

## 약용식물의 Angiotensin Converting Enzyme 저해활성 탐색

최근표\* · 정병희 · 이동일 · 이현용 · 이진하 · 김종대†

강원대학교 바이오산업공학부, \*강원도립대학 식품생명과학과

### Screening of Inhibitory activities on Angiotensin Converting Enzyme from Medicinal plants.

Geun Pyo Choi\*, Byung Hee Chung, Dong Il Lee, Hyeon Yong Lee, Jin Ha Lee, Jong Dai Kim†

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea.

\* Dept. of Food & Life Science, Gangwon Provincial University.

**ABSTRACT** : Angiotensin converting enzyme(ACE) belongs to the class of zinc protease and plays an important role in the regulation of blood pressure. In this experiment, we investigated the inhibitory activities of medicinal plant extracts on ACE. Fifty medicinal plants were selected and the extracts were prepared by refluxing with 70% methanol. Among the extracts, eleven medicinal plant extracts such as *Sedum sarmentosum* Bunge, *Petasites japonicus*(s.et z.) Max, *Rubus coreanus*, *Morus bombycis* Koidz, *Acorus calamus* var. *angustatus*, *Glycyrrhiza glabra*, *Equisetum hyemale*, *Portulaca oleracea* L., *Prunella vulgaris* var. *lilacina* Nakai, *Sorbus commixta* Hedl, *Allium thunbergii* showed more than 50% inhibitory activities, and *Paeonia suffruticosa* Andr., *Inula helenium*, *Acanthopanax senticosus* Harms, *Dendrobium moniliforme*, *Juglans mandshurica*, *Zizyphus jujuba*, *Leonurus artemisia*, *Aster scaber* Thunb, *Vitex rotundifolia*, *Platycodon grandiflorum*, *Prunus persica*, *Ligularia fischeri* showed 40~49% inhibitory activities. Therefore these extracts which contain high ACE inhibitory activities may be useful as anti-hypertension agents and to the treatment of hypertension.

**Key words** : Angiotensin converting enzyme, hypertension, medicinal plants

## 서 언

고혈압은 암과 같이 대표적 성인병의 하나로 알려지고 있으며 그 원인은 renin-angiotensin계가 중요한 역할을 하고 있는 것으로 여겨지고 있으며 여기에는 angiotensin I converting enzyme [EC 3.4.15.1, ACE : peptidyl dipeptide hydrolase]이라는 효소가 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 생체중에 존재하는 불활성형의 angiotensin I은 ACE에 의해 dipeptide가 떨어져 나감으로써 혈관벽 수축작용이 있는 angiotensin II로 전환

되며 생체내 혈압강하인자인 bradykinin을 불활성화시킴으로써 혈압이 상승하게 된다.

최근 식품이 갖는 생체조절 기능에 관한 관심이 증대됨에 따라 식품 중의 생리활성 성분에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히 식품은 여러 가지 생체조절 기능 중 혈압 상승원인의 하나인 angiotensin converting enzyme(ACE)에 대해 저해작용이 있다는 것이 알려지면서 이에 관해 많은 연구가 진행되고 있다.

지금까지 밝혀진 ACE 저해효과를 갖는 식품성분으로는 여러 가지 식품단백질의 효소가수물로부터 얻어진

† Corresponding author (Phone) : Jong dai Kim, 033-250-6456, E-mail : jongdai@kangwon.ac.kr  
Received 2 November 2002 / Accepted 28 November 2002

peptide류를 중심으로 여러 가지 연구결과가 보고된 바 있다. Casein(Maruyama et al., 1989), Zein(Miyoshi et al., 1991), gelatin(Oshima et al., 1979), 청주와 그 부산물인 술지계미(Saito, 1994), 정어리육(Matsufusi et al., 1994), 가다랑어육(Kohara et al., 1991)으로부터 peptide가 분리되어 이들 peptide가 ACE 저해효과가 있음이 확인된 바 있다. 또한 비 peptide형의 ACE 저해물질로서 간장에서 nicotinamine(Kinoshita et al., 1993)과 쌀겨에서 phytic acid(Saito et al., 1992)가 밝혀진 바 있고, 식물류에서는 차(Hara et al., 1987, Cho et al., 1993), 생강, 오갈피, 오미자, 결명자, 모과, 대추(Do et al., 1993) 등이 연구된 바 있으나 식물류로부터 혈압강화 활성 탐색에 관한 체계적인 연구는 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 50가지 식물 자원을 대상으로 고혈압 억제와 관련이 있는 ACE 억제 활성을 검색하여 혈압강화 소재로서의 이용가치를 알아보기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 추출물의 조제

본 실험의 ACE 활성억제 검색을 위하여 사용한 50종의 식물은 경동시장에서 구입하여 실험에 사용하였다. 추출물의 조제는 각 식물을 깨끗이 손질하여 환류냉각기를 부착시킨 flask에 70% 메탄올을 이용하여 추출하였다. 얻어진 각각의 추출물들은 뜨거운 상태에서 감압여과장치에서 여과, 농축 후 동결건조하여 ACE 활성측정 시료로 사용하였다.

### 2. 기기 및 시약

UV/Vis spectrophotometer는 Kontron uvicon 930을 사용하였으며 ACE calibrator 및 ACE 활성 시약은 sigma사의 kit를 사용하였다.

### 3. ACE 억제활성 측정

Angiotensin converting enzyme은 고혈압을 유도하는 효소이므로 이 효소의 억제활성을 측정하기 위해, 실험 전에 모든 반응물을 37℃로 유지시켜 놓은 후 37℃ 증류수 10ml에 ACE reagent를 용해시키고 1ml씩 취하여 effendorf tube에 넣었다. 여기에 농도별 생약 추출물(0.5mg, 1mg)과 증류수 1ml로 녹인 ACE calibrator를 100μl씩 첨가한 후 37℃에서 5분간 반응시켜 340nm에서 흡광도를 측정하여 이것을 초기 A값으로 정하고 다시 5분 후에 측정된 흡광도를 최종 A값으로 하였다. 대조구로는

증류수 0.1ml를 첨가하였다. ACE(U/L)값은 ACE calibrator의 흡광도 변화를 측정된 것으로 하였으며 (Sweet et al., 1980 ; Seiko et al., 1996) ACE 억제 활성 계산은 다음의 방법에 따라 계산하였다.

$$\text{ACE 값 (U/L)} = \frac{(\text{Initial A} - \text{Final A})_{\text{test}}}{(\text{Initial A} - \text{Final A})_{\text{control}}} \times \text{Activity of ACE calibrator (50 U/L)}$$

$$\text{ACE 억제활성율 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{ACE test}}{\text{ACE control}}\right) \times 100$$

## 결과 및 고찰

고혈압은 우리나라에서 암 다음으로 많이 발생하는 대표적인 성인병의 하나로 그 원인은 renin-angiotensin계가 중요한 역할을 하고 있는 것으로 여겨지고 있으며 여기에는 angiotensin I converting enzyme [EC 3.4.15.1, ACE : peptidyl dipeptide hydrolase]이라는 효소가 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 생체중에 존재하는 불활성형의 angiotensin I은 ACE에 의해 dipeptide가 떨어져 나감으로써 혈관벽 수축작용이 있고 angiotensin II로 전환된다. 이 물질은 강력한 혈관수축작용을 가지고 aldosterone의 분비를 촉진함으로써 물과 sodium의 배설을 억제하며, 또한 혈관이완작용을 갖는 bradykinin을 불활성화시켜 혈압을 상승시키는 역할을 한다(Manjusri et al., 1975).

50가지 생약식물 추출물이 혈압상승 원인의 하나인 angiotensin converting enzyme 저해활성에 미치는 영향을 측정된 결과 Table 1과 같다. 추출물의 농도가 0.5mg/ml에서 50%이상의 높은 ACE 억제활성을 보인 식물은 복분자(53.1%), 마가목(51.0%) 등의 2종이었으며, 40%이상의 ACE 억제 활성을 보인 식물은 머위(41.1%), 산부추(42.1%), 곰취(42.1%), 꿀풀(40.1), 쇠비름(49.5%), 속새(43.2%), 감초(42.1%), 산뽕나무(48.7%) 등 8종으로 ACE 억제활성이 비교적 높게 나타났다. 추출물농도가 1mg/ml에서 산부추가 63.2%로 가장 억제활성이 높았고 그 다음으로 꿀풀 56.9%, 복분자 56.1%를 보였으며 산뽕나무, 머위, 들나물, 쇠비름, 마가목, 속새, 감초, 창포 등 8종도 50% 이상의 저해활성을 보였다. 또한 1mg/ml농도에서 40~49%의 억제율을 보인 식물은 목단, 곰취, 도인, 길경, 만형자, 참취, 익모초, 산조인, 가래나무, 석곡, 오갈피, 목향 등 12종이었다. 1mg/ml농도에서 30~39% 억제율을 보인식물은 백

Table 1. ACE Inhibitory effect of various medicinal plant extracts.

Scientific name	Korean name	ACE Inhibition Rate (%)	
		Concentration(0.5mg)	Concentration(1mg)
<i>Aconitum jaluense</i>	백부자	33.1±2.53	32.2±3.10
<i>Corydalis ternata</i>	현호색	-0.44±2.10	18.2±3.59
<i>Rubus coreanus</i>	복분자	53.2±2.13	56.1±3.15
<i>Prunus armeniaca</i>	행인	21.3±6.54	27.1±2.57
<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	승마	9.11±5.15	17.8±3.74
<i>Salvia miltiorhiza</i>	단삼	27.5±2.16	29.1±1.75
<i>Cyperus rotundus</i>	항부자	-8.89±2.53	-2.67±2.37
<i>Prunella vulgaris</i>	하고초	-5.33±0.96	-4.89±1.73
<i>Paeonia japonica</i>	백작약	16.9±1.52	20.4±3.61
<i>Sorbus commixta</i> Hedl	마가목	51.0±1.64	64.1±2.51
<i>Eucommia ulmoides</i>	두충	28.4±1.67	28.0±3.52
<i>Ostericum paraeticum</i>	강활	18.9±2.37	17.2±5.24
<i>Petasites japonicus</i> (s.et z.) Max	머위	41.1±1.61	52.4±0.93
<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i> Malinv	박하	11.7±3.52	18.2±4.68
<i>Citrus unshiu</i>	진피	20.4±2.53	26.7±2.91
<i>Paeonia lactiflora</i>	적작약	6.89±4.35	7.88±5.24
<i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.	목단	32.4±2.69	40.1±4.37
<i>Sinomenium acutum</i>	방기	6.67±0.51	13.1±1.56
<i>Allium thunbergii</i>	산부추	42.1±1.39	63.2±2.50
<i>Attactylodes macrocephale</i>	백출	26.9±1.29	30.5±1.85
<i>Sedum sarmentosum</i> Bunge	돌나물	32.0±0.66	50.3±1.99
<i>Ligusticum tenuissimum</i>	고본	24.0±1.53	20.4±2.26
<i>Lycium chinense</i>	구기자	34.8±2.25	28.6±3.36
<i>Carthamus tinctorius</i>	홍화	26.9±1.53	27.0±1.82
<i>Asarum sieboldii</i>	세신	32.0±1.53	38.4±1.68
<i>Angelica gigas</i>	당귀	11.0±1.51	32.4±0.94
<i>Panax ginseng</i>	인삼	31.8±1.69	35.3±1.79
<i>Cnidium officinale</i>	천궁	34.9±1.45	36.5±1.61
<i>Ligularia fischeri</i>	곰취	42.1±0.91	49.0±1.53
<i>Pueraris lobata</i>	갈근	-8.26±0.63	-5.09±1.24
<i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i> Nakai	꿀풀	40.1±1.29	56.9±2.56
<i>Prunus persica</i>	도인	27.2±0.99	45.9±2.10
<i>Platycodon grandiflorum</i>	길경	35.8±3.10	43.4±2.67
<i>Vitex rotundifolia</i>	만형자	20.1±1.41	42.5±2.65
<i>Portulaca oleracea</i> L.	쇠비름	49.5±1.24	55.1±1.25
<i>Typha orientalis</i>	포황	37.4±1.96	24.9±3.16
<i>Epimedium brevicornum</i>	음양곽	28.7±1.53	25.8±2.61
<i>Aster scaber</i> Thunb	참취	30.1±0.83	47.6±2.21
<i>Equisetum hyemale</i>	속새	43.2±1.59	55.4±2.03
<i>Glycyrrhiza glabra</i>	감초	42.1±2.01	54.7±3.12
<i>Polygala tenuifolia</i>	원지	16.2±0.65	23.4±1.62
<i>Leonurus artemisia</i>	익모초	30.5±2.13	47.2±2.51
<i>Zizyphus jujuba</i>	산조인	35.1±1.53	40.6±1.69
<i>Juglans mandshurica</i>	가래나무	20.6±0.61	41.2±1.55
<i>Dendrobium moniliforme</i>	석곡	34.9±2.10	40.3±1.93
<i>Acanthopanax senticosus</i> Harms	오갈피	30.4±1.92	42.3±0.53
<i>Inula helenium</i>	목향	26.3±0.94	44.1±2.57
<i>Morus bombycis</i> Koidz	산뽕나무	48.7±1.95	50.3±1.26
<i>Acorus calamus</i> var. <i>angustatus</i>	창포	31.1±2.50	53.2±3.01
<i>Gardenia jasminoides</i>	치자	26.7±1.01	37.0±1.64

\* Each Value represents Mean ± S.D. of three experiments.

부자, 백초, 세신, 당귀, 인삼, 천궁, 치자 등이었으며 현호색, 행인, 단삼, 백작약, 두충, 강활, 박하, 진피, 방기, 고본, 구기자, 홍화, 포황 음양곽, 원지등은 10~29%의 낮은 저해활성을 보였다. 특히 갈근, 향부자, 하 고초등은 ACE kit를 이용한 system에서 활성이 거의 없 는 것으로 나타났다. 한편 국내에서 식물자원에 대한 항 고혈압 연구는 인삼(金, 1986), 마늘추출물(서, 1989), 어성초(白, 1998), 해조(이, 1996)로부터 항고혈압 효과 및 항고혈압 성분 분석 등이 수행된 바 있다.

이상과 같이 50종의 생약식물을 대상으로 실시한 ACE 저해활성 탐색결과는 활용하여 고혈압 예방에 유용 한 활성물질 개발의 기초자료로서의 활용성이 기대된다. 이를 위해서는 ACE 저해활성이 우수한 자원식물 추출물 에 대한 유효성분의 확인과 동물모델을 이용한 효능검증 에 대하여 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

50가지 식물자원을 대상으로 혈압상승을 주도하는 효 소인 angiotensin converting enzyme의 저해활성을 검색 하였다. 그결과 추출물농도 1mg/ml에서 50%이상의 높은 저해활성을 보인 식물은 산뽕나무, 머위, 산부추, 돌나 물, 꿀풀, 쇠비름, 마가목, 복분자, 속새, 감초, 창포 등 11종으로 나타났다. 또한 1mg/ml농도에서 목단, 곰취, 도인, 길경, 만형자, 참취, 익모초, 산조인, 가래나무, 석곡, 오갈피, 목향 등 12종은 40~49%의 비교적 높은 ACE 억제활성을 보였다. 1mg/ml농도에서 30~39%의 억제율을 보인 식물은 백부자, 백출, 세신, 당귀, 인삼, 천궁, 치자 등이었으며 현호색, 행인, 단삼, 백작약, 두 충, 강활, 박하, 진피, 방기, 고본, 구기자, 홍화, 포황 음양곽, 원지등은 10~29%의 낮은 저해활성을 보였다.

앞으로 ACE 억제활성이 높은 식물자원의 유효성분에 대한 물질확인 및 동물모델을 이용한 효능검증에 대하여 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구논문은 2002년도 한국과학재단 지역협력연구센 터사업(한림대 실버생물산업기술연구센터)의 지원에 의해 얻은 결과이므로 이에 감사드립니다.

## LITERATURE CITED

Cho YJ, Ahn BJ and Choi C (1993) Inhibition effect of against angiotensin converting enzyme of flavan-3-ols isolated Korean green tea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25(3), 238-242  
Do JR, Kim SB, Park YH and Kim DS (1993) Angiotensin- I

converting enzyme inhibitory activity by the component of traditional tea materials. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 25(5), 456-460  
Hara Y, Matsuzakai T and Suzuki T (1987) Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 61(7), 903-808  
Kinoshita E, Yamakoshi J and Kikuchi M (1993) Purification and identification of and angiotensin I-converting enzyme inhibitor from soy sauce. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57(7), 1107-1110  
Kohama Y, Oka H, kayamori Y, Tsujikawa K, Mimura T, Nagase Y and Satake M (1991) Potent synthetic analogues of angiotensin-converting enzyme inhibitor derived from tuna muscle. *Agric. Biol. Chem.*, 55(8), 2169-2170  
Matsufusi H, matsui T, Seki E, Osima K, Nakashima M, and Osima Y (1994) Angiotensin I converting enzyme inhibitor peptides in an alkaline protease hydrolysate derived from saridine muscle. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58(12), 2224-2245  
Maruyama S, Miyoshi S, Kaneko T and Tanaka H (1989) Angiotensin I -converting enzyme inhibitory activities of synthetic peptides related to the tandem repeated sequence of a maize endosperm protein. *Agric. Biol. Chem.*, 53(4), 1077-1081  
Manjusri D and Richard LS (1975) pulmonary angiotensin converting enzyme J. *Biol. Chem.* 250(17), 6762-6768  
Miyoshi S, Ishikawa H, Kaneko T, Fukui F, Tanaka H and Maruyama S (1991) Structures and activity of angiotensin-converting enzyme inhibitors in an  $\alpha$ -zein hydrolysate. *Agric. Biol. Chem.*, 55(5), 1313-1318  
Oshima G, Shimabukuro H and Ngasawa K (1979) peptide inhibitors of angiotensin I converting enzyme in digests of gelatin by bacterial collagenase. *Biochim. Biophys. Acta*, 566, 128-147  
Saito Y, Wanezaki(Nakamura) K, Kawato A and Imayasu S (1994) Antihypertensive effects of peptide in sake and its by-products on spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58(5), 812-816  
Saito Y, Nakamura K, Kawato A and Imayasu S (1992) Agiotensin I converting enzyme inhibitors in sake and its by-products. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 66(7), 1081-1087  
Seiko Y, kazumasa s, and Gunki F (1996) Isolation of thermolysin peptides with angiotensive I Converting enzyme inhibitory activity., *Biosci. Biotech. Biochem.* 60(4), 661-7663  
Sweet CC, Ulm EH, Gross DM, and stone CA (1980) A new class of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Nature*, 288, 280  
金在河 (1986) 인삼이 항염증약 및 항고혈압약의 효과에 미친 실험적 연구. 전북대학교 박사학위논문  
白珍浩 (1998) 魚腥草 부위별 추출물의 항고혈압 생리활성 분석 및 화학성분에 관한 연구. 서울대학교 석사학위논문  
서광희 (1989) 마늘 추출물의 항고혈압 효과. 서울여자대학교 박사학위논문  
이은경 (1996) 해조중의 항고혈압 성분의 분리정제. 강릉대학교 석사학위논문