

## 우육 단백질에서 추출된 펩타이드가 자연발증 고혈압쥐의 혈압과 혈중 지질농도에 미치는 영향

장애라\* · 조윤제\* · 이종일\* · 신점호\* · 김일석\*\* · 이무하\*  
서울대학교\*, 진주산업대학교\*\*

### The Effect of Beef Peptide on Blood Pressure and Serum Lipid Concentration of Spontaneously Hypertensive Rat(SHR)

A, Jang\*, Y. J. Cho\*, J. I. Lee\*, J. H. Shin\*, I. S. Kim\*\* and M. Lee\*  
Seoul National University\*, Jinju National University\*\*

#### ABSTRACT

The purpose of this work was to examine the effect of peptide on blood pressure and serum lipid concentration of spontaneously hypertensive rat(SHR). This peptide was extracted from beef muscle hydrolysates and identified as hexapeptide, V-L-A-Q-Y-K. This peptide showed angiotensin converting enzyme(ACE) inhibition activity *in vitro* experimentation(IC<sub>50</sub>:138.34ug/ml). Diets containing 0.2g, 0.5g, and 1.0g of the peptide per kg body weight were fed to SHR every day for 8 weeks while the control group was fed on a diet and 1ml of drinking water instead of the peptide. Total cholesterol and LDL-cholesterol concentrations of the treatment groups were lower than those of the control diet feeding group. The significant suppression of systolic blood pressure was shown by increasing the concentration of peptide supplement, especially by 3 weeks of feeding, although it started fluctuating later. These results suggest that the peptide may beneficially affect blood pressure in spontaneously hypertensive rat by the 3-week administration.

(Key words : Peptide, Antihypertensive, SHR, Cholesterol)

#### I. 서 론

성인병의 하나인 고혈압증은 만성 심장질환과 연관이 있으며 고혈압의 90% 이상이 확실한 외적 원인이 없는 본태성 고혈압으로 알려져 있다. 안지오텐신-I 전환 효소(ACE)는 안지오텐신-I에서 고혈압성 펩타이드 호르몬인 안지오텐신-II를 생성하기 때문에 고혈압 질환에 중요한 역할을 한다(Kim 등, 2003). 따라서 안지오텐신-I 전환 효소 억제제는 혈압 상승원을 제거할 뿐만 아니라 혈관 확장제인 bradykinin을 증가시키고 특이적으로 신장혈관을 확장시켜 나트륨 배설을 촉진함으로써 혈압을 강하시키게 된다(Katayama 등, 2003; 오 등, 1997). 이러한 효과를 갖는 ACE 억제물은 최초로

*Bothropes jararaca*와 *Agikistrodon halysblomhoffi*와 같은 뱀의 독에서 발견이 되었는데 여기에는 많은 프롤린 잔기가 포함되어 있었다(Astawan 등, 1995). 이를 바탕으로 다수의 특정 ACE 억제제가 잠재적인 항고혈압제로 경구 투여할 목적으로 발달되어 왔고(Wyvratt와 Pachett, 1985) 그 중 하나로서 시판되고 있는 ACE 억제제인 captopril<sup>®</sup>은 65% 정도의 생리적 이용성을 나타내며 복용 1시간 이후에 혈액 내에서 최고의 농도를 보이지만 인공적으로 합성된 물질이다(오 등, 1997). 관상동맥 경화성 심장병을 비롯한 순환기계통 질환의 발생은 혈중 내 지질이나 콜레스테롤 농도가 주요인자로 작용하는 것으로 알려졌다(신 과 한, 2001) 특히, 혈중 콜레스테롤의 변화는 고혈압, 동맥경화,

Corresponding author : Mooha Lee, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, San 56-1, Sillim-dong Gwanak-gu Seoul, Korea 151-742, Tel : 02-880-4804

폐쇄성 황달, 네프로제, 혈액병, 내분비 질환 등의 경우에 상승하며 또한 심혈관계 질환의 원인이 되는 hyperlipidemia를 구성하는 주된 물질로 알려져 있다(고, 2000). 이들 콜레스테롤에는 크게 Low Density Lipoprotein(LDL) - 콜레스테롤, High Density Lipoprotein(HDL) - 콜레스테롤이 있는데, LDL - 콜레스테롤은 입자가 커서 동맥내부로 들어가면 외부로 빠져나오기 어려워 혈관내벽에 침착되기 때문에 동맥경화를 유발시키기도 하고 당뇨병 합병증의 원인이 되지만 HDL - 콜레스테롤은 입자가 작기 때문에 동맥벽을 통과해서 쉽게 외부로 빠져나갈 수 있다(정 등, 2000). 따라서 주로 LDL - 콜레스테롤 함량이 성인병의 발병 지표로서 사용되고 있다(최 등, 2001).

최근에 이러한 성인질환에 대한 생체 조절 기능을 갖는 펩타이드를 다양한 식품원료의 분해물로부터 분리하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있는데 특히 우유, 소의 혈액, 돼지고기, 소고기, 닭고기, 대두, 밀, 보리 옥수수 등과 같은 식품단백질에 존재하는 펩타이드는 *in vitro*에서 효소처리에 의해 생성된 것이 대부분이며 (Goldberg, 1994) 상대적으로 간단한 아미노산 결합으로 구성되지만 뛰어난 생체조절 기능을 갖는 것으로 알려졌다(Korhonen 등, 1998). 또한 이들 펩타이드는 항생제, 호르몬, 식품첨가물, 독소, 진통제 등의 역할도 하는 것으로 보고되고 있고(Bailey, 1990) 특히 이들에 의해 성장, 면역조절, 노화나 발암, 생체 장애현상의 억제, 돌연변이원성 물질의 생성억제나 불활성화 및 생체의 대사 조절기능들에 대한 많은 보고가 있어 왔다(Schanbacher 등, 1998; Schlimme and Meisel, 1995; Goldberg, 1994). 하지만, 생체조절 펩타이드가 자연발증 고혈압쥐의 혈압을 효과적으로 감소시켰다는 경우에 비해(Astawan 등, 1995) 일부의 경우에는 이런 펩타이드의 *in vitro* 상에 입증된 ACE 억제 효과가 SHR의 혈압저하에 영향을 미치지 않는다는 결과도 있어서 (Yamamoto 등, 1999) 논쟁이 되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 저급 쇠고기에서 분리한 헥사 펩타이드를 자연발증 고혈압 랫드 (SHR)에 경구 투여하여 펩타이드가 혈압과 혈

중 지질농도에 미치는 영향을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 처리물(펩타이드)과 실험동물의 준비

펩타이드는 우둔내 수용성 단백질을 Thermolysin과 Proteinase A의 1:1 혼합 효소로 37℃에서 4시간 분해하여 한외여과(molecular cut off: 10,000Da)한 후, 겔 투과 컬럼에(MW cut off: 3,000Da) 통과시켜 가장 ACE 억제 효과 (IC<sub>50</sub>:138.34ug/ml)가 있었던 분획을 HPLC를 이용하여 분리하여 분자량이 810Da이고 아미노산 서열이 VLAQYK인 펩타이드로서 확인하였다. 이 펩타이드는 동결 건조 후 UV에서 멸균한 뒤 농도에 맞추어 수돗물에 녹여 사용하였다.

자연발증 고혈압 랫트(SHR, 7주령)는 수컷을 Charles River Japan Inc.(Kanagawa, Japan)에서 구입하여 1주일동안 실험환경에 적응시키기 위해 시판사료(삼양사)로 사육하였다. 그 후 무작위로 군당 5마리씩 대조군, 0.2g/kg body weight 투여군, 0.5g/kg body weight 투여군, 1g/kg body weight 투여군으로 분류하였다. 스테인레스 존대를 이용하여 각각 펩타이드를 수돗물에 녹여 1ml씩 8주 동안 매일 오전 10시에 경구 투여하여 사육하였다. 사료와 음수는 자유 섭취케 하였으며 실험기간동안의 생리적 변화를 관찰하기 위해 7일마다 체중, 음수량, 사료섭취량을 측정하였다. 독립된 사육실에서 사육하였으며 온도는 22 ± 2℃, 습도는 65 ± 3%로 자동 조절하고 명암은 12시간 간격으로(18:00 ~ 06:00) 조절하였다.

### 2. 혈압 측정

자연발증 고혈압 랫트(SHR)의 꼬리 동맥의 수축기 혈압(SBP)을 tail-cuff법으로 Power Lab 800으로(AD Instruments Pty Ltd, Australia) 측정하였는데 SHR을 37 ~ 40℃로 보온이 되도록 약 5 ~ 10분간 가온한 후 보정기로 고정하여 수축기 혈압(SBP)을 측정하였다(Kim 등, 2003). 수축기 혈압은 랫트가 정지상태에 있을 때 6회 이상 측정하여 평균값을 도출하여 이용하였다.

혈압 측정은 정기적으로 7일 간격으로 오전 10:00 ~ 12:00시 사이에 실시하였다.

3. 혈청 내 지질성분 분석 및 주요 장기의 중량 측정

실험기간 종료 후 SHR을 diethyl ether로 마취시켜 희생시킨 후 개복하여 심장에서 혈액을 채취하였고 간, 엽통, 신장, 비장, 고환을 적출하여 0.9%의 생리식염수로 세정 후 물기를 제거한 후 중량을 측정하였다. 혈액은 채혈 후 3,000rpm, 4℃에서 10분 동안 원심 분리하여 혈청을 얻었고 총콜레스테롤, 중성지질, HDL-cholesterol의 농도는 산본 남천병원에서 Rudel 등(1973)의 방법에 의해 측정하였으며 LDL-콜레스테롤은 이 측정치로부터 Friedewald(1972) 공식을 이용하여 계산하였다.

4. 통계 분석

통계 분석은 SAS(1999 ~ 2000) 프로그램을 이용하여 분산 분석을 수행하였고, 평균간 유의성 검정은 Duncan의 Multiple range test로 처리간의 결과차이를 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중, 사료와 음수 섭취량

우둔단백질에서 추출한 헥사 펩타이드를 자연발증 고혈압 랫트(SHR)에 경구투여하여 혈압 저하 효과를 검증하기 위하여 대조구는 기본 사료에 일일 1ml의 상수도수를 경구투여 하였으며 처리구 A는 0.2g/kg B.W., B는 0.5g/kg B.W., C는 1.0g/kg B.W.의 헥사펩타이드를 랫트에 경구투여한 후 생리적 변화를 관찰하기 위해 매 1주일마다 총 섭취한 사료의 무게와 음수량을 측정하였다.

8주의 실험기간동안 사료의 섭취량의 변화는 대체로 대조구와 처리구 사이에 크게 나타나지 않았다. 그러나 8주차에 이르러서는 대조군보다 세 처리구 모두 사료의 섭취량이 22 ~ 24%로 감소하였으나(Table 1) 실험기간동안 랫트의 체중은 비교적 지속적으로 증가하였고(Table 3) 음수량도 대조군과 거의 차이가 없었던 것으로 나타났다(Table 2). 랫트의 사료 섭취량이 8주차에 갑자기 감소한 이유는 아직 확실하게 밝혀지지 않았다. 또한 펩타이드의 경구 투여에

Table 1. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> on the amount of feed intake of SHR(g)

	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	Week 7	Week 8
Control	167.9 ± 1.3 <sup>a</sup>	154.6 ± 5.1 <sup>a</sup>	143.3 ± 0.4 <sup>c</sup>	169.1 ± 1.8 <sup>a</sup>	150.7 ± 1.8 <sup>b</sup>	125.7 ± 1.3 <sup>a</sup>	176.3 ± 15.9 <sup>a</sup>	149.8 ± 11.5 <sup>a</sup>
A	163.1 ± 2.1 <sup>a</sup>	152.0 ± 0.6 <sup>a</sup>	145.3 ± 3.2 <sup>c</sup>	159.2 ± 3.4 <sup>b</sup>	150.9 ± 0.5 <sup>b</sup>	148.1 ± 13.8 <sup>a</sup>	172.7 ± 16.0 <sup>b</sup>	117.6 ± 8.0 <sup>b</sup>
B	161.4 ± 4.5 <sup>a</sup>	158.2 ± 7.3 <sup>a</sup>	161.9 ± 4.0 <sup>a</sup>	155.2 ± 5.2 <sup>b</sup>	158.1 ± 5.2 <sup>a</sup>	185.3 ± 29.7 <sup>b</sup>	152.5 ± 16.2 <sup>a</sup>	117.0 ± 6.5 <sup>b</sup>
C	161.3 ± 3.7 <sup>a</sup>	152.3 ± 2.1 <sup>a</sup>	153.1 ± 4.6 <sup>b</sup>	150.7 ± 6.4 <sup>b</sup>	152.1 ± 2.5 <sup>ab</sup>	167.6 ± 50.3 <sup>a</sup>	174.5 ± 45.8 <sup>a</sup>	114.5 ± 19.3 <sup>b</sup>

A : 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, B : 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, C : 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK.

Table 2. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> on the amount of drinking water intake of SHR(g)

	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	Week 7	Week 8
Control	889.0 ± 1.4 <sup>a</sup>	785.0 ± 21.2 <sup>a</sup>	1135.0 ± 7.1 <sup>a</sup>	750.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	410.0 ± 14.1 <sup>a</sup>	465.0 ± 49.4 <sup>a</sup>	750.0 ± 0.0 <sup>a</sup>	500.0 ± 42.4 <sup>b</sup>
A	513.3 ± 75.2 <sup>b</sup>	533.3 ± 22.5 <sup>b</sup>	983.3 ± 50.3 <sup>b</sup>	536.6 ± 11.5 <sup>b</sup>	376.6 ± 15.3 <sup>b</sup>	403.3 ± 5.8 <sup>b</sup>	548.3 ± 37.5 <sup>b</sup>	556.6 ± 37.9 <sup>ab</sup>
B	418.3 ± 16.1 <sup>c</sup>	380.0 ± 54.1 <sup>c</sup>	560.0 ± 20.0 <sup>d</sup>	306.7 ± 30.6 <sup>c</sup>	256.7 ± 5.8 <sup>d</sup>	383.3 ± 15.3 <sup>b</sup>	436.6 ± 23.1 <sup>c</sup>	596.7 ± 5.8 <sup>a</sup>
C	405.0 ± 5.0 <sup>c</sup>	446.6 ± 70.2 <sup>bc</sup>	676.7 ± 61.1 <sup>c</sup>	363.3 ± 70.2 <sup>c</sup>	306.6 ± 15.3 <sup>c</sup>	383.3 ± 5.8 <sup>b</sup>	573.3 ± 51.3 <sup>b</sup>	551.7 ± 12.6 <sup>ab</sup>

A : 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, B : 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, C : 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK.

Table 3. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> on the change of body weight gain of SHR(g)

	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	Week 7	Week 8
Control	266.5 ± 9.2 <sup>a</sup>	287.0 ± 8.5 <sup>b</sup>	300.0 ± 7.07 <sup>b</sup>	303.0 ± 1.4 <sup>b</sup>	317.0 ± 3.5 <sup>a</sup>	299.0 ± 1.4 <sup>b</sup>	296.5 ± 2.1 <sup>b</sup>	342.5 ± 10.6 <sup>b</sup>
A	278.0 ± 2.0 <sup>a</sup>	297.0 ± 2.6 <sup>a</sup>	307.0 ± 2.64 <sup>ab</sup>	319.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	324.3 ± 5.7 <sup>a</sup>	325.6 ± 4.9 <sup>a</sup>	331.0 ± 14.2 <sup>a</sup>	356.3 ± 7.1 <sup>ab</sup>
B	279.0 ± 6.1 <sup>a</sup>	298.0 ± 2.6 <sup>a</sup>	311.0 ± 6.08 <sup>a</sup>	318.6 ± 6.1 <sup>a</sup>	320.3 ± 16.7 <sup>a</sup>	329.6 ± 2.1 <sup>a</sup>	338.6 ± 5.5 <sup>a</sup>	362.3 ± 6.50 <sup>a</sup>
C	270.6 ± 8.5 <sup>a</sup>	287.6 ± 0.6 <sup>b</sup>	298.3 ± 1.5 <sup>b</sup>	306.3 ± 3.2 <sup>b</sup>	320.3 ± 5.7 <sup>a</sup>	324.3 ± 3.5 <sup>a</sup>	341.3 ± 14 <sup>a</sup>	355.6 ± 3.8 <sup>ab</sup>

A : 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, B : 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, C : 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK.

Table 4. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> supplementation on growth performance(gain/feed) of SHR

	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	Week 7	Week 8
Control	1.61 ± 0.06 <sup>b</sup>	1.88 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.98 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.90 ± 0.18 <sup>a</sup>	2.11 ± 0.00 <sup>ab</sup>	2.28 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.71 ± 0.12 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.29 <sup>b</sup>
A	1.70 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.95 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.11 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.00 ± 0.04 <sup>a</sup>	2.14 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.21 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.92 ± 0.22 <sup>a</sup>	3.03 ± 0.19 <sup>a</sup>
B	1.72 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.88 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.92 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.02 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.81 ± 0.30 <sup>a</sup>	2.23 ± 0.23 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.19 <sup>a</sup>
C	1.67 ± 0.04 <sup>ab</sup>	1.88 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.95 ± 0.06 <sup>a</sup>	2.03 ± 0.07 <sup>a</sup>	2.10 ± 0.06 <sup>ab</sup>	2.04 ± 0.54 <sup>a</sup>	2.08 ± 0.73 <sup>a</sup>	3.15 ± 0.45 <sup>a</sup>

A : 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, B : 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, C : 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK.

Table 5. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> on organ weight in Spontaneously Hypertensive Rats(g)

	Liver	Heart	Kidney***	Spleen**	Testis**
Control	13.62 ± 0.6	1.44 ± 0.1	1.47 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.58 ± 0.0 <sup>b</sup>	1.44 ± 0.1 <sup>b</sup>
A	14.23 ± 0.5	1.52 ± 0.0	1.36 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.65 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.0 <sup>ab</sup>
B	13.58 ± 0.5	1.47 ± 0.0	1.36 ± 0.0 <sup>c</sup>	0.65 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.0 <sup>ab</sup>
C	13.40 ± 0.3	1.53 ± 0.0	1.41 ± 0.0 <sup>b</sup>	0.68 ± 0.0 <sup>a</sup>	1.60 ± 0.1 <sup>a</sup>

A : 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, B : 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, C : 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR. \*\*\*: P < 0.001, \*\*: P < 0.05.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK.

따른 체중의 증가는 대조군과 비교하였을 때 거의 같은 수준을 보여 펩타이드의 투여로 인한 체중의 부가적인 증가는 없었던 것으로 판단된다(Table 4). 다만 투여 8주째에 모든 처리군에서 체중의 증가 경향을 보이긴 했으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 급여한 펩타이드의 생체내 독성 여부를 알아보기 위해 체내 중요 기관의 중량을 측정하여 대조군에 비해 간, 염동은 큰 변화가 없었으나 신장과 비장, 고환의 중량은 약간의 차이를 보였다(Table 5). 신장의 중량은 0.2g과 0.5g의 헥사펩타이드 처리군에서 대조군보다 감소하였으며(1.47g → 1.36g; p < 0.001), 비장은 대조군보다 오히려 중

량이 증가하였고(0.58g → 0.68g; P < 0.05), 고환도 대조군보다 처리에 따라 중량의 증가를 보였다(1.44g → 1.60g; p < 0.05). 이러한 내장기관 중량의 변화는 대조군보다 처리군들의 체중이 증가함에 따라 내장 기관의 중량도 같이 증가한 것으로 보이며 결국, 헥사펩타이드의 경구 투여가 랫트의 생체내 조건에 거의 무리가 없었음을 시사한다.

## 2. 실험동물의 혈압변화와 혈내 지질수준의 변화

헥사펩타이드를 섭취한 실험동물의 수축기

혈압의 변화는 Fig 1.에 나타내었다. 헥사펩타이드를 1.0g/kg B.W의 농도로 투여한 군이 3주가 되자 대조군의 혈압보다 -55.9mmHg으로 저하되어 가장 강한 혈압 저하율을 보였으나(p < 0.05) 그 이후로는 6주째에 0.2g/kg B.W를 투여한 구가 가장 높은 혈압 저하율을 보였다(p < 0.05). 이것은 펩타이드의 경우 투여후 3주까지는 투여량에 따른 저하율을 보임을 나타낸 것으로 이러한 결과는 유 등(1996)이 대두 가수분해물에서 분리한 펩타이드의 투여 3주 이후에 혈압 저하효과를 얻었던 것과 유사한 결과이었다. 하지만 나머지 7주와 8주 째에는 대조구와 처리구들 사이의 혈압의 통계적인 유의차는 보이지 않았다.

일반적으로 전형적인 항고혈압 약품은 혈압을 8 ~ 10% 정도로 감소시킨다는 사실(Martin 등, 2001)과 비교하였을 때 헥사펩타이드의 혈압저하 효과는(26% 감소) 상당한 것이라고 할 수 있다. 하지만 3주의 투여기간이 지나서는 혈압의 저하효과가 지속적이지 못한 이유에 대한 연구가 더 필요하다고 할 수 있다. Nakamura 등(1995)은 발효유에서 Proline을 포함한 펩타이드가 일반적으로 ACE 억제효과가 있다고 하였고 소화 효소에도 안정하다고 하였다. Yamamoto 등(1999)도 요구르트 제품에서 분리한 Typ-Pro

(IC<sub>50</sub> = 720μM) 펩타이드를 0.1mg/kg of B.W.의 농도로 급여하였을 때 SHR의 혈압을 10.5mmHg로 낮추었다고 보고 하였고, Nakamura 등(1995)은 *L. helveticus*와 *S. cerevisiae*를 포함하고 있는 스타터 컬처에 의해 발효된 요구르트에서 Ile-Pro-Pro(IC<sub>50</sub>=5μM)와 Val-Pro-Pro(IC<sub>50</sub>=9μM) 서열의 펩타이드가 혈압 저하효과를 갖는다고 하였다. 하지만 Typ-Pro 펩타이드는 Ile-Pro-Pro와 Val-Pro-Pro와 같은 혈압 저하효과를 보였다는 보고도 있다. Hata 등(1996)도 Val-Pro-Pro와 Ile-Pro-Pro 펩타이드가 효과가 있다고 하였는데 본 시험에 이용된 헥사펩타이드는 프롤린(Proline)으로 이루어지지 않았음에도 혈압의 감소를 보인 것으로 나타났다. 이러한 결과는 프롤린(proline)만이 반드시 혈압 저하효과를 나타내는 것이 아님을 확인하는 것으로 Kawasaki 등(2000)도 정어리 근육 가수분해물에서 얻은 Val-Tyr 펩타이드를 고혈압 환자에게 투여하고 1주일 이 지나자 9.7mmHg의 혈압 감소를 보였다고 하였다. 또한 Cheung 등(1980)도 C-terminal에 방향족 아미노산기(Trp, Tyr, Phe) 갖는 펩타이드가 ACE 억제 효과를 상승시킨다고도 하여 프롤린(proline)의 존재가 혈압 저하효과에 절대적인 것은 아님을 나타내었다.

헥사 펩타이드를 함량별로 급여한 후 실험종료 후의 혈청의 총 콜레스테롤 함량, HDL과 LDL 콜레스테롤과 중성지질의 농도를 Table 6에 나타내었다. 혈청내 총 콜레스테롤 함량은 0.2g, 0.5g, 1.0g의 헥사펩타이드의 모든 처리군에서 각각 대조군보다 25.4%, 23.5%, 23.7%로 더 낮은 농도를 보였다(P < 0.001). 혈중 콜레스테롤의 수준을 낮추는 메카니즘은 여러 가지가 있지만 대변으로의 스테로이드 분비를 촉진하며 담즙산과 효율적으로 결합하기 때문에 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 것으로 주로 알려져 있다(유 등, 1996; Iwami 등, 1986; Sugano 등, 1999). 대조구의 총 콜레스테롤 함량이 높은 것은 HDL 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤의 함량이 높았기 때문으로 생각된다. 성인병 발병의 원인인 중성지방의 함량도 헥사펩타이드의 처리량에 따라 유의적으로 감소하여 113.3 ± 1.5mg이었던 중성지방이, 0.5g/kg B.W.의

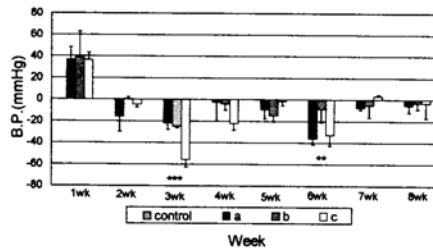


Fig. 1. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> on change of systolic blood pressure in Spontaneously Hypertensive Rats(SHR).

a: 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, b: 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, c: 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR. \*\*\*: P < 0.001, \*\*: p < 0.05.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK

B.P. : Blood Pressure.

Table 6. Effect of hexapeptide<sup>1)</sup> on total cholesterol, triglyceride, HDL and LDL cholesterol of serum in Spontaneously Hypertensive Rats(SHR) after 8 weeks (mg/dl)

	Total Cholesterol***	Triglyceride***	HDL-Cholesterol**	LDL-Cholesterol <sup>2)</sup> ***
Control	138.96 ± 1.0 <sup>a</sup>	113.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	55.0 ± 4.0 <sup>a</sup>	61.3 ± 1.7 <sup>a</sup>
A	103.6 ± 0.6 <sup>b</sup>	98.3 ± 1.5 <sup>c</sup>	43.6 ± 0.6 <sup>b</sup>	40.3 ± 0.6 <sup>b</sup>
B	106.22 ± 0.0 <sup>b</sup>	93.6 ± 2.5 <sup>d</sup>	46.6 ± 1.2 <sup>b</sup>	40.9 ± 0.6 <sup>b</sup>
C	106.06 ± 1.5 <sup>b</sup>	108.3 ± 1.5 <sup>b</sup>	48.0 ± 5.2 <sup>b</sup>	36.4 ± 1.4 <sup>c</sup>

A : 0.2g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, B : 0.5g of hexapeptide added per kg B.W of SHR, C : 1.0g of hexapeptide added per kg B.W of SHR. \*\*\*: P < 0.001, \*\*: P < 0.05.

Values are means ± SE of five rats per group.

<sup>1)</sup> hexapeptide : VLAQYK

<sup>2)</sup> LDL-cholesterol = [(total cholesterol - (HDL-cholesterol + triglyceride/5)].

헥사펩타이드 급여군에서는 93.6 ± 2.5mg의 수준으로 감소함을 보였다. 하지만 1.0g/kg B.W.의 헥사펩타이드의 급여군에서는 중성지질의 함량이 108.3 ± 1.5mg로 증가하였다. 반면, HDL 콜레스테롤 함량은 대조군보다 모든 처리군에서 감소하는 경향을 보였으나 처리군 사이에서는 유의차를 보이지 않았다(p < 0.05). LDL 콜레스테롤 함량은 대조군보다 헥사 펩타이드의 처리량에 따라 유의적으로(p < 0.001) 감소하여 대조군에서 61.3 ± 1.7mg이었던 것이 1.0g 펩타이드 처리군에서는 36.4 ± 1.4mg의 함량으로 큰폭으로 감소하였음을 나타내었다.

일반적으로 생체내에서 저밀도 지질 단백질(Low Density Lipoprotein, LDL)은 간에서 생합성된 콜레스테롤을 간 이외의 세포에 공급하는 역할을 하고 혈장내 LDL 콜레스테롤의 증가는 고지혈증과 깊은 관계가 있기 때문에 본 실험의 결과에서 나타난 바와 같이 LDL 콜레스테롤의 수준이 40.6%로 감소한 것은 ACE 억제 펩타이드가 LDL 콜레스테롤의 저해 효과도 있다는 것을 시사해 주고 있다.

#### IV. 요 약

본 연구는 우둔 단백질에서 분리한 헥사펩타이드, VLAQYK의 자연발증 고혈압쥐의 혈압, 중성 지질, 그리고 콜레스테롤에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시하였다. 헥사 펩타이드는 *in vitro*에서 138.34ug/ml의 IC<sub>50</sub> 값을 보였던 것으로 농축하여 체중 kg당 각각 0.2g, 0.5g,

1.0g의 농도가 되도록 스테인레스 존대를 이용하여 경구투여한 후 혈압의 변화와 지질 수준을 살펴보았다.

실험기간동안 사료의 섭취량의 변화는 대체로 대조군과 처리군 사이에 크게 나타나지 않았지만 8주차에 이르러서는 대조군보다 세 처리군 모두 사료의 섭취량이 22 ~ 24%로 감소하였다. 실험기간 동안 랫트의 체중의 변화는 비교적 지속적으로 증가하였지만 사료섭취에 대한 체중의 증가는 일정한 수준을 유지하여 경구 투여한 펩타이드에 대한 체중 증가는 없었다. 체내 중요 기관의 중량을 측정할 결과 대조군에 비해 간, 염통은 큰 변화가 없었으나 신장과 비장, 고환의 중량은 약간의 차이를 보였다. 신장의 중량은 0.2g과 0.5g의 헥사펩타이드 처리군에서 대조군보다 감소하였으며(p < 0.001), 비장은 대조군보다 오히려 중량이 증가하였고(p < 0.05), 고환도 대조군보다 처리에 따라 중량의 증가를 보였다(p < 0.05).

헥사펩타이드를 체중 kg당 1.0g의 농도로 투여한 군은 3주가 되자 대조군의 혈압보다 -55.9mmHg로 저하되어 가장 강한 혈압 저하율을 보였으나(p < 0.05) 그 이후로는 6주째에 체중 kg당 0.2g의 농도로 투여한 구가 가장 높은 혈압 저하율을 보였다(p < 0.05). 실험 종료 후의 혈액내 총 콜레스테롤 함량은 0.2g, 0.5g, 1.0g의 헥사펩타이드의 모든 처리군에서 각각 대조군보다 25.4%, 23.5%, 23.7% 수준으로 더 낮은 농도를 보였다(p < 0.001). 성인병 발병의 원인인 중성지질의 함량도 처리량에 따라 유의

적으로 감소하여  $113.3 \pm 1.5\text{mg}$  이었던 중성지방이,  $0.5\text{g/kg}$  B.W의 헥사펩타이드 급여군에서는  $93.6 \pm 2.5\text{mg}$ 의 수준으로 감소함을 보였다. 하지만  $1.0\text{g/kg}$  B.W의 헥사펩타이드의 급여군에서는 중성지방의 함량이  $108.3 \pm 1.5\text{mg}$ 으로 증가하였다. 반면, HDL 콜레스테롤 함량은 대조군보다 모든 처리군에서 감소하는 경향을 보였으나 처리군 사이에서는 유의차를 보이지 않았다( $p < 0.05$ ). LDL 콜레스테롤 함량은 대조군보다 처리량에 따라 유의적으로( $p < 0.001$ ) 감소하여 대조군에서  $61.3 \pm 1.7$  이었던 것이  $1.0\text{g}$  처리군에서는  $36.4 \pm 1.4\text{mg}$ 의 함량으로 큰폭으로 감소하였음을 나타내었다.

본 연구의 결과를 종합하면, *in vitro* 상에서 ACE 억제 효과가 있었던 헥사펩타이드는 *in vivo* 상에서 농도 의존적인 혈압저하 효과를 보이지 못했지만 실험 개시후 3주에 가장 높은 혈압저하 수준을 보였고, 성인병의 발병지표로서 사용되는 LDL 콜레스테롤의 함량을 40.6% 감소시켰다.

#### V. 사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발연구사업의 지원으로 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

#### VI. 인 용 문 헌

1. Astawan, M., Wahyuni, M., Yasuhara, T., Yamada, K., Tadokoro, T. and Mackawa, A. 1995. Effects of angiotensin I-converting enzyme inhibitory substances derived from Indonesian dried-salted fish on blood pressure of rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59(3):425-429.
2. Bailey, P. D. 1990. An introduction to Peptide Chemistry. John Wiley & Sons Ltd., Bafins Lane, England. p1.
3. Cheung, H. S., Wang, F. L., Ondetti, M. A., Sabo, E. F. and Cushman, D. W. 1980. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*, 255:401-407.
4. Friedwald, W. T., Levy, R. I. and Fredrickson, D. S. 1972. Estimation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentration without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18:499.
5. Goldberg, I. 1994. *Fuctional foods; Designner foods, pharmafoods, nutraceuticals.* Chapman & Hall, Inc. pp. 249-256.
6. Hata Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K., Nakamura, Y. and Takano, T. 1996. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 64:767-771.
7. Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F. 1986. Involvement of post-digestion hydrophobic peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agri. Biol. Chem.*, 50:1217.
8. Katayama, K., Fuchu, H., Sugiyama, M., Kawahara, S., Yamauchi, K., Kawamura, Y. and Muguruma, M. 2003. Peptic hydrolysates of porcine crude myosin has many active fractions inhibiting angiotensin I-converting enzyme. *Vol. 16, No. 9:1384-1389.*
9. Kawasaki, T., Seki, E., Osajima, K., Yoshida, M., Asada, K., Matsui T. and Osajima, Y. 2000. Anti-hypertensive effect of Valyl-Tyrosine, A short chain peptide derived from sardine muscle hydrolysates, on mild hypertensive subjects. *J. Human Hypertens.* 14:519-523.
10. Kim, H. S., Ham, J. S., Jeong, S. G., Yoo, Y. M., Chae, H. S., Ahn, C. N. and Lee J. M. 2003. Production of angiotensin-I converting enzyme inhibitory hydrolysates from egg albumen. *Asian-Aus. J. Anim. Sci.* Vol. 16, No. 9:1369-1373.
11. Korhonen, H., Pihlanto-Leppala, A., Rantamaki, P. and Tupasela, T. 1998. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends Food Sci. Technol.* 9:307-319.
12. Martin, D. S., Breitkopf, N. P., Eyster, K. M. and Williams, J. L. 2001. Dietary soy exerts an antihypertensive effect in spontaneously hypertensive female rats. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp Physiol.* 281:R553-R556.
13. Mattson F. H. and Grundy S. M. 1985. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lipid Res* 26: 194-202.
14. Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S. and Takano, T. 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *J. Dairy Sci.* 78: 777-783.
15. Rudel, L. L. and Morris, M. D. 1973. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J. Lipid.* 364-366.
16. SAS. 1999-2000. *User's Guide.* SAS Institute Inc. Cary. NC. USA.

17. Schaefer E. J., Levy R. I., Ernst N. D., Van Sant V. and Brewer H. H. 1981. The effects of low cholesterol, high polyunsaturated fat and low fat diets on serum lipids and lipoprotein cholesterol levels in normal and hypercholesterolemic subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 34:1758-1763.
  18. Schanbacher, F. L., Talhouk, R. S., Murray, F. A., Gherman, L. I. and Willett, L. B. 1998. Milk-borne bioactive peptides. *Int. Dairy. Journal* 8:393-403.
  19. Schlimme, E. and Meisel, H. 1995. Bioactive peptides derived from milk proteins. Structural, physiological and analytical aspects. *Die Nahrung* 39:1-20.
  20. Sugano, M., Goto, S., Yamada, Y., Yoshoda, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T. and Kimoto, M. 1999. Cholesterol lowering activity of various undigested fraction of soybean protein in rats. *J. Nutr.*, 120: 977.
  21. Wyvratt, M. J. and Pachett, A. A. 1985. Recent developments in the design of angiotensin converting enzyme inhibitors' in medical research *reveiws* 5:485-531.
  22. Ymamoto, N., Maeno, M. and Takano, T. 1999. Purification and characterization of an antihypertensive peptide from a yogurt-like product fermented by *Lactobacillus helveticus* CPN4. *J. Dairy Sci.* 82:1388-1393.
  23. 고진복. 2000. 발효홍차 음료가 흰쥐의 혈당과 간의 지질 대사에 미치는 영향. *한국 영양학회지* 33(5):497-501.
  24. 신미경, 한성희. 2001. 검정콩(*phaseolus vulgaris*) 추출물이 고지방 및 콜레스테롤 식이 투여 흰쥐의 혈청 지질 농도에 미치는 영향. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 33. No. 1. pp. 113-116.
  25. 오세종, 김세현, 김상교, 백영진, 조경현. 1997. κ-casein의 chymosin, pepsin 및 trypsin 가수분해물에 대한 안지오텐신 변환효소 저해 효과의 탐색. *Korean J. Food Sci. Technol.* Vol. 29, No. 6. pp. 1316-1318.
  26. 유리나, 박수아, 정대균, 남희섭, 신재익. 1996. 대두 가수분해물에서 분리한 UF-peptide가 *in vivo* 에서 자발성 고혈압 흰쥐의 혈압강하에 미치는 영향. *J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr.* 25(6): 1031-1036.
  27. 정후길, 김응률, 예현수, 최성진, 정진영, 진석락. 2000. 유산균 발효유의 콜레스테롤 저하기능. *식품산업과 영양* 5(2):29-35.
  28. 최진호, 박수현, 김대익, 김정민, 김창목, 김광포. 유용버섯 *Lentinus tuber-regium*이 비만 및 지질대사에 미치는 영향. *The Korean J. of Mycology.* Vol. 29, No. 1. p. 47-51.
- (접수일자 : 2003. 12. 4. / 채택일자 : 2004. 1. 27.)