안지오텐신 전환효소활성 저해에 의해 항고혈압 효과를 갖는 신품종 감자 구이밸리 추출물

김관현 · 김선희 · 이은옥 · 권현정 · 최종원[1] · 임학태[2] · 김성훈*

경희대학교 암예방소재개발연구센터, 1 : 경성대학교 약학대학, 2 : (주) 포테이토밸리 & 강원대학교 생명공학부

Anti-hypertensive Activity of New Potato(*Solanum tuberosum*) Variety of Gui Valley Via Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme

Kwan Hyun Kim, Sun Hee Kim, Eun Ok Lee, Hyun Jung Kwon, Jong Won Choi[1], Hak Tae Lim[2], Sung Hoon Kim*

Cancer Preventive Material Development Research Center, Kyunghee University, 1 : College of Pharmacy, Kyungsung University, 2 : Potato valley Co., Ltd & Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-Do

This study was attempted to investigate the anti-hypertensive activity of *Solanum tuberosum*, cv. Gui valley. Ethanol extract of Gui vally (EGV) increased free radical scarvenge activity up to 91.6% of control at 200 ㎍/㎖. It's anti-oxidant activity is similar to 10 uM of ascorbic acid, well known as antioxidant. EGV inhibited Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) activity *in vitro*. ACE plays a important role in regulation of blood pressure and ACE inhibitors are important for the treatment of hypertension. Anti-hypertensive activity of EGV *in vivo* was assessed in lead acetate (LAT)-induced hypertensive rats for 8 weeks. Elevated blood pressure in control group was significantly decreased by EGV at 200 mg/kg. Also, ACE activity in blood was also suppressed by EGV treatment. Taken together, these results suggest that EGV has an anti-hypersive activiy via inhibition of ACE and can be used for the treatment or prevention of hypertension.

Key words : *Solanum tuberosum*, CV. Gui valley, hypertension, angiotensin I - converting enzyme (ACE), lead acetate

서 론

20세기에 들어 경제 성장, 교육수준의 향상 그리고 과학의 발달 등으로 영양 상태가 극적으로 향상되고, 식생활 등 여러 가지 생활패턴의 변화와 평균수명의 연장은 현대사회를 노령화 사회로 전환시키고 있으며 이로 인해 유발되는 질병도 다양해 졌다.

2008년 9월 10일 통계청이 발표한 "2007년 사망 및 사망원인 통계결과"에 따르면 지난 해 뇌혈관질환에 의한 사망률은 12%로 암에 이어 2번째 사망원인으로 나타났다[1], 뇌혈관질환은 고지혈증과 고혈압의 높은 발병에 기인한 것이다. 한의고서에는 고혈압이란 병명의 기록은 나타나지 않으나. 고혈압에서 나타나는 頭痛, 眩暈, 項强등의 임상 증상을 살펴 볼 때 中風, 頭痛, 眩暈, 心火亢炎, 肝陽上亢의 병리 범주에 해당된다고 볼 수 있다[2,3]. 특히, 고혈압은, 뇌혈관 질환, 심혈관 질환 등의 합병증을 일으키는 대표적인 원인질환이고, 노령화 사회가 될수록, 식생활이 서구화 될수록 증가추세를 보이므로 적극적인 관리와 치료가 요구된다.

고혈압에 대한 치료는 그 동안 이뇨제나 혈관확장제, 칼슘차단제와 같은 치료제가 사용되어 다양한 효과를 보고 있지만, 두통, 어지러움, 기립성 저혈압, 감각이상, 신기능 장애 등의 부작용이 있을 수 있고, 독성을 나타내기도 한다[4]. 이에 혈압 상승을 억제하고 고혈압을 치료하기 위한 의약품으로서 합성 개발된 특이적인 ACE 저해제가 사용되고 있으며, 최근에는 식품유래 ACE 저해제 검색이 주목을 끌고 있다[5,6]. 한방에서 氣는 혈액순환을 조절하는 역할을 하는 것으로 이의 조절을 통해 血病의 치료에 활용된다[7]. 이에 감자는 虛한 氣를 보충하는 補氣 식품으로 다른 작물에 비해 저 칼로리면서 비타민 C, B1, B2, 니아신 등의 영양소가 풍부한 구황작물로 그 쓰임새가 많았다. 또한 항산화활성과 같은 생리활성에 대한 연구들이 많이 보고 되고 있다[8-11]. 최근에는 전통교잡육종을 통해서 다양한 기능성 감자 품종이 재배되고

* 교신저자 : 김성훈, 서울시 동대문구 회기동 1, 경희대학교 한의과대학
· E-mail : sungkim7@khu.ac.kr, · Tel : 02-961-9233
· 접수 : 2008/12/09 · 수정 : 2009/01/02 · 채택 : 2009/01/30

있고 여러 효능들이 보고 되고 있다[12]. 본 실험에 사용된 구이밸리 감자(*Solanum tuberosum* cv. Gui valley)는 1996년에 ND2471-8 × Cona 조합을 교배하여 생산된 가공용 과 일반 식용으로 사용될 수 있는 감자 품종으로 ACE 저해 활성을 나타내면서 고혈압 유도쥐의 혈압을 낮춰주는 효능을 보여 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 감자 추출물의 제조

밸리감자의 신품 중 하나인 구이밸리 감자를 3배 부피의 에탄올을 넣어 2일 추출하였으며, 추출은 두 번 반복하여 실행하였다. 진공 농축기로 감압 농축하고, 동결 건조하여 분말을 얻었다. 추출물의 수득률은 1.11%였다.

2. 활성산소 소거능 측정

자유 라디칼을 소거하는 능력을 측정하는 방법으로 DPPH method를 이용하였다[13]. DPPH 0.1 mM/EtOH로 만들어서, DPPH 1 ㎖ 에 sample 3 ㎖을 넣어서, 상온에서 30분간 방치하고 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료들을 농도별로 측정하였으며. 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다. 항산화 효과는 아래와 같이 계산하였다.

(Control OD - Sample/Control OD) x 100 = Inhibition %

3. 안지오텐신 I 전환효소(ACE)의 저해 활성측정

Cushman과 Cheung의 방법[14]을 응용하여 실험하였다. 기질용액은 0.3 M NaCl (pH 8.3)을 포함한 0.1 M sodium phosphate buffer에 2.5 mM Hippuryl-L-Histidyl-L-Leucine (HHL)를 섞어서 만들었다. 여기에 추출시료 100 ㎕를 첨가하고 sodium phosphate buffer 100 ㎕ 와 HHL 50 ㎕를 넣어 37 ℃에서 10분간 전 배양한 후 Rabbit lung acetone powder 100 ㎕ 첨가하여 30 분동안 효소반응을 시켰다. 반응시간이 끝난 후 반응을 정지시키기 위해 1N HCl 350 ㎕를 첨가하였다. 반응 정지 후 hippuric acid를 추출하기 위해 1 ㎖ ethyl acetate를 넣고 10분간 상온에 방치한 후 상층액 0.5 ㎖을 tube에 옮겨 끓는 물 또는 농축기에서 ethyl acetate 휘발시킨 후 1 ㎖ 증류수를 첨가하여 잘 섞은 후 250 nm에서 흡광도를 측정하였고, 다음과 같은 식을 이용하여 저해능을 계산하였다.

$$\text{Inhibition ratio (\%)} = \left(1 - \frac{\text{SAbs} - \text{BAbs}}{\text{CAbs}}\right) \times 100$$

SAbs : Absorbance at 250 nm determined with test sample. BAbs : Absorbance at 250 nm determined with dH_2O instead of enzyme. CAbs : Absorbance at 250 nm determined with dH_2O instead of test sample

4. 동물

실험동물은 (주)대한바이오 링크로부터 분양받아 동물사내의 명암 (12시간 light/dark cycle), 습도(55-60%) 및 온도(24±2℃)는 자동으로 조절되는 Environmental controlled rearing system (대종기기)을 사용하여 2주 가량 충분하게 적응시켜 사육한 체중 200±10 g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(SPF)를 사용하였고, 시험 시간 전 24시간 동안 물만 주고 절식하였다. 이때 효소 활성의 일중 변동을 고려하여 실험동물을 일정시간 (오전 10:00-12:00) 내에서 처치하였다.

5. 고혈압 유도 및 처치

음용수에 100 ppm (0.48 mmol/L)의 Lead acetate첨가하여 임의로 8주간 섭취케 하여 고혈압쥐를 유도하였다. 시료의 투여 1% tween 80에 현탁시켜 고혈압 유도 마지막 2주 및 4주 째부터 100, 200 mg/kg을 경구로 2주간 투여 하였다.

6. 혈압의 측정

혈압측정을 위한 holder 적응 훈련은 시료투여 약 2주전부터 매일 30분간씩 실시 하였다. 실험 시작 직전과 실험개시 후 1주일 간격으로 37 ~ 38℃로 보온이 되도록 약 5 ~ 10분간 가온한 후 보정기로 교정하여 꼬리동맥의 수축기 혈압을 blood pressure measurement unit (Lefica, Spain)를 이용하여 측정 하였다. 수축기 혈압은 동물이 정지상태가 있을때 6회 이상 측정하여 평균값을 토출 하였다. 혈압측정은 정기적으로 일주일 간격으로 오전 10:00 ~ 12:00시 사이에 실시하였다.

7. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 그 유의성을 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 구이밸리 감자 추출물이 활성산소 소거능에 미치는 영향

고혈압 환자의 경우, 혈관의 수축과 이완의 조절에 중요한 역할을 수행하는 내피세포가 손상 받음에 따라 다른 혈관질환들이 나타날 수 있는데, 이러한 내피세포 손상에 영향을 미치는 것이 유리산소기(Oxygen Free Radical)이며, 이러한 유리산소기들에 의한 세포손상이 혈압을 상승시키는 원인이 될 수 있다고 주장되고 있다[15]. Newaz와 Nawal (1998) 등[16]은 항산화 방어체계를 활성화시키면 산소기 생성을 억제시킬 수 있고, 혈압의 감소를 일으킬 수 있다고 보고한바 있다. 따라서 구이밸리의 항산화 효능을 DPPH 활성산소 소거능을 이용하여 측정하였다. 대조군으로 Ascorbic acid를 사용하였고 농도 10 uM에서 95.92%의 활성산소 소거능을 보였고, 구이밸리 100과 200 ㎍/㎖에서 각각 59.9%와 91.6%의 항산화 능력을 보여 구이밸리 200 ㎍/㎖에서 대조군 10 uM과 비슷한 효과를 나타내었다(Fig. 1).

2. 구이밸리 감자 추출물이 안지오텐신 I 전환효소(ACE)의 저해 활성에 미치는 영향

혈압의 상승과 유지에 중요한 작용을 담당하고 있는 효소인 안지오텐신 I 전환효소(angiotensin I - converting enzyme,

ACE)는 신장의 방사구체 세포에서 분비되는 레닌의 작용에 의해 안지오텐시노겐(angiotensionogen)에서 유리되는 안지오텐신 I을 안지오텐신 II로 전환시키는 효소로, 혈압이완효능을 갖는 브레디키닌(bradykinin)을 불활성화시킴으로써 결과적으로 혈압을 상승시키는 작용을 한다[17]. 그러므로 안지오텐신 I 전환효소의 활성 을 감소시킴으로써 혈압을 조절할 수 있다. 이에 구이밸리로 안지오텐신 I 전환효소의 저해 활성을 측정한 결과 농도 50, 10, 200 μg/㎖에서 각각 41.3, 59.8, 87.6% ACE 활성을 저해하는 것을 확인하였다(Fig. 2).

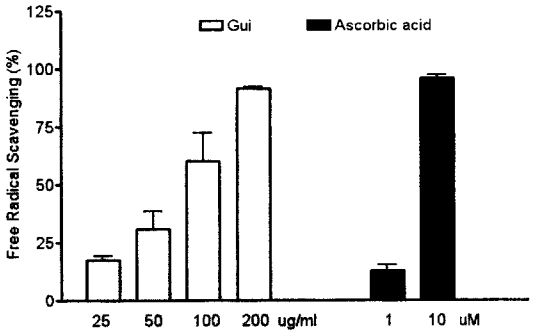

Fig. 1. Effect of Gui vally ethanol extract on free radical scavenging activity. Values represent means ± S.D.

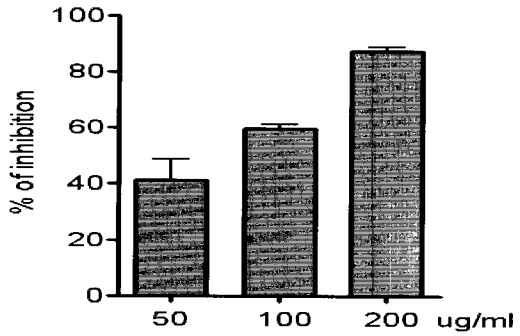

Fig. 2. Inhibitory effect of EGV on Angiotensin I -converting enzyme activity. Values represent means ± S.D.

3. 구이밸리 감자 추출물이 고혈압 유도 쥐에서 혈압 변화에 미치는 영향

Lead acetate로 고혈압을 유도하고 구이밸리 감자 추출물을 4주간 섭취시킨 쥐에서 혈압억제효능을 평가하였다. Table 1과 Fig. 3에서 보는 바와 같이 음용수를 섭취한 군은 혈압에 별다른 영향이 없었으나, lead acetate를 섭취한 군에서는 섭취 2주째부터 혈압이 상승하였으며, 8주까지 증가하였다. 한편, 본 구이밸리 감자추출물을 투여한 군에서는 정상동물에는 미치지 않으나 200 mg/kg을 처리한 군에서 유의성 있는 혈압 억제효과를 보였다.

4. 구이밸리 감자 추출물이 고혈압 유도 쥐에서 혈중 ACE 활성에 미치는 영향

Lead acetate로 고혈압을 유도하고 구이밸리 감자 추출물을 4주간 섭취시킨 쥐에서의 혈액중의 ACE의 활성을 측정하였다. Lead acetate를 음용수 대신에 투여한 군에서는 ACE의 활성이 현저히 증가되었으나 감자추출을 투여한 군에서는 ACE의 활성이 2, 4주째 200 mg/kg 투여에서 통계적인 유의성은 없었으나 다소 감소하는 경향은 보였다(Fig. 4).

Table 1. Effect of Gui vally ethanol extract on blood pressure in lead acetate (LAT)-induced hypertensive and normal rats.

Treatment	Dose (mg/kg)	SBP (mmHg) 0	2	4	6	8 (weeks)
Normal		95.7±4.3 g	93.2±4.5 g	94.2±3.9 g	96.5±7.8 g	95.2±3.4 g
LAT		98.6±5.0f g	105.7±3.5f g	120.7±5.7^{de}	159.2±10.5^{ab}	171.2±12.8^{a}
Gui valley	100	94.2±3.2 g	103.2±4.6f g	110.9±5.3^{ef}	148.7±9.6^{bc}	165.2±10.7^{a}
Gui valley	200	96.7±8.7 g	102.9±3.2f g	105.3±2.9 g	130.2±8.7^{d}	143.3±5.2^{c}

Rats were orally administered Gui valley extract (100, 200 mg/kg) daily for consecutive eight weeks after lead acetat (LAT)-induced hypertensive state. Values represent means ± S.D. (n=6). Values sharing the same syperscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan,s multiple range test.

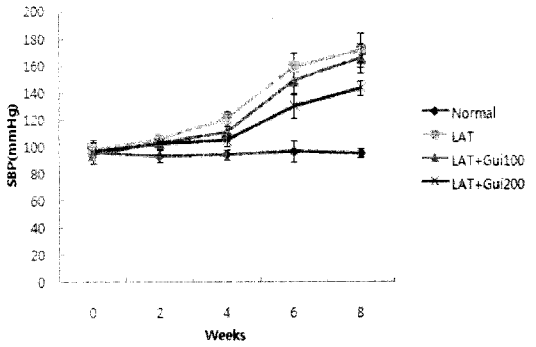

Fig. 3. Effect of Gui vally ethanol extract on blood pressure in lead acetate (LAT)-induced hypertensive and normal rats. Values represent means ± S.D.

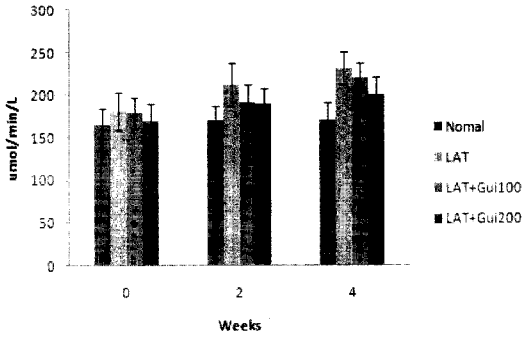

Fig. 4. Effect of Gui vally ethanol extract on angiotensin converting enzyme(ACE) activity in serum of studied animals during 4 weeks of study. Values represent means ± S.D. (n=6). Values sharing the same syperscript letter are not significantly different each other (p<0.05) by Duncan,s multiple range test.

결 론

국내 식용 감자 생산의 95% 이상은 미국 품종인 "수미" 와 일본 품종인 "대지" 가 차지하고 있다. 또한 감자칩 생산에 이용되는 주요 감자 품종인 "대서" 또한 미국 품종이다. 기존의 외래 품종을 대체할 수 있는 획기적인 감자 품종이 최근에 개발이 되었다.

ND2471-8 × Cona 조합을 교배하여 오랜 육종 과정을 통해서 개발된 가공용 과 일반 식용 감자로 사용이 가능한 전천후 품종인 구이밸리 감자(*Solanum tuberosum* cv. Gui valley) 품종이

다. 본 품종은 국가가 인정하는 국립종자원으로부터 품종에 대한 성능 검정결과 기존의 미국 품종에 비해서 수량성과 기타 가공성이 뛰어나기 때문에 국가품종목록등재 품종으로 인정을 받았다. 구이밸리 품종은 이러한 외래 품종을 대체하기 위해서 전국적인 단위로 생산 보급이 진행되고 있는 실정이다.

구이밸리는 구이전용으로 개발이 되었지만 전분 함량이 기존 감자품종 보다 30% 이상 높기 때문에 감자칩, 전분 등 다양한 가공제품에도 이용될 수 있다. 구이밸리 품종은 제주도 지역 뿐만아니라 봄, 여름, 가을, 겨울재배등 다양한 지역에서 다양한 작형에 맞게 개발된 다목적용 감자 품종이다.

구이밸리의 국제경쟁력을 높이면서 동시에 외국의 품종을 대체하기 위해서 그 우수성이 과학적으로 검증이 되어야 하기에 항고혈압 효능을 평가하였다. 구이밸리는 에탄올 추출물을 분말화하여 사용하였다. 구이밸리 에탄올 추출물은 DPPH 실험을 통해 항산화 효능을 나타냈고, 혈압의 상승과 유지에 중요한 작용을 담당하고 있는 안지오텐신 I 전환효소 (ACE)의 활성을 농도에 의존적으로 저해하였다. Lead acetate로 고혈압을 유도하고 구이밸리 감자 추출물을 4주간 섭취시킨 쥐에서 혈압억제효능을 평가한 결과 구이밸리 감자 추출물 200 mg/kg을 처리한 군에서 유의성 있는 혈압 억제효과를 보였다.

한편 lead acetate로 고혈압을 유도한 쥐의 혈액에서의 ACE 활성은 구이밸리 감자 추출물에 의해 감소되는 경향을 보였다. 이상의 결과에서 보듯이 구이밸리는 항산화 활성을 나타내고 혈압 상승에 관여하는 ACE활성을 저해함으로써 항고혈압 효능을 나타내는 것으로 사료된다. 고혈압은 완치가 불가능하기 때문에 약의 복용을 중단 할 경우 그 효과도 사라지므로, 혈압을 조절하기 위해서는 계속적인 투약과 평생 조절이 필요하다. 이와 같이 평생 조절을 위한 의료 관리는 경제적인 부담은 물론 여러 가지 신체 기능의 저하를 초래하기 때문에 약을 사용하여 혈압을 낮추는 치료방법에는 한계가 있다[1,18]. 따라서 '완치되는' 질환이 아니고 지속적으로 '조절하는' 질환인 고혈압이 식습관과 밀접한 관련을 가지는 점을 고려할 때 감자는 좋은 식품으로서 고혈압에 활용되는 다른 한약제와 같이 배합하여 건강기능성 식품으로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 농림수산식품부 ARPC사업의 연구비 (307002-03-2-CG000)지원에 의해 수행되었기에 감사드립니다.

참고문헌

1. 통계청. www.nso.go.kr.
2. 글송백 외. 실용중의심혈관병학. 북경, 과학기술문헌출판사, pp 347-354, 1993.
3. 전국한의과대학심계내과학교실 편. 심계내과학. 서울, 서원당, pp 189-199, 1999.
4. 김선미. 고혈압 치료제와 약제 선택의 유의점. 가정학회지 19(3), 1998.
5. Brunner, H.R., Gavras, H., Waeber, W. Oral angiotension-converting enzyme inhibitor in long-term treatment of hypertensive patient. Ann Inter Med. 2: 1317, 1979.
6. Atkinson, A.B., Brown, J.J., Cumming, A.M., Fraser, R., Lever, A.F., Leckie, B.J., Morton, J.J., Robertson, J.I., Davies, D.L. Captopril in the management of hypertension with renal artery stenosis. Am J Cardiol. 49: 1460, 1982.
7. 金完熙 外. 東醫生理學. 慶熙大學校 出版局, pp 99-103, 322-323, 1993.
8. Shin, H.K., Shin, O.K., Koo, Y.J. Effects of potato protein on the growth of clostridium perfringens and other intestinal microorganism. Kor J Appl Microbiol Biotechnol. 20(3):249-257, 1992.
9. Cha, J.Y., Cho, Y.S. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. J Korean Soc Food Sci Nutr. 28(5):1131-1136, 1999.
10. 정용진, 서지형, 윤성란, 이진만, 이기동, 김옥미, 방광웅. 감자 알콜발효를 위한 액화 및 당화 조건. 한국농산물저장유통학회지 7(1):94-98, 2000.
11. Horigome, T., Sakaguchi, E., Kishinoto, C. Hypocholesterolemic effect of banana(musa Sapientum L. var. Cavendishii)pulp in the rat fed on a cholesterol-containing diet. Br J Nutr. 68: 231-244, 1992.
12. 이규화. 감자 유전자원 평가 및 메탄올 추출물에서의 페놀성 항산화활성 물질 분석에 의한 고기능성 감자 품종 선발. 농업과학연구 14: 114-115, 2003.
13. Mellors, A., Tappel, A.L. The ignition if mitochondria peroxidation by ubiqunone and ubiquinol. J Biol Chem. 241: 4353-4356, 1996.
14. Cusham, D.W., Cheung, H.S., Sabo, E.F., Ondetti, M.A. Developement and design of specific inhibitiors of angiotensin-converting enzyme. Am J Cardiol. 49(6):1390-1394, 1982.
15. Luscher, T.F., Noll, G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. 1995.
16. Newaz, M.A., Nawal, N.N. Effect of alpha-tocopherol on lipid peroxidation and total antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. AM J Hypertsns. 11(12):1480-1485, 1998.
17. Manjusri, D., Richard, L.S. Pulmonary angiotension-converting enzyme. J Biod Chem. 250: 6762, 1975.
18. Vicki, L.B., Paul, W., Edward, J.R., Clarice, B., Jeffrey, A.C., Millicent, H., Michael, J.H., Darwin, L. Prevalence of hypertension in the US adult population : Results from the Third National Health and Nutrition Examination Suevey, 1988-1991. Hypertension. 25: 305-313, 1995.