

## 생약의 안지오텐신 II 수용체 결합저해활성 검색

오원근, 강대욱, 박찬선, 안순철, 고태룡, 김보연, 민태익, 안종석, 이현선\*

생명공학연구소 바이오신소재연구부

### Screening of the Angiotensin II Antagonists from Medicinal Plants

Won Keun Oh, Dae Ook Kang, Chan Sun Park, Soon Cheol Ahn,  
Hack Ryong Ko, Bo Yeon Kim, Tae Ik Mheen,  
Jong Seog Ahn and Hyun Sun Lee\*

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST,  
P.O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

**Abstract** - The total MeOH extracts of 149 herbal medicines were screened for angiotensin II receptor antagonistic activity using rat liver membrane fraction. Four medicinal plants- *Atractylodes japonica*, *Evodia officinalis*, *Scutellaria baicalensis*, *Machilus thunbergii* showed strong angiotensin II antagonistic activity.

**Key words** - angiotensin II receptor; *Atractylodes japonica*; *Evodia officinalis*; *Scutellaria baicalensis*; *Machilus thunbergii*.

Renin-angiotensin system (RAS)은 혈압의 조절과 electrolyte/fluid 항상성에 중요한 역할을 하고 있다. 간에서 생성된 angiotensinogen은 aspartylprotease인 renin에 의해 decapeptide인 angiotensin I (Ang I)으로 되고 metalloprotease인 angiotensin-converting enzyme (ACE)에 의해 octapeptide hormone인 angiotensin II (Ang II)가 생성된다. Angiotensin II (Ang II)는 혈관 평활근 수축작용, 부신피질과 뇌하수체 후엽으로부터 aldosteron과 vasopressine의 분비 촉진 작용등, 말초계 또는 중추계 양면으로부터 생체의 순환기 조절에 중요하게 다양한 역할을 하고 있는 호르몬으로서 이들 작용기전은 각각의 표적장기의 세포표면에 존재하는 angiotensin II에 특이한 수용체를 매개하여 생리작용을 나타내고 있다.<sup>1,2)</sup>

Ang II 수용체 길항제에 관한 연구는 지금까지

Ang II 유도체에 대한 연구가 중심으로 행해져, 1970년대 초에 Phe<sup>4</sup>-Tyr<sup>8</sup>-Ang II, Sar<sup>1</sup>-Ile<sup>8</sup>-Ang II와 Sar<sup>1</sup>-Ala<sup>8</sup>-Ang II (saralasin)등과 같은 펩타이드성 Ang II 수용체 길항제가 개발되어 과거 20~30년 동안 pharmacological tool로서 사용되어 왔지만 이들 peptide들은 경구 투여시 생체이용률의 불량, 짧은 작용 지속시간 및 그것 자체가 agonist 특성을 띠는 등 많은 문제점을 안고 있어 비펩타이드성 길항제의 개발이 요구되었다.<sup>3)</sup> 또한 특히 혈압조절 물질로 주목되고 있는 Ang II 수용체 길항제로서 비peptide성 길항제인 DuP 753이 고혈압 치료제로서 미국 FDA의 승인을 받음에 따라 가장 잠재성있는 혈압조절제가 될 가능성이 높아지고 있으며, 심부전이나 동맥경화, 당뇨병성 신증등 신장질환에도 효과가 있는 것으로 예견되고 있다.

Ang II 수용체는 특이성이 높은 peptide성 및 비peptide성 Ang II 수용체 길항물질을 사용한 실험에 의해 적어도 기능적으로 다른 2개의 subtype이

\*교신저자 : Fax 042-860-4595

존재하며, 조직에 따라 그것의 분포가 다르다는 것이 명확하게 되었다.<sup>4,7)</sup> AT<sub>1</sub> 수용체의 angiotensin에 대한 친화성은 Ang II>Ang III>Ang I의 순으로 비peptide성 길항제인 DuP 753과 특이적으로 결합하며 SH 화합물인 dithiothreitol (DTT)에 의해 불화성화 되는 것으로 알려졌으며, AT<sub>2</sub> 수용체의 경우 angiotensin에 대한 친화성은 AIII>AII>AI의 순으로 이 type은 peptide성 길항제인 CGP-42112A나 비peptide성의 PD123,177, PD123,319와 특이적으로 결합하며, DTT에 의해 불화성화 되지 않는 것으로 알려졌다. 이러한 Ang II 수용체의 subtype은 종 및 조직에 따라 다른 분포를 보이는데 AT<sub>1</sub>의 경우 혈관 평활근, 간, 신장, 부신피질, 폐, 비장, 뇌 등에 풍부하고 부신피질, 자궁, 난소, 뇌 등에는 AT<sub>2</sub>가 풍부한 것으로 알려져 있다. 특히, AT<sub>1</sub>에 선택적인 비펩타이드성 길항제는 혈관 수축, aldosterone 유리, 심혈관계 비후(cardiovascular growth)와 같은 Ang II의 작용을 차단하는 것으로 잘 알려져 있어 AT<sub>1</sub>에 선택적인 길항제의 개발이 주목을 받고 있다.

이제까지 개발된 대부분의 길항제들은 1982년 일본의 Takeda Chemical Industries의 Furukawa등에<sup>8,9)</sup> 의해 개발된 1-benzylimidazole 5-acetic acid의 유도체를 선도물질로 하여 합성된 화합물들이며, 천연물로부터 유래한 Ang II 길항제로는 TAN-1446 (*Penicillium restrictum*),<sup>10)</sup> tetrazole derivative (*Streptomyces* sp. MA6966 (ATCC55293)),<sup>11)</sup> cytosporin A (*Cytospora* sp.),<sup>12)</sup> arrivacin A, B (*Ambrosia psilostachia*)<sup>13)</sup> 등 만이 알려져 있을 뿐이다.

이에 저자들은 천연물로부터 Ang II 수용체 결합 저해제를 탐색할 목적으로 SD rat의 간으로부터 분리한 Ang II 수용체를 이용하여 149종의 생약에 대한 Ang II 수용체 결합 저해 활성을 검색하여 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

**시약 및 기기**-Ang II 수용체 결합시험시 사용되는 기질로는 [<sup>3</sup>H]-angiotensin II (NEN, NET-446)을, 표준물질로서 angiotensin II (Sigma, A-8776), saralasin (Sigma, A-2275), [Sar<sup>1</sup>-

Ile<sup>8</sup>]-Ang II과 DuPont/Merck Pharma. Co.로부터 공급받은 DuP 753 (Losartan)을 사용했다. protease inhibitor로서는 aprotinin (Sigma, A-4328), leupeptin (Sigma, L-2884), pepstatin A (Sigma, P-4265), benzamidin (Sigma, B-6506) 및 PMSF (Sigma, P-7626)을 사용하였다. scintillation counter로는 Beckman LS-6800 Analyzer를 이용하여 radioactivity를 측정하였다.

**실험동물**-사용된 실험동물은 중량 200~250 g인 male Sprague-Dawley (SD) rat를 생명공학 연구소의 유전자원센터로부터 분양받아 사용하였다.

**생약 및 생약시료의 조제**-본 실험에 사용한 생약 중 감국등 99종은 대전 일신약품(주)에서 구입했으며 취오동, 굴피나무, 모시풀, 모감주나무, 사람주나무 등 50종은 소백산과 계룡산에서 채집하여 음건한 후 사용하였다. 건조한 시료 50 g을 MeOH (250 ml)로 실온에서 3일간 추출한 후 40°C 이하에서 감압농축하여 10 mg/ml이 되도록 DMSO 또는 MeOH에 녹여 stock solution을 만들어 일차 탐색의 시액으로 사용했다. 1차 활성검색 결과 강한 활성을 보여주는 시료에 대해서는 CHCl<sub>3</sub>과 H<sub>2</sub>O를 사용한 용매분획을 행하여 2차 탐색에 적용하였다.

**원충용액의 조제**-angiotensin II receptor의 분리를 위해 10 mM HEPES, pH 7.4, 및 protease inhibitors (10 µg/ml of aprotinin, leupeptin, pepstatin, 16 µg/ml of bezamidin, 1 mM PMSF)등으로 구성된 buffer A를 사용하였고, 수용체 결합 측정에 사용한 assay buffer로는 10 mM MgCl<sub>2</sub>와 0.25% BSA를 함유하는 10 mM HEPES, pH 7.4를 사용하였다.

**angiotensin II 수용체의 분리**<sup>6)</sup>-Ang II 수용체의 분리는 Sprague-Dawley (SD) rat로부터 Dudley의 방법을 기초로 약간 수정하여 분리하였다. SD rat에 20% urethane을 약 1.5~2 ml 복강내 주사하여 마취시키고 절개한 후 식염수로 관류하여 간을 적출하였으며 이하의 모든 조작은 4°C에서 실시 하였다.

적출한 간을 buffer A로 세척하고 약 10 g을 30 ml의 buffer A에 넣어 homogenizer로 분쇄한 후 3,000×g에서 10분간 원심분리하여 일차적으로 침전물을 제거하였다. 상등액을 합하여 다시 10,000×

g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취한 후 이것을 100,000×g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 제거하고 생긴 침전물을 cold buffer로 세척하여 100,000×g에서 30분간 원심분리 하였다. 최종적으로 얻은 침전물을 assay buffer에 균질화 시키고 1.5 ml 씩 나누어 -70℃의 냉동고에 보관 하였으며 필요시 단백질의 농도가 0.5~1 mg/ml로 되게 침전물을 assay buffer에 현탁시켰다

**수용체 결합 저해활성 측정<sup>6,14)</sup>** -수용체 결합시험은 assay buffer를 사용하여 glass tube에서 최종 부피가 0.5 ml로 되게 실시하였다. total binding에는 기질로 2 nM [<sup>3</sup>H]-Ang II를, non-specific binding (비특이적 결합)에는 2 nM [<sup>3</sup>H]-Ang II와 1 μM의 cold-Ang II가 포함되게 하고 수용체 분획 (30~50 μg protein)과 생약시료 (10 μl)을 첨가한 후 25℃에서 50분간 shaking water bath상에서 반응시켰다. cold assay buffer 3 ml를 가하여 반응을 종결시킨 후 여지(GF/C glass fiber filter, Whatman)로 여과하여 liquid scintillation counter로 radioactivity를 측정하였으며 시료에 의한 Ang II 수용체결합 저해율은 다음 식에 의해 산출하였다. 저해율은 2회 측정한 평균치로 나타내었다.

$$\% \text{ of inhibition} = \left[ \frac{(Sc - Ss)}{Sc} \times 100 = \frac{(Tc - Nc) - (Ts - Ns)}{Tc - Nc} \times 100 \right]$$

Sc=specific binding of control.

Ss=specific binding of sample.

Tc=total binding of control.

Ts=total binding of sample.

Nc=nonspecific binding of control.

Ns=nonspecific binding of sample

## 결과 및 고찰

149 종의 메탄올 추출물의 SD rat의 간으로부터 분리한 Ang II 수용체에 대한 결합저해활성을 조사하였다(Table I). 검색결과 길경, 백출, 소자, 오수유, 포공영, 후박, 황금을 포함한 25종의 시료에서 30%이상의 저해활성을 나타냈다. 1차 검색결과 선정된 시료중 12종 생약시료의 MeOH ext.를 각각 CHCl<sub>3</sub> 층과 H<sub>2</sub>O 층으로 나누어 10 mg/ml의 농도

로 한 후 2차 검색을 실시하여 그 결과를 Table II에 나타냈다. 백출, 오수유, 황금, 후박의 경우 CHCl<sub>3</sub> 층으로 활성물질이 이행되어 total MeOH ext.보다 강한 활성을 보여주고 있으며, 최종농도 200 μg/ml의 농도에서 각각 94%, 78%, 67%, 92%의 Ang II 결합저해활성을 보였다. 이는 서론에서 언급했듯이 펩타이드성 길항제의 문제점 때문에 탐색하고자 하는 Ang II 수용체 길항제가 비펩타이드성 물질을 목표로 하고 있는 점을 고려 할때 활성물질이 CHCl<sub>3</sub>층으로 이행됨은 바람직하다고 생각된다.

고혈압과 RAS의 관련성에 관한 연구의 결과로서 개발된 captopril과 enalapril과 같은 ACE 저해제가 고혈압과 울혈성 심부전의 치료에 임상적, 상업적으로 큰 성공을 거둬에 따라 RAS cascade를 조절함으로써 새로운 효능을 갖는 약물탐색의 방향을 제시했다.<sup>2,15,16)</sup> 이렇듯 ACE 저해제가 큰 성공을 거두었음에도 불구하고 ACE 저해제는 비특이적 protease로서 bradykinin, substance P와 enkephalin같은 다른 peptide를 분해한다.<sup>17,18)</sup> ACE 투여시 5~10 %의 환자에서 나타나는 마른 기침의 부작용과 드물게 혈관부종(angioedema)도 ACE의 특이성의 부족의 결과로 부작용이 나타나며, 이들 부작용은 bradykinin 작용의 증대에 기인되는 것으로 생각되고 있다.<sup>19)</sup> 또한, RAS에 관련된 새로운 효소저해제의 탐색으로서 renin 저해제의 탐색이 활발하게 이루어 졌으나 경구투여시 낮은 생체이용율, 빠른 담즙 배설과 대부분의 renin 저해제의 구조상 복잡성 등으로 인해 약물의 개발이 방해를 받고 있다.<sup>20)</sup> 이와 같이 renin과 ACE 저해제는 그 치료효과에 있어 한계점을 안고 있어 작용기전이 명확하고 부작용이 없는 새로운 고혈압 치료제의 개발이 요구된다.

최근에는 Ang II 수용체 길항제를 비롯하여 endothelin antagonist, 심방 나트륨배설촉진 peptide (atrial natriuretic peptide, ANP)를 분해하는 효소저해제의 연구가 활발하게 이루어지고 있어 이러한 물질들이 고혈압 치료제로 각광받을 것으로 기대되며, 특히 RAS의 마지막 과정을 저해하는 Ang II 수용체의 길항제가 이 system을 매우 특이적으로 차단하여, ACE에도 영향을 주지 않기 때문에 Ang II blocker에 의한 치료시 bradykinin 작용의 증가에 의한 부작용도 줄일 수 있어 이에 대한 개발이 진행되고 있다.

**Table I.** Inhibition of receptor binding of angiotensin II by the methanol extracts of herbal plants

Samples	Part of plant <sup>a</sup>	Inhibition(%) <sup>b,c</sup>
<i>Chrysanthemum indicum</i> (감국)	fl	-
<i>Euphorbia kansui</i> (감수)	ra	45
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	ra	-
<i>Angelica koreana</i> (강활)	rh	-
<i>Corylus heterophylla</i> var. <i>thunbergii</i> (진자)	ap	-
<i>Boehmeria tricuspis</i> (거북꼬리)	ap	-
<i>Cayratia japonica</i> (거지덩굴)	ap	-
<i>Zingiber officinale</i> (건강)	rh	-
<i>Cinnamomum cassia</i> (계지)	ba	-
<i>Persicaria thunbergii</i> (고마리)	ap	-
<i>Angelica tenuissima</i> (고본)	rh	-
<i>Sophora flavescens</i> (고삼)	ra	-
<i>Juncus effusus</i> var. <i>decipiens</i> (골풀)	ap	-
<i>Trichosanthes kirilowii</i> (팔루인)	ra	-
<i>Sophora japonica</i> (괴화)	fl	-
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	fr	-
<i>Stephanadra incisa</i> (국수나무)	ap	-
<i>Platycarya strobilacea</i> (화향수파)	fr	-
<i>Lonicera japonica</i> (금은화)	fl	60
<i>Platycodon grandiflorum</i> (길경)	ra	-
<i>Astilbe chinensis</i> (소송마)	ap	-
<i>Lysimachia barystachys</i> (낭미파화)	ap	-
<i>Veronicastrum sibiricum</i> (냉초)	ap	-
<i>Celastrus orbiculatus</i> (남사등근)	ra	-
<i>Symplocos chinensis</i> for. <i>pilosa</i> (화산반)	ap	-
<i>Pyrola japonica</i> (녹제초)	ap	-
<i>Echinops setifer</i> (누로)	ra	-
<i>Ulmus parvifolia</i> (낭유피)	ra	-
<i>Actinidia arguta</i> (다래)	fr	-
<i>Salvia miltiorrhiza</i> (단삼)	ra	-
<i>Angelica gigas</i> (참당귀)	ra	34
<i>Cirsium japonicum</i> (대계)	ap	-
<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i> (대조)	fr	-
<i>Rheum palmatum</i> (대황)	rh	37
<i>Camellia japonica</i> (산다화)	fl	-
<i>Benincasa hispida</i> (동과자)	sm	32
<i>Juncus effusus</i> (등심초)	tu	-
<i>Oplopanax elatus</i> (자인삼)	ra	-
<i>Styrax japonicum</i> (매죽나무)	ap	-
<i>Helianthus tuberosus</i> (뚱딴지)	ap	-
<i>Aristolochia contorta</i> (마두령)	ap	-
<i>Strychnos nux-vomica</i> (마전자)	sm	-
<i>Liriope platyphylla</i> (백문동)	tu	-
<i>Persicaria senticosa</i> (낭인)	ap	-
<i>Smilax china</i> (발계)	rh	49
<i>Koelreuteria paniculata</i> (모감주나무)	ap	-
<i>Boehmeria nivea</i> (저마)	ap	-
<i>Momordica cochinchinensis</i> (목별자)	sm	-
<i>Saussurea lappa</i> (목향)	ra	-
<i>Potentilla cryptotaeniae</i> (물양지꽃)	ap	-
<i>Ranunculus japonicus</i> (미나리아재비)	ap	-

Table I. Continued.

Samples	Part of plant <sup>a</sup>	Inhibition(%) <sup>b,c</sup>
<i>Solidago virga-aurea</i> var. <i>asiatica</i> (일지황화)	ap	-
<i>Mentha arvensis</i> (박하)	ap	-
<i>Pinellia ternata</i> (반하)	tu	-
<i>Sinomenium acutum</i> (방기)	rh	46
<i>Peucedanum japonicum</i> (방풍)	ra	37
<i>Stemona japonica</i> (백부근)	ra	-
<i>Aconitum koreanum</i> (백부자)	tu	-
<i>Dictamnus dasycarpus</i> (백선펜)	ba	-
<i>Atractylodes japonica</i> (백출)	rh	72
<i>Pleuropterus multiflorum</i> (백하수오)	ra	-
<i>Geum japonicum</i> (백무)	ap	-
<i>Strychnos ignatii</i> (보두)	sm	-
<i>Pachyma hoelen</i> (복령)	hn	-
<i>Carduus crispus</i> (비렴)	ap	-
<i>Torreya nucifera</i> (비자)	sm	-
<i>Sapium sebiferum</i> (사람주나무)	ra	-
<i>Torilis japonica</i> (사상자)	fr	40
<i>Clematis apiifolia</i> (여위)	ap	-
<i>Sophora subprostrata</i> (산두근)	ra	-
<i>Crataegus pinnatifida</i> (산사자)	sm	-
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	fr	-
<i>Cremastra variabilis</i> (산자고)	tu	-
<i>Gardenia jasminoides</i> (치자)	fr	-
<i>Sparganium stoloniferum</i> (삼릉)	rh	-
<i>Loranthus parasiticus</i> (상기생)	ap	32
<i>Morus alba</i> (상백피)	ba	31
<i>Dichroa febrifuga</i> (상산)	ap	-
<i>Menispermum dauricum</i> (편복갈)	ap	-
<i>Acorus gramineus</i> (석창포)	rh	-
<i>Inula japonica</i> (선복화)	ap	-
<i>Agrimonia pilosa</i> (선학초)	ap	-
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> (소엽)	ap	34
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> (소자)	sm	54
<i>Picrasma quassioides</i> (고목)	ap	33
<i>Phlomis umbrosa</i> (속단)	ra	-
<i>Galium verum</i> var. <i>asiaticum</i> (봉자채)	ap	48
<i>Pinus tabulaeformis</i> var. <i>mukdensis</i> (송절)	ap	-
<i>Cimicifuga heracleifolia</i> (승마)	rh	-
<i>Bupleurum falcatum</i> (시호)	ra	48
<i>Diospyros kaki</i> (시체)	cl	-
<i>Magnolia denudata</i> (신이)	fl	-
<i>Malus baccata</i> (야광나무)	ap	-
<i>Houttuynia cordata</i> (여성초)	ap	-
<i>Rosa muliflora</i> (영실)	fr	-
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i> (오가피)	ba	-
<i>Prunus mume</i> (오매)	fr	-
<i>Evodia officinalis</i> (오수유)	fr	67
<i>Lepisorus thunbergianus</i> (와위)	ap	-
<i>Arctium lappa</i> (우방자)	sm	-
<i>Archyranthes japonica</i> (우슬)	ra	-
<i>Clematis mandshurica</i> (위령선)	ra	-

Table I. Continued.

Samples	Part of plant <sup>a</sup>	Inhibition(%) <sup>b,c</sup>
<i>Polygala tenuifolia</i> (원지)	ra	-
<i>Myristica fragrans</i> (육두구)	sm	-
<i>Leonurus sibiricus</i> (익모초)	ap	-
<i>Artemisia capillaris</i> (인진호)	ap	-
<i>Astragalus sinicus</i> (홍화채)	ap	-
<i>Clematis heracleifolia</i> var. <i>dauidiana</i> (자주조희풀)	ap	-
<i>Paeonia obovata</i> (적작약)	ra	-
<i>Sorbus amurensis</i> (정공피)	ba	-
<i>Sasa borealis</i> (조릿대)	ap	-
<i>Asarum sieboldi</i> (세신)	ap	-
<i>Taxus cuspidata</i> (주목)	ap	-
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (지모)	rh	-
<i>Sanguisorba officinalis</i> (지유)	ra	-
<i>Aconitum loczyanum</i> (진범)	ra	-
<i>Citrus unshiu</i> (진피)	pc	-
<i>Plantago asiatica</i> (차전자)	sm	-
<i>Xanthium strumarium</i> (창이자)	fr	-
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	rh	-
<i>Arisaema amurense</i> (천남성)	rh	-
<i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (천련자)	fr	36
<i>Artemisia apiacea</i> (청호)	ap	-
<i>Gentiana scabra</i> (초용담)	ra	-
<i>Clerodendron trichotomum</i> (취오동)	ap	32
<i>Zanthoxylum piperitum</i> (산초)	fr	-
<i>Thuja orientalis</i> (측백)	lf	-
<i>Lycopus coreanus</i> (택란)	ap	-
<i>Alisma orientale</i> (택사)	rh	-
<i>Phryma leptostachya</i> var. <i>asiatica</i> (파리풀)	ap	-
<i>Patrinia villosa</i> (패장)	ra	-
<i>Taraxacum</i> (포공영)	ap	58
<i>Prunella vulgaris</i> (하고초)	ap	34
<i>Carpesium abrotanoides</i> (학슬)	ap	-
<i>Albizia julibrissin</i> (합환피)	ba	-
<i>Kalopanax pictus</i> (해동피)	ba	-
<i>Scrophularia ningpoensis</i> (현삼)	ra	-
<i>Corydalis ternata</i> (현호색)	tu	-
<i>Picrorrhiza kurroa</i> (호황련)	rh	-
<i>Bistorta suffulta</i> (홍삼칠)	ap	-
<i>Euonymus alatus</i> (귀전우)	ba	-
<i>Scutellaria baicalensis</i> (황금)	ra	44
<i>Phellodendron amurense</i> (황백)	ba	-
<i>Youngia japonica</i> (황암채)	ap	-
<i>Machilus thunbergii</i> (후박)	ba	47
<i>Siegesbeckia orientalis</i> (회침)	ap	-

<sup>a</sup>ap, aerial parts; ba, bark; cl, calyx; fl, flower; fr, fruits; hn, hoelen; lf, leaf; pc, pericarpium; ra, radix; rb, root bark; rh, rhizome; sm, seed; tu, tuber. <sup>b</sup>final concentrations: 200 µg/ml. <sup>c</sup>-: less than 30% inhibition.

AT<sub>1</sub> 수용체는 G-protein을 매개하여 adenylyl-ate cyclase 활성 억제에 의한 세포내 cAMP의 양을 감소시키며, 세포막의 phospholipase C를 활성화 하여 생성된 IP<sub>3</sub>에 의한 세포내 유리 칼슘의 농

**Table II.** Inhibition of receptor binding of angiotensin II by the chloroform fraction and H<sub>2</sub>O fraction of some medicinal plants

Sampoles	% Inhibition <sup>a</sup>		
	total MeOH ext.	CHCl <sub>3</sub> fr.	H <sub>2</sub> O fr.
<i>Euphorbia kansui</i>	45	55	-
<i>Platycodon grandiflorum</i>	60	66	74
<i>Peucedanum japonicum</i>	37	- <sup>b</sup>	40
<i>Atractylodes japonica</i>	72	94	34
<i>Torilis japonica</i>	40	42	-
<i>Morus alba</i>	31	-	30
<i>Perilla frutescens</i>	54	62	30
<i>Bupleurum falcatum</i>	48	60	-
<i>Evodia officinalis</i>	67	78	-
<i>Taraxacum mongolicum</i>	58	62	-
<i>Scutellaria baicalensis</i>	44	67	34
<i>Machilus thunbergii</i>	47	92	-

<sup>a</sup>final concentrations: 200 µg/ml. <sup>b</sup>:-: less than 30% inhibition.

도를 상승시켜 세포내 정보를 전달하는 것으로 알려져 있다. AT<sub>2</sub> 수용체는 최근 클로닝되어 AT<sub>1</sub> 수용체와 32-34%의 homology를 갖고 있는 것으로 밝혀졌으며, 이 수용체 또한 AT<sub>1</sub>과는 다른 G-protein을 매개하여 활성화되는 것으로 알려져 있으나 IP<sub>3</sub>, diacylglycerol, 세포내 칼슘농도, cAMP, 세포내 인산화등의 변동은 특별히 인지되지 않고 최근들어 cGMP 양의 감소가 관여되는 것으로 보고되었으나 현재까지 상세한 것은 불명이다.<sup>21, 22)</sup>

수용체의 source로는 주로 rat나 소의 부신피질(AT<sub>1</sub>)과 부신통질(AT<sub>2</sub>)이 자주 사용되고 있으나 많은 양의 수용체를 얻기가 어려운 문제점 때문에 본 실험에서는 rat의 간을 사용하였다. 수용체에 대한 결합저해효과 검색시 표준약물로서 AT<sub>1</sub>에 대해서는 DuP 753(Losartan), AT<sub>2</sub>에 대해서는 PD123177를 사용하여 AT<sub>1</sub>과 AT<sub>2</sub>에 선택적인 길항제를 탐색할 수 있다. AT<sub>2</sub>에 대한 효과는 AT<sub>2</sub> 수용체가 많이 발현된 S.D. rat의 부신통질로부터 얻은 수용체를 사용하여 AT<sub>1</sub>에만 선택적으로 결합하는 DuP 753을 미리 처리하여 AT<sub>1</sub> 수용체를 완전히 차단한 후 시료를 적용하여 AT<sub>2</sub>에 대한 결합저해활성을 검색한다.

이제까지 천연물로부터 유래한 Ang II 수용체 길항제로는 TAN-1446, tetrazole 유도체, cytosporin A, arrivacin A, B 등만이 알려져 있으며, 서론에서 언급한 바와 같이 AT<sub>1</sub>의 선택적 결합저해제인 DuP 753의 약효가 검증된 만큼 새로운 형태의 고

혈압 치료제의 개발을 위한 천연물로부터 새로운 선도물질의 탐색은 필요하다고 사료된다. 또한 AT<sub>2</sub>의 기능과 AT<sub>1</sub>과 AT<sub>2</sub>와의 관계가 서서히 밝혀지고 있어 선택적인 AT<sub>2</sub> 길항제 및 AT<sub>1</sub>과 AT<sub>2</sub>의 효과를 조절할 수 있는 물질의 개발은 새로운 형태의 약물이 되리라 기대된다.

## 결 론

천연물로부터 angiotensin II 수용체 결합저해제를 탐색할 목적으로 SD rat의 간으로부터 분리한 Ang II 수용체를 이용하여 149종의 생약에 대한 Ang II 수용체 결합 저해 활성을 조사하였다. CHCl<sub>3</sub>층으로 활성물질이 이행되는 4종의 생약-백출(*Atractylodes japonica*), 오수유(*Evodia officinalis*), 황금(*Scutellaria baicalensis*), 후박(*Machilus thunbergii*)을 최종적으로 선정하여 Ang II 수용체 결합저해활성을 갖는 물질의 분리를 수행중에 있다.

## 사 사

본 연구에 소요된 경비는 과학기술처의 특정연구 개발사업의 연구비로 충당되었으며 이에 감사하는 바입니다. 본실험에 사용된 실험재료의 채취와 동정에 도움을 주신 충북대 약대의 이경순 교수와 노재

섭 교수께 감사드립니다.

### 인용문헌

- Smith, R. D., Chiu, A. T., Wong, P. C., Herblin, W. F. and Timmermans, P. (1992) Pharmacology of nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32: 135-165.
- Vallotton, M. B. (1987) The renin-angiotensin system. *TIPS* 8: 69-74.
- Streeten, D. H. P., Anderson, G. H., Freiberg, J. M. and Dalakos, T. G. (1975) Use of an angiotensin II antagonist (Saralasin). *N. Engl. J. Med.* 292: 657-662.
- Chui, A. T., MaCall, D. E., Nguyen, T. T., Carini, D. J., Duncia, J. V., Herblin, W. F., Uyeda, R. T., Johnson, A. L. and Timmermans, P. (1989) Discrimination of angiotensin II receptor subtypes by dithiothreitol. *Eur. J. Pharmacol.* 170: 117-118.
- Whitebread S., Mele, M., Kamber, B. and Gasparo, M. (1989) Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 163: 284-291.
- Dudley, D. T., Panek, R. L., Major, T. C., Lu, G. H., Bruns, R. F., Klinkefus, B. A., Hodges, J. C and Weishaar R. E. (1990) Subclasses of angiotensin II binding sites and their functional significance. *Mol. Pharmacol.* 38: 370-377.
- Iwai, N. and Inagami, T. (1992) Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. *FEBS Lett.* 298: 257-260.
- Furukawa, Y., Kishimoto, S. and Nishikawa, K. (1982) U.S. Patent 4, 340, 598.
- Furukawa, Y., Kishimoto, S. and Nishikawa, K. (1982) U.S. Patent 4, 355, 040.
- Ishimaru, T., Harada, S. and Tsuboya, S. (1993) TAN 1446 exhibiting anti-angiotensin II activity and its manufacture with *Penicillium restrictum*. JP 05041994.
- Chen, S. S. T., So, L. T. and White, R. F. (1993) Antihypertensive, fermentatively derived tetrazole derivative and its pharmaceutical use. U. S. Patent 5218125A.
- Siobhan, S., Michael, A., Goetz, G. F., Raymond, S. L., Chang, M. M., Marina, M., Isabel, M., Maria, T. D., Fernando, P., Otto, D. H., Tracy J., Richard, W. B., Burg, Y. L. and Leeyuan, H. (1996) Discovery of an angiotensin II binding inhibitor from a *Cytospora* sp. using semi-automated screening products. *J. Antibiotics* 49: 119-123.
- Chen, Y., Bean, M. F., Chambers, C., Francis, T., Huddleston, M. J., Offen, P., Westley, J. W. and Carte, B. K. (1991) Arrivacins, novel pseudoguaiannolide ester with potent angiotensin II binding activity from *Ambrosia psilostachya*. *Tetrahedron* 47: 4869-4878.
- Chiu, A. T., Duncia, J. V., MaCall, D. E., Wong, P. C., Price, W. A., Thoolen, M. J. M. C., Carini, D. J., Johnson, A. L. and Timmermans P. B. M. W. M. (1989) Nonpeptide angiotensin II receptor antagonist. III. structure-function studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 247: 1-7.
- Ondeti, M. A., Rubin, A. and Cushman, D. W. (1977) Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science* 196: 441-444.
- Ondeti, M. A. and Cushman, D. W. (1981) Inhibition of the renin-angiotensin system: A new approach to the therapy of the hypertension. *J. Med. Chem.* 24: 355-361.
- Erdoes, E. G. and Skidgel, R. A. (1986) The unusual substrate specificity and the distribution of human angiotensin I converting enzyme. *Hypertension* 8: 40-48.
- Skidgel, R. A. and Erdoes, E. G. (1987) The broad substrate specificity of human angiotensin I converting enzyme. *Clin. Exp. Hypertens.* A9: 2243.
- Levens, N. R., de Gasparo, M., Wood, J. M. and Bottari, S. P. (1992) Could the pharmacological differences observed between angiotensin II antagonists and inhibitors of angiotensin converting enzyme be clinically beneficial? *Pharmacol. Toxicol.* 71: 241-249.
- Ocain, T. D. and Abou-Garbia, M. (1991) Renin-angiotensin system(RAS) dependent anti-hypertensive agents: I. Renin inhibitors. *Drugs of Future* 16: 37-51.
- Mukoyama, M., Nakajima, M., Horiuchi, M., Sasamura, H., Pratt, R. E and Dzau, V. J. (1993) Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven transmembrane receptors. *J. Biol. Chem.* 268: 24539-24542.



22. Kambayashi, Y., Bardhan, S., Takahashi, K., Tsuzuki, S., Inui, H., Hamakubo, T. and Inagami, T. (1993) Molecular cloning of a novel angiotensin II receptor isoform involved in phosphotyrosine phosphatase inhibition. *J. Biol. Chem.* 268: 24543-24546.

(1997년 2월 11일 접수)