

## 해조류 에탄올 추출물의 *In vitro* 항염 및 항비만 활성

왕첸저<sup>1</sup> · 연징<sup>1</sup> · 임유리<sup>1</sup> · 박진우<sup>1</sup> · 고연정<sup>1</sup> · 고유라<sup>1</sup> · 김혜미<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

### *In vitro* screening of seaweed ethanol extracts for anti-inflammatory and anti-obesity properties

Qunzhe Wang<sup>1</sup>, Jing Yan<sup>1</sup>, Yuri Im<sup>1</sup>, Jinwoo Bak<sup>1</sup>, Yeongyeong Go<sup>1</sup>, Yula Go<sup>1</sup>, and Hyemee Kim<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition & Kimchi Research Institute

**Abstract** Seaweeds contain a high concentration of phenolic and flavonoid compounds with diverse biological activities. This study aimed to determine the total polyphenol and flavonoid content, and thereby the anti-inflammatory and anti-obesity properties, of 26 species of algal ethanol extracts through *in vitro* experiments. According to the data, *Eisenia bicyclis*, *Ecklonia cava*, *Martensia jejuensis*, and *Symphyclocladia glabra* had the highest phenolic and flavonoid content. Most seaweed extracts inhibited lipopolysaccharide (LPS)-induced production of the pro-inflammatory cytokine IL-6 in RAW264.7 cells. Among them, *Desmarestia viridis*, *Ecklonia cava*, *Sargassum thunbergii*, *Scytosiphon lomentaria*, and *Symphyclocladia glabra* decreased cell viability at 50 mg/L, and significantly inhibited lipid accumulation in 3T3-L1 cells, demonstrating their potential as anti-obesity treatments. These results suggest that *Desmarestia viridis* and *Symphyclocladia glabra*, which have not been thoroughly studied, have the potential to prevent or treat obesity.

**Keywords:** seaweeds, total phenolic contents, anti-inflammatory activity, anti-obesity activity, *Symphyclocladia glabra*

## 서 론

비만은 과도한 지방의 축적 상태를 의미하며, 대사증후군, 즉 상동맥경화증 및 제2형 당뇨병을 비롯한 많은 만성 다기관 질환의 근간이 된다(Piché 등, 2020). 비만은 낮은 등급의 만성 전신 염증 상태와 관련이 있으며, TNF- $\alpha$ 와 IL-6 같은 전염증성 인자의 수준이 증가되는 등의 다양한 사이토카인 및 아디포카인의 비정상적인 발현이 유발될 수 있다(Ellulu 등, 2017). 또한 비만에서 이러한 만성 염증 상태로 인한 NF- $\kappa$ B 신호의 강화는 인슐린 저항성을 유발하여 당뇨병의 위험을 증가시킨다(O'Rourke, 2009). 따라서 여러 연구들에서 체중 조절과 염증 사이의 연관성을 시사하며 비만 관련 대사질환에서의 염증 조절의 중요성을 강조하고 있다(Artemniak-Wojtowicz 등, 2020). 하지만 체중조절을 위한 여러 약물 이용은 두통, 설사, 변비 등의 부작용들이 보고되고 있어(Srivastava와 Apovian, 2018), 독성이 없고 항비만, 항염 효과가 뛰어난 천연 유래 물질들의 탐색이 필수적이다.

최근 해조류 등의 해양자원에서 새로운 천연 유래 생리활성 물질 발굴에 대한 관심이 높아지고 있고, 특히 해조류의 폴리페놀계 물질들은 화학적, 생물학적 특성으로 인해 항산화성이 뛰어나 많은 관심을 받고 있다(Cotas 등, 2020). 해조류에 풍부한 폴리페

놀의 종류에는 플로로탄닌(phlorotannins)이 있고, 그 외에 플라보노이드, 페놀산, 브로모페놀산, 테르페노이드 및 미코스포린 유사 아미노산이 있다(Aziz 등, 2020; Cotas 등, 2020). 갈조류 고유의 플로로탄닌은 항산화, 항염, 항비만 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있으며(Fernando 등, 2022; Ummat 등, 2020), 최근 해조류의 플라보노이드도 뛰어난 항산화, 항염, 신경보호, 항균 효과로 인해 주목받고 있다(Ferdous와 Balia Yusof, 2021; Subbiah 등, 2022). 따라서 해조류의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량이 항염, 항비만 효능과 상관성이 있을 것이라 사료되지만, 기존 연구에서 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량과 항산화 효능의 상관관계는 보고되고 있으나(Lee 등, 2020b), 총 폴리페놀, 총 플라보노이드의 함량과 그에 따른 항염, 항비만 효능과의 상관관계에 대한 연구는 부족한 실정이다.

본 연구에서는 문헌조사를 통해 항염 및 항비만 효과가 있을 것으로 예상되는 26개의 해조류를 선별하였다. 해조류는 색소 조성에 따라 *Chlorophyta* (녹조류), *Rhodophyta* (홍조류), *Phaeophyta* (갈조류) 3가지로 분류되는데(Gomes 등, 2022), 그 중 갈조류의 다시마목(갈태, 다시마, 대황)은 폴리페놀과 플로로탄닌이 풍부하고 항염, 항비만 효능을 보인다고 보고되었다(Seca와 Pinto, 2018). 말목의 팽생이모자반, 파배기모자반, 외톨개모자반, 큰잎모자반, 지층이, 톳의 경우 항염, 항비만 효과가 뛰어난 푸코잔틴이 풍부하다고 알려져 있으며(Din 등, 2022) 역시 항비만의 효능이 있을 것으로 여겨진다(Giriwono 등, 2019). 홍조류의 도박목(참깨도박, 미끌도박, 붉은뽕까막살, 지네지누아리) 또한 항염, 항비만 효능의 가능성을 보이고 있다(da Costa 등, 2021; Lee 등, 2020a). 하지만 해조류 추출물의 항산화, 항염 관련 연구는 많이 진행된 상태이나, 항비만 효능에 대한 연구는 아직 시작 단계이며(Amaro 등, 2022; Jung 등, 2021; Manandhar 등, 2020; Oh 등, 2022),

\*Corresponding author: Hyemee Kim, Department of Food Science and Nutrition & Kimchi Research Institute, Pusan National University, Busan 46241, Korea  
Tel: +82-51-510-2847  
Fax: +82-51-583-3648  
E-mail: kimhyemee@pusan.ac.kr  
Received January 9, 2023; revised January 27, 2023; accepted January 27, 2023



대부분 해조류에서 푸코이단 등의 다당류 성분에 의한 항비만 효능에 중점을 두었다(Fitton 등, 2019; Wang 등, 2019). 또한 해조류 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 해조류 종류에 따라서도 다르고, 채취 장소, 채취 계절, 연도, 추출방법 등에 의해 차이 나며 그로 인해 활성 효능에도 차이가 난다고 보고되었다(Fernando 등, 2022). 따라서 해조류의 항염, 항비만 효능의 올바른 비교를 위해서는 표준화된 방법으로 추출된 추출물을 동일한 조건으로 동시에 처리하여 평가해 볼 필요가 있다.

따라서 본 연구의 목적은 대사성질환에 효능이 있을 것이라 알려진 26개의 해조류를 선별하여 해양생명자원 통합정보시스템에서 표준화된 추출물을 제공받아 *in vitro*에서 염증인자 조절 및 지방축적 억제 효능 스크리닝을 통해 항염, 항비만 효능이 뛰어난 해조류 추출물을 발굴하여 해조류의 기능성 소재 발굴 후속 연구를 위한 예비 지원을 제공하고자 한다. 연구의 가설은 해조류 70% 에탄올 추출물의 항염, 항비만 효과는 폴리페놀과 플라보노이드 함량과 상관관계가 있을 것이라고 수립되었다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용된 26종의 해조류 70% 에탄올 추출물은 해양수산부에서 운영하는 해양생명자원 통합정보시스템(Marine Bio-Resource Information System, MBRIS; Seochon, Korea)에서 표준화된 추출물을 제공받아 사용하였다. 갈조류 11종(쇠꼬리산말, 대항, 감태, 외톨개모자반, 다시마, 큰잎모자반, 톳, 팽새이모자반, 파배기모자반, 지층이, 잘록이고리매), 녹조류 2종(옥덩굴, 청각), 홍조류 13종(참사슬풀, 꼬불꼬시래기, 붉은뽕까막살, 지네지누아리, 참개도박, 미끌도박, 민자루미끌부채, 제주비단망사, 갈래곰보, 방사무늬돌김, 자루바다표고, 민털보라색우무, 구멍갈파래)을 분양받았으며, 추출 분말은 dimethylsulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 20 mg/mL의 농도로 녹여 -20°C에 보관하며 적절한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

해조류의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 분석을 사용하여, 추출물에 0.25 N Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich)을 1:10의 비율로 혼합하고 암실에서 3분간 방치한 후, 1 N Sodium carbonate 시약을 첨가하여 7분간 방치한 후 흡광도 726 nm에서 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 갈산을 이용한 표준곡선으로 계산하였다(mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract). 총 플라보노이드 함량 측정은 추출물, 90% diethylene glycol 및 1 N NaOH를 1:10:1의 비율로 혼합하고 37°C에서 1시간 동안 방치한 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 카테킨을 이용한 표준곡선을 사용하여 계산하였다(mg catechin equivalents (CE)/g extract).

### 세포 배양

본 실험에 사용된 RAW264.7 세포 및 3T3-L1 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 구입하여 세포 성장 환경을 37°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조절하여 배양하였다. RAW264.7 대식세포는 100 U/mL penicillin/streptomycin 및 10% FBS가 보충된 RPMI 1640 배지(Hyclone, Logan, UT, USA)에서 배양하였고, 3T3-L1 세포는 2.5% HEPES, 1% penicillin/streptomycin, 10% FBS가 포함된 DMEM 배지(Hyclone)에서 배양하였다.

### 세포독성 평가

3T3-L1 세포( $5 \times 10^3$  cells/well) 및 RAW264.7 세포( $1 \times 10^4$  cells/well)를 96-well plate에 분주하고 다음날 배지를 제거한 후, 26개의 해조류 에탄올 추출물을 0, 25, 50 mg/L 농도로 48시간 동안 처리하였다. 그 후 세포 증식 분석 용액(CellTiter 96® AQueous One Solution, Promega, Madison, WI, USA)을 각 well당 20 µL를 첨가하고 37°C에서 2시간 동안 배양한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다(Multiskan™ GO, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA).

### IL-6 cytokine 수준 측정

RAW264.7 세포를 96-well plate에서  $1 \times 10^5$  cells/well로 분주하고, 다음날 해조류 추출물 10, 20 mg/L 농도에 lipopolysaccharide (50 ng/mL LPS, *Escherichia coli* O55:B5, Sigma-Aldrich)를 처리하여 20시간 동안 반응시킨 후 상등액을 추출하여 염증인자 IL-6를 효소 결합 면역 흡착 분석법(ELISA)으로 측정하였다. 사이토카인 측정은 상업용 ELISA 키트(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) 지침에 따라 수행되었다.

### Oil red O staining

해조류 추출물이 지방전구세포의 지방축적을 억제하는 효능을 평가하기 위해 3T3-L1 세포를 96-well plate에  $2 \times 10^3$  cells/well로 분주하고 70% 상태가 되면, 세포를 분화유도 배지에 20 mg/L의 해조류 에탄올 추출물을 함께 첨가하여 6일간 배양하였다. 분화유도 배지는 2일 동안 0.5 mM 3-이소부틸-1-메틸크산틴(IBMx; Sigma-Aldrich), 10 µL/mL 인슐린(Sigma-Aldrich) 및 1 µM 텍사메타손(Sigma-Aldrich)을 함유하는 DMEM 배지를 사용하였고(1-2일차), 그 후 추가 4일 동안 세포를 10 µg/mL 인슐린과 20 mg/L의 해조류 추출물을 함유하는 배지에서 유지시켰다(3-6일차). 세포 분화 후, 세포를 실온에서 1시간 동안 10% 포름알데히드로 고정시키고 세척 후 60% 이소프로판올을 5분간 첨가하였다. 그 후 15분간 Oil red O 용액을 첨가하고 세척 후 10분간 이소프로판올을 첨가하여 색이 추출된 정도를 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계분석

모든 데이터는 Prism 8 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)로 분석되었으며 결과는 평균 ± SD로 표시하였다. One-way ANOVA (Dunnett's test)를 사용하여 *p*-값을 계산하고 통계적 유의성은 *p* < 0.05로 설정하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

Table 1에 26종의 해조류 70% 에탄올 추출물의 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 표시하였다. 총 폴리페놀 함량 분석 결과, 갈조류 감태와 대항: 각각 136.95, 100.37 mg GAE/g; 홍조류 제주비단망사와 민털보라색우무: 100.98, 77.66 mg GAE/g, 총 4종의 해조류의 폴리페놀 함량이 높았고, 총 플라보노이드 함량 분석 결과, 대항, 감태, 외톨개모자반, 파배기모자반, 옥덩굴, 제주비단망사, 민털보라색우무등의 7가지 해조류의 플라보노이드 함량이 각각 268.76, 233.48, 153.08, 87.06, 88.12, 132.31, 169.58 mg CE/g으로 나타났다. 요약하자면 선별한 26종의 해조류 중 대항, 감태, 제주비단망사, 민털보라색우무의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함



**Table 1.** Total polyphenol and flavonoid contents in 70% ethanol extracts from 26 seaweeds

Scientific name	Resource Number <sup>1)</sup> Sample Number	Total polyphenol (mg GAE <sup>2)</sup> /g extract)	Total flavonoid (mg CE <sup>3)</sup> /g extract)
<b>Brown seaweeds</b>			
<i>Desmarestia viridis</i>	MABIK NP30190003 MRS002000154932	8.51±3.68 <sup>4)</sup>	44.99±4.61
<i>Eisenia bicyclis</i>	MABIK NP30150040 MRS002000092052	100.37±0.48	268.76±6.24
<i>Ecklonia cava</i>	MABIK NP30180002 MRS002000125392	136.95±10.31	233.48±15.68
<i>Myagropsis myagroides</i>	MABIK NP30160009 MRS002000092095	21.89±2.35	153.08±43.13
<i>Saccharina japonica</i>	MABIK NP30150046 MRS002000092072	6.01±0.96	23.16±17.08
<i>Sargassum coreanum</i>	MABIK NP30150033 MRS002000092010	15.07±0.39	40.74±3.69
<i>Sargassum fusiforme</i>	MABIK NP30150017 MRS002000092021	13.32±0.92	9.32±5.53
<i>Sargassum horneri</i>	MABIK NP30150043 MRS002000092033	19.50±0.24	54.65±15.60
<i>Sargassum siliquastrum</i>	MABIK NP30160010 MRS002000092096	24.64±1.91	87.06±7.88
<i>Sargassum thunbergii</i>	MABIK NP30150038 MRS002000092039	4.46±0.72	28.16±9.36
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	MABIK NP30180014 MRS002000125422	13.17±0.48	23.75±3.12
<b>Green seaweeds</b>			
<i>Caulerpa okamurae</i>	MABIK NP30150002 MRS002000092046	5.45±1.03	88.12±22.61
<i>Codium fragile</i>	MABIK NP30180001 MRS002000125389	3.82±2.15	30.09±22.53
<b>Red seaweeds</b>			
<i>Champia parvula</i>	MABIK NP30150029 MRS002000092003	9.88±2.16	1.34±0.13
<i>Gracilaria incurvata</i>	MABIK NP30150008 MRS002000092008	20.64±2.05	57.24±5.76
<i>Grateloupia angusta</i>	MABIK NP30150021 MRS002000092023	24.76±2.66	36.48±5.76
<i>Grateloupia asiatica</i>	MABIK NP30180015 MRS002000125423	14.89±3.08	12.24±2.44
<i>Grateloupia elliptica</i>	MABIK NP30160020 MRS002000109402	23.20±1.60	32.75±4.88
<i>Grateloupia turuturu</i>	MABIK NP30190005 MRS002000154934	10.07±2.34	34.35±13.01
<i>Lesleighta yamadae</i>	MABIK NP30200003 MRS002000176482	10.32±2.63	35.94±10.87
<i>Martensia jejuensis</i>	MABIK NP30150013 MRS002000092014	100.98±4.56	132.31±4.79
<i>Meristotheca papulosa</i>	MABIK NP30200005 MRS002000176484	9.45±2.22	17.31±9.04
<i>Neopyropia yezoensis</i>	MABIK NP30180005 MRS002000125399	11.26±1.84	43.40±11.33
<i>Peyssonnelia caulifera</i>	MABIK NP30200001 MRS002000176480	12.70±1.62	41.27±12.68
<i>Symphyocladia glabra</i>	MABIK NP30200012 MRS002000176491	77.66±3.48	169.58±11.99
<i>Ulva australis</i>	MABIK NP30150041 MRS002000092060	13.82±4.13	41.80±19.52

<sup>1)</sup>Provided from the Marine Bio Resource Information System (MBRIS) in Korea<sup>2)</sup>GAE, Gallic acid equivalents.<sup>3)</sup>CE, Catechin equivalents.<sup>4)</sup>Data are presented as means±SD (n=3).

량이 추출물의 20% 이상으로 나왔다. 폴리페놀과 플라보노이드는 항염, 항산화, 신경 보호, 항암과 같은 다양한 생물학적 활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Fraga 등, 2019; Rasouli 등, 2017). 예를 들어, 대황, 감태에 풍부한 에콜(eckol)은 MAPK, AKT 및 NF- $\kappa$ B 신호 전달 경로를 억제하고 iNOS, COX-2, TNF- $\alpha$ 의 발현 수준을 감소시켜 항염 효능을 보이는 것으로 보고되었으며(Jun 등, 2014; Kim 등, 2010), 디에콜(Dieckol)은 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  및 Prostaglandin E2의 생성을 억제하고 p38 및 JNK의 인산화를 감소시켜 염증을 억제한다고 보고되었다(Lee 등, 2018). 항비만 측면에서 해조류 폴리페놀은  $\beta$ -산화를 자극하고 지방 세포의 분화를 억제한다고 보고되었으며(Wan-Loy와 Siew-Moi, 2016), 갈조류에서 추출한 플로로탄닌의 경우 SOCS3과 염증 관련 수용체 TLR4 및 RAGE의 발현을 억제하고 지방 조직에서 렙틴 수용체의 발현을 증가시키며 지방 분해를 증가시켜 항비만 효능이 있음을 보였다(Chen 등, 2021). 해조류 플라보노이드 또한 IRS1/PI3K/AKT 경로를 활성화하고 JNK1/2의 활성을 억제하여 혈당을 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 다양한 항염, 항비만 효능이 보고되어 왔다

(Ferdous와 Balia Yusof, 2021; Subbiah 등, 2022). 따라서 폴리페놀과 플라보노이드가 다량 함유된 4가지 해조류, 즉 대황, 감태, 제주비단말사 및 민털보라색우무는 항염증 및 항비만 측면에서 잠재적으로 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

### 세포독성 평가

현재까지 해조류의 안전성 평가가 완전히 이루어지지 않아 해조류를 사용하는 연구에는 독성평가가 수행되어야 한다(Wangchuk, 2018). Table 2와 같이 해조류의 70% 에탄올 추출물 각각 25 및 50 mg/L 농도에서 지방세포와 대식세포에 대한 생존 억제 능력을 측정된 결과, 세포 생존율이 80% 미만인 것이 세포 생존 억제능이라고 판단하였다(López-García 등, 2014). 결과에 따르면 대황, 자루바다표고, 톳, 팽생이모자반은 25 mg/L 농도에서 지방세포 생존 억제를 나타내기 시작하였고, 쇠꼬리산말, 감태, 외톨개모자반, 큰잎모자반, 지충이, 잘록이고리매, 민털보라색우무는 50 mg/L 농도에서 지방세포 생존 억제를 나타내기 시작하였다. 하지만 대식세포의 경우 대황, 방사무늬들깍, 톳, 팽생이모자반은

**Table 2.** Cytotoxic effects of 70% ethanol extracts from 26 seaweeds on 3T3-L1 and RAW264.7 cells

Scientific name	3T3-L1 cells		RAW264.7 macrophages	
	25 mg/L	50 mg/L	25 mg/L	50 mg/L
<i>Caulerpa okamurae</i>	87.42±12.31 <sup>1,2)</sup>	86.14±8.17	96.65±9.66	102.20±8.88
<i>Champia parvula</i>	79.39±7.72 <sup>*3)</sup>	82.45±7.22	93.18±8.05	89.54±10.60
<i>Codium fragile</i>	94.75±7.31	92.90±6.29	104.75±8.86	107.47±6.74
<i>Desmarestia viridis</i>	94.54±5.50	69.51±10.92 <sup>***</sup>	96.48±10.75	107.10±14.07
<i>Ecklonia bicyclis</i>	74.67±7.91 <sup>***</sup>	74.43±3.03 <sup>**</sup>	85.95±18.77	75.08±12.94 <sup>**</sup>
<i>Ecklonia cava</i>	81.04±7.45	74.13±6.60 <sup>**</sup>	87.89±8.46	80.13±6.98 <sup>*</sup>
<i>Gracilaria incurvata</i>	101.31±18.89	92.82±12.93	96.32±7.44	94.27±10.40
<i>Grateloupia angusta</i>	102.03±9.95	97.67±7.31	108.34±15.66	101.81±15.29
<i>Grateloupia asiatica</i>	101.05±9.79	98.32±23.85	103.80±6.19	85.10±3.61
<i>Grateloupia elliptica</i>	101.72±9.74	107.11±13.46	99.72±10.53	98.37±9.83
<i>Grateloupia turururu</i>	94.77±10.47	87.52±17.40	97.27±8.51	96.22±7.35
<i>Lesleigha yamadae</i>	94.74±23.34	102.93±26.20	113.90±6.71	103.60±4.44
<i>Martensia jejuensis</i>	103.72±13.73	101.44±12.53	98.72±6.31	99.31±14.03
<i>Meristotheca papulosa</i>	97.82±12.16	107.38±6.11	94.56±6.32	98.77±11.57
<i>Myagropsis myagroides</i>	80.52±2.61	76.51±16.44 <sup>**</sup>	102.89±6.87	96.89±7.14
<i>Neopyropia yezoensis</i>	107.73±19.41	84.63±10.74	82.71±23.19	67.36±11.66 <sup>****</sup>
<i>Peyssonnelia caulifera</i>	76.09±4.87 <sup>**</sup>	79.27±5.77	96.57±4.18	92.34±13.97
<i>Saccharina japonica</i>	82.64±10.90	83.02±6.42	96.37±11.92	106.20±7.09
<i>Sargassum coreanum</i>	82.08±10.65	77.43±11.55 <sup>**</sup>	80.00±9.68 <sup>*</sup>	84.79±8.02
<i>Sargassum fusiforme</i>	71.98±4.27 <sup>***</sup>	71.99±11.75 <sup>****</sup>	94.76±3.55	72.40±9.84 <sup>***</sup>
<i>Sargassum horneri</i>	70.98±8.56 <sup>****</sup>	65.72±17.53 <sup>****</sup>	80.81±9.57 <sup>*</sup>	70.98±8.55 <sup>****</sup>
<i>Sargassum siliquastrum</i>	87.83±10.17	93.37±10.09	94.27±10.40	95.46±8.36
<i>Sargassum thunbergii</i>	80.02±17.36	74.17±15.43 <sup>****</sup>	89.05±6.26	88.17±10.53
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	83.14±16.15	73.92±18.21 <sup>***</sup>	103.60±2.61	103.40±2.61
<i>Symphocladia glabra</i>	84.13±6.84	69.12±11.75 <sup>****</sup>	103.13±9.14	107.35±5.74
<i>Ulva australis</i>	84.32±8.45	90.15±9.85	98.80±3.11	84.49±5.18

<sup>1)</sup>% Cell cytotoxicity was compared to the untreated control.

<sup>2)</sup>Data are presented as means±SD (n=8).

<sup>3)</sup>\*indicate a statistically significant difference compared with PBS-treated control analyzed by one-way ANOVA (Dunnett's test, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$ , and \*\*\*\* $p<0.0001$ ).



**Table 3.** Effects of 70% ethanol extracts from 26 seaweeds on IL-6 production in LPS-treated RAW264.7 cells

Treatment	IL-6 (pg/mL)	
Negative control	59.81±2.95****	
LPS control	328.11±50.03	
Scientific name	10 mg/L	20 mg/L
<i>Caulerpa okamurae</i>	253.9±35.05 <sup>1)</sup>	189.8±43.80**** <sup>2)</sup>
<i>Champia parvula</i>	266.0±46.78	182.4±48.54****
<i>Codium fragile</i>	283.6±36.53	277.4±37.03
<i>Desmarestia viridis</i>	277.8±42.6	235.1±27.96**
<i>Ecklonia bicyclis</i>	248.6±29.76*	196.8±11.56****
<i>Ecklonia cava</i>	259.3±54.01	222.7±23.44**
<i>Gracilaria incurvata</i>	246.0±75.64	229.0±15.16**
<i>Grateloupia angusta</i>	279.5±38.77	182.2±28.46****
<i>Grateloupia asiatica</i>	290.9±66.86	198.3±28.29****
<i>Grateloupia elliptica</i>	271.8±55.72	237.2±50.27**
<i>Grateloupia turuturu</i>	231.2±4.41***	220.2±13.83***
<i>Lesleigha yamadae</i>	276.7±47.81	232.5±31.18**
<i>Martensia jejuensis</i>	282.4±46.27	172.8±44.98****
<i>Meristotheca papulosa</i>	267.2±30.4	146.3±41.54****
<i>Myagropsis myagroides</i>	303.3±39.12	233.7±18.27**
<i>Neopyropia yezoensis</i>	265.0±53.27	155.8±46.13****
<i>Peyssonnelia caulifera</i>	329.3±9.58	259.8±33.94
<i>Saccharina japonica</i>	284.1±22.59	226.3±27.61**
<i>Sargassum coreanum</i>	305.2±37.79	241.9±34.64*
<i>Sargassum fusiforme</i>	286.5±42.43	243.4±36.16*
<i>Sargassum horneri</i>	250.7±39.13*	223.4±37.79***
<i>Sargassum siliquastrum</i>	252.8±22.46	224.3±36.72**
<i>Sargassum thunbergii</i>	233.3±36.22**	198.2±58.79****
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	285.3±52.84	231.4±36.63**
<i>Symphyocladia glabra</i>	259.0±51.92	231.1±51.81*
<i>Ulva australis</i>	319.5±25.81	324.6±48.39

<sup>1)</sup>Data are presented as means±SD (n=4).<sup>2)</sup>\*indicate a statistically significant difference compared with LPS control analyzed by one-way ANOVA (Dunnett's test, \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, and \*\*\*\*p<0.0001).

50 mg/L 농도 조건에서 생존 억제력을 보여주었다. 결론적으로 쇠꼬리산말, 대황, 감태, 외톨개모자반, 자루바다표고, 큰잎모자반, 툯, 팽생이모자반, 지충이, 잘록이고리매, 민털보라색우무의 경우 지방세포 성장을 억제하였으나, 그 중에 대황, 툯, 팽생이모자반은 대식세포에서 세포독성을 보여 추가적인 안전성 평가가 필요할 것으로 여겨진다. 따라서 지방세포 증식을 억제하며 대식세포에 독성을 보이지 않는 쇠꼬리산말, 감태, 외톨개모자반, 자루바다표고, 큰잎모자반, 지충이, 잘록이고리매, 민털보라색우무의 경우 항비만 치료제로서의 가능성이 있을 것으로 여겨진다. 이 실험 결과는 해조류 추출물의 안전성 농도 계산에 기여를 할 것으

로 사료되며, 대부분의 해조류 추출물의 식이 보충제로서의 가능성을 보여준다. 이전 연구들에서 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높은 해조류가 암세포의 증식은 억제하나 정상 세포에게는 독성이 없는 선택적인 세포 생존 억제 능력을 보여(Yuan와 Walsh, 2006), 이전의 연구와 유사한 결과를 보여주었다. 그리고 후속 실험을 위해 이 실험 결과를 기반으로 10 mg/L에서 20 mg/L까지의 농도를 안전한 농도로 설정하고 이후 실험에 적용하였다.

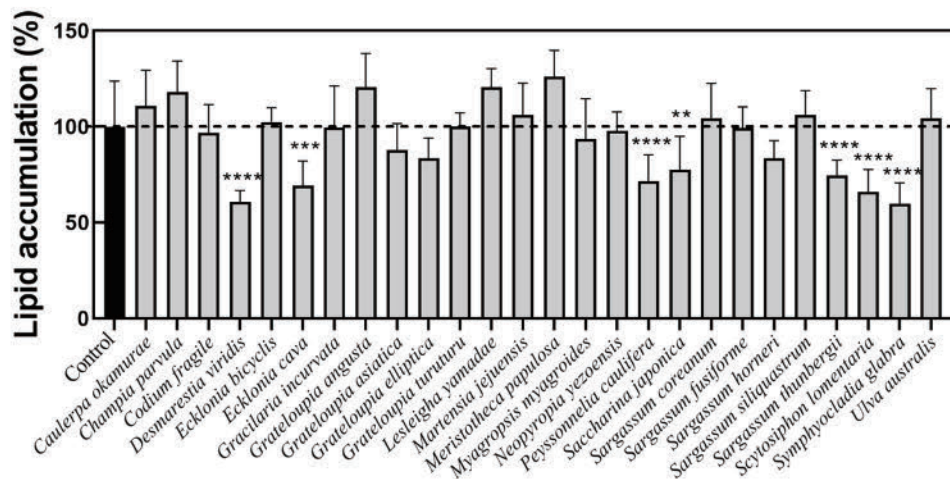
### 항염 효능 평가

해조류 추출물의 항염 효능을 평가하기 위해 LPS를 사용하여 대식세포 염증을 유도하고 염증 유발 인자 IL-6의 생성량을 측정하였다(Table 3). 결과에 따르면 10 mg/L의 농도에서는 대황, 미끌도박, 팽생이모자반, 지충이만이 우수한 염증 인자 억제 능력을 보였고, 20 mg/L의 농도에서는 청각, 자루바다표고, 구멍갈파래의 세 가지 해조류를 제외한 모든 해조류의 70% 에탄올 추출물이 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 적을지라도 20 mg/L의 농도에서 유의적인 IL-6 cytokine 생성 억제 능력을 보였다. 기존 연구에서 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 해조류 추출물의 항산화 능력과 상관관계를 보여 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 항염, 항비만 효능에도 상관관계가 있을 것이라 가설했으나 대부분의 해조류가 항염 효과를 보여 통계분석 시에도 상관관계가 없음을 보였고(Data not shown) 가설이 기각되었다. 그에 따른 원인으로 해조류 추출물에는 총 폴리페놀과 플라보노이드 외에도 항염, 항비만 효과가 뛰어난 색소류(클로로필, 카로티노이드, phycobiliproteins) 함량이 풍부하다고 알려져 있고(Osório 등, 2020), 그 외에 비타민 등도 풍부해 해조류의 항염 및 항비만 능력을 연구할 때에는 모든 화합물의 농도를 측정해 보고, 그 외에도 여러 화합물의 시너지 효과를 고려해야 할 것이다. IL-6는 면역, 항상성, 조혈, 발달 및 대사의 생리학적 조절에 매우 중요하며 JAK/STAT3, Ras/MAPK, PI3K-PKB/Akt 경로 등과 같은 염증 경로를 활성화시키는 역할을 한다(Kaur 등, 2020). 이전 연구들에서 염증성 질환의 치료에서 항-IL-6 수용체 항체는 치료제로 좋은 효과가 있으며 IL-6 차단은 중증 COVID-19의 사망률을 감소시킬 수 있다는 데이터가 있다(Liu 등, 2020). 따라서 청각, 자루바다표고, 구멍갈파래를 제외한 대부분의 해조류 추출물들은 염증관련 질환을 억제할 수 있으리라 사료된다.

### 항비만 효능 평가

비만은 복합적인 다인성 질환이며 대사 질환 및 암의 위험 증가와 관련 있는 주요한 공중 보건 문제이다(Chooi 등, 2019). 이에 우리는 3T3-L1 세포를 분화시키며 동시에 해조류 추출물을 처리하여 추출물의 지방 생성 억제 효능을 평가하였다. Fig. 1에서 쇠꼬리산말, 감태, 자루바다표고, 다시마, 지충이, 잘록이고리매 및 민털보라색우무 추출물을 처리 시(20 mg/L) 대조군에 비교하여 지지방을 생성량이 각각 60.95, 69.36, 71.64, 83.49, 76.79, 81.44, 59.85%로 지방축적 억제 효능을 보였다(p<0.05). 3T3-L1 세포독성 실험에서도 유사하게 다시마를 제외한 쇠꼬리산말, 감태, 자루바다표고, 지충이, 잘록이고리매, 민털보라색우무는 50 mg/L 처리하에서 지방세포에서 80% 이하의 증식 억제를 보였으나 자루바다표고의 경우 IL-6 생성 억제능을 보이지 못해, 항염 효능이 있으며 지방축적을 줄이고 동시에 지방세포 생존도 억제할 수 있는 쇠꼬리산말, 감태, 지충이, 잘록이고리매, 민털보라색우무는 항염, 항비만 치료제로 사용될 수 있는 가능성을 보인다.





**Fig. 1. Effects of 70% ethanol extracts from 26 seaweeds on lipid accumulation in 3T3-L1 cells.** 3T3-L1 cells were cultured in adipocyte differentiation medium (Day 1-2: 0.5 mM IBMX, 10  $\mu$ g/mL insulin, 1  $\mu$ M dexamethasone, Day 3-6: 10  $\mu$ g/mL insulin) containing 20 mg/L of seaweed ethanol extracts for 6 days. The media were replaced every two days. The lipid accumulation of extracted Oil Red O content was measured at 500 nm. All data are presented as means $\pm$ SD (n=8). Compared to the control, \*\* $p$ <0.01, \*\*\* $p$ <0.001, \*\*\*\* $p$ <0.0001 by one way ANOVA followed by Dunnett's test.

## 요약

이 실험에서 26종의 표준화된 해조류 에탄올 추출물을 선택하여 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하고 RAW264.7과 3T3-L1 세포를 이용하여 세포독성을 측정하고 항염 및 항비만 효능을 평가해 보았다. 대부분의 해조류 추출물은 LPS에 의해 유도된 염증유발인자 IL-6의 생성을 유의하게 억제하는 항염 효능을 보였고, 그중에서 쇠뜨리산말, 감태, 지층이, 잘록이고리매, 민털보라색우무의 경우 지방세포 생존을 억제하고 지방축적을 억제하는 효능을 보여 비만치료제로서의 가능성을 보여주었다. 감태, 대황, 제주비단망사, 민털보라색우무의 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 가장 높았으나 감태, 민털보라색우무의 경우만 항염, 항비만 효능을 보였고, 대황, 제주비단망사의 경우 항염 효과만 보였다. 따라서 총 폴리페놀과 플라보노이드의 함량은 항염증 및 항비만과 상관관계가 없는 결과가 나와 추가적인 해조류 추출물의 비타민 및 색소 함량의 정량화를 통해 항염 및 항비만 효과와의 관계에 대한 연구가 필요하리라 사료된다. 본 실험의 결과는 기존에 잘 연구되지 않았던 쇠뜨리산말과 민털보라색우무의 항비만 치료제로서의 가능성을 보여준다.

## 감사의 글

이 과제는 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

## References

Amaro HM, Pagels F, Tavares TG, Costa I, Sousa-Pinto I, Guedes AC. Antioxidant and Anti-Inflammatory Potential of Seaweed Extracts as Functional Ingredients. *Hydrobiology* 1: 469-482 (2022)

Artemniak-Wojtowicz D, Kucharska A, Pyrzak B. Obesity and chronic inflammation crosslinking. *Cent. Eur. J. Immunol.* 45: 461-468 (2020)

Aziz E, Batool R, Khan MU, Rauf A, Akhtar W, Heydari M, Rehman S, Shahzad T, Malik A, Mosavat SH. An overview on red

algae bioactive compounds and their pharmaceutical applications. *J. Complement. Integr. Med.* 17: 20190203 (2020)

Chen L, Liu R, He X, Pei S, Li D. Effects of brown seaweed polyphenols, a class of phlorotannins, on metabolic disorders via regulation of fat function. *Food Funct.* 12: 2378-2388 (2021)

Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism* 92: 6-10 (2019)

Cotas J, Leandro A, Monteiro P, Pacheco D, Figueirinha A, Gonçalves AM, da Silva GJ, Pereira L. Seaweed phenolics: From extraction to applications. *Mar. Drugs* 18: 384 (2020)

da Costa E, Melo T, Reis M, Domingues P, Calado R, Abreu MH, Domingues MR. Polar lipids composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the atlantic red seaweed *Grateloupia turururu*. *Mar. Drugs* 19: 414 (2021)

Din NAS, Mohd Alayudin AS, Sofian-Seng N-S, Rahman HA, Mohd Razali NS, Lim SJ, Wan Mustapha WA. Brown Algae as Functional Food Source of Fucoxanthin: A Review. *Foods* 11: 2235 (2022)

Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications. *Arch. Med. Sci.* 13: 851-863 (2017)

Ferdous UT, Balia Yusof ZN. Insight into potential anticancer activity of algal flavonoids: current status and challenges. *Molecules* 26: 6844 (2021)

Fernando IPS, Lee W, Ahn G. Marine algal flavonoids and phlorotannins: an intriguing frontier of biofunctional secondary metabolites. *Crit. Rev. Biotechnol.* 42: 23-45 (2022)

Fitton JH, Stringer DN, Park AY, Karpiniec SS. Therapies from fucoidan: New developments. *Mar. Drugs* 17: 571 (2019)

Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct.* 10: 514-528 (2019)

Giriwono PE, Iskandriati D, Tan CP, Andarwulan N. Sargassum seaweed as a source of anti-inflammatory substances and the potential insight of the tropical species: a review. *Mar. Drugs* 17: 590 (2019)

Gomes L, Monteiro P, Cotas J, Gonçalves AM, Fernandes C, Gonçalves T, Pereira L. Seaweeds' pigments and phenolic compounds with antimicrobial potential. *Biomol. Concepts* 13: 89-102 (2022)

Jun Y-J, Lee M, Shin T, Yoon N, Kim J-H, Kim H-R. Eckol enhances heme oxygenase-1 expression through activation of Nrf2/JNK pathway in HepG2 cells. *Molecules* 19: 15638-15652 (2014)

Jung JG, Kim JH, Kim JH, Kim YS, Jin D-H, Jin H-J. Effect of



- Scytosiphon lomentaria Ethanol Extracts on Myostatin Activity and Zebrafish Obesity Induced by High Feeding. *J. Life Sci.* 31: 699-709 (2021)
- Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 28: 115327 (2020)
- Kim KC, Kang KA, Zhang R, Piao MJ, Kim GY, Kang MY, Lee SJ, Lee NH, Surh Y-J, Hyun JW. Up-regulation of Nrf2-mediated heme oxygenase-1 expression by eckol, a phlorotannin compound, through activation of Erk and PI3K/Akt. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42: 297-305 (2010)
- Lee H-G, Lu YA, Li X, Hyun J-M, Kim H-S, Lee JJ, Kim TH, Kim HM, Kang M-C, Jeon Y-J. Anti-Obesity effects of Grateloupia elliptica, a red seaweed, in mice with high-fat diet-induced obesity via suppression of adipogenic factors in white adipose tissue and increased thermogenic factors in brown adipose tissue. *Nutrients* 12: 308 (2020a)
- Lee C-H, Park YN, Lee SG. Analysis and comparison of bioactive compounds and total antioxidant capabilities of Korean brown algae. *Korean J. Food Sci. Technol.* 52: 54-59 (2020b)
- Lee S, Youn K, Kim DH, Ahn M-R, Yoon E, Kim O-Y, Jun M. Anti-neuroinflammatory property of phlorotannins from Ecklonia cava on A $\beta$ 25-35-induced damage in PC12 cells. *Mar. Drugs* 17: 7 (2018)
- Liu B, Li M, Zhou Z, Guan X, Xiang Y. Can we use interleukin-6 (IL-6) blockade for coronavirus disease 2019 (COVID-19)-induced cytokine release syndrome (CRS)? *J. Autoimmun.* 111: 102452 (2020)
- López-García J, Lehocý M, Humpolíček P, Sába P. HaCaT keratinocytes response on antimicrobial atelocollagen substrates: extent of cytotoxicity, cell viability and proliferation. *J. Funct. Biomater.* 5: 43-57 (2014)
- Manandhar B, Kim HJ, Rhyu DY. Caulerpa okamurae extract attenuates inflammatory interaction, regulates glucose metabolism and increases insulin sensitivity in 3T3-L1 adipocytes and RAW 264.7 macrophages. *J. Integr. Med.* 18: 253-264 (2020)
- O'Rourke RW. Inflammation in obesity-related diseases. *Surgery* 145: 255-259 (2009)
- Oh S, Kim S, Jung K, Pham TNA, Yang S, Ahn B. Potential prebiotic and anti-obesity effects of codium fragile extract. *Appl. Sci.* 12: 959 (2022)
- Osório C, Machado S, Peixoto J, Bessada S, Pimentel FB, C. Alves R, Oliveira MBP. Pigments content (chlorophylls, fucoxanthin and phycobiliproteins) of different commercial dried algae. *Separations* 7: 33 (2020)
- Piché M-E, Tchernof A, Després J-P. Obesity phenotypes, diabetes, and cardiovascular diseases. *Circ. Res.* 126: 1477-1500 (2020)
- Rasouli H, Farzaei MH, Khodarahmi R. Polyphenols and their benefits: A review. *Int. J. Food Prop.* 20: 1700-1741 (2017)
- Seca AM, Pinto DC. Overview on the antihypertensive and anti-obesity effects of secondary metabolites from seaweeds. *Mar. Drugs* 16: 237 (2018)
- Srivastava G, Apovian CM. Current pharmacotherapy for obesity. *Nat. Rev. Endocrinol.* 14: 12-24 (2018)
- Subbiah V, Xie C, Dunshea FR, Barrow CJ, Suleria HA. The quest for phenolic compounds from seaweed: Nutrition, biological activities and applications. *Food Rev. Int.* 1-28 (2022)
- Ummat V, Tiwari BK, Jaiswal AK, Condon K, Garcia-Vaquero M, O'Doherty J, O'Donnell C, Rajauria G. Optimisation of ultrasound frequency, extraction time and solvent for the recovery of polyphenols, phlorotannins and associated antioxidant activity from brown seaweeds. *Mar. Drugs* 18: 250 (2020)
- Wan-Loy C, Siew-Moi P. Marine algae as a potential source for anti-obesity agents. *Mar. Drugs* 14: 222 (2016)
- Wang Y, Xing M, Cao Q, Ji A, Liang H, Song S. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies. *Mar. Drugs* 17: 183 (2019)
- Wangchuk P. Therapeutic applications of natural products in herbal medicines, biodiscovery programs, and biomedicine. *J. Biol. Act. Prod. Nat.* 8: 1-20 (2018)
- Yuan YV, Walsh NA. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1144-1150 (2006)