

감태 (*Ecklonia cava*) 추출물의 항고혈압 효과

홍장희 · 손범수 · 김범경 · 지희운 · 송경식¹ · 이봉호² · 신현철³ · 이경복*
건양대학교 의과대학, ¹경북대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부,
²한밭대학교 응용화학생명공학부, ³라이브켄(주)

Antihypertensive Effect of *Ecklonia cava* Extract

Jang-Hee Hong, Bum-Soo Son, Bum-Kyeong Kim, Hee-Youn Chee, Kyung-Sik Song¹,
Bong-Ho Lee², Hyen-Cheol Shin³, and Kyung-Bok Lee*

College of Medicine, Konyang University, Nonsan 320-711, Korea

¹Division of Applied Biology and Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences,
Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Department of Biotechnology, Hanbat National University, Daejeon 305-719, Korea

³Livechem Co., Ltd., Daejeon 305-719, Korea

Abstract – *Ecklonia cava* is brown alga which grow in the sea all over the world. It has been shown that *Ecklonia cava* has antioxidative, anticoagulant, and antiviral effect, lately. In this study, we examined the antihypertensive effect of *Ecklonia cava* extract (Eca) on 2-kidney 1-clip Goldblatt Hypertensive Rats (GB-HT). *In vitro* assay, the angiotensin converting enzyme (ACE) activity was significantly inhibited by Eca (27-95% inhibition at 10-50 µg/ml). The systolic blood pressure of Eca-treated GH-HT significantly was decreased compared to that of control GB-HT (15% decrease at 50 mg/kg). The serum ACE activity was also inhibited 19% with 50 mg/kg Eca treatment. These results suggest that Eca can be used as antihypertensive functional foods and nutraceuticals.

Key words –

고혈압은 만성질환으로 평생 동안 치료가 필요하며 사회적 경제적 손실 또한 막대하다. 고혈압의 원인은 대부분 밝혀져 있지 않지만 혈압을 상승시킬 수 있는 여러 가지 요인들 가운데 레닌-안지오텐신-알도스테론 고리는 생체내에서 혈압과 체액량을 조절하는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.¹⁻⁴ 체내에 널리 분포되어 있는 안지오텐신 전환효소 (Angiotensin Converting Enzyme, 이하 ACE)는 불활성형인 안지오텐신 I의 말단을 절단하여 활성형의 안지오텐신 II로 전환시키며 이렇게 생성된 안지오텐신 II는 직접적으로 혈관을 수축하고 신장에서 알도스테론의 분비를 증가시켜 체액량을 증가시켜 혈압을 상승시키는 작용을 한다. 이러한 레닌-안지오텐신-알도스테론 고리에 이상이 생기면 이차적인 고혈압이 발생한다. 따라서 이 고리의 작용을 효과적으로 조절하는 약물의 발견은 고혈압 치료제로서 중요한 의미가 있다.

한편 대표적인 ACE 억제제로서는 화학합성제인 에날라프릴 (enalapril)이 개발되어 고혈압 개선제로 이용되고 있으나 마른기침, 두통, 안면홍조, 식욕부진, 미각이상, 발진, 백혈구 감소 등의 부작용이 많아 최근에는 부작용이 없는 천연물로부터 ACE 억제제의 개발이 중요시되고 있다. 또한 ACE 저해작용을 나타내는 천연물로는 펩타이드성 물질과 폴리페놀성 물질로 대별된다. 펩타이드성 저해물질은 뱀독으로부터 처음 분리되어 보고되었고, 다랑어, 고등어, 새우 등의 어패류의 효소 가수 분해물, 동물의 혈장 등에서 분리한 펩타이드 등이 보고되었다.^{5,6} 폴리페놀성 물질로는 감나무잎, 밀감 등의 추출물, 녹차의 탄닌, 키토산 올리고당 등이 보고되었다.⁷⁻¹¹ 지금까지 천연물로부터 ACE 억제제를 추출해내는 연구는 주로 식품 단백질을 펩신, 트립신 등의 단백질 분해효소로 가수분해하여 얻어진 가수 분해물로부터 추출하였으나 분리 정제의 수율이 낮고 제조 원가 등의 경제적인 문제로 인하여 상업성이 떨어지는 편이다.

*교신저자(E-mail) : kyunglee@konyang.ac.kr
(FAX) : 042-600-6314

본 저자 등은 우리나라 근해에 자생하는 다양한 종류의 해조류에서 생리 활성 물질을 탐색하던 중, 우리나라 근해에 자생하는 갈조류의 일종이며 항산화, 항염증 효과 및 뇌 기능 개선, 항바이러스 연구가 활발하게 연구되고 있는 감태 (*Ecklonia cava*)¹²⁻¹⁴가 Goldblatt 고혈압 실험동물 모델 (2-kidney 1-clip Goldblatt hypertensive rats model, 이하 GB-HT)에서 혈압 강하 효과 및 혈중 ACE의 활성에 미치는 영향을 검토하였으므로 보고하고자 한다.

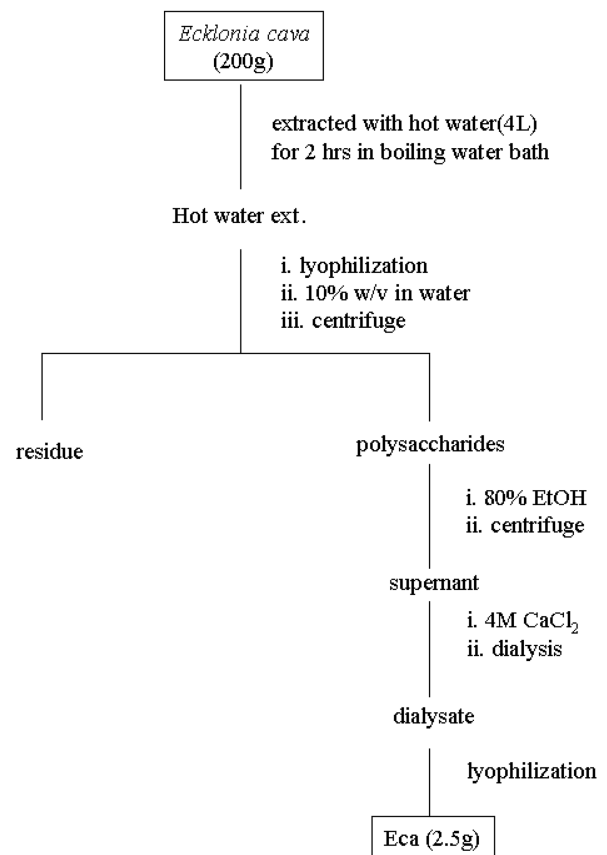
재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 갈조류의 일종인 감태 (*Ecklonia cava*)는 2005년 5월 제주도 북제주군 한림읍 귀덕리에서 채취하여 사용하였다. 채취한 감태는 즉시 수돗물로 이물질과 염분을 제거한 후 일주일 동안 음지에서 자연 건조하여 사용하였다. 시료는 한밭대학교 이봉호 교수에 의하여 동정하였으며 표본은 한밭대학교 생리활성물질연구실에 보관 중이다.¹²⁾

추출 - 감태 건조시료 200 g을 분쇄기로 파쇄하여 분말 형태로 만든 다음 뜨거운 증류수 (4 L)로 100°C에서 2시간 진탕기로 교반하여 추출하였다. 추출한 후 막지를 제거하였고, 추출물은 동결건조 하였다. 분말시료를 증류수로 녹인 후 (10% w/v) 투석하였다. 원심분리 후 다당류를 에탄올을 이용하여 침전시킨 후 원심분리 하였다. 상층액은 4 M CaCl₂로 다시 침전시킨 후 원심분리 하였다. 상층액을 투석 후 원심분리 한 후 상층액을 동결건조 하여 2.5 g의 갈색분말을 얻었다 (Scheme 1).

실험동물 및 실험설계 - 본 실험에 사용된 실험동물은 (주)중앙동물 실험에서 8주된 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley)를 사용하였다. 사료는 (주)삼양유지의 소동물용 고형사료를 사용하였고, 물은 상수를 사용하여 충분히 공급하면서 2주간 순화시킨 후 사용하였다. 실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도 24±2°C, 상대습도 55±5%의 항온, 항습 장치가 되어 있는 실험실내에서 실시하였다. 감태 추출물의 투여는 10 mg/kg, 50 mg/kg을 하루에 한번씩 2주간 투여하였고, 양성 대조군으로 항고혈압약인 에날라프릴을 10 mg/kg으로 2주간 경구 투여하였다. 음성 대조군은 동일 양의 물을 2주간 경구 투여하였다.

Goldblatt 고혈압 실험동물 모델 (GB-HT)¹⁵⁾ - Goldblatt 고혈압 실험동물 모델은 인위적으로 신동맥의 혈류량을 줄임으로써 레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템을 활성화하여 혈압을 올리는 실험동물 모델이다. 이 모델을 통해 혈압과 생체내 혈중 ACE의 활성을 증가시킬 수 있다. 실험동물을 만드는 방법은 우선 흰쥐를 전신 마취한 후 복강을 열고, 왼쪽 신동맥 혈관을 0.2 mm가 되도록 실로 묶어준다. 좁아진 신동맥 혈관으로 인해 신장 혈류량은 감소하게 된다. 수술



Scheme 1. Isolation of bioactive extract from the *Ecklonia cava*. Eca : extract from *Ecklonia cava*.

시행 4주 후에 혈압을 측정하여 수축기 혈압이 190 mmHg 이상 되는 흰쥐만을 선택하여 실험에 사용하였다.

흰쥐의 혈압 측정 - 흰쥐의 혈압 측정 방법은 Pulse Amplifier (Flat-bed Recorders & Amplifier Operating Instructions, USA)를 사용하여, 꼬리에 소동물 비관혈식 자동혈압계와 tail cuff를 부착시키고, 센서에 연결하여 흰쥐의 꼬리 동맥을 통해 평균 수축기 혈압을 측정 하였다.^{16,17)}

ACE 억제 정도 측정¹⁸⁾ - ACE는 토끼의 폐에서 추출한 것을 사용하였고, ACE의 저해 정도는 기질로서 Hip-His-Leu를 사용하였으며, 기질은 300 mM NaCl을 포함한 sodium borate 완충용액 (pH 8.0)에 용해하여 5 mM로 반응시켰다. 효소는 토끼 폐에서 분리한 ACE를 사용하였다. 기질에 시료를 넣고 효소를 첨가한 반응액을 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl을 첨가하여 반응을 중지시켰다. 반응액에 ethyl acetate를 넣어 30초간 혼합한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 ethyl acetate층만을 취하여 100°C에서 1시간 정도 건조시켰다. 건조 후 시험구에 남아있는 hippuric acid에 300 µl 증류수를 가해 완전히 용해시킨 다음 228 nm에서 흡광도를 측정하였다. ACE 억제 정도 실험에서 음성 대조군은 추출물 대신 sodium borate 완충액을 사용하였으

며, 양성 대조군은 에날라프릴 (10 µg/ml)을 사용하였다.

$$\text{ACE 억제정도 (\%)} = [1 - \{(S - Sc) / (B - Bc)\}] \times 100$$

S = the absorbance in the presence of each sample

Sc = the absorbance as S except that enzyme reaction was quenched at zero time

B = the absorbance in the absence of the sample

Bc = the absorbance as S except that enzyme reaction was quenched at zero time

혈중 ACE 활성 측정¹⁹⁾ - 혈액 채취는 추출물 투여 후 2주 후에 복강 대동맥에서 채취하여 원심 분리한 후 혈청을 사용하였다. 혈중 ACE의 활성 측정 방법은 효소의 기질로 FAPGG (furanacryl-L-phenylalanyl-glycylglycine)을 사용하였으며 ACE에 의해 FAPGG가 가수분해 되어 흡광도가 감소된 것을 340 nm에서 측정하여 정량하였다.

통계처리 - 실험 결과는 mean±S.D.로 표시하였고, two tailed student's t-test를 실시하여 *P<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

결과 및 고찰

In vitro ACE 활성 억제 효과 - 우리나라 근해에서 채취한 갈조류의 일종인 감태로부터 Scheme 1의 방법에 따라 추출하였다. 감태 추출물 (*Ecklonia cava* extract, 이하 Eca)을 이용하여 ACE 억제 효과를 *in vitro* 실험을 통하여 확인하였다. 먼저 Eca의 농도를 10 µg/ml 농도부터 50 µg/ml까지 증가시킴에 따라 ACE는 27%에서 95%까지 억제되었다. IC₅₀ 값은 38 µg/ml을 나타내었다. 비록 Eca는 양성대조군으로 사용한 에날라프릴 (enalapril, 10 µg/ml)에 비해 ACE 억제에 대한 약효력 (potency)은 떨어지지만 ACE의 억제효과는 농도 의존적임을 확인하였다 (Fig. 1).

Eca에 의한 GB-HT에서 항고혈압 효과 - 감태 추출물이 *in vivo* 상에서도 항고혈압 효과를 나타내는지 확인하기 위해 고혈압 실험동물 모델을 만들었다. GB-HT는 흰쥐의 신장동맥을 결찰하여 신장동맥의 혈류량을 인위적으로 줄여 이로 인한 보상작용에 의해 혈중 ACE를 활성화시키고 이를 통해 안지오텐신 II가 증가되어 혈관 수축을 유발하고 또한 알도스테론 분비를 증가시켜 신장에서 수분 재흡수가 증가되어 고혈압을 유발시킨다. 이러한 모델의 잇점은 Eca의 고혈압에 대한 효과를 생체내에서 확인할 수 있을 뿐만 아니라 혈중 ACE 억제효과를 동시에 측정할 수 있으므로 유용하게 사용될 수 있다.

Eca의 고혈압에 대한 효과를 알아보기 위해 GB-HT를 세 그룹(GB-HT group, GB-HT+Eca group, GB-HT+enalapril group)으로 나누었고 각각의 그룹은 4마리씩 사용하여 실험

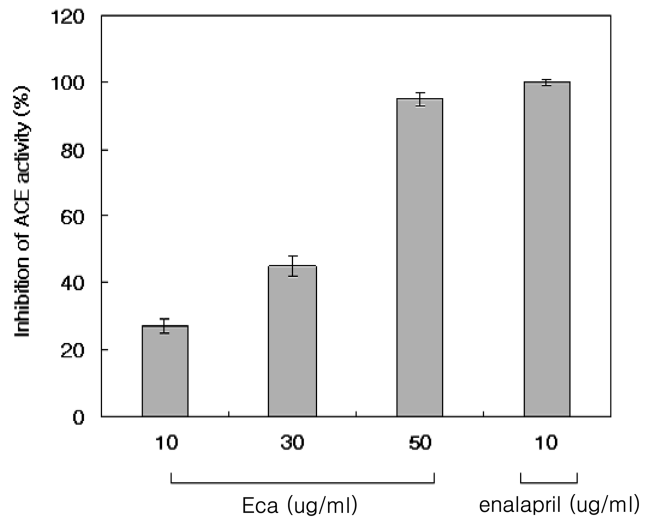


Fig. 1. *In vitro* Inhibitory effects of the *Ecklonia cava* extract on angiotensin converting enzyme activities. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. of triplicated experiments. Eca : extract from *Ecklonia cava*.

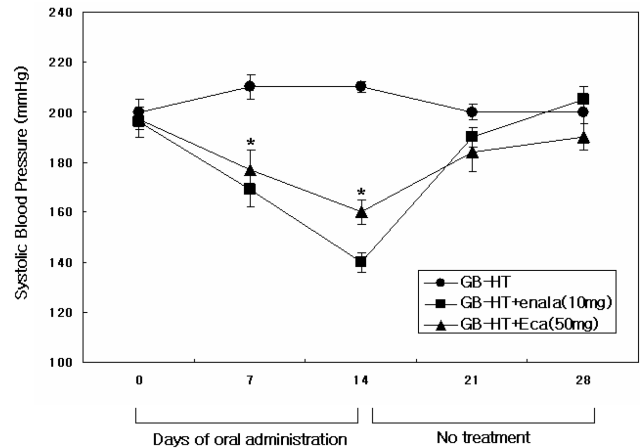


Fig. 2. Antihypertensive effects of the *Ecklonia cava* extract on the 2-kidney 1-clip Goldblatt hypertensive rats model. Each group was treated with the indicated doses of the *Ecklonia cava* extract for 14 days. After 14 days, each group was untreated for 14 days. The values are mean±S.D. (n=4). Asterics denote a significant difference compared with the GB-HT group (*p<0.05). GB-HT: 2-kidney 1-clip Goldblatt hypertensive rats group, GB-HT+Eca : 2-kidney 1-clip Goldblatt hypertensive rats+*Ecklonia cava* extract-treatment group, GB-HT+enalapril: 2-kidney 1-clip Goldblatt hypertensive rats+enalapril-treatment group.

하였다 (Fig. 2). 세 그룹에 사용된 실험동물은 수술 후 혈압을 측정하여 수축기 혈압이 190 mmHg-200 mmHg 이상을 유지하는 고혈압 흰쥐만을 사용하였다. GB-HT+Eca 그룹은 Eca 50 mg/kg을 매일 경구 투여한 후 수축기 혈압을

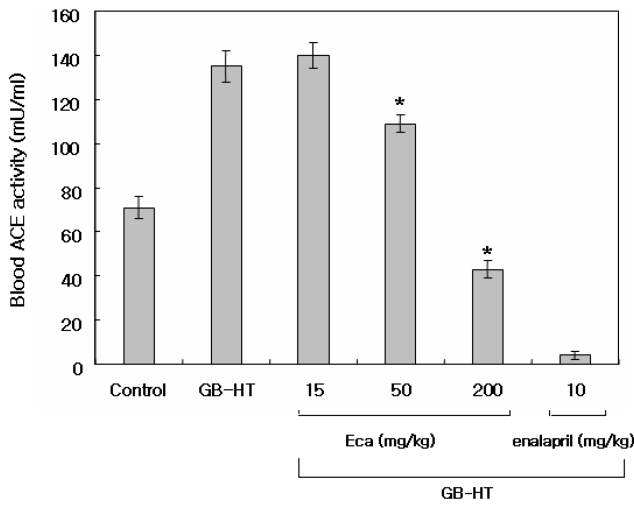


Fig. 3. Inhibitory effects of the *Ecklonia cava* extract on blood angiotensin converting enzyme activities. The assay procedure was described in the experimental method. The values are mean \pm S.D. (n=4). Asterisks denote a significant difference compared with the GB-HT group (*p<0.05).

측정한 결과 7일 후에 10%, 14일 후에 15%가 억제됨을 확인하였다. Eca에 의한 항고혈압 효과가 얼마나 지속되는지 알아보기 위해 14일 이후부터는 Eca를 투여하지 않고 14일간 수축기 혈압을 측정하였다. 21일 후에 수축기 혈압은 8% 억제되었고 28일 후에는 5% 억제됨으로써 Eca의 효과가 서서히 떨어져 투여 전 혈압으로 서서히 회복됨을 확인하였다. 이러한 결과는 Eca가 생체내에서 서서히 제거됨을 보여주는 흥미로운 사실이다.

GB-HT+enalapril group은 양성 대조군으로 사용하였으며, 에날라프릴 (enalapril) 10 mg/kg을 매일 경구 투여한 후 수축기 혈압을 측정한 결과 7일 후에 15%, 14일 후에 30%가 억제되었다. 약물 투여를 중단하면 21일 후에 5%, 28일 후에는 투여 전 수축기 혈압으로 회복되었다. 이러한 실험 결과를 통하여 Eca는 생체내에서 수축기 혈압을 유의성 있게 억제하고, 대조 약물인 에날라프릴 만큼 강력한 항고혈압 효과가 있음을 확인하였다. 또한 약물 투여를 중단한 후에도 혈압의 억제 효과가 에날라프릴보다 우수함을 나타내었다.

에날라프릴은 합성 약물이기 때문에 마른기침, 두통, 안면홍조, 식욕부진, 미각이상, 발진, 백혈구 감소 등의 부작용이 보고되고 있다.²⁰⁻²³⁾ 따라서 이러한 부작용을 줄이고 항고혈압 효과가 우수한 천연물에서 유래하는 ACE 억제제의 개발은 무엇보다 시급하다. 이러한 관점에서 Eca는 고혈압 개선의 기능성 식품뿐만 아니라 항고혈압의 보조 약물로도 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

Eca에 의한 GB-HT에서 혈중 ACE 억제 효과 - 지금까지 Eca가 *in vitro*에서 ACE에 억제 효과가 있음을 밝혔

으며, Goldblatt 실험동물 모델에서도 항고혈압 효과가 있음을 확인하였다. 그러나 이러한 항고혈압 효과가 생체내에서 어떤 기전을 통해 일어나는지는 정확하게 설명하기가 쉽지 않다. Eca는 다양한 성분으로 이루어져 있기 때문에 항고혈압 효과가 다양한 기전을 통해 이루어질 것으로 생각된다. 이러한 이유로 Eca의 항고혈압 기전을 확인하기 위해 혈중 ACE의 활성을 측정하였다.

GB-HT에 Eca 15 mg/kg, 50 mg/kg, 200 mg/kg 농도로 매일 2주간 경구 투여하였다. 15 mg/kg 농도에서는 혈중 억제 효과가 없었지만 50 mg/kg 농도에서는 19% 억제 효과를 보였고, 200 mg/kg에서는 68% 억제 효과를 나타내었다. 혈중 ACE 억제 효과 실험의 양성 대조군으로 에날라프릴 10 mg/kg을 사용하였으며 97%의 억제 효과를 보였다. 이러한 혈중 ACE 억제 효과는 *in vitro* 실험과 비슷하게 Eca 농도에 의존적임을 알 수 있다. 이상의 결과는 Eca가 항고혈압 효과를 나타낼 수 있으며, 주로 ACE의 활성을 억제함으로써 나타남을 확인할 수 있다. ACE 억제제로서 대표적인 항고혈압 약물인 에날라프릴과 비교하면 Eca의 ACE에 대한 약효력은 떨어진다. *In vitro* 실험에서 Eca의 농도가 50 μ g/ml에서 ACE를 95%까지 억제시켰지만, 에날라프릴은 10 μ g/ml의 농도에서 ACE를 97%까지 억제시켰다. 그러나 이러한 효과는 *in vivo* 상에서의 항고혈압 효과에서는 약간의 차이를 보이고 있다. 즉, Eca 50 mg/kg을 GB-HT에 2주간 경구 투여 하였을 때 수축기 혈압이 15% 떨어졌으나, 에날라프릴 10 mg/kg을 경구 투여 하였을 때는 수축기 혈압이 30%나 떨어졌다.

또한 혈중 ACE의 활성 실험에서도 Eca 50 mg/kg을 GB-HT에 2주간 경구 투여 하였을 때 효소 활성은 19% 억제되었으나, 에날라프릴 10 mg/kg 경구투여 하였을 때 효소 활성은 97%나 억제되었다. 이러한 이유는 Eca는 단일 성분이 아닌 추출물이기 때문에 ACE 억제뿐만 아니라 다른 기전에 의한 항고혈압 효과가 있을 것으로 생각된다. 생체 이용률 (bioavailability)의 차이 또한 관여할 것으로 사료된다. 따라서 ACE의 억제 정도와 혈압의 억제 정도를 단순 비교하는 것은 모순이 있으리라 생각된다. 더불어 생체에서 ACE의 완전한 억제는 다른 부작용을 유발할 수 있다. 이러한 이유로 인해 ACE의 완전한 억제만이 고혈압에 좋은 효과를 보인다고는 볼 수 없다.

본 연구를 통해 저자 등은 Eca의 ACE 억제를 통한 항고혈압 효과를 확인하였으며, 이를 통해 Eca를 항고혈압 개선을 위한 기능성 식품이나 첨가제로 사용될 수 있을 것으로 사료된다. 현재 Eca의 항고혈압 활성성분의 이화학적 성상 및 그 구조에 관한 연구는 진행 중이며, 항고혈압 기전 연구 및 활성성분의 분체 규명에는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 갈조류의 일종인 감태의 추출물이 고혈압에 미치는 효과를 알아보기 위하여 실험을 하였다. 본 연구에서 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. ACE에 대한 Eca의 *in vitro* 억제 효과는 농도 의존적이었고, 특히 50 µg/ml에서 95% 억제효과를 보였다.
2. Goldblatt 고혈압 실험 흰쥐를 이용한 항고혈압 효과 실험에서 Eca를 50 mg/kg 2주간 경구 투여했을 때 수축기 혈압을 10%-15% 억제하였고, 경구 투여를 중단하면 혈압이 이전 수준으로 서서히 회복되었다.
3. Goldblatt 고혈압 실험 흰쥐에 Eca를 50 mg/kg 2주간 경구 투여했을 때 혈중 ACE 활성은 19% 억제되었다.

사 사

본 연구는 건양대학교 명곡 학술연구비 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

인 용 문 헌

1. Weiss, D., Kools J. J., and Taylor, W. R. (2001) Angiotensin II-induced hypertension accelerates the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. *Circulation* **103**: 448-454.
2. Walmor, C., De Mello, A. H., and Jan, Danser. (2000) Angiotensin II and the Heart On the Intracrine Renin-Angiotensin System. *Hypertension* **35**: 1183-1188.
3. Richard, N., and Re, M. D. (2002) The clinical implication of tissue renin angiotensin systems. *Current Opinion in Cardiol.* **16**: 317-327.
4. Ursula, C., Brewster, M. D., Mark, A., and Perazella, M. D. (2004) The renin-angiotensin-aldosterone system and the kidney: Effects on kidney disease. *Am. J. Med.* **116**: 263-272.
5. Matsui, T., Matsufuji, H., Seki, E., Osajima, K., Nakashima, M., and Osajima, Y. (1993) Inhibition of angiotensin I-converting enzyme by *Bacillus licheniformis* alkaline protease hydrolyzates derived from sardine muscle. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **57**: 922-925.
6. Yokoyama, K., Chiba, H., and Yoshikawa, M. (1992) Peptide inhibitors for angiotensin-I-converting enzyme from thermolysin digest of dried bonito. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **56**: 1541-1545.
7. Ariyoshi, Y. (1993) Angiotensin-converting enzyme-inhibitors derived from food proteins. *Trends Food Sci. Technol.* **4**: 139-144.
8. Dziuba, J., Minkiewicz, P., and Nalecz, D. (1999) Biologically active peptides derived from plant and animal proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **8**: 3-16.
9. Yamamoto, N. (1997) Antihypertensive peptides derived from food proteins. *Biopolymers* **43**: 129-134.
10. Maruyama, S., Nakagomi, K., Tomizuka, N., and Suzuki, H. (1985) Angiotensin-I-converting enzyme-inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.* **49**: 1405-1409.
11. Vermeirssen, V., Van Camp, J., Devos, L., and Verstraete, W. (2003) Release of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity during *in vitro* gastrointestinal digestion: from batch experiment to semicontinuous model. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 5680-5687.
12. Shin, H. C., Hwang, H. J., Kang, K. J., and Lee, B. H. (2006) An antioxidative and antiinflammatory agent for potential treatment of osteoarthritis from *Ecklonia cava*. *Arch. Pharm. Res.* **29**: 165-171.
13. Myung, C. S., Shin, H. C., Bao, H. Y., Yeo, S. J., Lee, B. H., and Kang, J. S. (2005) Improvement of memory by dieckol and phlorofucofuroeckol in ethanol-treated mice: possible involvement of the inhibition of acetylcholinesterase. *Arch. Pharm. Res.* **28**: 691-698.
14. Ahn, M. J., Yoon, K. D., Min, S. Y., Lee, J. S., Kim, J. H., Kim, T. G., Kim, S. H., Kim, N. G., Huh, H., and Kim, J. (2004) Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biol. Pharm. Bull.* **27**: 544-547.
15. Sharifi, A. M., Akbarloo, N., Heshmatian, B., and Ziai, A. (2003) Alteration of local ACE activity and vascular responsiveness during development of 2K 1C renovascular hypertension. *Pharmacol. Res.* **47**: 201-209.
16. Jung, J. Y., Lee, J. U., and Kim, W. J. (2004) Enhanced activity of central adrenergic neurons in two-kidney, one clip hypertension in Spreague-Dawley rats. *Neuroscience Letters* **369**: 14-18.
17. Sharifi, A. M., Darabi, R., and Akbarloo, B. (2003) Study of antihypertensive mechanism of *Tribulus terrestris* in 2K1C hypertensive rats: Role of tissue ACE activity. *Life Sciences* **73**: 2963-2971.
18. Cushman, D. W., Gordon, E. M., Wang, F. L., Cheung, H. S., Tung, R., and Delaney, N. G. (1983) Purification and characterization of enkephalinase, angiotensin converting enzyme, and a third peptidyl dipeptidase from rat brain. *Life Sci.* **33**: 25-28.
19. Vermeirssen, V., Van Camp, J., Decroos, K., Van Wijmelbeke, L., and Verstraete, W. (2003) The impact of fermentation and *in vitro* digestion on the formation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity from pea and whey protein. *J. Dairy Sci.* **86**: 429-438.
20. Ebrahimi, S. A., Saghaeian-Shahri, T., Shafiei, M., Rostami, P., and Mahmoudian, M. (2006) Interaction of papaverine with the enalapril-induced cough in guinea pig. *Acta. Physiol. Hung.* **93**: 71-78.

21. Elinav, E., Rabinowitz, Y., Lorberbaum, M., and Nisanewitz, V. (2004) Episodic macroglossia as the sole manifestation of angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced angioedema. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **113**: 223-224.
22. Assadi, F. K., Wang, H. E., Lawless, S., McKay, C. P., Hopp, L., and Fattori, D. (1999) Angiotensin converting enzyme inhibitor-induced angioedema: a report of two cases. *Pediatr. Nephrol.* **13**: 917-919.
23. Zervakis, J., Graham, B. G., and Schiffman, S. S. (2000) Taste effects of lingual application of cardiovascular medications. *Physiol Behav.* **68**: 405-413.

(2006년 7월 24일 접수)