

해조류 추출물의 *In Vitro* 항치매 활성

손현정 · 엄민영 · 김인호 · 조승목 · 한대석 · 이창호

한국식품연구원 기능성식품연구본부

In Vitro Screening for Anti-Dementia Activities of Seaweed Extracts

Hyun Jung Son, Min Young Um, Inho Kim, Suengmok Cho, Daeseok Han, and Changho Lee

Division of Functional Food Research, Korea Food Research Institute

ABSTRACT We investigated that methanolic extracts of 20 kinds of seaweeds from Jeju Island for their antioxidant activities, acetylcholinesterase and β -secretase inhibitory activities, and neuronal survival in order to evaluate their potentials as anti-dementia agents. *Ecklonia cava* extracts had the highest total polyphenol content among the 20 seaweed extracts. The antioxidant activity of seaweed extracts was measured by using 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay. It was found that *Ecklonia kurome* extracts had the highest ABTS scavenging activity ($IC_{50}=0.07\pm 0.01$ mg/mL). As a result, *Ecklonia cava*, *Ecklonia kurome*, and *Myelophycus simplex* extracts were found to be the most effective in terms of acetylcholinesterase inhibitory activity. In the β -secretase activity assay, *Ecklonia cava* and *Ecklonia kurome* extracts were effectively inhibited ($84.41\pm 1.70\%$ and $81.17\pm 2.43\%$, respectively). As expected, neuronal cell death induced by H_2O_2 in SH-SY5Y cells was diminished by *Ecklonia cava*, *Ecklonia kurome*, and *Sargassum yezoense* extracts. Taken together, these results showed that *Ecklonia cava* extract has potential anti-dementia activity, which suggests that it might provide an effective strategy for improving dementia.

Key words: seaweed extracts, Alzheimer's disease, acetylcholinesterase, antioxidant activity, neuroprotective effect

서 론

2015년 통계자료에 의하면 우리나라 65세 이상 노인 인구는 13.1%로 2000년 7%에 비해 2배 가까이 증가하였고, 노인 인구 중 퇴행성 뇌 질환인 치매를 앓고 있는 비율은 약 10%에 달해 심각한 사회적 문제로 대두하고 있다(1). 치매는 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 뇌혈관성 치매, 파킨슨병 등으로 구분되며, 이 중 알츠하이머병은 치매의 가장 대표적인 발병 원인으로 노인성 치매 환자의 70% 이상을 차지하고 있다(2).

알츠하이머병은 베타아밀로이드(β -amyloid, A β) 단백질이 주원인 물질로 알려져 있으며, A β 는 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein, APP)이 대사되는 과정에서 γ , β -secretase 효소에 의해 생성된다. 뇌 조직에서 과도하게 생성된 A β 는 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2), 과산화물 음이온(superoxide anion), 하이드록시라디칼(hydroxyl radical) 등의 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 형성하게 되는데 ROS는 신경세포에 산화 스트레스를 유발하고 apoptosis pathway를 활성화해 결과

적으로 시냅스 손상을 유도하여 치매발병 기전에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(3-5). 뿐만 아니라 알츠하이머 환자의 뇌에는 신경전달 물질인 아세틸콜린(acetylcholine, ACh) 함량이 정상인보다 50% 이상 감소하는데 acetylcholinesterase(AChE)의 활성이 증가하면 ACh를 분해해 그 농도를 감소시키고 일련의 반응을 통해 신경세포의 손상을 초래하여 기억력 결핍을 유발한다(6,7). ACh 합성 전구체, AChE inhibitor 등 치매 발생 기전에 근거한 약물들이 다양하게 개발됐으며, 현재 AD 치료제로 tacrine, donepezil, galantamine 및 rivastigmine 등이 상용화되고 있다(8). 하지만 이러한 약물들은 낮은 생체 내 이용률과 간독성 유발 등의 문제점으로 인해 이를 대체할 수 있는 천연물질의 탐색이 꾸준히 요구되고 있다.

해조류는 그 종류가 매우 다양하고 생산량이 풍부하여 한국을 포함한 아시아 지역에서 널리 이용되어 왔으며, 건제품, 염장품, 조미품 및 식품첨가물 등으로 섭취되어 왔다(9). 해조류는 육상식물과 비교하여 불포화지방산, 필수지방산, 수용성 식이섬유가 풍부하고, 미네랄 및 비타민 등의 다양한 기능성 물질을 포함하고 있다(10,11). 해조류의 대표적인 생리활성 물질로는 탄닌류(tannins), 테르펜류(terpene), 페놀류(phenol), 할로겐 화합물군(halogenates) 및 카테킨류(catechins) 등이 있으며(12), 최근 위암세포 증식 억제 효과(13), 항비만 효과(14) 및 수면개선(15) 등의 다양한 기

능성이 보고됨에 따라 천연물 신약 개발의 원료로서 주목받고 있다. 최근 비틀대모자반의 farnesylacetone 유도체로부터 AChE와 butyrylcholinesterase를 억제하는 효과가 있는 것으로 보고되었으며(16), 감태의 dieckol 성분은 AChE를 억제하는 것으로 나타났다(17). 그러나 해조류의 항치매 효능 평가는 일부 해조류에 한해서 이루어져 있으며, 주로 AChE 저해 활성에만 초점이 맞추어져 있다.

이에 본 실험에서는 해조류 추출물 20종을 대상으로 총폴리페놀 함량, ABTS radical 소거 활성, AChE 억제 활성, β -secretase 억제 활성 및 산화 스트레스에 의한 신경세포 보호 효과를 측정하여 해조류의 치매 예방 및 개선 소재로서의 가치를 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 추출

본 실험에 사용된 해조류 추출물은 제주테크노파크(Jeju, Korea)에서 제공받아 사용하였으며, 가시뿔대그물말(*Dictyopteris prolifera*), 갈래잎모자반(*Sargassum pinnatifidum*), 감태(*Ecklonia cava*), 개서실(*Chondria crassicaulis*), 검둥감태(*Ecklonia kurome*), 파배기모자반(*Sargassum siliquastrum*), 모란갈파래(*Ulva conglobata*), 미역(*Undaria pinnatifida*), 미역쇠(*Petalonia binghamiae*), 바위수염(*Myelophycus simplex*), 바위주름(*Petrospongium rugosum*), 불레기말(*Colpomenia sinuosa*), 쌍발이모자반(*Sargassum patens*), 알쏭이모자반(*Sargassum confusum*), 왜모자반(*Sargassum yezoense*), 잎파래(*Enteromorpha linza*), 지층이(*Sargassum thunbergii*), 짝잎모자반(*Sargassum hemiphyllum*), 참그물바탕말(*Dictyota dichotoma*), 툃(*Hizikia fusiformis*)으로 총 20종이다.

제공받은 해조류 추출물은 메탄올을 용매로 실온에서 24 시간 교반 추출하며 상등액을 여과(Whatman No. 2, Whatman International Ltd., Maidstone, UK) 및 감압농축(LABOROTA 4000, Heidoph, Schwabach, Germany) 후 동결건조 시킨 것으로, 시료 검액은 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 일정 농도로 용해해 시험 시료로 사용하였다.

총폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin과 Denis의 방법(18)에 따라 측정하였다. 일정 농도의 해조류 추출물 0.5 mL를 취하여 증류수 6.5 mL와 2 N Folin-Ciocalteu's reagent(Sigma-Aldrich Co.) 0.5 mL를 첨가한 후 상온에서 3분간 반응시켰다. 그 후 20% Na_2CO_3 1 mL와 증류수 1.5 mL를 첨가하여 교반한 다음 실온에서 1시간 동안 발색시켜 UV spectrometer(V-530, Jasco, Tokyo, Japan)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 총폴리페놀 함량은 0~0.5 mg/mL 농도의 phloroglucinol(Sigma-Aldrich Co.)을

표준곡선으로 계산하였다.

ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical 소거 활성은 Arnao 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 2.5 mM의 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS, Wako Pure Chemical Ind., Ltd., Osaka, Japan)와 1.0 mM의 2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride(AAPH, Wako Pure Chemical Ind., Ltd.)를 1:1(v/v) 비율로 혼합하여 70°C의 항온수조에서 30분간 반응시킨 후 냉각시켜 반응을 정지시켰다. Phosphate buffered saline(pH 7.4)을 이용하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.62 ± 0.02 가 되도록 희석하였다. 농도별 시료용액을 20 μL 취하여 ABTS radical solution 980 μL 를 가한 후 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 UV-spectrometer를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조물질로는 Trolox를 사용하였으며, 해조류 추출물의 ABTS radical 소거 활성은 IC_{50} 값으로 표기하였다.

Acetylcholinesterase 저해 활성 측정

Acetylcholinesterase(AChE) 저해 활성은 Ellman법(20)을 변형하여 측정하였다. Cuvette에 2.36 U/mL의 AChE solution 25 μL , 0.1 M phosphate buffer(pH 8.0) 50 μL 와 해조류 추출물(1 mg/mL) 25 μL 를 잘 혼합하여 37°C, 10분간 반응시킨 후 3 mM 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) 용액 125 μL 와 0.075 M acetylcholine iodide 25 μL 를 첨가하여 412 nm에서 흡광도(microplate reader, Epoch, BioTek, Winooski, VT, USA)를 측정하였다.

β -Secretase 효소 억제 활성 측정

해조류 추출물의 β -secretase 효소 활성은 BACE1(β -secretase) FRET assay kit(Panvera, Madison, WI, USA)을 사용하여 측정하였다. Black 96-microwell plate에 10 μL reaction buffer(50 mM sodium acetate, pH 4.5), 10 μL substrate(750 nM Rh-EVNLDAEFK-quencher in 50 mM ammonium bicarbonate), β -secretase 효소(1 units/mL) 및 각 해조류 추출물(1 mg/mL) 10 μL 를 순서대로 첨가하여 1시간 반응시킨 후 stop solution 10 μL 를 가하여 반응을 정지시켰다. Substrate인 Rh-EVNLDAEFK-quencher는 β -secretase에 의해 잘려져 형광을 나타내므로 형광분광계(Infinite M200, Tecan, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 Ex 545/Em 585 nm 파장으로 형광강도를 측정하였다.

신경세포사멸 억제 효과

본 실험에서 사용한 human neuroblastoma SH-SY5Y 세포(VA 20108)는 ATCC(Manassas, VA, USA)에서 분양받아 사용하였다. 세포 배양조건은 Dulbecco's modified Eagle medium(Gibco, Carlsbad, CA, USA)에 10% fetal

bovine serum(Gibco)과 1% penicillin streptomycin(Gibco)을 첨가하여 사용하였으며, incubator 조건은 37°C 온도에서, 5% CO₂가 공급되어 세포배양에 적절하도록 설정하였다.

H₂O₂ 처리에 의한 해조류 추출물의 신경세포 보호 효과는 MTT assay를 이용하여 측정하였다(21). 배양된 SH-SY5Y 세포를 96 well plate에 2×10⁴ cells/well 농도로 분주하여 24시간 동안 pre-incubation 후 30 μM 농도의 H₂O₂를 처리하여 세포독성을 유발하고, 해조류 추출물을 농도별(50, 100 μg/mL)로 처리하여 24시간 더 배양하였다. 세포생존을 측정하기 위해 MTT solution을 처리하여 37°C, 4시간 동안 반응시켰고, DMSO를 첨가하여 보라색으로 염색된 formazan을 용해해 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 해조류 추출물 용해 시 사용된 DMSO는 신경세포에 0.1% 농도로 최종 처리하였고, 신경세포 사멸 및 보호 효과에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다. Cell viability는 control의 생존율에 대한 백분율로 나타내었다.

통계처리

모든 결과는 SPSS(version 18.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 평균±표준편차로 나타내었다. 각 처리군 간의 유의성 검증은 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여 확인하였으며, P<0.05 수준으로 Tukey's test를 실시하였다.

결과 및 고찰

총폴리페놀 함량 측정

페놀성 화합물은 식물체에 다량 분포된 2차 대사산물의 하나로 phenolic hydroxyl(OH) 기를 포함하며 단백질 및 거대 분자와 쉽게 결합하는 성질을 갖고 있다. 페놀성 화합물은 항산화 효과 등 다양한 기능을 갖는 것으로 알려져 있으며, 함량이 증가할수록 항산화 활성 또한 증가하는 특징을 보인다(22,23).

본 실험에서는 20종 해조류 추출물의 비교를 위해 총폴리페놀 함량을 측정하였고, 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 20종의 해조류 추출물 중 감태의 총폴리페놀 함량이 123.00±4.31 mg/g으로 가장 높았으며, 검등감태 110.34±5.80 mg/g, 파배기모자반 47.38±7.01 mg/g, 왜모자반 36.19±3.88 mg/g, 개서실 28.96±0.70 mg/g 순으로 총폴리페놀 함량이 높은 것으로 측정되었다. 반면 불레기말의 총폴리페놀 함량은 1.52±0.13 mg/g으로 20종 해조류 추출물 중 가장 낮은 것으로 나타났다.

감태는 플로탄닌계 폴리페놀 화합물인 eckol류가 대표적인 생리활성 물질로 알려져 있으며, 다른 해조류에 비해 다량 함유되어 있어 항산화 활성이 우수한 것으로 알려져 있다. 해조류 추출물 10종의 항산화 활성을 비교한 Kim 등(24)의 연구에서 감태의 총폴리페놀 함량은 144.69±0.43

Table 1. Total polyphenol contents and ABTS scavenging activity of various seaweed extracts

Scientific name	Polyphenol ¹⁾ (mg/g)	ABTS scavenging activity IC ₅₀ (mg/mL)
<i>Dictyopteria prolifera</i>	21.26±2.87	5.36±0.65
<i>Sargassum pinnatifidum</i>	7.59±1.05	27.92±0.34
<i>Ecklonia cava</i>	123.00±4.31	0.08±0.00
<i>Chondria crassicaulis</i>	28.96±0.70	42.39±3.54
<i>Ecklonia kurome</i>	110.34±5.80	0.07±0.00
<i>Sargassum siliquastrum</i>	47.38±7.01	1.46±0.10
<i>Ulva conglobata</i>	18.08±2.58	11.94±0.62
<i>Undaria pinnatifida</i>	8.67±0.93	18.37±1.17
<i>Petalonia binghamiae</i>	13.18±0.36	19.24±0.31
<i>Myelophycus simplex</i>	8.21±1.21	40.46±1.84
<i>Petrospongiium rugosum</i>	11.39±0.49	8.21±0.30
<i>Colpomenia sinuosa</i>	1.52±0.13	149.37±21.80
<i>Sargassum patens</i>	7.12±1.87	27.47±1.61
<i>Sargassum confusum</i>	14.43±1.55	2.67±0.11
<i>Sargassum yezoense</i>	36.19±3.88	1.33±0.13
<i>Enteromorpha linza</i>	10.62±3.10	21.43±1.11
<i>Sargassum thunbergii</i>	5.33±0.75	30.27±0.37
<i>Sargassum hemiphyllum</i>	21.73±3.05	2.06±0.05
<i>Dictyota dichotoma</i>	10.93±1.15	2.79±0.08
<i>Hizikia fusiformis</i>	5.10±2.15	27.60±3.27

Data represent mean±SD of three independent experiments.

¹⁾The total polyphenol contents were determined with reference to the standard curve of phloroglucinol equivalents.

mg/g으로 본 실험에서 측정된 값과 유사한 수치를 나타내었다. 또한, Cho 등(25)은 에탄올 추출한 파배기모자반이 대표적인 항산화 식품인 양파, 토마토보다 폴리페놀 함량이 높은 것으로 보고된 바 있어 해조류의 우수한 항산화 성분을 활용한 기능성 식품 소재로의 개발 가능성이 기대된다.

ABTS radical 소거능

ABTS assay는 potassium persulfate와 ABTS가 반응하여 청록색의 ABTS radical을 형성하고, 생성된 ABTS radical은 시료가 갖는 항산화 정도에 의해 특유의 청록색이 무색의 물질로 환원되는 것을 이용한 측정법으로 소수성과 친수성 물질 모두 적용 가능한 장점이 있어 식품 추출물의 항산화 활성 측정에 널리 활용되고 있다(26,27).

본 실험에서는 Trolox를 대조물질로 20종 해조류 추출물의 ABTS radical 소거능을 비교하였으며, 그 결과를 Table 1에 제시하였다. 검등감태와 감태 추출물의 IC₅₀ 값은 각각 0.07±0.00 mg/mL, 0.08±0.00 mg/mL로 대조물질인 Trolox(IC₅₀ 0.12 mg/mL)보다 높은 ABTS radical 소거 활성을 보여, 총폴리페놀 함량이 높은 검등감태와 감태 추출물이 ABTS radical 소거능 역시 우수한 것을 확인할 수 있었다. Kim 등(24)은 해조류 추출물의 항산화 연구에서 총폴리페놀 함량이 높은 해조류가 DPPH 및 ABTS radical 소거능도 우수한 결과를 나타내어 본 실험과 같은 양상을 보였으며, 폴리페놀 화합물에 존재하는 phenolic ring이 free radical을 안정화함으로써 인해 우수한 항산화 활성을 갖는 것으로

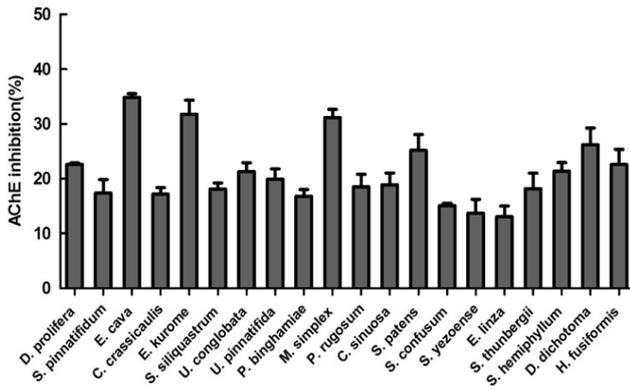


Fig. 1. Inhibitory effects against AChE of methanol extracts from various seaweed. Data represent mean±SD of three independent experiments. Acetylcholinesterase inhibitory activity of each seaweed extracts was measured at 1 mg/mL.

보고하였다.

Acetylcholinesterase 저해 활성

기억력 손상 및 인지 장애를 특징으로 하는 신경퇴행성 뇌질환인 알츠하이머병은 AChE 활성 증가로 인한 ACh 분해로 콜린 기능의 결손이 주요 원인으로 제시되고 있다. 신경전달물질인 ACh의 분해를 막기 위해 AChE inhibitor를 치료제로 사용하고 있으며, 뇌에서 ACh 농도 유지는 인지 기능 개선 효과와 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다 (28,29).

이에 본 연구에서는 해조류 추출물의 기억력 효능을 확인하기 위해 AChE 저해 활성을 측정하였으며 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 그 결과 감태 35.85±0.54%, 검등감태 31.77±2.56%, 바위수염 31.14±1.24% 순으로 20종 중 3종이 30% 이상의 저해 활성을 나타내었다. 가시뼈대그물말, 모란갈과래, 쌍발이모자반, 짝잎모자반, 참그물바탕말, 툯은 20~30%의 저해 활성을 갖는 것으로 관찰됐지만 미역을 포함한 11종의 해조류 추출물은 10~20%의 비교적 낮은 저해 활성을 가지는 것으로 확인되었다.

Myung 등(30)은 감태로부터 분리한 dieckol과 플로로탄

닌 복합체가 뇌에서 ACh 농도를 증가시키고 AChE 활성을 억제하여 신경전달물질의 level을 조절하며, 인지능력의 향상을 유도하는 것으로 보고하였다. Lee와 Stein(31)은 다시마목 해조류 추출물을 분획하여 AChE 저해 활성을 측정하고 결과 플로로탄닌 성분으로 구성된 분획에서 높은 저해 활성을 나타냈지만 플로로탄닌을 제거한 분획에서는 AChE 저해 활성이 나타나지 않았다. 이는 해조류의 플로로탄닌 성분이 AChE 저해에 전적으로 기인하는 것이라 보고하였다. 본 연구에서도 감태 및 검등감태의 폴리페놀 함량은 높았으며, 이에 우수한 AChE 저해 활성을 보인 것으로 생각한다. 반면 바위수염 추출물은 총폴리페놀 함량이 낮음에도 불구하고 높은 AChE 저해 활성을 나타내었다. Gao 등(32)은 갈조류로부터 추출한 fucoidan 성분을 Aβ 투여 실험동물에게 일정기간 보충한 결과 뇌 조직에서 ACh 함량은 증가하고 cholineacetyltransferase(ChAT) 함량은 감소되어 AChE의 활성이 저해되는 것으로 보고하였다. Lin 등(33)은 갈조류의 카로티노이드류인 fucoxanthin이 AChE 활성을 저해하는 것으로 보고하였다. 이에 바위수염 추출물에 함유된 fucoidan, fucoxanthin 등에 의해 AChE 활성이 저해된 것으로 생각되며, 향후 연구에서는 유효성분의 AChE 억제 활성에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

β-Secretase 효소 억제 활성

β-Secretase는 APP에 특이적으로 반응하는 효소로 APP 아미노산 말단을 절단하여 Aβ 생성에 관여하며, 최근 알츠하이머 질환 치료제로 많이 연구되고 있다(34). 이에 본 연구에서는 Aβ 생성에 영향을 미칠 수 있는 β-secretase 효소에 대한 해조류 추출물의 억제 활성을 측정하였다.

Fig. 2에 제시한 바와 같이 감태와 검등감태 추출물에서 각각 84.41±1.70%, 81.17±2.43%로 높은 억제 활성을 보였고, 왜모자반이 18.82±6.29%로 비교적 낮은 억제 활성이 있는 것으로 나타났다. 그러나 감태, 검등감태 및 왜모자반 3종을 제외한 나머지 해조류 추출물에서는 10% 미만의 억제 활성이 관찰되어 β-secretase 효소 활성 억제 효과가 미미한 것으로 확인되었다. Kang 등(35)은 감태 부탄올 추

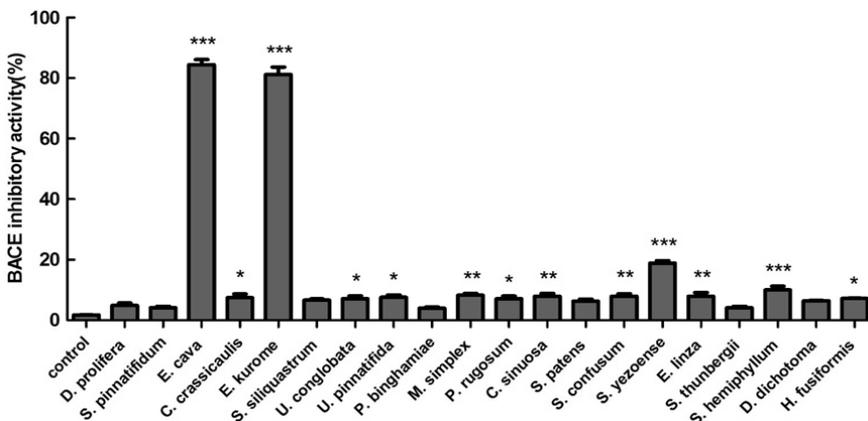


Fig. 2. Inhibitory effect of various seaweed extracts (1 mg/mL) on β-secretase activity. Data represent mean±SD of the three independent experiments. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group.

출물의 β -secretase 활성 억제를 보고하여 본 연구와 비슷한 연구 결과를 제시하였다. 따라서 β -secretase 효소 억제 활성을 나타낸 감태와 검둥감태는 항치매 효과를 갖는 건강 기능식품소재로 활용 가능성이 높을 것으로 판단되며 향후 $A\beta$ 형성 조절 기전에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

신경세포사멸 억제 효과

생체 내에서 ROS의 과다생성은 protein oxidation, lipid oxidation 및 DNA 손상을 유도해 신경세포 사멸에 영향을 미친다(36). 뇌 조직 중 신경세포는 구성 지방산의 비율이 높아 산화 스트레스에 매우 취약한 것으로 알려져 있으며, 산화 스트레스가 증가하면서 신경세포에 손상을 일으킴으로써 알츠하이머병과 같은 신경 퇴행성 질환을 유발하게 된다(37).

이에 본 연구에서는 H_2O_2 로 산화 스트레스를 유도한 SH-SY5Y cell에 해조류 추출물을 처리하여 산화 스트레스에 의한 신경세포 보호 효과를 측정하였고, 그 결과를 Fig. 3에 제시하였다. H_2O_2 처리농도 확립을 위하여 배양 세포에 10~50 μM 농도의 H_2O_2 를 처리하여 세포생존율이 50% 되는 농도를 선정하였다. H_2O_2 농도가 증가할수록 세포생존율은 유의적으로 감소하였고, H_2O_2 30 μM 처리농도에서 세포생

존율이 약 50%로 측정되어 시험조건을 확립하였다.

한편 H_2O_2 30 μM 과 각각의 해조류 추출물(50, 100 $\mu g/mL$)을 동시에 처리한 결과 H_2O_2 단독처리구에 비하여 100 $\mu g/mL$ 농도에서 감태 96.26 \pm 2.03%, 검둥감태 81.58 \pm 2.91%, 왜모자반 74.61 \pm 4.19%의 세포생존율을 보여 산화 스트레스에 의해 유도된 신경세포사멸을 억제하는 것으로 나타났다. 특히 감태 추출물의 경우 50 $\mu g/mL$ 농도에서도 74.82 \pm 3.05%의 세포생존율을 나타내어 신경세포 보호 효과가 다른 해조류 추출물과 비교하여 우수한 것으로 확인되었다. 그러나 감태, 검둥감태, 왜모자반을 제외한 나머지 추출물에서는 H_2O_2 에 의해 유도된 신경세포사멸은 회복되지 않았다. 감태 추출물의 신경세포 보호 효과를 확인한 Heo 등(38)의 연구에서 H_2O_2 단독처리구와 비교 시 감태 추출물을 처리한 시험구의 세포생존율이 약 1.6배 증가하여 신경세포 보호 효과를 보고하였다. 또한, 본 연구에서 제시한 바와 같이 감태는 다른 해조류에 비해 총폴리페놀 함량도 가장 높았으며, 우수한 ABTS radical 소거 활성도 나타내었다. 따라서 감태 추출물에 존재하는 다량의 항산화 성분이 신경세포 내 ROS를 효과적으로 감소시켜 신경세포사멸 억제 효과를 갖는 것으로 판단된다.

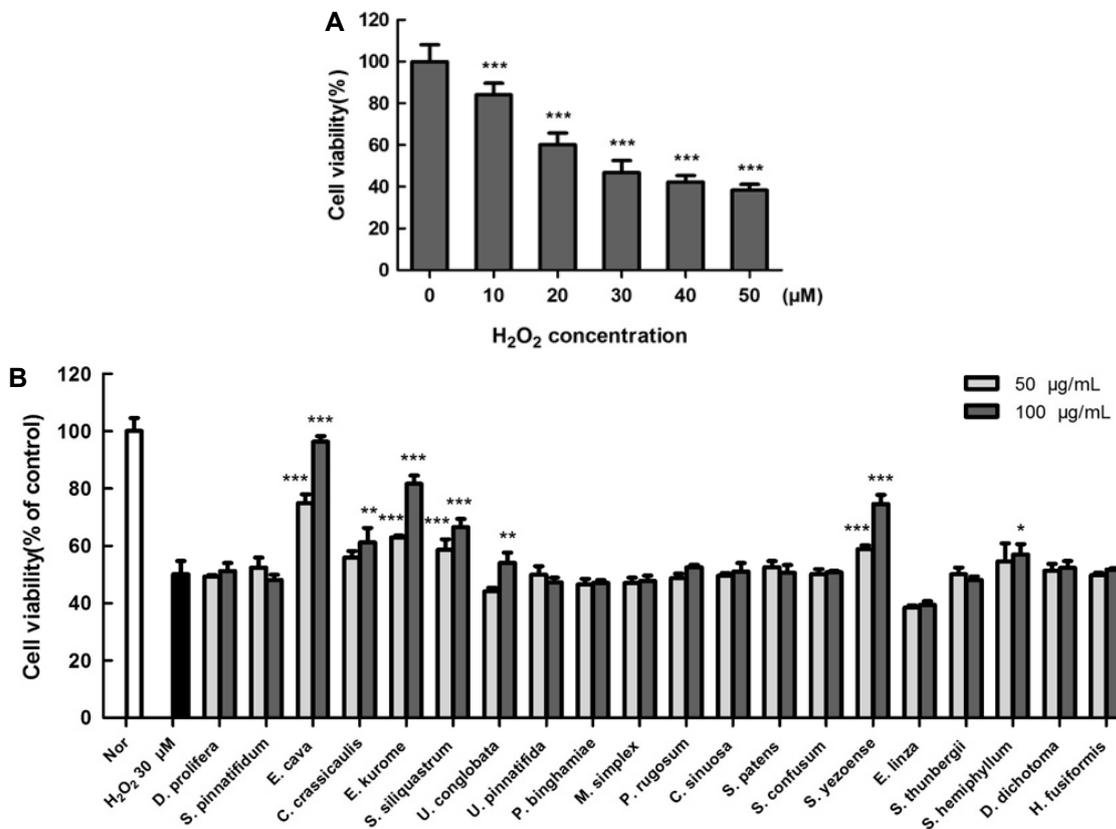


Fig. 3. Effects of various seaweed extracts on H_2O_2 induced neuronal cell death. (A) Effects of H_2O_2 on the viability of SH-SY5Y cells were estimated. (B) Cells were treated with 30 μM H_2O_2 and various seaweed extracts for 24 h. The maximum concentration of DMSO in cells was 0.1%. Data represent mean \pm SD of the three independent experiments. * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001 compared with the H_2O_2 only treated cells.

요 약

본 연구에서는 해조류 추출물 20종의 치매 예방 및 개선 소재로서의 가치를 검토하기 위해 총폴리페놀 함량, ABTS radical 소거능, acetylcholinesterase(AChE) 저해 활성, β -secretase 효소 억제 활성 및 신경세포 보호 효과를 비교하였다. 해조류 추출물의 총폴리페놀 함량과 ABTS radical 소거능을 측정된 결과 감태 추출물의 총폴리페놀 함량이 가장 높았으며, 검등감태와 감태 추출물이 높은 ABTS radical 소거능을 나타내었다. AChE 저해 활성을 검토한 결과 감태, 검등감태, 바위수염이 30% 이상의 높은 저해 활성을 보였고 그중 감태가 가장 높은 억제율을 나타내었다. 또한, β -secretase 효소 억제 활성은 검등감태, 감태, 왜모자반 추출물에서 관찰되었다. H_2O_2 에 의해 유도된 신경세포 독성에 대한 보호 효과는 감태, 검등감태, 왜모자반 추출물 100 μ g/mL 농도에서 관찰되었다. 이상의 결과로 미루어 보았을 때 감태 추출물이 치매 예방 및 개선제로서의 활용 가능성이 가장 뛰어난 것으로 생각되며, 추가로 생리활성 물질 구명 및 작용기전 입증을 위한 후속 연구가 진행되어야 할 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 한국식품연구원 정신건강 증진식품 연구개발사업(E0091400-07)과 사회문제 해결형 뇌신경계 조절 식의 약소재 개발사업(E0164500-01)에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

1. KOSTAT. 2015. *Elderly statistics 2015*. Statistics Korea, Deajeon, Korea.
2. Morris JC. 1996. Classification of dementia and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 165: 41-50.
3. Selkoe DJ. 1999. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature* 399: A23-A31.
4. Hwang DY, Chae KR, Kang TS, Hwang JH, Lim CH, Kang HK, Goo JS, Lee MR, Lim HJ, Min SH, Cho JY, Hong JT, Song CW, Paik SG, Cho JS, Kim YK. 2002. Alterations in behavior, amyloid beta-42, caspase-3, and Cox-2 in mutant PS2 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 16: 805-813.
5. Park GH, Jang JH. 2013. Protective effect of luteolin against β -amyloid-induced cell death and damage in BV-2 microglial cells. *Kor J Herbology* 28: 79-86.
6. Younkin SG, Goodridge B, Katz J, Lockett G, Nafziger D, Usiak MF, Younkin LH. 1986. Molecular forms of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Fed Proc* 45: 2982-2988.
7. Talsa VN. 2001. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 122: 1961-1969.
8. Figueiró M, Ilha J, Pochmann D, Porciúncula LO, Xavier LL, Achaval M, Nunes DS, Elisabetsky E. 2010. Acetylcholinesterase inhibition in cognition-relevant brain areas of mice treated with a nootropic Amazonian herbal (Marapua-

- ma). *Phytomedicine* 17: 956-962.
9. Kim JA, Lee JM. 2004. The changes of biologically functional compounds and antioxidant activities in *Hizikia fusiformis* with drying methods. *Korean J Food Cult* 19: 200-208.
10. Brownlee IA, Allen A, Pearson JP, Dettmar PW, Havler ME, Atherton MR, Onsøyen E. 2005. Alginate as a source of dietary fiber. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45: 497-510.
11. MacArtain P, Gill CI, Brooks M, Campbell R, Rowland IR. 2007. Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr Rev* 65: 535-543.
12. König GM, Kehraus S, Seibert SF, Abdel-Lateff A, Müller D. 2005. Natural products from marine organisms and their associated microbes. *ChemBioChem* 7: 229-238.
13. Choi HJ, Seo YW, Lim SY. 2007. Effect of solvent extracts from *Sargassum hemiphyllum* on inhibition of growth of human cancer cell lines and antioxidant activity. *J Life Sci* 17: 1533-1538.
14. Beak G, Goo BG, Ahn BJ, Park JK. 2013. Effects of water-soluble polysaccharides from Tott on lipid absorption and animal body weight. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 556-562.
15. Cho S, Han D, Kim SB, Yoon M, Yang H, Jin YH, Jo J, Yong H, Lee SH, Jeon YJ, Shimizu M. 2012. Depressive effects on the central nervous system and underlying mechanism of the enzymatic extract and its phlorotannin-rich fraction from *Ecklonia cava* edible brown seaweed. *Biosci Biotechnol Biochem* 76: 163-168.
16. Ryu G, Park SH, Kim ES, Choi BW, Ryu SY, Lee BH. 2003. Cholinesterase inhibitory activity of two farnesylacetone derivatives from the brown alga *Sargassum sagamianum*. *Arch Pharm Res* 26: 796-799.
17. Oh JK, Song KJ, Ji MY, Yoon JH. 2014. Effect of *Ecklonia cava* extracts supplementation on cognitive ability in mice. *Kor J Herbology* 29: 103-109.
18. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
19. Arnao MB, Cano A, Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* 73: 239-244.
20. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95.
21. Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
22. Halliwell B, Aeschbach R, Löliger J, Aruoma OI. 1995. The characterization of antioxidants. *Food Chem Toxicol* 33: 601-617.
23. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
24. Kim JH, Kang HM, Lee SH, Lee JY, Park LY. 2015. Antioxidant and α -glucosidase inhibition activity of seaweed extracts. *Korean J Food Preserv* 22: 290-296.
25. Cho SH, Kang SE, Cho JY, Kim AR, Park SM, Hong YK, Ahn DH. 2007. The antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *J Med Food* 10: 479-485.
26. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an im-

- proved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
27. Uchida K, Stadtman ER. 1993. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. *J Biol Chem* 268: 6388-6393.
 28. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. 1983. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219: 1184-1190.
 29. Shao D, Zou C, Luo C, Tang X, Li Y. 2004. Synthesis and evaluation of tacrine-E2020 hybrids as acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett* 14: 4639-4642.
 30. Myung CS, Shin HC, Bao HY, Yeo SJ, Lee BH, Kang JS. 2005. Improvement of memory by dieckol and phlorofucofuroeckol in ethanol-treated mice: possible involvement of the inhibition of acetylcholinesterase. *Arch Pharm Res* 28: 691-698.
 31. Lee BH, Stein SM. 2004. Improvement of learning behavior of mice by an antiacetylcholinesterase and neuroprotective agent NX42, a Laminariales-alga extract. *Korean J Food Sci Technol* 36: 974-978.
 32. Gao Y, Li C, Yin J, Shen J, Wang H, Wu Y, Jin H. 2012. Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, improves cognitive impairment induced by infusion of A β peptide in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 33: 304-311.
 33. Lin J, Huang L, Yu J, Xiang S, Wang J, Zhang J, Yan X, Cui W, He S, Wang Q. 2016. Fucoxanthin, a marine carotenoid, reverses scopolamine-induced cognitive impairments in mice and inhibits acetylcholinesterase *in vitro*. *Mar Drugs* 14: 67.
 34. Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M. 1999. β -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286: 735-741.
 35. Kang IJ, Jeon YE, Yin XF, Nam JS, You SG, Hong MS, Jang BG, Kim MJ. 2011. Butanol extract of *Ecklonia cava* prevents production and aggregation of beta-amyloid, and reduces beta-amyloid mediated neuronal death. *Food Chem Toxicol* 49: 2252-2259.
 36. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUPRECHT (Omiija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
 37. Kirkinezos IG, Moraes CT. 2001. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases. *Semin Cell Dev Biol* 12: 449-457.
 38. Heo SJ, Park EJ, Lee KW, Jeon YJ. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresour Technol* 96: 1613-1623.