-dependently increased cytotoxicity against the growth of HT-1080 and AGS, HT-29 cancer cells ($p < 0.05$). The A+M extract had a higher inhibitory effect on the growth of all cancer cells in comparison to MeOH extract. Among the fractions, the 85% aq. MeOH and n-hexane fractions showed a higher inhibitory effect after proliferating the three cancer cells. These results suggest that the 85% aq. MeOH and n-hexane fractions have a potential to inhibit the growth of human cancer cell lines.

Key words: *Lycopus lucidus* Turcz, fatty acid composition, human cancer cell, cytotoxicity

서 론

눈부신 과학기술과 의학의 발전에도 불구하고, 비만, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 등 대사성 질환 및 각종 암 발병률은 높은 편이다. 암은 인종, 국가, 성별, 나이, 식이 및 생활습관 등에 따라 다양한 장기에 발생할 수 있는데, 우리나라에서 가장 많이 발생한 암은 갑상선암, 위암, 결장암, 폐암, 유방암, 간암, 전립선암, 췌장암, 담낭암 등이 있다. 특히 식이습관은 개개인들의 선택과 노력으로 건강하게 개선할 수 있으므로

이에 현대인들은 건강 기능성 식품 소재에 대한 관심 및 요구가 증가하는 추세이다(Ryu BH 1991).

택란(*Lycopus lucidus* Turcz.)은 꿀풀과(Labiatae) 썩사리속(*Lycopus*)에 속하는 여러해살이 초본으로 중국과 한국에서 재배되며, 주로 샐러드 형태로 섭취 이용되고 있다. 우리나라에서 자라는 택란의 종류에는 개썩사리(*L. coreanus* Léveillé), 썩사리(*L. coreanus* var. *piperasces* Nakai), 썩사리(*L. lucidus* Turcz), 애기썩사리(*L. maackianus* Makino), 흑썩사리(*L. uniflorus* Michaux) 등이 있다(Kim 등 1997). 택란의 생리활성에 관한

† Corresponding author: Sun-Young Lim, Professor, Division of Marine Bioscience, Korea Maritime & Ocean University, Busan 49112, Korea. ORCID:0000-0002-8091-3496, Tel: +82-52-410-4757, Fax: +82-51-404-4750, E-mail: sylim@kmou.ac.kr

연구로는 항산화 효과(Lu 등 2015; Song 등 2016; Yang MO 2017) 및 항염증(Lee 등 2008) 효과가 보고되어 있다. Yang 등 (2010)은 택란 뿌리로부터 α -galacto-oligosaccharides(GOS)를 분리하였고, 이는 면역증강 활성이 있다고 보고하였다. 택란의 인체 암세포 증식 억제효과에 관한 연구들 중 Kim & Ghil(2009)은 유방암 세포 MCF-7의 apoptosis 유도과정을 택란 메탄올 추출물이 저해하여 유방세포의 증식을 억제한다고 보고하였다. 특히 apoptosis의 지표인 Bcl-2 및 caspase-7의 발현을 감소시켰으며, 세포주기와 관련된 단백질들(cdk4, cyclin D1 및 E2F-1)의 생성을 감소시켰다고 보고하였다. Xiong 등 (2012)은 택란 유래 다당류 처리는 인체 간암 세포(BEL-7402)의 증식을 억제하였다고 보고하였다. Kim 등(2018)은 택란 에탄올 추출물이 마우스 결장암 세포(CT-26)에서 matrix metalloproteinase(MMP)-9와 Runx-2의 활성을 감소시켜 결과적으로 전이 과정을 저해하였다고 보고하였다. 이에 본 연구에서는 선행된 연구를 토대로 한국인들에게 흔하게 발병하는 인체 위암과 결장암 세포를 중심으로 택란 추출물과 분획물의 *in vitro* 항암활성 가능성을 규명하고, 택란의 일반성분 및 지방산 조성을 분석하여 건강기능 식품 또는 약선 재료로 활용하기 위한 기초자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

미산약초농장(경상북도 대구광역시)으로부터 본 실험에 사용된 택란 뿌리를 제공받아 사용하였다.

2. 추출 및 분획

택란은 동결건조기(Ilshin Biobase, Dongducheon, Korea)를 이용하여 건조한 후 건뿌리(200 g)를 마쇄하여 실온에서 acetone과 methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 24시간 방치한 후 추출하여 얻은 추출액은 40°C 수욕 상에서 rotary evaporator(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하여 acetone/methylene chloride 추출물(A+M, 0.6 g)을 얻었다. A+M 용매로 추출되지 않은 성분을 추출하기 위해 남은 잔사에 동량의 methanol을 부어 2회 반복하여 추출한 후 농축하여 methanol 추출물(MeOH, 7.2 g)을 얻었다. 생리활성을 최대한 분리하기 위하여 위의 A+M 및 MeOH 두 액상 추출물들을 합하여 먼저 n-hexane과 85% aq. MeOH 용액을 분획할때기에 부어 분획하여 각각 n-hexane 분획물(0.85 g) 및 85% aq. MeOH 분획물(0.56 g)을 얻었다. 남은 액상 잔사에 n-butanol(n-BuOH)과 water를 부어 분획한 후 각각 n-butanol(n-BuOH) 분획물(0.37 g) 및 water 분획물(4.92 g)을 얻었다. 세포 실험에는 각 추출물과 분획물을 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 배지로 필요한 농

도로 희석하여 사용하였다.

3. 일반성분 분석

수분, 조단백질, 조지방, 조회분은 AOAC 방법(1996)에 따라 분석하였다. 즉, 수분은 상압가열건조법(105°C 건조법), 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법, 조지방은 Soxhlet 추출법, 조회분은 550°C 전기로에서 화학시키는 직접회화법으로 정량하였다. 식이섬유소는 산 가수분해법을 이용하였고, 시료에 잔존하는 조회분과 조단백질을 측정된 값을 차감하여 식이섬유 함량을 분석하였다(Na 등 2018).

4. 지질 및 지방산 추출

Folch 등(1957)의 방법을 변형하여 지질을 추출하였다. 즉, 건조 택란은 methanol [butyl hydroxy toluene(BHT) 함유]로 교반하여 균질화하였다. 균질물(1 mL)에 chloroform 2 mL와 0.2 M NaH_2PO_4 1.4 mL를 넣고 mix하여 4°C에서 3,000 rpm으로 3분간 원심분리 후 지질층을 분리하였다. Morrison & Smith (1964)의 방법에 따라 추출된 지질을 boron trifluoride(BF_3) methanol 1 mL 및 n-hexane 0.4 mL와 함께 100°C에서 1시간 동안 가열하였다. 실온까지 냉각시킨 다음 n-hexane 2 mL와 증류수 2 mL를 넣고 4°C에서 3,000 rpm으로 3분간 원심분리 후 상등액을 취했다. 이 상등액을 N_2 가스로 유기용매를 날린 후 지방산을 얻었고, 지방산 분석 전까지 -75°C deep freezer (NF-400SF, NIHON FREEZER, Tokyo, Japan)에 보관하였다.

5. Gas chromatography를 이용한 지방산 분석

Gas chromatography(GC)를 이용하여 지방산 조성을 분석하였다. 이때 사용된 column은 silica capillary column(CP-7856, 60 m \times 0.32 mm inner diameter \times 0.10 μm film thickness)이고 GC 기기의 분석조건은 다음과 같다: Injector 온도 250°C, detector(FID) 온도 250°C, oven 온도는 초기에는 130°C로 설정한 후 분당 증가시켜 175°C까지 4°C/min, 210°C까지 1°C/min, 245°C까지 30°C/min로 셋팅하고, 사용된 carrier gas는 헬륨이었다. 표준용액의 retention time과 비교하여 지방산을 정성하였고, 내부표준물질(22:3n-3, methyl ester)을 이용하여 총 지방산을 정량하였으며, 개개의 지방산들은 전체 피크 면적의 퍼센트로 산출하였다(Salem 등 1996).

6. MTT assay

배양된 인체 암세포들(HT-1080 섬유육종, AGS 위암, HT-29 결장암)은 96 well cell culture plate에 5×10^4 cell/mL가 되도록 100 μL 씩 분주하여 37°C, 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양한 후 배지를 제거한 뒤 각 시료를 배지로 희석하여 각 well 당 100 μL 씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 첨가하

였다. 이 plate를 37°C, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였고, MTT assay(Denizot & Lang 1986)를 위하여 3-(4,5-dimethylthiazole)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 시약 5 mg을 PBS 1 mL로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 mL와 희석하여 100 µL를 첨가하고 3~4시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100 µL씩 분주하여 5~10분간 반응시켜 microplate reader(VICTOR3, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 통계분석

실험결과는 Mean±SEM(Standard Error of Mean)으로 나타내었고, 실험결과는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성을 검증하였으며, Tukey's test를 실시하여 사후 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 택란 일반성분 및 지방산 조성

택란의 수분함량은 75.6%로 나타났고, 조탄수화물, 조단백질 및 조지방은 각각 10.6%, 5% 및 0.3%이며, 조회분과 식이 섬유는 각각 5% 및 3.54%였다. Lee 등(2014)은 건조 초석잠 뿌리 분말의 일반성분 분석한 결과, 조단백질 9.77%, 조회분 5.78% 및 조지방 0.35%로 나타났다고 보고하였다. Lu 등(2015)은 지리적 및 수확시기별(2013년 11월부터 2014년 1월까지) 택란의 일반성분을 분석한 결과, 조단백질 6.58~14.06%, 조탄수화물 9.87~46.07% 및 조지방 1.44~4.06% 범위였고, 조단백질은 수확시기가 늦을수록 증가하였으며, 조탄수화물 함량은 지방함량 증가와 비례하여 감소함을 확인하였고, 환원당 함량에는 차이가 없었다고 보고하였다. 택란의 지방산 조성은 12.3%의 총 포화지방산(Saturated Fatty Acids: SFA), 57.1%의 총 단일불포화지방산(Monounsaturated Fatty Acids: MUFA), 2.9%의 총 n-6 지방산 및 3.3%의 총 n-3 지방산으로 나타났다. MUFA 중 특히 16:1n-9 및 18:1n-9 함량은 각각 20.9% 및 33.2%로 높은 함량의 oleic acid를 나타내었고, 1.8%의 18:3n-3를 함유하였다(Table 1). 최근 초석잠 및 택란의 꾸준한 섭취는 치매예방에 효과적인 약용식물로 소개되면서 소비가 증가하는 추세이다(Lee 등 2013). 뇌 기능과 n-3 계열 불포화지

방산 섭취와는 양의 상관관계가 잘 알려져 있으므로(Salem 등 2001) 이에 택란의 지방산 조성을 검사한 결과, 18:1n-9 및 18:3n-3 함량을 확인하였다. Kim 등(2017)은 초석잠 뿌리 분말의 지방산 조성을 살펴 본 결과, 16:1n-9 및 18:1n-9 함량이 각각 23.0% 및 3.8%로 나타났고, 18:2n-6 및 18:3n-3는 각각 33.7% 및 17.1%로 나타났다고 보고하였다.

2. 택란 추출물 및 분획물의 세포독성 효과

택란 추출물 및 분획물의 인체 암세포에 대한 독성 효과를 살펴본 결과는 Fig. 1~6에 나타내었다. 택란 A+M 및 MeOH 추출물을 인체 섬유육종암세포(HT-1080)에 농도별로 처리했을 때 HT-1080 암세포의 증식을 유의적으로 억제시켰다(Fig. 1)($p < 0.05$). A+M 추출물 0.25 및 0.5 mg/mL 첨가농도에서 각각 70% 및 77%의 높은 암세포 억제 효과를 나타내었으며, IC₅₀은 0.07 mg/mL이었다. 택란의 각 분획물들을 농도별로 HT-1080 암세포에 처리하였을 때, 농도의존적으로 암세포 억제 효과가 나타났고, 분획물들 중 n-hexane 및 85% aq. MeOH 분획물에 의한 암세포 억제 효과가 가장 높게 나타났다(Fig. 2). 85% aq. MeOH 분획물은 0.1 mg/mL 이상의 농도에서 94% 이상의 높은 암세포 억제 효과를 나타내었으며, IC₅₀은 0.02 mg/mL이었다. n-hexane 분획물의 경우, 0.02 mg/mL의 IC₅₀값을 나타내었다. 인체 위암세포(AGS)의 경우, A+M 추

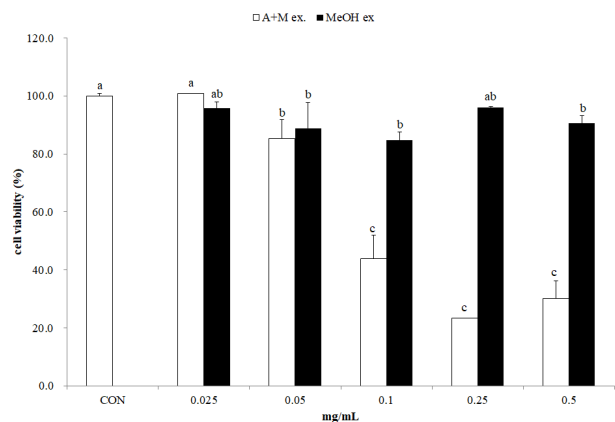


Fig. 1. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extract from *L. lucidus* Turcz. on the cell viability of HT-1080 human fibrosarcoma cells. ^{a-c} Different superscripts indicated significant differences at $p < 0.05$.

Table 1. Several fatty acid compositions (% area) of *Lycopus lucidus* Turcz

Fatty acids	Total SFA ¹⁾	16:1n-9	18:1n-9	Total MUFA ²⁾	Total n-6	Total n-3
	12.3	20.9	33.2	57.1	2.85	3.29

¹⁾ SFA: Saturated fatty acids.

²⁾ MUFA: Monounsaturated fatty acids.

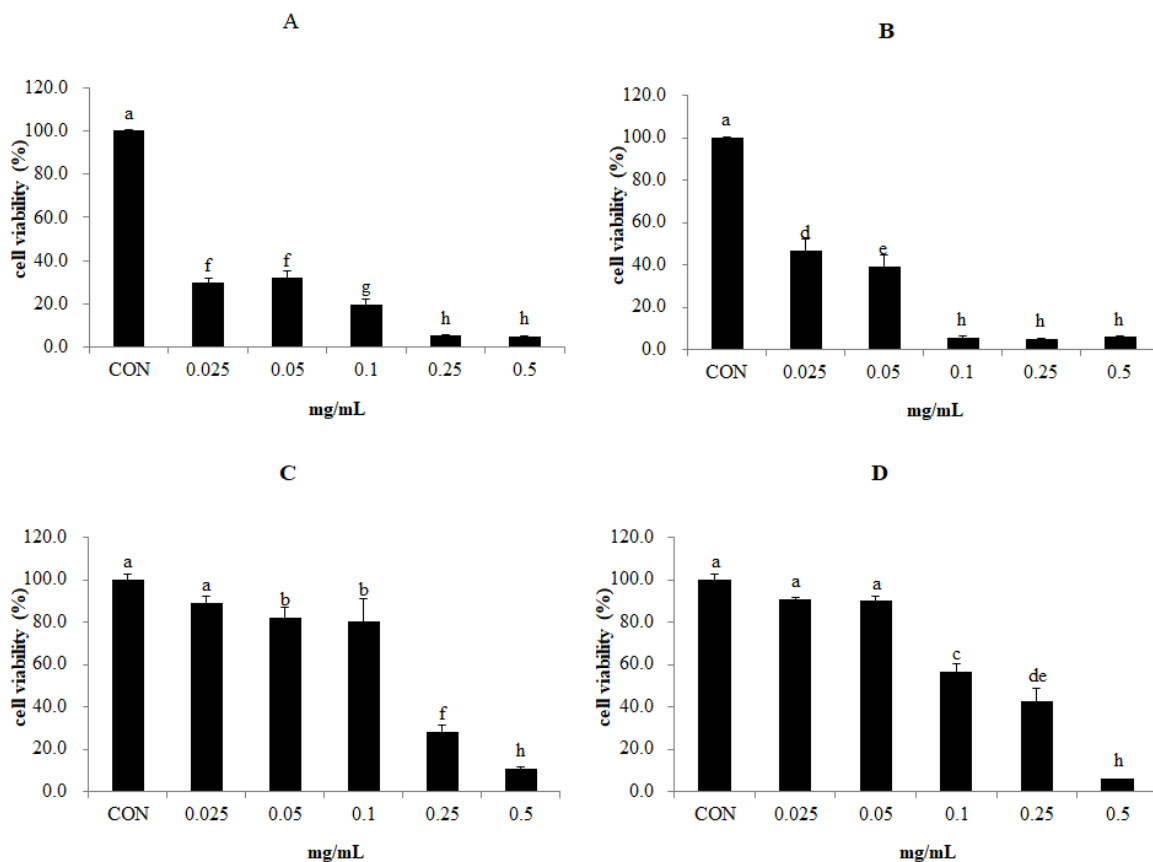


Fig. 2. Effect of solvent fractions from *L. lucidus* Turcz. on the cell viability of HT-1080 human fibrosarcoma cells. ^{a-h} Different superscripts indicated significant differences at $p < 0.05$. A, n-hexane fraction with n-hexane; B, 85% MeOH fraction with 85% aqueous methanol; C, n-BuOH fraction with n-butanol; D, water fraction with water.

출물은 0.25 mg/mL의 첨가농도에서 76%의 높은 암세포 억제 효과를 나타내었으며, IC₅₀은 0.06 mg/mL이었다(Fig. 3). MeOH 추출물은(0.5 mg/mL의 첨가농도) 71%의 암세포 억제 효과를 나타내었고, 이때 IC₅₀은 0.31 mg/mL이었다. Fig. 4는 택란 분획물들의 AGS 암세포 독성에 대한 효과를 나타낸 것으로 HT-1080과 유사하게 n-hexane 및 85% aq. MeOH 분획물에 의한 암세포 억제 효과가 높았다. 85% aq. MeOH 분획물은 0.1 mg/mL 이상의 농도에서 76% 이상의 높은 암세포 억제 효과를 나타내었으며, IC₅₀은 0.07 mg/mL이었다. n-Hexane분획물의 IC₅₀은 0.04 mg/mL이었다. 인체 결장암 세포(HT-29)의 경우, A+M 추출물은 0.1 mg/mL의 첨가농도에서 82%의 높은 암세포 억제 효과를 나타내었으며, IC₅₀은 0.09 mg/mL이었다(Fig. 5). MeOH 추출물(0.5 mg/mL의 첨가농도)은 57%의 암세포 억제 효과를 나타내었고, IC₅₀은 0.40 mg/mL이었다. Fig. 6은 택란 분획물들의 HT-29 암세포 독성에 대한 억제 효과를 나타낸 것으로 HT-1080 및 AGS 세포들과 유사하게 85% aq. MeOH 분획물에 의한 세포독성 활성이 높았다. 85% aq. MeOH 분획물은 0.5 mg/mL 첨가농도에서 67%의 세포독성 효과를

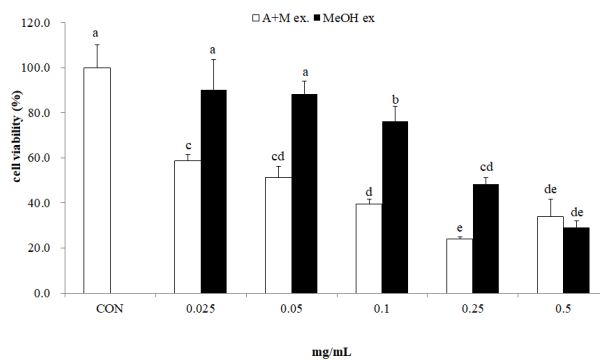


Fig. 3. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from *L. lucidus* Turcz. on the cell viability of AGS human gastric adenocarcinoma cells. ^{a-e} Different superscripts indicated significant differences at $p < 0.05$.

나타내었으며, IC₅₀은 0.33 mg/mL이었다. 이상의 결과로부터 택란에 의한 암세포 억제 효과는 A+M 추출물에서 활성이 높았고, 분획물들 중에서는 n-hexane과 85% aq. MeOH 분획물

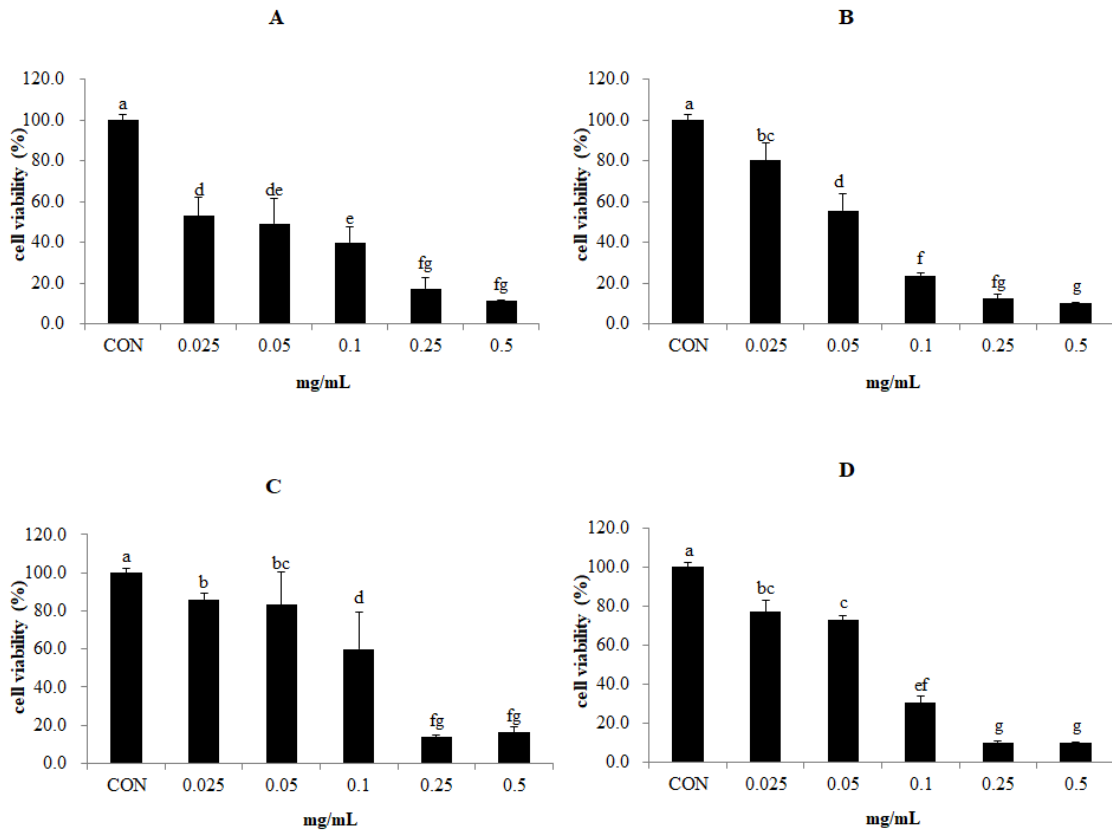


Fig. 4. Effect of solvent fractions from *L. lucidus* Turcz. on the cell viability of AGS human gastric adenocarcinoma cells. ^{a-g} Different superscripts indicated significant differences at $p < 0.05$. A, n-hexane fraction with n-hexane; B, 85% MeOH fraction with 85% aqueous methanol; C, n-BuOH fraction with n-butanol; D, water fraction with water.

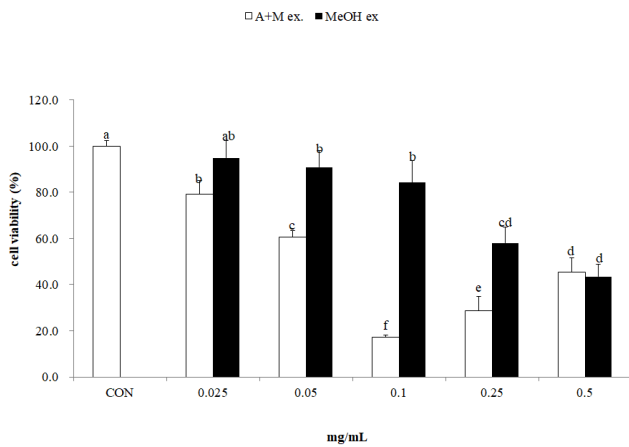


Fig. 5. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from *L. lucidus* Turcz. on the cell viability of HT-29 human colon cancer cells. ^{a-d} Different superscripts indicated significant differences at $p < 0.05$.

들에서 높음을 나타내었다. 또한 택란 메탄올 추출물이 인간 폐암 세포인 A549의 DNA 손상을 일으키고, 세포주기를

조절하는 신호전달 체계를 통해 A549 폐암세포의 G1 arrest를 유발하여 세포의 성장을 저해하였다고 보고되었다(Park 등 2013). Yu 등(2011)은 택란 유래 essential oil은 6가지 종류의 인체 암세포의 성장을 억제하는 항암 활성을 보였고, 간암 Bel-7402 세포의 세포 사멸을 유도하였다고 보고하였다. Lin 등(2012)은 마우스 혈청과 간 superoxide dismutase과 glutathione peroxidase의 활성이 택란 다당류 식이 첨가에 의해 증가하였고, 과산화물 함량은 감소되었다고 보고하였다.

택란의 지방산 조성 분석에서 높은 함량의 18:1n-9과 18:3n-3 함량을 확인하였고, 선행연구(Lee & Lim 2018)에서 택란 A+M 및 MeOH 추출물들은 각각 233 mg/g 및 46 mg/g 함량의 플라보노이드를 나타냄을 보고하였다. Juan 등(2006)은 높은 함량의 18:1n-9을 함유하는 올리브 추출물은 인체 결장암 세포(HT-29)에서 apoptosis를 유도하여 암세포 증식을 억제하였다고 보고하였다. Oleic acid(18:1n-9)는 몇몇 암세포에서 발생, 침윤 및 전이에 중요한 영향을 미치는 oncogene HER2 (erbB-2)의 과도한 발현을 억제하여 암 발생을 감소시킨다고 보고되었다(Carrillo 등 2012). Dai 등(2013)은 *in vitro* 실험에서 18:3n-3 처리는 위암세포(MGC 및 SGC)의 성장을 저해하

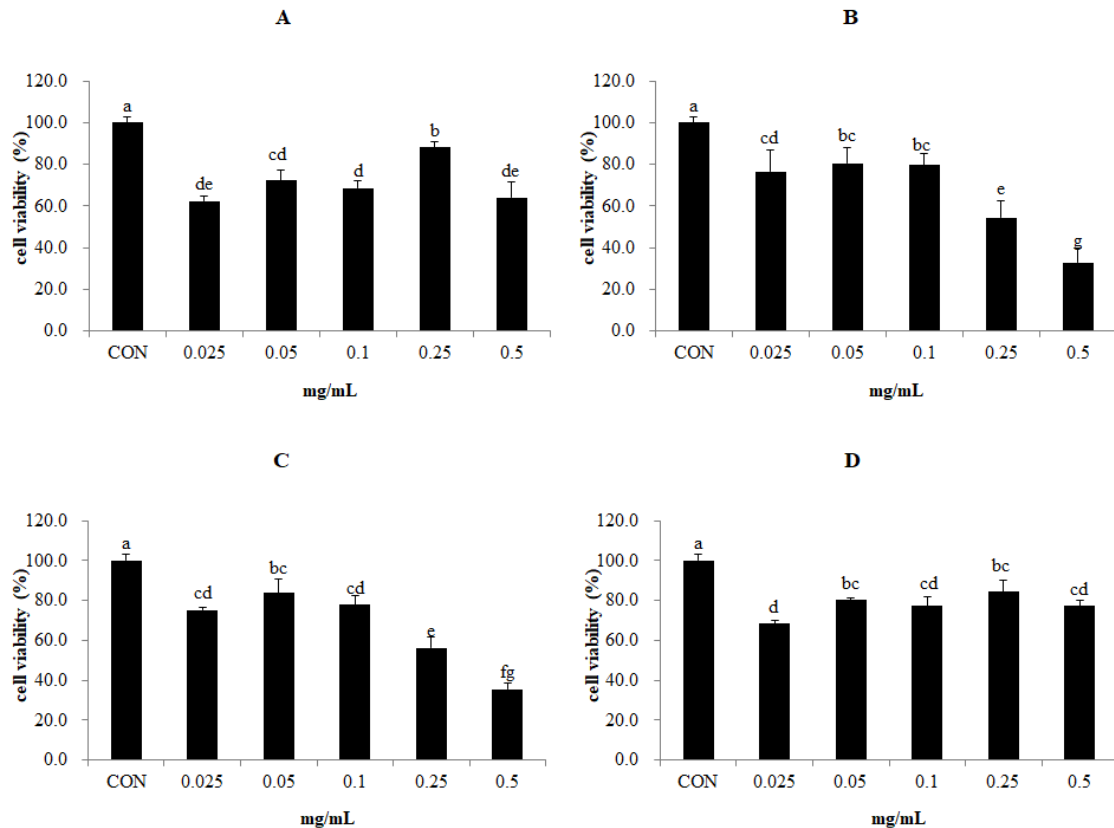


Fig. 6. Effect of solvent fractions from *L. lucidus* Turcz. on the cell viability of AGS human gastric adenocarcinoma cells. ^{a-g} Different superscripts indicated significant differences at $p < 0.05$. A, n-hexane fraction with n-hexane; B, 85% MeOH fraction with 85% aqueous methanol; C, n-BuOH fraction with n-butanol; D, water fraction with water.

였고, 예정세포사(apoptosis)를 유도하였다고 보고하였다. 또한 인체 결장암세포들(LT97 및 HT-29)에 18:3n-3 처리는 LT97 및 HT-29 세포들의 증식을 억제하였다고 보고되었다(Dommels 등 2002). 아울러 지속적인 플라보노이드 섭취는 AGS 위암 세포의 증식(Theodoratou 등 2007)을 억제시키고, 결장암 위험을 억제(Choi 등 2012; Kim 등 2014; Xu 등 2016)시킨다고 보고되었다. 본 연구결과로부터 택란 n-hexane 및 85% aq. MeOH 분획물은 HT-1080, AGS, HT-29 인체 암세포들에서 높은 세포독성 효과를 보였으며, 이들 분획물들 속에 있는 활성 성분과 관련이 있는 것으로 사료되었고, 본 연구 결과를 기초자료로 하여 향후 택란의 세포독성 효과뿐만 아니라, 다양한 생리활성 규명이 필요하다고 사료된다.

요약 및 결론

택란의 일반성분과 지방산 조성을 분석한 결과, 택란은 75.6% 수분을 함유하였고, 10.6% 조탄수화물, 5% 조단백질, 0.3% 조지방 및 5% 조회분을 함유하였고, 조식이섬유는 3.54%였다. 택란의 지방산 조성은 12.3%의 총 포화지방산(Saturated

Fatty Acids: SFA), 57.1%의 총 단일불포화지방산(Monounsaturated Fatty Acids: MUFA), 2.9%의 총 n-6 지방산 및 3.3%의 총 n-3 지방산으로 나타났다. 택란의 추출물과 분획물의 인체 섬유종세포(HT-1080), 위암세포(AGS) 및 인체 결장암세포(HT-29)에 대한 세포독성 효과를 MTT assay를 이용하여 측정하였다. HT-1080, AGS 및 HT-29 암세포에 대한 세포독성 활성은 택란 A+M 추출물에 의한 억제효과가 MeOH 추출물에 의한 세포독성 효과보다 높게 나타났다. 택란 분획물들 중 특히 n-hexane 및 85% aq. MeOH 분획물들은 HT-1080, AGS 및 HT-29 인체 암세포들에 대해 높은 세포독성 효과를 보였으며, 이들 분획물들 속에 있는 활성 성분이 함유되어 있는 것으로 사료되며, 향후 더욱더 정제하여 규명할 필요가 있다.

감사의 글

본 과제(결과물)는 2017년 대한민국 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2017R1A2B4005915)의 연구결과입니다.

References

- AOAC. 1996. The Association Official Methods of Analysis. 16th ed. pp.210-219. Association of Official Analytical Chemists
- Carrillo C, Cavia M, Alonso-Torre SR. 2012. Antitumor effect of oleic acid: Mechanisms of action: A review. *Nutr Hosp* 27:1860-1865
- Choi IS, Cha EJ, Lee YR, Kim JK. 2012. Antioxidant and anti-cancer activities of Yak-Sun tea prepared by oriental medicinal herbs. *Korean J Food Nutr* 25:447-453
- Dai J, Shen J, Pan W, Sehn S, Das UN. 2013. Effects of polyunsaturated fatty acids on the growth of gastric cancer cells *in vitro*. *Lipids Health Dis* 12:71
- Denizot F, Lang R. 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
- Dommels YE, Alink GM, Linszen JP, Van Ommen B. 2002. Effects of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on gap junctional intercellular communication during spontaneous differentiation of the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. *Nutr Cancer* 42:125-130
- Folch J, Lee M, Sloane Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509
- Juan ME, Wenzel U, Ruiz-Gutierrez V, Daniel H, Planas JM. 2006. Olive fruit extracts inhibit proliferation and induce apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. *J Nutr* 136:2553-2557
- Kim CM, Shin MK, Ahn DK, Lee KS. 1997. The Encyclopedia of Oriental Herbal Medicine. 3rd ed. pp.4278, 4398-4399. Jungdam Books
- Kim DY, Ghil SH. 2009. Effect of *Lycopus lucidus* Turcz on cell growth of human breast cancer cells, MCF-7. *Biomed Sci Lett* 15:147-152
- Kim KY, Oh TW, Ma JY, Park KI. 2018. Ethanol extract of *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth inhibits metastasis by downregulation of Runx-2 in mouse colon cancer cells. *J Evidence-Based Complementary Altern Med* 2018, p.9513290
- Kim MC, Lee HJ, Lim B, Ha KT, Kim SY, So I, Kim BJ. 2014. Quercetin induces apoptosis by inhibiting MAPKs and TRPM7 channels in AGS cells. *Int J Mol Med* 33:1657-1663
- Kim YK, Son HK, Lee JJ. 2017. Nutritional components and antioxidant activities of various *Stachys sieboldii* Miq. parts. *Korean J Community Living Sci* 28:203-215
- Lee JE, Jin SY, Han YS. 2014. Antioxidant activities and quality characteristics of tofu supplemented with Chinese artichoke powder. *Korean J Food Nutr* 27:10-21
- Lee JW, Lim SY. 2018. Comparison of flavonoid content and antioxidant effect of extracts from *Stachys sieboldii* Miq. and *Lycopus lucidus* Turcz. *J Life Sci* 28:841-848
- Lee SW, Jung TH, Shin YW. 2013. A comparative study of memory improving effects of *Stachys rhizome* and *Lycopi rhizome* on scopolamine-induced amnesia in mice. *Korean J Herbol* 28:69-77
- Lee YJ, Kang DG, Kim JS, Lee HS. 2008. *Lycopus lucidus* inhibits high glucose-induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells. *Vascul Pharmacol* 48: 38-46
- Lin CR, Zuo SY, Xiong W, Chen GY. 2012. Antioxidation effects of *Lycopus lucidus* polysaccharides on aged mice induced by D-galactose. *Med Plant* 3:53-55
- Lu YH, Huang JH, Li YC, Ma TT, Sang P, Wang WJ, Gao CY. 2015. Variation in nutritional compositions, antioxidant activity and microstructure of *Lycopus lucidus* Turcz. root at different harvest times. *Food Chem* 183:91-100
- Morrison WR, Smith LM. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J Lipid Res* 5:600-608
- Na HG, Jang EH, Nam DH, Kim MA, Kim MJ, Sohn EH, Kim HD, Jang KH. 2018. Physicochemical properties and isoflavone content of Chaga Cheonggukjang with *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3925 starter. *Korean J Food Preserv* 25:221-228
- Park HJ, Jin S, Oh YN, Yun SG, Lee JY, Kwon HJ, Kim BW. 2013. Induction of G1 arrest by methanol extract of *Lycopus lucidus* in human lung adenocarcinoma A549 cells. *J Life Sci* 23:1109-1117
- Ryu BH. 1991. Eating habits preventing against cancer. *Korean J Food Nutr* 4:213-229
- Salem N, Litman B, Kim HY, Gawrisch K. 2001. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. *Lipids* 36:945-959
- Salem N, Reyer M, Karanian J. 1996. Losses of arachidonic acid in rat liver after alcohol inhalation. *Lipids* 31:S153-156
- Song YJ, Chang JP, Yoo JH. 2016. Antioxidant activities of water extracts from different parts of *Lycopus lucidus* Turcz.

- ex Benth. *Korea J Herbaol* 31:21-28
- Theodoratou E, Kyle J, Cetnarskyj R, Farrington SM, Tenesa A, Barnetson R, Porteous M, Dunlop M, Campbell H. 2007. Dietary flavonoids and the risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16:684-693
- Xiong W, Jiao Y, Luo YH, Zhang CX, Tan DY, Zuo SY. 2012. Effects of polysaccharide from *Lycopus lucidus* Turcz. on proliferation of tumor cells *in vitro* and *in vivo*. *China J Bioprocess Eng* 10:64-69
- Xu M, Chen YM, Huang J, Fang YJ, Huang WQ, Yan B, Lu MS, Pan ZZ, Zhang GX. 2016. Flavonoid intake from vegetables and fruits is inversely associated with colorectal cancer risk: A case-control study in China. *Br J Nutr* 116:1275-1287
- Yang MO. 2017. Antioxidant properties of hot water extract of *Lycopus lucidus* Turcz. tubers. *Korean J Community Living Sci* 28:103-113
- Yang X, Zhao Y, He N, Croft KD. 2010. Isolation, characterization, and immunological effects of α -galacto-oligosaccharides from a new source, the Herb *Lycopus lucidus* Turcz. *J Agric Food Chem* 58:8253-8258
- Yu JQ, Lei JC, Zhang XQ, Yu HD, Tian DZ, Liao ZX, Zou GL. 2011. Anticancer, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Lycopus lucidus* Turcz. var. *hirtus* Regel. *Food Chem* 126:1593-1598

Received 04 April, 2019

Revised 22 May, 2019

Accepted 14 May, 2019