

맹종죽 줄기 추출물을 투여한 본태성 고혈압 쥐(SHR)의 ACE 저해 활성 및 혈압 강하 효과

김정숙¹ · 김미정² · 박민희¹ · 류복미³ · 문갑순^{1*}

¹인제대학교 식품생명과학과, 바이오헬스소재연구센터(BPRC) 및 식품과학연구소

²인제대학교 BK21 식의약생명공학사업단

³인제대학교 식품과학연구소

Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Antihypertensive Effects of *Phyllostachys pubescens* Culm Extracts in Spontaneously Hypertensive Rats

Jung-Suk Kim¹, Mi-Jeong Kim², Min-Hee Park¹, Bog-Mi Ryu³, and Gap-Soon Moon^{1*}

¹School of Food and Life Science, and Biohealth Products Research Center and Food Science Institute,

²BK21 Smart Food and Drug Center, and

³Dept. of Food Science Institute, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

Abstract

This study investigated the anti-hypertensive effect of *Phyllostachys pubescens* culm extract (PCE) by examining its effects on renal angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition and blood pressure using the spontaneously hypertensive rat (SHR) system. Systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured weekly for 8 weeks. Also, total antioxidant capacity and protein oxidation of tissues were examined by plasma Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay (TEAC) and hepatic protein carbonyl values, respectively. Twenty male SHR were randomly divided into four groups: PCE50, PCE100, and PCE500 (50, 100, and 500 mg of PCE per kilogram bodyweight daily, respectively), and control group. At week 2, the SBP in all PCE groups appeared to be significantly lower than the control ($p < 0.05$), whereas the DBP were not different until week 4 ($p < 0.05$). At week 8, SBP in the PCE500 was lower by 20% than the control. PCE groups considerably suppressed ACE dose-dependently compared with the control. Plasma TEAC and hepatic protein carbonyl values indicated increased antioxidative activity due to the PCE feed. No adverse effect was observed on the liver of SHR as there was no difference for the GOT and GPT values among the groups. Results of this study suggest that ACE inhibition may be one possible mechanism for the blood pressure lowering effect of PCE; thus, long term consumption of PCE may be beneficial in preventing high blood pressure along with the increased antioxidative status.

Key words: *Phyllostachys pubescens* culm (PCE) extract, ACE inhibitory activity, antioxidant effect, blood pressure, hypertension

서 론

고혈압은 만성 순환기계 질환 중 발생빈도가 가장 높은 질환으로 비교적 증상이 없는 편이지만 뇌졸중, 심부전, 관상동맥질환 등 치명적인 합병증을 유발할 수 있기 때문에 보다 적극적인 환자 관리와 치료가 요구되는 질환이다. 세계보건기구(World Health Organization)의 World Health Statistic 2007에 따르면 2030년까지 예측되는 사망원인에서 허혈성 심장질환, 뇌혈관질환이 암 다음으로 높게 나타났을 뿐만 아니라(1), 한국 통계청(Korea National statistical Office)에서 제시한 2005년 기준 사망원인에서도 순환기계

통 질환이 두 번째 사망원인으로 나타나(2) 고혈압의 치료 및 예방이 전 세계적인 과제로 떠오르고 있다. 특히, 원인불명으로 알려져 있는 본태성 고혈압이 전체 고혈압의 80%에 해당하고 고혈압 치료에는 꾸준한 약물치료가 요구되기 때문에 의료비 부담뿐만 아니라 약물부작용을 줄이고자 항고혈압 효과가 있는 천연물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(3,4).

체내로 유입되는 산소 중 2~3%는 세포내의 전자운반 과정이나 에너지 대사과정 및 다양한 외부 자극에 의해서 활성 산소종(Reactive Oxygen Species; ROS)으로 전환되는데, superoxide radical($O_2^- \cdot$), hydroxyl radical($\cdot OH$) 그리고

*Corresponding author. E-mail: fdsnmoon@inje.ac.kr
Phone: 82-55-320-3234, Fax: 82-55-321-0691

비유리기 중인 hydrogen peroxide(H_2O_2) 등을 포함한다. 이러한 ROS는 세포막을 구성하는 지질을 산화시킬 뿐만 아니라 DNA를 손상시키며 돌연변이 생성에 영향을 주어 동맥경화, 암, 고혈압, 당뇨병 등 만성 퇴행성 질환들을 야기한다(5,6). 건강한 사람의 체내에 존재하는 항산화효소계는 superoxide anion 및 hydrogen peroxide를 인체에 무해한 물로 전환시킬 수 있는 반면, 과량의 산화생성물과 항산화 시스템의 부족은 고혈압과 내피의 기능장애를 초래하고 또한 이는 고혈압을 유지하는데 관여한다고 보고되었다(7). 따라서 ROS가 고혈압을 포함한 심혈관질환에 관여하는 중요한 인자라는 보고는 유리기에 의한 산화와 고혈압과의 밀접한 관련성을 나타낸다(8,9). 한편, 혈압 상승의 중요한 기전인 renin-angiotensin system(RAS)에 있어 중요한 효소인 angiotensin converting enzyme(ACE)은 angiotensin I (Ang I)을 angiotensin II (Ang II)로 전환하는 효소로서 전환된 Ang II가 Ang II-type 1(AT₁) receptor에 작용하여 혈관을 수축시키고 알도스테론의 분비를 증가시켜 혈압을 상승시킨다고 알려져 있다. 또한, Ang II는 NADH/NADPH 산화효소계를 활성화시킴으로써 활성산소종 및 질소종의 생성을 증가시켜 내피세포의 산화적 스트레스 유발, 저밀도 지단백질 등의 산화를 통한 혈관의 염증반응을 유도한다(10).

고혈압을 개선하기 위한 목적으로 enalapril, captopril, ramipril, risinopril 등의 ACE 저해제가 개발되어 상용되고 있으나 이러한 약제의 사용으로 인한 부작용으로 미각이상, 백혈구 감소, 혈관부종, 간기능 이상 및 마른기침 등이 보고되었다(11). 따라서 천연물질로부터 항고혈압효과를 가지는 물질 탐색에 대한 요구가 계속되었으며, 대두 및 참치의 단백질 가수분해물(12,13), 차의 카테킨류(14), 키토산(15), 배에서 추출한 펙틴(16), 새우의 단백질 가수분해물(17), 약(yak) 밀크 카제인(18) 등에서 분리된 ACE 저해제는 몇 가지 예라 하겠다.

대나무는 화본과에 속하는 식물로 세계적으로 40속 600여 종이 있으며 우리나라에는 4속 14종이 분포하고 있다. 예로부터 대나무는 껍질, 가지, 잎, 순, 죽여, 죽력 등이 중풍, 발한 및 고혈압 치료용으로 다양하게 활용되어 왔으며(19), 이러한 기능성은 대나무가 가지는 항산화능력과 관련이 있을 것으로 언급되었다(20). 최근 연구들에서는 대나무 추출물의 항산화 활성, 항돌연변이 효과 및 간독성 억제 효과, 항균 활성 등 생리적 활성이 다각적으로 조명되었다(21-24). 문헌에 보고된 대나무의 생리활성은 대나무의 잎을 이용한 연구가 대부분이며 대나무 줄기부분에 대한 생리활성 연구는 소수에 불과하다. 최근 연구들에서 대나무 줄기 추출물의 항산화활성이 보고되었으나(25,26) 고혈압 예방 및 개선을 위한 활용 가능성에 대한 연구는 거의 찾아볼 수 없으며 특히, 대나무 종류 중에서도 줄기 부분이 두꺼운 맹종죽은 연구가치가 더 높을 것으로 기대된다. 최근 Lee 등(27)의 연구에서 맹종죽 줄기 추출물이 *in vitro* ACE 저해활성 및 흰쥐의

대동맥 이완활성을 가진다고 보고하였으나 실질적인 혈압 저하 효과는 확인하지 못하였다.

본 연구에서는 사람의 본태성 고혈압 모델로 활용되는 spontaneously hypertension rat(SHR)을 이용하여 유전적으로 혈압이 상승하는 기간을 포함하는 생후 8주부터 15주까지 맹종죽 줄기 추출물에 의한 *in vivo* ACE 저해활성을 검토하였다. 아울러, 맹종죽 줄기 추출물 장기투여에 의한 혈압 저하효과, 간독성 여부, 단백질 산화 및 혈장의 총항산화능도 알아보았다.

재료 및 방법

대나무줄기 추출물 조제

실험에 사용한 대나무 줄기는 남부임업시험장 가좌시험림(경남 진주시)에서 맹종죽(*Phyllostachys pubescens*)을 분양받아 줄기를 세척한 후 건조 및 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다. 만들어진 추출용 시료는 70% 에탄올로 3회 반복 추출 및 감압여과한 후 대용량 감압 농축기(EYELA N11, CA1112AS, Japan)를 이용하여 water bath 55°C에서 용매를 증발시켜 시료를 농축한 후 동결건조기(바이오톤 Clean-Vac 24T, Korea)로 건조하여 실험용 시료로 제조하였다.

실험동물

본 연구에 사용한 실험동물은 본태성 고혈압 쥐(SHR)로 실험 개시일 기준으로 생후 6~7주령, 평균체중 200 g 가량의 수컷 20마리를 (주)효창 사이언스에서 공급받았으며, 1주간의 예비 사육기간을 거친 뒤 난괴법(randomized complete block design)으로 실험군당 5마리씩 배치하여 8주간 사육하였다. 사육실 온도는 25±1°C, 습도는 55±3%를 유지하였고 12시간 조명주기 하에서 음용수와 고형 쥐 사료를 자유로이 공급하였다. 일일 사료 섭취량은 이를 간격으로 섭취량을 조사하여 식이섭취량(g/day)을 산출하였으며 체중은 1주에 한 번 측정하여 체중증가량(g/day)으로 나타내어 식이섭취량에 대한 체중증가량을 식이효율(%)로 나타내었다. 군별 시료의 투여는 총 4군으로 대조군은 일반 음용수를 투여하였고 PCE50, PCE100 및 PCE500군에는 대나무 추출물 50, 100 및 500 mg/kg/day를 각각 음용수에 녹여 투여하였다. 대나무 추출물의 투여량은 실험이 시작되기 전, 하루에 섭취하는 음용수량을 확인하고 그 양에 맞게 추출물을 섞어 공급하였으며 모두 섭취하였음을 확인하였다. 또한 추출물을 섞은 음용수를 모두 섭취한 뒤에는 다음 추출물을 공급할 때까지 일반 음용수를 자유로이 섭취할 수 있도록 하였다.

SHR 장기 시료의 채취

실험종료 후 실험동물을 16시간 동안 절식시키고 이산화탄소로 사전 마취한 다음 에테르 마취하여 체혈하였다. EDTA를 첨가한 주사기를 사용하여 심장에서 얻은 혈액은 3,000×g에서 10분간 원심 분리하여 혈장을 분리하고 -80°C

에서 보관하면서 총항산화능 측정 실험에 사용하였다. 생리 식염수 관류로 심장, 신장, 비장, 폐와 간에서 혈액을 제거한 후 적출하고 여지로 남은 수분과 혈액을 제거하여 무게를 측정하였다. 신장과 간 시료는 호일에 봉하여 -80°C에서 보관하면서 ACE 저해활성 측정과 항산화효소 활성을 측정하는데 사용하였다. 나머지 시료는 실험하기 전까지 -80°C에서 보관하였다.

혈압 측정

혈압 측정의 오차범위를 줄이기 위해 SHR을 혈압측정기의 플라스틱 고정 장치에 매일 30분씩 적응시켰으며, 혈압 측정 시 충분한 혈관 확장을 위해 test chamber를 28~30°C 정도로 데워서 사용하였다. 혈압의 측정은 실험동물의 꼬리 동맥에서 IITC NIBP Sensors를 이용하여 간접적으로 혈압 수치를 데이터화하고 수축기, 이완기 혈압을 혈압측정기 (Indirect Blood Pressure Analyzer, 3R229 3 channel rat system, Life Science, USA)로 측정하였다.

ACE 저해활성 측정

ACE 저해활성은 Cushman과 Cheung(28)의 방법을 다소 수정한 것으로, 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine (Hip-His-Leu)과 ACE가 작용하여 생성된 hippuric acid의 흡광도 측정으로 이루어졌으며 반응액 중 존재하는 ACE inhibitor에 의해 상대적으로 줄어드는 hippuric acid의 생성 양으로 산출하였다. 방법을 간략히 요약하면, -80°C에서 보관하고 있던 신장시료 0.5 g과 0.3 mM NaCl을 포함하는 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)로 균질화하여 4°C에서 3,000×g으로 1분간 원심 분리한 후, 상층액을 4,400×g에서 10분간 원심 분리하여 상층을 제거하고 남은 잔여물에 같은 완충용액 2 mL을 첨가하여 분산시켰다. 4,400×g에서 다시 원심 분리하여 상층을 제거하고 남은 잔여물에 같은 완충용액에 0.5% triton X-100을 함유하는 용액으로 재분산시켜 1시간 방치한 후 1,000×g으로 원심분리하고 상층을 ACE 저해활성 측정용 시료로 사용하였다. ACE는 buffer 1 mL을 첨가하여 2 mU/sample이 되도록 20 µL를 첨가하고, sample을 40 µL를 첨가하였다. Sample blank는 1 N HCl을 먼저 첨가한 후, ACE를 첨가하였다. Control은 증류수를 첨가하였고, control blank는 1 N HCl을 먼저 첨가한 후 ACE를 첨가하였다. 37°C에서 5분간 pre-incubation 한 후, 0.3 M의 NaCl이 포함된 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.0)에 5 mM의 hippuryl-histidyl-leucine(HHL)을 첨가한 기질을 50 µL 첨가하여 37°C에서 30분간 incubation 시켰다. 반응정지를 위해 1 N HCl을 250 µL 첨가하고 각 튜브에 ethyl acetate 1.2 mL을 넣고 2분간 흔들어주었다. 4°C에서 1,000×g으로 5분간 원심 분리하여 상층액만 1 mL을 취해 100°C dry oven에서 1시간 30분정도 두고 증류수 1 mL을 넣어 잘 흔들어 20분간 방치한 후, 228 nm에서 측정하였다. ACE 저해율은 다음과 같이 구하였다.

$$ACE \text{ 저해율}(\%) = 1 - \left(\frac{S - SB}{C - CB} \right) \times 100$$

S: Sample optical density(O.D.)

SB: Sample blank O.D.

C: Control O.D.

CB: Control blank O.D.

총항산화능 측정(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity assay; TEAC)

맹종죽 줄기 추출물을 8주간 급여한 SHR의 혈장을 이용하여 Roberta 등의 방법(29)에 따라 TEAC를 측정하였다. ABTS(2,2'-AZINO-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))을 7 mM이 되게 증류수에 녹인 후 2.45 mM potassium persulfate이 첨가된 ABTS stock solution을 만들어 12~16시간 동안 상온, 암소에 두어 ABTS radical cation(ABTS^{•+})을 생성하도록 하였다. Standard로 사용하는 Trolox는 2.5 mM이 되게 에탄올에 녹여 농도별로 조제하였다. ABTS stock solution과 에탄올을 1:49의 비율로 섞어 735 nm에서 0.7±0.02이 되게 조제한 다음, phosphate buffer(pH 7.4)로 100배 희석한 혈장 10 µL과 Trolox standard에 ABTS^{•+}용액 1 mL을 첨가하여 735 nm에서 6분간 time scan하였다. ABTS stock solution은 흡광도 값이 일정하게 유지되지 않기 때문에 수시로 확인하여 0.7로 맞춰 실험하였다. 결과는 농도별로 조제한 Trolox와 비교하여 2.5 mM Trolox를 1로 보고 TE(Trolox Equivalent value)값으로 환산하여 나타내었다.

단백질 산화 측정

카보닐 그룹은 지질과산화 반응에서 생성된 알데히드류와 반응하여 단백질 내에 유도되는데 단백질에 결합한 알데히드 수는 dinitrophenyl hydrazine(DNPH)을 사용한 단백질 카보닐 그룹의 측정에 의해 측정할 수 있다. 조직의 산화 정도는 Oliver 등의 방법(30)에 따라 간 조직을 1.15% KCl(9 volumes)로 균질화하여 4°C에서 800×g으로 10분간 원심분리하고 상층액을 단백질 산화 측정에 사용하였다. 우선 단백질 정량으로 1 mg protein이 되게 한 후 시료를 blank와 test로 나누어 실험하였다. 20% TCA(w/v)를 동량 넣어 4°C에서 4,000×g으로 3분간 원심분리하고 그 침전물에 10% TCA를 1 mL 첨가하여 다시 원심분리한 후, 그 상층액을 제거하였다. Blank에는 2 N HCl을 1 mL 첨가하고 test에는 0.2% dinitro phenylhydrazine/2 N HCl을 1 mL 첨가하여 한 시간 동안 25°C에서 방치한 다음, 20% TCA 1 mL을 첨가하여 다시 한 번 원심분리하고 그 침전물을 에탄올과 에틸아세테이트(1:1)에 3회 정도 씻어낸 후, 6 M guanidine-HCl 용액 1.2 mL에 모두 녹여내어 370 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산은 370 nm에서 각 시료의 흡광도를 측정한 후 평균 분자흡광계수(22.0×10⁶ M⁻¹cm⁻¹)를 이용하여 시료의 카보닐 그룹의 몰수로 계산하였다.

$$\text{Protein carbonyl value (nmol/protein)} = \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{분자흡광계수} \times \text{반응혼합물의 단백질함량}}$$

GOT, GPT 활성 측정

맹종죽 줄기 추출물의 장기 급여에 의한 간독성 여부를 파악하기 위해 SHR의 혈장에 존재하는 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase(GPT) 함량을 효소법으로 측정하였다. 측정에는 Reitman-Frankel법으로 정량용 kit(아산제약)를 사용하였다.

통계처리

실험결과와 통계처리는 SPSS(12.0 version)를 이용하여 각각의 실험치를 평균±편차로 표시하였으며, 집단 간의 유의차를 알아보기 위해 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하였으며 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다(p<0.05).

결과 및 고찰

식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율

7~8주령의 SHR에 8주간 맹종죽 줄기추출물을 급여한 결과, 식이 섭취량, 체중 증가량, 최종 체중 및 식이효율은 대조군과 비교해서 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 1). 실험 종료 후 체중대비 간, 비장, 신장, 심장, 폐의 무게는 Table 2에 나타난 바와 같이 대조군과 유의적인 차이가 없었다. Do와 Choi(31) 및 Kim(32)의 실험에 의하면 군간의 혈압의 차이가 나타났지만 심장이나 신장같이 혈압과 관계있는 장기는 체중대비 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나 본 실험 결과와 유사하였다. 체중대비 심장과 신장의 비는 심장의 경우 대조군이 0.42±0.05%이고 PCE50, PCE100 및 PCE500이 각각 0.31±0.07%, 0.41±0.03%, 0.32±0.17%로 유의적인 차이를 나타내지 않았으며 신장에서도 대조군이 0.68±0.17%인데 비해, PCE50, PCE100 및 PCE500이 각각 0.77±0.03%, 0.70±0.14%, 0.75±0.10%을 나타내어 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 따라서 PCE의 장기투여가 체중 및 장기무게에 유의적인 영향을 주지 않았다는 것을 알 수 있었다.

Table 1. Average food intake, body weight gain, final body weight and food efficiency of spontaneously hypertensive rats fed 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms for 8 weeks

Group ¹⁾	Food intake (g/day)	Body weight gain (g/day)	Final body weight (g)	Food efficiency ²⁾ (%)
Control	19.33±1.29 ^{NS}	2.37±0.30 ^{NS}	318.6±28.5 ^{NS}	12.26±0.23 ^{NS}
PCE50	19.78±1.22	2.29±0.16	315.0±19.3	11.58±0.13
PCE100	19.20±1.17	2.42±0.37	325.3±20.6	12.34±0.45
PCE500	19.70±1.20	2.29±0.19	314.1±9.9	11.62±0.16

¹⁾Control: water not treated, PCE50: phyllostachys culm extract (PCE) 50 mg/kg body weight, PCE100: PCE 100 mg/kg B.W., PCE500: PCE 500 mg/kg B.W. were added daily in the drinking water.

²⁾Food efficiency are calculated as Food intake / Body weight gain × 100.

Data are expressed as mean±SD (n=5). NS: not significant.

수축기 혈압(SBP) 및 이완기 혈압(DBP)

SHR은 생후 7주부터 혈압이 상승하여 13주령이 되면 수축기 혈압이 200 mmHg 이상을 유지하는 백서로 혈압 증가 원인이 불분명하여 사람의 본태성 고혈압의 기전 연구에 많이 활용되어왔다(33). 이런 특성을 이용하여 생후 7~8주령(baseline)된 SHR에 8주 동안 맹종죽 줄기추출물(PCE)을 농도별로 투여한 결과, 수축기 혈압의 경우 대조군에서는 꾸준한 혈압 상승을 보였으나 실험군에서는 혈압 상승 억제 효과를 나타내었다(Fig. 1). 실험 개시 후 3주째까지는 SHR의 혈압이 전반적으로 높게 유지되는 경향을 보였으나 대조군에 비해서 PCE군들이 유의적으로 낮은 SBP를 나타내었다. 실험 4주째에 접어들면서 모든 군에서 SBP가 감소되었는데 이는 실험동물이 혈압측정과 같은 스트레스 환경에 보다 안정되게 적응하기 시작한 증거라 사료된다. 4주째부터 실험 종료시까지 대조군의 혈압이 꾸준히 상승하여 SBP가 190 mmHg를 초과하였으며 이는 SHR의 자연적 혈압 상승의 특성을 잘 반영해준다고 하겠다. 대조적으로, PCE군들에서는 주목할 만큼 낮은 SBP를 나타내었고 이러한 혈압상승 억제 효과는 PCE의 농도에 비례하여 고농도의 맹종죽 줄기추출물일수록 더욱 강한 혈압저하 효과를 보였다. 실험 종료 시점인 8주째에는 대조군의 SBP에 비해 PCE50, PCE100 및 PCE500에서 각각 9.58%, 12.16% 및 16.64%의 혈압저하가 관찰되었다. 한편, 이완기 혈압의 경우 PCE 투여 개시 후 3주째까지는 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 나타내

Table 2. The weight ratio of organ in spontaneously hypertensive rats fed 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms for 8 weeks

Group ¹⁾	Weight ratio ²⁾ (%)				
	Liver	Kidney	Heart	Spleen	Lung
Control	3.74±0.17 ^{NS}	0.68±0.17 ^{NS}	0.42±0.05 ^{NS}	0.17±0.04 ^{NS}	0.53±0.04 ^{NS}
PCE50	3.57±0.16	0.77±0.03	0.31±0.07	0.16±0.03	0.52±0.19
PCE100	3.52±0.17	0.70±0.14	0.41±0.03	0.17±0.04	0.44±0.18
PCE500	3.67±0.17	0.75±0.10	0.32±0.17	0.13±0.03	0.40±0.15

¹⁾Groups are the same as in Table 1. ²⁾Weight ratio are calculated as organ weight/ body weight × 100 (%).

Data are expressed as mean±SD. NS: not significant.

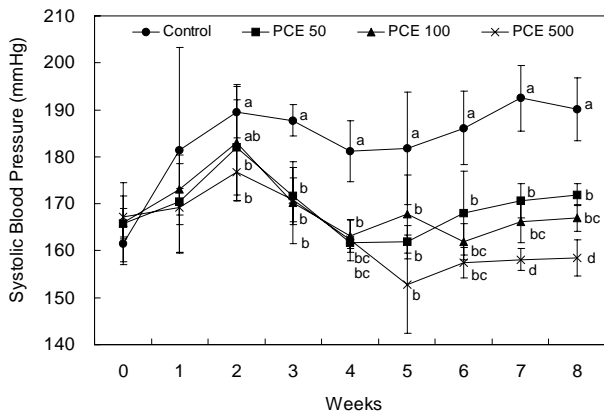


Fig. 1. Changes of systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats fed 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms for 8 weeks.

Groups are the same as in Table 1. Data are expressed as mean \pm SD. ^{a-d}Different superscripts in the figure indicate significant difference at the $p < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

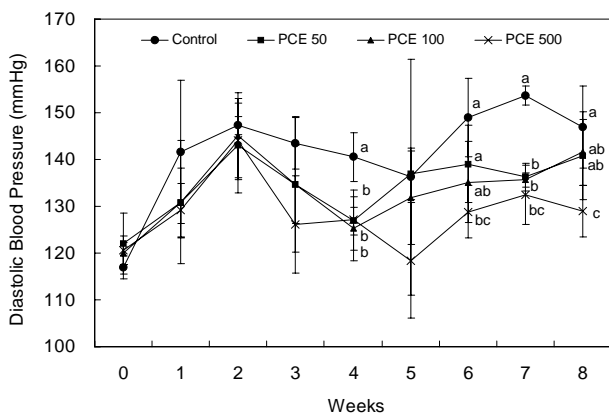


Fig. 2. Changes of diastolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats fed 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms for 8 weeks.

Groups are the same as in Table 1. Data are expressed as mean \pm SD. ^{a-c}Different superscripts in the figure indicate significant difference at the $p < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

지 않았으나 4주째부터 유의차가 나타나기 시작하여 8주째 까지 유의적인 차이를 유지하였다(Fig. 2). 실험이 종료된 시점의 이완기혈압은 대조군, PCE50, PCE100 및 PCE500에서 각각 147.0 mmHg, 140.9 mmHg, 141.5 mmHg 및 129.0 mmHg로 나타나 PCE는 SBP에 비해 DBP에 미치는 효과가 다소 낮은 것으로 드러났다. 최근 Lee 등(27)의 연구에 의하면, 맹종죽 줄기추출물에 의해 동맥혈관의 확장효과는 관찰하였으나 수축기 및 이완기 혈압은 대조군과 차이를 나타내지 못하였다. 본 실험에서는 유의적인 혈압저하 효과가 관찰되었는데 이는 두 실험 간의 디자인에서 드러나는 몇 가지 차이점에 기인하는 것으로 추측된다. 즉, Lee 등은 SHR 대신에 Sprague Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 사용된 맹종죽 줄기 추출물의 농도가 본 연구에 사용된 PCE농도의 60~100배에 해당되는 고농도였다. 한편, Kim(32)은 겨우살이

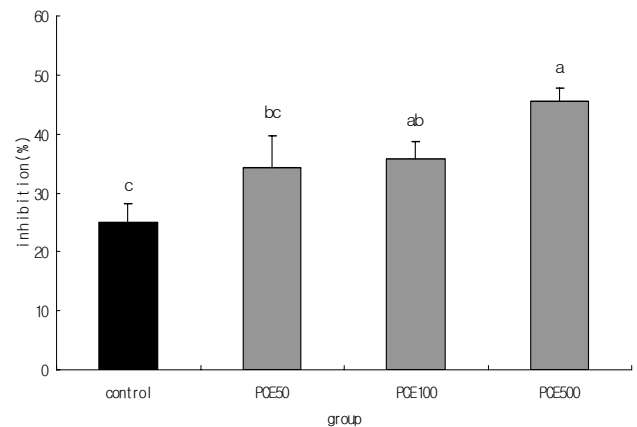


Fig. 3. Angiotensin converting enzyme inhibitory effect of kidney of spontaneously hypertensive rats fed 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms for 8 weeks.

Groups are the same as in Table 1. Data are expressed as mean \pm SD. ^{a-c}Different superscripts in the figure indicate significant difference at the $p < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

열수추출물을 음용수에 섞어서 SHR에 4주간 먹인 결과 혈청 지질성분의 개선 및 혈압저하 효과를 관찰하였다. 따라서 혈압저하 효과의 확인이 관건이 되는 실험에서는 실험동물의 선택이 매우 중요하다고 보이며 저농도의 PCE로도 유의적인 혈압저하 효과가 관찰되었으므로 지나치게 고농도의 추출물 사용은 그다지 바람직하지 않을 것으로 보인다.

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성

ACE는 renin-angiotensin-aldosterone 시스템의 중요한 물질로서 angiotensin I을 강력한 혈관수축제인 angiotensin II로 전환시키는 효소로서 폐에 가장 많이 존재한다고 알려져 있으며, 신장에서의 분포도 타 기관에 비해서 높은 편이다. 8주간의 PCE 투여 후 신장조직에서 ACE 저해활성을 측정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 대조군은 25.04%로 저해율이 가장 낮았으며, PCE50, PCE100, PCE500은 34.30%, 35.72%, 45.46%로 농도 의존적인 ACE 저해활성을 나타내었다. 특히 PCE100 및 PCE500에서는 대조군에 비해 ACE 저해활성이 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 최근 Lee 등(27)은 맹종죽 줄기 추출물이 ACE 저해제로 상용되는 약제인 enalapril에 견줄만한 ACE 저해활성을 가진다는 것을 확인하였으나 생체 내에서 같은 효과를 낼 수 있는지의 여부는 아직 보고된 바가 없었다. 따라서 본 연구의 결과는 대나무 종류 중에서도 두꺼운 줄기부를 형성하는 맹종죽의 줄기 추출물이 가지는 강력한 *in vivo* ACE 저해활성을 확인하였다는 점에서 그 의의가 있다고 사료된다.

TEAC(Trolox equivalent antioxidant capacity)

PCE를 투여한 SHR의 총 항산화능에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈장의 TEAC를 측정된 결과 Fig. 4에서 보이는 바와 같이 PCE500에서 85.17%로 제일 높은 항산화능을 나타내었고, PCE100(74.86%), PCE50(70.26%) 및 대조군

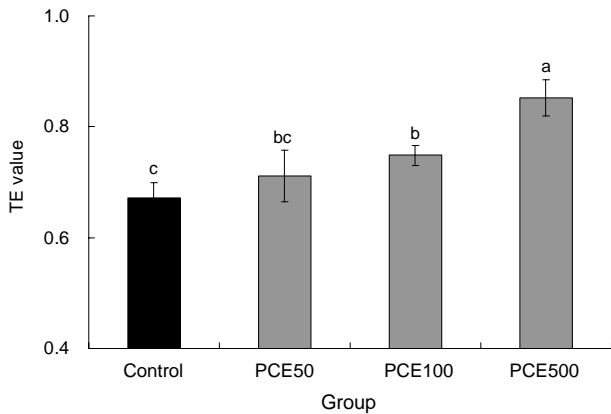


Fig. 4. Plasma total antioxidant activity in spontaneously hypertensive rats fed 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms for 8 weeks.

Groups are the same as in Table 1. Data are expressed as mean \pm SD. ^{a,c}Different superscripts in the figure indicate significant difference at the $p < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

(67.14%) 순으로 항산화 효과를 나타내었다. 특히, TEAC 결과는 PCE의 농도가 높을수록 강력한 항산화력을 가진다는 것을 입증하였다. 문헌에 드러난 대나무 잎의 생리활성 연구는 다수에 이르며 항염증성, 항돌연변이성, 간독성저해 및 항산화성들은 그 예라고 할 수 있다(22,26,34). 대나무 줄기의 생리활성 연구는 대부분 항산화활성을 보고한 것에 제한되어 있다(26). Jun 등(26)은 맹종죽 및 왕대 줄기 및 잎의 DPPH 라디칼 소거능을 비교하였는데 맹종죽 줄기(41.41%)가 왕대 잎(34.76%), 왕대 줄기(29.44%), 맹종죽 잎(17.52%)에 비해 라디칼 소거능이 높게 나타났다. 따라서 본 실험에서 나타난 PCE의 안정한 ABTS 라디칼 소거능은 예상된 결과였으며 맹종죽 줄기의 항산화활성 증진의 맥락에서 이해될 수 있다고 사료된다.

단백질 산화

단백질 카보닐가 측정은 간편하고 정확하게 단백질 산화

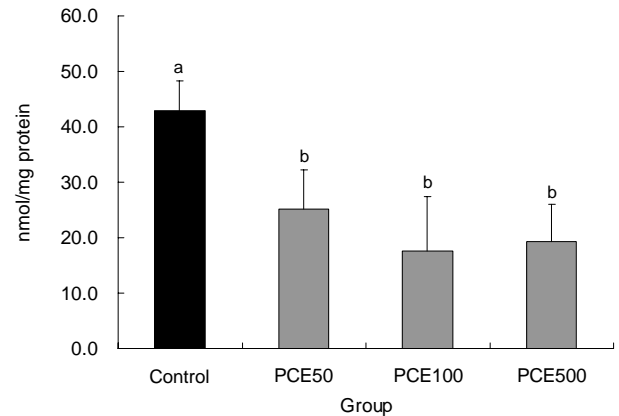


Fig. 5. Effect of 70% ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* culms on the liver protein carbonyl value in spontaneously hypertensive rats after 8 weeks of feeding.

Groups are the same as in Table 1. Data are expressed as mean \pm SD. ^{a,b}Different superscripts in the figure indicate significant difference at the $p < 0.05$ level by Duncan's multiple range test.

를 측정할 수 있는 방법으로 카보닐 그룹은 다양한 산화과정으로 단백질에 결합할 수 있는데 금속 촉매에 의한 산화, 카보닐을 포함하는 산화된 지질 등이 포함된다(35). 단백질 산화 정도를 알아보기 위해 간에서 그 함량을 측정된 결과 Fig. 5와 같이 대조군은 42.99 nmol/mg protein이었으며, PCE50, PCE100, PCE500은 각각 25.09, 17.61, 19.34 nmol/mg protein으로 나타났다. 즉, 대조군의 단백질 산화도가 가장 심하였고 PCE군들에서는 단백질 산화가 유의적으로 억제되었으며 PCE 고농도군(PCE100 및 PCE500)에서 저농도군(PCE50)에 비해 단백질 산화가 더욱 억제되었다. Lee 등(27)의 실험에서 나타난 맹종죽 줄기 추출물의 단백질 카보닐가에 비해 본 실험의 측정값이 높게 나타났는데 이는 Estevez와 Cava(36)가 보고한 바와 같이, 시료의 장기보관에 따라 단백질 카보닐 값이 유의적으로 증가하였다는 보고와 같은 결과라고 추측된다.

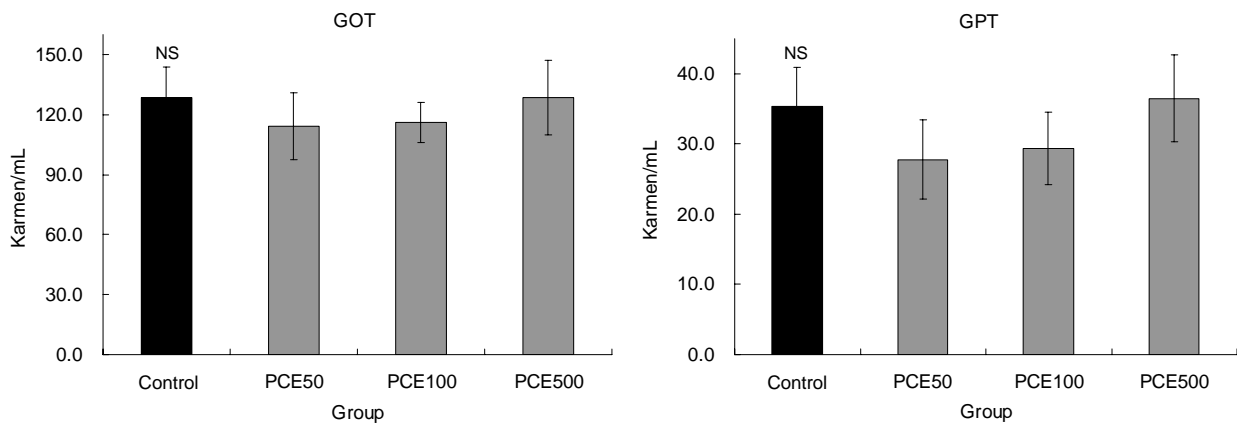


Fig. 6. Effect of PCE on the plasma GOT and GPT activities in spontaneously hypertension rats. Groups are the same as in Table 1. Data are expressed as mean \pm SD. NS: not significant.

GOT 및 GPT 활성

GOT 및 GPT는 세포가 손상되었을 때 유리되어 혈중으로 분비된다고 알려져 있어, 혈장에 존재하는 이들 효소의 양은 조직세포 특히, 간 손상의 척도로 빈번하게 사용되어 왔다(37,38). Fukuda 등(39)에 의하면 SHR 및 Wistar Kyoto rats에 있어 생후 16주령인 SHR의 경우 GOT 및 GPT 평균 값은 60.8 IU/L 및 30.1 IU/L로 생육기간이 경과함에 따라 GOT와 GPT 값이 상승한다고 하였으며 이는 본 실험의 대조군에서 얻은 GOT 60.98 IU/L 및 GPT 16.88 IU/L와 유사하였다. Fig. 6에는 맹종죽 줄기 추출물을 SHR에 8주간 섭취케 한 후 간 독성에 미치는 영향을 나타내었다. GOT 활성의 경우 대조군에서 128.6 ± 14.9 Karmen/mL plasma으로 나타났으며 PCE50, PCE100 및 PCE500은 114.1 ± 16.8 , 116.2 ± 10.1 , 128.4 ± 18.7 Karmen/mL plasma로 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타냈으나, 대조군과 비교하였을 때 유의적인 차이는 없는 것으로 나타났다. 마찬가지로 GPT 활성도 대조군의 35.6 ± 5.9 Karmen/mL plasma에 비해 PCE50, PCE100 및 PCE500은 27.8 ± 5.6 , 29.4 ± 5.2 , 36.5 ± 6.2 Karmen/mL plasma로 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과는 카제인 가수분해물의 혈압강하효과를 보고한 Kim 등(40)의 연구와 유사한 결과를 보였다. 따라서 맹종죽 줄기 추출물의 장기섭취로 인한 간 독성 유발 문제는 그다지 높지 않을 것으로 사료된다.

요 약

사람의 본태성 고혈압 연구 모델인 SHR에 PCE 에탄올 추출물을 농도별로 음용수로 섞어서 8주간 공급한 결과, SBP 및 DBP 모두 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 특히, PCE에 의한 SBP 저하효과는 2주째부터 현저하였으며 PCE 농도에 의존적이었고 DBP는 4주째에 유의적인 차이가 나타나기 시작하여 이후의 실험시간 동안 낮게 유지되었다. 신장 조직에서 측정된 ACE 저해활성은 고농도의 PCE군들(PCE100 및 PCE500)에서 대조군보다 유의적으로 높게 나타났다. 혈장의 총항산화능은 PCE500에서 매우 높았으며 모든 PCE군들이 대조군에 비해 유의적으로 높았다. 조직의 단백질 산화는 PCE 투여에 의해 절반 정도로 억제되며 간 손상의 지표로 사용한 GOT 및 GPT는 PCE 투여군과 대조군 사이에 차이가 나타나지 않았다. 이상의 실험결과로 미루어볼 때, 줄기부의 활용도가 높은 맹종죽 줄기 추출물은 본태성 고혈압 예방의 목적으로 상용할 수 있는 천연식품 자원으로서의 가치가 높을 것으로 짐작되며, ACE 활성저해는 조직 산화의 억제 및 총항산화력의 증가와 더불어 PCE에 의한 혈압 저하의 기전으로 설명될 수 있을 것으로 사료된다. 끝으로, 선행 연구 및 본 연구에서 드러난 맹종죽 줄기 추출물의 *in vitro* 및 *in vivo* ACE 저해활성으로 볼 때, 맹종죽 줄기에서 ACE 활성저해의 원인 물질을 분리

동정해 내는 것이 향후 연구의 귀결점이 되어야할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 인제대학교 바이오헬스소재연구센터(BPRC)의 지원을 받아 수행된 연구이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. World Health Organization(WHO). 2007. World Health Statistic 2007. 12.
2. 통계청. 2005. 사망원인/성/연령별 사망자수, 사망률.
3. Do SG, Choi PW, Suh JG, Kim CS, Shin HK, Won MH, Lee MH, Oh YS. 1999. Effect of garlic on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Korean J Lab Anim Sci* 15: 275-282.
4. Ha YT, Kim DH. 2005. The prevention effect of Gamibangpungtongsungsan (KBTS) on hypertension. *Thesis Collection of Institute of Oriental Medicine, Daejeon University* 14: 55-70.
5. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological function and human disease. *IJBCB* 39: 44-84.
6. Rodríguez-Vilarrupla A, Bosch J, García-Pagán JC. 2007. Potential role of antioxidants in the treatment of portal hypertension. *J Hepatology* 46: 193-197.
7. Houston MC. 2005. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. *Prog Cardiovasc Dis* 47: 396-449.
8. Saez GT, Tormos C, Giner V, Chaves J, Lozano JV, Ira A, Redon J. 2004. Factors related to the impact of antioxidant activities and oxidative stress by-product in human hypertension. *Am J Hypertension* 17: 809-816.
9. Chan SH, Tai MH, Li CY, Chan JY. 2006. Reduction in molecular synthesis or enzyme activity of superoxide dismutases and catalase contributes to oxidative stress and neurogenic hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Free Radic Biol Med* 40: 2028-2039.
10. McFarlane SI, Kumar A, Sowers JR. 2003. Mechanisms by which angiotensin-converting enzyme inhibitors prevent diabetes and cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 91: 30H-37H.
11. Doyle AE. 1984. *Hanbook of hypertension: Clinical pharmacology of antihypertensive drugs*. Elsevier, Amsterdam. Vol 5, p 198-199, 262-263, 298-300.
12. Kinoshita E, Yamakoshi J, KiKachi M. 1991. Purified and identification of angiotensin converting enzyme inhibitor from soy sauce. *Biosci Biotech Biochem* 55: 1313-1318.
13. Kohama Y, Matsumoto S, Oka H, Teramoto T, Okabe M, Mimura T. 1988. Isolation of angiotensin converting enzyme inhibitor from tuna muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 155: 332-336.
14. Hara Y, Matsuzaki T, Suzuki T. 1987. Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi* 61: 803-808.
15. Hong SP, Kim MH, Oh SW, Han CK, Kim YH. 1998. ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan oligosaccharide in SHR. *Kor J Food Sci Technol* 30: 1476-1479.
16. Na CS, Yun DH, Choi DH, Jeong JG, Eun JB, Kim JS. 2003. The effect of pear pectin & phenolic compounds on regional

- cerebral blood flow, mean arterial blood pressure, heart rate and cardiac contractile force in hypertensive rat induced by 2K1C. *Kor J Herbology* 18: 101-108.
17. Hai-Lun H, Xiu-Lan C, Cai-Yun S, Yu-Zhong Z, Bai-Cheng Z. 2006. Analysis of novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from protease-hydrolyzed marine shrimp *Acetes chinensis*. *J Pept Sci* 12: 726-733.
 18. Jiang J, Chen S, Ren F, Luo Z, Zeng SS. 2007. Yak milk casein as a functional ingredient: preparation and identification of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides. *J Dairy Res* 74: 18-25.
 19. Kim EY. 2004. Antiatherosclerotic effect of rice coated bamboo extracts. *MS Thesis*. Inje University, Gimhae. p 2.
 20. Lee MJ, Moon GS. 2003. Antioxidative effect of Korea bamboo trees, Wang-dae, Som-dae, Maengjong-juk, Jolit-dae and O-juk. *Kor J Food Sci Technol* 35: 1226-1232.
 21. Ju IO, Jung GT, Ryu J, Choi JS, Choi YG. 2005. Chemical components and physiological activities of bamboo (*Phyllostachys bambusoides* Starf) extracts prepared with different methods. *Kor J Food Sci Technol* 37: 542-548.
 22. Lee MJ, Kim EY, Jung KO, Park KY, Moon GS. 2004. anti-mutagenic effects of Korean bamboo trees and inhibitory effect of hepatic toxicity of bamboo extracts coated rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1279-1285.
 23. Sin MK, Han SH. 2002. Effects of methanol extracts from bamboo (*Pseudosasa japonica* Makino) leaves extracts on lipid metabolism in rats fed high fat and high cholesterol diet. *Kor J Food Culture* 17: 30-36.
 24. Baek JW, Chung SH, Moon GS. 2002. Antimicrobial activities of ethanol extracts from Korean bamboo culms and Leaves. *Kor J Food Sci Technol* 34: 1073-1078.
 25. Suga A, Takaishi Y, Goto S, Munakata T, Yamauchi I, Kogure K. 2003. Two lignan dimer from bamboo stem (*Phyllostachys edulis*). *Phytochemistry* 64: 991-996.
 26. Jun M, Tohru U, Jianzhang L, Takeshi F. 2004. Identification and evaluation of antioxidant activity of bamboo extract. *Forestry Studies in China* 6: 1-5.
 27. Lee HS, Park MH, Kim JS, Lim BO, Moon GS, Shin HM. 2007. Anti-hypertensive effect of ethanol extract of *Phyllostachys pubescens* via antioxidant activity. *Kor J Physiology & Pathology* 21: 658-665.
 28. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol Metab* 8: 181-186.
 29. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 26: 1231-1237.
 30. Oliver CN, Ahn BW, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. 1987. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem* 262: 5483-5492.
 31. Do SG, Choi PW. 1999. Effects of garlic on the blood pressure of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Kor J Lab Anim Sci* 15: 275-282.
 32. Kim HS. 2006. Effects of Korean misletoe hot-water extract on the lipid components and blood pressure level in spontaneously hypertensive rats. *Kor J Pharmacogn* 37: 169-176.
 33. Park IS, Kang CW, Kim SH, Cho KW. 1993. Effect of adenosine analogues on the plasma renin concentration in spontaneously hypertensive rats. *J Kor Soc Endocrinol* 8: 42-50.
 34. Lu B, Wu X, Tie X, Zhang Y, Zhang Y. 2005. Toxicology and safety of anti-oxidant of bamboo leaves. Part 1: Acute and subchronic toxicity studies on studies on anti-oxidant of bamboo leaves. *Food Chem Toxicol* 43: 783-792.
 35. Requena JR, Levine RL, Stadtman ER. 2003. Recent advances in the analysis of oxidized proteins. *Amino Acids* 25: 221-226.
 36. Estevez M, Cava R. 2004. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pate. *Meat Sci* 68: 551-558.
 37. Chung SW, Choi MA, Park JS, Kim KS, Chung DK, Nam HS, Shin ZI, Yu RN. 1999. Effect of dietary soybean hydrolysate lipid profiles, select biochemical indexes, and histopathological changes. *Kor J Food Sci Technol* 31: 1101-1108.
 38. Daher CF, Baroody KG, Baroody GM. 2006. Effect of *Utrica dioica* extract intake upon blood lipid profile in the rats. *Fitoterapia* 77: 183-188.
 39. Fukuda S, Tsuchikura S, Iida H. 2004. Age-related changes in blood pressure, hematological values, concentrations of serum biochemical constituents and weights of organs in the SHR/Izm, SHRSP/Izm and WKY/Izm. *Exp Anim* 53: 67-72.
 40. Kim HS, In YM, Jeon SG, Ham JS. 2002. Antihypertensive effect of casein hydrolysate in spontaneously hypertension rats. *Kor J Anim Sci & Technol* 44: 483-490.

(2007년 10월 22일 접수; 2007년 12월 18일 채택)