

## 五皮散이 Cisplatin으로誘發된 흰쥐의 急性腎不全에 미치는 影響

김태우, 윤경민, 임은영, 신현철, 강석봉  
대구한의대학교 부속한방병원 신계내과학교실

### Nephroprotective Effects of *Opi-san* Aqueous Extracts on Cisplatin-induced Rat Acute Renal Failure

Tae-u Kim, Gyeong-min Yoon, Eun-yeong Im, Hyeon-chul Shin, Seok-bong Kang  
Dept. of Oriental Internal Medicine Graduate School, Deagu Haany University

#### ABSTRACT

**Purpose** : This study was to observe the nephroprotective effects of the traditional prescription, *Opi-san*(OPS). OPS has been generally used for treating various edematous renal diseases, including acute renal failure.

**Methods** : Three different dosages of OPS extracts were administered once a day for 28 days (5 mg/kg, single *intraperitoneally* administered). On the 23rd day after OPS extract treatment, cisplatin was treated. All the rats (6 groups of 8 rats each) were checked as follows. Changes of body weight, kidney weight, serum BUN and creatinine levels were observed, as well as changes to the kidney MDA and GSH contents. The results were compared with captopril 100 mg/kg, of which the effects on cisplatin-induced acute renal failures were already confirmed.

**Results** : Cisplatin-induced ARF were induced by oxidative stress and related lipid peroxidation in the present study. However, these ARF and inhibition of antioxidant effects induced by cisplatin were dose-dependently reduced by treatment of OPS extracts except in the 100 mg/kg treated group. The effects of OPS extracts at 500 mg/kg were similar to those of 100 mg/kg of captopril.

**Conclusion** : This study suggests that OPS extracts 500 mg/kg showed favorable effects on the cisplatin-induced rat's ARF as similar to 100 mg/kg of captopril.

**Key words** : *Opi-san*(*Wupi-san*), ARF, Cisplatin, Antioxidant effect

#### 1. 緒論

급성신부전은 급격한 사구체여과율(GFR)의 저하로 대표되는 신장의 배설기능 장애를 초래하는 병태를 말하며, 췌노, 진행성 고질소혈증, 저나트륨혈증 및 고칼륨혈증 등의 구체적인 증후를 나타낸다<sup>1</sup>. 급성신부전에서의 신장 기능장애는 대부분 가

역성이므로 원인을 조기에 치료하면 급속히 회복되지만, 치료가 늦어져 신실질에 장애가 생기면 사망에까지 이를 수도 있다<sup>2</sup>.

五皮散은 華氏中藏經 卷六에 수록되어 있으며, 生薑皮 桑白皮 陳皮 大腹皮 茯苓皮의 다섯 가지 약재로 구성된 처방으로서, 脾胃停滯로 頭面四肢가 悉腫하고 心腹脹滿 上氣促急 胸膈煩悶하며, 痰涎上壅으로 飲食不下 行步氣鬱한 것이 水病과 같을 때 복용하여 脾氣를 소통시키고 虛腫을 치료하는 데 사용한다<sup>3</sup>. 따라서 현재의 小便不利나 水腫 등의

· 교신저자: 강석봉 대구시 수성구 상동 165번지  
대구한의대학교 부속 대구한방병원 신계내과학교실  
TEL: 053-770-2102 FAX: 053-770-2055  
E-mail: kangsb@dhu.ac.kr

증상을 일으키는 방광과 요도, 신장질환에 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

현재까지 임상적으로 부종을 위시한 신장질환에 사용되어 온 五皮散에 관한 연구로는, 杜 등<sup>4</sup>의 四苓五皮散이 puromycin aminonucleoside로 誘發된 白鼠의 腎症에 미치는 影響에 대한 연구 이외에는 찾아볼 수 없다. 급성 신부전에 관한 보고들은 다수 나타나고 있으며 최근 1년간의 보고들을 살펴보면 이<sup>5</sup> 등은 대부분침음이 cisplatin에 의해 유발된 급성신부전에 미치는 영향을 유<sup>6</sup> 등은 텍사산 추출물이 cisplatin에 의해 유발된 급성신부전에 미치는 영향을 보고 하였다.

본 연구에서는 五皮散의 cisplatin 유발 급성신부전증에 대한 효과를 평가하고자, 28일간 五皮散을 흰쥐에게 매일 100, 300 및 500 mg/kg의 농도로 각각 경구투여하고, 급성신부전 유발을 위해 五皮散 투여 23일에 cisplatin을 주입하였다. Cisplatin 주입 5일 후 모든 실험동물을 희생하여, 체중 및 신장 중량의 변화, 혈중 BUN 및 creatinine 함량의 변화, 신장 내 GSH, MDA 함량 등을 측정하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 실험동물

48마리의 암컷 Sprague-Dawley 랫트(6-week old upon receipt, SLC, Japan)를 7일간의 순화과정을 거쳐 실험에 사용하였으며, 순화과정 및 실험 전 기간 동안 온도(20-25℃)와 습도(30-35%)가 조절된 사육실에서 랫트용 polycarbonate 사육상자에 5마리씩 수용하여 사육하였고, 명암 주기(light : dark cycle)는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료(Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 본 실험에 사용된 모든 실험동물은 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Department of Health, Education, and Welfare Publication (National Institute of Health) 85-23, 1996]에 준하여 취급하

였다.

#### 2) 실험약재

본 실험에 사용된 약재는 약업사(효성약업사, 대구, Korea)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능검사를 통해 선정하여 사용하였으며, 본 실험에 사용된 五皮散 1貼 분량의 조성은 <Table 1>과 같다.

Table 1. Composition of *Opi-san*

Herbs name	Pharmacognosy name	Amount (g)
大腹皮	<i>Areca catechu</i> L.	6
茯苓皮	<i>Poria cocos</i> (Schw.) Wolf	6
生薑皮	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	6
桑白皮	<i>Morus alba</i> L.	6
陳皮	<i>Citrus unshiu</i> S.Marcov.	6
Total	5 types	30

## 2. 方法

### 1) 五皮散 제조

선정된 약재 5貼 분량(150 g)을 취하여 정제수 2000 ml로 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Daejeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; Ilshin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1貼 당 3.68 g, 총 18.41 g(수율약 12.27%)의 연갈색의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 五皮散 추출물은 -20℃의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 100 mg/ml의 농도까지 용해되었다.

### 2) 실험군 배정 및 약물의 투여

실험동물은 정상대조군과 cisplatin을 투여할 군으로 나누고, cisplatin을 투여할 군은 다시 증류수, captopril 100 mg/kg(이하 captopril 투여군), 五皮散 추출물 100 mg/kg, 五皮散 추출물 300 mg/kg, 五皮散 추출물 500 mg/kg을 투여할 군으로 나누었다(Table 2). 통상적으로 五皮散 1貼 분량에서 추출물 3.68 g을 임상에서 60 kg 성인이 하루 3회 투

여하므로, Kg 당 60 g을 3회씩 180 mg/kg을 사용하므로, 본 실험에서는 이를 근거로 대략 2배인 300 mg/kg을 중간 용량으로 선정하였으며, 100 mg/kg을 저용량으로, 500 mg/kg을 고용량 투여군으로 선정하였다. 각 군은 8마리씩이며, 五皮散 추출물 및 captopril은 각각 멸균 증류수에 용해시켜 동물 체중 kg당 5 ml의 용량 (투여용량은 체중/200 ml로 했음)으로 매일 1회씩 28일간 금속제 Zonde가 부착된 3 ml syringe를 이용하여 강제 경구투여하였다. 정상대조군의 경우, 五皮散 투여기간 동안 멸균증류수만 동일한 방법으로 경구투여하였으며, cisplatin 대신 생리식염수만 동일한 방법으로 복강 투여하였다.

Table 2. Experimental Design Used in Single Dose Toxicity Test

Groups		Cisplatin/Test article/Dose (mg/kg/day)
Control	Intact	Distilled water and saline treated (5 ml/kg)
	Cisplatin	Distilled water and cisplatin 5 mg/kg treated
Reference	Captopril	Captopril 100 mg/kg and cisplatin 5 mg/kg treated
OPS	OPS 100	OPS 100 mg/kg and cisplatin 5 mg/kg treated
	OPS 300	OPS 300 mg/kg and cisplatin 5 mg/kg treated
	OPS 500	OPS 500 mg/kg and cisplatin 5 mg/kg treated

3) 급성신부전의 유발

급성신부전증을 유발하기 위하여 최종 희생 5일 전 cisplatin(cis-diaminedichloroplatinum: Sigma, MO, USA) 5 mg/kg을 1회 복강 주입하였다. Cisplatin은 생리식염수에 녹여 실험동물 체중 kg당 5 ml의 농도로 23 gauge의 needle이 부착된 3 ml syringe로 주입하였으며, 정상 대조군에서는 cisplatin 대신 멸균 생리식염수만 동일한 방법으로 투여하였다.

동물 희생시에는 Ethyl ether 마취를 하였다. 본 실험에서는五皮散의 신장보호 효과를 실험적으로 밝히고, 그 작용 기전을 확립하기 위해, 보다 강력한 효과를 보일 필요성이 요구되기에 미리 28일간 약물을 투여한 후 급성신부전을 유도하는 방법을 선택하였다.

4) 체중 측정

모든 실험동물의 체중을 五皮散 투여 시작 1일 전, 투여 시작일, 투여 7일, 21일, 23일(cisplatin 주입일) 및 28일(최종 희생일)에 각각 측정하였고, 사료섭취에 따른 체중 변화를 최소화하기 위해 투여 시작일, cisplatin 주입일 및 최종 희생일에 모든 실험동물은 18시간 정도 절식시켰다.

5) 신장중량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 좌측 신장을 적출하여 분리한 다음 각각의 중량을 측정하였다.

6) 혈중 BUN의 측정

Cisplatin 주입 직전 및 최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 안와정맥총에서 약 0.5 ml의 혈액을 채취하였으며, 상온에서 1시간 정도 방치한 다음 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 이후 자동혈액분석장치(Toshiba 200 FR, Japan)를 이용하여 혈중 BUN 함량을 각각 측정하였다.

7) 혈중 Creatinine의 측정

Cisplatin 주입 직전 및 최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 안와정맥총에서 약 0.5 ml의 혈액을 채취하였으며, 상온에서 1시간 정도 방치한 다음 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 이후 자동혈액분석장치(Toshiba 200 FR, Japan)를 이용하여 혈중 creatinine 함량을 각각 측정하였다.

8) 신장 내 MDA 및 GSH 함량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 회복하여 신장을 적출한 다음, 멸균 생리 식염수로 세척하고 주변 지방조직을 제거하였다. 이후 Kavutcu et al<sup>1</sup>의 방법으로 얼음으로 냉각시킨

0.15 M/L KCl 및 1.9 mM/L ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA)가 함유된 용액에서 균질이 되게 하고, 상층액을 분리하여 MDA(malondialdehyde) 및 GSH(glutathione)를 측정하였다. 신장 내 단백질 함량은 Lowry et al<sup>7</sup>의 방법으로 bovine serum albumin을 표준으로 측정하였으며, 지질과산화 정도는 Dahle et al<sup>8</sup>의 방법으로 2-thiobarbituric acid를 이용하여 MDA를 nmole/g protein 단위로 측정하였다. 또한 항산화 정도를 판단하기 위해, Eyer와 Podhradsky<sup>9</sup>의 방법으로 microplate reader에 적응시킨 enzymatic recycling procedure를 이용하여 GSH를  $\mu\text{mole/g}$  단위로 측정하였다.

### 3. 통계처리

모든 수치는 평균  $\pm$  표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 LSD(least-significant differences) test로 사후검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc., USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

cisplatin 대조군에 비해 유의성 있게( $p<0.01$ ) cisplatin 주입 후 체중 증가가 인정되었으며, cisplatin 주입 후 체중변화량 및 실험 전 기간의 체중변화량 역시 각각 cisplatin 대조군에 비해 유의성 있는( $p<0.01$ ) 증가를 나타내었다. 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 효과를 나타내었다. 그러나 五皮散 100 투여군에서는 cisplatin 대조군과 유사한 체중 및 체중변화량의 변화가 있었고, 정상 및 cisplatin 대조군과 비교하여 cisplatin 주입 전 의미 있는 체중 및 체중변화량의 변화는 인정되지 않았다(Table 3, Fig. 1).

Table 3. Changes on the Body Weight Gains

Groups	Body weight gains during		
	Pre cisplatin treatment (3 weeks)	After cisplatin treatment (5 days)	Total experimental periods (4 weeks)
Controls			
Intact	46.13 $\pm$ 6.45	14.13 $\pm$ 3.87	60.25 $\pm$ 6.34
Cisplatin	44.88 $\pm$ 5.82	-16.38 $\pm$ 1.51*	28.50 $\pm$ 6.41*
Captopril			
100 mg/kg	45.00 $\pm$ 7.98	-1.63 $\pm$ 5.80*#	43.38 $\pm$ 6.12*#
Opisan extracts			
100 mg/kg	47.75 $\pm$ 5.75	-14.63 $\pm$ 3.34*	33.13 $\pm$ 6.06*
300 mg/kg	46.63 $\pm$ 5.34	-5.50 $\pm$ 2.98*#	41.13 $\pm$ 5.36*#
500 mg/kg	44.25 $\pm$ 12.67	-1.88 $\pm$ 3.87*#	42.38 $\pm$ 12.65*#

Values are expressed Mean $\pm$ SD of eight rats (g): \* $p<0.01$  compared with intact control; # $p<0.01$  compared with cisplatin control.

## III. 結果

### 1. 체중의 변화

Cisplatin 주입 후 정상 대조군에 비해 cisplatin 대조군에서 유의성 있는( $p<0.01$ ) 체중의 감소가 인정되었고, 실험전 기간의 체중변화량 역시 각각 정상 대조군에 비해 유의성 있는( $p<0.01$ ) 감소를 나타내었다.

Captopril, 五皮散 300 및 500 투여군에서는 각각

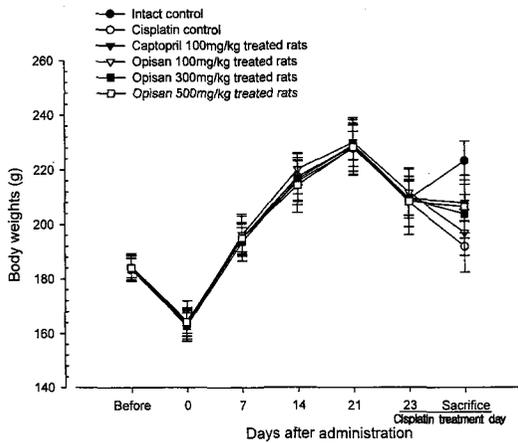


Fig. 1. Body weight changes.

Note that the body weights at sacrifice, 5 days after cisplatin injection and 28 days after test article administration in cisplatin control were significantly ( $p < 0.01$ ) decreased. However, these body weight decreases were significantly ( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ) inhibited by treatment of captopril, Opisan 300 and 500 mg/kg, respectively. No meaningful changes were detected in all tested groups during pre cisplatin injection periods, respectively, and quite similar body weight changes were detected in Opisan 100 mg/kg treated rats as compared with cisplatin control in the present study.

Values are expressed Mean $\pm$ SD of five rats (g): Before means 1 day before start of test article administration; Day 0 means at start of test article administration; All animals at Day 23 (cisplatin injection day), sacrifice and Day 0 were overnight fasted.

## 2. 신장중량의 변화

Cisplatin 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는( $p < 0.01$ ) 신장 중량의 상대 및 절대 증가가 나타났으나, captopril, 五皮散 300 및 500 투여군에서는 각각 cisplatin 대조군에 비해 유의성 있게( $p < 0.01$  또는  $p < 0.05$ ) 신장중량의 상대 및 절대 감소가 인정되었으며, 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 효과를 나타내었다. 한편 五皮散 100 투여군에서는 cisplatin 대조군과 유사한 신장 중량의 변화가 있었다<Table 4>.

Table 4. Changes on the Kidney Weights

Groups	Kidney weights	
	Absolute (g)	Relative (%) of body weights
Controls		
Intact	0.803 $\pm$ 0.016	0.360 $\pm$ 0.014
Cisplatin	0.982 $\pm$ 0.084*	0.514 $\pm$ 0.060*
Captopril 100 mg/kg	0.852 $\pm$ 0.042#	0.410 $\pm$ 0.028*.#
Opisan extracts		
100 mg/kg	0.936 $\pm$ 0.056*	0.476 $\pm$ 0.036*
300 mg/kg	0.881 $\pm$ 0.045*.#	0.433 $\pm$ 0.029*.#
500 mg/kg	0.849 $\pm$ 0.050#	0.412 $\pm$ 0.035*.#

Values are expressed Mean $\pm$ SD of eight rats; \* $p < 0.01$  compared with intact control; # $p < 0.01$  and ##  $p < 0.05$  compared with cisplatin control.

## 3. 혈중 BUN 함량의 변화

Cisplatin 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는( $p < 0.01$ ) cisplatin 주입 후 혈중 BUN의 상승이 관찰되었고, cisplatin 주입 전후 혈중 BUN 변화량 역시 정상 대조군에 비해 유의성 있게( $p < 0.01$ ) 증가를 나타내었다.

그러나 captopril, 五皮散 300 및 500 투여군에서는 각각 cisplatin 대조군에 비해 유의성 있게( $p < 0.01$ ) cisplatin 주입 후 혈중 BUN의 감소 및 cisplatin 주입 전후 혈중 BUN 변화량의 감소가 인정되었다.

한편 cisplatin 주입 전의 혈중 BUN 함량은 모든 실험군에서 의미 있는 변화를 나타내지 않았으나, cisplatin 주입후의 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 정도의 혈중 BUN의 감소효과를 나타내었다. 五皮散 100 투여군은 cisplatin 주입 후 혈중 BUN 및 cisplatin 주입 전후 혈중 BUN 변화량이 cisplatin 대조군과 유사하게 관찰되었다<Table 5>.

Table 5. Changes on the Serum BUN Levels

Groups	Blood Urea Nitrogen levels:		
	Pre cisplatin treatment (A)	After cisplatin treatment (B)	Changes after cisplatin treatment (B-A)
Controls			
Intact	19.35±1.94	20.14±1.88	0.79±0.56
Cisplatin	19.38±1.78	50.66±3.71*	31.29±4.50*
Captopril 100 mg/kg	19.21±1.61	33.81±4.59*#	14.60±5.06*#
Opisan extracts			
100 mg/kg	19.39±1.26	48.50±4.83*	29.11±4.74*
300 mg/kg	19.19±1.86	40.84±3.82*#	21.65±4.82*#
500 mg/kg	19.24±0.82	33.31±4.37*#	14.08±4.75*#

Values are expressed Mean±SD of eight rats (mg/dl): \*p<0.01 compared with intact control; #p<0.01 compared with cisplatin control.

#### 4. 혈중 creatinine 함량의 변화

Cisplatin 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) cisplatin 주입 후 혈중 creatinine의 상승이 관찰되었고, cisplatin 주입 전후 혈중 creatinine 변화량 역시 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 나타내었다.

그러나 captopril, 五皮散 300 및 500 투여군에서는 cisplatin 대조군에 비해 각각 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) cisplatin 주입 후 혈중 creatinine의 감소 및 cisplatin 주입 전후 혈중 creatinine 변화량의 감소가 인정되었다.

한편 cisplatin 주입 전의 혈중 creatinine 함량은 모든 실험군에서 의미 있는 변화를 나타내지 않았으나, cisplatin 주입 후의 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 정도의 혈중 creatinine의 감소효과를 나타내었다. 五皮散 100 투여군에서는 cisplatin 주입 후 혈중 creatinine 함량 및 cisplatin 주입 전후 혈중 creatinine 변화량이 cisplatin 대조군과 유사하게 관찰되었다(Table 6).

Table 6. Changes on the Serum Creatinine Levels

Groups	Creatinine levels:		
	Pre cisplatin treatment (A)	After cisplatin treatment (B)	Changes after cisplatin treatment (B-A)
Controls			
Intact	0.64±0.06	0.68±0.07	0.04±0.03
Cisplatin	0.64±0.06	1.44±0.19*	0.80±0.18*
Captopril 100 mg/kg	0.64±0.06	0.98±0.14*#	0.34±0.19*#
Opisan extracts			
100 mg/kg	0.64±0.07	1.36±0.17*	0.73±0.17*
300 mg/kg	0.64±0.06	1.21±0.19*#	0.56±0.17*##
500 mg/kg	0.64±0.05	0.98±0.13*#	0.34±0.10*#

Values are expressed Mean±SD of eight rats (mg/dl): \*p<0.01 compared with intact control; #p<0.01 and ##p<0.05 compared with cisplatin control.

#### 5. 신장 내 MDA 함량의 변화

Cisplatin 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 신장 내 MDA 함량의 증가가 관찰되었으나, captopril, 五皮散 300 및 500 투여군에서는 각각 cisplatin 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 신장 내 MDA 함량의 감소가 인정되었다. 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 효과를 나타내었으며, 五皮散 100 투여군에서는 신장 내 MDA 함량의 변화가 cisplatin 대조군과 유사하게 나타났다(Fig. 2).

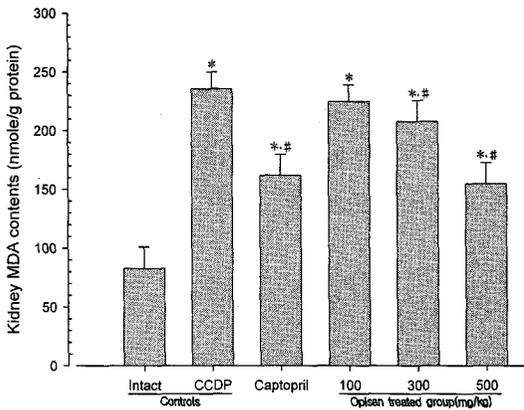


Fig. 2. Changes on the kidney MDA contents.

CCDP, Cisplatin; Note that the kidney MDA contents was significantly ( $p < 0.01$ ) increased in cisplatin control as compared with intact control. It means, lipid peroxidation was increased by treatment of cisplatin. However, these kidney MDA contents increases were significantly ( $p < 0.01$ ) inhibited by treatment of captopril, Opisan 300 and 500 mg/kg, respectively. Similar kidney MDA levels were detected in Opisan 100 mg/kg treated rats as compared with cisplatin control in the present study.

Values are expressed Mean±SD of eight rats; Captopril was dosed as 100 mg/kg of body weights; \* $p < 0.01$  compared with intact control; # $p < 0.01$  compared with cisplatin control.

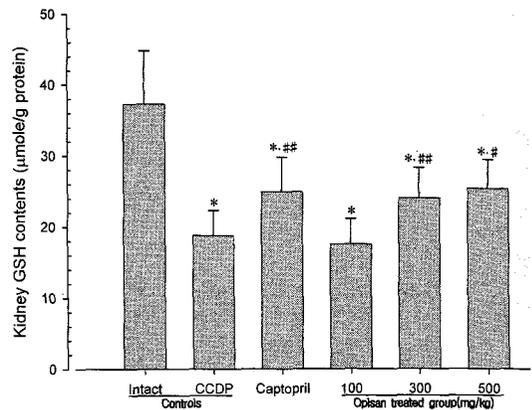


Fig. 3. Changes on the kidney GSH contents

CCDP, Cisplatin; Note that the kidney GSH contents was significantly ( $p < 0.01$ ) decreased in cisplatin control as compared with intact control. It means, oxidative stress was induced by treatment of cisplatin. However, these kidney GSH contents decreases were significantly ( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ) inhibited by treatment of captopril, Opisan 300 and 500 mg/kg, respectively. Similar kidney GSH levels were detected in Opisan 100 mg/kg treated rats as compared with cisplatin control in the present study.

Values are expressed Mean±SD of five rats; Captopril was dosed as 100 mg/kg of body weights; \* $p < 0.01$  compared with intact control; # $p < 0.01$  and ## $p < 0.05$  compared with cisplatin control.

#### 6. 신장 내 GSH 함량의 변화

Cisplatin 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는( $p < 0.01$ ) 신장 내 GSH 함량의 감소가 관찰되었으나, captopril, 五皮散 300 및 500 투여군에서는 각각 cisplatin 대조군에 비해 유의성 있는( $p < 0.01$  또는  $p < 0.05$ ) 신장 내 GSH 함량의 증가가 인정되었다. 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 효과를 나타내었으며, 五皮散 100 투여군에서는 cisplatin 대조군과 유사한 신장 내 GSH 함량의 변화가 관찰되었다(Fig. 3).

#### IV. 考 察

한의학에서는 급성 신부전을 주로 關格, 小便不通, 尿不利, 浮腫, 虛損 등의 범주<sup>10</sup>에서 변증시치하여 다양한 처방들을 응용해 왔으며, 최근 급성신부전의 치료에 도움이 되는 여러 처방들에 대한 연구되어 이<sup>5</sup> 등은 대분청음이 cisplatin에 의해 유발된 급성신부전에 미치는 영향을, 유<sup>6</sup> 등은 텍사산 추출물이 cisplatin에 의해 유발된 급성신부전에 미치는 영향을 보고 하였다. 五皮散의 연구에 대해서는 杜<sup>4</sup> 등의 四苓五皮散이 puromycin aminonucleoside로誘發된 白鼠의 腎症에 미치는影響에 대한 연구 이외에는 찾아볼 수 없었다.

五皮散은 太平惠民和劑局方<sup>11</sup>에는 桑白皮와 陳皮 대신 五加皮와 地骨皮를 사용하는 등 책에 따라 처방의 구성이 다소 상이한 면이 있으나 方義는 대동소이하며, 본 논문에서는 華氏中藏經의 약재 구성에 따라 실험하였다. 本方의 茯苓皮는 行水滲濕 健脾運濕하고, 生薑皮는 水氣를 辛散하며, 桑白皮는 肺氣肅降 水道通調하고, 大腹皮는 下氣行水 消脹除滿하며, 陳皮는 理氣和胃 醒脾化濕하므로 五藥을 配合하여 理氣健脾 利水消腫하는 效能을 나타내는 처방이 되는데, 五藥이 모두 皮이므로 皮間의 水氣를 善行하여 皮水를 治療하는 基本方이 된다<sup>12</sup>.

본 실험에서는 실험동물에게 급성신부전을 일으키기 위해 흔히 사용되는 항암제<sup>7</sup> 중 하나인 cisplatin을 사용하였다. Cisplatin은 주로 free radical<sup>8,9</sup>에 의한 세뇨관의 구조적 이상을 일으켜 급성신부전을 유발하고<sup>13</sup>, 신장 내 지질과산화의 증가<sup>14</sup>를 유발하며, 또한 항산화효과를 나타내는 GSH의 신장 내 함량을 감소시키는 작용을 한다<sup>16</sup>. Cisplatin 유발 급성신부전 모델은 현재 가장 흔히 사용되는 급성신부전 동물 모델 중 하나이다<sup>17-19</sup>.

대조군에 투여된 captopril은 angiotensin II를 형성하는 필수 효소인 ACE(angiotensin converting enzyme)를 억제하는 약물이다. 일반적으로 ACE 억제제들은 심장부전에 의한 고혈압뿐만 아니라 고혈압에 밀접한 관련이 있는 신장질환에도 효과가 있는 것으로 알려져 있어, 현재 신부전 치료제 개발에 있어 하나의 대조약물(reference drug)로 흔히 이용되고 있고<sup>20,21</sup>, cisplatin 유발 급성신부전에도 항산화 효과에 의한 치료효과가 이미 잘 알려져 있다<sup>22</sup>.

본 연구에서는 五皮散의 cisplatin으로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 대한 효과를 확인하기 위하여, cisplatin 주입 전 23일부터 28일간 五皮散을 매일 100, 300 및 500 mg/kg의 농도로 각각 경구투여하고, cisplatin 주입 5일 후 모든 실험동물을 희생하여 체중 및 신장 중량의 변화, 혈중 BUN 및 creatinine

함량의 변화를 관찰하였으며, 지질과산화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 신장 내 MDA 함량을 측정하였고, 항산화 효과를 관찰하기 위해 신장 내 GSH 함량을 측정하였다. 실험결과는 captopril 100 mg/kg 투여군과 각각 비교하였다.

체중 및 체중변화량에 있어서, 300 및 500 mg/kg의 五皮散 투여는 투여용량 의존적으로 cisplatin으로 유발된 체중 감소를 억제하는 효과가 있는 것으로 인정되었으며, 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 효과를 나타내었다. Cisplatin 주입 후 유발되는 체중 및 체중변화량의 감소는 cisplatin 자체의 직접적인 독성 또는 급성신부전증에 수반된 이차적인 변화로 판단되며, 현재까지 이러한 체중의 변화는 신장보호 효과가 있는 활성 물질의 탐색에 있어 가장 기본적인 지표로 사용되어 왔다<sup>23-25</sup>. 따라서 본 실험결과는 五皮散 300 및 500 mg/kg의 급성신부전에 대한 효과를 나타내는 증거로 판단된다.

신장중량에 있어서, 300 및 500 mg/kg의 五皮散은 cisplatin 대조군에 비해 유의성 있는 신장 중량의 감소가 인정되었으며, 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 효과를 나타내었다. Cisplatin 주입에 의해 급성신부전증이 진행됨에 따라 신장 중량이 유발되며, 결과적으로 신장 중량의 증가가 초래되고, 이러한 신장 중량의 변화 억제 역시 신장보호 효과가 있는 활성 물질의 탐색에 사용되어 왔다<sup>19,26,27</sup>. 따라서 본 실험의 결과는 300 및 500 mg/kg의 五皮散이 cisplatin 유발 급성신부전에 유효한 효과를 가짐을 나타내는 직접적인 증거로 생각된다.

혈중 BUN 및 creatinine 함량에 있어서, 五皮散 투여 후 혈중 BUN 및 creatinine 함량의 감소가 인정되었으며, cisplatin 주입 후의 五皮散 500 투여군은 captopril 100 mg/kg을 투여한 것과 유사한 정도의 혈중 BUN 및 creatinine 함량의 감소효과를 나타내었다. BUN은 단백질 분해의 대사산물인 요소질소의 혈중 함량을 나타내는 혈액생화학적

지표로, 혈중 BUN의 상승은 일반적으로 신장질환의 존재를 의미하며<sup>28</sup>, cisplatin 유발 급성신부전시에도 현저한 혈중 BUN 함량의 증가가 초래된다<sup>18,29-31</sup>. 또한 creatinine은 비단백질 유래의 근육 대사에 의해 형성되는 질소산물로, BUN과 함께 혈중 creatinine 함량의 증가는 사구체여과율의 감소를 의미한다<sup>28</sup>. Cisplatin 유발 급성신부전시에도 혈중 BUN 함량의 증가와 함께 creatinine 함량의 증가가 초래되므로, 이들 혈중 BUN 및 creatinine 함량의 변화 역시 cisplatin 유발 급성신부전을 판단하는 기본적인 지표로 이용되어 왔다<sup>19,25,32</sup>. 따라서 본 실험결과는 五皮散 300 및 500 mg/kg의 cisplatin 유발 급성신부전에 대한 유효한 효과를 나타내는 직접적인 증거로 판단된다.

신장내 MDA는 지질과산화의 중요한 지표이며 GSH는 항산화 효과의 지표가 되는데, cisplatin이 가진 신장독성에 의하여 지질과산화가 증가되어 MDA를 증가시키고 항산화 효과를 나타내는 GSH는 감소시키게 된다. 본 실험에서 cisplatin에 의해 유발된 신장 내 MDA 함량의 증가와 GSH 함량의 감소가 五皮散 300 및 500 mg/kg 투여에 의해 투여용량 의존적으로 억제된 사실과, 최근의 연구에서 cisplatin으로 유발된 급성신부전이 항산화제 투여에 의해 억제되는 것으로 보고된 바에 의하면<sup>32,33</sup>, 五皮散의 cisplatin 유발 급성신부전증에 대한 효과가 지질과산화를 억제하는 항산화 효과에 의한 것으로 판단된다. 그러나 五皮散 자체의 항산화 효과는 아직까지 알려져 있지 않고, 구성 약물인 大腹皮<sup>35</sup>, 茯苓<sup>36,37</sup>, 生薑<sup>38</sup>, 桑白皮<sup>39</sup> 및 陳皮<sup>40</sup>에 대한 항산화 효과만이 알려져 있으며, 또한 항염 작용 등의 다른 작용 기전에 의해 cisplatin 유발 급성신부전에 유효한 효과를 나타낼 가능성 역시 배제할 수 없어, 구성 약제 각각에 대한 효능 및 생리활성을 나타내는 화학성분의 검색과 더불어 금후 다양한 방면으로 기전적인 연구를 더 수행해야 할 것으로 보인다.

이상의 결과에서, cisplatin 주입에 의해 유발된

급성신부전 모델에서 나타난 현저한 체중의 감소, 신장 중량의 증가, 혈중 BUN과 creatinine 함량의 증가, 신장 내 MDA 함량의 증가 및 GSH 함량의 감소 등이 300 및 500 mg/kg의 五皮散에 의해 투여용량 의존적으로 억제되었으며, 특히 500 mg/kg의 五皮散은 100 mg/kg의 captopril 투여군과 유사한 효과를 나타내었으므로, 五皮散이 급성신부전증 등의 신장질환에 양호한 효과를 나타내는 것으로 판단된다.

## V. 結 論

본 연구에서는 五皮散의 급성신부전에 대한 효과를 확인하기 위하여, cisplatin으로 급성신부전이 유발된 흰쥐모델을 이용하여 평가하였다.

1. Cisplatin 주입 후의 체중감소가 300 및 500 mg/kg 五皮散 투여에 의해 억제되는 점이 유의성 있게 인정되었다.
2. Cisplatin 주입 후의 신장중량의 상대 및 절대 증가가 300 및 500 mg/kg 五皮散 투여에 의해 억제되는 점이 유의성 있게 인정되었다.
3. Cisplatin 주입 후의 혈중 BUN 및 creatinine의 증가가 300 및 500 mg/kg 五皮散 투여에 의해 억제되는 점이 유의성 있게 인정되었다.
4. Cisplatin이 신장 내 MDA 함량을 증가시키는 것과 GSH 함량을 감소시키는 것이 300 및 500 mg/kg 五皮散 투여에 의해 억제되는 점이 유의성 있게 인정되었다.

이상의 결과에서 300 및 500 mg/kg의 五皮散은 지질과산화를 억제하여, cisplatin로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 용량의존적으로 우수한 효과를 나타내며, 500 mg/kg의 五皮散은 captopril 100 mg/kg 투여군과 유사한 정도의 효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

## 參考文獻

- Shintani Futoshi. Pathophysiology로 이해하는 내과학 part5. 서울: 정담; 2005, p. 61-6.
- E.Braunwald. Harrison's Principles of Internal Medicine, 서울: MIP; 2003, p. 1589-98.
- 華陀. 中藏經. 강소성: 강소과학기술출판사; 1985, p. 89-90.
- 杜鎬京, 安世永, 吳上德. 四苓五皮散 및 濟生腎氣丸이 Puromycin Aminonucleoside로 誘發된 白鼠의 腎症에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集. 1997;20:45-79.
- 이연경, 윤경민, 장수영, 강석봉. 大分清飲이 cisplatin으로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2009;30(5):821-31.
- 유동조, 윤경민, 장수영, 이연경, 강석봉. 澤瀉散 抽出物이 cisplatin으로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2009;30(5):832-44.
- Safirstein R, Winston J, Goldstein M, Moel D, Dikman S, Guttenplan J. Cisplatin nephrotoxicity. Am J Kidney Dis. 1986;8:356-67.
- Salahudeen A, Badr K, Morrow J, Roberts J 2<sup>nd</sup>. Hydrogen peroxide induces 21-aminosteroid-inhibitable F2-isoprostane production and cytolysis in renal tubular epithelial cells. Am J Soc Nephrol. 1995;6:1300-3.
- Lieberthal W, Triaca V, Levine J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis vs. necrosis. Am J Physiol. 1996;270:700-8.
- 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울: 정보사; 2003, p. 514-7.
- 太平惠民和劑局. 太平惠民和劑局方. 북경: 인민위생출판사; 1985, p. 128.
- 鞠潤範, 金相贊, 朴宣東, 朴性奎, 徐富一, 徐榮培 등. 方劑學. 서울: 永林社; 2008, p. 508-9.
- Wong NL, Walker VR, Wong EF, Sutton RA. Mechanism of polyuria after cisplatin therapy. Nephron. 1993;65:623-7.
- Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates Cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. J Am Soc Nephrol. 2001;12:2683-90.
- Cetin R, Devrim E, Kiliolu B, Avci A, Candir O, Durak I. Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods. J Appl Toxicol. 2006;26:42-6.
- Ahn H, Lee E, Kim K, Lee C. Effect of glutathione and its related enzymes on chemosensitivity of renal cell carcinoma and bladder carcinoma cell lines. J Urol. 1994;151:263-7.
- Kang DG, Lee AS, Mun YJ, Woo WH, Kim YC, Sohn EJ, Moon MK, Lee HS. Butein ameliorates renal concentrating ability in cisplatin-induced acute renal failure in rats. Biol Pharm Bull. 2004;27:366-70.
- Karimi G, Ramezani M, Tahoonian Z. Cisplatin nephrotoxicity and protection by milk thistle extract in rats. Evid Based Complement Alternat Med. 2005;2:283-6.
- Shimeda Y, Hirofumi Y, Akimoto Y, Shindou K, Ijiri Y, Nishihori T, Tanaka K. Protective effects of capsaicin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. Biol Pharm Bull. 2005;28:1635-8.
- Krishan P, Sharma A, Singh M. Effect of angiotensin converting enzyme inhibitors on ischaemia-reperfusion-induced renal injury in rats. Pharmacol Res. 1998;37:23-9.
- Durmus A, Dogan E, Erkoc R, Sayarlioglu H, Topal C, Dilek I. Effect of valsartan on erythropoietin and hemoglobin levels in stage

- III-IV chronic kidney disease patients. *Int J Clin Pract.* 2005;59:1001-4.
22. El-Sayed el-SM, Abd-Ellah MF, Attia SM. Protective effect of captopril against Cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Pak J Pharm Sci.* 2008;21:255-61.
23. Latha PG, Panikkar KR. Chemoprotective effect of *Ixora coccinea* L. flowers on cisplatin induced toxicity in mice. *Phytother Res.* 2001;15:364-6.
24. Yatsu T, Aoki M, Inagaki O. Preventive effect of zelandopam, a dopamine D1 receptor agonist, on cisplatin-induced acute renal failure in rats. *Eur J Pharmacol.* 2003;461:191-5.
25. Saleh S, El-Demerdash E. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide. *Basic ClinPharmacol Toxicol.* 2005;97:91-7.
26. Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, Khattab MM, Al-Shabanah OA. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2002;132:123-8.
27. Shirwaikar A, Malini S, Kumari SC. Protective effect of *Pongamia pinnata* flowers against cisplatin and gentamicininduced nephrotoxicity in rats. *Indian J Exp Biol.* 2003;41:58-62.
28. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis, 2nd ed.. Mosby. St. Louise. 1995:1-36.
29. Kim YK, Choi TR, Kwon CH, Kim JH, Woo JS, Jung JS. Beneficial effect of pentoxifylline on cisplatin-induced acute renal failure in rabbits. *Ren Fail.* 2003;25:909-22.
30. Nishida M, Fujimoto S, Toiyama K, Sato H, Hamaoka K. Effect of hematopoietic cytokines on renal function in cisplatin-induced ARF in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;324:341-7.
31. Ramesh G, Reeves WB, p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289:166-74.
32. Gonzalez R, Borrego A, Zamora Z, Romay C, Hernandez F, Menendez S. Reversion by ozone treatment of acute nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Mediators Inflamm.* 2004;13:307-12.
33. Matsushima H, Yonemura K, Ohishi K, Hishida A. The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med.* 1998;131:518-26.
34. Satoh M, Kashihara N, Fujimoto S, Horike H, Tokura T, Namikoshi T. A novel free radical scavenger, edarabone, protects against cisplatin-induced acute renal damage in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;305:1183-90.
35. Lee SE, Hwang HJ, Ha JS, Jeong HS, Kim JH. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci.* 2003;73:167-79.
36. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich de Buschiazzo P, Ros JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci.* 2002;70:1023-33.
37. Sekiya N, Goto H, Shimada Y, Endo Y, Sakakibara I, Terasawa K. Inhibitory effects of triterpenes isolated from *Hoelen* on free radical-induced lysis of red blood cells. *Phytother Res.* 2003;17:160-62.
38. Yang L, Zhou C, Huang K, Song L, Zheng Q, Yu R. Antioxidative and cytotoxic properties of diarylheptanoids isolated from *Zingiber officinale*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 2009;34:319-23.
39. Naowaboot J, Pannangpetch P, Kukongviriyapan V, Kongyingyoes B, Kukongviriyapan U. Antihyperglycemic, antioxidant and antiglycation

- activities of mulberry leaf extract in streptozotocin-induced chronic diabetic rats. *Plant Foods Hum Nutr.* 2009;64:116-21.
40. Xu GH, Chen JC, Liu DH, Zhang YH, Jiang P, Ye XQ. Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of citrus peel extract by hot water. *J Food Sci.* 2008;73:C11-8.