

자연발증적 고혈압 흰쥐에서 무청 건조분말의 항고혈압 효과*

김보람¹ · 박지호¹ · 김선희¹ · 조강진² · 장문정^{1§}

국민대학교 자연과학대학 식품영양학과,¹ 국립농업과학원 기능성식품과²

Antihypertensive Properties of Dried Radish Leaves Powder in Spontaneously Hypertensive Rats*

Kim, Bo Ram¹ · Park, Ji Ho¹ · Kim, Sun-Hee¹ · Cho, Kang Jin² · Chang, Moon-Jeong^{1§}

¹Department of Food & Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

²Department of Functional Food & Nutrition Division, Rural National Academy of Agricultural Science, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT

The study aim was to investigate the antihypertensive effect after oral supplementation of dried radish leaves powder (DRLP). Angiotensin-converting enzyme (ACE) activity was measured by spectrophotometric assay. The systolic blood pressure (SBP) was measured in spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive rats (Wistar) by the tail cuff method after a 4-week diet with DRLP at the level of 2.5% or 5%. The supplementation of DRLP decreased SBP of SHR although the 5% supplementation level did not show any more pronounced effect than the 2.5% level did. The decrease in the SBP observed for both 2.5% and 5% DRLP was accompanied by significant increases of the urinary Na and K excretion. The DRLP supplementation showed a potent ACE-inhibitory activity in pulmonary tissue from both hypertensive and normotensive rats. However, the DRLP supplementation did not affect the SBP in normotensive rats. These results indicated that DRLP exerted an antihypertensive effect in SHR due to the decreased ACE activity and increased urinary Na excretion. (*Korean J Nutr* 2010; 43(6): 561~569)

KEY WORDS: dried radish leaves powder, blood pressure, angiotensin converting enzyme activities, hypertension.

서 론

고혈압은 동맥경화증과 함께 뇌졸중이나 심근경색증과 같은 순환기계 질환의 주요 발병 위험요인이다.^{1,2)} 우리나라의 만 30세 이상 인구의 고혈압 유병률은 2007년 24.6%에 비해, 2008년 26.0%로 증가하였으며 50대 35%, 60대 47.5%, 70대 56.8%로 연령이 높을수록 유병률이 높다.³⁾

혈압은 주로 레닌-안지오텐신 체계 (renin angiotensin system, RAS)와 바소프레신 (vasopressin) 체계에 의해서 조절된다. RAS에서 안지오텐신 I은 안지오텐신 전환효소 (angiotensin converting enzyme, ACE)의 작용에 의해 안

지오텐신 II와 디펩타이드인 His-Leu으로 분해된다. 안지오텐신 II는 혈관을 둘러싼 근육을 수축시키고, 동시에 ACE는 kinin-kallikrein 체계에서 혈관을 이완시키는 bradykinin을 불활성화시켜 혈압을 상승시킨다.⁴⁾ 따라서 선행 연구들에서 ACE의 활성을 억제하여 안지오텐신 II의 생성을 감소시킴으로서 혈압을 조절할 수 있다고 보고되어 왔다.^{5,6)} Hagiwara와 Kubo는 뇌에 존재하는 안지오텐신 II 민감성 뉴런은 안지오텐신에 의해 활성화되면서 혈압을 증가시키며, γ -amino butyric acid (GABA)는 이 뉴런의 활성 및 baroreceptor를 억제하여 혈압을 감소시켜 혈압조절에 있어서 안지오텐신 II와 GABA와의 관련성이 있음을 제시하고 있다.⁷⁾ 일부 선행연구에서 GABAnergic 체계의 기능 손상이 자연발증적 고혈압 쥐 (spontaneously hypertensive rats, SHR)에서 고혈압을 유발시키며, SHR의 경우 정상혈압인 Wistar-Kyoto (WKY)에 비해 뇌의 GABA 농도가 낮음을 보고하였다.^{8,9)} 또한 선행연구에서 GABA를 뇌에 주사하였을 때 뇌신경세포의 교감신경절을 억제하고 혈압과 심장박동수를 감소시켰다는 연구결과들이 보고되었다.¹⁰⁾

접수일 : 2010년 11월 5일 / 수정일 : 2010년 11월 15일

채택일 : 2010년 11월 25일

*This research was supported by 15 agenda research project from Rural Development Administration (project No. PJ0067-062010).

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: cmoon@kookmin.ac.kr

고혈압 치료를 위해 화학적으로 합성된 약제들이 사용되는데 중등도 이상의 고혈압 치료는 이뇨제, β -차단제, 교감신경 억제제, 혈관 확장제, 칼슘 길항제 및 ACE 저해제가 사용된다. 그러나 이들 약물의 장기복용은 혈액 점도 증가, 칼슘을 비롯한 전해질의 불균형, 신장등의 장기 손상, 심부전증 약화등의 부작용을 초래하므로,¹¹⁾ 고혈압과 관련된 심혈관계 질환을 예방하거나 완화시키기 위해 식용 식물의 성분을 이용하고자 하는 연구들이 진행되어 왔다.¹²⁻¹⁵⁾ 채소류는 항암, 항산화, 지질대사개선효과 및 다량의 섬유소로 인한 장기능 개선효과등의 기능을 갖고 있음이 보고되었고, 국내산 산채류 추출물의 항산화 효과 등 채소의 기능성 물질 및 생리적 효능에 대한 연구가 보고되고 있어 무청도 생리활성이 있음이 기대되는 식용 채소이다.

무(*Raphanus sativus* L.)는 십자화과 채소로, 유럽과 시베리아의 반온대지방이 원산지이며, 우리나라에서는 재배하여 잎과 뿌리를 식용으로 하고 있는 재배채소이다. 무청은 무의 일부분으로 무청김치로 섭취하거나 건조하여 나물이나 국 재료로 사용하고 있다. 지금까지 밝혀진 성분으로 glyconasturtiin, methyl mercaptane, mustard oil 등이 있으며, 유해활성 산소 소거능력이 있는 베타카로틴, 안토시아닌 및 glycosinolate 등을 함유하고 있어 항산화 및 항암작용등의 우수한 생리활성이 있음이 기대되는 천연물이다.^{16,17)} 무청과 관련된 선행연구들은 대부분 생리활성이 기대되는 성분분리와 관련된 연구들이 대부분이며,¹⁸⁾ 조리방법에 따른 상용채소의 무기질 함량 변화,¹⁹⁾ 무청 추출물의 항암효과, 위장내 자극과 자궁수축 활성능,²⁰⁾ 장내 자극 활성 등이 보고된 바 있다.²¹⁾

본 연구는 무청 건조분말의 섭취가 SHR의 혈압에 미치는 효과 및 관련기전 분석을 통해 무청 건조분말의 항고혈압 효과를 조사하고자 하였다.

연구방법

무청 건조분말 시료의 제조

국내산 무청을 음건한 후 열풍 순환건조기에서 60°C에서 2일간 건조후 80°C에서 다시 1일간 건조하여, 분쇄기로 분쇄한 시료를 사용하였다. 시료는 국립농업과학원 기능성 식품과에서 제조한 것을 제공받아 사용하였다.

무청 건조분말의 총 플라보노이드 함량 및 페놀함량 분석

무청 건조분말의 총 플라보노이드 함량과 페놀 함량 조사는 조제한 시료를 Marinova 등의 방법을 변형하여 측정하였다.²²⁾ 무청 건조분말내 총 플라보노이드 및 페놀 화합

물 함량의 상대적 비교를 위해 국내산 단감 및 피자두, 산수유를 동일한 조건으로 건조하여 분석하였으며 3회 반복 측정을 하였다.

실험동물의 사육과 실험식이

12주령 본태성 고혈압 동물인 spontaneously hypertensive rat (SHR, S)과 정상혈압의 Wistar (W) 종 수컷 흰쥐를 중앙 동물센터에서 구입하여 정상적인 실험실조건 (온도 22°C \pm 1, 상대 습도 65 \pm 5%, 낮밤주기 12시간)에서 물과 실험 식이를 자유급식으로 사육하였다. 1주일간의 적응 시기를 거친 후 종과 실험 식이에 따라 혈압을 기준으로 36마리의 실험동물을 난괴법에 의해 6군 (n = 6)으로 나누어 대조군은 무청 건조분말 무첨가군 (CC), 실험식이군은 2.5% 무청 건조분말첨가군 (LR)과 5% 무청 건조분말 첨가군 (HR)으로 나누어 4주간 사육하였다. 실험 식

Table 1. Composition of experimental diets (g/Kg diet)

Ingredients (g/Kg diet)	Content		
	CC ¹⁾	RL	RH
Casein, high nitrogen	140	140	140
Cornstarch	465.69	445.69	445.69
Dyetrose	155	155	155
Sucrose	100	100	100
Cellulose	50	50	50
γ -PGA		25	50
Butter oil	30	30	30
Cholesterol	0	0	0
Soybean oil	10	10	10
Mineral mix ²⁾	35	35	35
Vitamin mix ³⁾	10	10	10
Radish leaf powder			
L-Cysteine	1.8	1.8	1.8
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Tetrabutryric acid	0.01	0.01	0.01
Total mass	1000	1000	1000

1) CC (control diet), RL (2.5% dried radish leaves powder), RH (5% dried radish leaves powder) 2) Mineral mixture provides calcium carbonate, 12.5 g; sodium chloride, 2.59 g; potassium citrate, 2.48 g; potassium phosphate, 6.86 g; potassium sulfate, 1.63 g; magnesium oxide, 0.85 g; manganese carbonate, 0.02 g; ferric citrate, 0.21 g; zinc carbonate, 0.06 g; cupric carbonate, 0.01 g; potassium iodate, 0.00035 g; sodium selenite, 0.00036 g; chromium potassium sulfate, 0.01 g; ammonium paramolybdate, 0.0003 g; sodium meta-silicate, 0.05 g; lithium chloride, 0.0006 g; boric acid, 0.003 g; sodium fluoride, 0.002 g; nickel carbonate, 0.001 g; ammonium vanadate, 0.0002 g; sucrose finely powdered, 7.73 g 3) Vitamin mixture provides thiamin HCl, 0.006 g; riboflavin, 0.006 g; pyridoxine HCl, 0.007 g; nicotinic acid, 0.03 g; calcium pantothenate, 0.016 g; folic acid, 0.002 g; D-biotin, 0.0002 g; vitamin B12, 0.025 g; vitamin A palmitate, 0.008 g; DL-alpha tocopheryl acetate, 0.15 g; vitamin D3 0.002 g; vitamin K, 0.00075 g; sucrose finely ground, 9.75 g

이는 American Institute of Nutrition (AIN-93M) 식이를 기준으로 하였으며, 실험군의 식이조성은 Table 1과 같다. 무청건조분말의 첨가량은 우리나라와 식생활이 유사한 일본의 플라보노이드 섭취량 63 mg/일 (1.36 mg/kg 체중)을 근거로 하며 1일 총 플라보노이드 섭취량이 2.5% 첨가군은 1.5 mg/kg 체중, 5% 첨가군은 3 mg/kg 체중이 되는 양으로 결정하였다.²³⁾ 동물실험과 관련된 모든 절차는 국민대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 진행되었다.

혈압의 측정

실험기간 동안 electrophygomonanometer (Non invasive blood pressure measuring systems, Panlab, Spain)를 사용하여 꼬리동맥의 혈압을 tail cuff 방법에 의해 매주 측정하였다. 안정된 조건에서 혈압을 측정하기 위해 실험동물을 보정틀에 넣은 다음, 37°C에서 15분간 안정시키는 적응훈련을 1주일간 하였다. 혈압측정은 일정시간(09:00~11:00)에 37°C가 유지되는 보정틀에서 안정을 시킨 다음 적어도 5회 이상을 반복 측정하여 높은값과 낮은값을 제외한 평균값을 기록하였다.

혈액과 조직의 시료 채취

실험식이 급여 4주째 실험동물을 대사장에 1마리씩 넣은 후 대변과 소변을 48시간 동안 수집하였다. 소변의 총부피를 측정하고 50 mL로 희석하였고, 실험종료 되기 전날 부터 16시간 절식시킨 후 단두하여 혈액을 채취한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 채취하였고, 간, 신장, 폐 및 뇌를 적출한 후 드라이아이스에 급속냉동하였다. 모든 시료는 분석전까지 -70°C에 보관하였다가 생화학적 분석에 사용하였다.

생화학적 분석

ACE 활성

혈청의 ACE 활성은 Neels 등의 방법²⁴⁾에 따라 흡광계를 사용하여 분석하였다. 50 mM HEPES, 300 mM NaCl, 400 mM Na₂SO₄, 30 mM Hip-Gly-Gly를 함유한 용액 100 μ L에 10 μ L의 혈청을 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 100 μ L의 sodium tungstate (100 g/L)와 100 μ L 0.33 M H₂SO₄를 넣어 반응을 종료시켰다. 1 mL의 증류수를 넣고 2,000 \times g에서 10분간 원심분리한 상등액에 100 mM의 borate buffer와 60 mM TNBS (2, 4, 6-trinitrobenzenesulfonic acid)를 발색시약으로 넣어 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 폐와 신장조직의 ACE 활성을 측정하기 위해 100 mg의 조직을 borate buffer (pH 8.3) 5 mL을 넣고 homogenizer로 균질화한 후 33,000 \times g에서

10분간 원심분리하였다. 상등액을 새로운 시험관에 옮긴 후 나머지 침전물에 증류수 2 mL을 넣고 다시 vortex 로 혼합한 후 33,000 \times g에서 원심분리한 뒤 상등액을 처음의 상등액과 합하여 ACE 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하여 혈액의 ACE 활성 측정과 동일한 방법으로 분석하였다.

GABA 분석

혈청 및 뇌조직의 GABA 함량은 HPLC를 이용하여 Clarke 등의 방법을 변형하여 분석하였다.²⁵⁾ 뇌조직에서 대뇌, 소뇌, 뇌간을 분리한 후 무게를 측정하고, 0.1 M citric acid, 0.1 M sodium phosphate monobasic, 5.6 mM octane sulfonic acid와 10% (v/v) methanol에 용해시킨 10 μ M EDTA를 함유한 homogenizing buffer (pH 2.8)을 넣고 균질화시킨 용액을 4°C, 14,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 100 μ L 상등액을 900 μ L의 0.1M borate buffer (pH 9.5), 200 μ L 10mM potassium cyanide 용액, 200 μ L의 6mM 2,3 naphthalene dicarboxaldehyde를 첨가한 뒤 vortex로 잘 섞은 후 0.45 μ M PVDF membrane으로 filter 한 뒤 빛을 차단시킨 상태에서 10 μ L을 HPLC에 injection하여 fluorescence detector로 excitation 420 nM, emission 489 nM에서 측정하였다. 혈청내 GABA 함량 분석은 Vermeiji와 Edelbroek 등의 방법을 변형하여 사용하였다.²⁶⁾ 80 μ L의 혈청에 40 μ L의 20% trichloroacetic acid를 첨가하여 5,800rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 50 μ L에 500 μ L의 0.1 M borate buffer (pH 10)과 50 μ L의 o-phthaldehyde용액을 첨가한 뒤 vortex로 잘 혼합한 뒤 0.45 μ M PVDF membrane으로 filter 한 용액을 빛을 차단시킨 상태에서 10 μ L을 HPLC에 injection 한 뒤 fluorescence detector로 excitation 330 nM, Emission 450 nM에서 측정하였다. HPLC의 분석조건은 Lee 등의 방법을 사용하였다.²⁷⁾

Na과 K의 분석

소변과 실험식은 105°C 건조기에서 항량이 될 때 까지 건조시켜 수분을 제거한 다음 0.3 g을 취해 550~600°C 회화로에서 15시간 회화시켜 회분을 얻었다. 회분에 3 mL의 3 N HCl 용액을 넣어 용해시킨 후 15시간 후 filter paper (ashless, Whatman #40)로 여과한 다음 여과액을 300배 희석하여 inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, Agilent 750a, USA)로 Na과 K를 분석하였다. Na과 K의 배설량은 24시간당으로 계산하였다.

통계분석

동일한 종내에서 대조군과 무청건조분말 섭취군간의 유

의적 차이는 ANOVA 분석후 Duncan의 다중검정에 의해 비교하였으며, 동일한 식이를 섭취한 종간의 차이는 student t test로 유의수준 $\alpha < 0.05$ 에서 비교하였다. 자료의 값은 평균 \pm 표준오차로 표시하였다.

결 과

무청 건조 분말 및 국내산 일부 채소내 총 플라보노이드 및 페놀 화합물 함량

국내산 과일 및 무청 건조분말내 총 플라보노이드 및 페놀 함량을 비교 분석한 결과 본 연구에서 사용한 무청 건조분말내 함량이 가장 높았다.

Table 2. The concentration of total flavonoids and total phenols in dried radish leaves and various fruits (mg/100 g)

	Total flavonoids	Total phenols
Sweet persimmon	11.94	10.89
Peeled sweet persimmon	13.53	15.70
Dried persimmon	29.96	22.11
Plum fruit	26.58	23.29
Cornus fruit	61.40	36.68
Radish leaf	100.80	52.48

Table 3. Total food intake, initial body weight, body weight gain and food efficiency ratio (FER)

Group ¹⁾	Initial body weight (g)	Body weight gain (g)	Total food intake (g)	FER
WCC	352.1 \pm 4.1 ^{b2)}	83.6 \pm 4.1 ^{NS}	658.1 \pm 22.1 ^{NS}	0.12 \pm 0.01 ^{NS}
WRL	367.7 \pm 3.9 ^a	98.6 \pm 6.3	650.4 \pm 14.2	0.15 \pm 0.01
WRH	343.9 \pm 2.2 ^b	83.6 \pm 5.9	682.6 \pm 30.3	0.12 \pm 0.03
SCC	281.9 \pm 3.3 ^{a*}	69.3 \pm 6.8 ^{NS}	676.8 \pm 11.1 ^{NS}	0.10 \pm 0.01 ^{NS}
SRL	281.7 \pm 3.2 ^{a*}	78.6 \pm 5.4 [*]	679.1 \pm 8.0	0.12 \pm 0.02
SRH	271.0 \pm 5.9 ^{b*}	74.9 \pm 3.1 [*]	646.8 \pm 11.2	0.11 \pm 0.02

1) Values are Means \pm SEM for 6 rats per group 2) Values with different superscripts are significantly different in the same species as assessed by ANOVA test (p < 0.05)

WCC: Wistar, control diet, WRL: Wistar, 2.5% dried radish leaves powder, WRH: Wistar, 5% dried radish leaves powder, SCC: SHR, control diet, SRL: SHR, 2.5% dried radish leaves powder, SHR: SHR, 5% dried radish leaves powder

NS: Not significant * : p < 0.05 vs Wistar counterpart

Table 4. Systolic blood pressure of experimental rats

Group ¹⁾	Systolic blood pressure (mmHg)			
	1 wk	2st wk	3nd wk	4th wk
WCC	134.0 \pm 3.6 ^{2)NS}	134.1 \pm 7.3 ^{NS}	160.3 \pm 14.1 ^{NS}	132.3 \pm 7.8 ^{NS}
WRL	136.7 \pm 7.5	124.4 \pm 1.0	153.5 \pm 10.7	141.3 \pm 2.5
WRH	136.7 \pm 2.1	129.1 \pm 10.3	157.4 \pm 5.0	136.0 \pm 6.3
SCC	182.2 \pm 5.7 [*]	190.1 \pm 9.0 ^{a3)*}	191.6 \pm 10.8 ^{a*}	187.5 \pm 5.8 ^{a*}
SRL	186.8 \pm 12.2 [*]	178.8 \pm 7.1 ^{b*}	208.4 \pm 3.7 ^{a*}	165.8 \pm 7.6 ^{b*}
SRH	182.6 \pm 6.9 [*]	174.4 \pm 8.3 ^{b*}	186.0 \pm 3.8 ^{b*}	163.6 \pm 3.3 ^{b*}

1) Groups are same as in Table 3 2) Values are means \pm SEM for 6 rats per group 3) Values with different superscripts are significantly different in the same species as assessed by ANOVA test (p < 0.05)

NS: Not significant * : p < 0.05 vs Wistar counterpart

체중 및 체중증가량, 식이효율에 미치는 영향

자연발증적 고혈압쥐의 체중은 동일한 주령의 정상혈압 쥐인 Wistar종에 비해 유의하게 낮았다 (p < 0.01). 실험 시작 초기 체중이 각 실험군간 유의적인 차이가 있었던 것은 실험군을 혈압을 기준으로 한 난괴법으로 분류하였기 때문이었다. 2.5% 무청 건조분말 섭취군의 식이섭취량이 높은 경향이었으나 유의적인 차이는 아니었다. 실험 초기 체중은 실험군간 유의적인 차이가 있었지만 실험기간동안 총 식이섭취량과 식이효율은 유의적인 차이가 없어 2.5% 또는 5%의 무청건조분말의 첨가는 체중증가나 식이섭취량에 영향을 주지 않았음을 알 수 있었다(Table 3).

혈압에 미치는 영향

<Table 4>에 4주간 무청 건조분말섭취가 수축기 혈압에 미치는 영향을 나타내었다. 실험시작 시 수축기 혈압은 Wistar 군은 평균 134 mmHg 내외였으며, SHR군은 약 180 mmHg이었다. 실험식이 섭취 후 2주째부터 SHR군에서 무청 무첨가군의 혈압 190 mmHg에 비해 무청건조분말 섭취 시 2.5% 섭취군은 178.8 mmHg, 5% 섭취군 174.4 mmHg로 유의하게 감소하였다. 3주째 수축기 혈압은 SHR 각 실험군에서 다시 상승하여 SCC군과 SRL군간의 유의적

인 차이가 없었다. SRH군의 혈압도 상승하였으나 SRL군에 비해 SRH군의 그 상승폭이 작았다. 실험 4주째 각 실험군에서 1주째에 비해 혈압이 감소하였으며, SRL군과 SRH군의 혈압 감소효과가 커서 SCC군에 비해 유의적으로 혈압이 낮아졌다. 따라서 실험 시작시 혈압에 비해 섭취 4주째 혈압은 무청 건조분말 섭취로 인해 유의적으로 감소하여 SRL군에서 21 mmHg의 수축기 혈압이 감소하였으며, SRH군에서 약 19 mmHg의 혈압 감소가 있었다. 이 결과에서 볼 때 2.5% 섭취 시에도 혈압 감소효과가 있으며 실험기간 동안의 혈압의 변화를 볼 때 5%섭취와 2.5% 섭취의 효과는 유사한 것으로 나타났다. 정상혈압군인 Wistar 군에서는 실험 3주째 혈압의 상승이 있었으나 전 실험기간 동안 무청 건조분말섭취는 혈압에 영향을 주지 않았다.

ACE활성에 미치는 영향

<Table 5>에 폐, 신장, 혈청의 ACE 활성을 제시하였다. 무청건조분말의 섭취가 폐조직내 ACE 활성에 미치는 영향은 Wistar종과 SHR 종의 실험군에서 모두 관찰되었다. WCC는 501.6 mU, SCC군 703.1 mU였으며, WRL군 480.3 mU, SRL 671.5 mU로 폐조직 ACE 활성은 Wistar 종에 비해 SHR 군에서 높았다 (p < 0.05). 무청건조분말 섭취량에 비례하여 무청건조분말 무섭취 대조군에 비해

ACE 활성이 억제되어 SRH군의 폐조직 ACE는 동일한 식이를 섭취한 정상혈압쥐의 수준으로 낮아졌다. 이는 무청 건조분말 섭취시 Wistar종과 SHR 종에서 ACE 활성이 낮아졌으며 SRH군에서 ACE 활성 억제가 특히 컸기 때문으로 생각된다. 신장조직내 ACE 활성은 5% 첨가군에서 감소경향이 있었으나 유의성은 없었으며, 정상혈압쥐에 비해 고혈압쥐에서 높았다. 혈청내 ACE 활성은 Wistar 종과 SHR 종에서 모두 유의적인 차이가 없었다.

뇌의 GABA 농도에 미치는 영향

<Table 6>에 제시된 바와 같이 뇌의 대뇌, 소뇌 및 혈청내 GABA 농도는 Wistar 종이나 SHR 종 모두 각 실험식이 섭취군에서 유의적인 차이가 없었다. 그러나 통계적으로 유의적이지는 않았으나 Wistar 종의 대뇌와 소뇌, SHR종의 소뇌에서 무청 건조분말 섭취시 섭취량에 비례하여 뇌 GABA함량이 증가하는 경향이 있었다. Wistar 종에서 무청 건조분말 섭취량이 증가하면서 뇌간내 GABA 농도가 증가하였으며, WCC군에 비해 WRL군에서 유의적으로 높았다 (5.07 mg 대 7.60 mg). 반면 SHR 종에서는 대뇌와 뇌간내 GABA 수준이 거의 비슷한 값이었다. 무청 건조분말 섭취에 대한 뇌의 GABA 수준의 반응은 Wistar 종에서 더 민감하게 변화를 보이는 경향이 있었다.

Table 5. Effect of dried radish leaves powder on ACE activities

Group ¹⁾	Pulmonary tissue (mU/mg protein)	Kidney (mU/mg protein)	Serum (U/L)
WCC	501.6 ± 45.1 ^{2)3)a}	52.2 ± 3.0 ^{NS}	99.2 ± 6.3 ^{NS}
WRL	480.3 ± 49.5 ^{ab}	53.4 ± 5.5	87.8 ± 4.9
WRH	351.5 ± 22.1 ^b	47.6 ± 5.6	99.8 ± 4.1
SCC	703.1 ± 29.2 ^{a*}	70.9 ± 4.8 [*]	87.8 ± 3.4
SRL	671.5 ± 66.4 ^{ab*}	74.6 ± 7.4 [*]	89.2 ± 2.4
SRH	481.4 ± 38.8 ^b	59.4 ± 7.5	89.7 ± 0.8

1) Groups are same as in Table 3 2) Values are means ± SEM for 6 rats per group 3) Values with different superscripts are significantly different in the same species as assessed by ANOVA test (p < 0.05)
 NS: Not significant *: p < 0.05 vs Wistar counterpart

Table 6. Effect of radish leaf powder on GABA concentration in brain and serum

Group ¹⁾	Cerebellum (mg/g tissue)	Cerebrum (mg/g tissue)	Brain stem (mg/g tissue)	Serum (µg/mL)
WCC	6.85 ± 0.91 ^{2)NS3)}	4.13 ± 0.72 ^{NS}	5.07 ± 0.53 ^{a3)}	99.2 ± 6.3 ^{NS}
WRL	7.12 ± 1.17	5.40 ± 0.31	6.20 ± 0.35 ^{ab}	87.8 ± 4.9
WRH	8.11 ± 1.45	6.88 ± 2.39	7.60 ± 1.93 ^b	99.8 ± 4.1
SCC	6.27 ± 0.81 ^{NS}	4.68 ± 0.46 ^{NS}	5.45 ± 0.35 ^{NS}	87.8 ± 3.4 ^{NS}
SRL	7.24 ± 1.15	4.71 ± 0.54	5.89 ± 0.38	89.2 ± 2.4
SRH	8.32 ± 1.36	4.43 ± 0.45	5.68 ± 0.32	89.7 ± 0.8 [*]

1) Groups are same as in Table 3 2) Values are means ± SEM for 6 rats per group 3) Values with different superscripts are significantly different in the same species as assessed by ANOVA test (p < 0.05)
 NS: Not significant *: p < 0.05 vs Wistar counterpart

Table 7. Effect of radish leaf powder on urine constituent

Group ¹⁾	Na (mM/24h)	K (mM/24h)*
WCC	1.39 ± 0.39 ²⁾³⁾	3.29 ± 0.90 ^a
WRL	2.03 ± 0.44 ^{ab}	4.38 ± 0.89 ^b
WRH	3.07 ± 0.56 ^b	4.75 ± 1.28 ^b
SCC	1.71 ± 0.16 ^{NS}	3.83 ± 0.32 ^a
SRL	2.04 ± 0.32	4.54 ± 0.35 ^{ab}
SRH	2.29 ± 0.26	5.11 ± 0.43 ^b

1) Groups are same as in Table 3 2) Values are means ± SEM for 6 rats per group 3) Values with different superscripts are significantly different in the same species as assessed by ANOVA test (p < 0.05) NS: Not significant

뇨 Na과 K 배설량에 미치는 영향

<Table 7>에 뇨 Na과 K 배설량을 나타내었다. SHR군과 Wistar군에서 뇨 Na 배설량은 무청건조분말 섭취로 인해 증가하였으며, 특히 5% 섭취군에서 가장 높았다(p < 0.05). Wistar 대조군의 Na 배설량은 1.39 mM이었으며, 무청 건조분말 2.5% 섭취군은 2.03 mM, 5% 섭취군의 Na 배설량은 3.07 mM로 섭취량에 비례하여 배설량이 증가하였다. SHR군과 Wistar군에서 Na 배설량의 종간의 차이는 없었으며, SHR군에서도 무청 건조분말 섭취량에 비례하여 Na 배설량이 유의하지는 않았으나 증가하는 경향이였다. 뇨를 통한 K배설량도 Wistar군과 SHR군에서 모두 무청건조분말 섭취군에서 증가하였다. 뇨를 통한 K 배설이 섭취량에 비례하여 증가한 것은 식이 내 K 함량을 분석한 결과 대조군 9.29 mg/100 g, 2.5% 섭취군 10.18 mg/100 g, 5% 섭취군 12.28 mg/100 g으로 무청 건조분말내 K 함량이 높았기 때문으로 생각된다. 그러나 식이내 Na 함량은 대조군 6.24 mg/100 g, 2.5% 섭취군, 5.32 mg/100 g, 5% 섭취군 5.25 mg/100 g으로 각 실험군 식이 내 Na 함량은 오히려 대조군이 높은 편이었음에도 불구하고 뇨를 통한 Na의 배설량이 증가하여 무청 건조분말의 섭취가 뇨를 통한 Na의 배설을 증가시켰음을 알 수 있었다.

고 찰

이노제, α -와 β -차단제, Ca²⁺이온통로 차단제, 혈관확장제, ACE 억제제는 혈압을 강하시키는 효과가 크나 지질대사이상, 단백뇨 등의 부작용을 나타낼 수 있다. 이러한 이유로 많은 연구에서 천연자원으로부터 혈압을 낮추는 효과가 있는 소재를 탐색하는 연구가 진행되어 왔으며, 비록 혈압강하 효과가 약물보다는 크지 않더라도 장기간 안전하게 섭취할 수 있는 소재의 확보는 고혈압 환자의 혈압을 조절하는데 있어서 매우 중요하다

본 연구는 무청 건조분말의 섭취가 혈압에 미치는 영향을 조사하고, ACE 활성과 뇌 GABA 수준의 변화 및 뇨를 통한 Na과 K 배설량 분석을 통해 혈압을 낮추는 데 관련된 인자를 중심으로 그 기전을 밝히고자 하는 것이었다.

무청 건조분말의 섭취는 정상혈압종인 Wistar중에서는 혈압에 영향을 주지 않았으나 자연발증적 고혈압 SHR중에서는 실험 3주째 혈압 상승이 있었으나 2주째와 4주째 혈압의 감소가 있었으며 2.5% 섭취군, 5% 섭취군 모두 혈압이 감소하였다. 섭취량에 비례하여 혈압의 감소가 있었을 것으로 기대하였으나 섭취량증가에 의한 더 큰 감소 효과는 나타나지 않았다. 실험 3주째 일시적인 혈압의 상승이 있었을 때, SHR중에서 2.5% 섭취군에 비해 5% 섭취군의 혈압 상승이 가장 낮아 무청 건조분말은 혈압을 감소시키는 효과가 있음을 알 수 있었다. 본 연구에서 사용한 실험군의 플라보노이드 섭취량은 2.5% 첨가군의 경우 1일 1.5 mg/kg 체중, 5% 첨가군은 3 mg/kg 체중 수준으로 우리나라와 식생활이 비슷한 일본인의 1일 총 플라보노이드 섭취량인 63 mg/일 (1.36 mg/kg 체중)과 유사한 수준으로 이보다 2배정도 많이 섭취하였을 때 혈압감소 효과가 더 크지는 않았다.²⁹⁾

본 연구에서 무청 건조분말의 혈압감소효과와 관련된 기전을 탐색하기 위해 ACE 활성, 뇌와 혈중 GABA 농도의 측정, 뇨를 통한 Na와 K 배설량을 측정하였다. RAS는 심혈관계 생리적 기능을 조절하기 위해 체액을 조절하는 중요한 체계로, 레닌, 안지오텐신과 안지오텐신 수용체로 구성되어 있다.²⁸⁾ 레닌은 신장에서 주로 분비는 단백질 분해효소이며 안지오텐시노겐을 안지오텐신 I으로 전환시킬 수 있으며, 안지오텐신 I은 ACE에 의해 안지오텐신 II로 전환된다.²⁹⁾ 안지오텐신 II는 고혈압의 발병과 진전에 영향을 줄 수 있는 매우 중요한 화합물이다.³⁰⁾ 최근에는 RAS의 억제제를 통해 고혈압을 조절할 수 있어 RAS저해제가 고혈압 치료 및 심혈관계 합병증을 감소시킬 수 있는 약물로 사용되고 있다.³¹⁾ 본 실험결과 폐조직내 ACE 활성은 Wistar중에 비해 SHR군에서 유의하게 높아 종간의 차이가 있었으며, 높은 ACE 활성이 SHR종의 고혈압유발과 관련이 있었다. Edman 등도 안지오텐신 II는 정상혈압군의 동맥조직에 비해 SHR종의 동맥조직에서 더 강한 수축력을 나타내서 고혈압을 유발한다고 보고하여 본 연구결과와 일치하였다.³²⁾ 무청 건조분말 섭취시 섭취량에 비례하여 Wistar 종과 SHR 종에서 모두 ACE 활성이 낮아졌으며, 5% 첨가군에서는 Wistar종과 SHR 종에서 유의적인 차이가 없어져 무청 건조분말의 섭취량에 비례하여 ACE 억제 효과가 있음을 알 수 있었다. ACE에 의해 생성되는 안지오텐신 II는 혈관 수축력을 증가시키고, Na과 체액 보유량을 증가시켜 혈압을 상승시키고 심

근비대를 유발하는 물질이다.³³⁾ 레닌이 RAS의 속도제한효소이나 항고혈압 치료는 RAS의 최종 생성물인 안지오펀틴 II를 감소시키는 것을 목표로 하고 있어, ACE 활성을 억제하여 안지오펀틴 II 생성을 억제시키는 방법을 이용하여 혈압을 감소시키고 있다.³⁴⁾ 안지오펀틴 II를 생성하는 ACE는 폐의 표피조직과 신장 내피조직에서 생성되어 순환하는 효소인데 신장과 혈청에서는 무청 건조분말에 따른 ACE 활성에 영향을 주지 않았으므로 미루어 무청 건조분말은 폐에서 생성되는 ACE 활성에 더 영향을 주었다고 볼 수 있다. 정상혈압쥐인 Wistar 중에서도 안지오펀틴 전환효소의 활성이 감소되었으나 혈압 감소효과가 없어 안지오펀틴 II 생성의 억제는 SHR군에서 혈압 감소를 유도하는 것으로 생각된다. Arendshorst 등³⁵⁾은 안지오펀틴 II 길항제가 정상혈압쥐에서는 신장의 혈류량을 증가시키지 않았으며 안지오펀틴 II의 투여시 정상혈압 쥐에 비해 SHR중에서 신장혈류량의 감소가 컸고, ACE 활성 억제시 혈관저항이 SHR에서만 유의하게 감소하여 안지오펀틴 II에 대한 체내 반응이 종에 따라 다르다고 보고하였으며, Correa 등³⁶⁾은 SHR중에서 신장내 안지오펀틴 II 수용체의 농도가 정상혈압쥐에 비해 유의하게 높았다고 보고한 것으로 미루어 안지오펀틴 II 생성억제에 의한 혈압 감소효과는 SHR에서 효과적으로 나타났을 것으로 본다. Niwa 등³⁷⁾은 혈장과 신장의 ACE 농도가 유전적으로 고혈압종인 SHR에서 정상혈압쥐에 비해 낮았다고 보고 하여 본 연구결과도 이와 일치하였다.

GABAergic 뉴런의 활성화는 시상하부에 작용하여 호흡기 및 심혈관계 활성화에 영향을 준다. GABA 길항제나 GABA 합성을 억제하는 물질을 시상하부에 투여하였을 때 뚜렷한 혈압 상승을 유발하고, 심장박동수와 호흡수를 증가시켰다.^{38,39)} 안지오펀틴 II에 반응하는 뉴런이 시상하부에 존재하며, 내재하는 안지오펀틴 II에 의해 활성화될 때 혈압이 상승하며, 안지오펀틴 II에 의해 자극되는 뉴런의 반응을 억제하였을 때 혈압이 감소된다고 하였다. 시상하부에서 이들 뉴런의 활성화는 GABA에 의해 억제되며 이는 혈압 감소로 이어져 뇌에서 안지오펀틴 II와 GABA와의 관련성이 있음을 제시하고 있다.^{7,40)} 시상하부에서 안지오펀틴 II에 반응하는 뉴런은 GABA를 통해 시상하부의 GABAergic 자극의 감소를 유도한다는 보고도 있다.^{7,9)} 채소와 과일에는 존재하는 플라보노이드는 중추신경계와 말초신경계에서 다양한 생리적 기능을 갖고 있다고 보고되고 있는데, GABA_A 수용체와 결합하는 리간드 역할을 하여 중추신경계에서 GABAergic 자극을 억제한다고 보고되었다.⁴¹⁾ 그러나 본 연구에서 무청건조분말의 섭취시 소뇌에서 GABA의 농도가 증가하는 경향이었으나 SHR중이나 Wistar 중

모두에서 유의적인 효과는 나타나지 않았다.

본 실험에서 무청 건조 분말 섭취로 인한 혈압의 감소가 체내 Na 및 K배설을 통한 체액조절에 의한 것인지를 파악하기 위해 뇨 Na 및 K 배설량을 측정하였다. 무청 건조 분말 섭취는 뇨를 통한 Na 및 K 배설을 유의하게 증가시켰다. 무청 건조분말 섭취시 Wistar 중이나 SHR 중에서도 뇨 Na 및 K 배설이 증가하였으며 무청 건조분말 무섭취군에 비해 5% 섭취군에서 가장 배설량이 많았으며, Na, K 배설 효과는 정상혈압쥐에서 더 유의하게 나타났다. Qing 등은 총 폐놀화합물 함량이 높은 Luobuma 잎의 첨가식이 정상혈압쥐에서 Na와 K배설을 증가시키고 이뇨효과가 있었다고 보고하였으며, 3/4 신장절제로 고혈압을 유발시킨 동물모델에서 뇨 Na와 K 배설을 증가시켜 혈압을 감소시켰다고 보고한 바 있어 본 연구결과와 유사하였다.^{42,43)} ACE가 억제될 때 안지오펀틴 II의 생성이 감소되며, 동시에 bradykinin을 증가시켜 혈관이 확장되어 Na 배설을 촉진하여 체내 Na 배설과 함께 이뇨효과가 있다는 연구결과로 미루어 무청 건조 분말 섭취로 인한 Na 배설의 증가도 SHR에서 혈압을 감소시키는 데 영향을 주었을 것으로 본다.⁵⁾ 그러나 정상혈압쥐에서 Na 배설 증가가 있었음에도 불구하고 혈압에 영향을 주지 않았던 것은 종에 따라 안지오펀틴 II에 반응하는 혈관의 수용체수가 달랐다는 점에서 신장의 Na재흡수와 관련된 수용체에도 종간의 차이가 있을 가능성을 시사하며 관련 연구를 통해 조사할 필요가 있다.³⁵⁾

Jouad 등⁴⁴⁾은 *Spergularia purpurea* Pers.에서 추출된 플라보노이드를 SHR에 (5 mg/kg 체중)을 투여하였을 때 혈압을 강하시켰고 플라보노이드가 뇨를 통한 전해질 제거를 증가시키고, 사구체 여과율을 증가시켜 이뇨작용과 성분이 혈압을 낮추는 데 효과적이었다고 보고하였다. 본 연구에서도 여러 채소 및 과일내 총 폐놀함량과 플라보노이드 함량을 측정한 결과 무청 건조 분말내 총 폐놀 함량과 총 플라보노이드 함량이 매우 높아 무청 건조분말내 총 폐놀 및 플라보노이드 성분도 혈압을 낮추는 데 기여하였을 것으로 판단된다.

본 연구결과 무청 건조분말은 고혈압 동물모델에서 항고혈압 효과가 있으며, 체내 안지오펀틴 전환효소 활성을 억제하여 안지오펀틴 II의 생성 억제 및 뇨 Na배설 증가를 통해 혈압을 감소시키며, 이들 기전을 통한 혈압감소효과는 고혈압 동물모델에서 유효하였다.

요약 및 결론

본 연구는 무청 건조분말의 섭취가 자연발증적 고혈압쥐

(SHR)의 혈압에 미치는 영향을 살펴보고, 관련 기전으로 안지오텐신 전환효소(ACE) 활성, 뇌의 γ -aminobutyric acid (GABA)와 뇌의 Na 및 K 배설량에 미치는 영향을 분석하였다. 생후 12주령 고혈압 동물모델인 SHR과 정상혈압 동물모델인 Wistar쥐에서 무청 건조분말 무첨가식이, 2.5% 무청 건조분말식이 또는 5% 무청 건조분말 식이를 4주간 급여시켰다. 실험 기간 동안 무청 건조 분말 섭취가 식이섭취량 및 체중 증가량에는 영향을 주지 않았으며, 무청 건조분말 섭취한 SHR군에서 유의하게 혈압이 감소되었으며, 2.5% 와 5% 섭취간의 차이는 없었다. 폐조직의 ACE 활성은 Wistar중에 비해 SHR 군에서 높았으며, 무청 건조 분말 섭취시 섭취량에 비례하여 중에 상관없이 억제되었으며 SHR군 5% 섭취군에서 가장 억제가 되었다. 신장 및 혈청내 ACE 활성은 각 실험군간의 통계적 유의성이 없었다. 뇌의 GABA 함량은 Wistar중의 뇌간에서 섭취량에 비례하여 증가하였으며 다른 실험군에서는 무청 건조분말 섭취시 섭취량에 비례하여 대뇌, 소뇌 내에서 유의적인 차이는 없었으나 GABA 농도가 증가하는 경향이였다. 한편 뇌의 Na 배설량도 무청 건조분말 섭취로 인해 증가하는 경향이였으며, 정상 혈압쥐에서 무청 건조 분말 섭취로 인한 Na 배설량은 통계적으로 유의하였다. 본 연구 결과 무청 건조 분말의 섭취는 ACE 활성을 억제하고 뇌 Na 배설량을 증가시키는 효과가 있었으며 이로 인한 혈압 감소는 자연발증적 고혈압 쥐에서 유효하게 나타나 고혈압질환을 개선시킬 수 있는 식품소재로서의 가능성이 있음을 나타내었다.

Literature cited

- 1) Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data. *Lancet* 2005; 365: 217-223
- 2) Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander Hoorn S, Murray CJ, Comparative Risk Assessment Collaborating Group. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet* 2002; 360: 1347-1360
- 3) Ministry of Health and Welfare, KHANES IV 2nd year report; 2008, p.50
- 4) Ames RP. Insights from Laragh's review course: the role of the renin-angiotensin system in blood pressure regulation. *Am J Hypertens* 2001; 15(7 Pt 1): 653-654
- 5) Saito Y, Nakamura K, Kawato K, Imayasu S. Angiotensin I converting enzyme inhibitors in sake and its by-products. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 1992; 66: 1081-1087
- 6) Okamoto A, Hanagata H, Matsumoto E, Kawamura Y, Koizumi Y, Yanagida F. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activities of various fermented foods. *Biosci Biotechnol Biochem* 1995; 59: 1147-1149
- 7) Hagiwara Y, Kubo T. γ -Aminobutyric acid in the lateral septal area is involved in mediation of the inhibition of hypothalamic angiotensin II sensitive neurons induced by blood pressure increases in rats. *Neurosci Lett* 2007; 419: 242-246
- 8) Shonis CA, Waldrop TG. Augmented neuronal activity in the hypothalamus of spontaneously rats. *Brain Res Bull* 1993; 30: 45-52
- 9) Shonis CA, Peano CA, Dillon GH, Waldrop TG. Cardiovascular response to blockade of GABA synthesis in the hypothalamus of the spontaneously hypertensive rat. *Brain Res Bull* 1993; 31: 493-499
- 10) Singewald N, Schneider C, Philippu A. Disturbances in blood pressure homeostasis modify GABA release in the locus coeruleus. *Neuroreport* 1994; 5: 1709-1712
- 11) Waeber B, Bruner HR. A look through the new therapeutic window: irbesartan. *J Hypertens Suppl*; 16: S11-S16
- 12) Luo LF, Wu WH, Zhou YJ, Yan J, Yang GP, Ouyang DS. Antihypertensive effect of eucommia ulmoides oliv. extracts in spontaneously hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 2010; 129(2): 238-243.
- 13) Kwan CY. Vascular effects of selected antihypertensive drugs derived from traditional medicinal herbs. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 1995; 22(1): S297-S299.
- 14) Sutter MC, Wang YX. Recent cardiovascular drugs from Chinese medicinal plants. *Cardiovasc Res* 1993; 27(11): 1891-1901
- 15) Gillis CN. Panax ginseng pharmacology: A nitric oxide link? *Biochem Pharmacol* 1997; 54(1): 1-8
- 16) Schmidlein H, Herrmann K. On phenolic acids of vegetables. I. hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids of brassicaceae and leaves of other cruciferae. *Z Lebensm Unters Forsch* 1975; 159(3): 139-148
- 17) Sgherri C, Cosi E, Navari-Izzo F. Phenols and antioxidative status of raphanus sativus grown in copper excess. *Physiol Plant* 2003; 118(1): 21-28
- 18) Ku KH, Lee KA, Kim YE. Physiological activity of extracts from radish (*Raphanus sativus* L.) leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2008; 37(3): 390-395
- 19) Han JS, Kim JS, Kim MS, Choi YH, Minamide T, Huh SM. Changes on mineral contents of vegetable by various cooking methods. *Korean J Soc Food Sci* 1999; 15: 382-387
- 20) Ghayur MN, Gilani AH. Gastrointestinal stimulatory and uterotonic activities of dietary radish leaves extract are mediated through multiple pathways. *Phytother Res* 2005; 19(9): 750-755
- 21) Gilani AH, Ghayur MN. Pharmacological basis for the gut stimulatory activity of raphanus sativus leaves. *J Ethnopharmacol* 2004; 95(2-3): 169-172
- 22) Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J Univ Chem Technol Metall* 2005; 40(3): 255-260
- 23) Chun OK, Chung SJ, Song WO. Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults. *J Nutr* 2007; 137(5): 1244-1252
- 24) Neels HM, van Sande ME, Scharpe SL. Sensitive colorimetric assay for angiotensin converting enzyme in serum. *Clin Chem* 1983; 29(7): 1399-1403

- 25) Clarke G, O'Mahony S, Malone G, Dinan TG. An isocratic high performance liquid chromatography method for the determination of GABA and glutamate in discrete regions of the rodent brain. *J Neurosci Methods* 2007; 160 (2): 223-230
- 26) Vermeij TA, Edelbroek PM. Simultaneous high-performance liquid chromatographic analysis of pregabalin, gabapentin and vigabatrin in human serum by precolumn derivatization with o-phthalaldehyde and fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004; 810 (2): 297-303
- 27) Lee HS, Chang MJ, Kim SH. Effects of poly- γ -glutamic acid on serum and brain concentrations of glutamate and GABA in diet-induced obese rats. *Nutr Res Pract* 2010; 4 (1): 23-29
- 28) Peach MJ. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiol Rev* 1977; 57 (2): 313-370
- 29) Soubrier F, Wei L, Hubert C, Clauser E, Alhenc-Gelas F, Corvol P. Molecular biology of the angiotensin I-converting enzyme: II. Structure-function. Gene polymorphism and clinical implications. *J Hypertens* 1993; 11 (6): 599-604
- 30) de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger TH. International Union of pharmacology. XXIII. The angiotensin receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415-472
- 31) Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Hypertension* 2003; 42 (6): 1206-1252
- 32) Endemann D, Touyz Rm, Li JS, Deng LY, Schiffrin EL. Altered angiotensin II-induced small artery contraction during the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1999; 12 (7): 716-723
- 33) Remuzzi G, Perico N, Macia M, Ruggenenti P. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2005; 99: S57-S65
- 34) Azizi M, Webb R, Nussberger J, Hollenberg NK. Renin inhibition with aliskiren: where are we now, and where are we going? *J Hypertens* 2006; 24 (2): 243-256
- 35) Arendshorst WJ, Chatziantoniou C, Daniels FH. Role of angiotensin in the renal vasoconstriction observed during the development of genetic hypertension. *Kidney Int Suppl* 1990; 30: S92-S96
- 36) Correa FMA, Viswanathan M, CIUFFO GM, Tsutsumi K, Saavedra JM. Kidney angiotensin II receptors and converting enzyme in neonatal and adult wistar-kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Peptides* 1995; 16 (1): 19-24
- 37) Niwa A, Israel A, Saavedra JM. Pindolol decreases plasma angiotensin-converting enzyme activity in young spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1985; 110 (1): 133-136
- 38) Dillon GH, Shonis CA, Waldrop TG. Hypothalamic GABAergic modulation of respiratory responses to baroreceptor stimulation. *Respir Physiol* 1991; 85 (3): 289-304
- 39) DiMicco JA, Abshire VM. Evidence of GABAergic inhibition of a hypothalamic sympathoexcitatory mechanism in anesthetized rats. *Brain Res* 1987; 402: 1-10
- 40) Hagiwara Y, Kubo T. γ -Aminobutyric acid in the lateral septal area is involved in mediation of the inhibition of hypothalamic angiotensin II-sensitive neurons induced by blood pressure increases in rats. *Neurosci Lett* 2007; 419 (3): 242-246
- 41) Adachi N, Tomonaga S, Tachibana T, Denbow DM, Furuse M. (-)-Epigallocatechin gallate attenuates acute stress responses through GABAergic system in the brain. *Eur J Pharmacol* 2006; 531 (1-3): 171-175
- 42) Qian ZN, Song LH, Gu ZL, Chen BQ, Zhang KP, Li Hz, Peng YK. An experimental observation on the diuretic effect of an extract of Luobuma (*Apocynum genetum*) leaves. *Zhong Yao Tong Bao* 1988; 13 (10): 44-46
- 43) Kim D, Yokozawa T, Hattori M, Kadota S, Namba T. Effects of aqueous extracts of *Apocynum genetum* leaves on spontaneously hypertensive, renal hypertensive and NaCl-fed-hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 2000; 72 (1-2): 53-59
- 44) Jouad H, Lacaille-Dubois MA, Lyoussi B, Eddouks M. Effects of the flavonoids extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on arterial blood pressure and renal function in normal and hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 2001; 76 (2): 159-163