

아이스플랜트(*Mesembryanthemum crystallinum*)의 3T3-L1 전지방세포 분화 및 Angiotensin-Converting Enzyme(ACE) 활성 억제

— 연구노트 —

강승미 · 김선정 · 남상해
경남과학기술대학교 식품과학과

Inhibitory Effect of Cell Differentiation against 3T3-L1 Pre-Adipocytes and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Activity of Ice Plant (*Mesembryanthemum crystallinum*)

Seung Mi Kang, Seon Jeong Kim, and Sanghae Nam

Division of Food Science, Gyeongnam National University of Science & Technology

ABSTRACT *Mesembryanthemum crystallinum* (Family: Aizoaceae) is an annual plant consisting of ice crystal-shaped bladder cells, which is responsible for its common name ice plant. This study investigated biological activities according to general components and extraction solvent in order to examine the functionality of ice plant. The total content of free amino acids was 32.57 mg/g, including 4.64 mg/g of L-alanine as the most abundant and 2.60 mg/g of γ -amino-butyric acid. Regarding angiotensin converting enzyme inhibitory activities of solvent fractions of ice plant, ethyl acetate fraction and chloroform fraction showed activities of 33.17 \pm 3.20~88.19 \pm 3.20% and 23.72 \pm 2.89~86.78 \pm 2.24%, respectively, similar to Captopril[®] (19.51 \pm 3.44~84.72 \pm 1.06%) and Enalapril[®] (24.93 \pm 1.12~91.32 \pm 3.62%) as positive control groups. Regarding inhibition of lipid droplet production in 3T3-L1 preadipocytes by ice plant, anti-adipogenic activities were 53.00 \pm 0.45~65.75 \pm 0.31% and 44.16 \pm 0.29~63.32 \pm 0.36% in the ethyl acetate fraction and butanol fraction, respectively, showing the lowest lipid droplet production. The chloroform fraction and hexane fraction showed activities of 38.33 \pm 0.09~56.55 \pm 0.50% and 31.17 \pm 0.50~55.10 \pm 1.93%, respectively, whereas the water fraction showed activity of 26.32 \pm 2.27~49.48 \pm 0.05%. Therefore, all solvent fractions inhibited fat accumulation of 3T3-L1 preadipocytes according to treatment concentration. According to the results above, it would be possible to utilize ice plant as a new health functional material.

Key words: 3T3-L1 adipocytes, lipid accumulation, angiotensin-converting enzyme (ACE), solvent fraction, ice plant

서 론

최근 현대사회는 식습관과 더불어 운동 부족, 스트레스, 과음, 흡연 등의 이유로 비만 인구가 증가하고 있다(1). 비만은 체지방이 과도하게 축적되는 현상으로 지방세포의 비정상적인 크기와 숫자는 지방축적의 직접적인 원인이다. 지방세포는 mesenchymal precursor에서 preadipocyte를 거쳐 분화되며, 분화과정 동안 지방축적, 크기의 증가 이후 새로운 preadipocyte로부터 분화된다(2). 지방세포의 크기 증가(hypertrophy)와 숫자 증가(hyperplasia)는 비만뿐 아니라 염증, 고혈압, 당뇨병 등 만성대사 질환을 증가시키는 위험요소이다(3). 현재 비만 치료를 위해 orlistat을 주원료로 하는 Xenical[®]을 사용하고 있다. 그러나 Xenical[®]은 lipase

작용을 억제하여 지방변과 가스 생성, 지용성 비타민 흡수 방해 등의 부작용이 나타나 천연물을 이용한 치료제가 요구되고 있다(4,5).

특히 비만과 고혈압은 발병원인에 있어 상관성이 매우 크다고 할 수 있다. 비만이 고혈압을 일으키는 기작을 살펴보면 체내 체지방의 증가로 말초조직의 인슐린 저항성이 높아져 교감신경을 자극하게 되고 Na 재흡수를 촉진해 고혈압이 유발된다(6). 이외에도 고혈압과 비만의 상관관계에 대하여 체지방률에 따른 혈압의 차이(7), 비만도와 신체활동이 성인 고혈압에 미치는 영향(8) 등 비만과 고혈압의 상관관계에 대한 문헌을 찾을 수 있었다. 고혈압과 관련되는 angiotensin-converting enzyme(ACE)은 angiotensin I에서 angiotensin II로 전환되는 마지막 단계에 관여하는 효소이며 angiotensin II는 angiotensin II type 1 수용체(AT1)와 결합하여 혈관을 수축시키고 부신피질의 흥분을 통해 알도스테론의 유리를 촉진해 결과적으로 혈압을 증가시킨다. 따라서 ACE의 활성을 저해함으로써 혈압의 증가를 억제할 수 있게 된다(9,10). 고혈압 치료제를 개발하기 위해 ACE를

Received 28 February 2017; Accepted 24 July 2017

Corresponding author: Sanghae Nam, Division of Food Science, Gyeongnam National University of Science & Technology, Jinju, Gyeongnam 52725, Korea

E-mail: shnam@gntech.ac.kr, Phone: +82-55-751-3274

저해하는 물질인 Captopril®과 Enalapril® 등을 포함하여 다양한 저해제가 연구되었으나 화학 합성치료제들은 헛기침, 미각 장애 및 피부홍진 등의 부작용을 나타낸다고 보고된 바 있다(11). 따라서 최근에는 식품과 같은 천연물 유래의 ACE 저해제 개발에 많은 관심을 기울이고 있다.

그중에서도 식용으로 이용되는 작물의 생리활성 물질에 대한 관심이 높아지고 있으며 이와 관련해 최근 국내에서 기능성 작물로 각광받고 있는 아이스플랜트(*Mesembryanthemum crystallinum*)는 일본에서도 성인병 예방에 탁월한 고기능성 식물로 알려져 있다(12). 아이스플랜트는 번행초과(Aizoaceae) 솔잎채송화속의 1년생 초목으로 줄기와 잎에 얼음 결정처럼 보이는 블러더 세포(bladder cell)에는 이노시톨류, 베타카로틴과 같은 인체에 유용한 성분과 각종 미네랄을 함유하고 있으며, 항산화, 혈당저하, 항균효과 등 다양한 생리활성 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다(13).

최근 아이스플랜트의 다양한 효능이 알려지면서 우리나라에서도 다량 재배하는 농가가 늘고 있으며, 소비량 또한 증가하고 있다. 그러나 국내에서는 아이스플랜트에 대한 연구는 아직 미비한 실정이며, 특히 고혈압과 비만에 대한 효능은 거론되고 있으나 그것을 근거하는 자료는 거의 없다. 아이스플랜트 추출물에 대해 지방생성 예방 및 지방분해 증가(14)가 보고된 바 있으나, 아이스플랜트의 추출용매별 생리활성에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다. 본 연구에서는 아이스플랜트의 추출용매에 따른 ACE 저해 활성과 3T3-L1 전지방세포를 이용한 지방세포 분화억제 효과를 측정하였고, 이를 통해 아이스플랜트의 생리활성 물질에 대한 기초 자료를 제공하고 기능성 식품 소재로의 우수성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 용매분획

실험에 사용한 아이스플랜트는 송이애농장(Sacheon, Korea)으로부터 구입하여 깨끗이 세정한 후 동결 건조하여 사용하였다. 건조된 아이스플랜트 분말 200 g에 4 L의 메탄올을 가하여 실온에서 3일간 각각 3회 추출·여과한 후 합하여 농축하고 증류수에 현탁하였다. 그 후 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol로 용매의 극성도를 높여가며 순차적으로 분획하였고, 최종적으로 남은 부분을 water 분획으로 하였다. 이 용매 분획물들을 농축하여 -80°C deep freezer에 보관하면서 실험에 사용하였다. 아미노산의 분석은 동결 건조한 아이스플랜트 분말을 시료로 사용하였다.

γ-Aminobutyric acid 함량

아이스플랜트 건조분말 100 mg에 증류수 5 mL를 가하여 60°C heating block에서 1시간 가열하고 10% 5-sulfosalicylic acid 1 mL를 넣고 교반한 후, 4°C에서 2시간 동안 정치하였다. 1,500 rpm에서 2~3분간 원심분리 하고 탈지

면을 채운 1회용 주사기를 이용하여 여과한 후 진공농축기로 농축하였다. 0.2 M lithium citrate buffer(pH 2.2) 2 mL를 가하여 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 아미노산 자동분석기(L-8900, Hitachi Co., Tokyo, Japan)로 분석하였다.

ACE 저해 활성 측정

ACE 저해 활성 측정은 기질 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(Hip-His-Leu)에 ACE가 작용하여 생성된 hippuric acid를 측정하는 Cushman과 Cheung(15)의 spectrophotometric assay 방법을 변형하여 측정하였다. Rabbit lung acetone powder(L-0756, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 0.3 M NaCl을 함유한 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)를 1 g/mL(w/v) 농도로 4°C에서 24시간 추출한 후 4°C에서 10,000 rpm으로 30분간 원심분리 하였다. ACE 저해 활성 측정은 먼저 시료 50 μL에 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL, ACE 조효소액 50 μL를 가하여 37°C에서 5분간 예비반응 후, 0.3 M NaCl이 함유된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 5 mL와 Hip-His-Leu(H-1635, Sigma-Aldrich) 25 mg을 mix 하여 만든 기질 50 μL를 넣어 37°C에서 30분간 반응시켰다. 1 N HCl 300 μL로 반응을 정지시킨 후 ethyl acetate 1 mL를 첨가, 15초 교반한 후 4°C, 3,000 rpm으로 5분간 원심분리 하여 상등액을 취하였다. 얻은 상등액 0.8 mL를 120°C에서 30분간 완전건조 후 증류수 1 mL를 넣어 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료용매 50 μL로 실험하였고, 각 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

$$\text{ACE inhibition (\%)} = \left(1 - \frac{S - SB}{C - CB}\right) \times 100$$

S: sample absorbance

SB: absorbance of sample blank

C: control absorbance

CB: absorbance of control blank

3T3-L1 세포배양과 분화유도

항비만 활성은 마우스 지방전구세포를 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포의 배양은 1% penicillin-streptomycin(PS, Gibco Co., Gaithersburg, MD, USA)과 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco Co.)을 넣은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Gibco Co.) 배지로 5% CO₂, 37°C 조건에서 70% 세포가 자랐을 때 계대배양 하였다. 배양은 2일 간격으로 하고, 세포는 phosphate buffered saline(PBS)으로 세척한 후 0.25% trypsin-EDTA 용액을 넣어 5% CO₂, 37°C에서 3분간 정치 후 세포를 탈착시켜 1,000 rpm에서 4분 동안 원심분리 한 후 8×10⁴ cells/well씩 분주하여 계대배양 하여 유지하였다. 분화를 유도하기 위하여 세포를 탈락시켜 6-well plate

에 8×10^4 cells/well을 분주하여 세포가 100% 밀집되게 배양하였다(16). 3T3-L1 cell이 confluent stage에 도달하면 10% FBS와 MDI solution(0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine, 1 μ M dexamethasone, 10 μ g/mL insulin)을 처리하여 분화를 유도하였다. 다시 2일 후 10 μ g/mL insulin, 10% FBS, 1% PS가 포함된 DMEM으로 교환하였고 이때 아이스플래트 분획물 시료를 농도별로 처리하였으며 2일 간격으로 insulin과 시료를 처리하였다. 분화 유도 6일째부터 매일 10% FBS와 1% PS가 포함된 DMEM으로 교환하여 총 8일 동안 배양하여 세포 내 지방구의 형성을 근거하여 분화를 확인하였다(17).

세포생존을 측정

추출물에 의한 3T3-L1 지방전구세포의 세포독성을 확인하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay(18)를 수행하였다. 세포를 24-well plate에 2×10^4 cells/well로 분주하여 10% FBS가 포함된 DMEM을 넣어 24시간 동안 안정화시킨 후, 시료를 농도별로 희석한 배지를 처리하여 5% CO₂, 37°C 조건에서 다시 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 5 mg/mL 농도의 MTT(M2003, Sigma-Aldrich) solution 200 μ L를 각각 첨가하여 4시간 동안 배양하고 용액을 제거, PBS로 세척한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO) 1 mL를 가하여 생성된 formazan 결정을 용해하였다. 그 용해액을 microplate reader(EL800, BioTek, Winooski, PA, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Cell viability (\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{A}\right) \times 100$$

A: 음성대조구의 흡광도, B: 시료처리구의 흡광도

세포분화 억제 활성 측정

세포 내 지방구 생성을 확인하기 위하여 Oil Red O(O0625, Sigma-Aldrich) 염색을 하였다. 분화 시작일로부터 8~9일째 된 3T3-L1 전지방세포의 배지를 제거하고 PBS로 2회 세척한 후 10% formaldehyde 500 μ L로 5분간 상온에 둔 뒤 다시 10% formaldehyde 1 mL로 1시간 동안 세포를 고정하였다. 그 후 formaldehyde를 제거하고 PBS로 2회 세척하여 Oil Red O 시액으로 1시간 염색시킨 후 PBS로 4회 세척한 다음 염색된 세포를 현미경을 이용하여 관찰하였다. 정량적 분석을 위하여 100% isopropanol을 3 mL 가하여 염색된 지방을 추출한 후 96-well plate에 200 μ L씩 옮겨서 microplate reader로서 515 nm에서 흡광도를 측정하였다(19).

통계분석

실험결과는 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago IL, USA) program ver. 21.0

을 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하고 유의성이 있는 경우에 Duncan의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 시료 간의 유의차를 검정하였다($P < 0.05$).

결과 및 고찰

γ -Aminobutyric acid 함량

아이스플래트의 유리아미노산 총 함량은 32.57 mg/g이었으며, alanine이 4.64 mg/g으로 가장 많이 함유되어 있었고 valine 3.29 mg/g, glutamic acid 3.10 mg/g, γ -aminobutyric acid 2.60 mg/g 등의 순으로 높게 나타났다(Table 1). γ -Aminobutyric acid는 GABA라고 알려진 비단백질 아미노산의 일종으로 뇌나 척수에 존재하는 신경전달물질이다. 뇌의 산소공급을 원활하게 하여 뇌의 대사를 향상시키고 의욕저하를 개선하는 의약품으로 사용되고 있으며 혈관을 확장시키고 항이노 호르몬인 바소프레신의 분비를 억제하여 혈압을 낮추는 등의 작용을 한다. 이외에도 혈액 중 콜레스테롤과 중성지방의 증가를 억제하고 혈당치의 상승을 억제, 알코올 대사를 촉진하는 등의 다양한 생리활성 효과를 가지는 것으로 보고되어 있다(20,21). 아이스플래트의 GABA 함량은 2.60 mg/g으로 적체한 차이를 험기 처리하여 GABA 함량을 높인 차인 gabaron tea의 1.50 mg/g(22)보다 많은 함량을 나타내었다.

ACE 저해 활성

아이스플래트 용매분획물의 ACE 저해 활성을 알아본 결과 ethyl acetate 분획과 chloroform 분획에서 각각 $33.17 \pm 3.20 \sim 88.19 \pm 3.20\%$ 와 $23.72 \pm 2.89 \sim 86.78 \pm 2.24\%$ 로 다른 분획에 비하여 유의적으로 높은 활성으로 나타났다. Butanol, water 및 hexane 분획에서는 각각 $8.86 \pm 1.20 \sim 41.21 \pm 2.49\%$, $3.24 \pm 1.50 \sim 36.01 \pm 1.38\%$ 및 -2.46 ± 0.37

Table 1. Free amino acid contents of *M. crystallinum*

Amino acids	Contents (mg/g)
Aspartic acid	1.04
Threonine	1.39
Serine	2.58
Glutamic acid	3.10
Alanine	4.64
Valine	3.29
Isoleucine	1.84
Leucine	2.18
Tyrosine	1.10
Phenylalanine	1.78
β -Aminoisobutyric acid	0.46
γ -Aminobutyric acid	2.60
Lysine	1.09
Arginine	1.41
Others	4.07
Total	32.57

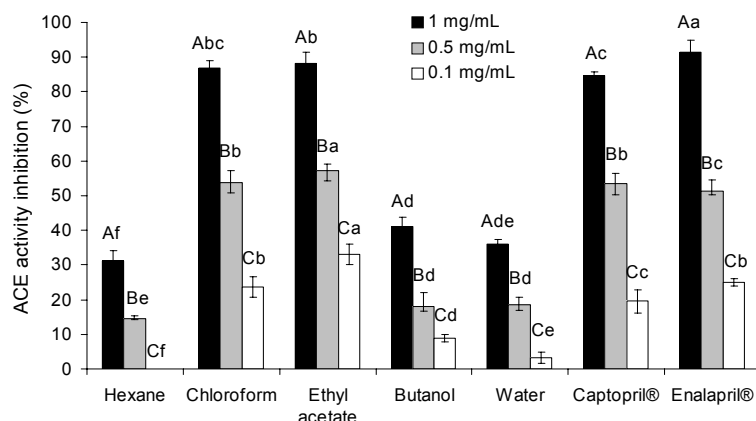


Fig. 1. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition activities of various solvent fractions separated from *M. crystallinum*. The values represent the mean±SD (n=3). Different capital letters within a same fraction solvent are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$. Different small letters within a same concentration are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

~31.28±2.86%로 비교적 낮은 활성으로 나타났다(Fig. 1). 아이스플랜트의 용매분획 중 ethyl acetate 분획과 chloroform 분획의 ACE 저해 활성은 양성대조군인 Captopril® (19.51±3.44~84.72±1.06%), Enalapril®(24.93±1.12~91.32±3.62%)과 비교하였을 때 같은 농도에서 ACE 저해 활성이 유사한 수치로 나타났으므로 이 분획에 혈압의 증가를 억제하는 생리활성 물질이 존재할 것으로 예측할 수 있다. 해양 미세조류인 *Nannochloropsis oculata* 추출물 및 분획물의 ACE 저해 활성을 측정된 Cha 등(23)의 결과에서도 chloroform 분획물 500 µg/mL의 측정 농도에서 약 60% 정도의 효소 저해율을 나타내어 다른 분획물에 비해 높은 저해율을 보였다. 한편 양파 조미액을 유기용매별로 분획하여 ACE 저해능을 검색한 결과에서는 butanol 분획에서 가장 높은 활성을 나타내었다고 보고하였으며, 저해 활성을 갖는 물질은 flavonoid로 추정되었다고 하였다(24).

세포생존율

3T3-L1 adipocytes의 분화 유도 전 아이스플랜트 분획물의 세포독성 범위를 확인하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 각 시료를 200, 100, 50, 10, 1 µg/mL의 농도로 처리하였고 시료를 처리하지 않은 대조구의 세포생존율을 100%로 하였을 때 분획물별 세포생존율을 나타내었다(Table 2). 그 결과 200 µg/mL의 농도에서 hexane 분획과 water 분획에서 각각 79.44±1.17%, 78.58±4.84%로 80% 이하의 세포생존율을 보여 200 µg/mL 이상의 농도에서 세포독성이

나타나는 것으로 판단하였다. 모든 분획에서 100 µg/mL의 농도까지 80% 이상의 생존율을 나타내어 이후의 3T3-L1 지방전구세포의 분화 유도 실험에서는 세포생존율에 영향을 끼치지 않는 농도인 100 µg/mL까지 사용하여 실험을 진행하였다.

세포분화 억제 활성

Lipid droplet은 phospholipid monolayer로 둘러싸인 중성지방으로 precursor fibroblast에서 지방세포로의 분화과정에서 나타나며, PPAR γ 와 같은 adipogenic transcription factors에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다(19, 25).

아이스플랜트 분획물이 3T3-L1 지방전구세포에서 지방세포로 분화되는 과정에서 세포 내 lipid droplet 및 중성지방의 축적에 영향을 미치는지 확인하기 위하여 Oil Red O 염색법을 시행하여 중성지방의 양을 측정하였다. Oil Red O는 중성지방과 cholesterol만을 특이적으로 염색하고 그 외에 인지질, 유리지방산 등은 염색되지 않기 때문에 지방세포의 분화 정도를 확인할 수 있다(26).

염색된 지방구를 현미경으로 관찰한 결과 분화 배지만을 처리한 blank와 시료의 용매를 처리한 control을 제외하고, 100 µg/mL 농도의 각 분획 시료를 처리한 모든 군에서 지방구의 크기와 수가 감소한 것을 확인하였다. 지방구에 염색된 염색액을 isopropanol로 추출하여 OD 값을 측정한 결과 ethyl acetate 분획과 butanol 분획에서 대조군보다 53.00

Table 2. Cell viability of various solvent fractions separated from *M. crystallinum* against 3T3-L1 preadipocytes (%)

Treated concentrations (µg/mL)	Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Butanol	Water
1	100.00±3.99 ^{Aa1)2)}	100.00±3.11 ^{Aa}	100.00±0.74 ^{Aa}	100.00±3.42 ^{Aa}	96.36±3.27 ^{Ab}
10	99.21±3.54 ^{ABab}	100.00±2.55 ^{Aa}	100.00±2.27 ^{Aa}	100.00±2.92 ^{Aa}	95.74±3.19 ^{ABb}
50	91.01±4.64 ^{Bb}	100.00±3.63 ^{Aa}	100.00±2.98 ^{Aa}	100.00±0.50 ^{Aa}	91.57±3.47 ^{Bb}
100	81.86±2.71 ^{Cc}	97.97±4.80 ^{Bb}	95.70±4.77 ^{Bc}	100.00±1.14 ^{Aa}	83.90±4.02 ^{Cd}
200	79.44±1.17 ^{Dd}	90.88±2.89 ^{Cc}	94.95±5.87 ^{Bb}	99.41±1.58 ^{Ba}	78.58±4.84 ^{De}

¹⁾The values represent the mean±SD (n=3).

²⁾Different capital letters within a same fraction are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$. Different small letters within a same concentration are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

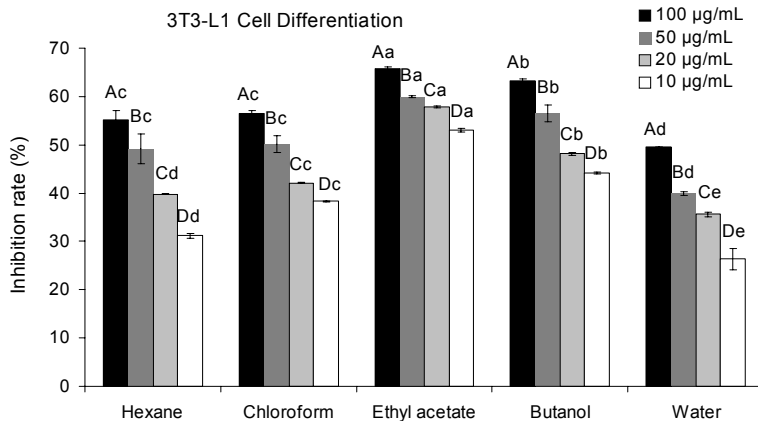


Fig. 2. The inhibitory effects of various solvent fractions separated from *M. crystallinum* against differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. The values represent the mean±SD (n=3). Different capital letters within a same fraction are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$. Different small letters within a same concentration are significantly different by Duncan's multiple range test at $P<0.05$.

±0.45~65.75±0.31%와 44.16±0.29~63.32±0.36%로 가장 많이 감소하였다. Chloroform 분획과 hexane 분획에서는 38.33±0.09~56.55±0.50%와 31.17±0.50~55.10±1.93%였고 water 분획은 26.32±2.27~49.48±0.05%로 감소하였으며, 모든 분획에서 농도 의존적으로 3T3-L1 지방전구세포의 지방 축적을 억제하였다(Fig. 2). 이와 같은 결과로 미루어 보아 아이스플랜트는 지방세포의 분화를 억제하는 기능을 나타냄을 확인할 수 있었고 가장 높은 억제 활성을 보인 ethyl acetate 분획 내의 활성 성분에 대한 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 판단된다. 한편 조릿대의 잎과 줄기의 분획물에 대한 항비만 활성을 3T3-L1을 이용하여 실험한 결과 dichloromethane과 ethyl acetate 분획에서 지방전구세포의 분화가 유의적으로 억제되었다고 보고하였으며(27), 하수오 분획물의 전지방세포 분화억제 활성에서도 ethyl acetate 분획에서 유의적으로 높은 억제율을 나타내었다고 하였다(28).

요 약

본 연구에서는 아이스플랜트의 기능성 식품소재로의 우수성을 알아보기 위하여 유리아미노산을 분석하고 추출용매에 따른 ACE 저해 활성과 3T3-L1 전지방세포에 대한 분화억제 활성을 검증하였다. 아이스플랜트의 유리아미노산 총함량은 32.57 mg/g이었으며, L-alanine 4.64 mg/g으로 가장 많이 함유되어 있었고 혈압저하 및 이뇨효과를 가지는 γ -aminobutyric acid는 2.60 mg/g을 함유한 것으로 나타났다. 아이스플랜트 용매분획별 ACE 저해 활성은 ethyl acetate 분획과 chloroform 분획에서 각각 33.17±3.20~88.19±3.20%, 23.72±2.89~86.78±2.24%로 높은 활성을 나타내었고 butanol, water 및 hexane 분획에서는 각각 8.86±1.20~41.21±2.49%, 3.24±1.50~36.01±1.38%, -2.46±0.37~31.28±2.86%로 나타났다. Ethyl acetate 분획과 chloroform 분획은 양성대조군인 Captopril®(19.51±3.44~84.72±1.06%) 및 Enalapril®(24.93±1.12~91.32±3.62%)과 유사한 저해 활성을 나타내었다. 3T3-L1 지방

전구세포의 지방구 생성억제 정도를 측정한 결과 ethyl acetate 분획과 butanol 분획에서 대조군에 비하여 53.00±0.45~65.75±0.31%와 44.16±0.29~63.32±0.36%로 가장 많이 감소하였고 chloroform 분획과 hexane 분획은 38.33±0.09~56.55±0.50%, 31.17±0.50~55.10±1.93%, water 분획은 26.32±2.27~49.48±0.05%로 모든 분획에서 농도 의존적으로 3T3-L1 지방전구세포의 지방 축적을 억제하는 것으로 확인하였다. 이상의 결과로부터 아이스플랜트는 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있으며, 항고혈압과 항비만의 생리활성 효과를 가지는 것을 확인하여 기능성 식품 소재로서의 가치가 뛰어나다고 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2016년도 경남과학기술대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

- Pi-Sunyer X. 2009. The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 121: 21-33.
- Gesta S, Tseng YH, Kahn CR. 2007. Developmental origin of fat: Tracking obesity to its source. *Cell* 131: 242-256.
- Attie AD, Scherer PE. 2009. Adipocyte metabolism and obesity. *J Lipid Res* 50: S395-S399.
- Zhi J, Moore R, Kanitra L, Mulligan TE. 2003. Effects of orlistat, a lipase inhibitor, on the pharmacokinetics of three highly lipophilic drugs (amiodarone, fluoxetine, and simvastatin) in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 43: 428-435.
- Ahmad FA, Mahmud S. 2010. Acute pancreatitis following orlistat therapy: Report of two cases. *J Pancreas* 11: 61-63.
- Kaplan NM. 1989. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 149: 1514-1520.
- Kim WK. 2010. The risk of hypertension according to obesity and age of middle-aged women. *Korean J Sports Sci* 19(2): 1377-1384.
- Park SJ, Lee GS, Lee HJ. 2015. The effects of the obesity and physical activity on the prevalence of hypertension in Korean adults. *J East Asian Soc Diet Life* 25: 432-439.
- Ma SJ. 2000. Inhibitory effect of onion seasoning on angio-

- tensin converting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 395-400.
10. Vermeirssen V, Camp JV, Verstraete W. 2002. Optimisation and validation of an angiotensin-converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *J Biochem Biophys Methods* 51: 75-87.
 11. Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. 1977. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science* 196: 441-444.
 12. Agarie S, Kawaguchi A, Kodera A, Sunagawa H, Kojima H, Nose A, Nakahara T. 2009. Potential of the common ice plant, *Mesembryanthemum crystallinum* as a new high-functional food as evaluated by polyol accumulation. *Plant Prod Sci* 12: 37-46.
 13. Lee SY, Choi HD, Yu SN, Kim SH, Park SK, Ahn SC. 2015. Biological activities of *Mesembryanthemum crystallinum* (ice plant) extract. *J Life Sci* 25: 638-645.
 14. Kurosu M, Sakamoto K. 2011. *Mesembryanthemum crystallinum* extract suppressed the early differentiation of mouse 3T3-L1 preadipocytes. *J Nat Pharm* 2: 184-189.
 15. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
 16. Morikawa M, Nixon T, Green H. 1982. Growth hormone and the adipose conversion of 3T3 cells. *Cell* 29: 783-789.
 17. Hwang JT, Park IJ, Shin JI, Lee YK, Lee SK, Baik HW, Ha J, Park OJ. 2005. Genistein, EGCG, and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 338: 694-699.
 18. Sargent JM, Taylor CG. 1989. Appraisal of the MTT assay as a rapid test of chemosensitivity in acute myeloid leukemia. *Br J Cancer* 60: 206-210.
 19. Park SJ, Choi JH, Jung YS, Yu MH. 2013. Inhibitory effect of *Rumex crispus* L. fraction on adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Korean J Food Sci Technol* 45: 90-96.
 20. Kang TJ, Oh SH. 2007. GABA production and use. *BRIC BioWave* 9: 1-8.
 21. Lim SD, Kim KS. 2009. Effects and utilization of GABA. *Korean J Dairy Sci Technol* 27: 45-51.
 22. Tsushida T, Murai T, Omori M, Okamoto J. 1987. Production of a new type tea containing a high level of γ -aminobutyric acid. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 61: 817-822.
 23. Cha SH, Kim MJ, Yang HY, Jin CB, Jeon YJ, Oda T, Kim D. 2010. ACE, α -glucosidase and cancer cell growth inhibitory activities of extracts and fractions from marine microalgae, *Nannochloropsis oculata*. *Korean J Fish Aquat Sci* 43: 437-444.
 24. Ma SJ. 2000. Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 395-400.
 25. Cornelius P, MacDougald OA, Lane MD. 1994. Regulation of adipocyte development. *Annu Rev Nutr* 14: 99-129.
 26. McNeel RL, Mersmann HJ. 2003. Effects of isomers of conjugated linoleic acid on porcine adipocyte growth and differentiation. *J Nutr Biochem* 14: 266-274.
 27. Ha YB, Park JH, Jang JW, Lim DW, Kim JE. 2016. Comparative study for anti-inflammatory and anti-obesity effect of fractions from leaf and stem of *Sasa borealis*. *J Physiol & Pathol Korean Med* 30: 229-235.
 28. Choi EO, Han MH, Kim HS, Choi SH, Choi YH, Kim BW, Kim SY, Hwang HJ. 2011. Effects of *Cynanchi wilfordii* Radix extracts on adipocyte differentiation and adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes. *Cancer Prev Res* 16: 371-378.