

## 넙패(*Ishige foliacea*) 추출물의 생리활성 탐색

김지윤 · 박다빈 · 김민겸 · 박선주<sup>1\*</sup> · 김용태\*

국립군산대학교 식품생명공학과, <sup>1</sup>부경대학교 화학과

### *In Vitro* Screening of the Physiological Activities of *Ishige foliacea* Extracts

Ji-Youn Kim, Da-Bin Park, Min-Gyeom Kim, Sun Joo Park<sup>1\*</sup> and Yong-Tae Kim\*

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

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

*Ishige foliacea* belongs to class Phaeophyceae and family Ishigeaceae. This study investigated the physiological activities of the Korean marine algae *I. foliacea*. Its solvent extracts were prepared with 70% ethanol, 80% methanol, and distilled water. The ethanol and methanol extracts had higher  $\alpha$ -glucosidase (half-maximal inhibitory concentration,  $IC_{50}$ : 0.67–0.73 mg/mL), xanthine oxidase ( $IC_{50}$ : 0.25–0.28 mg/mL), and angiotensin-converting enzyme ( $IC_{50}$ : 25.29–38.28  $\mu$ g/mL) inhibitory activities than those of the water extract. The ethanol and methanol extracts possessed high acetylcholinesterase inhibitory activity ( $IC_{50}$ : 0.78–0.97 mg/mL). Conversely, the water extract exhibited the highest  $\beta$ -secretase inhibitory activity ( $IC_{50}$ : 0.48 mg/mL). These results indicate that *I. foliacea* may be useful as a functional substance in food and pharmaceuticals with anti-diabetic, anti-gout, anti-hypertension, and anti-dementia properties.

Keywords: Anti-dementia, Anti-hypertension, Brown algae, *Ishige foliacea*, Physiological activity

## 서론

우리나라의 천연물 유래 항산화 및 생리활성 물질에 관한 연구의 대부분은 주로 육상생물로부터 많이 이루어져 왔는데, 그 연구대상의 한계와 환경 오염 등으로 인하여 최근에는 다양한 생리활성 물질을 가지고 있는 해양생물이 육상생물의 대체 자원으로 주목받고 있다(Byun and Kim, 2005; Lee, 2011). 해양생물은 지구상에 존재하는 생물 중 약 80%를 상회하는 것으로 알려져 있지만 채집에 따른 비용과 노력 등의 문제로 인해 연구가 많이 이루어지지 못한 실정이다. 해양생물 중 특히 해조류의 경우 폴리페놀, 가용성 식이섬유, 다중 불포화 지방산, 필수 아미노산 및 미네랄 등 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있으며(Kim, 2004; Cho et al., 2020), 영양학적으로 해조류의 열량은 매우 낮으면서 육상생물에는 존재하지 않는 비소화성의 점질성 다당류를 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있다(Yu and Lee, 2022). 해조류 중 갈조류는 항암, 항균 및 고지혈증 개선 등의 주요 생리활성이 알려져 있고, 특히 갈조류에 다량 함유되어

있는 fucoidan은 항암, 항혈액응고효과 및 비만억제효과 등의 다양한 생리활성이 보고되어 있다(Kim et al., 2017). 넙패는 갈조류로서, 한국을 비롯한 일본, 중국 및 대만에 주로 분포하고 파도가 조용한 곳의 조간대에서 서식하는 해조류로 식용으로도 이용되고 있다. 넙패의 엽상체는 평평한 차상으로 분기하며, 패에 부착하거나 암반에 착생하여 자라며 흑갈색을 띠고, 체장은 20 cm까지 자라며, 폭은 3–20 cm이다(Cho et al., 2012). 넙패에 관한 연구로는 항산화, 항균, 항염증, 살조력, 항혈액응고효과 및 항피부 노화 관련 연구가 보고되어 있다(Lee et al., 2013, 2016, 2017; Kim et al., 2015b, 2023). 넙패에서 분리한 glycerolipids는 살조활성이 연구되어 있고(Cho et al., 2012), octaphloretol A는 미백효과 및  $\alpha$ -glucosidase를 저해하는 항당뇨 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2015b; Lee et al., 2017). 본 연구에서는 추출용매에 따른 넙패의 다양한 생리활성을 탐색하기 위하여 증류수, 에탄올 및 메탄올을 용매로 사용하여 넙패 추출물을 제조하여 항당뇨, 항통풍, 항고혈압 및 항치매 활성 등을 측정하여 천연 기능성식품 및 의약품 소재화

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

E-mail address: parksj@pknu.ac.kr; 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.2024.0209>

Korean J Fish Aquat Sci 57(3), 209-215, June 2024

Received 22 February 2024; Revised 3 April 2024; Accepted 5 June 2024

저자 직위: 김지윤(대학원생), 박다빈(대학원생), 김민겸(대학원생), 박선주(교수), 김용태(교수)

를 위한 기초자료로 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 넓패(*I. foliacea*)는 (주)파라제주(Jeju, Korea)가 제주도에서 2021년 5월에 채취한 것을 구입하여 실험실로 운반한 후 협잡물을 제거한 다음 분쇄기(FM700SS; Hanil Co. Ltd., Seoul, Korea)로 분쇄하여 시료의 추출물 제조에 사용하였다. 넓패 추출물의 다양한 생리활성을 측정하기 위하여 acarbose, allopurinol, catopril, tacrine,  $\alpha$ -glucosidase (yeast), xanthine oxidase, acetylcholinesterase (AChE) 및  $\beta$ -secretase (BACE1) assay kit 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 항고혈압 활성을 측정하기 위한 ACE (angiotensin converting enzyme) inhibition potential evaluation kit는 Dojindo Laboratories Co. (Kumamoto, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

### 넓패 추출물의 제조

넓패 추출물은 Kim et al. (2023)의 방법에 따라 3가지 용매(증류수, 70% ethanol, 80% methanol)를 사용하여 넓패 추출물을 각각 제조하였다. 용매는 Sung and Yang (1985)를 참고하여 농도를 선택하였다. 증류수를 용매로 사용한 추출은 넓패 100 g에 증류수를 시료 대비 20배의 양을 첨가하여 고압증기멸균기 (autoclave; ac-11; Jeiotech, Daejeon, Korea) 121°C에서 3시간 동안 가열 추출한 뒤 50°C에서 24시간 동안 일반중력대류배양기(shaking incubator; KMC-8480SR-L; Vision Scientific Co., Daejeon, Korea) 120 rpm에서 추출하였다.

유기 용매를 사용한 추출은 70% ethanol과 80% methanol을 추출 용매로 사용하여 시료 100 g에 각 추출용매를 시료 대비 20배의 양으로 첨가하여 50°C에서 24시간 동안 일반중력대류배양기 120 rpm에서 추출하였다. 각 용매별로 추출한 넓패 추출물을 원심분리기(Centrifuge; SUPRA 30K; Hanil, Incheon, Korea)에서 원심분리(1,800 g, 30분)하여 상등액을 여과지(No. 1; Whatman, Maidstone, UK)로 여과한 후 감압농축(Rotavapor; RE-111; Buchi, Gwangmyeong, Korea)한 뒤 동결건조(LP08 (XXX), Freeze Dryer; Ilshinbiobase, Yanguju, Korea)하여 각종 실험에 사용하였다. 동결건조한 시료는 -20°C에 보관하며 사용하였다. 모든 추출물은 증류수(증류수 추출물) 혹은 DMSO (EtOH 및 MeOH 추출물)로 용해하여 실험에 사용하였다.

### $\alpha$ -Glucosidase 저해활성 측정

각 시료의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 Watanabe et al. (1997)의 chromogenic assay법에 따라  $p$ -nitrophenol glucoside를

이용하여 측정하였다. Yeast  $\alpha$ -glucosidase를 반응용액(100 mM phosphate buffer, pH 7.0, 0.2% bovine serum albumin 및 0.02%  $\text{NaN}_3$ )에 녹여 0.7 U/mL로 제조하여 효소용액으로 사용하였고, 기질용액은  $p$ -nitrophenyl- $\alpha$ -glucopyranoside (5 mM)을 동일한 반응용액에 녹여서 제조하였다. 반응은 효소용액 100  $\mu\text{L}$ 와 시료용액 20  $\mu\text{L}$ 를 well에 넣고 혼합하여 405 nm에서 흡광도(time zero)를 측정하였다. 실온에서 5분간 incubation한 다음, 기질용액 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 실온에서 5분간 incubation한 후 흡광도를 측정하여 증가된 흡광도 변화를 계산하였다. 이때 실험의 대조군으로는  $\alpha$ -glucosidase 저해제로 알려진 acarbose를 사용하였다. 효소활성의 저해정도는 다음 식,  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activity (%) =  $[1 - (\text{Sample}_{405} / \text{Control}_{405})] \times 100$ 에 따라 산출하였으며, control은 시료 무첨가구의 흡광도 변화 값을 나타내었다.

### Xanthine oxidase 저해활성 측정

각 시료의 xanthine oxidase 저해활성은 Kwon and Youn (2017)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 시료용액 50  $\mu\text{L}$ 에 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 300  $\mu\text{L}$ 와 xanthine oxidase (0.2 U/mL) 50  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 실온에서 5분간 정치한 다음, 2 mM xanthine 용액 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 1 N HCl 500  $\mu\text{L}$ 를 넣어 반응을 정지시킨 다음 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성(%)은 다음 식, Xanthine oxidase inhibitory activity (%) =  $[1 - (\text{Sample}_{292} - \text{Sample Blank}_{292}) / \text{Control}_{292}] \times 100$ 을 통하여 계산하였다. 여기서 대조구(Control<sub>292</sub>)는 시료 대신 증류수를 가하여 측정한 흡광도를 의미하였다.

### Angiotensin-I 전환효소 (ACE) 저해활성 측정

Angiotensin-converting enzyme (ACE) 저해효과를 측정하기 위해 ACE inhibition potential evaluation kit의 방법에 따라 측정하였다. Enzyme working solution은 enzyme B에 증류수 2 mL를 주입하여 녹인 후, enzyme A에 enzyme B를 1.5 mL를 주입하여 제조하였다. Indicator working solution은 enzyme C와 coenzyme bottle에 각각 증류수 3 mL를 주입하여 녹인 후 indicator solution에 각각 2.8 mL씩 넣어 혼합하여 만들었다. 96 well plate에 protocol을 따라 blank 1 및 2에는 증류수를 20  $\mu\text{L}$ 와 시료를 각 농도별로 20  $\mu\text{L}$ 씩 처리하였다. 모든 well에 20  $\mu\text{L}$ 의 substrate buffer를 처리한 이후 blank 2를 제외한 well에는 enzyme working solution을 20  $\mu\text{L}$ 씩 처리하였고 blank 2에는 증류수 20  $\mu\text{L}$ 를 처리하였다. 37°C shaking incubator에서 60분간 반응시킨 다음 모든 well에 200  $\mu\text{L}$ 의 indicator working solution을 처리하여 상온에서 10분간 반응시켜 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. ACE 저해활성은 다음 식, ACE inhibitory activity (%) =  $[(A_{\text{blank1}} - A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}) / (A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank2}})] \times 100$ 과 같이 산출하였다.

### AChE 저해활성 측정

각 시료의 AChE (acetylcholinesterase) 저해활성은 Ellman et al. (1961)의 방법을 다소 수정하여 아래와 같이 측정하였다. 96 well plate에 100 mM phosphate buffer (pH 8.0) 50  $\mu$ L, 시료 용액 25  $\mu$ L, AChE (0.25 U/mL) 25  $\mu$ L를 첨가하여 잘 혼합한 뒤 실온에서 10분간 정지한 다음, 10 mM DTNB 125  $\mu$ L와 75 mM acetylthiocholine iodide 25  $\mu$ L를 첨가하여 파장 412 nm에서 10분간 흡광도를 측정하여 증가된 흡광도 변화를 계산하였다. AChE 효소활성의 저해정도는 다음 식, Acetylcholinesterase inhibitory activity (%)=[100-(ST/CT)] $\times$ 100과 같이 산출하였다(ST, 시료 존재 하에서의 반응속도; CT, 시료 무첨가구의 초기반응속도).

### BACE1 저해활성 측정

각 시료의 BACE1 ( $\beta$ -secretase) 효소활성은 fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based  $\beta$ -secretase (BACE1) assay kit (Sigma-Aldrich)을 사용하여 측정하였다. 일반적인 저해활성은 black 96-microwell plate에 fluorescent assay buffer (78-X  $\mu$ L, 50 mM sodium acetate, pH 4.5), BACE1 substrate (20  $\mu$ L, 50  $\mu$ M MOCAC-SEVNLDAEFRK(Dnp)RR), 시료용액(X  $\mu$ L) 및 BACE1 효소(2  $\mu$ L, 0.3 U/ $\mu$ L)를 순서대로 첨가하여 섞은 후 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 반응시킨 다음 microplate reader (Infinite F200; Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 Ex 320/Em 405 nm에서 형광강도를 측정하였다. BACE1 활성의 저해정도는 다음 식, BACE1 inhibitory activity (%)=[1-(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 이상 측정한 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

### 넙패 추출물의 $\alpha$ -glucosidase 저해활성

당뇨병은 고혈당 상태가 지속되는 질환으로 이환율이 높고 고혈당 상태의 지속에 따른 다양한 합병증으로 인한 사망률이 높은 만성퇴행성 대사질환으로(Ali et al., 2017),  $\alpha$ -glucosidase 효소는 음식물 중의 전분을 포도당과 같은 단당으로 분해하는 역할을 담당하는 효소로 이 효소의 활성을 저해하는 것은 당뇨병 억제를 위한 핵심적인 방법 중 하나인 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2014). 넙패의 당뇨병에 대한 상관관계를 확인하기 위하여 EtOH, MeOH 및 열수로 추출한 넙패 추출물의

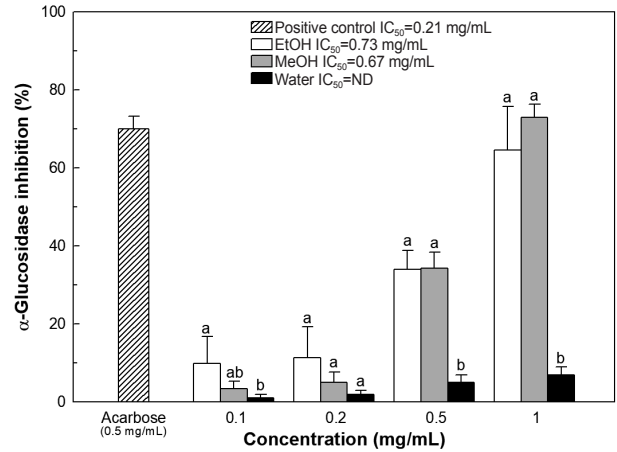


Fig. 1.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory activities of various solvent extract from *Ishige foliacea*. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. Values are mean $\pm$ SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. Acarbose was used as a positive control.

$\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정하여 비교·분석한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 넙패 EtOH 추출물들의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 0.73 mg/mL이고, MeOH 추출물은 0.67 mg/mL이었으나, 열수 추출물에서는 저해활성이 유기용매 추출물에 비하여 아주 낮은 것으로 확인되어 MeOH $\ge$ EtOH $\gg$ 열수 추출물 순으로  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 높은 것으로 나타났다. Fig. 1에 나타난 것과 같이 각  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 추출물의 농도 의존적인 경향을 보였으며, 특히, EtOH과 MeOH 추출물의 최종농도 1.0 mg/mL에서  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 약 65~75%로 양성 대조군인 acarbose (0.5 mg/mL)와 유사한 것으로 확인되었다. Kim et al. (2015a)은 총 폴리페놀 함량이 높은 해조류인 감태, 곰피, 대황, 지층이 등에는 vanillic acid,  $p$ -hydroxybenzaldehyde와 같은 phenolic acid계 및 플라보노이드계 화합물이 다량 함유되어있어 항산화 활성 뿐만 아니라  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 높지만 매생이, 모자반, 미역, 청각, 툫등과 같이 총 폴리페놀 함량이 낮은 해조류는 항산화 활성 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성도 낮은 것으로 보고하였다. 넙패 추출물들의 총 폴리페놀 함량은 약 14~22 mg/g으로 해조류 중에서 총 폴리페놀 함량이 낮은 부류에 해당되고(Kim et al., 2023),  $\alpha$ -glucosidase 저해활성도 해조류 중 낮은 종에 해당하는 것으로 확인되어 Kim et al. (2015a)의 보고와 일치하였다. 그러나 Ko (2012)의 연구에 따르면 넙패 에탄올 추출물에서 분리된 디플로레토하이드록시카말롤(di-phlorethohydroxycarmalol)이  $\alpha$ -glucosidase 활성억제 실험에서 대조군으로 사용된 acarbose와 비교하였을 때 높은 효소활성 저해 효과를 나타냄을 확인하였다. 본 연구에서는 다양한 물질들이 혼합되어있는 추출물로

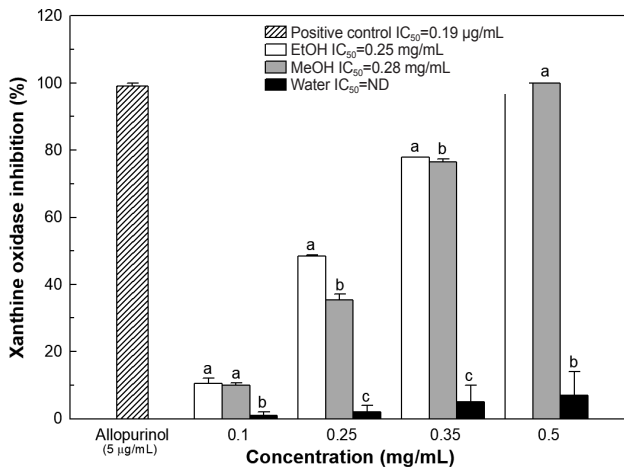


Fig. 2. Xanthine oxidase inhibitory activities of various solvent extract from *Ishige foliacea*. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. Values are mean±SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. Allopurinol was used as a positive control.

분리 정제한 순수한 물질에 비하여 낮은 저해활성을 나타내는 것으로 생각된다.

#### 넙패 추출물의 xanthine oxidase 저해활성

Xanthine oxidase (XO)는 생체 내 퓨린 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine을 산화하여 최종적으로 요산과 산소를 생성하며 산소 유리기와 과산화수소가 이 산소로부터 발생하게 된다. 요산이 혈액 중에서 이상 증가하게 되면 낮은 용해성으로 인하여 골절에 축적되어 통풍을 유발하며, 신장에 침착되어 신장질환을 일으킨다고 알려져 있다(Ko, 2005). 넙패 추출물의 XO 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 넙패 EtOH 추출물의 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 0.25 mg/mL이고, MeOH 추출물은 0.28 mg/mL이었으나, 열수 추출물은 저해활성이 미미한 것으로 확인되어 EtOH>MeOH>열수 추출물 순으로 XO 저해활성이 높은 것으로 확인되었다.

Fig. 2에 나타난 것과 같이 각 넙패 추출물의 농도에 비례하여 XO 저해활성이 증가하는 농도 의존적인 경향을 보였다. 특히, EtOH 및 MeOH 추출물의 XO 저해활성을 측정된 결과 최종농도 0.5 mg/mL에서 XO 활성이 완전히 저해되는 것으로 확인되었다. Kim et al. (1996)의 해조류 XO 저해활성에 관한 연구에 따르면 해조류 중 XO 저해활성이 가장 높은 것은 감태 추출물로 최종농도 0.5 mg/mL 농도에서 XO 활성이 76.1% 저해된다고 보고하였고 그 다음으로는 곰피, 청각 및 미역의 순으로 확인되었다고 보고하였다. 따라서 넙패 EtOH 및 MeOH 추출물의 XO 저해활성은 해조류 중에서 매우 높은 부류에 속하는 것으로 사료된다.

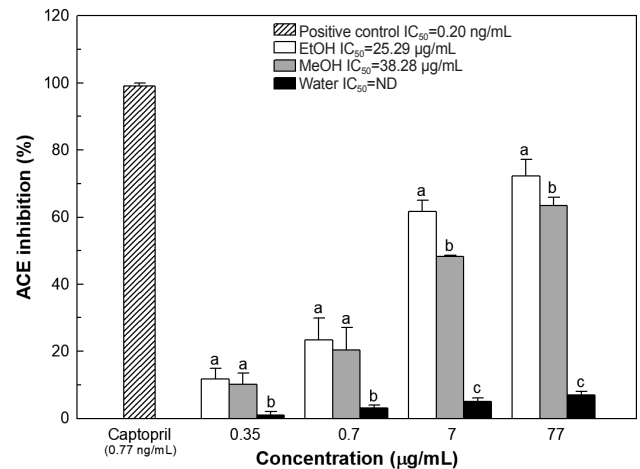


Fig. 3. ACE inhibitory activities of various solvent extract from *Ishige foliacea*. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. Values are mean±SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. Captopril was used as a positive control. ACE, Angiotensin converting enzyme.

#### 넙패 추출물의 ACE 저해활성

ACE는 renin에 의하여 생성된 불활성형인 angiotensin I의 C-말단 dipeptide (His-Leu)를 절단하여 활성형 angiotensin II로 전환시킨다. Angiotensin II는 혈관을 수축시키는 작용을 하고, 부신에서 aldosterone의 분비를 촉진시켜 체내 수분 보유량을 많게 하여 결과적으로 혈압을 상승시키는 작용을 한다. ACE의 작용이 계속 지속화 될 경우 혈압이 연속적으로 높아져 혈관벽이 약화되어 터지게 되거나, 뇌졸중 등의 여러 질환을 유발시킬 수 있다. 이러한 ACE의 활성 저해인자로는 저분자 peptide와 그 유도체, 녹차에 존재하는 catechin과 메밀의 rutin과 같은 polyphenol 성분들이 대표적으로 알려져 있다(Cho et al., 2011). 각 넙패 추출물의 다양한 농도에서 ACE 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 넙패 EtOH 추출물의 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 25.29 µg/mL, MeOH 추출물은 38.28 µg/mL이었으나, 열수 추출물은 저해활성이 미미한 것으로 확인되어 EtOH>MeOH>열수 추출물 순으로 ACE 저해활성이 높은 것으로 확인되었다. Fig. 3에 나타난 것과 같이 EtOH 및 MeOH 추출물은 추출물의 농도에 비례하여 ACE 저해활성이 증가하는 농도 의존적인 경향을 보였으며, 다양한 물질이 혼합되어 있는 추출물임에도 불구하고 넙패의 EtOH 및 MeOH 추출물은 최종농도 77 µg/mL에서 약 70% 전후의 ACE 활성을 저해하는 것으로 확인되었다. Cha et al. (2006)의 보고에 따르면 대부분의 녹조류는 ACE 저해활성에서 낮으나, 갈조류인 바위주름, 다시마, 잇바디팽생이모자반 및 툇의 MeOH 추출물은 200 µg/mL에서 70.70~86.59%로 높은 ACE 저해활성을 나타내었다. 따라서, 넙패는 다양한 녹조류 및 갈조류와 비교하여도 높은

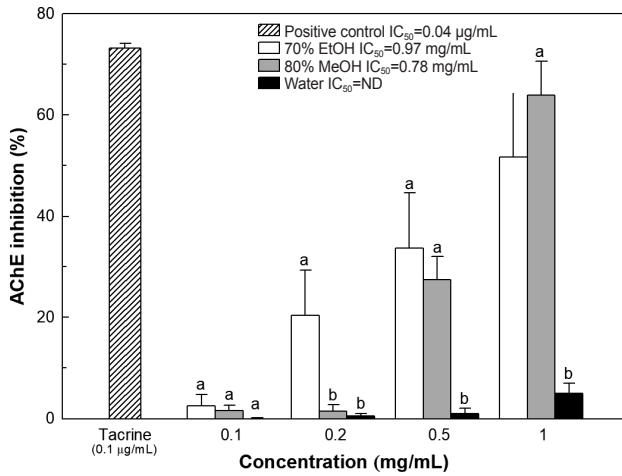


Fig. 4. AChE inhibitory activities of various solvent extract from *Ishige foliacea*. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. Values are mean±SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. Tacrine was used as a positive control. The 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. AChE, Acetylcholinesterase.

ACE 저해활성을 내포하고 있는 것으로 확인되었다.

### 뇌패 추출물의 AChE 저해 활성

뇌패 추출물에 대한 뇌의 acetylcholine 농도 유지 관련 연관성을 확인하기 위하여 뇌패 추출물의 AChE 저해활성을 측정하여 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 각 뇌패 추출물의 AChE 저해활성을 다양한 농도(0.1–1.0 mg/mL)에서 측정된 결과, EtOH 추출물의 AChE 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 0.97 mg/mL이고, MeOH 추출물은 0.78 mg/mL이었으나 열수 추출물은 저해활성이 미미한 것으로 측정되어, 뇌패의 AChE 저해활성은 MeOH>EtOH≫ 열수 추출물 순으로 높은 것으로 확인되었다. 알츠하이머 환자의 뇌에는 신경전달물질인 acetylcholine 함량이 정상인에 비해 약 50% 이하로 감소하는 경향이 있는 것으로 알려져 있는데, AChE의 활성이 증가하면 acetylcholine을 분해해 그 농도를 감소시키고 일련의 반응을 통해 신경세포가 손상되어 기억력 손상이 유발되는 것으로 알려져 있다(Talesa, 2001). 따라서 뇌에서 acetylcholine 농도 유지는 인지능력개선 효과와 상관관계가 있는 것으로 보고되어 있다(Kim et al., 2022). 해조류 20종의 AChE 저해활성에 관한 연구에 따르면, 각종 해조류의 MeOH 추출물 1 mg/mL 농도에서 감태는 35.85%, 검동감태는 31.77%, 바위수염은 31.14%의 AChE 저해활성을 보였고, 가시뼈대그물말과 모란갈파래 외 4종은 20–30%, 미역 외 10종에서는 10–20%의 AChE 저해활성을 나타낸다고 보고하였다(Son et al., 2016). 뜸부기 MeOH 추출물(1 mg/mL)은 약 80%

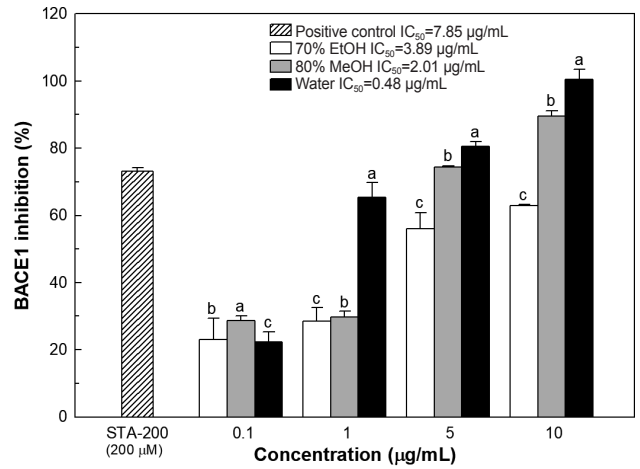


Fig. 5. BACE1 inhibitory activities of various solvent extract from *Ishige foliacea*. The results were determined at the final concentration of the above, respectively. Values are mean±SD (n=3). Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. STA-200 (H-Lys-Thr-Glu-Glu-Ile-Ser-Glu-Val-Asn-Sta-Val-Ala-Glu-Phe-OH; final concentration at 200 µM) was used as a positive control. The 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) values (µg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. BACE1, β-secretase.

의 AChE 저해활성을 보유하는 것으로 보고되어있다(Choi et al., 2023). 따라서 뇌패 EtOH 및 MeOH 추출물의 AChE 저해활성은 해조류 중 매우 높은 부류에 속하는 것으로 판단된다.

### 뇌패 추출물의 BACE1 저해활성

뇌패 추출물에 대한 BACE1 (β-secretase) 저해활성을 측정 한 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 알츠하이머병의 원인 중 하나인 이상 단백질 축적설은 β-amyloid (Aβ)라는 펩타이드가 과도하게 만들어져 뇌세포에 축적되어 발생하는 신경퇴행성 뇌 질환으로 Aβ는 amyloid precursor protein이 β-secretase와 γ-secretase라는 효소에 의해 절단되어 생성되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2002). 본 연구에서는 뇌패의 Aβ 생성 억제 능을 확인하기 위하여 뇌패 추출물의 BACE1 저해활성을 측정 하여 알츠하이머병의 예방 효과를 검토하였다. 각 뇌패 추출물의 BACE1 저해활성을 다양한 농도에서 측정된 결과(Fig. 5), EtOH 추출물의 BACE1 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 3.89 µg/mL이고, MeOH 추출물은 2.01 µg/mL, 열수 추출물은 0.48 µg/mL로 확인되어 BACE1의 저해활성은 열수>MeOH>EtOH 순으로 높은 활성을 나타내었다. Fig. 5에 나타난 것과 같이 각 뇌패 추출물의 농도에 비례하여 BACE1 저해활성이 증가하는 농도 의존적인 경향을 보였다. 특히, 열수 및 MeOH 추출물은 최종농도 5 µg/mL에서 BACE1 저해활성을 측정된 결과 양성 대조군인 STA-200 (200 µM) 보다 높은 활성을 가지고 있는 것으로 확인 되었을 뿐만 아니라 모든 추출물들은 STA-200의 BACE1 저해

활성(IC<sub>50</sub>: 7.85 µg/mL) 보다 높은 것으로 확인되었다. 치매 예방 및 치료제 개발을 위한 BACE1의 저해물질은 다양한 농립 수산물 유래 천연소재 및 기존의 화합물 등을 활용한 물질 탐색을 비롯한 생리의학적 연구가 다양하게 진행되고 있다(Kim et al., 2022). 그 예로 감태 및 검둥 감태는 추출물(0.25 mg/mL)에서 약 80%의 높은 BACE1 저해활성이 확인되었고(Son et al., 2016), 특히 청각 및 뜰부기 열수 추출물의 BACE1 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 각각 8.70 및 0.81 µg/mL인 것으로 보고되어 있다(Choi et al., 2023). 따라서 넓패 열수 추출물의 BACE1 저해활성은 해조류 중에서 높은 부류에 속하는 것으로 확인되어 넓패는 치매 예방을 위한 기능성 물질 탐색을 비롯한 생리의학적 연구가 필요하다고 사료된다.

본 연구에서 해조류인 넓패의 다양한 추출물을 제조하여 α-glucosidase 저해활성, XO 저해활성, ACE 저해활성, AChE 저해활성 및 BACE1 저해활성 등 여러 가지 생리활성을 살펴보았다. 넓패의 선행 연구(Kim et al., 2023)에 따르면 넓패 EtOH 및 MeOH 추출물의 수율은 각각 9.73% 및 9.55% 였으며, 열수 추출물은 35.12%이었다. 넓패 추출물의 폴리페놀 함량을 측정된 결과, EtOH 및 MeOH 추출물은 22.66 GAE/g 및 22.62 GAE/g이고, 열수 추출물의 경우 14.36 GAE/g로 확인되었다. 또한 넓패는 항산화 활성이 높을 뿐만 아니라 피부 미백, 탄력 및 주름개선에 효과가 있는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 넓패의 다양한 생리활성을 측정된 결과, EtOH 추출물에서는 XO 저해활성과 ACE 저해활성이 가장 높은 것으로 확인되었고, MeOH 추출물에서는 α-glucosidase 저해활성과 AChE 저해활성이 가장 높은 것으로 확인되었다. 열수 추출물에서는 BACE1 저해활성이 가장 높은 것으로 확인되었다. 본 연구 결과에서 넓패 추출물은 당뇨, 통풍, 혈압 및 치매와 관련된 다양한 생리활성을 내포하고 있는 것으로 판단되어 기능성식품 분야에서 활용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

## 사 사

이 논문은 한국연구재단(NRF-2021R111A3043692)의 지원을 받아 수행된 연구 사업입니다.

## 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>.
- Byun HG and Kim SK. 2005. Development of physiological activity and health functional materials of seaweed. *Susanyeon-gu* 22, 1-10.
- Cha SH, Ahn GN, Heo SJ, Kim KN, Lee KW, Song CB, Kim SM and Jeon YJ. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35, 307-314. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2006.35.3.307>.
- Cho BO, Ryu HW, So YK, Jin CH, Byun MW, Kim WG and Jeong IY. 2012. *Ishige sinicola* extracts induce apoptosis via activation of a caspase cascade in human HeLa cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41, 901-906. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.7.901>.
- Cho CH, Kim M, Youm GH, Kim S, Park Y and Lee SH. 2020. Advanced glycation end-products inhibitory activities and renoprotective effects of *Ishige foliaceae* ethanolic extract. *J Chitin Chitosan* 25, 134-142. <https://doi.org/10.17642/jcc.25.3.4>.
- Cho EK, Yoo SK and Choi YJ. 2011. Inhibitory effects of *Mae-saengi (Capsosiphon fulvescens)* extracts on angiotensin converting enzyme and α-glucosidase. *J Life Sci* 21, 811-818. <https://doi.org/10.5352/JLS.2011.21.6.811>.
- Choi JW, Lee YJ, Kim WS, Moon SK and Kim YT. 2023. Anti-aging and anti-dementia activities of different solvent extracts from *Silvetia siliquosa*. *Korean J Fish Aquat Sci* 56, 526-531. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0526>.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr and Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7, 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- Kim JA. 2004. The changes of componets related to antioxiation and biological activities in algae (*Hizikia fusiformis* and *Ecklonia cava* of Jeju island) with harvesting periods, blanching times and drying methods and isolation of the biologically active substances. Ph.D. Dissertation, Ewha Womans University, Seoul, Korea.
- Kim JH, Kang HM, Lee SH, Lee JY and Park LY. 2015b. Antioxidant and α-glucosidase inhibition activity of seaweed extracts. *Korean J Food Preserv* 22, 290-296. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2015.22.2.290>.
- Kim JH, Kim MJ, Kim KBWR, Park SH, Cho KS, Kim GE, XU X, Lee DH, Park GR and Ahn DH. 2017. Anti-inflammatory effects of *Ishige sinicola* ethanol extract in LPS-induced RAW 264.7 cell and mouse model. *Korean J Food Preserv* 24, 1149-1157. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.8.1149>.
- Kim JY, Lee YJ, Kim WS, Moon SK and Kim YT. 2022. Antioxidant and physiological activities of different solvent extracts of *Cnidium japonicum*. *Korean J Fish Aquat Sci* 55, 310-318. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0310>.
- Kim JY, Park DB, Lee YJ, Park SJ and Kim YT. 2023. Anti-skin aging properties of different solvent extracts from *Ishige foliaceae*. *Korean J Fish Aquat Sci* 56, 833-840. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0833>.
- Kim KN, Yang HM, Kang SM, Ahn G, Roh SW, Lee WW, Kim DY and Jeon YJ. 2015a. Whitening effect of octaphlor-

- ethol A isolated from *Ishige foliacea* in an *in vivo* zebrafish model. *J Microbiol Biotechnol* 25, 448-451. <https://doi.org/10.4014/jmb.1409.09033>.
- Kim OK, Lee TG, Park YB, Park DC, Lee YW, Yeo SG, Kim IN, Park YH and Kim SB. 1996. Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25, 1069-1073.
- 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 TH, Ko SC, OH GW, Park HH, Lee DS, Yim MJ, Lee JM, Yoo JS, Kim CS, Choi IW and Jung WK. 2016. Studies on bioactive substances and antioxidant activities of marine algae from Jeju Island. *J Mar Biosci Biotechnol* 8, 30-38. <https://doi.org/10.15433/ksmb.2016.8.1.030>
- 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 RK. 2012. Chemical constituents and cosmetics-related activities from plants in Jeju Island. Ph.D. Dissertation, Jeju National University, Jeju, Korea.
- Ko SY. 2005. HPLC analysis and antioxidant effect of flavonoids extracted from citrus peels. M.S. Thesis, National University of Jeju, Jeju, Korea.
- Kwon YR and Youn KS. 2017. Antioxidant and physiological activities of *Hijikia fusiforme* by extraction methods. *Korean J Food Prese* 24, 631-637. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.5.631>.
- Lee JH, Ko JY, Kim HH, Kim CY, Jang JH, Nah JW and Jeon YJ. 2017. Efficient approach to purification of octaphlorethol A from brown seaweed, *Ishige foliacea* by centrifugal partition chromatography. *Algal Res* 22, 87-92. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.006>.
- Lee SH, Kang SM, Ko SC, Kang MC and Jeon YJ. 2013. Octaphlorethol A, a novel phenolic compound isolated from *Ishige foliacea*, protects against streptozotocin-induced pancreatic  $\beta$  cell damage by reducing oxidative stress and apoptosis. *Food Chem Toxicol* 59, 643-649. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.011>.
- Lee SH, Ko SC, Kang MC, Lee DH and Jeon YJ. 2016. Octaphlorethol A, a marine algae product, exhibits antidiabetic effects in type 2 diabetic mice by activating AMP-activated protein kinase and upregulating the expression of glucose transporter 4. *Food Chem Toxicol* 91, 58-64. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.02.022>.
- Lee SH. 2011. Current status and prospect of nutraceuticals from marine algae. *Bull Food Technol* 24, 165-175.
- 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>.
- Sung HS and Yang CB. 1985. Effect of ethanol concentration on saponin composition of red ginseng extract. *Korean J Food Sci Technol* 17, 227-231.
- Talesa VN. 2001. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 122, 1961-1969. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(01\)00309-8](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(01)00309-8).
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H and Niki R. 1997. Isolation and identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Tochucha (Eucommia ulmoides)*. *Biosci Biotechnol Biochem* 61, 177-178. <https://doi.org/10.1271/bbb.61.177>.
- Yu MY and Lee SH. 2022. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Grateloupia filicina* extract. *J Converg Inf Technol* 12, 119-126. <https://doi.org/10.22156/CS4SMB.2022.12.01.119>.