

자연발증고혈압쥐에서 카제인 가수분해물의 혈압강하효과

김현수·인영민·정석근·함준상

농촌진흥청 축산기술연구소

Antihypertensive Effects of Casein Hydrolysate in Spontaneously Hypertensive Rats

H. S. Kim, Y. M. In, S. G. Jeong and J. S. Ham

National Livestock Research Institute, RDA

ABSTRACT

The aim of this study was to determine if a low-molecular weight casein hydrolysate has an anti-hypertensive effect in spontaneously hypertensive rats (SHR). Prior to the *in vivo* experiment, the casein hydrolysate was confirmed to be resistant to gastrointestinal digestion by confirming the retention of its potency as an inhibitor of angiotensin I-converting enzyme after incubation with pepsin, trypsin, or chymotrypsin. The *in vivo* anti-hypertensive effect of the hydrolysate was determined by the tail cuff method. Following an oral administration of the hydrolysate solution, the systolic blood pressure (SBP) decreased by 12.9% (-28.9mmHg; P<0.05) at 3 h after the administration at a dose of 500mg/kg body weight. When the hydrolysate was administered as an emulsion with 30% egg yolk, its anti-hypertensive effect was even more greater at the same dose (-30.8mmHg or -15.9%; P<0.01). In a 50-day long-term trial where the casein hydrolysate was administered once a day, the SBP-lowering effect of the hydrolysate was apparent (P<0.05) from day 35 through the end. Moreover, organ weights and plasma glutamate oxaloacetate transaminase and glutamate pyruvate transaminase activities of the administered SHR were not significantly different from those of controls at the end of the long-term trial.

(Key words : Casein, Hydrolysate, Antihypertention)

I. 서 론

고혈압의 90% 이상을 차지하는 본태성 고혈압의 발증에는 여러 가지 인자가 관여하고 있으나, 일반적으로 renin-angiotensin system (RAS)에 의한 생화학적 기전으로 설명되고 있다(Saxena, 1992). 혈액 내에서 angiotensin-I은 angiotensin converting enzyme (ACE)의 작용에 의해 angiotensin-II로 변환되며, 이것은 표적세포인 혈관 평활근, 부신 등에 작용하여 강력한

혈관수축작용과 adrenal cortex에서 aldosterone의 분비를 촉진함으로써 물과 Na⁺ 방출을 억제하여 혈압을 상승시킨다(Bakhle, 1968; Manjusri and Richard, 1975).

ACE 저해제는 angiotensin-I을 angiotensin-II로 전환시키는 것을 방해함으로써 강력한 혈관수축제인 angiotensin-II의 생성을 감소시켜 강압효과를 나타내는 혈압강하제로서 captopril (Odentii et al., 1977), enalapril (Patchett et al., 1980) 등 ACE 저해물질이 화학 합성되어 현재

Corresponding author : H. S. Kim, National Livestock Research Institute, RDA, Suwon, 441-350, Korea.

E-mail: khs0208@rda.go.kr Tel : 031-290-1682 Fax : 031-290-1697

고혈압 치료제로서 사용되고 있으나 각종 부작용이 대두되어(Webster and Koch, 1996) 보다 안전하고 효과적인 천연의 ACE 저해제에 대한 탐색이 진행되고 있다.

식품성분 중 혈압강하 효과를 나타내는 물질은 주로 식품단백질의 가수분해물로부터 분리되었다. 식품을 이용한 항고혈압 펩타이드에 대한 연구는 식품자원의 새로운 부가가치 창출이란 점에 그 중요성이 있다고 생각된다. 식품단백질 유래의 ACE 저해 펩타이드가 항고혈압 기능성 식품으로서 사용되기 위해서는 경구투여 시에 혈압강하 효과를 나타내야 하며 또한 안전해야 한다.

본 논문에서는 카제인 가수분해물의 항고혈압 펩타이드로서 이용 가능성을 알아보기 위하여 카제인 가수분해물을 자연발증고혈압쥐(spontaneously hypertensive rat, SHR)에 경구투여 후 혈압강하 효과와 장기투여에 의한 안전성을 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 가수분해물의 제조

5% 카제인 용액 (Merck, pH 7.0)에 대하여 *Asp. oryzae* 유래 단백질 분해효소인 promod 192 (신일본화학, 일본)를 1% 첨가하고 47°C에서 12시간 배양하였다. 배양 후 효소를 실험시키기 위하여 85°C에서 20분간 열처리하였다. 냉각 후 8,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 침전물을 제거하고 상등액을 건조하였다.

2. 가수분해물의 소화관 효소 내성 시험

가수분해물의 소화관 효소 내성시험은 Fruya 등 (1979)의 방법에 의하여 실시하였다. 소화관 효소는 모두 sigma사 제품을 사용하였다. 먼저 가수분해물 0.5 g에 펩신 20 mg을 0.0075 N HCl에 용해하여 첨가하고 37°C에서 4시간 배양하였다. 펩신 처리한 가수분해물을 0.2 M NaOH로 중화하고, 여기에 트립신, 카이모트립신을 각각 10 mg씩 첨가하였고, 또한 트립신과

카이모트립신 10 mg 씩을 혼합하여 첨가하였다. 다시 37°C에서 4시간 배양 후 85°C에서 5분간 열처리하여 효소를 불활성화 시킨 후 가수분해물의 ACE 저해효과를 측정하였다.

3. ACE 저해효과 측정

ACE 저해효과는 Cushman과 Cheung (1971)의 방법에 준하여 측정하였다. 12.5 mM HHL (Hip-His-Leu, Sigma)기질 100 μ l에 가수분해액 (50 mg hydrolysate/ml) 5 μ l와 sodium borate buffer (pH 8.3) 45 μ l를 가한 후 37°C에서 5분간 반응시켰다. 여기에 ACE 조효소액 (rabbit lung acetone powder, Sigma) 150 μ l가하고 다시 37°C에서 1시간 반응시킨 후 0.5 N HCl 250 μ l를 사용하여 반응을 정지시켰다. 반응용액에 ethyl acetate (Sigma) 1.5 ml를 가하여 1분간 교반 한 다음 2,800 rpm에서 10분간 원심분리하여 상정액 1 ml를 취하였다. 이 상정액을 건조시킨 후 1 M NaCl 3 ml 가해 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 의하여 ACE 저해율로 나타내었다.

$$\text{ACE 저해율 (\%)} = \frac{E_c - E_s}{E_c - E_b} \times 100$$

E_c : 시료대신 증류수를 넣었을 때의 흡광도

E_s : 시료첨가시의 흡광도

E_b : 반응 정지 후 시료 첨가한 것의 흡광도

IC₅₀ 값 (μ g/ml)은 시료를 일정한 농도로 희석한 후에 ACE 저해효과를 측정한 다음 ACE 활성을 50% 저해하는데 필요한 ml수를 펩타이드 양 (μ g)으로 나타내었다.

4. 가수분해물의 에멀전화

가수분해물의 에멀전화는 Fujita 등 (1995)의 방법에 의해 실시하였다. 가수분해물을 증류수에 용해한 후 난황액을 가수분해물 용액에 대하여 30%가 되도록 첨가하고 5분간 sonication 하였다.

5. 자연발증고혈압쥐를 이용한 혈압강하 효과 측정

웅성 자연발증고혈압쥐를 (주)삼육실험동물연구소로부터 구입하여 2주의 적응기간을 거친 후 체중이 210~230 g 되고, 수축기혈압이 180 mmHg 이상으로 상승한 후 시험에 공시하였다. 각 군은 5마리를 한 군으로 하여 체중에 대하여 250 mg/kg, 500 mg/kg씩 1회 경구투여 하였으며 투여 전과 투여 후의 수축기혈압을 측정하였다. 또한 장기 투여에 의한 혈압강하 효과를 알아보기 위해 50일간 5일 간격으로 수축기혈압을 측정하였다. 혈압측정은 tail cuff법에 의해 실시하였다(Waynforth, 1980). 자연발증고혈압쥐를 38~40°C의 보온상자에서 10분 가운 후 홀더에 넣고 꼬리에 압박대와 혈류검출기를 장착하여 꼬리 동맥의 수축기혈압을 비혈관식 혈압측정장치(PowerLab 800, AD Instruments, Australia)를 사용하여 측정하였다. 자연발증고혈압쥐가 되도록 정지상태에 있을 때의 수축기혈압을 5~6회 반복 측정하여 그 평균치를 나타내었다.

6. 자연발증고혈압쥐 혈액의 생화학적 검사

실험 기간 종료 후 자연발증고혈압쥐를 희생시켜 채혈하였다. 혈액을 원심분리 (3,000 rpm, 10 min)하여 혈청을 얻었으며, 혈청의 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase (GPT) 측정은 시판 GOT, GPT 분석 kit (아산제약)를 사용하여 실시하였다.

7. 자연발증고혈압쥐의 장기 중량 측정 및 조직병리학적 검사

자연발증고혈압쥐의 각 주요 장기를 적출하여 생리식염수로 세정 후 중량을 측정하여 체중에 대한 상대 중량비(%)를 구하였다. 심장, 신장, 폐, 간은 중성 완충 포름알데히드액으로 고정된 후 헤마톡신-에오신 염색을 하여 조직병리학적 검사를 실시하였다 (Bernirschke et al., 1978).

8. 통계처리

측정값은 평균 \pm 표준오차로 나타내었고, duncan's multiple range test, student's t-test로 유의차를 검정하였다 (SAS, 1996).

III. 결과 및 고찰

1. 가수분해물의 소화관 효소 내성 시험

IC₅₀ 값이 248.71 μ g/ml인 카제인 가수분해물을 제조하고 (김 등, 2002), 이 가수분해물의 소화관 효소 내성 시험을 실시하였다. Table 1에 나타낸 바와 같이 펩신, 트립신, 카이모트립신 처리에 의해 카제인 가수분해물의 ACE 저해효과에 차이가 없었다. Seki 등 (1996)의 보고에서도 정어리에서 분리한 ACE 저해 펩타이드가 소화관 효소 처리에 의해 ACE 저해효과에 차이가 없었으며, 주로 분자량이 작은 펩타이드가 소화관 효소에 내성을 가지며 이들 펩타이드는 자연발증고혈압쥐에서도 혈압강하효과를 나타내었다. 발효유에 함유되어 있는 항고혈압 펩타이드(Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro)는 소화관 효소에 의하여 분해되지 않고 흡수되어 표적기관에서 감지되었다 (Masuda et al., 1996). 펩타이드가 소화관 내 단백질 분해효소에 대하여 내성을 가지고 있다고 하더라도 brush border막 peptidase에 의해 분해될 가능성이 있으며, 분해되지 않는 펩타이드의 양은 적을 것으로 생각된다 (Pihlanto-Leppälä et al., 1998).

그러나 펩타이드가 체내에서 분해되어 *in vitro*의 저해효과로부터 예상되는 것 보다 큰 *in vivo* 효과를 나타내는 펩타이드가 얻어지는 경우도 있다 (上野川修, 1996). 정어리 분해물에서 얻어진 Leu-Lys-Pro-Asn-Met은 전형적인 prodrug형 ACE 저해 펩타이드로서 ACE의 작용에 의하여 ACE 저해효과가 있는 Leu-Lys-Pro와 ACE 저해효과가 없는 Met-Asn으로 분해되며 이 과정에서 Leu-Lys-Pro의 ACE 저해효과는 약 8배 증가하였다 (Yokoyama et al., 1992). 이와 같은 체내에서 활성화되는 ACE 저해 펩타이드는 효과의 지속성이라는 관점에서 중요성이 크다 (上野川修, 1996).

Table 1. Changes in ACE inhibitory properties of casein hydrolysate by gastrointestinal protease digestion

Enzyme treatments	E/S ratio ¹⁾ (mg/g)	pH	Time (h)	ACE inhibitory properties	
				Inhibition rate (%)	IC ₅₀ value ($\mu\text{g}/\text{mL}$) ²⁾
Casein hydrolysate ³⁾				45.55±0.72 ^a	274.42± 4.35 ^a
Pepsin	50	2.2	4	48.18±1.49 ^a	259.60± 8.04 ^a
Trypsin	50	7.4	4	44.23±2.28 ^a	282.99±14.57 ^a
Chymotrypsin	50	7.4	4	49.74±5.69 ^a	252.96±28.91 ^a
Trysin + Chymotrypsin	50 + 50	7.4	4	46.43±9.31 ^a	274.78±55.12 ^a

¹⁾ Ratio of enzyme per casein hydrolysate

²⁾ Amounts of inhibitors needed for 50% inhibition ACE activity

³⁾ Casein hydrolysed by promod 192 for 12 h. at 47°C.

^{a-d} Within same rows, means with different superscripts are significantly different(P<0.05).

2. 자연발증고혈압쥐에서 혈압강하 효과

카제인 유래 ACE 저해 펩타이드의 자연발증고혈압쥐에서의 혈압강하 효과에 대한 보고가 있으나(Maruyama et al., 1987a, b; Yamamoto et al., 1994), 이들 보고는 대부분 분리된 ACE 저해 펩타이드를 투여하여 혈압강하 효과를 확인하였다. ACE 저해 펩타이드를 분리, 정제하는 데는 많은 비용이 들기 때문에, 혈압저하 효과를 나타내는 카제인 가수분해물을 상업적인 용도로 사용하기 위한 가능성을 조사하기 위하여 분리하지 않은 가수분해물을 자연발증고혈압쥐에 250, 500 mg/kg을 경구투여하고 혈압강하 효과를 알아보았다. 500 mg/kg을 투여한 그룹은 투여 후 3시간 경과시 수축기혈압이 28.88 mmHg 감소하였다 (12.9%, P<0.05).

펩타이드와 단백질은 의약품으로서 그 중요성이 커지고 있지만 많은 경우에 안정하지 않기 때문에 경구투여 시 효과를 나타내지 못하므로 펩타이드를 유화하거나 미세캡슐화하는 방법이 사용되고 있다(Shively, 1997; Hildebrand and Tack, 2000).

카제인 가수분해물에 30% 난황이 함유되도록 유화한 후 혈압강하 효과를 알아보았다. 유화된 가수분해물 250 mg/kg을 경구투여 한 결과 3시간 30분 후에 수축기혈압이 16.42 mmHg (8.8%, P<0.05) 감소하였고, 500 mg/kg을 투여

한 결과 30.76 mmHg (15.9%, P<0.01) 감소하였다. 유화하지 않은 가수분해물 투여 시 보다 30분 더 경과된 3시간 30분 후에 최대 혈압강하 효과를 나타내었다. 이와 같이 유화하지 않은 가수분해물의 혈압강하 효과를 나타내는 시간보다 더 소요된 원인은 가수분해물을 유화하였을 경우에 장에서 흡수되어 표적기관에 도달하는데 시간이 더 소요되는 것으로 생각된다. 식품 유래 ACE 저해 펩타이드는 급여하는 방법에 따라 혈압강하 효과가 다르게 나타남을 알 수 있었다. Fujita 등 (1995)은 가수분해물을 유화하였을 경우 혈압강하 효과의 증가 원인은 펩타이드가 소화관 내 단백질 분해효소로부터 보호받기 때문으로 생각하였으며, 난황에 함유되어 있는 레시친이 혈압강하 효과에 중요한 역할을 한다고 하였다.

Maruyama 등 (1987b)은 ACE 저해 펩타이드(Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp)를 정맥주사 하여 혈압강하 효과를 측정한 결과 100분 후에 혈압강하 효과가 나타났으며 그 이후에는 혈압강하 효과가 측정되지 않아 혈압저하 작용을 가지는 펩타이드는 체내에서 빨리 대사 된다고 하였다. Nakamura 등 (1995)의 실험에서도 이와 비슷한 결과를 보여 주어 수축기 혈압이 24시간 후에는 원래의 혈압으로 증가하였다. Captopril도 경구투여 8시간 후에는 혈장 ACE에 대한 저해작용이 거의 소실되었다(강 등, 1993). 본

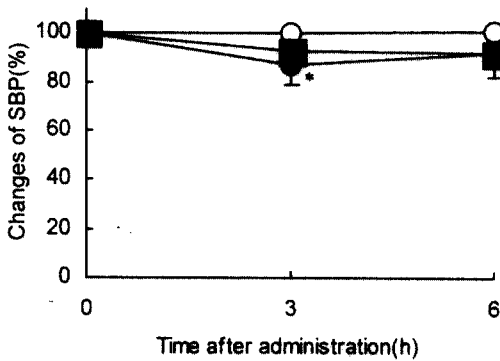


Fig. 1. Effects of a oral administration of casein hydrolysate on the blood pressure in spontaneously hypertensive rats.

The changes in relative systolic blood pressure at each time was calculated as follows, $\{(Blood\ pressure - Blood\ pressure\ at\ 0\ h) / (Blood\ pressure\ at\ 0\ h)\} \times 100$. Treatments were control (○), 250 mg/kg (■), and 500 mg/kg of body weight (●). Significant difference against the control (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; t-test, $n = 5$).

연구에서도 카제인 가수분해물을 경구 투여 후 3~4시간에 혈압강하 효과를 나타내었으나 8시간 이후에는 원래의 혈압으로 증가하였다. 이

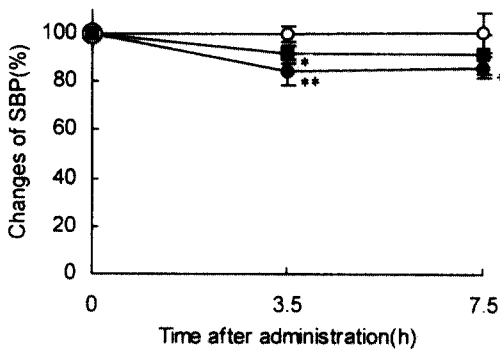


Fig. 2. Effects of administration of casein hydrolysate emulsified with egg yolk on the blood pressure in spontaneously hypertensive rats

The changes in relative systolic blood pressure at each time was calculated as follows, $\{(Blood\ pressure - Blood\ pressure\ at\ 0\ h) / (Blood\ pressure\ at\ 0\ h)\} \times 100$. Treatments were control (○), 250 mg/kg (■), and 500 mg/kg of body weight (●). Significant difference against the control (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; t-test, $n = 5$).

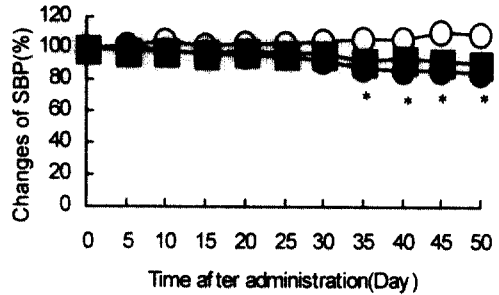


Fig. 3. Changes in systolic blood pressure during experimental period

The changes in relative blood pressure at each day was calculated as follows, $\{(Blood\ pressure - Blood\ pressure\ at\ 0\ day) / (Blood\ pressure\ at\ 0\ day)\} \times 100$. Treatments were control (○), 250 mg/kg (■), and 500 mg/kg of body weight (●). Significant difference against the control (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; t-test, $n = 5$).

와 같이 혈압이 원상태로 증가되는 것은 이들 ACE 저해 펩타이드가 경구투여 후 일시적으로 혈압강하 효과를 나타내는 것으로 생각된다 (Nakamura et al., 1995). 따라서 장기적인 혈압강하 효과를 나타내기 위해서는 가수분해물의 장기 투여가 필요하다고 생각된다.

3. 장기투여 의한 혈압강하 효과

카제인 가수분해물을 50일간 경구 투여하고 자연발증고혈압쥐의 혈압강하 효과를 알아보았다. Fig. 3에서 나타낸 바와 같이 500 mg/kg 급여 후 35일부터 혈압감소 효과가 나타났다(-15.62 mmHg, 12.46%, $p < 0.05$). Yoshi 등 (1999) 은 분자량 1,000 Da 이하이고 IC_{50} 값이 1,220 $\mu g/ml$ 인 계란 유래 펩타이드를 고혈압쥐에게 500 mg/kg 경구투여 한 결과 3주 후부터 혈압강하 효과가 나타났으며, 혈장의 ACE 활력도 저하하였다고 보고하였다. 이러한 결과는 Nakamura 등(1996) 이 발효효를 사료와 혼합하여 급여한 결과 13주 후부터 혈압이 감소하기 시작하였다는 보고와 유사하였으며, 가수분해물을 장기간 급여시 동맥의 ACE 활성이 저하하였는데 이것은 ACE 저해 펩타이드가 분해되지 않고 장에서 흡수된다는 것을 의미한다고 하였다 (Hara, et al., 1984). 식품단백질 유래 ACE

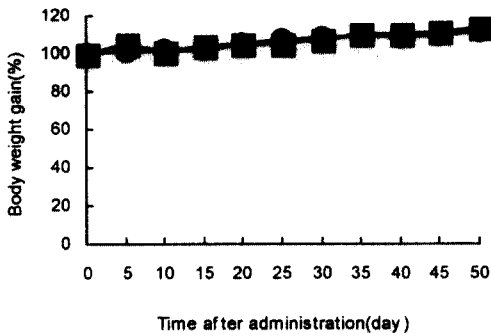


Fig. 4. Changes in body weight gain during experimental period.

The changes in body weight gain at each day was calculated as follows, $\{(Body\ weight - Body\ weight\ at\ 0\ day) / Body\ weight\ at\ 0\ day\} \times 100$. Treatments were control (○), 250 mg/kg (■), and 500 mg/kg of body weight (●). Significant difference against the control (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; t-test, $n = 5$).

저해 펩타이드의 혈압강하 효과는 사람을 대상으로 한 보고도 있는데 *L. helveticus*와 *S. cerevisiae*로 발효한 발효유를 30세 이상의 성인에게 매일 95 ml씩 경구투여 한 결과 14.1 mmHg의 혈압강하 효과가 있었으며, 체중이나 혈청의 변화는 관찰되지 않았다 (Hata et al., 1996). 또한 사람에게 카제인 트립신 가수분해물 10 g과 10% 난황이 함유된 음료를 하루 2회씩 4주간 급여한 결과 4.6 mmHg의 혈압이 감소하였다 (Sekiya et al., 1992).

4. 장기투여에 의한 안전성 검사

카제인 가수분해물의 혈압강하 기능을 갖는

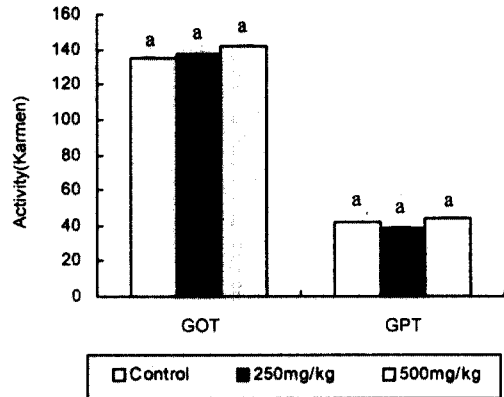


Fig. 5. Effects of casein hydrolysate on the serum GOT and GPT activities in spontaneously hypertensive rats

^{a-d} Within same rows, means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

기능성 펩타이드로서 활용 가능성을 알아보기 위하여 250 mg/kg 및 500 mg/kg을 50일간 급여하고 체중변화와 혈청의 생화학적 검사를 실시하였다. 체중의 변화는 Fig. 4에 나타난 바와 같이 대조구와 비교하여 차이가 없었다. Fig. 5는 간장장애의 지표로서 사용되는 GOT, GPT 활성을 측정하고 그 결과를 나타내었다. ACE 저해효과를 갖는 대두 분해물은 GOT 활성이 다소 높게 나타났으나 (유 등, 1996), 카제인 가수분해물 투여에 의한 간장의 GOT, GPT 활성은 각 군 사이에 차이가 없었다. Eto 등 (1999)의 보고에서도 유청단백질 가수분해물을 고혈압쥐에게 3주간 투여한 결과 체중, 혈청, 장기무게 및 콜레스테롤 수준에 차이가 없었다.

Table 2. Effects of casein hydrolysate on the weight of various organ in spontaneously hypertensive rats

Organ	Group		
	Control	250 mg/kg	500 mg/kg
Liver	3.49±0.08 ^a	3.16±0.14 ^b	3.44±0.16 ^a
Heart	0.41±0.04 ^a	0.38±0.01 ^a	0.44±0.02 ^a
Lung	0.53±0.02 ^a	0.45±0.02 ^b	0.48±0.05 ^{ab}
Kidney	0.74±0.04 ^a	0.76±0.03 ^a	0.77±0.06 ^a

* Value are means ± SE, $n = 5$

^{a-d} Within same rows, means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

장기중량 비를 측정한 결과 일반적으로 독성 물질의 연속투여 시 관찰되는 간장 비대 등 장기 비대 현상은 관찰되지 않았으나 250 mg/kg 투여군의 간과 폐 중량이 대조구와 비교하여 다소 감소하는 결과를 나타내었다 (Table 2). 이들 주요 장기조직을 헤마톡신-에오신 염색을 하여 병리학적인 검사를 실시한 결과에서는 이상 병변이 발견되지 않았으나 (Data not shown), 카제인 가수분해물을 고혈압 예방과 치료를 위한 기능성식품으로 사용하기 위해서는 카제인 가수분해물의 혈압강하 효과를 나타내는 성분의 구체적인 연구와 안전성 검사가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

IV. 요약

본 논문에서는 카제인 가수분해물의 *in vivo* 상에서 혈압강하 효과를 알아보고, 혈압강하 기능을 갖는 기능성 펩타이드로서의 활용 가능성을 검토하기 위하여 안전성 검사를 실시하였다. 카제인 가수분해물의 소화관 단백질 분해 효소 (펩신, 트립신, 카이모트립신) 내성 시험 결과 카제인 가수분해물은 소화관 효소 처리에 의하여 ACE 저해효과에 차이가 없었으며, 자연발증고혈압쥐를 이용한 혈압강하 실험에서 500 mg/kg을 경구 투여한 결과 12.9% (-28.88 mmHg, $P < 0.05$) 저하하였고, 이들 가수분해물을 30% 난황으로 유화할 경우 15.9% (-30.76 mmHg, $P < 0.01$)의 혈압이 감소하여 난황으로 유화에 의해 다소 혈압강화 효과가 증가하였다. 장기 투여에 의한 혈압강하 효과에서 35일부터 수축기혈압 감소효과가 나타났으며 12.46% ($P < 0.05$) 감소하였다. 가수분해물의 장기투여에 의한 자연발증고혈압쥐의 체중변화는 대조구와 비교하여 차이가 없었다. 혈압강하 효과를 가지는 카제인 가수분해물의 안전성을 조사한 결과 간장장애 지표로서 사용되는 GOT, GPT 활성에 차이가 없었다. 간장 비대 등의 장기 비대 현상도 없었고 조직병리학적 검사에서도 차이가 없었다.

ACE 저해활성을 가지는 카제인 가수분해물은 혈압강화제와 비교하였을 때 비교적 낮은

활성을 나타내지만 항상 섭취하는 식품 중에 존재한다는 점에서 그 유용성이 기대되며, 고혈압 예방을 위한 기능성 식품이나 의약품으로서 개발하기 위해서 앞으로 ACE 저해 펩타이드에 대한 체계적인 안전성 검사가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

V. 인용 문헌

1. Bakhle, Y. S. 1968. Conversion of angiotensin I to angiotensin II by cell-free extracts of dog lung. *Nature*. 220(30):919.
2. Bernirschke, K., Garner, F. M. and Jones, T. C. 1978. *Pathology of laboratory animals*. Springer-Verlag, New York. USA.
3. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*. 20:1637.
4. Eto, Y., Ito, T. and Nishioka, S. 1999. Antihypertensive effect of alkaline protease hydrolysate of whey protein on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 52:301.
5. Fujita, H., Sasaki, R. and Yoshikawa, M. 1995. Potentiation of the antihypertensive activity of orally administered ovokinin, a vasorelaxing peptide derived from ovalbumin, by emulsification in egg phosphatidylcholine. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59(12):2344.
6. Furuya, S., Sakamoto, K. and Takahashi, S. 1979. A new *in vitro* method for the estimation of digestibility using the intestinal fluid of the pig. *Br. J. Nutr.* 41:511.
7. Hara, H., Funabiki, R., Iwata, M. and Yamazaki, K. I. 1984. Portal absorption of small peptides in rats under unrestrained conditions. *J. Nutr.* 114:1122.
8. Hata, Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K. and Nakamura, Y. 1996. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 64:767.
9. Hildebrand, G. E. and Tack, J. W. 2000. Microencapsulation of peptide and protein. *International J. of Pharm.* 196:173.

10. Manjusri, D. and Richard, L. S. 1975. Pulmonary angiotensin-converting enzyme. *J. Biol. Chem.* 250 (7):6762.
11. Maruyama, S., Mitachi, H., Awaya, J., Kurono, M., Tomizuka, N. and Suzuki, H. 1987a. Angiotensin- I converting enzyme inhibitory activity of the c-terminal hexapeptide of α_{s1} -casein. *Agric. Biol. Chem.* 51(9):2557.
12. Maruyama, S., Mitachi, H., Tanaka, H., Tomizuka, N. and Suzuki, H. 1987b. Studies on the active site and antihypertensive activity of angiotensin- I converting enzyme inhibitors derived from casein. *Agric. Biol. Chem.* 51(6):1581.
13. Masuda, O., Nakamura, Y. and Takano, T. 1996. Hypertensive peptide are present in aorta after oral administration of sour milk containing these peptides spontaneously hypertensive rats^{1,2}. *J. of Nutr.* 126:3063.
14. Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K. and Takano, T. 1995. Antihypertensive effect of sour milk and peptide isolated from it that are inhibitors to angiotensin I -converting enzyme. *J. of Dairy Sci.* 78:1253.
15. Nakamura, Y., Masuda, O. and Takano, T. 1996. Decrease of tissue angiotensin I -converting enzyme activity upon feeding sour milk in spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotech. and Biochem.* 60(3):488.
16. Ondetti, M. A., Rubin, B. and Cushman, D. W. 1977. Design of specific inhibitors of angiotensin converting enzyme : New class orally active antihypertensive agents. *Science.* 196:441.
17. Patchett, A. A., Harris, E., Tristram, E. W., Wyvratt, M. J., Wu, M. T., Taub, E., Peterson, E. R. and Ikeler, T. J. 1980. A new class of angiotensin converting enzyme inhibitor. *Nature.* 288(20):280.
18. Pihlanto-Leppälä, A., Rokka, T. and Korhonen, H. 1998. Angiotensin- I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *Int. Dairy J.* 8:25.
19. SAS. 1996. SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute. Cary, Nc, U.S.A.
20. Saxena, P. R. 1992. Interaction between the renin-angiotensin aldosterone and sympathetic nervous system. *J. of Cardiovascular Pharmacology.* 19(6):S80.
21. Seki, E., Osajima, K., Matsufuji, H., Matsui, T. and Osajima, Y. 1996. Resistance to gastrointestinal proteases of the short chain peptide having reductive effect in blood pressure. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 43(5):520.
22. Sekiya, S., Kobayashi, Y., Kita, E., Imamura, Y. and Toyama, S. 1992. Antihypertensive effects of tryptic hydrolysate of casein on normotensive and hypertensive volunteers. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 45(6):513.
23. Shively, M. L. 1997. Multiple emulsions for the delivery of protein. In *Protein delivery physical system.* Plenum Press. p. 199.
24. Waynforth, H. S. 1980. Experimental and surgical technique in the rat. *Academic Press.* p. 212.
25. Webster, J. and Koch, H. F. 1996. Aspects of tolerability of centrally acting antihypertensive drugs. *J. of Cardiovascular Pharmacology.* 27(3): S49.
26. Yamamoto, N., Akino, A. and Takano, T. 1994. Antihypertensive effect of the peptide derived from casein by on extracellular protease from *Lactobacillus heveticus* CP790. *J. of Dairy Sci.* 77:917.
27. Yokoyama, K., Chiba, H. and Yoshikawa, M. 1992. Peptide inhibitors for angiotensin- I converting enzyme from thermolysin digest of dried bonito. *Biosci. Biotech. and Biochem.* 56(10):1541.
28. Yoshi, H., Tachi, N., Sakamura, O., Takeyama, H., Ohba, R. and Itani, T. 1999. Antihypertensive effect of oligo-peptide derived from hen's eggs, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi.* 46(2): 45.
29. 강경진, 김지한, 백우현. 1993. BR-900317의 *in-vivo*에 있어서 angiotensin 변환효소 저해작용 및 고혈압 model rat(SHR, RHR)에 있어 단회 경구투여에 의한 강압작용. *응용약물학회지.* 2:220.
30. 김현수, 인영민, 정석근, 함준상, 강국희, 이수원. 2002. 효소가수분해 조건에 따른 우유 케이신의 Angiotensin- I 전환효소 저해효과. *한국축산식품학회지.* 22(1):87.
31. 유리나, 박수아, 정대균, 남희섭, 신재익. 1996. 대두가수분해물에서 분리한 UF-peptide가 *in-vitro*에서 자발성 고혈압 흰쥐의 혈압 강하에 미치는 영향. *한국식품영양학회지.* 25(6):1031.
32. 上野川修 . 1996. 乳の科學. 朝書店.
(접수일자 : 2002. 3. 27 / 채택일자 : 2002. 7. 20)