

Biological Activities of *Mesembryanthemum crystallinum* (Ice plant) Extract

Sang Yull Lee^{1†}, Hyeun Deok Choi^{2,3†}, Sun Nyoung Yu^{2,3}, Sang Hun Kim², Seul Ki Park² and Soon Cheol Ahn^{2,3*}

¹Department of Biochemistry, Pusan National University School of Medicine, Yangsan 626-870, Korea

²Department of Microbiology and Immunology, Pusan National University School of Medicine, Yangsan 626-870, Korea

³Immunoregulatory Therapeutics Group in Brain Busan 21 Project, Pusan National University, Yangsan 626-870, Korea

Received December 2, 2014 / Revised June 19, 2015 / Accepted June 22, 2015

This study analyzed the physiological quality of *Mesembryanthemum crystallinum* (ice plant) extract. *M. crystallinum* is a succulent plant found in Africa, southern Europe, North America, South America, and Australia. It has known antidiabetic, antioxidant, and activation of lipid metabolism effects. Extracts from *M. crystallinum* were prepared with methanol (MCM), ethanol (MCE), hot water (MCHW), and methanol after hot water (MCHM) extractions. The yields of MCM, MCE, MCHW, and MCHM were 0.37, 0.33, 0.50, and 0.07%, respectively. To determine the biological activities of the extracts, mushroom tyrosinase, pancreatic lipase, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging, nitric oxide (NO) production, and α -glucosidase assays were conducted. The DPPH radical scavenging activity of the MCHW extract was 62.9% at a concentration of 400 μ g/ml, which was the highest of all the extracts. The MCM extract showed the highest inhibition activity of α -glucosidase and NO production (56.6 and 57.2%, respectively). The pancreatic lipase inhibition of the MCE extract was similar to that of the MCM extract, with significant inhibition of 90%. The mushroom tyrosinase inhibition of all the extracts was very low (approximately 30%). These results suggest that extracts from *M. crystallinum* have antioxidant, anti-inflammatory, antiobesity, and antidiabetic activities. Thus, it may have potential as a functional food product and therapeutic potential as an antidiabetic or antiobesity agent.

Key words : Anti-diabetics, anti-obesity, ice plant, *Mesembryanthemum crystallinum*, nitric oxide production

서 론

최근 세계적으로 급격한 경제 발달로 인해 발생하는 스트레사와 식습관의 서구화 및 불규칙성, 운동부족, 과음, 흡연 등으로 인하여 고지혈증, 당뇨병 및 고혈압과 같은 생활습관 병이 증가하고 있다[2]. 이에 따라 현대인들의 well-being에 대한 관심이 고조되고 기능성 식품에 대한 수요가 증가하고 있다. 기능성 식품이란 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조한 식품을 말한다[4, 13, 23]. 최근 연구에서는 천연물 유래의 phenolic compounds, carotenoids, flavonoids, tocopherol 등의 생리활성물질을 섭취함으로써 각종 생활습관 병 예방과 개선에 많은 도움이 된다는 결과가 보고되었다[8].

Ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*)는 건조지역에

서 주로 자생하며, 다육식물로서 발아율이 낮고, 성장속도가 느리며, 재배가 쉽지 않지만 고 기능성 채소로 유럽과 일본에서는 각광받고 있고, 최근 국내에서 대량재배에 성공하여 공급이 증가하였다. Ice plant는 우기에 발아하여 C₃식물로서 광합성하며 성장하다가 CAM형 식물로 전환하여 성장하는 식물로서 이때 잎 표면에 염분을 배출하여 얼음처럼 보이는 bladder cell을 형성한다. Bladder cell에는 D-pinitol과 β -carotene과 같은 많은 미네랄을 함유하여 항산화 효능, 혈당저하 효과, 항균효과, 지질생성저해 효과 등 다양하고 우수한 기능성 생리활성이 있는 것으로 보고되고 있다. 특히, D-pinitol은 천연 혈당조절 성분으로서 myo-inositol의 구조 이성질체인 chiro-inositol의 3번 탄소에 있는 methyl기가 결합되어 있는 형태인데 체내에서 chiro-inositol로 전환되어 인슐린 경로를 자극하여 혈중의 포도당이 세포 내로 유입되도록 하여 혈당량을 감소시킨다[5, 28]. 따라서 D-pinitol은 체내에서 포도당의 흡수를 조절하여 혈관 내에 급격한 포도당 농도의 상승을 막아 혈당 조절에 도움을 주어 당뇨병 치료에 도움이 될 것으로 보고되고 있다.

본 연구에서는 ice plant의 methanol 추출물, ethanol 추출물, 열수 추출물, 열수 추출 후 methanol 추출물의 항산화, 항당뇨, 항비만, 미백 활성을 연구하여, 건강지향적 식품 개발을 위한 기초연구를 수행하였다.

[†]Authors contributed equally.

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-8092, Fax : +82-55-382-8090

E-mail : ahnsc@pusan.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.

재료 및 방법

실험 재료 및 시약

Ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*)는 진주의 (주) LFT에서 제공한 것을 사용하였다. 각 분리 단계에 이용된 유기용매는 (주) SK 케미칼(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), α -glucosidase, p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (pNPG), pancreatic lipase (porcine pancreas), p-nitrophenyl palmitate (pNPP), mushroom tyrosinase, acarbose, ascorbic acid, orlistat, kojic acid 등은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, USA)에서 구입하였다.

Ice plant 추출물의 제조

건조된 ice plant 1 g을 각 용기에 넣고, methanol, ethanol을 각각 100 ml씩 넣어서 실온에서 하루 동안 추출하고 여과하여 상등액을 취해 각각 methanol 추출물(MCM), ethanol 추출물(MCE)을 얻었다. 한편, ice plant 1 g을 용기에 넣어 증류수 100 ml을 넣고, autoclave 에서 100°C, 1분간 추출하고 여과하여 얻은 열수 추출물(MCHW), 그 pellet에 methanol 100 ml을 넣어 실온에서 하루 동안 추출하여 열수 추출 후 methanol 추출물(MCHM)을 얻었다.

생리활성 측정

DPPH free radical 소거 활성

추출물의 항산화 활성은 DPPH free radical 소거법을 이용하여 측정하였다[15, 21]. 1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) 시약을 1.5×10^{-4} M로 ethanol에 녹여 DPPH 시약을 만들었으며 4°C 냉장고에 빛이 닿지 않도록 하여 보관하였다. DPPH 시약 180 μ l에 시료 20 μ l를 넣어 실온의 암실에서 30분간 반응을 한 후, VERSA_{MAX} microplate reader (Molecular Devices, Toronto, Canada)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 추출물 대신 추출용매를 가하여 측정하였고, 저해 활성은 DPPH free radical 소거활성(%)=[1 - {(SAbs - BAbs)/(CAbs - BAbs)}]×100 (CAbs: 대조구 흡광도, SAbs: 시료 흡광도, BAbs: 시약 무첨가구의 흡광도)으로 계산하였다. Positive control로는 ascorbic acid를 사용하였다.

Pancreatic lipase 저해활성

Pancreatic lipase의 활성은 Kim 등[18]의 방법을 변형하여 기질로 사용된 p-nitrophenyl palmitate (pNPP)가 lipase 효소에 의하여 p-nitrophenol로 가수분해되는 정도를 이용하였다. 1.5 ml tube에 시료 10 μ l와 100 mM Tris-HCl (pH 8.5) buffer를 100 μ l씩 넣고 2 mM pNPP를 80 μ l씩 넣었다. Lipase는 10 μ l (10 mg/ml)씩 넣고 37°C warm bath에서 30분간 반응하고, ice에 10분간 반응 정지시킨 후, 13,000 rpm으로 1분간 원심분리 하여 그 상층액을 96 well plate에 넣어 VERSA_{MAX} mi-

croplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 추출물 대신 추출용매를 가하여 측정하였고, 저해 활성은 lipase 저해활성(%)=[1 - {(SAbs - BAbs)/(CAbs - BAbs)}]×100 (CAbs: 대조구 흡광도, SAbs: 시료 흡광도, BAbs: 시약 무첨가구의 흡광도)으로 계산하였다. Positive control로는 orlistat를 사용하였다.

Mushroom tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 활성은 Hearing의 방법[12]을 변형하여 L-tyrosine이 tyrosinase에 의해 3,4 dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) quinone으로 전환되는 것을 측정하였다. 1 mM L-tyrosine과 50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.5)와 증류수를 6:6:4(v/v/v)의 비율로 넣은 tyrosine buffer 160 μ l, 시료 10 μ l, mushroom tyrosinase (200 U/ml) 30 μ l를 96 well plate에 넣어 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 변화된 색을 VERSA_{MAX} microplate reader를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 추출물 대신 추출용매를 가하여 측정하였고, 저해 활성은 tyrosinase 저해활성(%)=[1 - {(SAbs - BAbs)/(CAbs - BAbs)}]×100 (CAbs: 대조구 흡광도, SAbs: 시료 흡광도, BAbs: 시약 무첨가구의 흡광도)으로 계산하였다. Positive control로는 kojic acid를 사용하였다.

α -Glucosidase 저해활성

α -Glucosidase 저해활성 측정은 Kim의 방법[19]을 변형하여 측정하였다. 시료 6 μ l와 100 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) 24 μ l를 혼합하고, α -glucosidase 효소액(0.25 U/ml) 30 μ l와 2.5 mM p-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (pNPG) 60 μ l를 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후, 10분간 ice에서 반응을 정지시킨 후, 13,000 rpm에서 1분간 원심분리하고, 96 well plate에 넣어 VERSA_{MAX} microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 추출물 대신 추출용매를 가하여 측정하였고, 저해 활성은 α -glucosidase 저해활성(%)=[1 - {(SAbs - BAbs)/(CAbs - BAbs)}]×100 (CAbs: 대조구 흡광도, SAbs: 시료 흡광도, BAbs: 시약 무첨가구의 흡광도)으로 계산하였다. Positive control로는 acarbose를 사용하였다.

Nitric oxide (NO) 저해활성

생성된 NO의 농도는 배양액 내의 nitrite (NO₂⁻) 농도를 Griess reagent와 반응을 측정하였다[9, 25]. Mouse macrophage cell line인 Raw 264.7 cell을 DMEM 배지에서 배양하고 2×10^5 cells/well 로 96 well에 분주하였다. 12시간 뒤 phenol red-free DMEM 배지로 바꾸고, lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/ml)를 처리한다. 1시간 뒤에 각 시료를 2 μ l 넣고 24시간 배양한 뒤, 상등액을 취하여 Griess reagent인 0.1% NED (N-(1-naphthyl) ethylenediamine hydrochloride in dissolved 60% acetic acid)와 1% sulfanilamide (in dissolved 40% acetic acid)를 동량으로 섞은 시약을 100 μ l 넣고, 10분간 상온에서

반응시킨 후, VERSA_{MAX} microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 대신 추출용매를 가한 것을 대조구로 하여 NO 생성 저해활성(%)은 다음과 같이 나타내었다. NO 생성 저해활성(%) = $(1 - SAbs / CAbs) \times 100$ (CAbs: 대조구 흡광도, SAbs: 시료 흡광도)으로 계산하였다.

세포 독성

Nitric oxide 생성 실험에 필요한 세포 배양액을 회수하고 남은 배지 및 세포를 사용하여 MTT assay를 하였다[14]. MTT 시약은 thiazolyl blue tetrazolium bromide를 최종농도 1 mg/ml가 되도록 PBS에 녹인 후 사용하였다. 제조한 MTT 시약을 100 µl씩 첨가하여 2시간 동안 37°C에 반응시켜 MTT가 환원되도록 하였다. 그 후, 배양액을 제거하고 DMSO를 첨가하여 살아있는 세포의 mitochondria에서 MTT시약과의 반응으로 생성된 formazan이 녹아있는 시료액을 VERSA_{MAX} microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 대조구에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다. 세포 생존율(%) = $(SAbs / CAbs) \times 100$ (CAbs: 대조구 흡광도, SAbs: 시료 흡광도)으로 계산하였다.

통계처리

모든 실험의 결과는 3번 반복 수행하여 얻어진 것으로, 통계 분석은 ANOVA에 의해 분석하여 mean ± S.D로 표시하였고, 통계적 유의성은 $p \leq 0.05$ 로 판정하였다.

결 과

추출 수율

Ice plant 1 g을 분쇄하여, methanol (MCM), ethanol (MCE), 열수(MCHW), 열수 추출 후 methanol (MCHM) 로 추출한 결과, 각 추출물의 추출 함량은 Table 1과 같았다. 각 추출물의 추출 수율은 MCM은 0.37%, MCE은 0.33%, MCHW

Table 1. Extraction of *Mesembryanthemum crystallinum* (Ice Plant)

Samples	Extraction yield (mg)
Methanol extract (MCM)	3.7
Ethanol extract (MCE)	3.3
Hot water extract (MCHW)	5.0
Methanol extract after hot water extraction (MCHM)	0.7

Each sample was extracted with 1 g of dried ice plant. MCM : *M. crystallinum* extracted with methanol, MCE : *M. crystallinum* extracted with ethanol, MCHW : *M. crystallinum* extracted with hot water, MCHM: *M. crystallinum* extracted with methanol after how water extraction.

은 0.5%, MCHM은 0.07%로 나타났으며 열수 추출물의 추출 수율이 가장 높게 나타났고, 열수 추출 후 methanol로 추출한 MCHM의 경우 추출물의 수율이 가장 낮았다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical 소거 활성

항산화 활성 측정방법 중 하나인 DPPH를 이용하여 전자 공여능을 측정하는 방법으로서 환원력이 클수록 강력한 항산화 화제가 된다. DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서, 방향족, 아민류 등에 의해 환원되어 항산화 물질을 검색하는데 이용되고 있다[3, 7, 16, 30]. Ice plant 추출물 (MCM, MCE, MCHW, MCHM)의 농도를 100, 200, 400 µg/ml로 하여 소거능을 분석한 결과 Fig. 1과 같았다. MCM, MCE, MCHM, MCHW 추출물 400 µg/ml의 농도에서는 44.8%, 51.3%, 33.5%, 62.9%의 DPPH free radical 소거활성을 보였다. 이를 통해 ice plant의 각 추출물이 항산화 활성을 가지는 것으로 추정된다.

α-Glucosidase 저해활성

소장에 존재하는 이당류의 소화효소인 α-glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소로서 이당류를 단당류로 분해시켜 소장에서 흡수하게 한다. α-Glucosidase를 저해하면 소장에서의 포도당 흡수를 억제시켜, 식후 혈당의 급격한 증가를 막아 혈당을 조절해 준다[1]. Ice plant 추출물(MCM, MCE, MCHW, MCHM)을 이용하여 α-glucosidase 저해활성을 조사하기 위하여 각 추출물을 0.5, 1, 2 mg/ml의 농도에서 실험한 결과(Fig. 2), MCHM 추출물에서 가장 높은 α-glucosidase 저해활성이 나타났고 2 mg/ml의 농도에서는 positive control로 사용된 acarbose와 유사한 56.6% 저해활성을 보였다. 한편 2 mg/ml의 MCM, MCE 추출물에서도 39.5%, 13.6%의 저해활성을 보였다. 따라서 ice plant 추출물이 α-glucosidase에 대한 저해활성을 나타내어 항당뇨 효과가 기대되었다.

Nitric oxide (NO) 생성 저해활성

Macrophage는 면역반응에서 중요한 역할을 수행하고, lipopolysaccharide (LPS)에 의한 자극은 다양한 염증 매개 물질을 유도하여, NO 형성과정으로 이어지게 되기 때문에 NO 생성의 억제는 염증생성을 저해하는데 중요한 지표가 된다 [24, 29, 31]. Ice plant 추출물의 염증 억제 활성을 측정하기 위하여 mouse macrophage cell line인 Raw 264.7 cell에 LPS (1 µg/ml)로 처리한 후, ice plant 추출물(MCM, MCE, MCHW, MCHM)을 100, 200, 400 µg/ml로 처리하여 생성된 nitrite (NO₂⁻)의 양을 측정하였다(Fig 3). Raw 264.7 cell에 LPS를 처리한 군은 무처리 군에 비해 NO의 생성이 약 5배 증가하였다. LPS를 처리 한 후 ice plant 추출물을 400 µg/ml 농도로 각각 처리했을 때, MCM 추출물, MCE 추출물은 NO 생성을 57.2%, 54.9%로 억제하였고, MCHM 추출물에서는

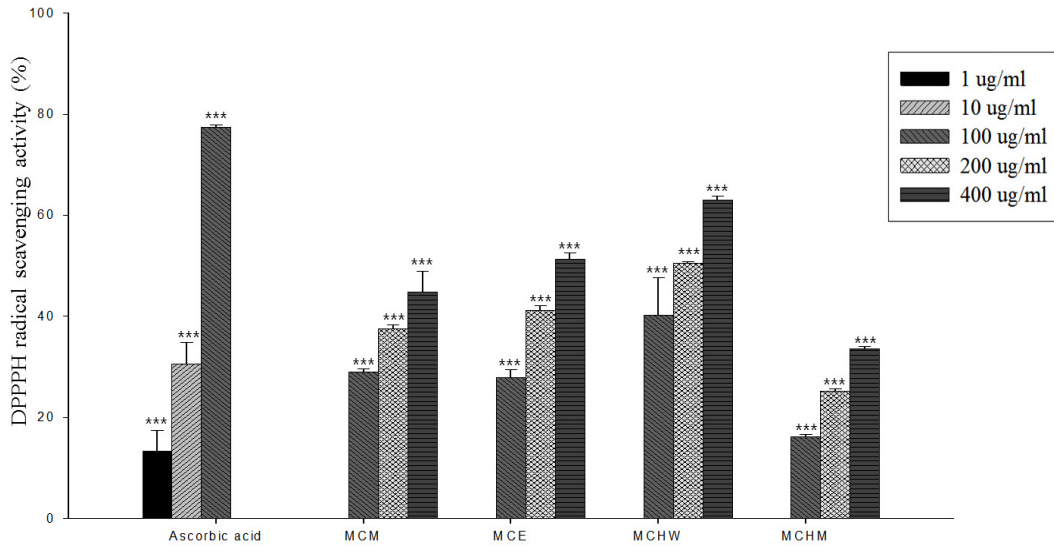


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activity of *Mesembryanthemum crystallinum* extracts. MCM : *M. crystallinum* extracted with methanol, MCE : *M. crystallinum* extracted with ethanol, MCHW : *M. crystallinum* extracted with how water, MCHW: *M. crystallinum* extracted with methanol after hot water extraction. Ascorbic acid was used as a positive control. Data represent the mean \pm SD (n=3 in each group) from three separate experiments. *** p <0.001 compared with control.

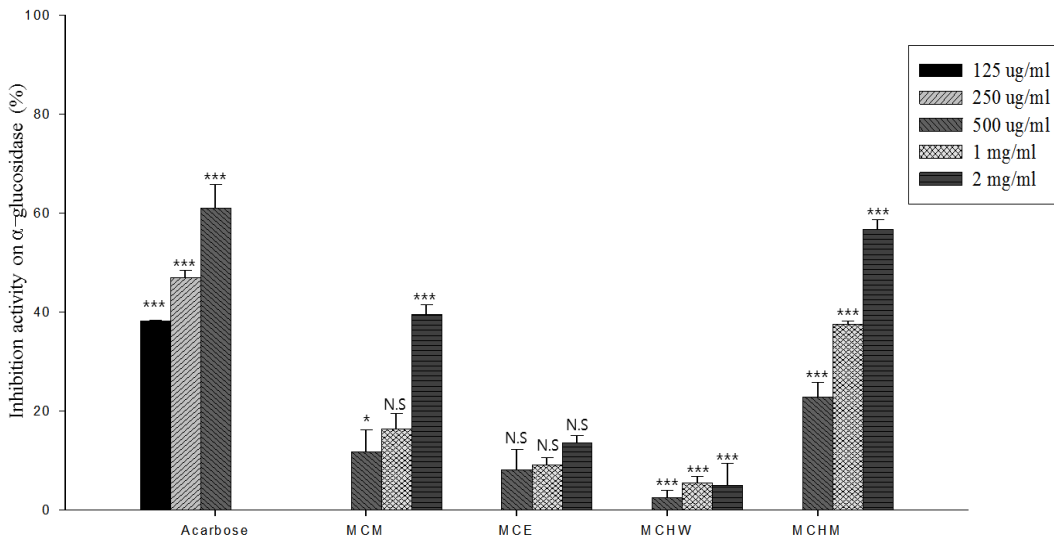


Fig. 2. Inhibitory activity of *Mesembryanthemum crystallinum* extracts on α -glucosidase. MCM : *M. crystallinum* extracted with methanol, MCE : *M. crystallinum* extracted with ethanol, MCHW : *M. crystallinum* extracted with how water, MCHW: *M. crystallinum* extracted with methanol after hot water extraction. Acarbose was used as a positive control. Data represent the mean \pm SD (n=3 in each group) from three separate experiments. * p <0.01, *** p <0.001 compared with control. N.S = non-significantly.

73.5%가 억제 되는 것을 확인하였다. NO 생성 저해가 세포독성에 기인하는 것인지를 확인하기 위하여 MTT assay를 통해 세포독성을 확인한 결과, 세포독성은 나타나지 않았다. 따라서 ice plant의 성분이 macrophage 에서 LPS에 의해 유도된 NO 생성을 저해하여 항염증 효과가 있을 것으로 사료된다.

Mushroom tyrosinase 저해활성

멜라닌 합성과정에서 tyrosinase에 의하여 L-tyrosine이 가역적 산화반응을 통하여 3,4 dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA)로 만들고, L-DOPA quinone을 만든다[20]. Ice plant 추출물(MCM, MCE, MCHW, MCHM)을 250, 500, 1,000 μ g/ml으로 하여 mushroom tyrosinase 저해활성을 측정하였

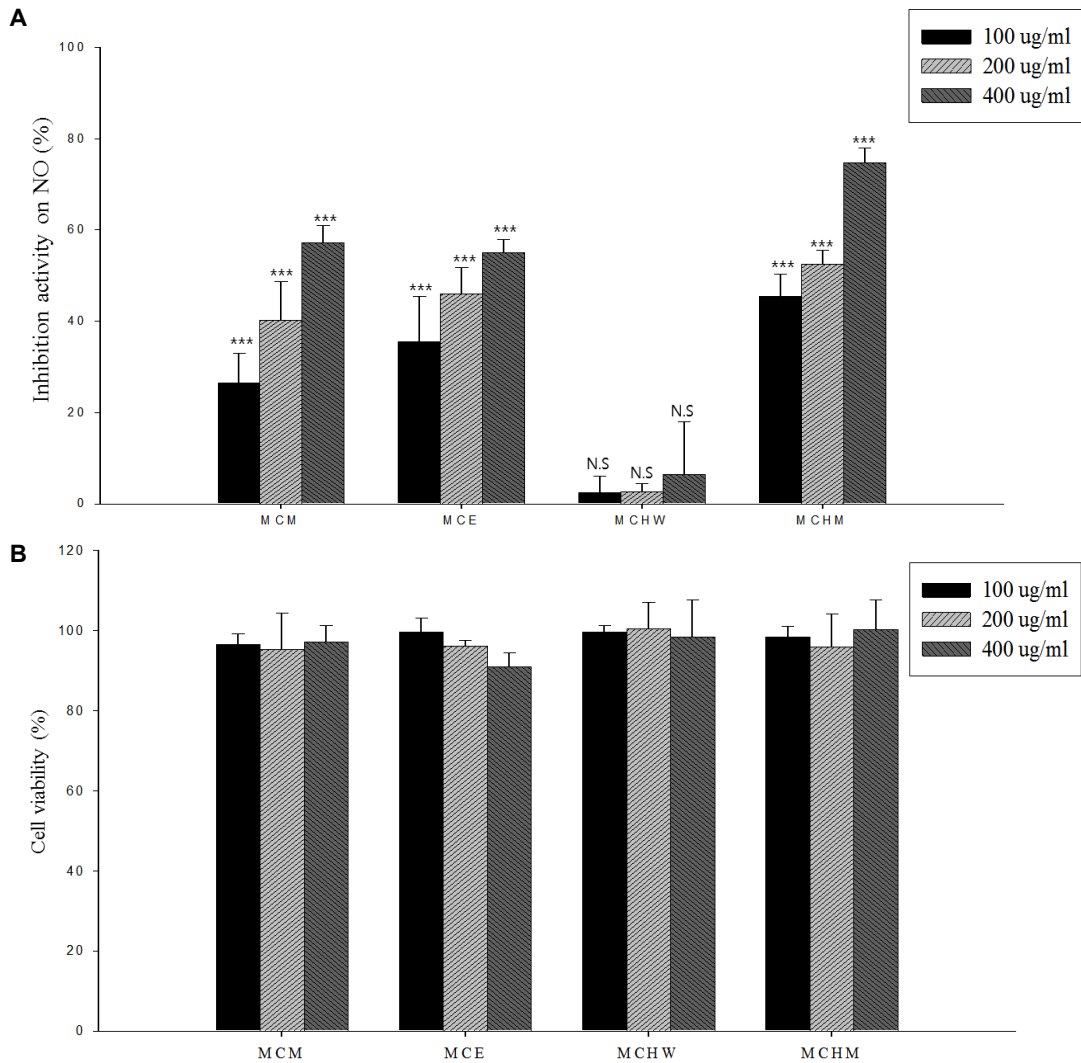


Fig. 3. Inhibitory activity of *Mesembryanthemum crystallinum* extracts on NO production in Raw 264.7 cell line. (A) NO activity in Raw 264.7 cell line (B) Cell viability in Raw 264.7 cell line. Data represent the mean ± SD (n=3 in each group) from three separate experiments. ****p*<0.001 compared with control. N.S = non-significantly.

다(Fig. 4). 그 결과, MCHW 추출물을 제외한 MCM, MCE, MCHM 추출물은 약 30%의 낮은 tyrosinase 저해 활성을 보였다. 따라서, ice plant는 저해 활성은 낮지만 melanin 합성을 저해하여 미백작용에 효과가 있을 것으로 사료된다.

Pancreatic lipase 저해활성

Pancreatic lipase는 지방 가수분해 효소로 triglyceride의 ester 결합을 가수분해 시켜 glycerol과 fatty acid으로 분해하는 역할을 한다. Lipase에 의해 monoglyceride와 fatty acid로 분해된 지방은 소장상피세포에서 triglyceride로 재 합성 되어 순환혈액 속에 들어가 조직에 보내진다. 지방 흡수의 중요한 역할을 하는 lipase의 활성저해를 통하여 지방이 체내에 소화, 흡수를 저해 할 수 있다[6]. Pancreatic lipase 저해효과를 확인 하기 위해, ice plant 추출물(MCM, MCE, MCHW, MCHM)을 250, 500, 1,000 µg/ml의 농도로 처리하여 저해활성을 측정하

였다(Fig. 5). 그 결과, MCM 추출물, MCE 추출물에서 농도 의존적으로 강한 저해활성을 보였고, MCHW 추출물, MCHM 추출물에서는 lipase 저해활성이 나타나지 않아서 lipase 저해하는 성분이 열에 불안정 할 것으로 예상된다. 따라서 ice plant 추출물은 pancreatic lipase에 대해 저해활성을 보여 항비만 효과가 기대되었다.

고 찰

본 연구는 ice plant의 생리활성을 측정하여 기능성 물질로서의 가능성을 조사하고자 하였다. Methanol, ethanol, 열수, 열수 추출 후 methanol로 추출하여 DPPH, pancreatic lipase, mushroom tyrosinase, α-glucosidase, NO 생성 저해활성과 같은 여러 가지 생리활성을 측정 하였다. 식물에서의 항산화 활성은 주로 플라보노이드, 폴리페놀, 탄닌, 페놀릭 테르펜 등

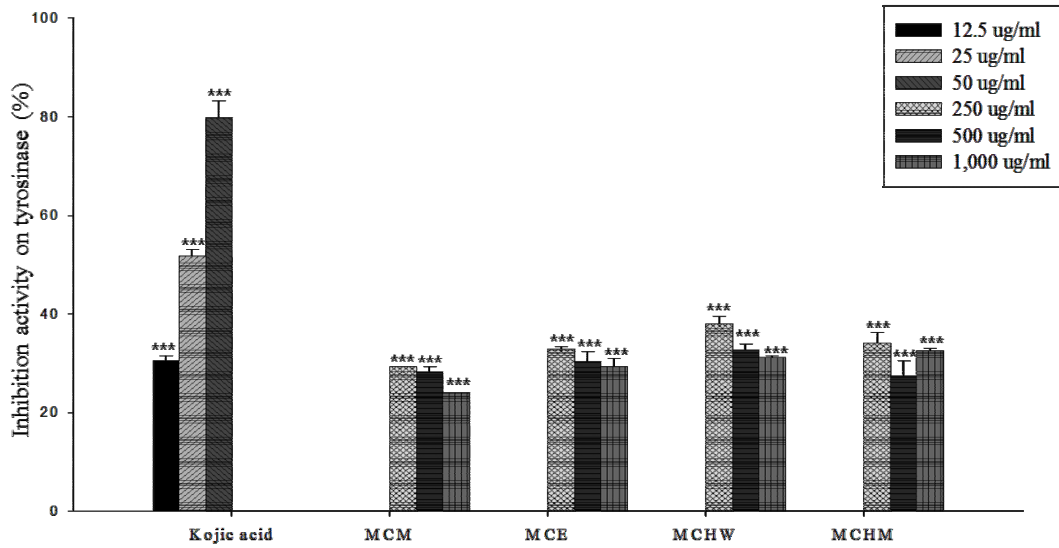


Fig. 4. Inhibitory activity of *Mesembryanthemum crystallinum* extracts on mushroom tyrosinase activity. MCM : *M. crystallinum* extracted with methanol, MCE : *M. crystallinum* extracted with ethanol, MCHW : *M. crystallinum* extracted with how water, MCHW: *M. crystallinum* extracted with methanol after hot water extraction. Kojic acid was used as a positive control. Data represent the mean \pm SD (n=3 in each group) from three separate experiments. *** p <0.001 compared with control.

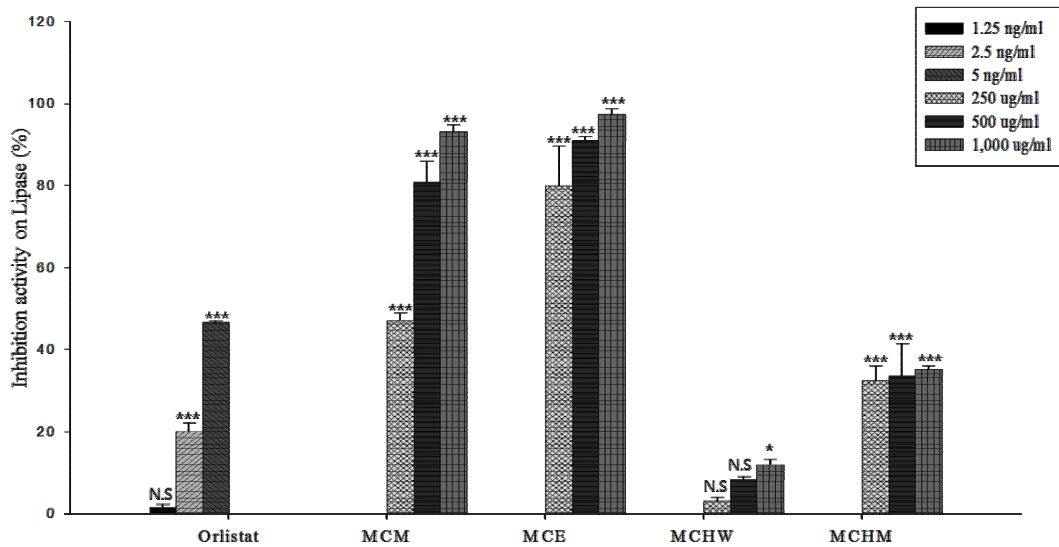


Fig. 5. Inhibitory activity of *Mesembryanthemum crystallinum* extracts on pancreatic lipase activity. MCM : *M. crystallinum* extracted with methanol, MCE : *M. crystallinum* extracted with ethanol, MCHW : *M. crystallinum* extracted with how water, MCHW: *M. crystallinum* extracted with methanol after hot water extraction. Orlistat was used as a positive control. Data represent the mean \pm SD (n=3 in each group) from three separate experiments. * p <0.01 and *** p <0.001 compared with control. N.S = non-significantly.

과 같은 페놀릭 성분에 의해 나타나며[17, 32, 34], 페놀릭 성분의 용매별 추출 수율은 식물마다 다르게 나타나지만, 식물체에 열처리를 할 경우, 결합형의 폴리페놀 성분이 유리형으로 되어 활성이 증가한다고 보고되었다[10]. 따라서 MCHW 추출물에서 가장 높은 항산화 활성을 보인 것은, ice plant의 열수 추출물 또한 열처리로 인하여 조직과 강하게 결합되어 있던

유효성분이 유리형으로 전환되어 항산화 효과가 증가된 것으로 생각된다. 차후에 ice plant의 폴리페놀과 플라보노이드 화합물의 함량에 대한 연구를 추가로 진행할 예정이다. NO 생성 억제능에서는 MCM, MCE, MCHM와 같이 유기용매에 의한 추출물에서 농도 의존적으로 저해활성을 보여 염증 저해 활성이 예상된다. NO는 정상 생리 상태에서 신호전달 및 박테리아

를 죽이는 등 생리적 역할을 하지만 과도한 형성은 염증을 유발시켜 조직의 손상, 유전적 변이 등을 일으킨다[22, 33]. 따라서 NO 생성의 저해는 염증반응의 조절 치료제로서의 가능성이 있고, ice plant의 methanol과 ethanol 추출물은 농도 의존적으로 iNOS 발현을 저해하여 NO 생산을 감소시킬 것으로 예상된다. Pancreatic lipase 저해활성에서도 MCM, MCE, MCHM 추출물에서 농도 의존적으로 저해 활성이 나타났지만, positive control인 orlistat에 비해 현저히 낮은 저해율을 보였다. 하지만, 천연 식물 추출물의 경우 단일물질로 정제되면 활성이 높아지는 경향이 보이므로 활성 물질의 추출 및 분리로 더욱 효과적인 lipase 저해능을 가질 것으로 보인다. 따라서 기존의 비만 치료제의 부작용을 대체 할 수 있는 천연 항비만 물질로 기대되었다. α -Glucosidase 저해활성을 조사한 결과, MCHM 추출물에서 강한 활성을 보였으나, acarbose에 비해 낮은 α -glucosidase 저해활성을 보였다. Ice plant에서는 D-pinitol과 inositol이 풍부한 것으로 알려졌고, HPLC를 사용하여 ice plant 추출물에 D-pinitol이 포함된 것을 확인 할 수 있었다(data not shown). 그러나 D-pinitol이 인슐린의 역할을 하여 혈당을 낮추는데 도움을 준다고 알려져[26, 27] α -glucosidase의 저해활성이 기대되었으나 저해활성이 강하지는 않았다. Ice plant의 α -glucosidase 저해활성과 D-pinitol의 존재로 당뇨병 치료나 예방에 효과가 좋은 기능성 식품의 가능성이 기대되었다.

결론적으로 ice plant는 pancreatic lipase, α -glucosidase, NO 생성 등을 저해하고, DPPH free radical 소거능이 우수하여, 항산화 물질로서 비만, 당뇨, 염증 치료용 기능성 식품으로서의 가능성을 보여 이를 위한 추가 연구를 진행할 예정이다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었습니다.

References

- Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H. and Yibchok-Anun, S. 2009. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal α -glucosidase. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **24**, 1194-1200.
- Ahn, I. S., Park, K. Y. and Do, M. S. 2007. Weight control mechanisms and antiobesity functional agents. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 503-513.
- Ancerewicz, J., Migliavacca, E., Carrupt, P. A., Testa, B., Bree, F., Zini, R., Tillement, J. P., Labidalle, S., Guyot, D., Chauvet-Monges, A. M., Crevat, A. and Le Ridant, A. 1998. Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* **25**, 113-120.
- Bahn, K. N., Lee, C. H., Cho, T. Y., Lee, J. Y., Lee, Y. J. and Chae, G. Y. 2005. Determination of phosphatidylcholine in Korea functional foods containing lecithins using HPLC with evaporative light-scattering detector (ELSD). *J. Food Hyg. Safety* **20**, 267-271.
- Bates, S. H., Jones, R. B. and Bailey, C. J. 2000. Insulin-like effect of pinitol. *Br. J. Pharmacol.* **130**, 1944-1948.
- Birari, R. B. and Bhutani, K. K. 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. *Drug Discov. Today* **12**, 879-889.
- Bouftira, I., Abdelly, C. and Sfar, S. 2008. Characterization of cosmetic cream with *Mesembryanthemum crystallinum* plant extract: influence of formulation composition on physical stability and anti-oxidant activity. *Int. J. Cosmet. Sci.* **30**, 443-452.
- Cha, J. Y., Cho, Y. S., Kim, I., Anno, T., Rahman, S. M. and Yanagita, T. 2001. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. *Plant Foods Hum. Nutr.* **56**, 349-358.
- Chiou, W. F., Chou, C. J. and Chen, C. F. 2001. Camptothecin suppresses nitric oxide biosynthesis in RAW 264.7 macrophages. *Life Sci.* **69**, 625-635.
- Choi, Y., Lee, S. M., Chun, J., Lee, H. B. and Lee, J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* **99**, 381-387.
- Dong, S., Jung, S. H., Moon, J. S., Rhee, S. K. and Son, J. Y. 2004. Antioxidant activities of clove by extraction solvent. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 609-613.
- Hearing, V. J. 1987. Mammalian monophenol monooxygenase (tyrosinase): purification, properties and reaction catalyzed. *Meth. Enzymol.* **142**, 154-165.
- Hong, Y. S., Lee, K. H., Lee, H. S., Lee, M. S., Jee, S. H. and Joung, H. J. 2007. Association between compliance with dietary guidelines and dyslipidemia among Koreans. *Kor. J. Nutr.* **40**, 745-752.
- Jeong, D. H., Kim, K. B. W. R., Kim, M. J., Kang, B. K. and Ahn, D. H. 2013. Anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Sargassum micracanthum*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 1691-1698.
- Jun, H. I., Wiesenborn, D. P. and Kim, Y. S. 2011. Antioxidant activities of various solvent extracts from canola meal. *Kor. J. Food Preserv.* **18**, 59-64.
- Kang, M. H., Cho, C. S., Kim, Z. S., Chung, H. K., Min, K. S., Park, C. G. and Park, H. W. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 1098-1102.
- Kim, H. Y., Woo, K. S., Hwang, I. G., Lee, Y. R. and Jeong, H. S. 2008. Effects of heat treatments on the antioxidant activities of fruits and vegetables. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **40**, 166-170.
- Kim, J. H., Kim, H. J., Kim, C. Y., Jung, H. Y., Kim, Y. O., Ju, J. Y. and Shin, C. S. 2007. Development of lipase inhibitors from various derivatives of monascus pigment produced by *Monascus* fermentation. *Food Chem.* **101**, 357-364.

19. Kim, J. S., Kwon, C. S. and Son, K. H. 2000. Inhibition of alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**, 2458-2461.
20. Kim, Y. J. and Uyama, H. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell. Mol. Life Sci.* **62**, 1707-1723.
21. Kwon, Y. S., Jeon, I. S., Hwang, J. H., Lim, D. M., Kang, Y. S. and Chung, H. J. 2009. Biological activities of Maca (*Lepidium meyenii*) extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 817-823.
22. Lee, B. G., Kim, S. H., Zee, O. P., Lee, K. R., Lee, H. Y. and Han, J. W. 2000. Suppression of inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages by two-carboline alkaloids extracted from *Melia azedarach*. *Eur. J. Pharmacol.* **406**, 301-309.
23. Lim, S., Lee, H. K., Park, K. S. and Cho, S. I. 2005. Changes in the characteristics of metabolic syndrome in Korea over the period 1998-2001 as determined by Korean National Health and Nutrition Examination Surveys. *Diabetes Care* **28**, 1810-1812.
24. Lim, S. S., Shin, K. H., Bang, H. S., Kim, Y. P., Jung, S. H., Kim, Y. J. and Ohuchi, K. 2002. Effect of the essential oil from the flowers of *Magnolia sieboldii* on the lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and prostaglandin E₂ by rat peritoneal macrophages. *Planta Med.* **68**, 459-462.
25. McCartney-Francis, N., Allen, J. B., Mizel, D. E., Albina, J. E., Xie, Q. W. and Nathan, C. F. 1993. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J. Exp. Med.* **178**, 749-754.
26. Ortmeyer, H. K., Huang, L. C., Zhang, H. L., Hansen, B. C. and Lerner, J. 1993. *Chiro*-inositol deficiency and insulin resistance. II. Acute effect of *D-chiro*-inositol administration in streptozotocin-diabetic rats, normal rats given a glucose load and spontaneously insulin-resistance in spontaneously diabetic rhesus monkeys. *Endocrinology* **132**, 646-651.
27. Pak, Y., Huang, L. C., Lilley, K. J. and Lerner, J. 1992. *In vivo* conversion of *myo*-inositol to *chiro*-inositol in rat tissues. *J. Biol. Chem.* **267**, 16904-16910.
28. Pak, Y., Hong Y., Kim, S., Piccariello, T., Farese, R. V. and Lerner, J. 1998. *In vivo chiro*-inositol metabolism in rat: A defect in *chiro*-inositol synthesis from *myo*-inositol and an increased incorporation of *chiro*-inositol into phospholipids in the Goto-Kakizaki (G. K.) rat. *Mol. Cells* **8**, 301-309.
29. Posadas, I., Terencio, M. C., Guillen, I., Ferrandiz, M. L., Coloma, J. and Paya, M. 2000. Co-regulation between cyclo-oxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression in the time-course of murine inflammation. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **361**, 98-106.
30. Rahman, M. A. A. and Moon, S. S. 2007. Antioxidant polyphenol glycosides from the plant *Draba nemorosa*. *Bull. Kor. Chem. Soc.* **28**, 827-831.
31. Seo, W. G., Pae, H. O., Oh, G. S., Chai, K. Y., Yun, Y. G. and Kwon, T. O. 2000. Inhibitory effects of ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* on the expression of nitric oxide synthase gene in RAW 264.7 macrophages stimulated with interferon and lipopolysaccharide. *Gen. Pharmacol.* **35**, 21-28.
32. Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, Y. S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chem.* **93**, 713-718.
33. Weisz, A., Cicatiello, I. and Esumi, H. 1996. Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon-gamma, bacterial lipopolysaccharide and NG-monomethyl-L-arginine. *Biochem. J.* **316**, 209-215.
34. Yu, M. H., Im, H. G., Lee, H. J., Ji, Y. J. and Lee, I. S. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizypos jujuba* var. inermis Rehder. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **38**, 128-134.

초록 : Ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*) 추출물의 생리 활성

이상률^{1†} · 최현덕^{2,3†} · 유선녕^{2,3} · 김상현² · 박슬기² · 안순철^{2,3*}

(¹부산대학교 의학전문대학원 생화학교실, ²부산대학교 의학전문대학원 미생물학 및 면역학교실, ³부산대학교 Brain Busan 21 면역조절 치료소재 연구인력양성사업단)

본 연구는 ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum*)의 생리활성을 분석하여 기능성 식품으로서의 가능성을 조사하였다. Ice plant는 아프리카와 서유럽, 북미, 남미 그리고 호주에서 서식하는 다육식물로 향당뇨, 항산화, 지질 대사 활성에 효능이 있다고 알려져 있다. Ice plant를 methanol (MCM), ethanol (MCE), 열수(MCHW), 열수 추출 후 methanol (MCHM)로 추출하여, mushroom tyrosinase, pancreatic lipase, DPPH free radical 소거 활성, NO 생성, α-glucosidase에 대한 저해 활성을 측정 하였다. MCM, MCE, MCHW, MCHM 추출물의 추출 수율은 0.37%, 0.33%, 0.5%, 0.07%로 나타났다. MCHW 추출물은 DPPH free radical 소거능에 높은 효과를 보였고, MCM, MCE 추출물은 lipase 저해 활성, α-glucosidase 저해 활성, NO 생성 저해활성을 보였다. 그러나 mushroom tyrosinase 저해 활성은 모든 추출물에서 매우 낮았다. 이러한 결과를 통해 ice plant는 항산화 물질로서 뿐만, 당뇨, 염증 치료용 기능성 식품으로서의 가능성이 매우 높음을 확인할 수 있었다.