

## 참풀가사리(*Gloiopeltis tenax*) 추출물의 항산화성 및 항치매활성

김지윤<sup>†</sup> · 박다빈<sup>†</sup> · 이연지 · 문수경<sup>1\*</sup> · 김용태<sup>\*</sup>

국립군산대학교 식품생명공학과/수산과학연구소, <sup>1</sup>경상국립대학교 식품영양학과/농업생명과학연구원

### *In Vitro* Screening of *Gloiopeltis tenax* Extracts Antioxidant and Anti-dementia Activities

Ji-Youn Kim<sup>†</sup>, Da-Bin Park<sup>†</sup>, Yeon-Ji Lee, Soo-Kyung Moon<sup>1\*</sup> and Yong-Tae Kim<sup>\*</sup>

Department of Food Science & Biotechnology/Fisheries Science Institute, Kunsan National University, Gunsan 54150, Republic of Korea

<sup>1</sup>Department of Food and Nutrition/Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea

In this study, we investigated the antioxidant and anti-dementia activities of the Korean marine algae *Gloiopeltis tenax*. Solvent extracts were prepared using 70% ethanol, 80% methanol, and distilled water. The extraction yields from the different solvents ranged from 8.52% to 49.47%. The total polyphenol and flavonoid contents ranged from 9.13–15.80 mg/g and 0.42–3.33 mg/g, respectively. The ethanol extract showed the highest 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging activity, whereas the methanol extract exhibited the strongest reducing power and ferric reducing antioxidant power. Additionally, both the ethanol and methanol extracts exhibited higher acetylcholinesterase inhibitory activities (IC<sub>50</sub>=0.89–0.95 mg/mL) than that of the water extract. In contrast, the water extract exhibited the highest  $\beta$ -secretase inhibitory activity (IC<sub>50</sub>=17.03  $\mu$ g/mL). These results indicate that *G. tenax* may be useful as an antioxidant and functional ingredient for food and pharmaceuticals, particularly for its anti-dementia properties.

Keywords: Anti-dementia, Antioxidative activity, *Gloiopeltis tenax*, Marine algae, Physiological activity

## 서론

최근 건강에 많은 관심이 증가되면서 기능성식품 및 의약품의 원천물질로 활용할 수 있는 다양한 소재가 각광 받고 있는 추세이다. 농림산물 및 해양수산물에 생리기능성을 내포한 물질에 대한 연구가 많이 진행되고 있으며, 그 중 해조류는 이산화탄소 흡수에 효과적일 뿐만 아니라 다당류, 다중 불포화 지방산 및 플로로탄닌과 같은 다양한 천연 생물활성화합물 및 대사산물을 생성하는 것으로 알려져 있다(Lee and Hong, 2018; Lee et al., 2020). 또한 삼투압이 높은 환경에서 적응하기 위하여 복잡한 구조를 형성하기 때문에 다양한 기능성 소재를 내포하고 있을 가능성이 높다. 따라서 검증되지 않은 해조류에 대한 다양하고 체계적인 연구가 필요하다. 홍조류에 속하는 풀가사리 속의 참풀가사리(*Gloiopeltis tenax*), 불등풀가사리(*Gloiopeltis*

*furcata*), 애기풀가사리(*Gloiopeltis complanate*)의 3종이 우리나라에 분포하는 것으로 알려져 있다(Lee, 2008; Kim et al., 2013b). 참풀가사리의 식물체는 적갈색을 띠고 줄기는 뿌리 근처에서 잘록하며 위쪽으로 갈수록 점차 가늘어지기 때문에 끝이 뾰족한 모양이다(Lee, 2008). 풀가사리는 암석에 부착하여 번식하며 길이는 10 cm 이내로 겨울에서 봄에 걸쳐 성장하고 여름에 수확하며, 예로부터 풀가사리는 식용, 건축자재, 직물 접착제, 공예 등 의식주 모두에서 다양한 용도로 활용되어 왔다(Park, 2022). 그러나 풀가사리 속에 대한 연구는 주로 조건대에 분포하는 불등풀가사리에 집중되어 있으며 참풀가사리는 조건대 하부에 분포하여 채취하기 어려워 그것에 대한 연구는 미미한 실정이다(Zheng et al., 2012). 따라서 본 연구에서는 참풀가사리의 항산화성 및 다양한 생리기능성을 구명하고자 에탄올, 메탄올 및 증류수를 용매로 사용하여 3종의 추출물을 제조한

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

E-mail address: skmoon@gnu.ac.kr; kimyt@kunsan.ac.kr <sup>†</sup>Contributed equally.



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.2024.0540>

Korean J Fish Aquat Sci 57(5), 540-546, October 2024

Received 17 June 2024; Revised 9 September 2024; Accepted 12 September 2024

저자 직위: 김지윤(대학원생), 박다빈(대학원생), 이연지(대학원생), 문수경(교수), 김용태(교수)

뒤 참플가사리의 항산화활성 및 생리기능성을 측정하여 기능성식품 및 의약품 소재로서의 활용 가능성을 비교·검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료 및 시약

본 실험에 사용된 참플가사리(*G. tenax*)는 제주도에서 2022년 4월에 채취한 것을 (주)파라제주(Jeju, Korea)에서 구입하여 실험실로 운반한 후 흐르는 물로 수세하여 염분과 협잡물을 제거한 다음 자연 건조한 후 전체를 분쇄기(FM700SS; Hani, Seoul, Korea)로 분쇄하여 시료의 성분분석 및 추출물 제조에 사용하였다. 항산화 및 생리활성을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's reagent, gallic acid, quercetin, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), N-[3(2-furyl)acryloyl]-Leu-Gly-Pro-Ala, 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), acetylcholinesterase 및  $\beta$ -secretase (BACE1) assay kit 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 분석용 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

### 참플가사리 추출물의 제조

참플가사리 추출물은 Kim et al. (2023)의 방법에 따라 3가지 용매(증류수, 70% ethanol, 80% methanol)를 사용하여 추출물을 각각 제조하였다. 증류수를 용매로 사용한 추출은 참플가사리 50 g에 증류수를 시료 대비 20배의 양을 첨가하여 고압증기 멸균기(autoclave; ac-11; Jeitech, Daejeon, Korea) 121°C에서 3시간 동안 가열 추출하였다. 유기 용매를 사용한 추출은 70% ethanol과 80% methanol을 추출 용매로 사용하여 시료 50 g에 각 추출용매를 시료 대비 20배의 양으로 첨가한 뒤 50°C에서 24시간 동안 일반중력대류배양기(shaking incubator; KMC-8480SR-L; Vision Scientific Co., Daejeon, Korea) 120 rpm에서 추출하였다. 각 용매별로 추출한 참플가사리 추출물을 원심분리(1,800 g, 30분) 및 여과(No. 1; Whatman, Maidstone, UK)한 후 농축 및 동결건조하고 용매 수율을 측정하며, 이 추출물들은 각종 실험에 사용하였다. 모든 추출물은 증류수(증류수 추출물) 및 DMSO (EtOH 및 MeOH 추출물)로 용해하여 실험에 사용하였다.

### 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

참플가사리 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법을 약간 변형한 Lee et al. (2020)의 방법에 준하여 수행하였다. 각 시료(1 mL)에 95% 에탄올 1 mL와 증류수 5 mL를 넣어 혼합한 후 50% folin-ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣고 실온에서 5분간 반응시켰다. 여기에 5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 mL를 가한 후 실온-암소에서 1시간 동안 반응시킨 후 분광광도계(Optizen Pop; KLAB, Seoul, Korea)를 이용하여 파장 725 nm에서 흡광

도를 측정하였다. 이때 표준검량곡선은 gallic acid을 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% 에탄올을 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.

### 항산화활성 측정

ABTS radical 소거능은 ABTS<sup>+</sup> 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  $1.000 \pm 0.030$  (mean  $\pm$  SD)가 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 추출물 50  $\mu\text{L}$ 에 ABTS 용액 950  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 계산식, ABTS<sup>+</sup> radical scavenging ability (%) =  $[(\text{Control}_{734} - \text{Sample}_{734}) / \text{Control}_{734}] \times 100$ 에 의하여 활성을 산출하였다. EC<sub>50</sub> (effective concentration)은 50%의 라디칼 소거능을 나타내는 유효농도로 nonlinear regression analysis software (Prism 9, GraphPad; CA, USA)를 이용하여 구하였다. EC<sub>50</sub>은 낮을수록 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능이 뛰어난 것을 의미한다.

환원력(reducing power)은 Lee et al. (2021)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 acid (TCA)를 가하여 반응을 정지시킨 다음 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 정지한 후, 파장 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력으로 나타내었으며, 흡광도가 높을수록 환원력이 큰 것을 의미한다. EC<sub>50</sub> value (half maximal effective concentration value)는 흡광도 값이 0.5를 나타내는 시료의 농도(mg/mL)로 정의하였다.

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 5 분간 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. 모든 항산화 활성 측정의 표준 물질은 ascorbic acid를 사용하였다.

### AChE 저해활성 측정

참풀가사리 추출물의 acetylcholinesterase (AChE) 저해 활성은 Ellman et al. (1961)의 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 96 well plate에 100 mM phosphate buffer (pH 8.0) 50  $\mu\text{L}$ , 시료용액 25  $\mu\text{L}$ , AChE (0.25 U/mL) 25  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 잘 혼합한 뒤 실온에서 10분간 정지한 다음, 10 mM DTNB 125  $\mu\text{L}$ 와 75 mM acetylthiocholine iodide 25  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 파장 412 nm에서 10분간 흡광도를 측정하여 증가된 흡광도 변화를 계산하였다. 효소활성의 저해 정도는 다음 식, Acetylcholinesterase inhibition activity(%)=[1-(ST/CT)] $\times$ 100과 같이 산출하였다(ST, 시료 존재 하에서의 반응속도; CT, 시료 무첨가구의 초기반응속도).

### BACE 1 저해활성 측정

참풀가사리 추출물의 BACE1 ( $\beta$ -secretase) 효소활성은 fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based  $\beta$ -secretase (BACE1) assay kit (Sigma-Aldrich)을 사용하여 측정하였다. 일반적인 저해 활성은 black 96-microwell plate에 fluorescent assay buffer (78-X  $\mu\text{L}$ , 50 mM sodium acetate, pH 4.5), BACE1 substrate (20  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{M}$  MOCAC-SEVNLDAEFRK(Dnp)RR), 시료용액 (X  $\mu\text{L}$ ) 및 BACE1 효소(2  $\mu\text{L}$ , 0.3 unit/ $\mu\text{L}$ )를 순서대로 첨가하여 혼합한 후 37°C에서 2시간 반응시킨 다음 microplate reader (Infinte F200; Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 Ex 320/Em 405 nm에서 형광강도를 측정하였다. BACE1 활성의 저해 정도는 다음 식, BACE1 inhibitory activity (%)=[1-(SF/CF)] $\times$ 100과 같이 산출하였다(SF, 시료 존재하의 형광강도; CF, 시료 무첨가구의 형광강도).

### 통계처리

본 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

#### 참풀가사리 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

참풀가사리에 함유되어 있는 생리활성물질 및 유용성분을

획득하기 위하여 70% EtOH, 80% MeOH 및 증류수를 추출 용매로 사용하여 각각의 참풀가사리 추출물을 제조하였다. 참풀가사리 추출물의 수율 측정 결과는 Table 1에 나타내었다. 참풀가사리의 각 용매 추출물의 수율은 EtOH를 사용한 추출물은 8.52%, MeOH를 사용한 경우에는 8.63%, 열수를 사용한 고온고압 추출조건에서는 49.47%로 나타났다. 따라서 각 용매에 따른 참풀가사리 추출물의 수율을 비교하면 열수  $\gg$  MeOH  $\geq$  EtOH 추출물 순으로 수율이 높은 것으로 확인되었다. 용매에 따른 해조류 추출물의 수율에 대한 연구보고에 의하면 청각의 증류수 추출물의 수율은 9.76% 이었으나(Park et al., 2022), 톳의 열수 추출물은 45.62%, 넙패의 열수 추출물은 35.12%로 알려져 있다(Lee et al., 2020; Kim et al., 2023). 본 연구에서 확인한 참풀가사리 열수 추출물의 수율과 위의 청각, 톳 및 넙패 추출물의 수율을 비교하였을 때 참풀가사리의 열수 추출물의 수율이 가장 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 해조류를 다양한 추출방법으로 추출한 연구보고에서 모든 시료가 유기용매 추출물보다 열수 추출물의 수율이 높게 나타났다는 보고와 일치하는 것으로 확인되었다(Na et al., 2014; Lee et al., 2020; Park et al., 2022).

참풀가사리 추출물들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table 1과 같다. EtOH를 용매로 사용한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 10.29 mg/g, MeOH 추출물은 15.80 mg/g, 열수 추출물은 9.13 mg/g로 확인되었다. 한편, 참풀가사리 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과, EtOH 추출물은 3.33 mg/g, MeOH 추출물은 0.42 mg/g, 열수 추출물은 3.19 mg/g로 나타났다. Kang et al. (2023)의 불등참풀가사리 추출물에 대한 총 폴리페놀 함량에 관한 연구에 의하면 불등참풀가사리 에탄올 추출물에서 3.04 mg/g으로 본 연구의 에탄올 추출물 보다 낮은 함량을 나타냈으며, Ahn et al. (2010)의 35종의 해조류 중 11종 홍조류 추출물의 총 폴리페놀 함량은 돌가사리가 11.78 mg/g으로 가장 높았고 그 외 10종의 홍조류는 7.46–2.30 mg/g 함유되어 있다고 보고하였다. 홍조류인 불등참풀가사리의 연구(Kim and Lee, 2022)에서는 플라보노이드 함량이 80% 에탄올 추출물(13.45 mg/g)이 본 연구의 참풀가사리의 에

Table 1. Comparison of the extraction yields and total polyphenolic and flavonoid contents of *Gloiopeltis tenax* extracts with various solvents

Sample	Yield (%)	Total polyphenolic content (mg GAE/g) <sup>1</sup>	Total flavonoid content (mg QE/g) <sup>2</sup>
EtOH extract	8.52	10.29 $\pm$ 0.00 <sup>b,3,4</sup>	3.33 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>
MeOH extract	8.63	15.80 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.80 <sup>b</sup>
Water extract	49.47	9.13 $\pm$ 0.53 <sup>c</sup>	3.19 $\pm$ 1.10 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>GAE, Gallic acid equivalent mg/g. <sup>2</sup>QE, Quercetin equivalent mg/g. <sup>3</sup>Value are mean $\pm$ SD (n=3). <sup>4</sup>Means with different letters in a column are significantly different at  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

탄을 추출물보다 높은 함량을 보였다. Ahn et al. (2010)에 따르면 방사무늬김이 3.89 mg/g이 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 나타내었으나 그 외에는 1.86–0.71 mg/g 함유되어 있다고 보고하였다. 따라서 다양한 해조류와 참꽃가사리의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 차이는 시료의 종류, 채취 시기, 채취 장소 및 추출방법에서 기인한 것으로 생각된다.

**참꽃가사리 추출물의 항산화 활성**

참꽃가사리 추출물의 추출용매에 따른 항산화 활성을 비교하기 위하여 EtOH, MeOH 및 열수를 용매로 사용한 참꽃가사리 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성, 환원력 및 FRAP value 측정 결과를 Table 2에 나타내었다. 각 추출물을 다양한 농도 별로 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하여 ABTS 라디칼의 50%를 소거하는 시료 농도(EC<sub>50</sub>) 값으로 나타내었다. 참꽃가사리 EtOH 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성(EC<sub>50</sub>)은 0.21 mg/mL, MeOH 추출물은 0.32 mg/mL, 열수 추출물은 3.83 mg/mL로 나타나 참꽃가사리의 ABTS 라디칼 소거활성은 EtOH>MeOH>열수 추출물 순으로 높은 것으로 확인되었다. 참꽃가사리의 EtOH 및 MeOH 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성은 농도 의존적인 경향을 나타낼 뿐만 아니라 1 mg/mL 농도에서 양성 대조군인 ascorbic acid (0.2 mg/mL)와 유사한 활성을 나타내었다(결과 생략). 다양한 홍조류 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성에 관한 연구에 의하면 0.5 mg/mL 농도에서 방사무늬김, 붉은부챗살, 진두발 및 홍조도박은 19.59–18.00%이고 참깨도박, 얼룩도박 및 작은구슬산호말은 15.69–15.09%, 돌가사리, 개도박 및 마디잘록이는 13.50–9.61%로 해조류의 종류에 따라 ABTS 라디칼 소거활성은 다소 차이가 나지만, 참꽃가사리의 EtOH 및 MeOH 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성은 홍조류 중에서 높은 부류에 속하는 것으로 확인되었다(Ahn et al., 2011).

Table 2. Antioxidant activities of *Gloiopeltis tenax* extract with various solvents

Sample	ABTS (EC <sub>50</sub> , mg/mL) <sup>1</sup>	Reducing power (EC <sub>50</sub> <sup>2</sup> , mg/mL) <sup>2</sup>	FRAP value (mM)
EtOH extract	0.21±0.00 <sup>c,3,4</sup>	1.47±0.04 <sup>b</sup>	0.37±0.02 <sup>a</sup>
MeOH extract	0.32±0.00 <sup>b</sup>	1.36±0.04 <sup>c</sup>	0.38±0.03 <sup>a</sup>
Water extract	3.83±0.08 <sup>a</sup>	2.28±0.04 <sup>a</sup>	0.04±0.00 <sup>b</sup>
Ascorbic acid	0.05±0.00	0.01±0.00	14.23±0.72

<sup>1</sup>EC<sub>50</sub> values for radical scavenging activity is expressed as the effective concentration at which 50% of ABTS radicals is scavenged. <sup>2</sup>EC<sub>50</sub> value for reducing power is expressed as the effective concentration at which the absorbance is 0.5. <sup>3</sup>Values are mean±SD (n=3). <sup>4</sup>Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. ABTS, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt; FRAP, Ferric reducing antioxidant power.

한편, 각 추출용매에 따른 참꽃가사리 추출물의 환원력(EC<sub>50</sub>)을 분석한 결과, EtOH 추출물은 1.47 mg/mL, MeOH 추출물은 1.36 mg/mL, 열수 추출물은 2.28 mg/mL로 나타나 참꽃가사리 추출물의 환원력은 MeOH>EtOH>열수 추출물 순으로 높은 것으로 확인되었다(Table 2). 또한 EtOH 및 MeOH 추출물은 2.5 mg/mL 농도에서 양성 대조군인 ascorbic acid (0.02 mg/mL)과 비슷한 흡광도 값을 나타내었다(결과 생략). 참꽃가사리 추출물의 FRAP value 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 참꽃가사리의 모든 추출물의 FRAP value는 추출물의 농도 의존적으로 증가하는 경향을 확인할 수 있었다. 참꽃가사리 EtOH 추출물은 0.37 mM, MeOH 추출물은 0.38 mM 값을 보였으나, 열수 추출물은 0.04 mM로 확인되어, EtOH 및 MeOH 추출물이 열수 추출물에 비하여 FRAP value가 약 9배 높은 것으로 확인되었다. FRAP assay에서 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내며 높은 항산화 활성을 가질수록 흡광도 수치가 높게 나타나는 것으로 알려져 있다(Kwon et al., 2019). 이상의 참꽃가사리의 항산화 활성 결과를 종합해보면 ABTS 라디칼 소거활성은 EtOH 추출물, 환원력과 FRAP value는 MeOH 추출물이 높은 활성을 가지고 있는 것으로 확인되었다.

**참꽃가사리 추출물의 AChE 저해활성**

참꽃가사리 추출물에 대한 뇌의 acetylcholine 농도 유지 관련 연관성을 확인하기 위하여 참꽃가사리 추출물의 AChE 저해활성을 측정하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 각 참꽃가사리 추출물의 AChE 저해활성을 다양한 농도(0.1–1.0 mg/mL)에서 측정한 결과, EtOH 추출물의 AChE 저해활성(IC<sub>50</sub>)은 0.95

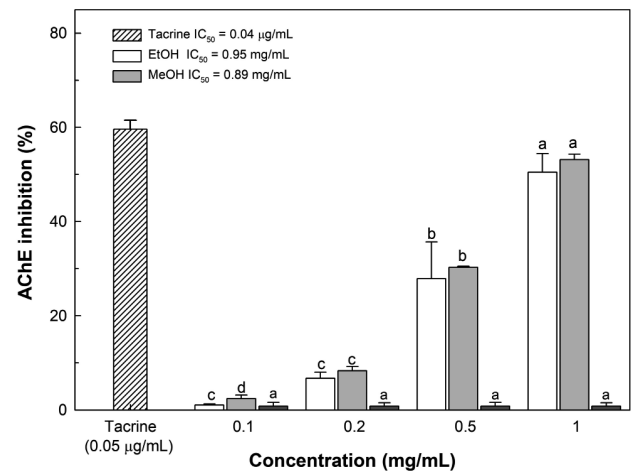


Fig. 1. AChE inhibitory activities of *Gloiopeltis tenax* extracts with various solvents. Values are mean±SD (n=3). The 50% inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) values (mg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. Means with different letters in a column are significantly different at P<0.05 by Duncan's multiple range test. Positive control for AChE was used tacrine, represented in µg/mL. AChE, Acetylcholinesterase.

mg/mL이고, MeOH 추출물은 0.89 mg/mL이었으나, 열수 추출물에서는 AChE 저해활성이 미미한 것으로 측정되어, 참풀가사리의 AChE 저해활성은 MeOH>EtOH>열수 추출물 순으로 높은 것으로 확인되었다. 치매에는 알츠하이머성 치매, 혈관성 치매, 기타 알코올 중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매로 구분되며 일반적으로 알려진 알츠하이머병은 AChE 활성 증가로 인한 뇌의 신경전달물질인 acetylcholine 분해로 콜린 기능의 결손이 주요 원인 중 한가지인 것으로 보고 되어 있다(You, 2014; Son et al., 2016). Jeon et al. (2012)의 해조류의 AChE 저해활성에 관한 연구에 따르면, 각 EtOH 추출물 0.01 mg/mL 농도에서 김은 26.6%, 개도박은 17.4%, 붉은까막살은 15.5%의 AChE 저해활성을 보였고, 모로우붉은살 외 5종은 0.3–8.3%의 AChE 저해활성을 나타낸다고 보고하였다. 또한 해조류 20종의 AChE 저해활성에 관한 연구 보고에서는 각종 해조류의 MeOH 추출물 1 mg/mL 농도에서 감태는 35.85%, 검둥감태는 31.77%, 바위수염은 31.14%의 AChE 저해활성을 보였고, 가시뽕대그물말 외 15종은 10–30%의 AChE 저해활성을 나타낸다고 보고하였다(Son et al., 2016). 따라서 참풀가사리 EtOH 및 MeOH 추출물의 AChE 저해활성은 해조류 중 높은 부류에 속하는 것으로 판단된다.

#### 참풀가사리 추출물의 BACE1 저해활성

알츠하이머의 병인 중 대표적인 이상 단백질 축적설은  $\beta$ -amyloid peptide ( $A\beta$ )가 과도하게 만들어져 뇌세포에 축적되어 발생하는 신경퇴행성 뇌질환으로  $A\beta$ 는 amyloid precursor protein이  $\beta$ -secretase와  $\gamma$ -secretase라는 효소에 의해 각각 절단되어 생성되는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2002). 따라서  $A\beta$ 를 생성하는  $\beta$ -secretase와  $\gamma$ -secretase의 저해제는 알츠

하이머병의 치료제 개발에 중요한 표적 단백질이다(Park et al., 2014). 본 연구에서는 참풀가사리 추출물의 알츠하이머병의 예방 및 억제효과를 탐색하기 위해 BACE1 ( $\beta$ -secretase) 저해활성을 측정한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 각 참풀가사리 추출물의 BACE1 저해활성을 다양한 농도에서 측정한 결과, EtOH 추출물의 BACE1 저해활성( $IC_{50}$ )은 0.10 mg/mL이고, MeOH 추출물은 0.14 mg/mL, 열수 추출물은 17.03  $\mu$ g/mL로 확인되어, BACE1의 저해활성은 열수>>EtOH>MeOH 추출물 순으로 높은 저해활성을 나타내었다. Fig 2A와 Fig. 2B에 나타낸 것과 같이 각 참풀가사리 추출물의 농도에 비례하여 BACE1 저해활성이 증가하는 농도 의존적인 경향을 보였다. 특히, 열수 추출물의 경우 EtOH 및 MeOH 추출물에 비하여 약 5–7배 높은 저해활성을 나타냈다. 해조류 추출물인 넓패(1 mg/mL) 및 청각(50  $\mu$ g/mL)에서 약 80% 이상의 높은 BACE1 저해 활성을 확인하였으며(Kim et al., 2020; Park et al., 2022), 모래지치(0.5 mg/mL) 및 갯사상자(20  $\mu$ g/mL)등 염생식물 추출물에서도 약 80%의 높은 BACE1 저해활성이 내포하고 있는 것으로 보고되어 있다(Lee et al., 2021; Kim et al., 2022). 따라서 참풀가사리 열수 추출물의 BACE1 저해활성은 해조류 중에서 높은 부류에 속하는 것으로 확인되어 치매 예방 및 치료제 개발을 위하여 참풀가사리 유래 BACE1 저해활성물질에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 해조류인 참풀가사리의 다양한 추출물을 제조하여 항산화활성 및 여러가지 생리활성을 살펴보았다. 추출용매에 따른 참풀가사리 추출물의 총 폴리페놀 함량은 9.13–15.80 mg GAE/g, 총 플라보노이드 함량은 0.42–3.33 mg QE/g으로 확인되었다. 참풀가사리의 항산화활성 측정 결과 ABTS 라디칼은 EtOH 추출물, 환원력 및 FRAP는 MeOH 추출물에서

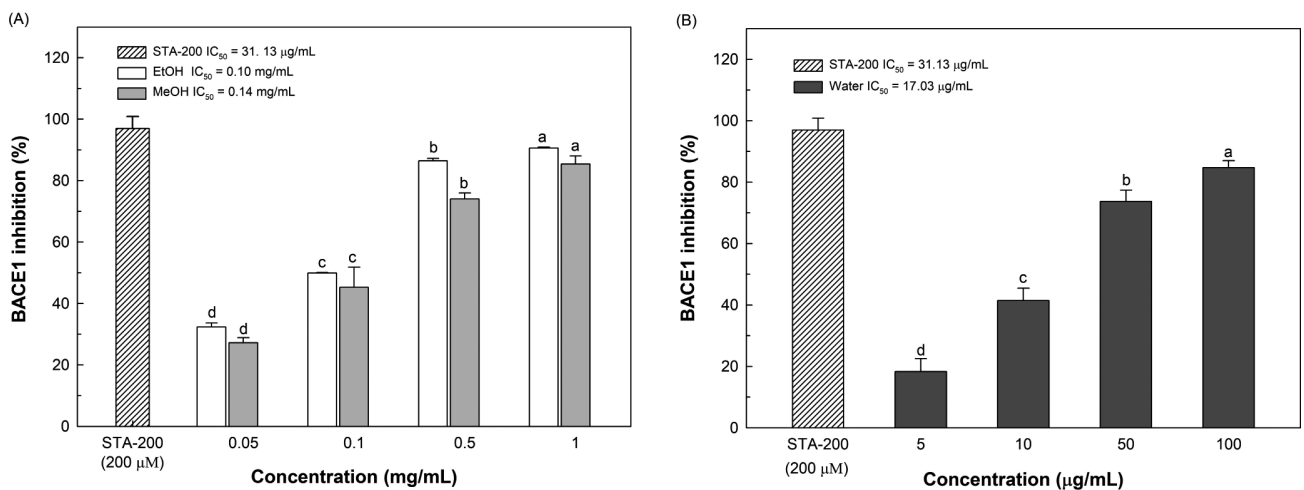


Fig. 2. BACE1 inhibitory activities of *Gloiopeltis tenax* extracts with various solvents. A, EtOH and MeOH extracts. B, Water extract. Values are mean $\pm$ SD (n=3). The 50% inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) values (mg/mL or  $\mu$ g/mL) were calculated from a log dose inhibition curve. Means 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) was used as a positive control.

가장 높은 항산화활성이 검출되었다. 항치매 관련 AChE 및 BACE1 저해활성 측정 결과, MeOH 및 EtOH 추출물에서는 높은 AChE 저해활성이 확인되었으나, BACE1 저해활성은 열수 추출물이 EtOH 및 MeOH 추출물에 비하여 약 5-7배 높은 저해활성을 내포하고 있는 것으로 확인되어 기능성식품 및 의약품 소재분야에서 활용가능성이 높을 것으로 생각된다.

## 사 사

이 논문은 2024년도 국립군산대학교 수산과학연구소 학술연구비 지원을 받아 수행된 연구입니다.

## References

- Ahn SM, Hong YK, Kwon GS and Sohn HY. 2010. Evaluation of *in-vitro* anticoagulation activity of 35 different seaweed extracts. *J Life Sci* 20, 1640-1647. <https://doi.org/10.5352/JLS.2010.20.11.1640>.
- Ahn SM, Hong YK, Kwon GS and Sohn HY. 2011. Evaluation of antioxidant and nitrite scavenging activity of seaweed extracts. *J Life Sci* 21, 576-583. <https://doi.org/10.5352/JLS.2011.21.4.576>.
- 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>.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V and Feather-stone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7, 88-90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- Jeon YE, Yin XF, Lim SS, Chung CK and Kang IJ. 2012. Antioxidant activities and acetylcholinesterase inhibitory activities from seaweed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41, 443-449. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.4.443>.
- Kang JH, Jung KI, Park MH, Oh GH and Kim MH. 2023. Effects of *Gloiopeltis furcata* extract on antioxidant activity and osteoblast differentiation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 52, 450-459. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2023.52.5.450>.
- 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 foliacea*. *Korean J Fish Aquat Sci* 56, 833-840 <https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0833>.
- Kim SJ, Lee GS, Moh SH, Park JB, Auh CK, Chung YJ, Ryu TK and Lee TK. 2013b. Phenolic contents and antioxidant activities of six edible seaweeds. *J Korea Acad-Ind Coop Soc* 14, 3081-3088. <https://doi.org/10.5762/kais.2013.14.6.3081>.
- Kim SH and Lee JB. 2022. A study on the antioxidative and anti-inflammatory properties of *Gloiopeltis furcata* extract obtained using different concentrations of ethanol. *Asian J Beauty Cosmetol* 21, 41-50. <http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2022.0062>.
- Kim TE, Son HJ, Lim DW, Yoon MS, Lee JW, Kim YT, Han DS, Lee CH and Um MY. 2020. Memory-enhancing effects of *Ishige foliacea* extract: *In vitro* and *in vivo* study. *J Food Biochem* 44, e13162. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13162>.
- Kim YT, Downs D, Wu S, Dashti A, Pan Y, Zhai P, Wang X, Zhang X 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>.
- Kwon HY, Lee SM, Choi SI, Cho BY, Choi SH, Sim WS, Xiongao H, Jang GW, Lee OH and Park DH. 2019. Antioxidant activities of *B. campestris* var. *chinensis* and *B. juncea* L. Czern var. *Laciniata* Makino baby leaf extracts. *Korean J Food Preserv* 26, 336-342. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2019.26.3.336>.
- Lee DH and Hong JH. 2018. Immune-enhancing effects of polysaccharides with different molecular weights obtained from *Gloiopeltis furcata*. *Korean J Food Preserv* 25, 1-6. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2018.25.1.1>.
- Lee YJ, Jeon YJ and Kim YT. 2020. 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 JY, Kim WS and Kim YT. 2021. Antioxidant and physiological activities of different solvent extracts from *Messerschmidia sibirica*. *Korean J Fish Aquat Sci* 54, 938-947. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0938>.
- Lee YP. 2008. Marine Algae of Jeju. Joo SP, ed. Academybook, Seoul, Korea, 342.
- 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).
- Na HS, Kim JY, Park JS, Choi GC, Yang SI, Lee JH, Cho JY and Ma SJ. 2014. Characteristics of marine algae extracts using subcritical water extract method. *Korean J Food Preserv* 21, 62-68. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.1.62>.
- Park DB, Lee YJ, Rho JW, Kim WS, Park SJ and Kim YT. 2022. Comparison of antioxidant and physiological activities of different solvent extracts from *Codium fragile*. *Korean J Fish Aquat Sci* 55, 858-866. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0858>.
- Park SJ, Tai S, Lee YJ, Jeon YJ and Kim YT. 2014. Overexpression and refolding of BACE2. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 370-375. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0370>.
- Park HS. 2022. A study on the prevention of residual funori used for facing the paper and painting cultural properties. M.S. Thesis, National University of Cultural Heritage, Buyeo, Korea.

- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang Min 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).
- Son HJ, Um MY, Kim IH, Cho SM, Han DS and Lee CH. 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>.
- You NK. 2014. Physiological activity of *Suaeda japonica* extracts from Suncheon bay. Ph D. Thesis, Hoseo University, Asan, Korea.
- Zheng J, Chen Y, Yao F, Chen W and Shi G. 2012. Chemical composition and antioxidant/antimicrobial activities in supercritical carbon dioxide fluid extract of *Gloiopeltis tenax*. *Mar Drugs* 10, 2634-2647. <https://doi.org/10.3390/md10122634>.