

혈관질환 억제 효능이 있는 BDR-29의 백서 신장 독성연구

김은주¹, 강대길¹, 이안숙¹, 최덕호¹, 조국현¹, 김성연², 이호섭¹
¹원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, ²약학대학교 약학과

ABSTRACT

Study on Kidney Toxicity of BDR-29 for Treatment Vascular Diseases in Rats

Eun-Ju Kim¹, Dae-Gill Kang¹, An-Sook Lee¹, Deok-Ho Choi¹,
Kuk-Hyun Cho¹, Sung-Yun Kim², Ho-Sub Lee¹

¹Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

²Dept. of Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University

The kidney toxicities of BDR-29 used for improvement of the vascular diseases, was examined using male and female Sprague-Dawley rats. The male and female rats were divided into 4 groups for intragastrical treatment with doses of 0, 5, 50, and 500 mg/kg/day for 13 weeks, respectively.

In all male and female rats treated with BDR-29, no mortality and gross pathological findings were shown for 13 weeks. There substantially was no change in body weight in all rats with treatment of BDR-29. The renal functional parameters including urinary volume, urine osmolality, electrolytes excretory rate, creatinine clearance, and solute-free water reabsorption were not exchanged in all rats treated with BDR-29.

-
- 교신저자 : 이호섭
 - 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학 생리학교실
 - Tel : 063-850-6841 E-mail : host@wku.ac.kr
 - 접수 : 2008/ 11/ 13 수정 : 2008/ 12/ 10 채택 : 2008/ 12/ 12

Taken together, these results suggest that BDR-29 has no toxicity on kidney in all male and female rats.

Key word : BDR-29, Kidney toxicity, In vivo

1. 서 론

심혈관계 질환에는 고혈압, 고지혈증, 죽상경화, 뇌졸중 및 심근경색 등이 있으며, 2007년 통계청 발표에 의하면, 뇌졸중, 심장병, 동맥경화 등의 심혈관계 질환으로 사망한 경우가 교통사고, 간 질환에 의한 사망률보다 높다. 최근 서구화된 식습관에 의한 영양과잉섭취, 자동화에 따른 운동부족과 과도한 스트레스 등으로 뇌혈관 질환 및 심장 질환과 같은 심혈관계 질환이 두드러지게 증가되는 등의 많은 부작용이 야기되고 있다¹⁾. 특히, 우리나라 심혈관계 질환의 대다수가 고혈압과 관련이 있으며, 고지혈증, 당뇨병, 심장질환 등도 중요한 위험요소이다.

이뇨제와 베타 차단제등과 같은 기존에 널리 사용되어 온 항고혈압제외에 알파 차단제, 지속형 칼슘 차단제, 안지오텐신 전환효소 억제제 및 최근에 소개되고 있는 안지오텐신 수용체 차단제 등의 많은 약제들이 임상에서 사용되고 있다. 그러나 이들 제제들은 장기간 복용해야 하기 때문에 약의 종류에 따라서 체위성 저혈압, 저칼륨혈증, 기침, 두통, 현기증, 부종, 식욕부진 등의 부작용을 동반할 수 있다²⁾. 따라서 효능뿐만 아니라 안전성이 확보된 한약재를 이용한 심혈관계 질환에 효과적인 기능성 식품 및 의약품의 개발이 절실히 요구되고 있다.

생약 제제 등의 안정성을 검증할 수 있는 방법으로 단회투여 독성시험, 발암성 시험, 반복투여 독성시험 등을 식품의약품안전청에서 독성시험기준으로 제시하고 있다³⁾. 시험방법에 있어서 서로 다른 2 종 이상의 암/수에서 검증하고, 투여방법, 용량등도 모두 기준화하였다. 또한 생약제제 투여시 나타나는 독성징후 발견을 위해 매일 1회 이상 실험동물을 관찰하고, 체중 및 사료 섭취량, 물 섭취량, 혈액검사, 요 검사, 병리학적 검사 등 다방면의 검사를 실시하도록 기준을 정하였다. 일반적으로 시험물질이 흡수되어 대사되고, 배설되는 장기인 신장과 간의 독성을 데이터로 많이 활용하는데, 요와 혈액검사를 통해 신기능, 간 기능, 혈관기능을 확인한다.

본 연구에서 사용된 BDR-29는 사전 연구 결과 뇌혈관 경색의 억제, 혈압 강하 효과, 죽상강화 억제 효능등 심-뇌혈관계를 억제하는 효능 (미발표된 결과) 이 있는 기성 한의서에는 없는 자체 구성된 처방이다. BDR-29는 뇌혈관 질환 및 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 예방과 치료를 위해 구성된 한방복방으로 결명자(決明子, *Semen Cassiae torae*), 하고초(夏枯草, *Prunellae spica*), 조구등(釣鉤藤, *Uncariae ramulus et uncus*), 백질려(白疾藜, *Tribuli fructus*)의 4가지 약재로 구성되어있다.

BDR-29에 포함된 각각의 한약재들은 현재 한방처방에 많이 사용되는 약재들이다. 그러나 이들

한약재에 대한 약리학적 작용과 임상적 이용가치에 대한 연구 결과가 있었다. 또한 국제경제협력기구(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)의 급성독성시험 가이드라인⁴⁾에 의한 단회 경구 투여 시험에서 BDR-29 복합제제에 의한 독성이 나타나지 않았고⁵⁾, 13주 반복투여에 대한 독성 또한 발견되지 않았다⁵⁾.

따라서 이 실험에서는 건강하게 발육한 백서의 암, 수를 이용하여 BDR-29 복합제제를 13주 반복투여 시³⁾ 나타날 수 있는 신장독성 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) 실험 동물

실험동물은 (주)샘타코 바이오코리아(경기도 오산)에서 구입한 7 주령의 Sprague-Dawley 계 암, 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 물과 고형사료를 충분히 공급하면서 1주 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 표준적인 사육조건인 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대 습도 $55 \pm 10\%$, 환기횟수 10-15 회/hr의 환경조건을 유지한다.

2) 실험물질의 제조 및 투여용량

BDR-29는 다음과 같은 방법으로 제조되었다. 결명자, 하고초, 백질려, 각 50 g을 증류수 3 L에 넣고 냉각기가 설치된 삼각플라스크에 넣은 후 120분간 가열한 후 조구등을 50 g 추가하여 20분간 더 가열하였다. 추출된 전탕액을 3,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 얻은 전탕액을 회전식 증발기로 농축한 후 동결건조를 하여 25 g (수득율 12.5%)의 분말을 얻었다.

BDR-29의 반복투여 독성시험에서는 500 mg/kg을 최고 용량으로 정하고, 정제 증류수로 희석하여 50 mg/kg, 5mg/kg의 실험물질을 제조하였다. 투여경로는 한방임상에서 많이 쓰이는 경구투여를

선택하였다. 금속제 동물용 위관 (sondae)을 이용하여 위내에 직접 주입하였다. 1일 1회이며 액량은 5 ml/kg으로 계산하여 13주간 투여하였다.

3) 시료 채취

채뇨는 백서를 자유롭게 물과 먹이에 접근할 수 있는 metabolic cage에 넣어 3일간 적응시킨 후 실험을 시작하였다. 3일의 대조 기간 동안 24시간 요를 채취하였으며, 채뇨 용기, 먹이통, 물통, cage의 청소는 오전 9시-11시에 실시하였다.

채혈은 의식이 있는 상태의 백서를 ethyl ether로 마취하여 복대 동맥으로부터 얻어진 혈액을 실온에서 30분간 방치하여 응고시킨 후 원심분리(3000rpm, 15분) 하여 혈청을 분리하였다.

2. 방 법

1) 임상증상 관찰

시험기간 중 매일 식품의약품안전청의 독성시험기준에 따라 투여 후 6시간까지 매시간 일반상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관, 자율신경 및 사망 유무를 관찰하였다.

2) 요중 creatinine 및 전해질 농도의 측정

요와 혈청의 creatinine은 분광광도계(Milton Roy, Rochester, NY, USA)를 이용해 정량하였고, 전해질 농도는 전해 질분석기(NOVA 5⁺, Biochemical, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분석하였으며, osmolality는 osmometer (Model 3900, Advanced Instruments Inc., Norwood, MS, USA)를 이용하여 측정하였다.

3) 용질-자유 수분 재흡수 ($\text{T}^{\circ}\text{H}_2\text{O}$)의 측정

혈청과 요의 osmolality를 측정한 후 다음 식을 이용하여 용질-자유 수분 재흡수를 계산하였다.

$\text{T}^{\circ}\text{H}_2\text{O} = V(\text{Uosmol}/\text{Posmol}-1)$, $V = \text{urine volume}$, $\text{Uosmol} = \text{urinary osmolality}$, $\text{Posmol} = \text{plasma osmolality}$.

4) 통계 처리

실험 군 간의 유의성은 실험 결과를 Student's t-test나 one-way ANOVA test를 통하여 p값이

0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정하였고, 실험 값은 $\text{mean} \pm \text{S.E}$ 로 나타내었다.

III. 결 과

1. 치사율 및 임상증상

BDR-29를 13주 투여 후 사망유무를 관찰한 결과, 투여된 전 용량에서 BDR-29 투여에 의한 사망은 관찰되지 않았다. BDR-29 투여한 모든 암, 수 백서에서 투여직후 및 13주 관찰기간 동안에 유의할 만한 행동변화 및 이상 증상은 관찰되지 않았다.

2. 체중에 미치는 영향

13주 실험 기간 동안 모든 실험 백서군의 체중 변화는 시간에 따라 일정하게 증가하였으며, 특이적인 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1A, B).

3. 요량에 미치는 영향

모든 실험 백서군의 요량은 BDR-29의 용량이 높은 용량으로 갈수록 요량이 감소함을 보이나, 각 군 간의 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 2A).

4. 요 중 삼투질 농도 배설에 미치는 영향

BDR-29 투여 시, 모든 실험 백서군의 요 중 삼투질 농도 (Uosmol) 는 대조군과 비교할 때 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2B).

5. 요 중 전해질 배설에 미치는 영향

모든 실험 백서군의 요 중 Na^+ 배설율 (UNaV), K^+ 배설율 (UKV), Cl^- 배설율 (UCIV)은 BDR-29 투여 시 대조군과 비교하여 실험 약물 투여한 군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 3A, B, C).

6. Creatinine 청소율 및 용질-자유수분 재흡수에 미치는 영향

Creatinine청소율 (Ccr)을 측정된 결과 대조군과 약물 BDR-29 투여 군을 비교하였을 때 유의한 차이가 보이지 않았고, 용질-자유수분 재흡수 ($\text{T}^{\text{c}}\text{H}_2\text{O}$)를 측정된 결과에서도 모든 실험 백서군에서 유의한 차이가 보이지 않았다(Fig. 4A, B).

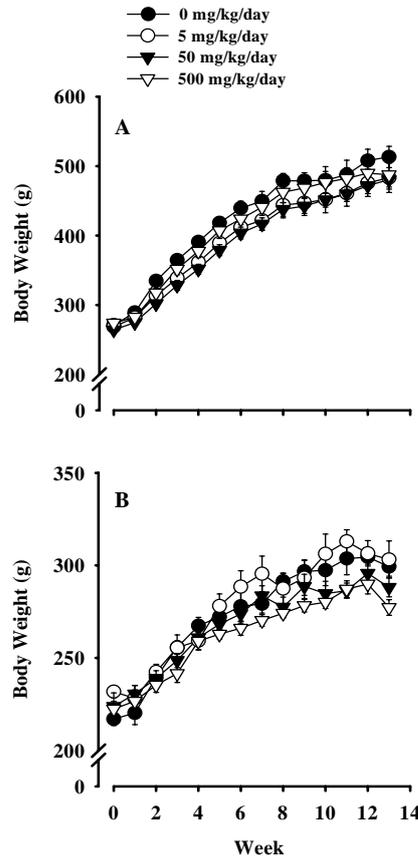


Fig. 1. Body weight changes in male (A) and female (B) rats treated with BDR-29 for 13 weeks. Each value represents the mean \pm S.E of 5 experiments.

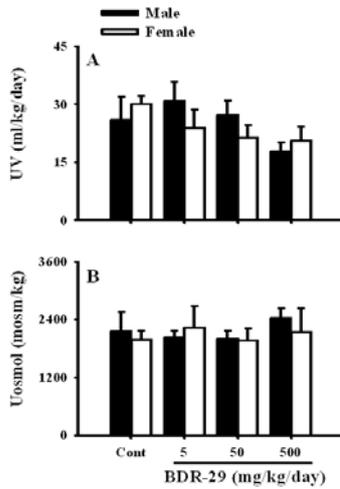


Fig. 2. Changes in urine volume (A) and urine osmolality (B) of rats treated with BDR-29 for 13 weeks. Each value represents the mean \pm S.E of 5 experiments.

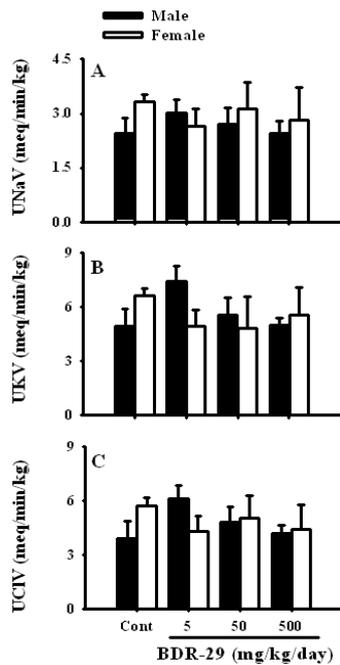


Fig. 3. Changes in UNaV (A), UKV (B), and UCIV (C) of rats treated with BDR-29 for 13 weeks. Each value represents the

mean \pm S.E of 5 experiments.

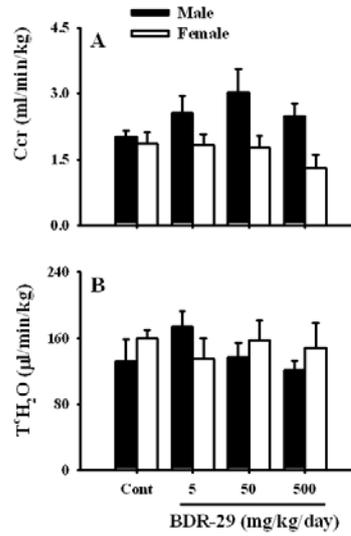


Fig. 4. Changes in creatinine clearance (A) and solute-free water reabsorption (B) of normal rats treated with BDR-29 for 13 weeks. Each value represents the mean \pm S.E of 5 experiments.

IV. 고찰

이 연구에서는 뇌혈관질환 및 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 치료를 위한 처방인 BDR-29를 Sprague-Dawley 계통 백서에 13주간 투여하여 신장에 미치는 독성을 관찰하였다.

뇌혈관 질환 및 고혈압, 고지혈증, 동맥경화증 등의 예방과 치료를 위해 구성된 처방인 BDR-29는 결명자(決明子, *Semen Cassiae torae*), 하고초(夏枯草, *Prunellae spica*), 조구등(釣鉤藤, *Uncariae ramulus et uncus*), 백질려(白疾藜, *Tribuli fructus*)의 복합 처방이다. 결명자(決明子)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 긴강남차(*Cassia tora* L.)의 씨로 한방에서는 건위, 정장, 이뇨, 완하제로 사용되며 또한 야맹증, 고혈압, 간염이나 녹내장 등의 안과 질환에도 이용하였다^{7,8)}. 주요약리 성분으로는 emodin,

torachryson, chrysophanic acid-9-antherone, alonemodin, aurantio obtusin 등이 보고되었으며, 특히 emodin 에서 완화작용이 보고되었다⁹⁻¹¹⁾. 하고초(夏枯草)는 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 꿀풀하고초(*Prunella vulgaris* L.)의 지상부 전초를 지칭하며¹²⁾, 주성분은 triterpenoid saponin, ursolic acid, rutin, tannin, caffeic acid 등이며, 이뇨작용, 수렴작용, 진해 및 지혈 등의 약리작용을 가지고 청간(淸肝), 이뇨(利尿), 소염(消炎), 해열(解熱), 혈압강하(血壓降下)등에 쓰이는 생약제이다¹³⁾. 조구등(釣鉤藤)은 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하는 常綠 木質藤本인 釣鉤 혹은 華鉤藤의 가시를 포함한 줄기를 햇볕에 말리거나 썰서 건조한 약재로서¹⁴⁻¹⁸⁾ 청열(淸熱), 평간(平肝), 진경(鎮驚)하는 효능(效能)이 있어 소아경풍(小兒驚風), 두혼목현(頭昏目眩), 중풍탄탄(中風癱瘓) 등의 여러 증상(症狀)에 사용되어져 왔다¹⁴⁻²⁰⁾. 주 성분으로는 rhynchophylline을 비롯하여 수종의 oxyindole계, alkaloid류, 즉 isorhynchophylline, dihydrocorynantheine, hirsutine, firstine 및 isocorynoxine 등이 분리 확인되었고^{15,17,20)}, 생리활성의 연구로는 Joji 등이 alkaloid 성분의 혈관이완 작용에 의한 혈압강하 작용에 대해 보고한 바가 있다²¹⁻²²⁾. 백질려(白疾藜)는 남가새과(Zygophyllaceae)에 속하는 1년생 또는 다년생 초본인 남가새(*Tribulus terrestris* L.)의 성숙한 열매를 건조한 것이다. 열매와 잎에서 kaempferol, kaempferol-3-glycosides, tribulo-side, furostanol, bisglycoside를 함유하고 있으며, 종자에는 hammane, haemine 등의 알칼로이드를 함유한다²³⁾. 열매와 뿌리는 한방이나 민간에서 고혈압과 중풍을 치료하는 약으로 중요하게 쓴다.

신체 내에서 간과 신장은 모두 화학물질이 대사되어지고 배설되는 곳으로 독성이 나타나기 쉬운 장기이다. 선행연구 결과에 의하면 BDR-29를 13주 동안 500 mg/kg/day로 투여해도 간독성이 나타나지 않는 것으로 확인되었다⁶⁾. 본 연구 결과에 의하면, 13주 동안 BDR-29를 5, 50, 500

mg/kg/day로 매일 투여하였을 때 체중변화, 뇨 지표 등이 변화가 없었고, 신장의 중요 기능인 사구체여과율의 지표가 되는 creatinine 청소율(Ccr), 세뇨관에서 자유 수분 재흡수의 지표가 되는 전해질-자유수분 재흡수율(T^cH_2O) 등의 신기능 수치는 특이적인 이상이 없었다.

이상의 결과들을 종합해보면, BDR-29가 백서의 신장의 기능에 미치는 영향은 거의 나타나지 않으며, BDR-29는 신장에서 그 안전성이 상당부분 인정된다고 할 수 있다.

V. 결 론

BDR-29를 SD 계통 암컷, 수컷 백서에 13주간 투여하여 신장에 미치는 독성을 관찰하였다. BDR-29를 투여한 모든 암컷, 수컷 백서에서 투여 직후 및 13주 관찰기간 동안 유의할 만한 행동변화 및 이상 증상은 관찰되지 않았고, 체중은 시간에 따라 일정하게 증가하였다.

BDR-29 투여 시, 암컷, 수컷 백서군 모두에서 요량, 요 중 삼투질 농도(Uosmol), Na^+ 배설율, K^+ 배설율, Cl^- 배설율, creatinine 청소율(Ccr), 용질-자유 수분 재흡수(T^cH_2O), 대조군과 비교할 때 유의한 차이가 없었다. 이와 같은 결과로 볼 때 결명자, 하고초, 조구등, 백질려 등 4가지 한약재로 구성된 BDR-29는 신장의 기능에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부의 뇌질환한방연구센터의 연구비(03-PJ9-PG6-SO02-0001)에 의하여 수행되었음.

참고문헌

1. 이정윤, 홍성찬, 김자영. 심혈관계질환(CVD) 위험인자 와 혈중 C-reactive protein(CRP) 농도에 미치는 유산소훈련의 효과. 운동영양학회지. 2003;3:297-302.
2. 약물학분과회. 약물학. 서울:신일상사. 2002:426-486.
3. 식품의약품안전청. 의약품 등의 독성시험 기준. 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호.
4. Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), OECD guideline for the testing of chemicals revised draft guideline. 2001:420
5. 김은순, 장보윤, 이안숙, 강대길, 이호섭, 김병두, 김성연. 랫트에서 한약재 복합물 BDR-29의 단회 경구투여 독성에 관한 연구. 생약학회지 2007;39(1):71-75.
6. 장보윤, 강대길, 이호섭, 김성연 BDR-29의 랫트에 대한 13주 반복 투여 독성에 관한 연구. 생약학회지 2008;39(1):60-67.
7. 한국약학대학협의회 약전분과회. 대한약전. 제 7개정. 서울:문성사. 1999:1028.
8. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 완역중약대사전. 서울:도서출판 정담. 1998:199-203.
9. 생화학연구회. 현대생화학. 학창사. 1992:212-215.
10. 육창수. 한국본초학. 개축문화사. 1981:121.
11. 栗原愛塔. 實用的 葯草. 東京:<주>宝文館. 1959:79.
12. 安德均. 韓葯臨床應用. 서울:成補社<성보사>. 1982 :108-110.
13. 김동일. 鄉葯集成方. 서울:여강출판사. 1991:152.
14. 王欲生. 中葯葯理與應用. 北京:人民衛生出版社. 1984:408-413.
15. 陳存仁. 圓說 韓方醫葯大辭典. 서울:도서출판 松炭.1988:90.
16. 辛民敏. 原色臨床本草學. 서울:南山堂. 1986:658-659.
17. 金昌玟, 辛民敏, 安德均, 李京淳. 完譯 中葯大辭典. 第1卷. 서울: 도서출판 정담. 1999:423-427.
18. 李盛雨, 盧升鉉. 釣鉤藤에 관한 文獻的 研究. 대한한의학회지 第8卷第1号 附錄 본초분과학회지. 1987;2(1):53-58.
19. 許 俊. 國譯增補 東醫寶鑑. 서울:남사당. 1992 :1231.
20. 明·李時珍. 本草綱目. 第一冊. 북경:人民衛生出版社. 1977:1319-1320.
21. 김종문. 조구등과 홍삼의 성분에 관한연구. 서울대 대학원 박사 학위논문. 1995.
22. Endo K, Oshima Y, Kikuchi H, Kodhihara Y, Hikino, H. Hypotensive principles of uncaria hooks1. Planta Med. 1983;49(11):188-190.
23. Chang P, Koh YK, GEH SL, Soepadom E, Goh SH, Wong AK. Cardiovascular effects in the rat of dihydroco-rynantheine isolated from Uncaria callophylla. J Ethnopharmacol. 1989; 25(2):213-215.