

각종 버섯류로부터 안지오텐신 전환효소 저해제의 탐색

이대형 · 김재호 · 정종천¹ · 공원식¹ · 유영복¹ · 박정식¹ · 유창현¹ · 이종수*

배재대학교 유전공학과 · 바이오의약연구센터, ¹농업과학기술원

Screening of Mushrooms Having Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor

Dae-Hyoung Lee, Jae-Ho Kim, Jong-Chun Cheong¹, Won-Shik Gong¹, Young-Bok Yoo¹,
Jeong-Sik Park¹, Chang-Hyun Yoo¹ and Jong-Soo Lee*

Department of Genetic Engineering and Bio-medicinal Resource Research Center, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea
¹National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon 441-707, Korea

(Received April 7, 2003)

ABSTRACT: Extracts from 52 samples of mushrooms were prepared by using water, ethanol and methanol, and then yields and angiotensin I-converting enzyme(ACE) inhibitory activity were investigated. Sample mushrooms contained crude proteins of 7.1~56.5%, crude lipids of 0.2~4.4% and carbohydrates of 30.3~86.6%. Among 52 samples, the water extract from fruiting body of *Pholiota* spp. ASI 24027 showed the highest extraction yield of 68%. Water extract of *Pholiota* spp. ASI 24012 fruiting body had potential ACE inhibitory activity of 66%. The optimal extraction condition of the ACE inhibitor from the fruiting bodies of *Pholiota* spp. ASI 24012 was in water at 30°C for 1 hr and ACE inhibitory activity was 67.6% on the condition with 0.2 mg of IC₅₀.

KEYWORDS: Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor, Mushrooms, *Pholiota* spp.

고혈압은 현대 성인병의 최대 질환으로, 순환기계 질병의 원인이 되며 심장병, 뇌출혈 및 신장병 등과 합병증으로 나타날 경우에는 치사율이 매우 높은 만성 퇴행성 질환이다.

인체 내에서 혈압을 조절하는 system 중의 하나는 renin-angiotensin계이다. 이 renin-angiotensin계에서 혈압의 상승과 유지에 중요한 작용을 하는 효소가 angiotensin-I converting enzyme(ACE; peptidyl dipeptide hydrolase, EC 3.4.15.1)인데(민, 1999; 키와키시, 1996) 이 효소는 여러 peptide 기질의 C 말단으로부터 dipeptides를 분리시키는 exopeptidase(Angus *et al.*, 1972)로서 혈관과 폐 조직의 내피 세포막 표면에 위치하며 두 가지 반응을 촉매함으로써 혈압 조절에 기여한다(Soffer, 1976). 첫 번째는 콩팥의 혈류 장애가 생기면 신장의 사구체 세포에서 분비되는 renin이 angiotensinogen(α_2 -globulin)에 작용해서 불활성의 decapeptide인 angiotensin I을 생성하며 이는 다시 폐 조직의 표면에 많이 있는 ACE에 의해 C 말단에서 dipeptide인 His-Leu를 분리시켜 octapeptide인 angiotensin II로의 전환을 촉매한다. 이렇게 생성된 angiotensin II는 혈관 평활근에 위치한 angiotensin II 수용체와 결합하여 동맥 및 소동맥을 수축시켜 직접 혈관 수축을 일으킨다(이, 2001; Ganong, 1997). 또한, 부신피질을 흥분시켜 알

도스테론의 분비를 촉진시키는 결과 나트륨과 수분의 조직내 보존을 증가시켜 혈액량이 증가함으로써 혈압을 상승시키게 된다. 두 번째는 강한 혈관확장작용을 가지는 nonapeptide인 bradykinin을 불활성화 시킴으로써 혈압을 상승시키는 역할을 한다고 알려져 있다(Dorer *et al.*, 1974).

지금까지 알려진 고혈압 치료방법으로는 ACE 저해제를 이용하는 방법과 angiotensin II의 혈관 receptor의 blocker를 이용하는 방법 그리고 이뇨제, β -수용체 차단제, 혈관 확장제, 칼슘통로 차단제를 들 수 있다. 그 중 ACE 저해제가 가장 많이 쓰이는데 ACE 저해제는 *Bothrops jararaca*라는 뱀의 독에서 bradykinin-potentiating peptide가 처음으로 분리된 이후(Elisseeva, 1971), proline 유도체인 captopril(Ondetti *et al.*, 1997)과 enalapril, benazepril 등이 화학적으로 합성되어 사용되어오고 있으나 이러한 captopril 등의 합성 고혈압 억제제들은 급격한 강압효과를 유발하기 때문에 심박동수가 증가하고 반감기가 짧고 음식물에 의한 흡수율 변동이 심하며 두통과 머릿기침, 가려움, 피부 발진, 발열, 미각이상, 단백뇨, 빈혈, 심한 저혈압, 백혈구 감소 등 부작용이 많아 보다 안전하고 효과적인 천연의 ACE 저해제 개발이 필요하게 되었다(유, 1990; 오 등, 2003).

천연 ACE 저해제로 각종 단백질의 가수분해물(Rhyu *et al.*, 1996; 오 등, 2003)과 무화과 유액(Maruyama *et al.*, 1988), 참치 근육의 산 추출물(Kohama *et al.*, 1988),

*Corresponding author <E-mail: biotech8@mail.pcu.ac.kr>

한국 전통 민속주(김 등, 2002), 멸치젓갈과 정어리 어간장(김 등, 1993) 및 일본 된장(Okamoto, 1995), 청주와 그 부산물(Saito *et al.*, 1992, 1994) 등으로부터 ACE 저해 peptide가 분리되어 보고되었다. 그밖에도 굴껍질(Matsubara *et al.*, 1989), 감잎(Kameda *et al.*, 1989), 녹차(Hara *et al.*, 1987), 기호음료(도 등, 1993) 및 한국산 녹차(조 등, 1993) 등에서도 ACE 저해 효과가 있음이 보고되었다.

비록, 이들 천연물 기원의 ACE 저해 물질들은 captopril과 같은 기존의 혈압 강하제에 비해 활성이 다소 낮으나 천연물이라는 측면에서 안전성이 높고 일상적으로 섭취하고 있는 식품 중에 존재함으로써 자연스럽게 고혈압을 예방할 수 있다는 점에서 그 의의가 크다고 하겠다.

한편, 버섯은 일반적으로 지질이 적고 당질과 단백질 및 핵산이 풍부하며 특히 Vitamin D의 전구체인 ergosterol을 함유하고 있어 식품 외에도 일부가 민간요법이나 한방 의약에 쓰이고 있고 어린이와 임산부, 노화가 시작되는 중년이후의 사람들에게 유용하다고 알려져 있다(성 등, 2000). 버섯이 가지는 약리작용으로는 *Ganoderma lucidum*이 가지는 콜레스테롤 저하효과(Kibir *et al.*, 1998)와 *Tremella fuciformis* 자실체에서 분리한 Glucuronoxylomannan이 가지는 혈당강하 작용(Kiho *et al.*, 1993), *Cordyceps militaris*로부터 분리한 nucleoside 유도체 물질인 codycepin이 가지는 HIV-1의 역전사 효소활성 억제 작용(Muller *et al.*, 1990), *Clavicornia pyxidate*에서 분리한 Clavicornic acid의 항균작용(Erkel and Anke, 1992) 등이 보고되어 있다. 또한 *Tricholoma giganteum*에서 추출한 polysaccharides의 항암작용이 보고되어 있고(Mizuno *et al.*, 1995) 그밖에도 항염증작용, 간보호작용, 항산화 작용, 정력증강작용 등이 알려져 있다. 이와 같이 버섯이 다양한 약리효능을 갖고 있으면서도 아직까지 건강식품이나 의약대체 제품이 다양하게 개발되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 버섯을 이용하여 비교적 가격이 저렴하고 부작용이 없으면서 경구투여시 소화관내에서 소화효소에 대하여 보다 안정하게 약리효능을 발휘할 수 있는 우수한 고혈압 예방 제품을 개발하고자 농업과학 기술원에서 수집하여 보존된 버섯을 대상으로 이들의 일반성분과 추출수율을 측정하고 이들 추출물에 대하여 항고혈압성 안지오텐신 전환효소(ACE) 저해활성을 측정하여 우수버섯을 선정한 다음, 이들로부터 ACE 저해제 추출 최적조건을 검토하였다.

재료 및 방법

버섯, 효소 및 시약

본 실험에서 사용한 버섯은 비늘 버섯(*Pholiota spp.*) 18시료, 차가버섯(*Inonotus obliquus*) 2시료, 망태 버섯(*Dictyophora echinvolvata*) 2시료, 잎새 버섯(*Grifola frondosa*) 9시료, 장수 버섯(*Fomitella fraxinea*) 9시료의

자실체와 꽃송이 버섯(*Sparassis crispa*) 4시료, 차가버섯(ASI 74006부터 74013까지) 7시료, 신령버섯(*Agaricus blazei*) 1시료 등의 균사체를 농업과학기술원으로부터 분양 받아 즉시 동결 건조하여 분쇄 후 분말로 하여 사용하였다.

ACE 저해 활성 측정을 위한 안지오텐신전환효소(ACE)는 ACE rabbit lung acetone powder(Sigma Co., USA)를 완충용액으로 12시간 추출하여 사용하였고 기질로는 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(Hip-His-Leu, Sigma Co., USA)을 사용하였다. 단백질 가수분해 효소로 pepsin(돼지 위점막 기원, 최적 작용조건; 37°C, pH 2.0)과 trypsin(돼지 췌장 기원, 25°C, pH 7.6)은 Sigma사 제품(USA)을 사용하였고 protease N(*Bacillus subtilis* 기원, 55°C, pH 7.0)은 Aman사 제품(Japan)을 사용하였다. 기타 일반 시약과 유기 용매는 일급 또는 특급품을 사용하였다.

일반성분 분석

동결 건조 시킨 시료의 일반 성분은 AOAC법(Kenneth, 1995)에 따라, 조회분은 직접 회화법으로 측정하였고 조단백질은 Kjeldahl법, 조지방은 Soxhlet 추출법으로 정량하였으며 탄수화물을 함량은 고형분의 총량에서 조회분, 조단백질 그리고 조지방의 함량을 뺀 값으로 나타내었다(이 등, 2000).

추출 및 수율 측정

각각의 버섯 분말 시료에 40배의 증류수를 가한 후 30°C로 조절된 진탕항온수조에서 진탕속도를 200 rpm 하여 12시간 동안 추출하였다. 이 추출액을 16,000×g로 10분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이를 Whatman No. 2로 여과한 후 동결 건조하여 물 추출 시료로 사용하였다.

또한, 분말시료에 70%의 에탄올과 메탄올 각각을 20배씩 가하여 섞은 후 30°C로 조절된 진탕항온수조(200 rpm)에서 12시간 동안 추출하였다. 이 추출액을 16,000×g로 10분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이를 Whatman No. 2로 여과 한 후 rotary evaporator(EYELA Co., Japan)로 유기용매를 제거한 다음 동결 건조하여 에탄올과 메탄올 추출 시료로 사용하였다.

추출 수율은 추출액 일정량을 취하여 동결 건조시켜서 건물 중량을 구한 다음 추출액 조제에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 계산하였다.

ACE 저해활성 측정

Cushman과 Cheung의 방법(Cushman *et al.*, 1997)을 일부 변형하여 다음과 같이 ACE 저해 활성을 측정하였다. 즉, 시료 50 μ l에 ACE 용액 150 μ l(2.8 unit)와 100 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μ l를 가한 후, 37°C에서 10분간 preincubation시켰다. 여기에 기질로서 Hip-His-Leu 용액 50 μ l를 가하여 다시 37°C에서 30분간 반응시

킨 후 1 N HCl 250 μ l를 가하여 반응을 정지시켰다. 여기에 ethyl acetate 1 ml를 가하여 30초간 vortexing한 다음 3,000 \times g으로 15분 동안 원심분리 후 상층액 0.8 ml를 취하였다. 이 상층액을 speed vac concentrator(EYELA Co., Japan)을 이용하여 완전히 건조시킨 뒤 동일조건인 sodium borate buffer 1 ml를 가하여 용해시켜 228 nm에서 흡광도를 측정하여 ACE 저해 활성을 계산하였다. 또한 이 ACE 저해활성의 50%를 나타내는데 필요한 시료 추출물(고형분)함량을 IC₅₀ 값으로 표시하였다.

$$\text{ACE inhibitory activity (\%)} = (C - T/C - B) \times 100$$

C : 시료대신 증류수 첨가시 228 nm에서의 흡광도,
T : 시료 첨가시의 흡광도,
B : 반응정지 후 시료 첨가시의 흡광도

각종 단백질 분해효소의 처리영향

김 등(Kim *et al.*, 1996)의 방법을 변형하여 Trypsin 등 3종류의 단백질 분해효소들을 다음과 같이 반응시켜 ACE 저해 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 즉, 물 추출물에 20 mM phosphate buffer를 5배씩 가한 후 단백질 분해효소들을 1%씩 각각 첨가하여 앞에서 기술되어 있는 각각의 작용 최적조건에서 12시간 가수분해시켰다. 가수분해

Table 1. Chemical compositions of various mushrooms extracts and yields on extraction methods

Mushrooms ^a	ASI NO	Crude proteins (%)	Crude lipids (%)	Carbohydrates ^b (%)	Yield (%)		
					Water extract	Ethanol extract	Methanol extract
<i>Pholiota</i> spp. ^c	24001	9.4	1.8	83.2	54	30	30
	24002	7.1	1.3	86.6	52	24	26
	24004	13.9	1.4	83.4	66	36	42
	24005	10.2	1.9	83.4	52	28	28
	24007	7.6	1.9	83.2	50	26	28
	24008	9.8	1.5	83.4	56	32	32
	24010	8.0	1.5	84.4	54	30	32
	24012	15.9	1.0	78.3	64	32	30
	24017	13.6	1.2	79.3	64	32	42
	24018	13.3	1.2	79.0	64	30	36
	24022	14.6	1.3	77.5	58	26	38
	24024	8.4	1.5	82.7	60	32	36
	24027	12.0	1.3	79.2	68	34	32
	5019	10.4	0.7	83.8	54	28	36
	500110	16.6	2.2	69.5	62	30	31
	500457	17.3	2.5	70.2	60	32	31
	500461	25.7	2.3	60.3	63	28	29
	500462	22.9	2.4	67.1	59	32	30
	<i>Inonotus obliquus</i>	74006	35.5	0.9	39.3	50	20
74007		27.7	0.4	50.6	42	24	24
74008		26.0	0.6	79.8	34	18	17
74009		44.3	0.5	41.7	49	22	16
74011		39.0	0.3	42.6	48	21	20
74012		38.0	0.5	48.0	57	9	20
74013		28.0	2.2	41.4	51	38	34
Ru		40.1	2.8	45.1	55	30	42
Ca		41.9	0.2	42.1	52	25	28
<i>Sparassis crispa</i>		15006	28.8	0.7	56.1	36	17
	150010	34.7	0.6	44.5	28	19	21
	150011	35.2	4.0	47.9	28	11	11
	150016	28.0	0.5	49.2	26	12	8
<i>Dictyophora echinovolva</i>	DE-E ^d	37.6	3.1	46.5	35	13	16
	DE-F ^d	29.2	2.9	55.2	36	29	31
<i>Agaricus blazei</i>	1174	31.7	3.1	54.5	13	8	9

^aMushrooms collected from National Institute of Agricultural Science and Technology in Korea.

^bCarbohydrate contents described as [(total dried solid content) - (crude protein content + crude ash content + crude lipids content)].

^cMost mushrooms were experimented using fruit bodies, except *S. crispa* ASI M-1, M-2, M-9, M-10, *I. obliquus* ASI 71006~74013 and *A. blazei* ASI 1174.

^dE: egg, F: fruiting body.

Table 1. Continued

Mushrooms	ASI NO	Crude proteins (%)	Crude lipids (%)	Carbohydrates (%)	Yield (%)		
					Water extract	Ethanol extract	Methanol extract
<i>Grifola frondosa</i>	9006	56.5	2.1	35.6	45	20	7
	9009	55.0	4.4	30.3	34	24	16
	9010	32.9	1.1	60.8	44	40	41
	9011	42.1	1.3	51.2	34	40	18
	9012	44.0	1.0	47.4	45	43	29
	9014	34.6	1.8	59.6	43	35	37
	9017	20.3	0.9	68.3	43	37	40
	9021	19.0	1.2	67.8	44	41	39
	9025	35.7	3.1	46.8	37	40	38
<i>Fomitella fraxinea</i>	17001	23.3	0.9	56.9	27	39	41
	17003	31.1	0.7	49.8	31	35	30
	17004	26.7	0.7	58.0	16	22	31
	17005	28.2	1.0	54.0	35	26	35
	17006	29.8	0.9	52.9	20	17	28
	17009	43.0	0.6	33.6	29	30	36
	17010	31.5	0.5	53.4	32	38	25
	17012	26.9	0.3	58.8	26	31	26
	17017	27.9	0.9	55.3	24	25	27

후 100°C에서 10분간 열처리해서 반응을 정지시킨 다음 이 가수분해물을 Whatman No. 2로 여과하여 ACE 저해 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

시료 버섯의 일반성분

시료버섯에 대한 일반성분 중 생리기능성에 관련된 조단백질, 탄수화물 및 조지방 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 조단백질 함량은 7.1~56.5%로 버섯마다 다양하였으며 특히 잎새 버섯 중 ASI 9006 균주의 자실체는 단백질 함량이 56.5%로 가장 높았다. 조지방 함량은 모든 시료 버섯에서 0.2~4.4%로 비교적 적게 함유되어 있었다. 그리고 탄수화물 함량은 30.3~86.6%로 일반 성분의 대부분을 차지하였으며 특히 비늘 버섯 ASI 24002 자실체가 86.6%로 가장 많이 함유하고 있었다.

용매별 추출 수율

시료버섯 52종에 대하여 물과 70%의 에탄올 및 메탄올을 용매로 사용하여 추출 수율을 조사한 결과 대체로 물 추출물이 다른 두 유기용매 추출보다 수율이 높았다. 물 추출시 추출수율은 비늘 버섯 중 ASI 24027 균주의 자실체가 68%로 가장 높았고 그 다음은 차가버섯(ASI 74012)의 자실체에서 57%, 잎새버섯(ASI 9006과 9012)의 자실체에서 각각 45%이었다, 그리고 메탄올 추출시는 장수버섯 중 ASI 17001 균주의 자실체가 41%의 최고 수율을 보였다(Table 1).

추출수율을 70% 이상으로 높이기 위하여 앞으로 추가 연구가 필요할 것으로 생각되며 또한 일반적으로 식용에는 물 추출물이 유리하고 가공 제품 개발시는 유효성분의

추출과 농축이 유리한 에탄올 추출물이 더 적합할 것으로 판단되었다.

ACE 저해활성

시료버섯에 대한 각각의 추출물들의 ACE 저해활성을 측정 한 결과 Table 2와 같이 물 추출물시 비늘버섯 중 ASI 24012 균주의 자실체가 66%(IC₅₀ : 0.25 mg)로 가장 우수하였고 그 다음은 잎새 버섯(ASI 9021)의 자실체가 61%(IC₅₀ : 0.28 mg)이었다. 한편 에탄올 및 메탄올 추출물에서는 신령버섯(ASI 1174)의 균사체가 각각 58.0%(IC₅₀ : 0.36 mg)와 59.6%(IC₅₀ : 0.42 mg)의 ACE 저해 활성을 나타냈다. 그러나 장수 버섯은 모든 추출물에서 ACE 저해활성이 매우 낮았다. 이와 같은 비늘버섯(ASI 24012) 자실체 물 추출물의 ACE 저해활성은 왕송이버섯 자실체의 물 추출물(61.3%)(Lee *et al.*, 2003)과 *G. frondosa* (58.7%), *C. versicolor*(37.7%), *P. coccinea*(37.5%)의 물 추출물들보다 더 높았다(Choi *et al.*, 2001).

한편, 버섯 중의 ACE 저해물질의 추출용매로는 대체적으로 물이 적합한 것으로 추정되었으나 신령 버섯 ASI 1174 균주의 균사체 경우 에탄올 추출이 더 좋았다. 이와 같이 물 추출물에서 다른 용매 추출물보다 ACE 저해활성이 높은 것은 지금까지 ACE 저해활성을 나타내는 물질로 알려진 것은 대부분이 peptide나 단백질 가수분해물이고 (Rhyu *et al.*, 1996; Choi *et al.*, 2001) 따라서 이들이 물로 용출 되었기 때문인 것으로 생각되며 이 결과는 Aiko 등(1986)의 영지버섯의 실험 결과와 유사하였다.

단백질 분해효소 처리가 ACE 저해 활성에 미치는 영향

지금까지 알려진 ACE 저해 펩타이드들의 일부는 각종

Table 2. ACE inhibitory activity of the various extracts from mushrooms and effect of protease treatment on water extracts

Mushrooms	ASI NO	ACE inhibitory activity (%) ^a				Ethanol extract	Methanol extract
		Control	Pepsin ^b	Trypsin	Protease N		
<i>Pholiota</i> spp.	24001	40.3	37.6	24.1	35.7	32.8	10.6
	24002	58.0	44.4	41.8	39.1	18.1	N.D. ^c
	24004	56.3	50.3	48.4	36.7	18.6	N.D
	24005	54.4	42.2	43.3	35.8	30.3	11.3
	24007	54.4	46.6	43.0	40.0	20.4	6.5
	24008	61.8	47.2	45.1	39.9	27.4	N.D
	24010	50.9	39.9	40.0	35.3	18.0	13.2
	24012	66.0	57.6	61.0	50.8	24.9	24.1
	24017	63.7	47.9	43.8	40.0	26.5	38.1
	24018	63.0	25.8	52.7	36.3	16.6	8.8
	24022	59.6	61.4	42.4	13.3	12.7	14.2
	24024	61.4	53.7	44.4	19.0	14.0	10.0
	24027	61.0	61.0	51.9	37.1	9.2	9.3
	5019	22.5	37.8	22.3	N.D	N.D	N.D
	500110	16.4	52.6	19.6	15.5	N.D	N.D
	500457	21.0	54.0	26.2	14.4	N.D	N.D
	500461	13.7	47.8	30.8	11.3	10.9	N.D
500462	1.5	49.3	39.0	36.4	N.D	N.D	
<i>Inonotus obliquus</i>	74006	16.4	40.6	36.3	13.5	15.0	14.0
	74007	13.9	24.9	32.9	25.3	17.7	22.1
	74008	1.3	25.3	37.7	2.0	9.5	26.5
	74009	18.5	24.9	44.2	28.4	5.4	33.4
	74011	N.D	5.6	19.4	34.0	19.9	20.8
	74012	40.7	40.2	54.5	38.7	21.5	47.8
	74013	23.0	35.1	24.5	26.5	10.0	15.8
	Ru	14.0	31.9	24.5	30.1	17.0	36.6
Ca	17.3	23.8	30.7	23.3	10.5	21.8	
<i>Sparassis crispa</i>	15006	19.3	50.9	42.4	37.2	3.6	22.6
	150010	2.5	57.0	27.2	38.0	10.0	15.8
	150011	32.6	60.9	52.6	50.3	23.6	30.1
	150016	43.2	48.6	53.2	32.9	9.0	16.0
<i>Dictyophora echinvolvata</i>	DE-E	43.7	50.1	44.8	30.7	23.7	35.3
	DE-F	34.4	20.2	38.3	23.4	1.0	10.0
<i>Agaricus blazei</i>	1174	9.1	48.0	36.4	30.8	58.0	59.6

^aIt was described as activity of each extract (1 mg).

^bPepsin, trypsin and protease N were treated on water extracts as described in material and methods.

^cND; not detected.

단백질의 가수분해물에 의해 생성되어 보고되었다(Rhyu *et al.*, 1996). 따라서 ACE 저해 활성을 가진 peptide를 대량생산하기 위해 시료 버섯의 물 추출물에 대한 단백질분해효소처리 효과를 조사한 결과(Table 2), 비늘 버섯의 경우 단백질분해효소를 처리한 시료의 ACE 저해활성이 단백질 분해효소를 처리하지 않은 물 추출물보다 오히려 낮았다. 그러나 꽃송이 버섯 ASI 150010, ASI 150011 균사체의 pepsin 가수분해물에서 각각 57%와 61%의 비교적 높은 ACE 저해 활성을 보였고, 꽃송이 버섯 ASI 150016 균사체의 경우는 trypsin 가수분해물에서 53%의 ACE 저해활성을 보였다. 잎새버섯은 pepsin을 처리한 모든 시료에서 ACE 저해활성이 무처리에 비하여 약간 높아졌고 trypsin을 처리한 시료에서는 비슷하거나 약간 감소하였다.

그러나 장수 버섯은 단백질분해효소처리 효과가 없었다.

대체적으로 모든 버섯에서 단백질 분해효소를 처리한 가수분해물이 대조구인 단백질분해효소를 처리하지 않은 물 추출물보다 ACE 저해활성이 높았는데, 이는 각종 곡류와 두류의 물 추출물에 pepsin을 처리했을 때 ACE 저해활성이 없던 멥쌀, 현미, 찹쌀, 보리, 수수, 밀, 옥수수 등의 추출물에서 ACE 저해활성을 보였다는 류 등(Rhyu *et al.*, 1996)의 보고와 담수어 단백질의 단백질 분해효소 가수분해물에서 ACE 저해 효과가 높게 나타났다는 김 등(1996)의 보고와 같이 단백질 분해효소가 물 추출시 추출된 단백질이나 일부 올리고 펩타이드들을 가수분해시켜서 ACE 저해 활성을 갖는 peptide를 생성하였기 때문인 것으로 생각된다.

Table 2. Continued

Mushrooms	ASI NO	ACE inhibitory activity (%)				Ethanol extract	Methanol extract
		Control	Pepsin	Trypsin	Protease N		
<i>Grifola frondosa</i>	9006	48.8	57.4	44.2	N.D	13.4	2.5
	9009	44.7	60.0	40.8	22.5	15.7	N.D
	9010	48.2	57.8	49.8	N.D	13.3	8.0
	9011	48.8	58.4	51.3	40.9	6.8	3.2
	9012	58.3	63.4	53.1	37.4	32.0	20.4
	9014	40.1	58.4	49.6	7.5	14.6	4.4
	9017	47.0	56.1	45.1	21.2	5.9	10.0
	9021	61.0	62.9	58.5	37.0	23.1	21.0
	9025	47.6	53.8	45.9	29.9	57.7	25.9
<i>Fomitella fraxinea</i>	17001	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
	17003	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
	17004	39.2	26.9	39.6	N.D	N.D	N.D
	17005	24.6	11.2	18.0	N.D	N.D	N.D
	17009	28.7	13.3	26.7	N.D	N.D	N.D
	17010	15.9	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
	17012	20.4	12.7	14.9	N.D	N.D	N.D
	17017	23.7	11.2	24.5	N.D	N.D	N.D

ACE 저해 물질의 추출 최적조건

가장 ACE 저해 활성이 강하였던 비늘 버섯 ASI 24012 자실체로부터 ACE 저해물질을 대량으로 얻기 위해 추출 최적조건을 검토한 결과 추출온도는 30°C가 제일 좋았고 1시간 추출시 제일 높은 ACE 저해 활성을 보였으며 추출 시간이 길어짐에 따라 거의 변화가 없었다(Fig. 1). 따라서 ACE 저해제 추출 최적 조건은 비늘 버섯 자실체의 동결건조 분말을 물에 1:40으로 현탁 시킨 후 30°C에서 1시간 추출하는 것이며 이때 ACE 저해활성이 67.6%(IC₅₀: 0.20 mg)이었다.

이러한 결과는 이 등(2003)이 보고한 왕송이 버섯을 물로 30°C에서 3시간 추출하였을 때 ACE 저해물질의 추출 효율이 높았다는 결과와 일치하는 것으로 이들 ACE 저해 물질들이 비교적 분자량이 작은 peptide 물질이므로 3시

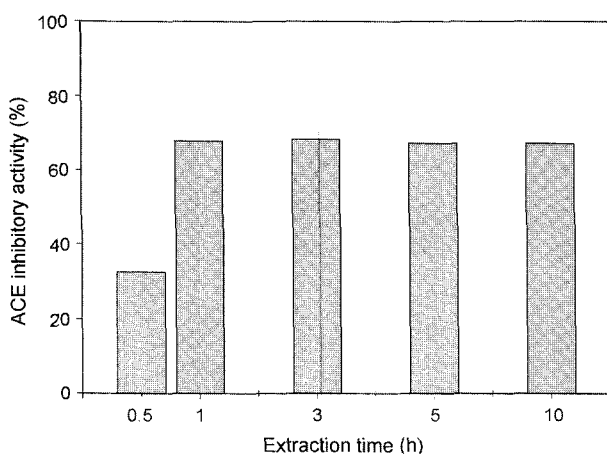


Fig. 1. Effect of extraction time on the ACE inhibitory activity of extracts from *Pholiota* spp. ASI 24012 fruiting body.

간 이내의 짧은 시간에 대부분 추출되는 것으로 추정된다.

적 요

항고혈압 효능이 우수하며 부작용이 없는 고혈압 예방 제품을 개발하고자 농업과학기술원에서 분양 받은 52종의 버섯을 대상으로 일반성분, 추출 수율, 그리고 ACE 저해활성을 조사하여 활성이 우수한 버섯을 선정한 다음 ACE 저해물질의 추출 최적조건을 검토하였다. 시료 버섯은 7.1~56.5%의 조단백질과 0.2~4.4%의 조지방 및 30.3~86.6%의 탄수화물을 각각 함유하고 있었으며 비늘버섯 ASI 24027 자실체의 물 추출물 수율이 68%로 제일 높았다. 그러나 ACE 저해활성은 비늘 버섯 ASI 24012 균주의 자실체를 물 추출로부터 얻은 추출물(IC₅₀: 0.45 mg)에서 가장 높았다. 그리고 이 버섯의 ACE 저해물질 최적추출조건은 자실체 분말을 물로 30°C에서 1시간 추출했을 때 가장 많이 용출 되었으며 이때 ACE 저해활성도도 67.6%(IC₅₀: 0.20 mg)로 가장 높았다.

감사의 글

이 연구는 2002년 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의하여 지원되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- 김선봉, 이태기, 박영범, 염동민, 김외경, 변한석, 박영호. 1993. 수산발효식품 중의 angiotensin-I 전환효소 저해제의 특성. 1. 멸치 깻갈 중의 angiotensin-I 전환효소 저해제의 특성. 한국수산학회지 26: 321-329.
- 김재호, 이대형, 최신양, 이종수. 2002. 전통 민속주의 생리기능

- 성 탐색. 한국식품과학회지 **34**(1): 118-122.
- 김태진, 윤호동, 이두석, 장영순, 서상복, 염도민. 1996. 담수어 열수추출물 및 효소가수분해 물의 angiotensin I converting enzyme 저해작용. 한국식품영양과학회지 **25**: 871-877.
- 도정룡, 김선봉, 박영호, 김동수. 1993. 기호음료 성분의 angiotensin 전환효소 저해작용. 한국식품과학회지 **25**: 456-460.
- 민헌기. 1999. Clinical endocrinology. 고려의학(서울, Korea) pp. 511-520.
- 성재모, 유영복, 차동열. 2000. Mushroom science. 교학사(서울, Korea).
- 이우주. 2001. 약리학학의. 의학문화사(서울, Korea) pp. 447-465.
- 조영제, 안봉전, 최정. 1993. 한국산 녹차로부터 분리한 flavan-3-ol 화합물의 angiotensin converting enzyme 저해효과. 한국식품과학회지 **25**: 238-242.
- 우원식. 1999. 천연물화학 연구법. 서울대학교 출판부.
- 키와키시 순로. 1996. 식품 중의 생체기능 조절물질 연구법. 한림원(Seoul, Korea) pp. 121-134.
- A.O.A.C. 1995. Official methods of Analysis. 15th Edition. Virginia, U.S.A.
- Aiko, M., Katsuaki, K., Yoshinori, F. and Nobuo, I. 1986. Angiotensin converting enzyme inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*. *Chem. Pharm. Bull.* **34**(7): 3025-3028.
- Angus, C. W., Lee, H. J. and Wilson, J. B. 1972. Substrate specificity of hog plasma angiotensin-converting enzyme. *Biochem. Biophys. Acta.* **309**: 169-174.
- Choi, H. S., Cho, H. Y., Yang, H. C., Ra, K. S. and Suh, H. J. 2001. Angiotensin I-converting enzyme inhibitor from *Grifola frondosa*. *Food Research International.* **34**: 177-182.
- Cushman, D. W., Cheung, H. S., Sabo, E. F. and Ondetti, M. A. 1977. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin converting enzyme: carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acid. *Biochemistry* **16**: 54-84.
- Dorer, F. E., Kahn, J. R., Lentz, K. E., Levine, M. and Skeggs, L. T. 1974. Hydrolysis of bradykinin by angiotensin-converting enzyme. *Circ. Res.* **34**: 824-827.
- Elisseeva, Y. E., Orekhovich, V. N., Pavlikhina, L. N. and Alexeenko, L. P. 1971. Carboxycathepsin-A key regulatory component of two physiological systems involved in regulation of blood pressure. *Clin. Chim. Acta* **31**: 413-419.
- Erkel, G. and Anke, T. 1992. Antibiotics from bASI diomycetes XLI, Clavicornic acid, a novel inhibitor of reverse transcriptase from *Clavicornia pyxidate*. *J. Antibiotics.* **45**(1): 29-37.
- Ganong, W. F. 1997. Review of medical physiology. Appleton and Lange (New Jersey, USA) pp. 425-460.
- Hara, Y., Matsuzaki, T. and Suzuki, T. 1987. Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* **61**: 803-807.
- Kabir, Y., Kimura, S. and Tamura, T. 1998. Dietary effect of *Ganoderma lucidum*: Mushroom on blood pressure and lipid levels in spontaneously hypertensive rats(SHR). *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **34**: 433-438.
- Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H. and Kimura, Y. 1987. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of per-simmon on angiotensin converting enzyme activity. *J. Natural Products.* **50**: 680-683.
- Kiho, T., Hui, J., Yamane, A. and Ukai, S. 1993. Polysaccharides in fungi. XXXII. Hypoglycemic activity and chemical properties of a polysaccharide from the cultural mycelium of *Cordyceps sinensis*. *Biol. Pharm. Bull.* **16**: 1291-1293.
- Kim, Y. S., Suh, H. J., Chung, S. H., Kim, Y. S. and Lee, S. D. 1996. Functionality and inhibitory effect of soybean hydrolysate on angiotensin converting enzyme. *Korea J. Food & Nutrition* **9**(2): 167-175.
- Kohama, Y., Matsumoto, S., Oka, H., Teramoto, T., Okabe, M. and Mimura, T. 1988. Isolation of angiotensin-converting enzyme inhibitor from tuna muscle. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **155**: 332-337.
- Lee, B. Y. and Hwang, J. B. 2000. Physicochemical characteristics of *Agartache rugosa* O. Kuntze extracts by extraction condition. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**: 1-8.
- Maruyama, S., Miyoshi, S. and Tanaka, H. 1989. Angiotensin I converting enzyme inhibitor derived from *Ficus carica*. *Agric. Biol. Chem.* **53**: 2763-2769.
- Matsubara, Y., Kumamoto, H., Iizuka, Y., Murakami, T., Okamoto, K., Miyake, H. and Yokoi K. 1985. Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in citrus unshiu peelings. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 909-913.
- Mizuno, T., Kinoshit, T., Zhung, C., Ito, H. and Mayuzumi, Y. 1995. Antitumor activity of heteroglycans from niohshimeji, *Tricholoma giganteum*. *Food Rev. International.* **59**(4): 563-567.
- Muller, W. E. G., B. E. Weiler, R. Charubala, W. and Schroder, H. C. 1990. Cordycepin analogues of 2'5'-oligoadenylate inhibitor of human immunodeficiency virus infection via inhibition of reverse transcriptase. *Biochemistry* **30**: 2027-2033.
- Oh, K. S., Lee, D. G., Hong, J. U. and Sung, H. C. 2003. Peptide inhibitors for angiotensin I converting enzyme from corn gluten digests. *Kor. J. Microbial. Biotechnol.* **31**: 51-56.
- Okamoto, A., Hanagata, H., Matsumoto, E., Kawamura, Y., Koizumi, Y. and Yanagida, F. 1995. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activities of various fermented foods. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59**: 1147-1152.
- Ondetti, M. A., Rubin, B. and Cushman, D. W. 1997. Design of specific inhibitors of angiotensin. *Science* **196**: 441-444.
- Rhyu, M. R., Nam, Y. J. and Lee, H. Y. 1996. Screening of angiotensin I-converting enzyme inhibitors in cereals and legumes. *Food & Biotechnol.* **5**: 334-337.
- Saito, Y., Nakamura, K., Kawato, A. and Imayasu, S. 1992. Angiotensin I converting enzyme inhibitors in sake and its by-products. *Nippon Noeikagaku Kaishi* **66**: 1081-1087.
- _____, Wanezaki, K., Kawato, A. and Imayasu, S. 1994. Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides from sake and sake lees. *Biosci. Biotech. Biochem.* **58**: 1767-1771.
- Soffer, R. L. 1976. Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Annu. Rev. Biochem.* **45**: 73-94.
- Yoo, W. H. 1990. Hypertension complication. *Medical Information* **2**: 74-79.