

맹종죽의 항산화활성을 통한 항고혈압 효능

이혜숙 · 박민희¹ · 김정숙¹ · 임병우² · 문갑순^{1*} · 신흥묵*

동국대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 인제대학교 의생명공학대학 식품생명과학부 · 바이오헬스소재연구센터 · 식품과학연구소,
2: 건국대학교 의료생명대학 생명과학부

Anti-hypertensive Effects of ethanol extract of *Phyllostachys Pubescens* via Antioxidant Activity

Hye Suk Lee, Min Hee Park¹, Jung Suk Kim¹, Beong Ou Lim², Gap Soon Moon^{1*}, Heung Mook Shin*

Department of Physiology, Collage of Oriental Medicine, Dongguk University,

1: School of Food and Life Science, Biohealth Products Research Center and Food Science Institute, Inje University,

2: Department of Life Science, College of Biomedical & Health Science, Konkuk University

Phyllostachys pubescens (Maengjong-Juk), a kind of the bamboo, was reported to have many beneficial pharmacological actions. In this study, of using 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* we investigated its efficacy on angiotensin converting enzyme (ACE) and antioxidant enzyme activities. In addition, vasorelaxant effect was examined in rat aortic rings. The inhibitory effect of ACE activity by *Phyllostachys pubescens* extract (PPE) was dose-dependently increased by 61.42% at 10mg/ml. PPE relaxed the pre-contracted rat aortic rings with 10⁻⁶M phenylephrine, showing about 88% at 4.0mg/ml. Sprague Dawley (SD) rats were given different concentrations of PPE mixed in the drinking water for 10 weeks. PPE did not show any difference with control group in blood pressure, body weight (BW) and food intake. However, it revealed the highest total antioxidative effect at dose of 1.0 g/100 g BW in plasma by TEAC assay. Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) and protein carbonyl levels which are markers of tissue peroxidation, were significantly lowered at the same dosage. Furthermore, hepatic antioxidant enzymes such as total superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione reductase (GR) and catalase activities were also significantly increased by PPE (1.0 g/100 g BW). In conclusion, we suggest that PPE might have antihypertensive effect through increasing antioxidant activities.

Key words : *Phyllostachys pubescens* extract (PPE), angiotensin converting enzyme (ACE), antioxidative effect, tissue peroxidation

서 론

최근 인구의 고령화 및 식생활 패턴이 서구화되면서 비만, 당뇨병, 심혈관질환 등의 생활습관병이 급증하고 있다. 2005년 사망통계에 따르면, 한국인의 사망 원인은 암, 뇌혈관 질환, 심장 질환의 순으로 순환기계 질병에 의한 사망률이 각각 2위와 3위를 차지한다. 특히 고혈압은 비교적 증상 없이 표적장기의 손상

으로 뇌졸중, 심부전, 관상동맥질환 등 치명적인 합병증으로 치사율이 매우 높고, 40대 이후 중 노년층에서 유병률이 15~20%로 추정되고 있다¹⁾.

고혈압의 병태생리에서 레닌은 angiotensinogen을 angiotensin I (Ang I)으로 전환시키며, 이는 다시 angiotensin converting enzyme (ACE)에 의해 혈압상승에 중요한 역할을 하는 angiotensin II (Ang II)로 전환 된다^{2,3)}. Ang II는 angiotensin II-type 1(AT1)-receptor와 결합하여 혈관 수축과 알도스테론의 분비를 증가시킴으로써 직접적으로 혈압상승에 관여한다. 또한 내피세포, 평활근 세포와 혈관벽의 섬유모세포에 집중된 활성형 NAD(P)H oxidase에 의한 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, peroxyntirite와 같은 활성 산소종

* 교신저자 : 신흥묵, 경북 경주시 석장동 707 동국대학교 한의과대학
문갑순, 경남 김해시 어방동 607 인제대학교 의생명공학대학
· E-mail : heungmuk@dongguk.ac.kr, fdsnmoon@inje.ac.kr, Tel : 054-770-2372
· 접수 : 2007/03/28 · 채택 : 2007/04/19

(reactive oxygen species: ROS)의 생성은 내피세포의 손상 및 LDL 산화를 촉진하여 혈관의 염증반응과 고혈압을 유도한다. 이상의 renin-angiotensin system (RAS)과 활성산소종의 병태생리에 바탕한 고혈압의 치료는 enalapril, captopril, zofenopril, lisinopril 같은 ACE 저해제와 losartan, candasartan, irbesartan 등의 AT1-receptor 차단제가 있다³⁾. 그러나 이들 약제는 미각이상, 백혈구 감소, 혈관부종, 간기능 이상 및 마른기침 등의 부작용이 많아 천연물로부터의 ACE 저해제 및 혈압강하제의 개발에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다⁴⁻⁷⁾. 또 항산화제는 Ang II와 AT1-receptor의 결합을 방해하고 항산화효소계의 활성으로 세포 손상을 감소시키며, NO 생성에 의한 혈관확장을 통하여 혈압을 하강시킨다^{8,9)}.

대나무는 화본과에 속하는 식물로 전 세계적으로 400여 종류가 분포하며 우리나라에서 자생하고 있는 대나무는 왕대·맹종죽·조릿대·오죽·솜대 등의 대표적인 품종이 있다¹⁰⁾. 일반적으로 껍질, 가지, 잎, 순, 죽여 등이 식용 또는 약용으로 사용되며 예로부터 중풍, 고혈압 치료에 응용되어 왔다¹¹⁾. 최근에 고혈압, 죽상동맥경화, 심혈관계 질환의 치료뿐 만 아니라 항암 및 노화방지에 좋은 식물로 소개되고 있으며 실험적 연구로 항균효과¹⁰⁾, 성분분석¹²⁾, 항산화 효과¹³⁾에 미치는 영향이 보고되고 있다. 특히 맹종죽은 북한을 원산으로 우리나라 남부지방에 재배되는 품종으로 높이는 10~20m, 직경은 20cm로, 육질의 두께도 약 1.5cm 정도이다. 가지는 2~3개 씩 나오는 단환상(單環狀)으로 마디가 솟아 있으며, 5월에 죽순이 나오는데 식용으로 이용 된다¹⁴⁾. 이에 대한 연구는 맹종죽 추출물 코팅쌀이 고콜레스테롤 식이 섭취 토끼 및 C57BL/6 마우스에서의 지질대사와 항산화 효과에 미치는 영향^{15,16)}이 보고된 바 있으나 항고혈압 효능에 대한 연구는 보이지 않는다. 이에 본 연구에서는 항고혈압 효능의 기반 연구로서 맹종죽의 70% 에탄올 추출물이 ACE 저해활성 및 흰쥐 간조직의 항산화 효능, 혈관이완 활성, 혈압 및 심장 박동에 미치는 영향을 조사하여 유의한 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험동물

실험동물은 생후 9주령, 체중 280 g가량의 Sprague Dawley (SD)계 흰쥐 수컷 30마리를 (주)효창 사이언스에서 구입하여 1주일 적응시킨 후 사용하였다. 표준 시판 rat chow 사료와 물을 충분히 공급하면서 23±2℃, 상대습도 50±10%의 환경조건을 유지하였으며 12시간 간격으로 조명을 점등 및 소등하였다. 실험군은 체중에 따른 난괴법(randomized complete block design)으로 다섯 군으로 나누었다. 각 실험군은 10주간 일반 식수만을 제공한 대조군 A, 체중 100 g 당 맹종죽 추출물 0.5 g을 식수에 첨가하여 제공한 B군, 1.0 g을 제공한 C군, 2.0 g을 제공한 D군, 3.0 g을 제공한 E군으로 나누었다.

2) 약제

본 실험에 사용한 맹종죽(*Phyllostachys pubescens*)은 2001

년 10월에 남부임업시험장 가좌시험림(경남 진주시)에서 분양 받아 사용하였고 즉령은 3년생을 기본으로 하였다. 채취한 맹종죽은 줄기를 깨끗한 물로 수세한 후 자연 건조하여 분쇄한 후 추출용 시료로 사용하였다.

2. 방법

1) 추출물의 제조

건조한 맹종죽 줄기를 마쇄하여 70% 에탄올로 3회 반복(12 h, 6 h, 3 h) 추출한 후 여지(Watman No. 4)로 감압 여과하고 여과한 추출물을 진공회전농축기(BUCHI Laboratoriums Technik AG, Rotavapor RE-111, Germany)로 감압 농축한 후 진공 동결 건조기로 건조하였다.

2) 실험동물의 희생 및 시료의 채취

흰쥐를 12시간 절식시킨 후 CO₂를 이용한 호흡기 마취법으로 마취한 후 회복하여 EDTA를 넣은 멸균주사기를 이용하여 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 10℃에서 3,000rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 혈장은 총 항산화능, GOT 및 GPT 측정용 시료로 사용하였다. 간조직의 산화정도와 항산화효소계 활성 측정을 위하여 인산완충액(pH 7.4)으로 심장을 관류시킨 후 간 조직을 적출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 다음 수분을 완전히 제거하고 액체질소에 넣어 -70℃에서 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

3) Angiotensin converting enzyme (ACE) 활성 저해효과 측정

ACE 활성저해효과는 Cushman과 Cheung의 방법에 따라 측정하였다¹⁷⁾. 즉, 25 mM hippuric acid 100 μL에 sodium borate buffer(pH 8.3) 200μL에 녹인 시료를 100 μL 첨가하였다. 이 때 control에는 시료 대신 buffer를 첨가하였다. 이 반응물을 37℃에서 10분간 incubation 시키고, blank를 제외한 모든 시험관에 효소를 100 μL씩 첨가한 후 37℃에서 30분간 incubation하였다. 1 N HCl을 500 μL 넣어 반응을 정지시킨 후, 3 ml의 에틸 아세테이트를 가하여 vortex한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 상등액인 에틸 아세테이트층을 2.5 ml 취하였다. 이 상등액을 감압농축한 후 잔사에 3 ml의 증류수를 넣어 녹이고 228 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{(A \text{ control-A blank}) - (A \text{ sample-A blank})}{A \text{ control-A blank}} \times 100$$

4) 간 조직의 항산화효소 활성 측정

간조직에 50 mM 인산완충액(pH 7.4)을 첨가하여 glass teflon homogenizer로 균질화하였다. 간균질액을 4℃, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 table top 원심분리기를 이용하여 13,000 rpm에서 20분간 원심분리 후, 상등액을 항산화 효소 활성 측정에 이용하였다. SOD 활성은 Mariklund 등의 방법¹⁸⁾을 이용하여 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색으로 측정하였는데 SOD unit는 1분 동안 pyrogallol의 자동산화를 50% 억제하는데 요구되는 효소의 양으로 하였다. Glutathione peroxidase (GSH-Px)와 GSH-reductase (GR)활성은 각각 Lawrence & Burk의 방법¹⁹⁾ 및 Inger & Bengt의 방법²⁰⁾에 의해

측정하였다. GSH-Px 1 unit는 1분간 1 μ M NADPH를 산화시키는 효소의 양으로 정의하였고, GR 1 unit는 1분간 1 nM의 NADPH 환원을 촉매하는 효소의 양으로 정의하였다. Catalase 활성은 Aebi의 방법²¹⁾에 의해 측정하였고 효소의 활성은 1분 동안 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

5) 혈장내 총 항산화능의 측정

혈장의 총 항산화능은 Roberta 등의 방법²²⁾에 따라 trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)법으로 측정하였다. 즉, 10 μ L의 혈장 또는 trolox standard에 ABTS + 용액 1.0 ml를 첨가하여 1분 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 6분간 monitoring하였고 1 mM trolox와 비교하여 흡광도의 저해 %로 나타내었다.

6) 흉부 대동맥에서의 혈관이완 활성 평가

(1) 혈관 절편의 제작

흰쥐를 마취하여 희생시킨 다음, 즉시 복강을 열고 흉부 대동맥을 적출하였다. 이들 조직을 혼합기체(95% O₂ + 5% CO₂)로 포화시킨 Krebs-Ringer bicarbonate 용액(NaCl 119.8, KCl 4.6, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, glucose 10 mM, pH 7.4)에 넣고 실온에서 혈관주위의 결합조직과 지방을 제거하고 약 3mm로 잘라 고리형태의 대동맥 환(aortic ring)을 제작하였다. 이렇게 만든 표본을 physiograph 장치에 연결하여 실험에 사용하였다.

(2) 혈관 장력의 측정

95%의 O₂와 5%의 CO₂를 혼합한 가스가 연속적으로 공급되고 0.5 $^{\circ}$ C로 유지되는 Krebs-Ringer bicarbonate 용액이 있는 organ bath(용량 5ml)에 혈관절편을 현수하여 한쪽 끝은 organ bath의 저부에 고정시키고 다른 쪽 끝은 근 수축변환기에 연결하여 등척성 장력을 기록하였다. 혈관의 장력측정은 미세장력 조절장치(Grass FT-03)를 이용하여 초기 장력을 2g 부하하고 1시간 이상 회복시킨 후 실험에 이용하였다. 혈관절편을 10⁻⁶M의 phenylephrine (PE)로 수축시킨 후 최고 수축기에 이르렀을 때, 맹종죽 추출물을 농도별로(0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0mg/ml) 투여하여 나타나는 반응을 기록하였다.

7) 간 조직의 산화정도 측정

간 조직에서의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등의 방법²³⁾에 따라 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)법으로 측정하였다. 이때 standard로는 1,1,3,3-tetra-methoxypropane (TMP)을 사용하였으며 측정된 값을 표준곡선에 대입시켜 malondialdehyde (MDA)의 양으로 환산하였다. 단백질 카르보닐 함량은 Oliver 등의 방법²⁴⁾에 준하여 DNPH (2,4-dinitrophenyl hydrazine)를 이용하여 카르보닐 그룹의 함량을 측정하였다. 카르보닐 농도는 370 nm에서 각 시료의 흡광도를 측정한 후 지방족 하이드라존 화합물의 평균 분자흡광계수(22.0 \times 10⁶M⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 시료의 카르보닐 그룹의 몰수로 산정하였다.

8) 혈압 및 심박동 측정

흰쥐의 혈압 및 심장 박동수는 Indirect BP Analyzer (Life Science, 3R229 3channel rat system, USA)를 이용하여 tail-cuff법으로 측정하였으며, 26~30 $^{\circ}$ C가 유지되도록 한 후 보

정기로 고정하여 3회 반복 측정하여 평균값으로 설정하였다.

9) 혈장내 GOT, GPT 활성 측정

혈장의 GOT, GPT 함량은 효소법에 의한 정량용 kit시약(영동제약)으로 측정하였다. 즉 기질액 1 ml을 37 $^{\circ}$ C 수조에서 2-3분간 가운 후 혈장 0.2 ml을 가하고 60분간 항온수조에서 반응시킨 후 발색액 1 ml을 가하여 실온에서 20분간 방치하였다. 여기에 0.4 N-NaOH 10 ml 가하고 충분히 혼합한 후 증류수를 대조로 하여 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 농도별로 희석한 기준액 (2mM pyruvate)을 사용하였다.

10) 단백질 함량 측정

단백질 농도 결정은 Bradford assay²⁵⁾를 이용하여 bovine serum albumin (BSA)을 표준단백질로 사용하여 단백질량을 측정하였다.

11) 통계처리

실험결과의 통계처리는 SPSS program을 이용하여 분석하여 mean \pm SD로 표시하였으며, 각 군 간의 평균치의 통계적 유의성은 one-way ANOVA로 검증한 다음 P<0.05 수준에서 Tukey test에 의해 사후 검정하였다.

결 과

1. 맹종죽 추출물의 ACE 활성저해 효과

맹종죽 추출물의 ACE 활성저해 효과를 Fig. 1에 나타내었다. 맹종죽 추출물은 1.0 mg/ml 과 3.0 mg/ml에서 각각 7.60 \pm 1.63%와 10.33 \pm 3.40%로 낮은 ACE 저해 활성을 보였으나, 5.0 mg/ml에서는 29.75 \pm 3.22%, 10.0 mg/ml은 61.42 \pm 0.04%로 농도 의존적으로 ACE 활성을 저해하였다. ACE 저해제인 enalapril은 1.0 mg/ml에서 37.95 \pm 0.01%의 활성 저해를 보였다.

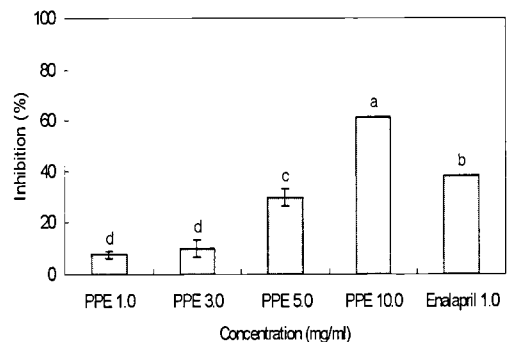


Fig. 1. Inhibitory effects of PPE on ACE activity. Data are expressed as mean \pm S.D.(n=3). a-d Values with different superscript within a same column are significant difference(p<0.05) by Tukey test. PPE: Phyllostachys pubescens extract. ACE: angiotensin converting enzyme.

2. 맹종죽이 간조직의 항산화효소 활성에 미치는 영향

맹종죽 추출물이 흰쥐의 간 조직 내 SOD, GSH-Px, GR 및 catalase의 항산화효소계의 활성에 미치는 영향을 관찰하였다 (Fig. 2). 맹종죽 추출물은 SOD, GSH-Px, GR 및 catalase의 활성을 증가시켰으며 특히 1.0 g/100 g BW 투여군에서 모두 가장

높게 나타났다. GR 활성은 1.0 g/100 g BW 투여군 20.63 nmole/mg protein/min)에서 대조군(16.02 nmole/mg protein/min)에 비하여 28.78% 증가하였다.

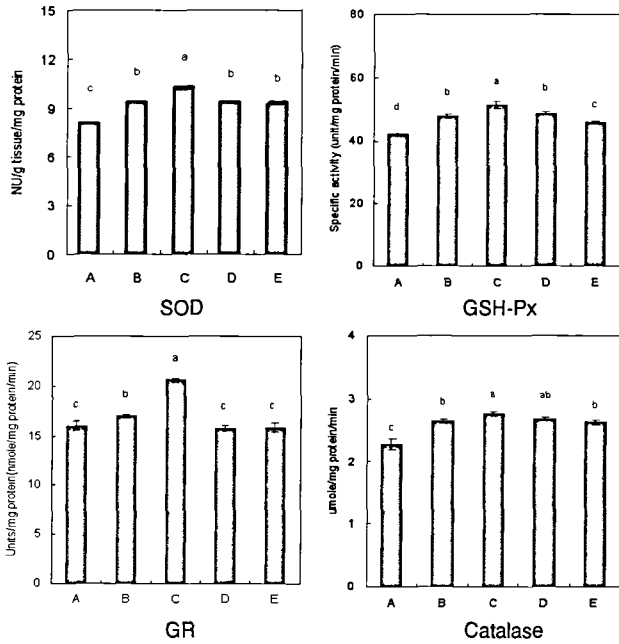


Fig. 2. Effects of PPE on hepatic antioxidant enzymes (SOD, GSH-Px, GR and catalase) activities in rats. PPE treated for 10 weeks by oral. A) Control; B) PPE 0.5 g/100 g body weight; C) PPE 1.0 g/100 g body weight; D) PPE 2.0 g/100 g body weight; E) PPE 3.0 g/100 g body weight. Data are expressed as mean±S.D.(n=6). a-c Values with different superscript within a same column are significant difference(p<0.05) by tukey test. SOD: superoxide dismutase, GSH-Px: glutathione peroxidase, GR: glutathione reductase.

3. 맹종죽이 총 항산화능에 미치는 영향

맹종죽 추출물의 혈액 내 총항산화능을 TEAC 법으로 측정하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 C군> D군> E군> B군> A군의 순으로 총 항산화능이 높게 나타났다. 특히 1.0 g/100 gBW의 투여군(C)은 대조군에 비해 160.57%나 증가하였으나 맹종죽 추출물의 농도가 2.0 g, 3.0 g으로 증가함에 따라 총 항산화능은 오히려 감소하였다.

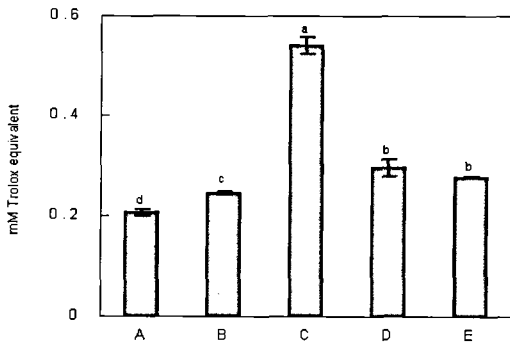


Fig. 3. Effect of PPE on total antioxidant capacity by TEAC assay in the plasma of rats. PPE treated for 10 weeks by oral. A) Control; B) PPE 0.5 g/100 g body weight; C) PPE 1.0 g/100 g body weight; D) PPE 2.0 g/100 g body weight; E) PPE 3.0 g/100 g body weight. Data are expressed as mean±S.D.(n=6). a-d Values with different superscript within a same column are significant difference(p<0.05) by tukey test. TEAC: trolox equivalent antioxidant capacity.

4. PE-유도 수축혈관에 대한 맹종죽의 이완효과

맹종죽의 혈관이완활성을 관찰하기 위하여 10⁶M PE 유도 수축혈관에 대한 추출물의 농도별 이완효과를 확인하였다. 내피 세포 존재 하에서 맹종죽 추출물은 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml, 2.0 mg/ml, 3.0 mg/ml 및 4.0 mg/ml의 농도에서 각각 2.94±8.32%, 10.15±9.72%, 25.64±11.85%, 63.95±14.13%, 88.57±16.01%의 농도의존적 이완작용을 보였다(Fig. 4).

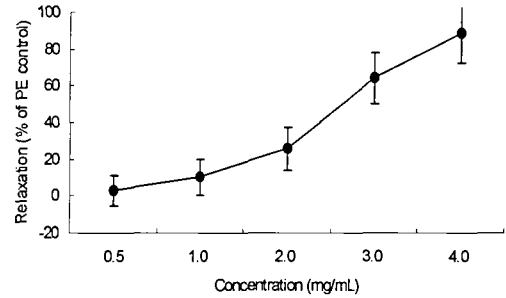


Fig. 4. Vasorelaxation effect of PPE on the PE-induced contraction in rat thoracic aorta with endothelium. Values are mean±S.D.(n=3). PE: phenylephr.ne.

5. 맹종죽의 간 조직내 지질과산화 및 단백질 산화 억제 효과

맹종죽 추출이 흰쥐 간조직의 지질과산화 및 단백질 산화에 미치는 영향을 측정하였다. Fig. 5에 나타난 바와 같이 1.0 g/100 g BW 투여군(C, 18 nmolMDA/g tissue)에서 대조군(A, 0.25 nmolMDA/g tissue)에 비하여 지질과산화를 현저히 억제하였고, B>D군 순으로 (0.22 nmolMDA/g tissue)>D군(0.23 nmolMDA/g tissue)순으로 지질의 산화를 유의적으로 억제시키는 것으로 나타났다. 또한 단백질 산화는 B군, C군, D군, E군에서 각각 6.90, 5.57, 6.20, 7.94 nmol/mg protein으로 대조군인 A군(10.11 nmol/mg protein)에 비해 유의하게 조직의 산화를 억제하였다.

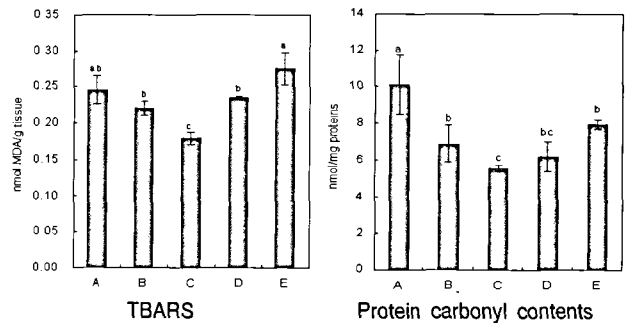


Fig. 5. Effects of PPE on hepatic TBARS and protein carbonyl contents in rats. PPE treated for 10 weeks by oral. A) Control; B) PPE 0.5 g/100 g body weight; C) PPE 1.0 g/100 g body weight; D) PPE 2.0 g/100 g body weight; E) PPE 3.0 g/100 g body weight. Data are expressed as mean±S.D.(n=6). a-c Values with different superscript within a same column are significant difference(p<0.05) by tukey test. TBARS: thiobarbituric acid reactive substance.

6. 맹종죽이 식이 효율 및 체중 증가량에 미치는 영향

흰쥐를 10주간 시판 chow와 식수에 맹종죽 추출물을 첨가하여 투여한 후 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율을 측정하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 각 군 간의 식이 섭취량, 체중

증가량 및 식이효율 간에는 유의한 차이가 없었다. 따라서 실험에 이용한 농도에서 맹종죽 추출물은 흰쥐의 성장에 해로운 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

Table 1. Food intake, body weight and food efficiency in SD rats fed PPE for 10 weeks.

Group	Food intake(g/day)	Body weight(g/day)	Food efficiency(%)
A	24.81±1.18	7.81±0.98	31.46±0.83
B	25.37±1.03	8.06±0.80	31.79±0.78
C	25.02±1.32	7.99±0.96	31.94±0.73
D	24.99±1.12	7.95±0.98	31.82±0.86
E	25.19±1.34	8.08±0.85	32.09±0.64

PPE treated for 10 weeks by oral. A) Control; B) PPE 0.5 g/100 g body weight; C) PPE 1.0 g/100 g body weight; D) PPE 2.0 g/100 g body weight; E) PPE 3.0 g/100 g body weight. Data are expressed as mean±S.D.(n=6).

7. 맹종죽이 흰쥐의 혈압 및 심박동에 미치는 영향

맹종죽 추출물을 10주간 투여한 흰쥐의 혈압 및 심장 박동수를 측정된 결과를 Table 2에 나타내었다. 수축기 혈압 및 이완기 혈압은 모든 군 간에 유의적인 차이가 없었다. 심장 박동수 역시 맹종죽 추출물 투여에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

Table 2. Effects of PPE on blood pressure on SD rats.

Group	Systolic blood pressure(mmHg)	Diastolic blood pressure(mmHg)	Heart rates (beats/min)
A	124.00±9.36	86.67±7.77	423.54±33.15
B	119.85±10.78	84.10±6.32	429.33±35.42
C	115.86±12.15	83.00±7.65	421.63±31.18
D	117.57±9.87	83.87±7.73	425.88±25.18
E	116.43±11.69	81.75±5.65	432.75±28.34

PPE treated for 10 weeks by oral. A) Control; B) PPE 0.5 g/100 g body weight; C) PPE 1.0 g/100 g body weight; D) PPE 2.0 g/100 g body weight; E) PPE 3.0 g/100 g body weight. Data are expressed as mean±S.D.(n=6).

8. 맹종죽이 혈장내 GOT, GPT 활성에 미치는 영향

맹종죽 추출물이 흰쥐의 혈장 GOT, GPT 활성에 미치는 영향을 측정하였다. 혈장 GOT 활성은 2.0 g/100 g BW 농도까지 영향을 미치지 않았으나 3.0 g/100 g BW 농도에서 유의한 증가를 보였다. 혈장 GPT 활성은 2.0 및 3.0 g/100 g BW 농도에서 유의적인 감소를 보였다 (Fig. 6).

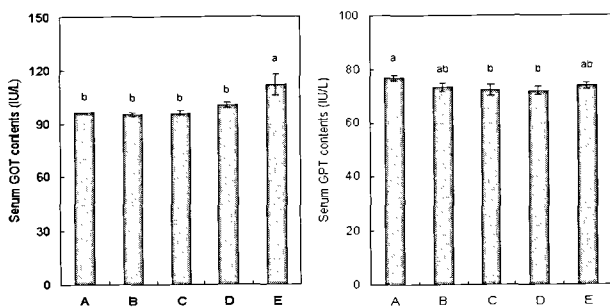


Fig. 6. Effects of PPE on plasma GOT and GPT levels in SD rats. PPE treated for 10 weeks by oral. A) Control; B) PPE 0.5 g/100 g body weight; C) PPE 1.0 g/100 g body weight; D) PPE 2.0 g/100 g body weight; E) PPE 3.0 g/100 g body weight. Data are expressed as mean±S.D.(n=6). a-b Values with different superscript within a same column are significant difference(p<0.05) by tukey test.

고찰

고혈압의 병태생리에 있어서 renin-angiotensin system (RAS)을 조절하는 ACE (angiotensin converting enzyme)는 허파, 심장, 신장과 같은 다양한 조직 및 혈장 등에 분포하며 Ang I을 생리 활성이 있는 Ang II로 전환 시킨다. Ang II는 직접 혈관에 작용하여 혈관을 수축하게 함으로써 혈관 저항을 증가시킬 뿐만 아니라 kallikrein/kinin system에 작용하여 혈관이완 물질인 bradykinin을 불활성화 시킴으로서 혈압을 증가 시킨다. 또 부신 피질의 사구체에서 알도스테론의 분비를 증가시켜 신장 내 염의 저류를 유발시켜 세포 외액을 증가하게 함으로서 혈압을 증가시키기도 한다. 따라서 ACE 작용 억제제인 Ang II의 생성과 bradykinin의 분해를 억제시킴으로서 혈관 수축을 억제하고 혈압을 낮추는 효과를 나타낸다^{26,27}. 그러나 captopril, enalapril, lisinopril 및 ternocapril 등과 같은 ACE 억제제는 두통, 미각이상, 백혈구 감소, 혈관부종, 간기능 이상 및 마른기침 등의 부작용이 따른다. 따라서 천연물로부터의 ACE 저해 효능을 갖는 물질의 탐색은 고혈압 치료제 개발 연구의 중요한 부분으로 최근에는 감귤 및 과실류의 flavonoid 배당체류²⁸, 차성분의 카텐킨류, tannin⁵ 등에서도 ACE 저해 작용이 발견되었으며, 키토산⁶, 송엽 및 익모초 추출물⁷, 배에서 추출한 pectin²⁹과 카제인 가수분해물³⁰ 등에서도 ACE 저해효과 및 혈압 상승 억제효과가 보고되었다. 또한 Ang II는 내피세포 내 산화적 스트레스를 야기하고, 활성 산소종의 생성을 유도하여 내피세포 기능 이상을 초래함으로써 NO의 생체 이용률을 감소시켜 고혈압을 유발한다. 따라서 항산화제는 Ang II 매개 ROS의 생성을 억제할 뿐만 아니라, 항산화효소계의 활성을 증가시킴으로써 세포 손상을 감소시키고, NO 생성을 증가시켜 고혈압을 낮추게 된다.

대나무는 예로부터 증풍, 고혈압에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 실험적 연구로는 열수 추출물의 화학적 특성⁹, 기능성 및 항균활성⁷, 잎의 생리활성과 그 추출물의 항균활성³¹, 대나무 기름의 항균효과³²에 관한 연구가 보고 되고 있다. 최근에는 한국산 왕대, 솜대, 맹종죽, 조릿대 및 오죽의 항산화 효과¹³, 맹종죽 추출물 코팅쌀의 식이가 항산화 시스템에 미치는 영향^{15,16} 및 한국산 대나무의 향료연변이 효과 및 대나무 코팅쌀의 간 독성 억제효과³³ 등이 보고된 바 있다. 특히 맹종죽 추출물 코팅쌀의 항산화 효능은 산화적 스트레스 유발 고혈압³⁴, 동맥경화³⁵의 예방과 치료에 일정한 효능을 나타낼 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 맹종죽의 항고혈압 효능을 연구하기 위한 기반 연구로서 *in vitro*에서 맹종죽의 ACE 저해효능, 혈관이완활성, 흰쥐 간조직에서의 항산화효능 및 혈장에서의 간기능 수치와 혈압, 심박동 및 식이효율, 체중증가, 식이섭취에 미치는 영향을 관찰하였다.

본 연구에서 맹종죽은 농도 의존적으로 ACE 활성저해 효과를 나타내었으며 ACE 저해제인 enalapril과 비교하여 우수한 저해 활성을 가지는 것으로 나타났다. 또한 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)에 의한 산화적 스트레스는 내피세포 기능 장애³⁶, 고혈압³⁷, 동맥경화³⁵ 및 염증반응³⁴의 병리기전을 주도

한다. 따라서 이들 활성산소로부터 스스로를 보호하기 위해 생체는 SOD, GSH-Px, GR 및 catalase 등의 효소적 항산화 방어체계를 가지고 있다. SOD는 산소 유리기의 hydrogen peroxide(H₂O₂)와 O₂로 전환을 촉매하여 생체에서 생성된 superoxide radical의 독성을 방어하는 중요한 역할을 하는데 본 실험에서 SOD의 활성 변화는 맹종죽 추출물 투여군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, 추출물 1.0 g/100 g BW 투여군에서 가장 높은 효소 활성을 나타내었다. Catalase는 SOD에 의해 전환된 H₂O₂를 H₂O로 전환시켜 세포를 superoxide radical로부터 보호하는 효소로, 본 실험에서 catalase의 활성 역시 대조군에 비해 맹종죽 추출물 투여군에서 유의한 증가를 나타내었다. 이는 맹종죽 추출물 속에 함유된 생리활성 물질들이 흰쥐의 체내 항산화 시스템을 활성화시켜 항산화 작용을 증가시킬 수 있다. 또 다른 항산화 효소인 GSH-Px는 catalase와 마찬가지로 H₂O₂를 물로 전환시켜주는 기능을 하는 동시에 조직의 과산화에 대해서도 자체적인 방어작용을 하는데 필수적인 항산화 효소 중의 하나이다. GSH-Px의 기질로 이용되는 GSH는 H₂O₂, hydroxyl radical 및 일정한 산소를 제거하는 비효소적 항산화 물질로 GR에 의해 산화성 glutathione(GSSG)이 GSH로 환원된다³⁹⁾. 본 실험의 GSH-Px 및 GR 역시 맹종죽 추출물 1.0 g/100 g BW 투여군에서 가장 높은 효소 활성을 나타내었으며, 추출물을 투여한 모든 군에서 대조군에 비하여 효소 활성이 증가하였다. 이는 맹종죽 추출물이 높은 GSH-Px 활성에 의해 흰쥐의 간조직 과산화에 대해 방어 작용을 할 것으로 기대되며, GR의 활성을 바탕으로 GSH에 의한 항산화 작용을 증가시킬 것으로 사료된다. 이러한 효소적·비효소적 항산화제들은 산화적 스트레스를 감소시킬 뿐만 아니라 eNOS의 발현을 증가시켜 endothelial derived relaxing factor (EDRF)인 NO의 합성을 촉진함으로써 내피 의존성 혈관확장에 관여한다³⁹⁾. 또한 맹종죽의 총항산화능을 TEAC법으로 측정하였다. TEAC법은 생체 내의 총항산화능을 측정하기 위해 널리 이용되는 방법으로, potassium persulfate와 ABTS의 산화에 의해 생성되어지는 ABTS·+을 소거하는 항산화제의 활성을 수용성 비타민 E analogue인 trolox와 비교함으로써 항산화능을 평가하는 것이다²²⁾. TEAC법에 의한 혈장 내 총 항산화능 역시 1.0 g/100 g BW의 농도에서 가장 높게 나타났으며 1.0g 이상의 농도에서는 오히려 감소하여 1.0 g/ 100 g의 농도 범위가 *in vivo*에서 항산화효과를 나타내는데 가장 적절한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 ACE 저해 작용을 갖는 맹종죽 추출물이 내생적 항산화 작용을 증가시킬 수 있음을 시사한다.

맹종죽의 이러한 항산화효능과 ACE 저해작용은 Ang II 유도 고혈압의 치료에 유의하게 작용할 것으로 기대된다. 따라서 혈압의 조절에 중요하게 작용하는 혈관 긴장도에 미치는 영향을 관찰한 결과 맹종죽 추출물은 phenylephrine (PE)으로 수축을 유도한 흰쥐의 대동맥을 농도 의존적으로 이완시켜 4.0 mg/ml의 농도에서 PE에 의한 혈관 수축을 약 88% 이완시켰다.

관련 TBARS로서 나타난 간조직의 지질과산화 반응은 malondialdehyde (MDA) 함량을 측정하는 것으로 지질과산화는 생체막의 주요 구성성분인 불포화지방산의 조성을 변화시켜 생

체막의 기능을 저하시킬 뿐만 아니라 세포의 구성성분인 단백질, RNA, DNA와 작용하여 항산화 효소가 존재하는 미토콘드리아 등의 기능이상과 생화학적 변화를 일으키며 이로 인해서 고혈압을 비롯한 퇴행성 질환을 촉진하는 것으로 알려져 있다⁴⁰⁾. 또 대사과정 중 생산된 활성산소나 지질과산화물이 지니고 있는 유리 라디칼에 의한 생체 내 손상을 측정하는 방법에 있어서 단백질 카르보닐법은 지질과산화보다 예민한 방법으로 지적되고 있다. 이는 지질의 산화시 생성되는 유리기들이 생체내의 단백질과 반응하여 이들을 파괴시킴으로서 단백질 카르보닐 화합물이 생성되고 이러한 단백질의 파괴는 지질 산화생성물인 hydroperoxide나 MDA 보다 먼저 일어나며, 산화된 단백질이 비교적 안정하므로 측정이 용이 하기 때문이다⁴¹⁾. 본 실험에서 맹종죽 추출물은 간조직의 TBARS와 protein carbonyl 함량을 감소시켜 맹종죽이 항산화효과를 바탕으로 간조직의 산화에 대한 보호효과를 가짐을 알 수 있다. 또한 흰쥐에게 10주간의 맹종죽 추출물의 투여는 대조군과 비교하여 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율에서 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 혈압 및 심장 박동수에도 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과는 본 실험에 사용한 맹종죽 추출물이 투여 용량에서 독성이 없을 뿐만 아니라, 흰쥐의 성장에 해로운 영향을 미치지 않음을 의미한다. 또 혈장 GOT, GPT 효소는 간이나 심장근육에 많이 존재한다고 알려져 있고 혈청 중에는 보통 미량이 함유되어 있으나, 산화적 스트레스를 받으면 활성이 현저히 증가되며 간세포의 상해 시 간세포의 막 투과성이 항진된 결과 혈중으로 유출되어 증가하기 때문에 이 두 효소의 활성은 간 손상의 지표로 이용 된다⁴¹⁾. 본 실험에서 GOT, GPT 활성 역시 대조군과 비교하여 맹종죽 투여군에서 각각 유의적인 차이가 없거나 감소하는 경향을 나타내었으므로 맹종죽 추출물이 생체에서 간독성을 나타내지 않음을 알 수 있다.

결론적으로 맹종죽 추출물은 우수한 ACE 저해 활성과 항산화 효과를 나타내었으며, phenylephrine으로 수축을 유도한 흰쥐의 대동맥 고리에서 농도 의존적인 혈관 이완활성을 보였다. *In vivo*에서 맹종죽은 혈압, 심박동, 체중증가 및 식이효율에 영향을 미치지 않았으며, 1.0 g/100 g BW의 용량에서 혈장 내 총항산화능이 가장 우수하였고, 간조직의 지질 및 단백질의 산화를 현저히 억제하였다. 또한 간 조직 내 SOD, GSH-Px, GR 및 catalase 등 항산화 효소계의 활성을 유의하게 증가시켰다.

이상에서 맹종죽 추출물은 ACE 활성 저해와 항산화효소계 활성을 증가시킴으로써 Ang II 매개 고혈압의 개선에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

결론

맹종죽의 ACE 저해효과 및 흰쥐에서의 항산화효능, 혈관 이완활성, 혈압 심박동수, 체중증가, 식이효율 및 간독성에 대한 연구를 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

맹종죽 추출물은 농도 의존적으로 ACE 활성저해 효과를 나타내었으며, 5.0mg/ml의 농도에서 ACE 저해제인 enalapril의 약 78%에 해당하는 저해 활성을 나타내었다. 맹종죽 추출물은 1.0

g/100 g BW 용량에서 간 조직 내 SOD, GSH-Px, GR 및 catalase 활성 및 혈장 내 총항산화능을 유의하게 증가시켰으며 간조직의 지질과산화와 protein carbonyl 함량을 현저히 억제하였다. 또 Phenylephrine으로 수축을 유도한 흰쥐의 대동맥 고리에서 맹종죽 추출물은 농도 의존적인 혈관을 이완활성을 보였다. 흰쥐에게 농도를 달리한 맹종죽 추출물의 투여는 체중, 식이효율, 혈압 및 심장 박동수에 영향을 미치지 않았다.

이상의 결과는 맹종죽 추출물이 항산화 효능과 ACE 저해 활성을 통한 고혈압의 개선에 활용할 수 있음을 시사한다. 또 흰 쥐에서 1.0 g/100 g BW의 농도 범위가 *in vivo*에서 조직의 산화에 대한 강한 보호효과를 나타내는 가장 적절한 투여 용량으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업(B050042)과 산업자원부 지역혁신센터(RIC)사업의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Food Nutrients Dictionary. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., p 821, 1998.
2. Samy, I.M., Ashok, K., James, R.S. Mechanisms by Which Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors Prevent Diabetes and Cardiovascular Disease, *Am. J. Cardiol.*, 91: 30H-37H, 2003.
3. Brewster, U.C., Setaro, J.F., Perazella, M.A. The renin-angiotensin-aldosterone system; cardiorenal effects and implications for renal and cardiovascular disease states: *Am. J. Med. Sci.*, 326: 15-24, 2003.
4. Tummala, P.E., Chen, X.L., Sundell, C.L., Laursen, J.B., Hammes, C.P., Alexander, R.W., Harrison, D.G., Medford, R.M. Angiotensin II induces vascular cell adhesion molecule-1- expression in rat vasculature; a potential link between the renin-angiotensin system and atherosclerosis. *Circulation*, 100: 1223-1229, 1999.
5. Hara, Y., Matsuzaki, T., Suzuki, T. Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi*, 61: 803-808, 1987.
6. 홍상필, 김명희, 오세욱, 한찬규, 김용현. Chitosan 올리고당의 안지오텐신 전환효소 활성 억제 및 SHR에서의 고혈압 억제 특성. *한국식품과학회지* 30: 1476-1479, 1998.
7. 박건구, 류재원, 최은경, 노환성. SHR(Spontaneously Hypertensive Rat)를 이용한 송엽, 익모초 추출물의 항고혈압 작용. *응용약물학회지* 8: 27-31, 2000.
8. Zalba, G., San, J.G., Moreno, M.U., Fortuno, M.A., Fortuno, A., Beaumont, F.J., Diez, J. Oxidative stress in arterial hypertension. Role of NAD(P)H oxidase. *Hypertension* 38:

- 1395-1399, 2001.
9. Elena, M.V., Barbara, P., Cesar, G.F. Concerted action of the renin-angiotensin system, mitochondria, and antioxidant defenses in aging. *Molecular Aspects of Medicine* 25: 27-36, 2004.
10. 백종원. 국내산 대나무의 항균활성과 식품보존효과. *이화석사학위논문*, 2003.
11. 홍남두, 김중우, 최승기, 김남재, 손정곤. 죽력의 약리작용에 관한 연구 (제1보). *경희약대논문집*, 10: 69-75, 1982.
12. 김낙구, 조숙현, 이상대, 류재산, 심기환. 대나무 열수추출물의 화학적 특성. *한국식품저장유통학회* 8(4):469-474, 2001.
13. 이민자, 문갑순. 한국산 왕대, 솜대, 맹종죽, 조릿대 및 오죽의 항산화 효과. *한국식품과학회지* 35: 1226-1232, 2003.
14. 이영노. *한국식물도감(FLORA of Korea)*. 교학사, pp 970-971, 2002.
15. 이민자, 김은영, 문갑순. 맹종죽 추출물 코팅쌀 식이가 고콜레스테롤 섭취 토끼의 항산화 시스템에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 33: 973-980, 2004.
16. 김은영, 이민자, 송영옥, 문갑순. 맹종죽(*Phyllostachys Pubescens*) 추출물 코팅쌀이 Atherogenic 식이를 섭취한 C57BL/6 마우스의 항산화 시스템에 미치는 영향. *대한지역사회영양학회지*, 9:536-544, 2004.
17. Cushman, D.W., Cheung, H.S. Spectrophotometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharm.* 20: 1637-1647, 1971.
18. Marklund, S., Marklund, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autpxodotopm of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 47: 469-474, 1974.
19. Lawrence, R.A., Burk, F. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71: 952-958, 1976.
20. Inger, C., Bengt, M. *Methods in enzymology*. Academic press. Inc. 113: 484-490, 1985.
21. Aebi, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105:121-126, 1984.
22. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & Medicine* 26: 1231-1237, 1999.
23. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351, 1979.
24. Oliver, C.N., Ahn, B., Moerman, E.J., Goldstein, S., Stadtman, E.R.. Age-related changes in oxidized proteins. *J. Biol. Chem.* 262: 5483-5492, 1987.
25. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing

- the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254, 1976.
26. Stewart, J.M., Ferreira, S.H., Greene, L.J. Bradykinin potentiating peptide PCA-Lys-Trp-Ala-Pro. An inhibitor of the pulmonary inactivation of bradykinin and conversion of angiotensin I to II. *Biochem. Pharmacol.* 20(7):15557-15567, 1971.
 27. Soffer, R.L. Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Annu. Rev. Biochem.* 45: 73-94, 1976.
 28. Ohara, T., Ohinata, H., Muramatsu, N. Enzymatic degradation of rutin in processing of buckwheat noodles. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi* 36: 121, 1989.
 29. 나창수, 윤대환, 최동희, 김정상, 조춘화, 은종방. 배 추출 펙틴이 2K1C 고혈압 흰쥐의 혈압, 혈장 Renin, ANP 및 Cardiac Hypertrophy에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지* 32: 700-705, 2003.
 30. 김현수, 인영민, 정석근, 함준상. 자연발증고혈압쥐에서 카제인 가수분해물의 혈압강하효과. *동물자원지* 44: 483-490, 2002.
 31. 김미정, 변명우, 장명숙. 대나무(신의대)잎의 생리활성 및 항균성 효과. *한국영양식량학회지* 25: 135-142, 1996.
 32. Lee, S.K. Antimicrobial Activity of Bamboo (*Phyllostachys bambusoides*) Essential Oil. *J. Fd Hyg. Safety.*15(1):55-59, 2000.
 33. 이민자, 김은영, 정근옥, 박건영, 문갑순. 한국산 대나무의 항돌연변이 효과 및 대나무 코팅쌀의 간 독성 억제효과. *한국식품영양과학회지* 33(8):1279-1285, 2004.
 34. Floyd, R.A. Neuroinflammatory processes are important in neurodegenerative diseases: an hypothesis to explain the increased formation of reactive oxygen and nitrogen species as major factors involved in neurodegenerative disease development. *Free Radic Biol Med.* 26(9-10):1346-1355, 1999.
 35. Kojda, G., Harrison, D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res.* 43(3):562-571, 1999.
 36. Guzik, T.J., West, N.E., Black E, McDonald D, Ratnatunga C, Pillai R, Channon KM. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ Res.* 86(9):E85-90, 2000.
 37. Panza, J.A., Quyyumi, A.A., Brush, J.E. Jr, Epstein, S.E. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med.* 323(1): 22-27, 1990.
 38. Yannik, M., Robert, B. Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem. J.* 342: 481-496, 1999
 39. Wink, D.A., Michell, J.B. Chemical biology of nitric oxide; Insight into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanism of nitric oxide. *Free Rad Biol Med.* 25: 434-456, 1998.
 40. Kehrer, J.P. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol.* 23(1):21-48, 1993.
 41. 김영국. 식이에 의한 간지질 및 효소 활성 변화에 관한 연구. *한국영양학회지* 6(1):15-29, 1973.