

한국산 약용식물의 안지오텐신 전환효소에 대한 저해활성

이승은*† · 방진기* · 송진* · 성낙술* · 박희운* · 정해곤* · 김금숙* · 안태진*

*작물과학원

Inhibitory Activity on Angiotensin Converting Enzyme (ACE) of Korean Medicinal Herbs

Seung Eun Lee*†, Jin Ki Bang*, Jin Song*, Nak Sul Seong*, Hee Woon Park*,
Hae Gon Chung*, Geum Suk Kim*, and Tae Jin An*

*National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea.

ABSTRACT : The study was conducted to develop new materials of functional foods from natural resources. Fortyeight medicinal plants were screened on inhibitory activity of angiotensin-converting enzyme (ACE), a protein elevating blood pressure. The water extracts of *Armoracia* aerial part, *Cynanchum radix*, *Euonymus* branch, *Phyllostachys* stem, *Trichosanthes* seed, and methanol extract of *Silybum* aerial part were showed strong inhibitory activity (above 70%) on ACE at the final concentration of $4,000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. Among the plant extracts, water extracts of *Phyllostachys taeniam* and *Trichosanthes* seed were especially showed strong inhibitory activity (above 25%) at $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. These two plants are expected good candidate for development into anti-hypertensive materials.

Key words : angiotensin-converting enzyme (ACE), ACE inhibitor, medicinal plants, anti-hypertension

서 언

근래에 이르러 우리나라 뿐만 아니라 세계적으로 다양한 자원으로부터 다양한 생리기능을 가진 물질을 탐색하는 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이는 보다 건강하게 오래 살려는 인류의 필요성에 따른 현상이다. 이에 따라 식물자원에 포함된 화합물에 많은 관심이 집중되고 있고 그에 따른 연구결과도 많이 보고되고 있는 바 이것은 식물이 대사 과정을 통해 동물을 위한 에너지원 외에도 복잡한 생명유지활동에 필요한 활성물질도 생성, 보유하기 때문으로 사료된다.

고혈압은 2000년도 우리 나라 순환기계 질환에 의한 사망 원인 중 4위에 해당하는 질환이다. 고혈압 즉, 혈압상승과 관련된 기전의 일부는 angiotensin I - converting

enzyme (ACE)에 의해 일어나는 것으로 알려져 있으며 ACE는 불활성형인 angiotensin I의 C 말단에 존재하는 His-Leu를 절단하여 angiotensin II를 생성하고 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화시키는 효소이다 (Noh & Song, 2001).

ACE 저해제는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성저해, aldosterone 분비 감소, 혈관확장제인 bradkinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진하므로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다 (Oh *et al.*, 1997). 현재까지 국내에 보고되어진 ACE 저해제 탐색 연구에 대두 발효 식품 및 그 가수분해물 (Shin *et al.*, 1995; Cho *et al.*, 2000), 젓갈류 등의 수산가공품 (Park *et al.*, 2000), 미생물 (Cha & Park, 2001; Moon *et al.*, 1995), 한약재 (Ahn *et al.*, 1999) 및 식물 (An &

† Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6836 (E-mail) lse1003@rda.go.kr
Received January 8, 2004 / Accepted January 28, 2004

Lee, 1999; Jung & Song, 2002) 등을 비롯한 다양한 자원이 이용되었으며 동물체내에서의 활성 검정 연구도 보고되어 있다 (Yu *et al.*, 1996; Hong *et al.*, 1998).

본 연구에서는 한국산 약용식물을 대상으로 ACE 저해제 탐색을 시도, 새로운 기능성 식품 소재 개발을 위한 기초 자료를 확보하고자 하였으며 그 연구결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출물 조제

본 실험에 사용된 46종의 약용식물은 2002년 경동시장에서 구입하거나 수원 소재 작물과학원 전시포에서 채취하여 세척, 건조, 분쇄한 후 추출물 조제에 사용하였다 (Table 1). 메탄올 추출물은 건조시료 중량의 10배량의 메탄올로 환류냉각장치를 사용하여 74℃에서 3시간씩 2회 반복추출, 여과, 감압농축하여 용매를 제거한 후 조제하였으며 물 추출물은 동량의 증류수로 상온에서 24시간씩 2회 반복하여 진탕 추출, 여과한 후 동결건조과정을 거쳐 조제하였다.

2. 시약 및 기기

실험에 사용된 lung acetone powder, N-hippuryl-His-Leu tetrahydrate (Hip-His-Leu) 및 ACE inhibitor 등의 시약은 Sigma Co. (USA) 제품을 사용하였으며 기타 시약 및 용매는 특급을 사용하였다. 시료의 감압 농축에는 N-1000 evaporator (Eyela, Japan)를, 흡광도 측정에는 Cary 300 UV-visible spectrophotometer (Varian, Australia)를 사용하였다.

3. ACE 저해활성

각 식물 추출물의 항고혈압 활성을 비교 확인하기 위해 Cushman & Cheung의 방법 (1973)에 준해 일정농도의 시료 50 μ l, 기질인 Hip-His-Leu 200 μ l, lung acetone powder로부터 조제된 ACE 용액 100 μ l을 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μ l로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 1.5 ml의 ethylacetate를 첨가한 후 5분간 vortex하고 3000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 얻어진 상등액을 0.5 ml 취해 감압 농축하여 용매를 완전히 제거하였다. 그 후 남은 잔사에 4 ml의 증류수를 가해 1시간 동안 완전히 녹여 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로서는 시료 대신 증류수를 사용하였고 시료에 대한 공시료는 반응액과 1 N HCl을 미리 혼합하였으며 아래의 식에 따라 저해율을 산출하였으며 각 식물 추출물의 ACE

저해능은 시판 ACE 저해제인 peptide (Sigma A0773)와 비교하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = \frac{(C-C_b) - (S-S_b)}{(C-C_b)} \times 100$$

C : Control의 흡광도 C_b : Control 공시료의 흡광도
S : 시료의 흡광도 S_b : Sample 공시료의 흡광도

결과 및 고찰

한국산 약용식물 46종의 메탄올 추출물 및 물 추출물에 대한 ACE 저해활성을 4,000 μ g · ml⁻¹의 최종 반응 농도에서 비교 실험한 결과를 Table 2에 나타내었다. 그 결과를 살펴볼 때, 50% 이상의 높은 ACE 저해능을 나타낸 것으로는 물 추출물이 감국꽃 등 9점, 메탄올 추출물이 겨자무 지상부 등 7점으로 나타났으며 겨자무 지상부, 구기자 나무의 성숙 열매, 화살나무의 가지 등은 물 추출물과 메탄올 추출물이 모두 50% 이상의 높은 활성을 나타낸 것을 확인할 수 있었다. 또한, 메탄올 추출물 중에서는 시호 쏘초 등 20점이 30%~49%, 속단 쏘초 등 17점이 10%~29% 그리고 현삼 뿌리 등 4점이 10% 미만의 저해활성을 나타내었으며, 물 추출물 중에서는 엉겅퀴 쏘초 등 18점이 30%~49%, 속단 쏘초 등 13점이 10%~29% 그리고 쇠무를 뿌리 등 7점이 10% 미만의 저해활성을 나타내었다.

한편 두 가지 추출조건을 종합해서 살펴 볼 때, 메탄올 추출물 중에서는 수비소 지상부 (79.7%), 물 추출물 중에서는 하늘타리 종자 (78.6%), 큰조롱 덩이뿌리 (77.0%), 죽여 根幹의 중간층피 (72.0%), 겨자무 지상부 (71.2%) 등이 70% 이상의 매우 높은 활성을 나타낸 것을 확인할 수 있었으나 시판되고 있는 peptide형태의 ACE 저해제보다는 조금 낮은 수치였다. 본 실험의 결과처럼 50% 이상의 높은 활성을 나타낸 데에는 식물 중에 존재하는 탄닌 등의 페놀 화합물들도 작용했을 것으로 추측된다 (An, 1998; An & Lee, 1999).

한편 이들 5가지 식물추출물들을 1,000 μ g · ml⁻¹ 및 500 μ g · ml⁻¹의 보다 낮은 농도에서 실험해 보았을 때 Fig. 1에 나타난 것처럼 농도가 감소함에 따라 그 활성도 비례하여 감소함을 알 수 있었으나 죽여 근간의 중간 층피와 하늘타리 종자의 물 추출물은 500 μ g · ml⁻¹의 저 농도에서도 25% 이상의 비교적 높은 ACE 저해활성을 보유하고 있음이 확인되었다. 따라서 이상의 실험결과로부터 46종의 식물자원 중에서 죽여와 하늘타리는 ACE에 대한 저해활성이 매우 우수하여 새로운 항고혈압 기능성 식품 소재로의 개발 가능성이 매우 높을 것으로 기대된다.

Table 1. Medicinal plants used for experiment.

Scientific names	Part used	Sources
<i>Achyranthes japonica</i> N. (쇠무릅)	root	Jangsoo
<i>Alisma plantago-aquatica</i> var. <i>oreintale</i> S. (질경이택사)	root	Cheongyang
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> B. (지모)	root	NICS
<i>Angelica dahurica</i> B. et H. f. (구릿대)	root	Koheung
<i>Angelica tenuissima</i> N. (고본)	root/stem	Kangjin
<i>Aralia elata</i> S. (두릅)	bark	Keumsan
<i>Armoracia lapathifolia</i> G. (겨자무)	aerial part	NICS
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> H. (눈개승마)	aerial part	NICS
<i>Bupleurum falcatum</i> L. (시호)	root	Boseong
<i>Chrysanthemum indicum</i> L. (감국)	flower	Bongwha
<i>Chrysanthemum zawadskii</i> var. <i>latilobum</i> K. (구절초)	aerial part	Bongwha
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> K. (영경귀)	whole plant	Kangjin
<i>Citrus aurantium</i> L. (행자나무)	fruit	Dangjin
<i>Codonopsis lanceolata</i> T. (더덕)	root	Kangjin
<i>Coreopsis alternifolia</i> (나래가막사리)	aerial part	NICS
<i>Cornus officinalis</i> S. et Z. (산수유)	fruit	Bongwha
<i>Crataegus pinnatifida</i> (산사나무)	fruit	Korea
<i>Cynanchum wifordii</i> H. (큰조롱)	root	Pocheon
<i>Dianthus chinensis</i> L. (패랭이꽃)	aerial part	Bongwha
<i>Dioscorea batatas</i> D. (마)	root/stem	Andong
<i>Dioscorea nipponica</i> M. (부채마)	root	NICS
<i>Epimedium koreanum</i> N. (삼지구엽초)	leaf/root	Chulwon
<i>Euonymus alatus</i> S. (화살나무)	branch	Sangjoo
<i>Liriope platyphylla</i> W. et T. (맥문동)	leaf	NICS
<i>Lonicera japonica</i> T. (인동덩굴)	flower	Boseong
<i>Lycium chinensis</i> M. (구기자)	fruit	Cheongyang
<i>Morus alba</i> L. (뽕나무)	bark	Kangjin
<i>Onoclea sensibilis</i> var. <i>interrupta</i> (야산고비)	aerial part	NICS
<i>Ostericum koreanum</i> K. (강활)	root	Jeongson
<i>Paeonia lactiflora</i> P. (적작약)	root	Kangjin
<i>Partrinia villosa</i> J. (뚜껑)	root	Sangjoo
<i>Pinellia ternata</i> B. (반하)	root	Seosan
<i>Phlomis umbrosa</i> T. (속단)	whole plant	Jeongson
<i>Phyllostachys nigra</i> M. var. <i>henonis</i> S. (죽여)	shavings of the stem	Jeonjoo
<i>Plantago asiatica</i> D. (질경이)	seed	Yaecheon
<i>Pulsatilla koreana</i> N. (할미꽃)	root	Yungwol
<i>Scrophularia buergeriana</i> M. (현삼)	root	Danyang
<i>Silybum marianum</i> (수비소)	aerial part	NICS
<i>Sophora flavescens</i> A. (도둑놈의 지팡이)	root	Kangjin
<i>Sophora japonica</i> L. (회화나무)	leaf	NICS
<i>Sophora japonica</i> L. (회화나무)	branch	NICS
<i>Sorbus commixta</i> H. (마가목)	leaf	NICS
<i>Sorbus commixta</i> H. (마가목)	branch	NICS
<i>Torilis japonica</i> D. C. (사상자)	fruit	Hapcheon
<i>Trichosanthes kirilowii</i> M. (하늘타리)	seed	Danyang
<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i> f. <i>subeolsa</i> N. J. (느릅나무)	bark	Danyang
<i>Zelkova serrata</i> M. (느티나무)	branch	NICS
<i>Zizyphus jujuba</i> M. var. <i>inermis</i> R. (대추나무)	fruit	Keongsan

[†]National Institute of Crop Science

Table 2. Inhibition activity of medicinal herbs on angiotensin converting enzyme (ACE).

Scientific names	Inhibition rate (%) [†]	
	Methanol ext.	Water ext.
<i>Achyranthes japonica</i> N.	25.9 ± 3.12	7.8 ± 1.64
<i>Alisma plantago-aquatica</i> var. <i>oreintale</i> S.	51.5 ± 4.16	40.8 ± 1.85
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> B.	39.0 ± 3.27	46.8 ± 1.34
<i>Angelica dahurica</i> B. et H. f.	22.8 ± 1.97	22.4 ± 0.11
<i>Angelica tenuissima</i> N.	29.9 ± 0.35	37.0 ± 0.08
<i>Aralia elata</i> S.	34.3 ± 6.42	9.5 ± 2.02
<i>Armoracia lapathifolia</i> G.	56.2 ± 6.94	71.2 ± 1.28
<i>Aruncus dioicus</i> var. <i>kamtschaticus</i> H.	30.2 ± 3.20	-2.9 ± 2.28
<i>Bupleurum falcatum</i> L.	35.0 ± 0.01	52.4 ± 4.12
<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	33.9 ± 4.55	56.2 ± 2.01
<i>Chrysanthemum zawadskii</i> var. <i>latilobum</i> K.	41.8 ± 3.61	45.8 ± 1.94
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> K.	39.3 ± 1.98	31.2 ± 0.16
<i>Citrus aurantium</i> L.	37.9 ± 3.85	43.2 ± 0.43
<i>Codonopsis lanceolata</i> T.	23.3 ± 3.16	22.8 ± 0.56
<i>Coreopsis alternifolia</i>	12.3 ± 3.35	19.8 ± 2.49
<i>Cornus officinalis</i> S. et Z.	26.1 ± 2.57	19.5 ± 3.80
<i>Crataegus pinnatifida</i>	35.4 ± 0.33	41.8 ± 6.17
<i>Cynanchum wifordii</i> H.	37.9 ± 2.22	77.0 ± 0.28
<i>Dianthus chinensis</i> L.	32.4 ± 2.04	40.7 ± 2.93
<i>Dioscorea batatas</i> D.	28.6 ± 0.23	33.5 ± 0.56
<i>Dioscorea nipponica</i> M.	24.0 ± 0.04	40.2 ± 0.45
<i>Epimedium koreanum</i> N.	37.4 ± 2.76	22.1 ± 0.73
<i>Euonymus alatus</i> S.	53.5 ± 0.81	60.8 ± 0.78
<i>Liriope platyphylla</i> W. et T.	29.6 ± 4.26	42.5 ± 2.52
<i>Lonicera japonica</i> T.	27.0 ± 2.92	33.1 ± 2.01
<i>Lycium chinensis</i> M.	59.5 ± 0.08	52.3 ± 1.41
<i>Morus alba</i> L.	29.9 ± 1.82	47.1 ± 2.02
<i>Onoclea sensibilis</i> var. <i>interrupta</i>	34.1 ± 0.29	20.3 ± 4.34
<i>Ostericum koreanum</i> K.	2.0 ± 0.30	21.3 ± 0.64
<i>Paeonia lactiflora</i> P.	23.0 ± 3.55	41.0 ± 1.34
<i>Partrinia villosa</i> J.	25.7 ± 3.37	24.1 ± 1.10
<i>Pinellia ternata</i> B.	46.9 ± 1.61	54.4 ± 1.52
<i>Phlomis umbrosa</i> T.	15.9 ± 1.52	15.0 ± 1.39
<i>Phyllostachys nigra</i> M. var. <i>henonis</i> S.	45.2 ± 1.92	72.0 ± 0.50
<i>Plantago asiatica</i> D.	33.5 ± 1.89	24.4 ± 6.62
<i>Pulsatilla koreana</i> N.	23.2 ± 3.59	21.9 ± 1.44
<i>Scrophularia buergeriana</i> M.	7.2 ± 1.10	-17.7 ± 0.63
<i>Silybum marianum</i>	79.7 ± 5.25	30.0 ± 0.96
<i>Sophora flavescens</i> A.	49.7 ± 4.29	4.1 ± 1.08
<i>Sophora japonica</i> L. (leaf)	42.3 ± 0.72	41.2 ± 0.41
<i>Sophora japonica</i> L. (branch)	61.2 ± 0.66	45.4 ± 0.81
<i>Sorbus commixta</i> H. (leaf)	11.5 ± 1.92	8.6 ± 2.10
<i>Sorbus commixta</i> H. (branch)	8.8 ± 7.97	12.1 ± 3.57
<i>Torilis japonica</i> D. C.	7.2 ± 1.58	17.3 ± 6.17
<i>Trichosanthes kirilowii</i> M.	19.4 ± 0.35	78.6 ± 0.04
<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i> f. <i>subeolsa</i> N. J.	34.9 ± 0.01	-
<i>Zelkova serrata</i> M.	58.2 ± 7.56	-6.5 ± 0.88
<i>Zizyphus jujuba</i> M. var. <i>inermis</i> R.	40.6 ± 0.52	40.1 ± 0.63
ACE inhibitor [‡]	-	85.2 ± 0.71

[†]The result was tested at final concentration of 4000 µg · mL⁻¹

[‡]Peptide manufactured by Sigma Co, USA.

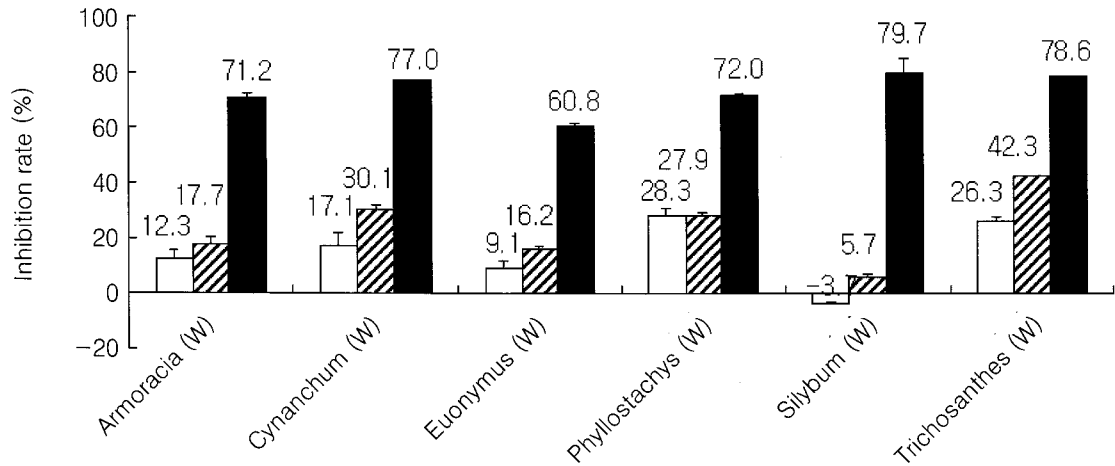


Fig. 1. Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme of methanolic (M) and aqueous (W) extracts prepared from some medicinal plants at final concentration 500 µg · ml⁻¹ (□), 1,000 µg · ml⁻¹ (▨) and 4,000 µg · ml⁻¹ (■).

적 요

46종의 약용식물에 대한 안지오텐신 전환효소 저해활성을 검색한 결과, 메탄올 추출물 중에서는 수비소 지상부가 70% 이상의 저해활성을 나타내었고, 질경이택사 덩이뿌리 등 6점이 50%~69%의 ACE 높은 저해활성을 나타내었다. 물 추출물 중에서는 하늘타리 종자 (78.6%), 큰조롱덩이뿌리 (77.0%), 죽여 根幹의 중간층피 (72.0%), 겨자 무 지상부 (71.2%)가 70% 이상의 높은 저해활성을 나타내었으며 시호 뿌리 등 5점이 50%~69%의 ACE 저해활성을 나타내었다. 70% 이상의 높은 활성을 나타낸 식물들 중에서도 특히 죽여 根幹의 중간층피의 물·추출물과 하늘타리 종자의 물 추출물은 1,000 µg · ml⁻¹ 및 500 µg · ml⁻¹의 낮은 농도에서도 25% 이상의 ACE 저해활성을 나타내 산업화 소재로 개발 가능성이 높다고 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 2002년도 농촌진흥청 작물시험장 박사후연수과정사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Ahn SW, Kim YG, Kim MH, Lee HY, Seong NS (1999) Comparison of biological activities on *Rehmannia radix* and *R. radix preparata* produced in Korea. Korean J. Medicinal Crop Sci. 7:257-262.
An BJ, Lee JT (1999) Isolation and characterization of

angiotensin converting enzyme inhibitors from *Camellia sinensis* L. and their chemical structure determination, Food Sci. Biotechnol. 8:285-289.

Cha MH, Park JR (2001) Isolation and characterization of the strain producing angiotensin converting enzyme inhibitor from soy sauce. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30:594-599.
Cho YJ, An BJ, Choi C (1993) Isolation and enzyme inhibition of tannins from Korean green tea. Korean Biochem. J. 26:216-223.
Cho YJ, Cha WS, Bok SK, Kim MU, Chun SS, Choi UK, Kim SH, Park KS (2000) Production and separation of angiotensin converting enzyme inhibitor during Natto fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29:737-742.
Cushman DW, Cheung HS (1973) Inhibition of homogenous angiotensin-converting enzyme of rabbit lung by synthetic venom peptides of *Bothrops jararaka*. Biochim. Biophys. Acta. 293:453
Hong SP, Kim MH, Oh EW, Han CK, Kim YH (1998) ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan oligosaccharides in SHR. Korean J. Food Sci. Technol. 30:1476-1479.
Jung HY, Song KB (2002) Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Ixeris dentata* Nakai. Food Sci. Biotechnol. 11:136-139.
Moon SH, Ha SC, Lee DS, Kim JG, Hong SD (1995) Identification and culture condition of an actinomycetes strain producing an angiotensin converting enzyme inhibitor. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23:439-445.
Noh H, Song KB (2001) Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenanthe javanica*. Agric. Chem. Biotechnol. 44:98-99.
Oh SJ, Kim SH, Kim SK, Baek YJ, Cho KH (1997) Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of the K-casein fragments hydrolyzated by chymosin, pepsin, and trypsin.

- Korean J. Food Sci. Technol. 29:1316-1318.
- Park DC, Park JH, Gu YS, Han JH, Byun DS, Kim EM, Kim YM, Kim SB** (2000) Effects of salted-fermented fish products and their alternatives on angiotensin converting enzyme inhibitory activity of Kimchi during fermentation. Food Science and Biotechnol. 32:920-927.
- Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Lee HJ, Moon TH** (1995) Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. Korean J. Food Sci. Technol. 27:230-234.
- Yu R, Park SA, Chung DK, Nam HS, Shin ZI** (1996) Effect of soybean hydrolysate on hypertension in spontaneously hypertensive rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25:1031-1036.