

## 연구노트

**홍국의 혈압강하효과와  $\gamma$ -aminobutyric acid, 균체량 및 색도의 영향**

류미라\* · 김은영

한국식품개발연구원

**The Relations Between Antihypertensive Effect and  $\gamma$ -Aminobutyric acid, Mycelial Weight and Pigment of *Monascus***

Mee-Ra Rhyu\* and Eun-Young Kim

Korea Food Research Institute

To determine the relations between antihypertensive effect and  $\gamma$ -aminobutyric acid, mycelial weight and pigment of *Monascus*, ethanol *koji* extracts were prepared from *Monascus koji* and each of three grade was classified based on  $\gamma$ -aminobutyric acid content, glucosamine content and hue angle value, respectively. Each extract was orally administrated on male spontaneously hypertensive rats and its antihypertensive effect was compared. Most of *koji* extracts showed antihypertensive activity regardless of their  $\gamma$ -aminobutyric acid content, glucosamine content or hue angle value. Therefore, hypotensive activity of *koji* extract was not dependent on above three components.

**Key words:**  $\gamma$ -Aminobutyric acid, hypotensive activity, *Monascus koji*, mycelial weight, spontaneously hypertensive rat

**서 론**

*Monascus*속의 홍국균은 분류학상 반자낭균과(Hemiascomycetaceae) 중의 홍국균속(Monascaceae)에 속하며 홍국균에 가까운 균족으로 균의 종류에 따라 생물활성에 차이를 나타낸다. 홍국균을 이용하여 제조한 *koji*는 주로 중국 남부나 대만을 중심으로 약 600년 이상 전부터 이용되어 왔고, 홍국균이 붉은 색소를 생산하므로 이 *koji*는 깊은 홍색을 띤다<sup>(1)</sup>. 홍국은 또한 일찍부터 한방생약으로도 이용되어 왔으며 최근에는 특히 홍국이 생산하는 cholesterol 생합성 억제효능 물질, Monacolin K의 활용에 관심이 모아지고 있다. 한편 홍국의 혈압상승억제 효능에 대해서도 보고되고 있으나 작용기전이나 활성성분은 구명되지 않고 있으며 단지 이 작용은 홍국의 수용성 획분에서 나타나고<sup>(2,3)</sup> electrolyte metabolism이나 angiotensin converting enzyme 활성과는 무관한 것으로 보고되어 있으며<sup>(4)</sup> 최근 본 연구팀의 앞선 연구에서 홍국 수용성 획분은 주요한 혈압강하 작용 기전 중의 하나인 혈관이완작용을 나타내며 이 작용은 혈관내피에서 분비되는 nitric oxide에 의한 것으로 보고하였다<sup>(5)</sup>. 한편 활성성분으로는  $\gamma$ -

aminobutyric acid(GABA)와 acetylcholine이 분리되었으나<sup>(6)</sup> acetylcholine의 작용은 일과성으로 홍국의 지속적인 혈압강하에 중요한 작용을 하고 있다고 생각되기 어려워 현재까지 GABA가 주요 성분의 하나로 추정되고 있다<sup>(4)</sup>. 그러나 GABA는 혈관이완작용과 무관한 것으로 확인되었으며<sup>(5)</sup> 한편 Tsuji 등<sup>(6)</sup>은 홍국의 균체량과 혈압강하작용이 비례하는 것으로 보고하고 있으나<sup>(4)</sup> 이들 성분과 혈압강하작용과의 상관관계는 명확하지 않다.

본 연구에서는 14종의 홍국균으로 제조한 홍국 추출물의 자연발증고혈압쥐(SHR)에 대한 경구투여실험을 통하여 홍국의 혈압강하효능과의 관련성이 시사된 GABA 및 균체량의 영향을 고찰하였으며 홍국색도와 홍국균종의 혈압강하효과에 미치는 영향을 조사하였다.

**재료 및 방법****추출물 제조**

전보<sup>(7)</sup>에 따라 홍국 즉, *Monascus koji*를 제조하였으며 균을 접종하지 않은 채 동일한 과정으로 제조한 것을 대조구홍국으로 하였다. 각 *koji* 건조분말에 4배량의 ethanol(99.9% v/v)을 가하여 80°C에서 3회 반복 추출하고 감압하에서 증발시킨 후 동결건조하여 조추출물을 제조하였다. *M. anka*(IFO 6540), *M. araneosus*(KFRI 00371), *M. kaoliang*(ATCC 46596), *M. pilosus*(IFO 4480), *M. pilosus*(IFO 4487), *M. pilosus*(IFO 4520), *M. pilosus*(IFO 4521), *M. pilosus*(IFO

\*Corresponding author : Mee-Ra Rhyu, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-ku, Seongnam-si, Gyeonggi-do 463-420, Korea  
Tel: 82-31-780-9268  
Fax 82-31-709-9876  
E-mail: mrrhyu@kfri.re.kr

8201), *M. purpureus*(IFO 4482), *M. purpureus*(ATCC 16436), *M. purpureus*(ATCC 36114), *M. ruber*(IFO 9203), *M. ruber*(IFO 32318), *M. sp*(ATCC 16437) 각 *koji* 추출물의 양은 55.04, 46.06, 38.48, 118.0, 0.86, 7.48, 15.72, 3.10, 11.18, 1.68, 72.78, 3.72, 8.32, 18.04 mg/g *koji*이었고 대조구 홍국이 3.20 mg/g *koji*이었다.

### 동물실험 및 혈압측정

실험에 사용한 SHR(Charles River Japan사)은 12주령 이상으로 수축기 혈압이 200 mmHg 이상인 수컷으로 적정조건에 도달할 때까지 specific pathogen-free(SPF) system에서 사육하여 선별하였다. 홍국 추출물을 생리식염수에 녹인 후 oral zonde를 이용하여 경구투여 하였으며 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다. 경구투여 시 초기혈압은 시료 투여 전 일과 당일 투여 직전, 2회 측정한 평균치로 하였고, 시료 투여 후 1, 3, 5, 7시간에 각각 혈압을 측정하여 경시적 변화를 관찰하였다.

혈압측정은 외부로부터의 전자파에 의한 측정장애를 원천적으로 차단하기 위하여 전자파 차단실(radio frequency shield room)내에서 실시하였다. SHR을 37°C로 조절된 항온조에 넣어 약 15분간 안정화시킨 후 꼬리동맥으로부터 미동맥혈압 측정장치(Muromachi Kikai MK-1000, Japan)를 사용하여 수축기혈압(systolic blood pressure)을 측정하였으며 한 동물에서 3회 반복 측정한 평균값을 측정치로 하였다.

각 추출물은 6 마리의 실험동물에 투여 후 측정치의 평균값을 비교하였으며, SAS program을 이용하여 초기 혈압에 대하여 투여 후 각 시간별로 paired t-test를 수행하여  $\alpha=0.05$  수준에서 검정하였다.

### 결과 및 고찰

14종의 각 *Monascus koji*로부터 얻어진 추출물에 대하여 SHR에 대한 혈압강하효과를 측정하였으며 이들 *Monascus koji*에 대해 GABA 함량, 균체량, 색도 등의 혈압강하효과에 미치는 영향을 분석하였다. *Koji*의 GABA, Glc-NH<sub>2</sub> 함량 및 색도는 전보<sup>(7)</sup>의 분석 결과에 따랐으며 특히 GABA는 각 *koji*로부터 얻어진 추출물에 함유된 양으로 환산하여 적용하였다. 각 추출물 10 mg에 함유된 GABA 함량은 0.43~3.45 µg으로 균주에 따라 크게 8배 정도의 차이를 나타내었고 *M. pilosus* IFO 4480으로 만든 *koji* 추출물 10 mg 당의 GABA 함량이 0.43 µg으로 가장 적어 대조구 홍국의 0.34 µg/10 mg

과 비슷한 정도에 지나지 않았다. 이들 중 GABA 함량이 가장 많은 *M. pilosus* IFO 4521(3.45 µg/10 mg), 가장 적은 *M. ruber* IFO 4480(0.43 µg/10 mg) 및 중 정도인 *M. purpureus* ATCC 16436(1.31 µg/10 mg)으로 제조한 *koji* 추출물 각 10 mg/kg body weight 농도로 SHR에 경구 투여하고 혈압강하효능을 비교하였다. Table 1에 나타낸 것 같이 생리식염수를 투여한 대조군에서는 혈압의 변화가 나타나지 않았으나 모든 홍국 투여군에서 투여 1시간 후부터 7시간 후까지 지속적으로 혈압이 저하되었으며 특히 투여 5시간 후부터는 모든 홍국 투여군의 혈압이 투여 전에 비해 유의적인 차이를 나타내어 GABA 함량의 차이에 의한 혈압강하효과의 차이를 나타내지 않았다. 특히 GABA 함량이 blank 홍국과 거의 동일한 양으로 홍국이 생산한 GABA의 양으로 생각하기 어려운 *koji* 추출물에서도 혈압강하효과가 나타나는 등 홍국에 함유된 GABA가 홍국이 나타내는 혈압강하효과의 주요 인자는 아닌 것으로 추정된다. 본 연구팀은 앞서 홍국의 주요 혈압강하 작용기전의 하나로 혈관이완작용을 제시하였으며 GABA는 이 작용에 관여하지 않는 것으로 확인되어<sup>(5)</sup> 본 연구결과는 이 결과와도 상응하는 것으로 사료된다.

Tsuji 등<sup>(4)</sup>은 홍국균의 번식이 진행됨에 따라 혈압강하작용이 강해지는 것으로 예상하고 균체량이 서로 다른 홍국의 SHR에 대한 3주간의 식이실험을 통하여 홍국의 균체량은 혈압강하효과와 정비례하는 것으로 보고하고 있다. Glc-NH<sub>2</sub>은 N-acetylglucosamine으로서 세포벽 성분인 chitin을 구성하고 있으며 이 Glc-NH<sub>2</sub>이나 chitin이 혈압강하작용에 관여한다는 보고는 없으며 chitin은 수용성이 아니므로 이것들이 유효성분이라고는 생각되지 않으나 작용물질이 Glc-NH<sub>2</sub>과 비례해 *koji* 중에 존재하는 것으로 추정하고 있다. 따라서 14종의 홍국 중 전보<sup>(7)</sup>의 분석결과에 따라 Glc-NH<sub>2</sub> 함량이 서로 큰 차이를 나타내는 *M. purpureus* ATCC 36114(8.53 mg/g *koji*), *M. pilosus* IFO 4520(3.80 mg/g *koji*) 및 *M. pilosus* IFO 8201 (1.52 mg/g *koji*)로 제조한 홍국 추출물을 SHR에 경구 투여하여(10 mg/kg body weight) 혈압강하효능을 비교하였다. 모든 홍국 투여군에서 투여 1시간 후부터 7시간 후까지 지속적인 혈압강하효과가 나타났으며 특히 Glc-NH<sub>2</sub> 함량이 가장 많은 홍국에서는 투여 5시간 후부터 유의적인 차이가 나타났으나 오히려 함량이 보다 적은 다른 홍국 투여군에서는 투여 3시간 후부터 유의적인 차이가 나타났으며(Table 2) Glc-NH<sub>2</sub> 함량차이에 따른 효능의 차이는 나타나지 않았다. Tsuji 등<sup>(4)</sup>은 홍국 자체의 식이실험을 통하여 결과를 얻었고 본 연구에서는 홍국 ethanol 추출물을 경구투여한 것으로

Table 1. Antihypertensive effect of *Monascus koji* extract of different grade of GABA concentration on the systolic blood pressure of SHR

	Age (weeks)	Body weight (g)	GABA (µg/10 mg ext.)	Time after administration				
				0 h	1 h	3 h	5 h	7 h
Control	20	331±23	0.34	209±5 <sup>1)</sup>	210±7	211±7	209±4	207±5
<i>M. pilosus</i> IFO 4521	16	297±8	3.50	219±4	206±4 <sup>2)</sup>	206±3	202±4*	207±4*
<i>M. purpureus</i> ATCC16436	24	362±15	1.31	230±3	217±3*	214±3*	211±3*	208±4*
<i>M. pilosus</i> IFO 4480	14	257±11	0.43	207±3	198±4	199±5	188±7*	186±6*

<sup>1)</sup>Mean±SEM (n=6).

<sup>2)</sup>Significantly different at  $\alpha=0.05$ .

**Table 2.** Antihypertensive effect of *Monascus koji* extract of different grade of glucosamine concentration on the systolic blood pressure of SHR

	Age (weeks)	Body weight (g)	Glc-NH <sub>2</sub> <sup>1)</sup> (mg/g koji)	Time after administration				
				0 h	1 h	3 h	5 h	7 h
Control	20	331±23	0.52	209±5 <sup>2)</sup>	210±7	211±7	209±4	207±5
<i>M. purpureus</i> ATCC 36114	22	356±12	8.53	222±1	218±2	214±3	206±4 <sup>3)</sup>	203±3*
<i>M. pilosus</i> IFO 4520	14	278±11	3.80	216±4	207±5	203±3*	195±4*	199±3*
<i>M. pilosus</i> IFO 8201	14	269±4	1.52	219±5	214±6	203±4*	196±4*	191±4*

<sup>1)</sup>From Rhyu et al.<sup>(7)</sup><sup>2)</sup>Mean±SEM (n=6).<sup>3)</sup>Significantly different at  $\alpha=0.05$ .**Table 3.** Antihypertensive effect of *Monascus koji* of different grade of hue angle value on the systolic blood pressure of SHR

	Age (weeks)	Body weight (g)	H <sup>1)</sup>	Time after administration				
				0 h	1 h	3 h	5 h	7 h
Control	20	331±23		209±5 <sup>2)</sup>	210±7	211±7	209±4	207±5
<i>M. araneosus</i> KFRI 00371	16	227±20	20.96	219±2	207±4 <sup>3)</sup>	205±4*	204±4*	205±4*
<i>M. anka</i> IFO 6540	22	345±19	53.20	228±4	213±4*	215±2*	206±2*	206±5*
<i>M. pilosus</i> IFO 4487	17	294±22	88.35	229±1	214±3*	219±4	215±3*	209±5*

<sup>1)</sup>From Rhyu et al.<sup>(7)</sup><sup>2)</sup>Mean±SEM (n=6).<sup>3)</sup>Significantly different at  $\alpha=0.05$ .**Table 4.** Antihypertensive effect of some *Monascus koji* extract on the systolic blood pressure of SHR

Sample	Age (weeks)	Body weight (g)	Time after administration				
			0 h	1 h	3 h	5 h	7 h
<i>M. kaoliang</i> ATCC 46596	23	331±22	229±2 <sup>1)</sup>	213±3 <sup>2)</sup>	215±3*	218±4*	216±2*
<i>M. purpureus</i> IFO 4482	14	268±20	213±2	201±2*	195±6*	198±5*	193±5*
<i>M. ruber</i> IFO 9203	25	350±17	218±2	200±2*	197±3*	197±3*	201±2*
<i>M. ruber</i> IFO 32318	22	362±18	223±3	205±5*	208±4*	206±5*	218±4
<i>M. sp.</i> ATCC 16437	17	303±15	217±1	200±1*	202±3*	199±3*	200±3*

<sup>1)</sup>Mean±SEM (n=6).<sup>2)</sup>Significantly different at  $\alpha=0.05$ .

로 실험법에 차이가 있으나 홍국의 혈압강하성분은 ethanol 가용성으로 본 실험 결과 홍국의 균체량과 혈압강하효과는 정비례 관계에 있다고 평가하기는 어려운 것으로 사료된다.

*Monascus*속 곰팡이는 특유의 붉은 색소를 생산하여 이 *koji*는 짙은 홍색을 띤다. 이 균을 홍국균이라 부르는 것도 바로 이 때문이다. 홍국색소가 혈압강하효과에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 색도가 서로 다른 홍국의 혈압강하효과를 측정하였다. 즉 붉은색의 강도를 나타내는 hue angle value(H) ('0'에 가까울수록 붉은색이 강함)가 각각 21.0, 53.2, 88.35인 *M. araneosus* KFRI 00371로 제조한 *koji*(강한 붉은색), *M. anka* IFO 6540으로 제조한 *koji*(옅은 분홍색), *M. pilosus* IFO 4487 *koji*(거의 백색) 추출물을 SHR에 경구 투여하고(10 mg/kg body weight) 혈압강하효능을 비교하였다. 각 추출물을 투여한 모든 실험군에서 투여 1시간 후부터 7시간 후까지 지속적으로 혈압강하효과가 나타났으며 특히 투여 7시간 후에는 붉은색이 가장 강한 홍국에서 14 mmHg, 옅은 분홍색을 띠는 홍국에서 22 mmHg, 거의 색을 띠지 않는 홍국에서 20 mmHg까지 저하되어(Table 3) 저하의 정도는 hue angle value와 무관하게 나타났다. 이 결과는 Tsuji 등<sup>(2)</sup>이 *M. anka*

의 액체배양에 의해 생성한 홍국색소를 쥐에게 투여하였을 때 혈압강하작용을 나타내지 않았던 결과에 상응하는 것으로 홍국이 생성하는 색소는 홍국의 혈압강하효과와는 직접적 관련이 없는 것으로 사료된다. 그 외 다른 5 종류의 홍국에 대해서도 SHR에 대한 동일한 실험을 실시한 결과 모든 실험군에서 동일한 혈압강하효과가 나타났으며(Table 4) 이들의 GABA 함량, 균체량, 색도와 혈압강하 효과와의 상관성을 검토하였을 때도 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

지금까지 홍국의 혈압강하효과에 관한 연구는 주로 *M. pilosus*와 *M. anka*로 제조한 *koji*에 국한되어 보고<sup>(2)</sup>되어 있으나 본 연구에서 *M. pilosus*와 *M. anka*를 포함하여 그 외에도 *M. araneosus*, *M. purpureus*, *M. ruber* 등 다양한 홍국 균종에서 혈압강하효과가 나타난 것으로 미루어 홍국의 혈압강하효과는 특정 균주에서만 발현되는 것이 아니라 *Monascus*속의 곰팡이 대부분이 나타내는 특성인 것으로 추정된다. 또한 지금까지 홍국의 혈압강하작용은 대부분 홍국을 사료에 첨가하여 장기간(2-3주) 섭취시켜 나타난 것과 달리 본 연구에서는 홍국 추출물의 경구투여 1시간 이후부터 나타나는 효과를 측정한 것으로 보다 적극적인 홍국의 활용

가능성을 확인한 것이라 할 수 있다.

결론적으로 홍국이 나타내는 혈압강하작용은 대부분의 홍국균이 나타내는 특성으로 추정되며 GABA가 주요 활성성분은 아닌 것으로 추정되며, 균체량 또한 활성과 정비례관계를 나타내지 않으며 홍국의 주요 특성인 색도 또한 효능과 직접적인 연관성이 없는 것으로 사료된다. 홍국의 혈압강하기능성식품소재로서의 적극적 활용을 위해서는 앞으로의 연구를 통한 활성성분의 구명이 필요시 된다.

## 요 약

홍국의 혈압강하효과의 관련성이 시사된 GABA 및 균체량 그리고 홍국이 나타내는 가장 큰 특성 중의 하나인 색도가 서로 다른 각 홍국추출물을 SHR에 경구투여하고 투여 1시간 후부터의 7시간 후까지 혈압강하효과에 미치는 영향을 측정하였다. 모든 홍국 투여군에서 혈압강하효과가 나타났으며 이 효과는 GABA나 균체량 또는 색도와 상관관계를 나타내지 않았다.

## 감사의 글

본 연구는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다. 또한 동물실험에 협조해 주신 삼성생명과학연구소 한진수 박사님께 감사드립니다.

## 문 헌

- Endo, A. Trends in *Monascus koji* and *Monascus* strains. Hako To Kogyo. 43: 544-552 (1985)
- Tsiji, K., Ichikawa, T., Tanabe, N., Abe, S., Tarui, S. and Nakagawa, Y. Effects of two kinds of *koji* on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Nippon Nogeikagaku Kaishi. 66: 1241-1246 (1992)
- Tsiji, K., Ichikawa, T., Tanabe, N., Abe, S., Tarui, S. and Nakagawa, Y. Antihypertensive activities of *beni-koji* extracts and  $\gamma$ -aminobutyric acid in spontaneously hyeprtensive rats. Jpn. J. Nutr. 50: 285-291 (1992)
- Tsiji, K., Ichikawa, T., Tanabe, N., Obata, H., Abe, S., Tarui, S. and Nakagawa, Y. Effect of mycelial weight on hypotensive activity of *beni-koji* in spontaneously hypertensive rats. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 39: 913-918 (1992)
- Rhyu, M.R., Kim, D.K., Kim, H.Y. and Kim, B.K. Nitric oxide-mediated endothelium- dependent relaxation of rat thoracic aorta induced by aqueous extract of red rice fermented with *Monascus ruber*. J. Ethnopharm. 70: 29-34 (2000)
- Kohama, Y., Matsumoto, S., Mimura, T., Tanabe, N., Inada, A. and Nakanishi, T. Isolation and identification of hypotensive principles in red-mold rice. Chem. Pharm. Bull. 35: 2484-2489 (1987)
- Rhyu, M.R., Kim, E.Y., Kim, H.Y., Ahn, B.H. and Yang, C.B. Characteristics of the red rice fermented with fungus *Monascus*. Food Sci. Biotechnol. 9: 21-26 (2000)

(2001년 11월 28일 접수; 2002년 8월 3일 채택)