

모래지치(*Messerschmidia sibirica*) 추출물의 항산화성 및 생리활성

이연지 · 김지윤 · 김원석¹ · 김용태*

군산대학교 식품생명공학전공, ¹신라대학교 제약공학과

Antioxidant and Physiological Activities of Different Solvent Extracts from *Messerschmidia sibirica*

Yeon-Ji Lee, Ji-Youn Kim, Won-Suk Kim¹ and Yong-Tae Kim*

Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea

¹Department of Pharmaceutical Engineering, Silla University, Busan 46958, Korea

Messerschmidia sibirica is a halophyte that grows in high-salinity areas of coastal sand dunes and sandy shores. This study was conducted to investigate the constituents, antioxidant potency, and physiological activities of *M. sibirica*. Mineral analyses revealed that potassium, calcium, sodium, and magnesium were the most prevalent minerals in *M. sibirica* leaves and stems. We used 70% ethanol, 80% methanol, and distilled water as solvents to prepare extracts from *M. sibirica* tissues, with extraction yields of between approximately 19% and 27% being obtained. Among the six types of extract, the leaf ethanol extract (LEE) was characterized by the highest total polyphenol and flavonoid contents, and the antioxidant activities of the LEE were also the highest among the different solvent extracts. In addition, the leaf water extract was shown to have the highest tyrosinase and α -glucosidase inhibitory activities, whereas the leaf methanol extract was found to have the highest elastase inhibitory activity. Notably, all leaf extracts were established to have more than 75% β -secretase (BACE1) inhibitory activity at a final concentration of 0.5 mg/mL. These results indicate that leaf extracts of *M. sibirica* may have beneficial antioxidant properties, and could thus have potential application as functional supplements in food and pharmaceutical products.

Keywords: Antioxidative activity, General component, Halophyte, *Messerschmidia sibirica*, Physiological activity

서론

우리나라는 삼면이 바다로 둘러싸인 지형으로 서해안과 남해안에 사구가 많이 발달되어 있다. 사구는 형성 장소에 따라 내륙사구와 해안사구로 구분되는데 우리나라에는 해안사구만이 존재한다(Ko, 2008). 해안사구는 해류와 연안류에 의해 운반된 해변의 모래가 바람에 의해 내륙으로 다시 운반되어 해안선을 따라 평행하게 쌓인 모래언덕을 말한다. 즉 해안사구는 바람에 의한 모래의 운반과 식·생간의 상보작용으로 생성된 결과물이라 할 수 있으며(Choi, 2004), 희귀 동물과 식물들의 서식지로서 그 가치가 뛰어나다(Ko, 2008). 염생식물은 해수와 민물이 공존하는 바닷가 해안사구 혹은 염습지에서 염분의 농도가 계속해서 변화하는 독특한 환경에서 자생하는 식물이다. 토

양 성분이 주로 모래이며 강한 태양광으로 인해 건조한 상태로 사막처럼 온도변화가 크고 상대적으로 부족한 영양 염류를 보유하고 있다(Ko, 2008). 염생식물의 자연 상태에서 생육은 장기적인 계절적 염분 변동뿐 만 아니라 강수량, 증발량, 해수의 침수 등과 같은 단기적 염분 변동에 대한 적응능이 매우 중요하다(Shim et al., 2002). 사구식물은 해안사구라는 한정된 지역 내에 자생하고 있기 때문에 천연물로서 그 활용도가 잘 알려져 있지 않았다. 천연물 유래 생리기능성 물질에 관한 연구의 대부분은 육상생물로부터 많이 이루어져 왔는데 그 연구대상 한계와 환경 오염 등으로 인하여 최근에는 특유의 대사과정과 독특한 생육 환경으로 인하여 다양한 생리활성물질을 가지고 있는 해양생물이 육상생물의 대체자원으로 주목받고 있다(Byun and Kim, 2005; Lee, 2011). 모래지치(*Messerschmidia*

*Corresponding author: Tel: +82. 63. 469. 1824 Fax: +82. 63. 469. 7448

E-mail address: kimyt@kunsan.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0938>

Korean J Fish Aquat Sci 54(6), 938-947, December 2021

Received 9 November 2021; Revised 3 December 2021; Accepted 15 December 2021

저자 직위: 이연지(대학원생), 김지윤(대학원생), 김원석(교수), 김용태(교수)

sibirica)는 쌍떡잎식물 꿀풀목 지치과의 해안사구에서 자라는 여러해살이풀에 속하며, 땅속줄기는 옆으로 뻗으며 지상부는 30 cm 정도 높이로 자란다. 줄기는 곧게 서며 가지가 비스듬히 퍼지고 잎은 두툼하며 표면에 솜털이 있어 녹색으로 보인다. 주로 분포하는 지역은 아시아 및 유럽 온대에서 난대 지역의 해안사구에 자란다(Kim, 2013). 한편, 산과 들에서 자라는 지치는 뿌리 외피 부위에 적색소를 함유하고 있는 여러해살이 풀로 오래전부터 염료와 약재로 사용되고 있는 식물로 대표적으로는 진도 홍주의 천연색소로 이용되고 있다. 또한 산과 들에서 자라는 지치는 항체 형성 호르몬을 억제하고 항산화, 항균, 항염증, 항종양 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 다양한 무기질 함량도 풍부한 것으로 알려져 있다(Kim, 2016). 그러나 해안 사구에서 자라는 염생식물의 일종인 모래지치에 대한 항산화 및 생리 기능성에 관한 연구는 아주 미미한 실정으로 모래지치의 생육 분포 및 항산화 활성에 관한 제한적인 연구가 대부분이다(Kim, 2013; Kim and Cha, 2017). 따라서 본 연구에서는 수분이 부족하고 염분이 다량 함유된 해안사구라는 특수한 환경에서 서식하는 염생식물인 모래지치의 성분을 분석하고, 항산화성 및 생리 기능성을 구명하기 위하여 증류수, 에탄올 및 메탄올을 용매로 사용하여 모래지치 추출물을 제조하여 이화학적 특성, 항산화 활성 및 생리활성을 측정하여 기능성식품 및 의약품 소재로서의 활용 가능성을 비교·검토하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 모래지치(*Messerschmidia sibirica*)는 전북 군산시 선유도 연안에서 채취하여 실험실로 운반한 후 흐르는 물로 수세하여 염분과 협잡물을 제거한 다음 자연 건조한 후 잎과 줄기로 분리하여 각각 분쇄기(FM700SS; Hanil, Seoul, Korea)로 곱게 분쇄하여 추출물 제조에 사용하였다. 항산화 활성 및 생리활성을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, quercetin, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, vitamin C, 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA), kojic acid, 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), acetylcholinesterase, acetylthiocholine iodide (ATC), mushroom tyrosinase, porcine pancreatic elastase 및 β -secretase (BACE1) assay kit 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Yeast α -glucosidase, p -nitrophenol- α -glucopyranoside는 Wako Chemical Co. (Kanagawa, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

일반성분 분석

모래지치의 일반성분은 AOAC (1990)법에 따라 수분함량은 105°C 상압건조법, 조회분은 550°C 건식회화법, 조지방은 Soxhlet 추출법으로 분석하였다. 조단백질은 Kjeldahl법을 개량한 방법인 붕산에 의한 암모니아 포집법에 따라 정량하였다. 탄수화물 함량은 고형분의 총량에서 수분, 회분, 단백질 및 지방의 함량을 뺀 값으로 나타내었다. 모든 분석은 3회 이상 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

무기질 분석

시료의 무기질 함량은 군산대학교 친환경분석연구센터에 의뢰하여 유도결합 플라즈마방출분광기(ICP-OES, iCAP-7400DUO; Thermo Scientific Inc., Waltham, MA, USA)로 분석하였다. 즉, 테프론 분해용기에 시료 0.3 g을 취하여 10 mL의 황산과 질산 혼합액(1:1)을 가한 다음 시료가 완전히 분해될 때까지 Microwave digestion system에서 가열하였다. 가열 분해한 시료를 증류수로 최종 50 mL로 정용한 것을 0.45 μ m membrane filter로 여과한 후, 이를 유도결합플라즈마방출 분광기로 분석하였다. 무기질의 농도(mg/100 g sample)는 100 g의 시료에 대한 mg으로 환산하여 나타내었다.

추출물의 제조

모래지치의 잎과 줄기 분말을 각각 3가지 용매(증류수, 70% EtOH, 80% MeOH)를 사용하여 모래지치 추출물을 제조하였다. 증류수를 용매로 사용한 추출은 모래지치 50 g에 증류수를 시료 대비 20배의 양을 첨가하여 autoclave (121°C)에서 3시간 동안 가열 추출하였다. 유기 용매를 사용한 추출은 70% EtOH 과 80% MeOH를 추출 용매로 사용하여 시료 50 g에 각 추출용매를 시료 대비 20배의 양으로 첨가하여 25°C에서 24시간 동안 shaking incubator (120 rpm)에서 추출하였다. 각 용매별로 추출한 모래지치 추출물을 원심분리기(SUPRA 30K; Hanil)에서 원심분리(1,800 g, 30분)하여 상등액을 여과지(Whatman no.1)로 여과한 후 여액을 회수하였다. 얻어진 각각의 추출물을 감압 농축하고, 동결건조한 후에 -20°C 냉동고에 보관하면서 각종 실험에 사용하였다. 모든 추출물은 적절한 양을 저울에 달아 증류수에 용해하여 항산화성 및 생리활성 측정 시료로 사용하였다. 모래지치 추출물의 수율은 각 추출물의 건량을 시료 건량으로 나누어 백분율로 나타내었다.

색도 측정

각 추출물의 색도는 색차계(JC801; Color Techno System Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 L (명도), a (적색도) 및 b (황색도)값을 측정하였다. 시료 당 3회 반복하여 측정된 뒤 그 평균값을 나타내었다. 측정 시 사용한 표준 백색판(calibration plate)은 L값이 96.5, a값은 -0.13, b값은 -0.05이었다.

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

모래지치 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis 법

을 약간 변형한 Shetty et al. (1995)의 방법에 준하여 수행하였다. 각 시료(1 mL)에 95% 에탄올 용액 1 mL와 증류수 5 mL를 넣어 혼합한 후 50% Folin-Ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣고 실온에서 5분간 반응시켰다. 여기에 5% Na_2CO_3 용액 1 mL를 가한 후 실온·암소에서 1시간 동안 반응시킨 후 분광광도계(Optizen Pop; KLAB, Seoul, Korea)를 이용하여 파장 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 gallic acid를 표준물질로 사용하여 시료의 총 폴리페놀 함량을 산출하였고 gallic acid equivalents (mg GAE/g extract)로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno et al. (2000)의 방법을 약간 변형하여 아래와 같이 측정하였다. 각 시료 용액(0.5 mL)에 1.5 mL, 95% ethanol을 혼합한 다음 0.1 mL, 10% aluminum nitrate와 0.1 mL, 1 M potassium acetate를 차례로 가하여 혼합한 후 실온에서 3분간 반응시킨 다음 증류수 2.8 mL를 가하여 혼합한 후 실온에서 30분간 반응시킨 후 파장 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin을 표준물질로 사용하여 동일한 방법으로 작성된 표준 곡선으로부터 총 플라보노이드 함량으로 환산하였고, quercetin equivalents (mg QE/g extract)로 나타내었다.

ABTS 라디칼 소거활성 측정

ABTS radical 소거능은 ABTS⁺ radical decolorization assay (Re et al., 1999) 방법을 이용하여 측정하였다. 7.4 mM의 ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 동량 혼합하여 실온·암소에서 24시간 동안 방치하여 radical을 형성시킨 다음 실험 직전에 ABTS 용액을 734 nm에서 흡광도가 1.000 ± 0.030 (mean \pm SD)가 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 추출물 50 μL 에 ABTS 용액 950 μL 를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 계산식, ABTS^+ radical scavenging ability (%) = $[(\text{Control}_{734} - \text{Sample}_{734}) / \text{Control}_{734}] \times 100$ 에 의하여 활성을 산출하였다. IC₅₀ value (half maximal inhibitory concentration value)는 50%의 ABTS⁺ radical 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다. IC₅₀ value는 nonlinear regression analysis software (Prism 9; GraphPad, CA, USA)를 이용하여 구하였다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

시료의 산화방지 활성을 측정하기 위하여 자유라디칼인 DPPH를 사용한 라디칼 소거활성의 측정은 Lee et al. (2017)의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료액(1.5 mL)에 동량의 0.4 mM DPPH radical ethanolic solution (1.5 mL)과 혼합하고, 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 파장 516 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 아래의 계산식, DPPH radical scavenging ability (%) = $(\text{Control}_{517} - \text{Sample}_{517}) / \text{Control}_{517} \times 100$ 에 의하여 활성을 산출하였으며, IC₅₀ value (mg/mL)는 50%의 DPPH 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/

mL)로 정의하였다. 이때, 대조구는(Control₅₁₇)는 시료용액 대신 탈 이온수를 가하여 측정된 흡광도를 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

각 시료의 아질산염 소거활성은 1 mM NaNO_2 용액 1 mL에 소정 농도의 시료 1 mL를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2) 용액을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2로 조정한다. 다음 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이렇게 한 다음 37°C에서 1시간 반응시켜 얻은 반응용액을 각각 1 mL씩 취하고 여기에 2% 초산용액 5 mL를 첨가한 다음 Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1로 혼합) 0.5 mL를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염을 구하였다. 대조구는 Griess 시약 대신 증류수를 0.5 mL를 가하여 상기와 동일하게 행하였다. 아질산염 소거작용은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 백분율로 나타내었다. {아질산염 소거활성(%) = $[1 - (A - C) / B] \times 100$, (A, 1 mM nitrite 용액에 시료를 첨가한 흡광도; B, 1mM nitrite 용액의 흡광도; C, 시료의 흡광도)}. IC₅₀ value (mg/mL)는 50%의 아질산염 소거활성을 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

환원력(reducing power) 측정

환원력은 Oyaizu et al. (1988)의 방법을 일부 수정한 Lee et al. (2020a)의 방법으로 측정하였다. 각 시료용액(1 mL)에 1 mL의 0.2 M sodium phosphate 완충액(pH 6.6)과 1 mL의 1% (w/v) potassium ferricyanide을 차례로 가하여 혼합한 후, 50°C의 항온수조에서 20분 동안 반응시켰다. 이 반응액에 1 mL의 10% (w/v) trichloroacetic acid를 가하여 반응을 정지시킨 후 원심분리(1,890 g, 10분)하였다. 상층액 1.5 mL에 1.5 mL의 증류수와 0.3 mL의 0.1% (w/v) ferric chloride 용액을 혼합하여, 10분 동안 실온에서 정치한 후, 파장 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력으로 나타내었으며, 흡광도가 높을수록 환원력이 큰 것을 의미한다. EC₅₀ value (half maximal effective concentration value)는 흡광도 값이 0.5를 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

FRAP value 측정

FRAP (ferric reducing antioxidant power)에 의한 환원력 측정은 Benzie and Strain (1996)의 방법을 사용하여 측정하였다. 300 mM acetate buffer (pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM 2,4,6-tripyridyl-s-triazine 및 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 각각 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 혼합하여 FRAP 시약을 제조하였다. 이어서 여러 가지 농도의 시료액 0.15 mL와 3.0 mL의 FRAP 시약을 혼합하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 표준물질로 사용하여 동일한 방법으로 얻은 표준 검량선으로부터 FRAP value (mM)를

계산하였다.

Tyrosinase 저해활성 측정

각 시료용액의 tyrosinase 저해활성은 Iida et al. (1995)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 300 µL의 시료용액은 900 µL의 mushroom tyrosinase (50 Unit/mL)와 1.5 mL의 50 mM phosphate buffer (pH6.8)을 혼합하여 실온에서 30분 동안 전 단계 반응을 실시한 후, 300 µL의 10 mM L-DOPA 용액을 가하여, 파장 475 nm에서 20분 동안 1분 간격으로 생성되는 dopachrome의 흡광도를 모니터링하면서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성(%)은 다음 식, Tyrosinase inhibitory activity (%)=[(Control₄₇₅-Sample₄₇₅)/Control₄₇₅] \times 100을 통하여 계산하였다. 여기서 대조군(Control₄₇₅)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정된 흡광도를 의미하였다.

Elastase 저해활성 측정

각 시료의 elastase 저해활성은 Kraunsoe et al. (1996)의 방법을 다소 수정한 Lee et al. (2021)의 방법에 따라 측정하였다. Porcine pancreatic elastase를 반응용액(50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.2)에 녹여 1 U/mL로 제조하여 효소용액으로 사용하였고, 기질용액은 N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroniline (0.5 mM)을 동일한 반응용액에 녹여서 제조하였다. 10 µL의 시료용액은 50 µL의 elastase (1 U/mL)와 90 µL의 반응용액을 혼합하여 실온에서 10분 동안 전 단계 반응을 실시한 후, 50 µL의 0.5 mM 기질용액을 가하여 405 nm에서 0 min에서의 흡광도를 측정 후 다시 25°C에서 10분간 반응한 후의 흡광도를 측정하였다. 대조군(C)은 시료 대신 buffer 용액을 사용하였다. Elastase 저해 활성도는 계산식은 Elastase inhibitory activity(%)=[1-{S (OD 10 min-OD 0 min)/C (OD 10 min-OD 0 min)}] \times 100에 의하여 산출하였다.

α -Glucosidase 저해활성 측정

각 시료의 α -glucosidase 저해활성은 Watanabe et al. (1997)의 chromogenic assay법에 따라 p-nitrophenol glucoside를 이용하여 측정하였다. Yeast α -glucosidase를 반응용액(100 mM phosphate buffer, pH 7.0, 0.2% bovine serum albumin 및 0.02% NaN₃)에 녹여 0.7 U/mL로 제조하여 효소용액으로 사용하였고, 기질용액은 p-nitrophenyl- α -glucopyranoside (5 mM)을 동일한 반응용액에 녹여서 제조하였다. 반응은 효소용액 100 µL와 시료용액 20 µL를 well에 넣고 혼합하여 405 nm

에서 흡광도(time zero)를 측정하였다. 실온에서 5분간 incubation한 다음, 기질용액 100 µL를 첨가하여 실온에서 5분간 incubation한 후 흡광도를 측정하여 증가된 흡광도 변화를 계산하였다. 이때 실험의 대조군으로는 α -glucosidase 저해제로 알려진 acarbose를 사용하였다. 효소활성의 저해정도는 다음 식, α -Glucosidase inhibitory activity (%)=[1-(Sample₄₀₅/Control₄₀₅)] \times 100에 따라 산출하였으며, control은 시료 무첨가구의 흡광도 변화 값을 나타내었다.

BACE1 저해활성 측정

각 시료의 BACE1 (β -secretase) 효소활성은 fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based β -secretase (BACE1) assay kit (Sigma-Aldrich)을 사용하여 측정하였다. 일반적인 저해활성은 black 96-microwell plate에 fluorescent assay buffer (78-X µL, 50 mM sodium acetate, pH 4.5), BACE1 substrate (20 µL, 50 µM MOCAc-SEVNLDAEFRK(Dnp)RR), 시료용액(X µL) 및 BACE1 효소(2 µL, 0.3 unit/µL)를 순서대로 첨가하여 섞은 후 37°C에서 2시간 반응시킨 다음 microplate reader (Infintie F200; Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 Ex 320/Em 405 nm에서 형광강도를 측정하였다. BACE1활성의 저해정도는 다음 식, BACE1 inhibitory activity (%)=[100-(SF/CF)] \times 100과 같이 산출하였다(SF, 시료 존재 하의 형광강도; CF, 시료 무첨가구의 형광강도).

통계처리

실험 결과는 SPSS 22.0 package program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 통계처리 하여 3회 측정된 값의 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 시료 간의 유의성 검정은 분산분석(ANOVA)을 한 후 P<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 따라 분석하여 시료 간 유의적 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

모래지치의 일반성분 및 무기질 함량

모래지치의 일반성분 분석 결과는 Table 1과 같다. 시료는 전복 균산시 선유도 연안에서 채취하여 수세한 다음 자연 건조하여 잎과 줄기로 분리하여 각각 분쇄기로 곱게 분쇄하여 일반성분 분석에 사용하였다. 모래지치의 잎과 줄기의 일반성분을 측정된 결과, 잎과 줄기의 수분함량은 12.18% 및 11.01%, 조단백

Table 1. Proximate compositions of *Messerschmidia sibirica*

Sample	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Carbohydrate ²
Leaf	12.18 \pm 0.03 ¹	14.43 \pm 0.28	2.77 \pm 0.37	17.60 \pm 0.26	53.02 \pm 0.25
Stem	11.01 \pm 0.06	10.43 \pm 0.24	1.00 \pm 0.11	12.58 \pm 0.13	64.98 \pm 0.28

¹Values are mean \pm SD (n=3). ²Carbohydrate contents are calculated as the differences between total weight and the sum of crude protein, crude lipid, moisture, and ash.

질은 14.43% 및 10.43%, 조지방은 2.77% 및 1.00%, 조회분은 17.60% 및 12.58%, 탄수화물은 53.02% 및 64.98%로 각각 나타났다. 모래지치의 잎과 줄기의 일반성분을 비교해보면 잎의 조단백질, 조지방 및 조회분의 함량은 줄기의 동 성분들의 함량보다 높은 경향을 보였지만 탄수화물의 함량은 줄기에 비하여 약 12% 낮은 것으로 나타났다. 엽생식물의 경우 일반적으로 탄수화물을 제외하고 조회분 함량이 높지만 조지방 함량은 낮은 것으로 알려져 있는 것과 같이 모래지치의 잎과 줄기의 일반성분도 유사한 경향을 보이는 것으로 확인되었다(Yang, 2011). 모래지치 잎과 줄기의 무기질 함량을 분석한 결과는 Table 2에 나타내었다. 모래지치의 잎과 줄기의 나트륨(Na), 마그네슘(Mg), 칼슘(Ca), 망간(Mn), 철(Fe), 구리(Cu), 아연(Zn) 및 칼륨(K)의 함량을 각각 분석한 결과, 잎은 칼륨이 2,634 mg/100 g으로 가장 높은 함량이고 그 다음 순으로는 칼슘, 787 mg; 마그네슘, 278 mg; 나트륨, 213 mg; 철, 15 mg; 망간, 4 mg; 아연, 3 mg; 구리, 1 mg/100 g 순으로 나타났다. 한편, 모래지치 줄기는 칼륨이 3,204 mg/100 g으로 가장 높았으나 그 다음으로 나트륨, 328 mg; 칼슘, 297 mg; 마그네슘, 193 mg; 철, 7 mg; 아연, 3 mg; 마그네슘, 1 mg; 구리, 1 mg/100 g으로 확인되었다. 모래지치 잎과 줄기의 무기질 함량을 비교해 보면 잎에서는 칼륨>칼슘>마그네슘>나트륨 순서로 함량이 높았으나 줄기에서 칼륨>나트륨>칼슘>마그네슘 순으로 무기질 함량이 높은 것으로 확인되어 모래지치 부위별 무기질 함량이 다소 차이가 나타나는 것으로 확인되었다. 엽생식물은 갯벌이나 사구 및 내륙의 염습지의 염분이 풍부한 땅에서 자라는 내염성 식물로 각종 미네랄이 다량 함유되어 있는 것으로 알려져 있다. Yang (2011)은 엽생식물의 종류에 따라 염도 및 미네랄 함량의 차이가 크지만, 육상식물에 비해 전체적으로 나트륨 함량이 높고 칼륨, 칼슘 및 마그네슘의 미네랄 함량이 높게 나타나는 것으로 보고하였다. 모래지치의 무기질 함량은 Yang (2011)의 보고와 유사하게 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 나트륨 함량이 다른 미네랄 함량보다 월등히 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었다.

모래지치 추출물의 수율 및 색도

모래지치에 함유되어 있는 생리활성물질 및 유용성분을 획득하기 위해 잎과 줄기로부터 70% EtOH, 80% MeOH 및 증류수를 용매로 사용하여 잎 에탄올 추출물(leaf ethanol extract, LEE), 잎 메탄올 추출물(leaf methanol extract, LME), 잎 증류수 추출물(leaf water extract, LWE), 줄기 에탄올 추출물(stem ethanol extract, SEE), 줄기 메탄올 추출물(stem methanol ex-

tract, SME) 및 줄기 증류수 추출물(stem water extract, SWE)을 제조하여 항산화성 및 생리활성을 비교 분석하였다. 모래지치 추출물들의 추출 수율 및 색도 측정 결과는 Table 3에 나타내었다. 모래지치 잎 추출물 LEE의 수율은 19.02%, LME는 25.10%, LWE는 18.41%로 나타났고, 모래지치 줄기 추출물 SEE의 수율은 25.31%, SME는 27.63%, SWE는 21.29%로 나타났다. 모래지치 잎과 줄기 추출물 각각의 추출 수율을 비교하면 MeOH>EtOH>증류수 추출물 순으로 수율이 높은 것으로 확인되었다. 모래지치 잎과 줄기 추출물의 색도를 비교·분석한 결과, 명도를 나타내는 L(lightness)값의 경우 모래지치 잎의 추출물(LEE, LME, LWE)이 모래지치 줄기 추출물(SEE, SME, SWE)에 비하여 상대적으로 낮은 경향을 나타냈으며, 특히 모래지치 잎과 줄기의 증류수 추출물(LWE, SWE)의 L값이 각각 36.43 및 46.97로 각각의 EtOH 및 MeOH 추출물보다 낮은 값을 보였다. 적색도를 나타내는 a (redness)값은 모래지치 잎 추출물이 줄기 추출물보다 상대적으로 높은 값을 나타내었고, 3가지 추출용매 중 증류수 추출물에서 가장 높은 a값을 보였다. 또한 황색도를 나타내는 b (yellowness)값은 모래지치 잎 추출물에서는 MeOH 추출물(LME, 81.18)이 가장 높게 나타났고, 줄기 추출물에서는 증류수 추출물(SWE, 61.84)이 가장 높은 b값을 나타내었다. 이러한 결과는 갯섬바귀, 툯 및 다시마 추출물 제조 시 추출 방법 및 추출 용매에 따라 식물에 함유되어 있는 다양한 천연 색소 및 생리활성물질 등의 용출 유무 및 용출량의 차이에 따라 각 추출물의 추출 수율 및 색도에 영향을 미친다는 보고와 일치하는 것으로 생각된다 (Lee et al., 2017, 2020b; Kim et al., 2021).

모래지치 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

모래지치 추출물 제조 시 추출 용매를 달리한 모래지치 추출물들의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 모래지치를 EtOH로 추출한 LEE와 SEE의 총 폴리페놀 함량은 각각 150.28 및 90.18 mg GAE/g이고, MeOH로 추출한 LME와 SME는 112.50 및 81.13 mg GAE/g이었으며, 증류수로 추출한 LWE 및 SWE는 105.14 및 89.63 mg GAE/g로 확인되었다. 즉, 모래지치 잎과 줄기 추출물의 폴리페놀 함량은 LEE>LME>LWE>SEE>SWE>SME 순으로 폴리페놀 함량이 높게 나타났다. 따라서 모래지치 잎에는 다량의 폴리페놀이 함유되어 있으며 폴리페놀 추출용매로서는 70% EtOH이 가장 적합한 것으로 확인되었다. Kim and Cha (2017)의 서해안 지역에서 자생하는 4종의 엽생식물의 80%

Table 2. Mineral contents of *Messerschmidia sibirica*

(mg/100 g)

Sample	Na	Mg	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	K
Leaf	213.17±3.36 ¹	278.72±2.05	787.16±142.95	4.55±0.08	15.02±0.65	1.39±0.06	3.58±0.10	2634.33±39.45
Stem	328.58±3.83	193.64±1.48	297.62±83.79	1.77±0.25	7.40±0.32	1.27±0.10	3.05±0.07	3204.02±28.00

¹Values are mean±SD (n=3).

MeOH 추출물에 관한 연구에 의하면 엽생식물의 종류와 부위에 따라 총 폴리페놀 함량이 11.22-110.20 mg/g인 것으로 알려져 있다. 그 중에서 해당화 잎과 줄기에는 각각 110.20 및 65.71 mg/g, 모래지치 잎과 줄기에는 63.52 및 22.63 mg/g으로 해당화 및 모래지치의 잎이 줄기보다 더 많은 폴리페놀을 함유하고 있는 것으로 보고하였다(Kim and Cha, 2017). 이러한 보고는 본 연구에서 측정된 모래지치의 잎과 줄기의 폴리페놀 함량과 다소 차이는 있으나 잎의 MeOH 추출물이 줄기의 추출물보다 높은 폴리페놀이 함유되어있는 경향은 유사한 것으로 생각된다. 이와 같이 엽생식물이 일반 육상식물보다 페놀성 화합물의 함량이 높은 경향을 나타내는 것은 엽생식물이 고염 환경에서 염스트레스에 적응하고 자신을 보호하려는 목적으로 페놀성 화합물과 같은 기능성이 우수한 2차 대사산물을 다량 함유하고 있기 때문인 것으로 추정되고 있다(Yang, 2011). 한편, 플라보노이드는 주로 anthocyanidins, flavonols, flavones, catechins 및 flavanones 등으로 구성되어 있고 그 구조에 따라 특정 플라보노이드는 항산화 및 다양한 생리활성을 갖고 있는 것으로 알려져 있다(Middleton and Kandaswami, 1994). 각종 용매에 따라 추출한 모래지치 잎과 줄기 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과, EtOH 추출물은 각각 50.14 및 14.24 mg QE/g 이고 MeOH 추출물은 각각 33.21 및 9.57 mg QE/g, 증류수 추출물은 각각 37.64 및 21.83 mg QE/g으로 확인되었다. 따라서 모래지치 잎은 70% EtOH 추출물에서 줄기는 증류수 추출물에서 다른 용매에 비하여 상대적으로 높은 플라보노이드 함량을 보여 모래지치 추출물 제조 시 추출용매에 따른 총 플라보노이드 함량은 추출 용매와 부위에 따라 유의적인 차이가 있는 것으로 확인되었다. 엽생식물 중 갯메꽃, 모래지치, 순비기나무 및 해당화의 잎과 줄기의 총 플라보노이드 함량은 14.7-38.1 mg/g 및 2.5-6.6 mg/g으로 엽생식물의 잎에서 높은 총 플라보노이드를 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Kim and Cha, 2017). 따

라서 모래지치의 총 플라보노이드 함량을 위 4종의 엽생식물과 비교해 보면 모래지치의 총 플라보노이드 함량이 다소 높은 것으로 나타났다.

모래지치 추출물의 항산화 활성

모래지치 잎 및 줄기 추출물의 추출 용매에 따른 항산화 활성을 비교하기 위하여 EtOH, MeOH 및 증류수를 용매로 사용하 모래지치 추출물의 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거활성, nitrite 소거활성, 환원력 및 FRAP를 측정된 결과를 Table 5에 나타내었다. 모래지치 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성(IC₅₀)을 측정된 결과, EtOH 추출물은 잎에서 0.20 mg/mL, 줄기에서 0.36 mg/mL, MeOH 추출물은 각각 0.27 및 0.33 mg/mL, 증류수 추출물은 각각 0.44 및 0.33 mg/mL로 나타나, ABTS 라디칼 소거활성은 잎의 경우 EtOH>MeOH>증류수 추출물 순으로 높은 것으로 확인되었으나, 줄기의 경우는 추출 용매에 따른 소거활성은 0.33-0.38 mg/mL으로 모든 추출물에서 유사한 것으로 나타났다. 특히 잎의 EtOH 추출물은 양성 대조군인 ascorbic acid (IC₅₀, 0.30 mg/mL)와 비교하여 IC₅₀값이 약 30% 낮은 ABTS 라디칼 소거활성을 내포하고 있는 것으로 확인되었다.

각 추출용매 별 모래지치 잎과 줄기 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성(IC₅₀)을 측정된 결과 EtOH 추출물은 각각 0.39 및 0.57 mg/mL이고, MeOH 추출물은 각각 0.39 및 0.58 mg/mL, 증류수 추출물은 각각 0.46 및 0.71 mg/mL으로 나타나, DPPH 라디칼 소거활성은 잎의 경우 EtOH>MeOH>증류수 추출물 순으로 높은 것으로 확인되었고, 줄기의 경우도 잎과 같은 경향이 나타났다. 이러한 결과는 양성 대조군인 ascorbic acid의 DPPH 라디칼 소거활성(IC₅₀, 0.13 mg/mL)에 비하여 모래지치 잎의 EtOH 추출물은 약 1/3의 활성을 내포하는 것으로 확인되었다. 한편, 태안에서 채취한 모래지치의 잎과 줄기의 MeOH 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성(IC₅₀)은 각각 91.9 및 86.0 µg/mL로

Table 3. Comparison of the extraction yields and color values of various solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*

Sample ¹	Yield (%)	Color value		
		Lightness (L)	Redness (a)	Yellowness (b)
LEE	19.02	50.50±0.05 ^{d,2,3}	22.05±0.02 ^b	77.63±0.13 ^b
LME	25.10	62.43±0.02 ^c	15.46±0.03 ^d	81.18±0.04 ^a
LWE	18.41	36.43±0.12 ^f	26.92±0.03 ^a	58.22±0.30 ^d
SEE	25.31	76.17±0.01 ^b	4.41±0.01 ^e	56.34±0.03 ^e
SME	27.63	88.48±0.00 ^a	-0.45±0.01 ^f	41.68±0.03 ^f
SWE	21.29	46.97±0.09 ^e	20.89±0.04 ^c	61.84±0.06 ^c

¹LEE, leaf ethanol extract; LME, leaf methanol extract; LWE, leaf water extract; SEE, steam ethanol extract; SME, steam methanol extract; SWE, steam water extract. ²Value are mean±SD (n=3). ³Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 4. Total polyphenolic and flavonoid contents of various solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*

Sample ¹	Total polyphenolic content (mg GAE/g) ²	Total flavonoid content (mg QE/g) ³
LEE	150.28±3.19 ^{a,4,5}	50.14±2.66 ^a
LME	112.50±2.14 ^b	33.21±0.07 ^c
LWE	105.14±1.80 ^c	37.64±0.86 ^b
SEE	90.18±3.93 ^d	14.24±2.49 ^e
SME	81.13±3.19 ^e	9.57±1.28 ^f
SWE	89.63±5.23 ^d	21.83±1.01 ^d

¹LEE, leaf ethanol extract; LME, leaf methanol extract; LWE, leaf water extract; SEE, steam ethanol extract; SME, steam methanol extract; SWE, steam water extract. ²GAE, gallic acid equivalent mg/g. ³QE, quercetin equivalent mg/g. ⁴Values are mean±SD (n=3). ⁵Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

본 연구에서 제조한 모래지치의 MeOH 추출물의 소거활성보다 약 4배 높은 것으로 나타났다(Kim and Cha, 2017). 다양한 염생식물 중에서 수송나물, 통통마디, 사데풀, 갯메꽃, 해당화, 갯쇠보리 등은 최종농도 0.1 mg/mL에서 60% 이상의 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내는 것으로 알려져 있어 염생식물의 종류, 채집시기 및 장소를 비롯하여 추출용매 및 추출방법에 따라 항산화 활성의 차이가 나는 것으로 생각된다(Yang, 2011; Jiratchayamaethasakul et al., 2020).

모래지치 잎과 줄기 추출물의 nitrite 소거활성(IC₅₀)을 측정하고 EtOH 추출물은 잎에서 0.92 mg/mL, 줄기에서 2.04 mg/mL, MeOH 추출물은 각각 1.18 및 2.53 mg/mL, 증류수 추출물은 각각 0.93 및 1.89 mg/mL로 나타났다. 따라서 모래지치 잎은 줄기에 비하여 약 2배 이상의 높은 nitrite 소거활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 한편, 각 추출용매(EtOH, MeOH, 증류수)에 따른 모래지치 잎과 줄기 추출물의 환원력(EC₅₀)을 분석한 결과 잎의 EtOH 및 MeOH 추출물의 환원력은 각각 0.04 및 0.05 mg/mL이었으나 그 이외의 추출물(LWE, SEE, SME, SWE)의 환원력은 0.08 mg/mL로 모두 동일한 것으로 나타났다. 따라서 모래지치의 부위 및 추출용매에 따른 환원력의 차이는 크지 않은 것으로 생각된다. 그리고 모래지치 잎과 줄기 추출물의 FRAP 분석에서는 잎과 줄기의 EtOH 추출물은 각각 3.99 및 2.59 mM, MeOH 추출물은 각각 3.26 및 2.47 mM, 증류수 추출물은 각각 3.54 및 2.22 mM로 확인되어, 모래지치의 FRAP values는 LEE>LWE>LME>SEE>SME>SWE 순으로 FRAP value가 높았다. 더구나 모래지치 잎과 줄기의 추출물들은 양성 대조군인 FeSO₄ (FRAP value, 1.00 mM) 보다 잎은 3-4배, 줄기는 약 2.5배 높은 것으로 확인되었다. 이상의 모래지치 잎과 줄기 추출물의 항산화활성 결과를 종합해보면 잎의 EtOH 추출물에서 가장 높은 항산화활성이 나타났으나, 추출용매에 따른 항산화 활성의 차이는 크지 않은 것으로 확인되었다.

모래지치 추출물의 tyrosinase 및 elastase 저해 활성

모래지치 잎과 줄기 추출물의 tyrosinase 및 elastase 저해 활성에 대한 비교·분석 결과는 Table 6과 같다. 각 부위 및 추출용매 별 모래지치 추출물의 tyrosinase 저해활성을 다양한 농도에서 측정한 결과, EtOH 추출물의 tyrosinase 저해활성(IC₅₀)은 잎에서 0.85 mg/mL이고, 줄기에서 0.51 mg/mL, MeOH 추출물은 각각 0.76 및 0.49 mg/mL, 증류수 추출액은 각각 0.37 및 1.46 mg/mL로 확인되어, tyrosinase 저해활성은 LWE>SME>SEE>LME>LEE>SWE 순으로 높은 것으로 확인되었다. 따라서 모래지치의 부위 및 추출용매에 따라 tyrosinase 저해활성은 2배 이상 차이가 나는 것으로 확인되었다. Tyrosinase는 피부의 표피 기저층에 존재하는 멜라노사이트에서 tyrosine을 산화시켜 멜라닌의 생성을 촉진시키는 효소로서 이들의 활성 억제제는 피부 미백과 노화방지에 매우 중요한 것으로 알려져 있다(Choi et al., 2011). 따라서 피부의 멜라닌 색소 침착 제어 및 억제와 밀접한 관련이 있는 tyrosinase 저해제는 의학 및 화장품 분야에서 관심이 증가하는 추세이다. 최근 다양한 염생식물에 관한 연구에 따르면 모래지치, 갯넝쿨, 해홍나물, 나문재, 가는갯능쟁이 및 갯기름나무의 추출물 1 mg/mL에서 약 50-60% tyrosinase 저해활성이 있는 것으로 보고되어 있고(Jiratchayamaethasakul et al., 2020), 갯씀바귀의 EtOH 추출물에서는 0.4 mg/mL에서 50% 저해활성을 나타낸다고 보고되어 있다(Kim et al., 2021). 본 연구 결과와 위의 염생식물의 tyrosinase 저해활성을 비교해보면 모래지치 잎의 증류수 추출물(LWE)은 최종농도 0.37 mg/mL에서 50%의 tyrosinase 활성을 저해하므로 염생식물 중에서 tyrosinase 저해활성이 높은 부류에 속하는 것으로 확인되었다.

모래지치 추출물의 elastase 저해활성을 측정한 결과, EtOH 추출물의 IC₅₀는 잎에서 0.45 mg/mL, 줄기에서 0.86 mg/mL이고, MeOH 추출물은 각각 0.08 및 0.98 mg/mL, 증

Table 5. Antioxidant activities of various solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*

Sample ¹	ABTS (IC ₅₀ , mg/mL) ²	DPPH (IC ₅₀ , mg/mL)	NO (IC ₅₀ , mg/mL)	Reducing power (EC ₅₀ , mg/mL) ³	FRAP value (mM)
LEE	0.20±0.00 ^{e,4,5}	0.39±0.01 ^d	0.92±0.05 ^d	0.04±0.00 ^d	3.99±0.03 ^a
LME	0.27±0.00 ^d	0.39±0.02 ^d	1.18±0.10 ^c	0.05±0.00 ^c	3.26±0.03 ^c
LWE	0.44±0.02 ^a	0.46±0.01 ^c	0.93±0.03 ^d	0.08±0.00 ^a	3.54±0.01 ^b
SEE	0.36±0.01 ^b	0.57±0.01 ^b	2.04±0.21 ^b	0.08±0.00 ^b	2.59±0.03 ^d
SME	0.38±0.00 ^b	0.58±0.01 ^b	2.53±0.13 ^a	0.08±0.00 ^b	2.47±0.10 ^d
SWE	0.33±0.01 ^c	0.71±0.04 ^a	1.89±0.15 ^b	0.08±0.00 ^a	2.22±0.19 ^e
Ascorbic acid	0.30±0.01	0.13±0.01	0.69±0.01	0.02±0.00	1.00±0.01 ⁶

¹LEE, leaf ethanol extract; LME, leaf methanol extract; LWE, leaf water extract; SEE, steam ethanol extract; SME, steam methanol extract; SWE, steam water extract. ²The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. ³EC₅₀ value for reducing power is expressed as the effective concentration at which the absorbance is 0.5. ⁴Values are mean±SD (n=3). ⁵Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. ⁶The positive control for FRAP was used FeSO₄. ABTS, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; NO, nitric oxide; FRAP, ferric reducing antioxidant power.

류수 추출물은 각각 0.49 및 0.50 mg/mL로 확인되어 LME>LEE>LWE>SWE>SEE>SME 순으로 elastase 저해활성이 높은 것으로 나타났다. 따라서 모래지치 잎의 MeOH 추출물(LME)이 다른 추출물보다 6-10배 이상의 저해활성이 높은 것으로 확인되었다. Elastase는 피부의 진피 내 피부 탄력을 유지하는 기질 단백질인 elastin의 분해에 관여하며, 체내의 elastin을 분해하는 백혈구 과립 효소 중의 하나로 이상 조직에서는 활성이 높아져 조직 파괴의 직접적인 원인이 되며, 피부의 주름 및 탄력성 소실 등을 유발시키는 단백질 가수분해효소이다(Lee, 2015). 따라서 elastase 저해 활성 물질은 피부의 주름을 개선하는 효과가 있어 기능성 화장품 원료로 주목받고 있다. 염생식물 22종의 항산화 및 생리활성에 관한 연구에서 통통마디, 지체, 모래지치, 갯끈풀, 해당화 및 취명아주 6종의 추출물 1 mg/mL 농도에서 53-78%의 elastase 저해활성을 보고하였고(Jiratchayamaethasakul et al., 2020), Kim et al. (2021)은 갯씀바귀 추출물 0.16 mg/mL에서 elastase 활성을 50% 저해한다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 수행한 모래지치 추출물의 elastase 저해활성과 다양한 염생식물의 elastase 저해활성을 비교해 보면 모래지치 잎의 MeOH 추출물(LME)의 elastase 저해활성(IC₅₀, 0.08 mg/mL)은 염생식물 중 매우 높은 부류에 속하는 것으로 판단된다.

모래지치 추출물의 α-glucosidase 저해 활성

모래지치 잎과 줄기의 당뇨병에 대한 상관 관계를 확인하기 위하여 EtOH, MeOH 및 증류수로 추출한 모래지치 추출물의

Table 6. Physiological activities of various solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*

Sample ¹	Tyrosinase (IC ₅₀ , mg/mL) ²	Elastase (IC ₅₀ , mg/mL)	α-Glucosidase (IC ₅₀ , mg/mL)
LEE	0.85±0.01 ^{b,3,4}	0.45±0.05 ^b	1.22±0.06 ^{ab}
LME	0.76±0.05 ^c	0.08±0.00 ^c	1.27±0.07 ^a
LWE	0.37±0.07 ^e	0.49±0.10 ^b	1.05±0.05 ^c
SEE	0.51±0.01 ^d	0.86±0.10 ^a	1.13±0.03 ^{bc}
SME	0.49±0.07 ^d	0.98±0.20 ^a	1.11±0.08 ^c
SWE	1.46±0.04 ^a	0.50±0.04 ^b	1.10±0.05 ^c
Positive Control ⁵	0.02±0.00	0.01±0.00	0.73±0.04

¹LEE, leaf ethanol extract; LME, leaf methanol extract; LWE, leaf water extract; SEE, steam ethanol extract; SME, steam methanol extract; SWE, steam water extract. ²The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. ³Values are mean±SD (n=3). ⁴Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. ⁵Positive controls for tyrosinase, elastase and α-glucosidase were used kojic acid, quercetin and acarbose, respectively.

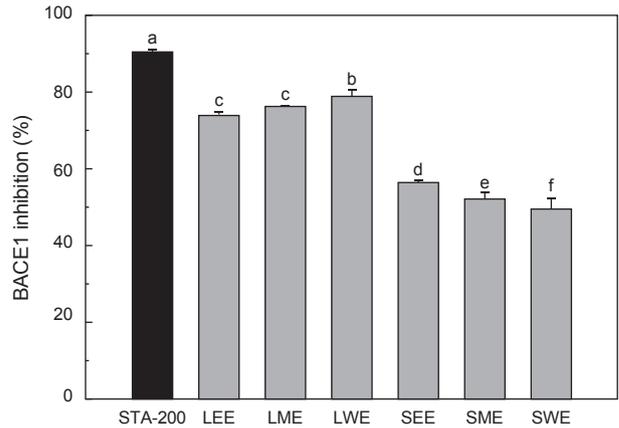


Fig 1. BACE1 inhibitory activities of various solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*. LEE, leaf ethanol extract; LME, leaf methanol extract; LWE, leaf water extract; SEE, steam ethanol extract; SME, steam methanol extract; SWE, steam water extract. STA-200(H-Lys-Thr-Glu-Glu-Ile-Ser-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-Phe-OH; final concentration at 100 μM) was used as a positive control. The results were determined at a final concentration of 0.5 mg/ml of these extracts. Values are mean±SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test.

α-glucosidase 저해 활성을 측정하여 비교·분석한 결과를 Table 6에 나타내었다. 모래지치 잎과 줄기 추출물들의 α-glucosidase 저해활성(IC₅₀)은 1.05-1.27 mg/mL로 모래지치 부위 및 추출 용매에 따른 저해활성의 차이는 약 10% 전후로 모래지치 추출물들의 α-glucosidase 저해활성은 유사한 것으로 확인되었다. 당뇨병은 고혈당 상태가 지속되는 질환으로 이환율이 높고 고혈당 상태의 지속에 따른 다양한 합병증으로 인한 사망률이 높은 만성 퇴행성 대사 질환으로(Ali et al., 2017), α-glucosidase의 활성을 저해하는 것은 포도당 분해를 저해하는 것으로 당뇨병 억제제를 위한 핵심적인 방법 중 하나이다(Kim et al., 2014). 염생식물 중 해당화, 갯질경, 갯썩 및 갯능쟁이 MeOH 추출물(1 mg)은 80-100%의 높은 α-glucosidase 저해활성을 갖고 있는 것으로 알려져 있으나 비썩, 갯갓사초, 사철썩 및 순비기나무는 모래지치 추출물의 α-glucosidase 저해활성과 유사한 것으로 나타났다(Yang, 2011).

모래지치 추출물의 BACE1 저해 활성

다양한 모래지치 추출물에 대한 BACE1 (β-secretase) 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 알츠하이머병의 원인 중 하나인 이상 단백질 축적설은 β-amyloid (Aβ)라는 펩타이드가 과도하게 만들어져 뇌세포에 축적되어 발생하는 신경퇴행성 뇌질환으로 Aβ는 amyloid precursor protein가 β-secretase와 γ-secretase라는 효소에 의해 절단되어 생성되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2002; Lee, 2017). 본 연구에서는 모래지

치 추출물의 A β 생성 억제능을 확인하기 위하여 다양한 추출물의 BACE1 저해활성을 측정하여 알츠하이머병의 예방 효과를 검토하였다. 모래지치 잎과 줄기 추출물(최종 농도, 0.5 mg/mL) 6종의 BACE1 저해활성을 측정한 결과, EtOH를 용매로 사용한 잎 추출물에서 74.04%, 줄기 추출물에서 56.52%이고, MeOH를 용매로 사용한 추출물은 각각 76.43% 및 52.35%, 증류수 추출물은 79.02% 및 49.67%로 확인되어, BACE1 저해활성은 LWE>LME>LEE>SEE>SME>SWE 순으로 높은 활성을 보였다. 모래지치 잎 추출물(LWE, LME, LWE)은 줄기 추출물(SEE, SME, SWE)에 비하여 상대적으로 높은 저해활성을 보였으며, 특히 모래지치 잎의 증류수 추출물(LWE)은 BACE1 저해활성이 가장 높을 뿐만 아니라 인지기능개선에 효과가 있다고 알려진 acetylcholinesterase 저해활성(35%, 최종 농도 0.9 mg/mL)도 내포하는 것으로 확인되었다(결과 생략). 치매 예방 및 치료제 개발을 위한 BACE1의 저해물질은 다양한 천연소재 및 기존의 화합물 등을 활용한 물질 탐색을 비롯한 생리의학적 연구가 다양하게 진행되고 있다. 그 예로서 홍삼(Kim et al., 2008) 및 상황버섯(Jo et al., 2012)을 비롯한 다양한 기능성식품에서도 BACE1의 활성을 저해한다고 보고되어 있고, 감태, 검둥 감태 및 툫 등의 해조류 추출물(최종 농도, 0.25 mg/mL)에서도 약 80%의 높은 BACE1 저해활성이 검출된 것으로 알려져 있다(Son et al., 2016; Wagle et al., 2018; Lee et al., 2020b). 더구나 톱니모자반에서 분리한 meroterpenoids는 BACE1 효소활성 억제를 통해 A β 의 생성을 억제한다고 보고하였다(Choi et al., 2017). 본 연구에서 확인된 모래지치 잎 추출물의 BACE1 저해활성은 74-79% (최종 농도 0.5 mg/mL)로 BACE1 저해물질이 함유되어 있는 것으로 확인되어 치매 예방을 위한 건강 기능성식품소재 및 의약품 소재로의 활용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

본 연구에서 해안사구에 서식하는 염생식물인 모래지치의 이화학적 특성을 분석하고 다양한 추출물을 제조하여 항산화활성 및 생리활성을 살펴보았다. 모래지치의 잎과 줄기의 무기질을 분석 결과 칼륨, 칼슘, 나트륨 및 마그네슘 함량이 높고, 각 추출물의 총 폴리페놀은 함량은 81-150 mg GAE/g, 총 플라보노이드 함량은 10-50 mg QE/g으로 항산화물질이 다량 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 모래지치 추출물의 여러 가지 항산화활성을 측정한 결과 모래지치 잎의 EtOH 추출물에서 가장 높은 항산화 활성이 검출되었다. 한편, 모래지치의 다양한 생리활성을 측정할 결과, 잎의 증류수 추출물에서 tyrosinase 저해 활성이 가장 높았으나, elastase 저해활성은 잎의 MeOH 추출물에서 가장 높은 것으로 확인되었다. α -Glucosidase 저해활성은 모래지치의 부위나 추출 용매에 따른 저해활성 차이는 없는 것으로 나타났으나, 잎의 증류수 추출물(최종 농도 0.5 mg/mL)은 BACE1의 효소활성을 약 75% 저해하는 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과에서 모래지치는 우수한 항산화 활성을 내포하고 있을 뿐만 아니라 tyrosinase, elastase α -glucosidase 및

BACE1 저해활성을 포함한 다양한 생리기능성 물질이 존재할 가능성이 높은 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 해양수산기술지역특성화사업(20170353)과 한국연구재단(2021R111A3043692)의 지원을 받아 수행된 연구사업입니다.

References

- Ali MY, Kim DH, Seong SH, Kim HR, Jung HA and Choi JS. 2017. α -Glucosidase and protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of plastoquinones from marine brown alga *Sargassum serratifolium*. Mar Drugs 15, 368. <https://doi.org/10.3390/md15120368>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official methods of analysis. In: Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Arlington, VA, U.S.A., 777-788.
- Benzie IFF and Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 239, 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Byun HG and Kim SK. 2005. Development of physiological activity and health functional materials of seaweed. Susanyeon-gu 22, 1-10.
- Choi CH. 2004. Flora and vegetation structure of the coastal dune area in Sinduri, Korea. M.S. Thesis, Chonbuk National University, Jeonju, Korea.
- Choi JH, Kim JS, Jo BS, Kim J, Park HJ, An BJ, Kim M, Cho YJ. 2011. Biological activity in functional cosmetic purple sweet potato extracts. Kor J Food Preserv 18, 414-422. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2011.18.3.414>.
- Choi MW, Jung CG, Kim HR and Kim JI. 2017. Effect of *Sargassum serratifolium* extracts on β -amyloid production. Korean J Fish Aquat Sci 50, 085-091. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0085>.
- Iida K, Hase K, Shimomura K, Sudo S, Kadota S and Namba T. 1995. Potent inhibitors of tyrosinase activity and melanin biosynthesis from *Rheum officinale*. Planta Med 61, 425-428. <https://doi.org/10.1055/s-2006-958129>.
- Jo HS, Choi DJ, Chung MJ, Park JK and Park YI. 2012. Characterization and β -secretase inhibitory activity of water-soluble polysaccharides isolated from *Phellinus linteus* fruiting body. Kor J Mycol 40, 229-234. <https://doi.org/10.4489/KJM.2012.40.4.229>.
- Jiratchayamaethasakul C, Ding Y, Hwang O, Im ST, Jang Y, Myung SW, Lee JM, Kim HS, Ko SC and Lee SH. 2020. *In vitro* screening of elastase, collagenase, hyaluronidase, and tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of 22 halophyte plant extracts for novel cosmeceuticals. Fish Aquat Sci 23, 6. <https://doi.org/10.1186/s41240-020-00149-8>.

- Kim DW, Kim YJ, Lee YJ, Min JW, Kim SY and Yang DC. 2008. Conversion of ginsenosides by 9 repetitive steamings and dryings process of Korean ginseng root and its inhibition of BACE-1 activity. *Kor J Ori Physiol Pathol* 22, 1557-1561.
- Kim HJ. 2016. Quality characteristics and antioxidant activity of tofu with gromwell concentrate. M.S. Thesis, Sejong University, Seoul, Korea.
- Kim JS, Lee YJ, Kim JY, Choi JW, You SJ and Kim YT. 2021. Comparison of antioxidant and physiological activities of various solvent extracts from *Ixeris repens*. *Korean J Fish Aqua Sci* 54, 742-750. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0742>.
- Kim PH, Kim MJ, Kim JH, Lee JS, Kim KH, Kim HJ, Jeon YJ, Heu MS and Kim JS. 2014. Nutritional and physiologically active characterizations of the sea squirt *Halocynthia roretzi* sikhae and the seasoned sea squirt. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 1-11. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0001>.
- Kim SS and Cha HC. 2017. Comparison of the total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activities of four kinds of sand dune plants living in Taean, Korea. *Korean J Plant Res* 30, 8-16. <https://doi.org/10.7732/kjpr.2016.30.1.0080>.
- Kim RG. 2013. Halophytes of Korea. Nature and Ecology Press, Seoul, Korea, 204-205.
- Kim YT, Downs D, Wu S, Dashti A, Pan Y, Zhai P, Wang X, Zhang XC and Lin X. 2002. Enzymic properties of recombinant BACE2. *Eur J Biochem* 269, 5668-5677. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2002.03277.x>.
- Ko JM. 2008. Identification of flavonoids and plant regeneration of coastal sand dune plants via *in vitro* culture. Ph.D. Dissertation, Dankook University, Yongin, Korea.
- Kraunsoe JA, Claridge TD and Lowe G. 1996. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochem* 35, 9090-9096. <https://doi.org/10.1021/bi953013b>.
- Lee SH. 2011. Current status and prospect of nutraceuticals from marine algae. *Bull Food Technol* 24, 165-175.
- Lee SY. 2015. Analysis of skin mechanism and an application for functional cosmetic from red bean *Phaseolus angularis* shell extract. Ph.D. Dissertation, Hoseo University, Asan, Korea.
- Lee YJ, Kim WS, Jeon YJ and Kim YT. 2020a. Physicochemical properties and antioxidant activities of the yanggaeng containing *Hizikia fusiformis* powder. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 588-596. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0588>.
- Lee YJ, Kim WS, Jeon YJ and Kim YT. 2021. Comparison of antioxidant and physiological activities of processed waters generated during red bean paste preparation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 50, 1168-1176. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2021.50.11.1168>.
- Lee YJ, Jeon YJ and Kim YT. 2020b. Comparison of antioxidant and physiological activities of various solvent extracts from *Hizikia fusiformis*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 886-893. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0886>.
- Lee YJ, Kim WS, Lee BJ, Jeon YJ and Kim YT. 2017. Quality characteristics and antioxidant activities of gruel containing *Saccharina japonica* powder. *Korean J Fish Aquat Sci* 50, 707-713. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0707>.
- Lee YJ. 2017. Expression, purification and characterization of BACE1 (α -secretase) in *E. coli*. M.S. Thesis, Kunsan National University, Gunsan, Korea.
- Middleton E and Kandaswami C. 1994. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol* 48, 115-119.
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR and Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71, 109-114. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0).
- Oyaizu N, Yasumizu R, Miyama-Inaba M, Nomura S, Yoshida H, Miyawaki S, Shibata Y, Mitsuoka S, Yasunaga K and Morii S. 1988. (NZW x BXSB) F1 mouse. A new animal model of idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Exp Med* 167, 2017-2022. <https://doi.org/10.1084/jem.167.6.2017>.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Bio Med* 26, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
- Shetty K, Curtis OF, Levin RE, Witkowsky R and Ang V. 1995. Prevention of vitrification associated with *in vitro* shoot culture of oregano. (*Origanum vulgare*) by *Pseudomonas* spp. *J Plant Physiol* 147, 447-451. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)82181-4](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)82181-4).
- Shim HB, Seo SM and Choi BH. 2002. Floristic survey of salt marshes and dunes on Gyeonggi bay in Korea. *Korean J Environ Biol* 20, 25-34.
- Son HJ, Um MY, Kim I, Cho S, Han D and Lee C. 2016. *In vitro* screening for anti-dementia activities of seaweed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45, 966-972. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.7.966>.
- Wagle A, Seong SH, Zhao BT, Woo MH, Jung HA and Choi JS. 2018. Comparative study of selective *in vitro* and *in silico* BACE1 inhibitory potential of glycyrrhizin together with its metabolites, 18 α - and 18 β -glycyrrhetic acid, isolated from *Hizikia fusiformis*. *Arch Pharm Res* 41, 409-418. <https://doi.org/10.1007/s12272-018-1018-2>.
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H and Niki R. 1997. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from Tochu-cha *Eucommia ulmoides*. *Biosci Biotechnol Biochem* 61, 177-178. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.177>.
- Yang X. 2011. Biological activities of various halophytes and structure elucidation of antioxidative compounds in *Suaeda japonica*. M.S. Thesis, Mokpo University, Mokpo, Korea.