

오가피열매 주정추출물, DHP1501의 ACE 억제 및 eNOS 활성화를 통한 항고혈압 효능

김하늘¹ · 김혜민¹ · 장준희¹ · 윤경은¹ · 이영근³ · 백남인³ · 이대영⁴ · 정인호^{1,2*}
¹대화제약(주), ²경희대학교 나노의약생명과학과, ³경희대학교 생명공학원,
⁴농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작이용팀

Anti-hypertensive Effects of DHP1501, Ethanolic Extracts from *Eleutherococcus sessiliflorus* Fruits, via Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme and Activation of Endothelial Nitric Oxide Synthase

Haneul Kim¹, Hye Min Kim¹, Jun Hee Jang¹, Koung Eun Yoon¹, Yeong-Geun Lee³,
Nam-In Back³, Dae Young Lee⁴, and In Ho Jung^{1,2*}

¹Daehwa Pharmaceutical Co., Ltd., Seongnam 13488, Korea
²Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Kyung Hee University, Seoul 02447, Korea
³Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 17104, Korea
⁴Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumseong 27709, Korea

Abstract – The fruits of *Eleutherococcus sessiliflorus* (Rupr. & Maxim.) S. Y. Hu (Araliaceae), as edible fruits, were traditionally used for ingredients of wine or tea in Eastern Asia. In addition to, the fruits of *E. sessiliflorus* were known for having antioxidant and anti-inflammatory effects. Recently, we investigated that the ethanolic extracts of *E. sessiliflorus* fruits (DHP1501) have effects on hypertension via vasorelaxation and decrease of blood pressure. In the present study, we investigated that the gene and protein expression levels of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) was increased by treatment of DHP1501 in HUVECs. Moreover, we confirmed the angiotensin converting enzyme inhibitory activity of DHP1501 through *in vitro* tasks. Therefore, DHP1501 could be a candidate of functional food for alleviating hypertension.

Keywords – *Eleutherococcus sessiliflorus* fruits, Hypertension, Endothelial nitric oxide synthase, Angiotensin converting enzyme

고혈압은 대표적인 성인 만성질환으로, 수축기 혈압 140 mmHg, 이완기 혈압 90 mmHg 이상인 경우를 말하며 뇌졸중, 심장마비, 신부전, 부정맥, 심근경색, 혈관성 치매 등 치명적인 질환을 유발하는 원인 중 하나이다.¹⁻³⁾ 고혈압은 일차(본태성) 고혈압 및 이차 고혈압으로 분류되는데,⁴⁾ 환자 중 90~95%는 생활 습관 또는 유전적 요인에 기인한 본태성 고혈압이다.⁵⁾

현재 우리나라 만성질환 중 고혈압 유병률이 가장 높으며, 점차 증가하는 추세이다.⁶⁾ 최근 보건복지부 발표에 따르면 고혈압 유병률은 약 29.1%로, 이는 당뇨병, 고콜레스테롤혈증 등 다른 만성질환에 비해 약 1.5~4배 높은 수치이

다.⁶⁾ 뿐만 아니라, 고령화의 가속으로 인하여 향후 고혈압 유병률이 점차 증가할 것으로 예상되며,⁷⁾ 이는 심각한 보건 사회적 문제를 초래할 것으로 사료된다. 따라서, 고혈압을 효율적으로 예방 및 관리할 수 있는 다양한 치료방법을 탐색하는 것이 시급한 실정이다.

지금까지 개발된 고혈압 치료제는 captopril, enalapril로 대표되는 안지오텐신 전환효소(Angiotensin converting enzyme, ACE) 억제제가 있으며, 이외에도 안지오텐신 수용체 차단제, 칼슘 통로 차단제, β 길항제, thiazide 이뇨제, loop 이뇨제 등이 있다.⁸⁾ 하지만, 앞서 언급한 고혈압 치료제들은 여러 부작용(adverse effects)이 보고되어 있으며, 공통적으로 저혈압, 현기증, 부종 등이 나타난다고 알려져 있다.⁹⁾ 그 중 ACE 억제제 및 안지오텐신 수용체 차단제는 고

*교신저자(E-mail): inhojung@dhpharm.co.kr
(Tel): +82-31-8039-7123

칼륨혈증, 신장 장애 등 위해 작용이 보고되었으며,¹⁰⁾ 특히 안지오텐신 수용체 차단제는 임신부가 복용 시 태아의 발달 장애를 초래 할 수 있다는 연구 결과가 보고된 바 있다.¹¹⁾

오갈피나무[*Eleutherococcus sessiliflorus* (Rupr. & Maxim.) S. Y. Hu, 오가피]는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 식물로 한국, 중국, 우수리, 아무르 등지에 분포하며,¹²⁾ 잎, 열매, 줄기 및 뿌리 껍질이 식품 공전에 식용소재로 등재되어 있다.¹³⁾ 이 중 오가피 열매(五可子, 오가자)는 전통적으로 풍을 치료하는 약재로 사용되었으며, 본초강목에서 풍을 쫓는 사자(秋風辭, 추풍사)로 언급된 바 있다.¹⁴⁾ 오가피 열매의 주요 성분으로는 chiisanoside, hyperin, olenolic acid, eleutheroside B, eleutheroside E, chlorogenic acid, protocatechuic acid 등의 화합물이 함유되어 있다고 알려져 있으며,^{15,16)} 최근 연구결과에 의하면 오가피 열매 추출물의 항염증, 항산화, 항암 등 다양한 약리작용이 보고되었으나,¹⁷⁻¹⁹⁾ 오가피 열매의 혈압 강하 작용에 대해서는 많이 알려진 바가 없다.

본 연구진은 선행 연구를 통해 오가피 열매 추출물의 micropig 관상동맥에서의 혈관 확장 효능과 선천성고혈압동물모델(Spontaneously hypertensive rats, SHR)에서 혈압 강하 효능 및 혈장 중 ACE의 함량 감소를 확인하였다.²⁰⁾ 혈압 상승과 관련된 요인으로는 혈관내피산화질소합성효소(Endothelial nitric oxide synthase, eNOS)와 ACE 등이 있으며,²⁰⁻²²⁾ 이 중 eNOS는 혈관 내피에서 미량 발현되는 혈관의 산화질소(Nitric oxide, NO) 생성 작용을 수행하는 효소로, 이를 통해 혈압 강하 작용을 유도할 수 있다.^{21,22)} 또한, ACE는 Angiotensin I을 혈압 상승 작용이 있는 Angiotensin II로 전환하는 기능을 수행하며, ACE가 저해 시 Angiotensin I이 Angiotensin II로 전환되는 작용을 차단하여 혈압 상승 작용을 억제할 수 있다.²³⁾

따라서, 본 연구에서는 오가피 열매 추출물의 혈관 확장 및 항고혈압 작용 기전을 검증하기 위해 Quantitative Real Time PCR(qRT-PCR)을 통한 eNOS의 유전자 발현 및 Western blot을 통한 eNOS의 단백질 발현 변화를 평가하였으며, 혈압 강하 작용에 대한 기전을 규명하고자 오가피 열매 추출물 처리 시 ACE 활성 억제 여부를 평가하였다.

재료 및 방법

기기 및 시약 - 혈관내피세포(Human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)는 American Type Culture Collection(Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. 세포 배양 배지는 Lonza(Basel, Switzerland)의 EGMTM-2 Medium과 EGMTM-2 Single QuotsTM kit를 혼합하여 사용하였다. 세포 활성도 평가를 위한 EZ-Cytox kit는 DOGENBIO(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 흡광도 측정은 TECAN(Männedorf,

Switzerland)의 SPARK 10M 기기를 이용하였다. RNA 정제는 GeneAll(Seoul, Korea)의 Ribospin kit를, PCR 실험에는 Qiagen(Hilden, Germany)의 Reverse Transcriptase kit 및 SYBR reagent를 사용하였으며, Qiagen의 Rotor-Gene Q 기기를 이용하여 유전자 발현 변화를 측정하였다. Western blot 샘플 제작을 위하여 Roche(Basel, Switzerland)의 Protease Inhibitor Cocktail과 Sigma Aldrich(Saint Louis, MO, USA)의 RIPA buffer를 사용하였고, ThermoFisher Scientific(Waltham, MA, USA)의 PierceTM BCA Protein assay kit를 사용하여 단백질 정량을 수행하였다. Western blot 실험 수행에 사용된 anti-eNOS는 Cell Signaling Technology(Danvers, MA, USA)에서, anti-β-actin 및 goat-anti-rabbit IgG는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서, enhanced chemiluminescence는 Amersham(Little Chalfont, England)에서 구입하였으며, 단백질 발현 변화는 Davinchi-K(Seoul, Korea)의 Davinchi-chemiTM 기기로 측정하였다. ACE 억제 활성을 평가에 사용된 rabbit lung acetone powder, hippuryl-histidyl-leucine과 양성대조군으로 사용된 enalapril은 Sigma Aldrich에서 구입하였으며, 흡광도 측정을 위하여 Agilent Technologies(Santa Clara, CA, USA)의 UV-spectrophotometer를 사용하였다. 그 외 다른 모든 시료는 시중에서 구할 수 있는 최상 등급의 제품을 사용하였다.

오가피 열매 추출물 제조 - 본 실험에서 사용한 오가피 열매는 강원도 정선에서 재배되었으며, 경희대학교 생명공학원 백남인 교수가 감별하였다. 대조표본(NIHHS1501)은 농촌진흥청 국립원예특작과학원의 식물표본실에 보관되어 있다. 오가피 열매 추출물의 제조공정은 다음과 같이 진행되었다. 오가피 열매를 50% 주정으로 70°C에서 6시간 동안 1차 추출한 후 70°C에서 3시간 동안 2차 추출하였다. 추출 종료 후, 추출액은 5 μm의 여과지에 여과한 후, 감압증류장치를 이용하여 10-15 brix까지 농축하였다. 다음으로, 80-90°C에서 1시간 동안 멸균처리 후 최종적으로 -30°C에서 100 mTorr 압력으로 24시간 동안 동결건조를 수행하여 수득한 DHP1501(오가피열매50%주정추출물건조엑스)을 실험에 사용하였다.

세포주 배양 - HUVECs는 EGMTM-2 Medium과 EGMTM-2 Single QuotsTM kit를 혼합한 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였으며, 4일 주기로 계대배양하여 실험을 진행하였다.

Cell Viability Assay - 시험물질 처리에 의하여 HUVECs의 세포활성도(Cell viability) 변화를 평가하기 위해 EZ-Cytox kit를 사용하였다. 96 well plate에 5×10⁴ cells/mL로 각 well에 200 μL 분주하여 24시간 37°C, 5% CO₂의 조건으로 배양하였다. 다음으로, 시험물질(0.2, 2, 20, 200, 500, 1000 μg/mL)이 희석된 배지로 교체한 후 24시간 37°C, 5% CO₂의 조건으로 배양하였다. 배양 후, 각 well에 20 μL의

EZ-cytox 용액을 첨가하여 4시간 배양한 뒤 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 활성도를 산출하였다.

RNA Isolation – HUVECs를 6 well plate에 1×10^5 cells/mL의 농도로 균질하게 3 mL를 처리한 뒤 72시간 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양 후 각 군별로 3, 6, 9, 12시간 동안 시험물질(200 µg/mL)이 희석된 배지를 처리하였다. 배양이 끝난 후 시험물질을 처리한 세포에서 순수한 RNA를 정제하기 위해 Ribospin kit를 이용하였다. 400 µL의 인산완충용액(Phosphate buffered saline, PBS)으로 1회 세척 후 세포를 수집하여 3,000 rpm으로 5분간 원심분리 후 상층액을 제거하였다. 1 mL 당 10 µL의 β-mercaptoethanol이 섞인 400 µL의 lysis 용액을 넣어 상온에서 5분간 세포 pellet을 용해한 후 상온에서 14,000 rpm으로 30초간 원심분리하였다. 다음으로, RNA 세척 완충용액을 넣은 후 14,000 rpm으로 30초간 원심분리하였다. 마지막으로 50 µL의 nuclease-free water를 넣고 상온에서 1분간 배양한 뒤, 14,000 rpm으로 1분간 원심분리하여 순수한 RNA를 얻었다.

Quantitative Real Time PCR – Reverse Transcriptase kit를 이용하여 총 부피 20 µL 중 template RNA의 양이 1 µg 되도록 설정한 뒤, 시료를 42°C 15분, 95°C 3분간 처리하여 cDNA를 합성하였다. qRT-PCR은 SYBR reagent를 이용하여 진행하였다. qRT-PCR 과정은 Rotor-Gene Q 기기를 이용하여 수행하였으며, denaturation을 95°C 5분간 진행 후, PCR cycle을 95°C 15초, 55°C 15초, 72°C 20초로 설정하여 40 cycle을 진행하였다. 본 실험에서 사용된 primer 염기 서열은 Table I과 같다.

Western Blot – HUVECs를 6 well plate에 1×10^5 cells/mL의 농도로 균질하게 3 mL를 처리한 후 72시간 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양 후 시험물질(200 µg/mL)이 희석된 배지로 교체하고 9시간 후 세포를 수집하였다. 수집한 세포를 Protease Inhibitor Cocktail 1 tablet을 50 mL의 RIPA buffer로 희석하여 각 well에 300 µL 20분간 처리하였다. 다음으로 14,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상층액을 취하여 PierceTM BCA Protein assay kit를 사용하여 단백질을 정량하였다. 다음으로, 단백질(10 µg)을 SDS-polyacrylamide gel (10%)에 loading 후 전기영동을 실시하였다. 단백질을 PVDF membrane에 transfer buffer[192 mM glycine 및 20% v/v methanol을 포함하는 25 mM Tris-HCl(pH 7.4)]를 처리한 후, 25V에서 15분간 단백질을 semi-dry transfer하였다.

Transfer 후 membrane을 상온에서 2시간 동안 blocking solution(5% skim milk)으로 blocking을 실시한 다음 1:1000으로 희석한 eNOS 1차 항체를 가하여 4°C에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 membrane을 Tris-buffered saline/Tween 20으로 5회 세척한 뒤 1:2000으로 희석한 2차 항체로 2시간 동안 배양하였다. 2시간 후 membrane에 enhanced chemiluminescence를 처리한 뒤 Davinchi-chemiTM를 이용하여 분석하였다.

ACE Inhibition Assay – ACE 저해효과 측정은 아래의 방법에 의하여 수행하였다. ACE 조효소액은 0.4 M NaCl을 함유하는 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3) 1 L에 1 g rabbit lung acetone powder를 첨가한 후 24시간 동안 4°C에서 교반한 뒤 30분간 4°C 10,000 rpm에서 원심분리한 상등액을 취하여 사용하였다. 실험군은 2, 20, 200 µg/mL 농도로 희석된 DHP1501 10 µL, 12.5 mM hippuryl-histidyl-leucine 100 µL, 0.1 M sodium borate buffer 40 µL를 혼합하여 5분간 배양하였으며, 대조군은 DHP1501 대신 조효소액 10 µL를, 양성대조군은 10 µg/mL 농도로 희석된 ACE 저해제 enalapril 10 µL를 혼합하여 5분간 배양하였다. 다음으로, 조효소액 150 µL를 첨가한 뒤 37°C에서 60분간 배양하였다. 배양이 끝난 후 0.5 N HCl 250 µL 첨가하여 반응을 중지시킨 뒤 1.2 mL의 ethyl acetate를 첨가하여 1분간 배양하였다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상등액 1 mL를 취하여 120°C에서 용매를 열풍건조 하였다. 건조 후 남은 잔사에 3 mL의 1 M NaCl 첨가하여 용해시킨 뒤 UV-spectrophotometer를 이용하여 228 nm에서 흡광도를 측정 한 후 아래의 식에 의해 ACE 활성도(%)를 계산하였다.

$$\text{ACE 활성도(\%)} = 1 - \left[\frac{\text{시료흡광도} - \text{시료 blank 흡광도}}{\text{대조군 흡광도} - \text{대조군 blank 흡광도}} \right] \times 100$$

통계처리 – 모든 실험 결과는 Mean±Standard Deviation (S.D.)로 나타내었다. Cell viability assay, qRT-PCR 및 ACE inhibition assay 실험 결과는 일원분산분석(One-way Analysis of variance, One-way ANOVA)을 이용하여 통계 처리하였고, Student-*t*-test를 이용하여 95% 신뢰 수준 이하에서 구간 유의성 검정을 실시하였다. Western blot 실험 결과는 student-*t*-test를 이용하여 통계 처리하였고, Mann-Whitney 방법을 이용하여 95% 신뢰 수준 이하에서 구간 유의성 검정을 실시하였다.

Table I. Sequence of the primers used for quantitative real-time PCR

Gene		Primer sequence (5'-3')
eNOS	Forward	GCA TCC CTA CTC CCA CCA
	Reverse	TTC TTC ACA CGA GGG AAC TTG
GAPDH	Forward	GCC CAA TAC GAC CAA ATC C
	Reverse	AGC CAC ATC GCT CAG ACA C

결과 및 고찰

Cell Viability Assay – HUVECs에서 DHP1501 처리에 의한 세포 활성도에 미치는 영향을 확인하기 위하여 Cell viability assay를 실시하였다. 0.2, 2, 20, 200, 500, 1000 µg/mL 농도 처리 시 HUVECs의 세포 활성도는 각 101.30±7.237, 95.97±3.488, 99.67±7.727, 103.90±6.669, 53.48±9.655, 18.40±1.111%이었다(Fig. 1). 실험 결과 DHP1501 0.2-200 µg/mL 농도에서는 세포 활성도에 영향을 주지 않았으며, 500 및 1000 µg/mL 농도의 DHP1501은 세포 활성도를 유의적으로 저해하였다($p<0.001$, Fig. 1). 이러한 결과를 토대로, DHP1501 처리 농도를 200 µg/mL으로 설정하여 실험을 수행하였다.

DHP1501의 eNOS 발현 증가 작용 – DHP1501의 NO 생성 증가에 따른 혈관 확장 작용의 기전을 규명하기 위해 먼저 HUVECs에서 eNOS의 유전자 발현 변화를 평가하였다. 200 µg/mL의 DHP1501을 각 3, 6, 9, 12시간 처리 후 수집한 샘플의 eNOS 유전자 발현 변화량을 측정된 결과, 9, 12시간 처리 후 수집한 샘플에서 대조군 대비 유의적인 eNOS 유전자 발현 증가가 관찰되었다($p<0.001$, Fig. 2).

상기의 결과를 고려하여, DHP1501 9시간 동안 처리한 HUVECs에서 eNOS의 단백질 발현 변화를 평가하였다. 실험 결과, DHP1501을 9시간 동안 처리한 샘플에서 eNOS 단백질 발현 역시 유의적으로 증가한 것을 확인하였다 ($p<0.05$, Fig. 3). 이는 선행 연구에서 HUVECs에 동일한 농도의 DHP1501 처리 시 NO의 유의적인 생성 증가 작용 및 DHP1501을 처리한 micropig 관상동맥에서 혈관 확장 작용의 기전이 eNOS 발현 증가에 의한 것임을 규명하였다.²⁰⁾

DHP1501의 ACE 저해 작용 – ACE inhibition assay를 수행하여 DHP1501의 처리가 직접적으로 ACE 활성을 저

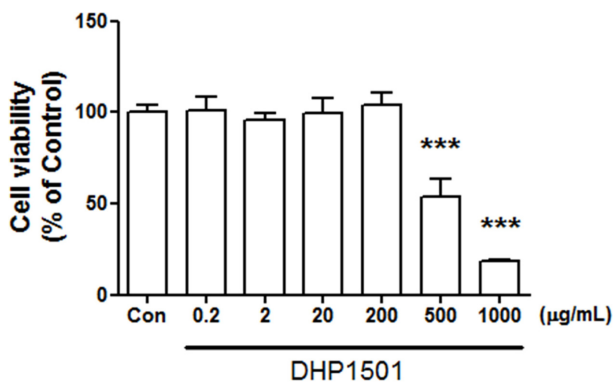


Fig. 1. Effects of the DHP1501 (0.2, 2, 20, 200, 500 and 1000 µg/mL) on cell viability in HUVECs. The cell viability was expressed as percentage versus vehicle-treated control (%), and values were expressed as the mean±S.D. (n=4/group) (***) $p<0.001$, versus the vehicle-treated control).

해하는지 평가하였다. 실험 결과, DHP1501을 200 µg/mL 농도로 처리한 실험군에서 대조군 대비 43.95±4.517%의 ACE 활성을 나타냈으며, 양성대조군 수준 정도의 ACE 활성 억제능에는 미치지 못하였으나 대조군에 비하여 유의적

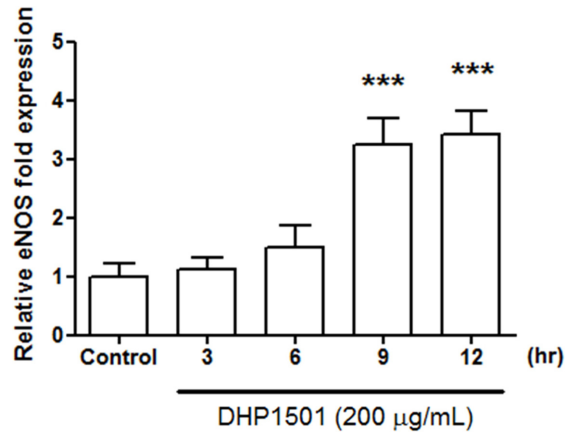


Fig. 2. Effects of the DHP1501 (200 µg/mL) on the expression levels of eNOS in the HUVECs. The levels of eNOS mRNA were determined by qRT-PCR analysis. GAPDH was used as an internal control. eNOS signals were normalized to GAPDH mRNA levels and expressed as ratios. Data represented the mean±S.D. (n=3-4/group) (***) $p<0.001$, versus the vehicle-treated control).

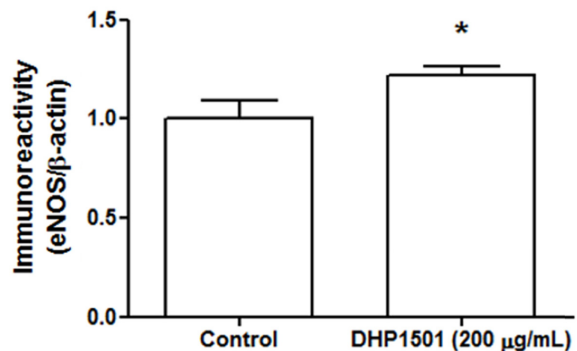
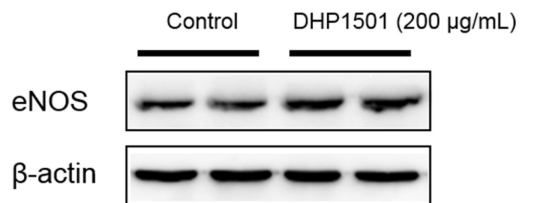


Fig. 3. Effects of the DHP1501 (200 µg/mL) on the expression levels of eNOS in the HUVECs. The immunoreactivity and quantitative analysis of expression levels of eNOS were presented. The densitometric analysis of ratios of eNOS/β-actin was normalized to the control group. Data represented the mean±S.D. (n=4/group) (* $p<0.05$, versus the vehicle-treated control).

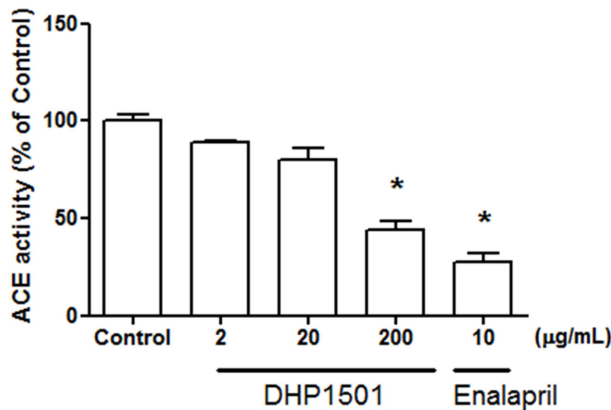


Fig. 4. ACE inhibitory effects of DHP1501 (2, 20 and 200 µg/mL). The ACE activity was expressed as percentage versus vehicle-treated control (%). Data represent the mean±S.D. (n=3/group) (* p <0.05, versus the vehicle-treated control).

으로 ACE 활성이 저해됨을 확인하였다(p <0.05, Fig. 4). 이는 DHP1501 투여한 SHR에서 확인된 혈압 강하 작용 및 혈장 중 ACE 농도가 감소한 선행 연구 결과를 종합하여 고려해 볼 때, DHP1501가 ACE 활성을 억제하여 실험동물의 혈압 강하 작용을 유도하는 것이라 사료된다.²⁰⁾

결 론

본 연구에서는 DHP1501(오가피열매 50%주정추출물건조엑스)의 항고혈압 기전을 qRT-PCR, Western blot 및 ACE inhibition assay를 통해 확인하고자 하였다. 이를 통해 eNOS 발현 증가를 통한 혈관 확장 작용 및 ACE 활성 저해 작용에 의한 혈압 강하 작용을 확인하였으며, 이는 선행 연구를 통해 확인된 SHR에서 DHP1501의 수축기 및 이완기 혈압 강하 작용에 대한 기전을 명확하게 규명한 결과로 판단된다. 상기의 결과를 통해 오가피 열매의 항고혈압 효능 및 새로운 소재로서의 개발 가능성을 확인하였다. 또한, 본 원료가 식품공전에 등재된 식용 가능한 소재임을 고려할 때 여러 부작용이 보고된 기존 고혈압 치료제들을 보완할 수 있는 소재로 활용될 수 있으며, 특히 혈압 저하에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품으로의 개발이 가능한 소재로 활용 가치가 풍부하다고 사료된다.

사 사

이 논문은 농촌진흥청 농축산물부가가치향상기술개발사업인 ‘오가피 열매 혈관건강개선 건강기능성 성분 프로파일 구축 및 기능성 식품원료 개발’ 과제로부터 지원받아 수행된 과제임(PJ011333).

인용문헌

- Ong, K. L., Cheong, B., Man, Y. B., Lau, C. P. and Lam, K. (2006) Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension among United States adults 1999-2004. *Hypertension* **49**: 69-75.
- Abegaz, T. M., Shehab, A., Gebreyohannes, E. A., Bhagavathula, A. S. and Elnour, A. A. (2017) Nonadherence to antihypertensive drugs: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* **96**: e5641.
- Kjeldsen, S. E. (2018) Hypertension and cardiovascular risk: General aspects. *Pharmacol. Res.* **129**: 95-99.
- Poulter, N. R., Prabhakaran, D. and Caulfield, M. (2015) Hypertension. *The Lancet* **386**: 22-28.
- Carretero, O. A. and Oparil, S. (2000) Essential hypertension. Part I: Definition and etiology. *Circulation* **101**: 329-335.
- 2016 국민건강통계. (2016) 보건복지부 질병관리본부. Available from: http://www.index.go.kr/potal/main/EachDtlPageDetail.do?idx_cd=1438
- Sun, Z. (2015) Aging, arterial stiffness, and hypertension. *Hypertension* **65**: 252-256.
- Jackson, R. E. and Bellamy, M. C. (2015) Antihypertensive drugs. *BJA education* **15**: 280-285.
- Joshi, V. D., Dahake, A. P. and Suth, A. P. (2010) Adverse effects associated with the use of antihypertensive drugs: An overview. *Int. J. Pharmtech. Res.* **2**: 10-13.
- Schoolwerth, A. C., Sica, D. A., Ballermann, B. J. and Wilcox, C. S. (2001) Renal considerations in angiotensin converting enzyme inhibitor therapy. *Circulation* **104**: 1985-1991.
- Boix, E., Zapater, P., Picó, A. and Moreno, O. (2005) Teratogenicity with angiotensin II receptor antagonists in pregnancy. *J. Endocrinol. Invest.* **28**: 1029-1031.
- Ryoo, H. S., Park, S. Y., Chang, S. Y. and Yook, C. S. (2003) Triterpene components from the leaves of *Acanthopanax sessiliflorus* Seem. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**: 269-273.
- [별표 1] “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록. (2018) 식품의약품안전처. 식품의 기준 및 규격 제2018-54호.
- 本草綱目 卷三十六 木之三 灌木類五十一種 五加 本經 上品 集解. 한의학고전DB. Available from: <https://medicclassics.kr/books/190/volume/43>
- Lee, S., Kim, B. K., Cho, S. H. and Shin, K. H. (2002) Phytochemical constituents from the fruits of *Acanthopanax sessiliflorus*. *Arch. Pharm. Res.* **25**: 280-284.
- Zaluski, D., Olech, M., Verpoorte, R., Khan, I., Kuźniewski, R. and Nowak, R. (2017) Phytoconstituents and nutritional properties of the fruits of *Eleutherococcus divaricatus* and *Eleutherococcus sessiliflorus*: A study of non-European species cultivated in Poland. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**: Article ID 8374295.
- Jung, S. K. and Lee, H. J. (2010) Functional investigation of Ogaza extract. *Food. Eng. Prog.* **14**: 183-187.

18. In, S. J., Lee, D. Y., Seo, K. H., Nam, T. G., Kim, D. O., Kim, G. S., Noh, H. J., Kim, G. W., Seo, W. D., Kang, H. C. and Baek, N. I. (2012) Anti-oxidant activity of phenolic compound isolated from the fruits of *Acanthopanax sessiliflorus* Seeman. *J. Appl. Biol. Chem.* **55**: 217-220.
 19. Lee, S., Lee, Y. S., Jung, S. H., Ji, J., Shin, K. H., Kim, B. K. and Kang, S. S. (2013) Antitumor and immunostimulating activities of *Acanthopanax sessiliflorus* fruits. *Nat. Prod. Sci.* **9**: 112-116.
 20. Jung, I. H., Kim, S. E., Lee, Y. G., Kim, D. H., Kim, H., Kim, G. S., Baek, N. I. and Lee, D. Y. (2018) Antihypertensive effect of ethanolic extract from *Acanthopanax sessiliflorus* fruits and quality control of active compounds. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**: Article ID 5158243.
 21. Zhao, Y., Vanhoutte, P. M. and Leung, S. W. S. (2015) Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *J. Pharmacol. Sci.* **129**: 83-94.
 22. Benjamin, N. and Vane, J. (1996) Nitric oxide and hypertension. *Circulation* **94**: 1197-1198.
 23. Paul, M., Mehr, A. P. and Kreutz, R. (2006) Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol. Rev.* **86**: 747-803.
- (2018. 7. 30 접수; 2018. 8. 20 심사; 2018. 8. 28 게재확정)