

六味地黃湯 煎湯液 投與가 白鼠의 血漿 Renin 活性度, 血漿 Aldosterone 및 Atrial Natriuretic Peptide 濃度에 미치는 影響

鄭 銀 卿 · 柳 道 坤 · 李 昊 燮*

ABSTRACT

Effects of Yukmijihwangtang
Water Extracts on the Plasma Renin Activity, Plasma
Levels of Aldosterone and Artrial Natriuretic Peptide in Rats

Weun-Kyung, Jeong · Do-Gon, Ryu · Ho-Sub, Lee

Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Won-Kwang Univ., Iksan, Korea.

The aim of the present experiments was to investigate the effect of Yukmijihwangtang water extracts on the plasma renin activity and plasma levels of atrial natriuretic peptide and aldosterone in rats.

The results of this study were as follows :

1. Plasma renin activity decreased significantly after the administration of Yukmijihwangtang water extracts 1.5 ml/kg.
2. Plasma levels of atrial natriuretic peptide (ANP) decreased significantly after the administration of Yukmijihwangtang water extracts.

*원광대학교 한의과대학 생리학교실

3. Plasma levels of aldosterone increased significantly after the administration of Yukmijihwangtang water extract.

Key Words : renin, atrial natriuretic peptide, aldosterone

緒 論

六味地黃湯은宋代(A.D. 1119年頃), 錢¹⁾이 金匱要略²⁾의 八味腎氣丸에서 肉桂, 附子를 去하여 立方한 處方으로, 小兒藥證直結¹⁾에 本方이 “腎怯失音, 顛門不合, 神不足, 目中白睛多, 面色㿗白”을 主治하는 것으로 收錄한 이래, 수 많은 醫家들에 의하여 腎陰虛³⁻⁷⁾로 인한 諸證을 治療하는 데에 使用되어 왔으며, 腎陰虛證 및 肝腎不足證에 속하는 慢性腎炎, 高血壓, 糖尿病, 慢性泌尿器 感染, 自律神經失調症 肺結核, 甲狀腺機能亢進症 등을 治療하는데 應用되고 있다^{6,8-13)}

東洋醫學에서 水液代謝는 肺, 脾, 腎, 三焦, 膀胱 등의 使用에 의하여 調節된다. 특히 腎은 肺, 脾의 有機的인 協助下에 腎陰, 腎陽의 作用에 의한 正常的인 開闔을 통하여 水液代謝를 主管한다. 만일 腎陰, 腎陽을 통한 正常的인 開闔作用이 이루어지지 않으면 小便不利나 浮腫이 나타나게 된다^{9,14-17)}

六味地黃湯의 腎臟과 關聯된 實驗的 研究로, 鄭¹⁷⁾은 六味地黃湯 投與가 白鼠의 24時間尿의 腎臟機能에 미치는 影響에 대한 報告를 하였고, 金¹⁸⁾은 六味地黃湯 投與가 rat의 成長 및 血清總 cholesterol 含量에 미치는 影響을 報告 하였으며, 柳¹⁹⁾는 馬杉 腎炎에 六味地黃湯이 八味地黃湯에 비하여 有效함을 報告하였다. 金²⁰⁾은 六味地黃湯 投與 후 家兔의 尿量 增加는 絲球體濾過率, 遊離水分 排泄量, 腎血漿流量의 增加 및 血漿 aldosterone의 濃度 減少와 關聯있다고 報告하였고, 李²¹⁾는 六味地黃湯 投與 후 實驗的 腎性 高血壓 白鼠의 血壓이 降下한다고 하였다. 그러나 六味地黃湯을 長期間 經口 投與하여 血漿

hormone에 미치는 效果에 關한 研究 報告는 接하지 못하였다.

이에 著者는 補腎陰의 代表方인 六味地黃湯 煎湯液을 正常 白鼠에 經口 投與한 후 血漿 Renin 活性度, 血漿 Aldosterone 및 Atrial Natriuretic Peptide 濃度를 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 材 料

1) 動 物

實驗動物은 體重 200-250 g 內外의 Sprague-Dawley계 白鼠를 물과 飼料를 充分히 주어 實驗室 環境에 適應시킨 후 實驗에 使用하였다.

2) 藥 物

實驗에 使用한 藥材는 市中에서 購入하여 圓光大學校 韓醫科大學 本草學教室에서 鑑定한 후 精選하여 使用하였다. 處方은 東醫寶鑑²²⁾의 內容에 따라 調製하였으며, 煎湯液을 實驗에 使用하였으므로 劑丸을 위한 竈은 使用하지 않았다. 1 貼의 內容과 分量은 다음과 같다.

2. 方 法

1) 煎湯液의 製造

六味地黃湯 5貼 234.4 g에 蒸溜水 800 ml를 넣고 冷却器를 設置한 後 120分間 加熱하였다.

460ml의 抽出된 煎湯液을 3000rpm으로 30分間 遠心分離하여 400 ml의 六味地黃湯 煎湯液을

Prescription of Yukmijihwangtang

韓藥名	生藥名	重量 (g)
熟地黃	Rehmanniae glutinosa Liboschitz var. purpurea Makino	15.000
山藥	Discoriae japonica Thunberg	7.500
山茱萸	Cornus officinalis Siebold et Zuccarini	7.500
白茯苓	Pachyma hoelen Rumphious	5.625
牡丹皮	Paeonia moutan Sims	5.625
澤瀉	Alisma orientale Juzepczuk	5.625
總計		46.875

얻었다.

2) 藥物의 投與

白鼠를 자유롭게 물과 먹이에 接近할 수 있는 metabolic cage에 넣어 1週間 適應 시킨 후 實驗을 始作하였다. 藥物은 給水器에 稀釋하여 投與하였으며, kg당 1.5 ml 投與群과 3.0 ml 投與群으로 나누어 실험하였다.

3) 採血

血漿 Renin 活性度の 變動을 觀察하기 위하여 藥物 投與 후 2週에 scaffold로 斷頭하여 採血하였다. 血漿 ANP 濃度を 測定하기 위한 採血은

proteolytic enzyme inhibitor mixture (ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 5 mg/ml, soybean trypsin inhibitor (SBTI) 50 BAEE/ml, aprotinin 200 KIU/ml) 가 들어 있는 tube에 採血하였으며, 4 °C에서 3000 rpm 으로 遠心分離하여 血漿을 分離하였다.

4) Renin 活性度 測定을 위한 放射免疫測定法
혈장 renin 活性度は 少量(25 μ l)의 血漿에 大量의 renin 基質을 사용하여 生成된 angiotensin I 을 測定하는 Lee 등^{23,24)}의 方法으로 測定하였다.

Table 1. Effects of Yukmijihwangtang water extracts on the plasma renin activity in normal rats

Group	Plasma Renin Activity (ngAI/ml/hr)
Normal	11.22 \pm 1.43
YM (1.5 ml/kg)	8.26 \pm 0.72*
YM (3.0 ml/kg)	12.15 \pm 1.02 [#]

Values are mean \pm SE of 15 experiments. YM (1.5ml/kg), normal rats with treatment of Yukmijihwangtang water extract 1.5 ml/kg. YM (3.0 ml/kg), normal rats with treatment of Yukmijihwangtang water extract 3.0 ml/kg. *, significantly different from the value of normal group with p<0.05. #, significantly different from the value of YM (1.5 ml/kg) group with p<0.01, respectively.

5) 血漿 Atrial Natriuretic Peptide 濃度の測定
血漿 atrial Natriuretic Peptide 는 Lee 등^{23,24)} 등의 방법에 따라 放射免疫測定法으로測定하였다.

6) 血漿 Aldosterone 濃度測定

實驗成績

1. 血漿 Renin 活性度の變動

白鼠 對照群의 血漿 renin 活性度는 $11.22 \pm$

Table 2. Effects of *Yukmijihwangtang* water extract on the plasma aldosterone concentration in normal rats

Group	Plasma Aldosterone Concentration (pg/ml)
Normal	158.4 ± 9.9
YM (1.5 ml/kg)	$246.0 \pm 27.1^*$
YM (3.0 ml/kg)	$324.5 \pm 20.2^{***}$

Values are mean \pm SE of 15 experiments. *, ***, significantly different from the value of normal group with $p < 0.05$, $p < 0.001$, respectively. Other legends are the same as in Table 1.

Table 3. Effects of *Yukmijihwangtang* water extracts on the plasma levels of atrial natriuretic peptide (ANP) in normal rats

Group	Plasma ANP Concentration (pg/ml)
Normal	51.7 ± 3.3
YM (1.5 ml/kg)	$31.1 \pm 3.8^{***}$
YM (3.0 ml/kg)	$37.4 \pm 2.6^{**}$

Values are mean \pm SE 15 experiments. **, ***, significantly different from the value of normal group with $p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively. Other legends are the same as in Table 1.

血漿 aldosterone 濃度는 aldosterone solid-phase RIA kit (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA., U.S.A.)를 사용하여測定하였다.

3. 統計的處理

實驗結果의 統計的處理는 Stat ViewTM (Brain Power, Inc., Calabasas, CA., U.S.A.)를 사용하여 computer (Macintosh IICx)로處理하였으며 p-value가 最少한 0.05 以下인境遇 有意한 差異로判定하였고, 實驗值의表現은 mean \pm SE로하였다.

1.43 ngAI/ml/hr 이였으며, 六味地黃湯 1.5 ml/kg 投與群에서는 8.26 ± 0.72 ngAI/ml/hr 로 有意한 減少($p < 0.05$)를 보였으나, 3.0 ml/kg 投與群은 12.15 ± 1.02 ngAI/ml/hr 으로 對照群에 비하여 有意한 差異를 보이지 않았다 (Table. 1).

2. 血漿 Aldosterone 濃度の變動

白鼠 對照群의 血漿 aldosterone 濃度는 158.4 ± 9.9 pg/ml 이였으며, 六味地黃湯 1.5, 3.0 ml/kg 投與 후 各各 246.0 ± 27.1 , 324.5 ± 20.0 pg/ml 로 對照群에 비하여 有意한 增加($p < 0.05$, $p < 0.001$)를 보였다 (Table. 2).

3. 血漿 Atrial Natriuretic Peptide 濃도의 變動

白鼠 對照群의 血漿 atrial natriuretic peptide 濃度는 51.7 ± 3.3 pg/ml 이었으며, 六味地黃湯 1.5, 3.0 ml/kg 投與 후 各各 31.1 ± 3.8 , 37.4 ± 2.6 pg/ml로 對照群에 비하여 有意한 減少 ($p < 0.001$, $p < 0.01$)를 보였다 (Table. 3).

考 察

宋代 錢乙方¹⁾인 六味地黃湯은 器質的 虛弱을 補強하고 虛少 卽 津液不足에서 오는 異常機能 亢進을 鎮靜抑制하여 다시 器質的 消耗을 방지하여 건강을 保全하도록 하는²⁵⁾ 腎陰을 補하는 處方이다.

六味地黃湯의 構成 藥物 중 熟地黃은 味甘, 性微溫으로 滋陰·補腎·生精, 益髓鎮精하고, 山藥은 味甘, 性平으로 補脾固腎·長肌肉하고, 山茱萸는 味甘酸, 性溫으로 補肝腎之精·澁精秘氣하며, 牡丹皮는 味辛苦, 性微寒으로 活血行瘀·消炎清熱하고, 茯苓은 味甘淡, 性平으로 利水滲濕하며, 澤瀉는 味甘, 性寒으로 利水滲濕·泄腎經之火²⁶⁻²⁸⁾한다.

方劑學的 側面에서 살펴보면 熟地黃, 山茱萸, 山藥이 補腎陰, 補肝腎, 補脾胃하고, 澤瀉, 牡丹皮, 茯苓은 滲腎濕, 瀉肝火, 滲脾濕하여 補瀉가 相互作用하는 가운데 溫補命門眞火하여 引火歸元하는 肉桂와 附子를 더함으로써 諸藥이 함께 溫補腎陽하는 作用을 한다¹³⁾.

實驗的 報告에 의하면 熟地黃은 腎血管擴張과 強心作用 및 이에 따른 利尿作用^{21,23,29)}이 있으며 renin 分泌를 抑制하고, 絲球體 濾過率과 尿量을 增加시킨다²³⁾고 하였다. 熟地黃·澤瀉·牡丹皮·肉桂는 angiotensin converting enzyme의 活性을 抑制한다고 報告^{30,31)}되었으며, 茯苓·山茱萸·澤瀉에는 利尿效果가 있다고^{32,33)} 하였다.

本 實驗의 內容은 靜脈내 投與에 의한 短時間의 效果를 觀察한 것이 아니라 經口 投與에 의

한 長期間의 效果를 觀察한 實驗이다.

實驗的으로 白鼠에 六味地黃湯을 投與할 適切量은 1.5 ml/kg으로 算出되어 1次的으로 六味地黃湯 1.5 ml/kg 을 정하여 投與하였다.

六味地黃湯 1.5 ml/kg 投與 후 血漿 renin 活性度는 有意하게 減少하였으나, 六味地黃湯 3.0 ml/kg 投與 후 血漿 renin 活性度는 有意한 變動을 보이지 않았다.

六味地黃湯 投與 후 血漿 aldosterone 濃度는 有意한 增加를 보였다. 六味地黃湯 投與 후 血漿 ANP 濃度는 有意한 減少를 보였다.

六味地黃湯 1.5 ml/kg 投與 후 血漿 renin 活性도와 血漿 ANP 濃度는 有意한 減少를 보였으나 血漿 aldosterone 濃度는 有意한 增加를 보였다. 六味地黃湯 3.0 ml/kg 投與 후 血漿 renin 活性도는 有意한 變動을 보이지 않았으나, 血漿 aldosterone 濃度는 增加하였고, 血漿 ANP 濃度는 減少하였다.

六味地黃湯은 腎陰을 補하는 處方으로 腎臟의 機能과 密接한 關聯이 있다. 宋³⁴⁾은 腎俞 刺鍼에 의해 心房에서 分泌되는 ANP 濃도가 減少하는 것은 腎臟이 心臟의 機能을 調節할 수 있으며 水克火를 立證하는 것으로 說明하였다. 本 實驗에서 血漿 aldosterone 은 補腎陰의 六味地黃湯 投與 후 增加하였다. 그러나 血漿 ANP 濃度는 六味地黃湯 投與 후 有意한 減少를 보였다. 補腎陰의 意味는 體內 陰水와 關聯이 있다. 六味地黃湯 投與에 의한 血漿 aldosterone 濃度の 增加는 補腎陰의 意味로 생각할 수 있겠으며, 補腎과 關聯있는 藥物의 投與에 의한 ANP 濃度の 減少는 宋³⁴⁾의 報告에서와 같은 腎臟과 心臟의 關聯性을 생각할 수 있겠다.

이상의 結果에서 六味地黃湯 投與 후 나타난 體內 水分平衡 및 尿量의 增加가 遊離水分 排泄量과 絲球體 濾過率에 影響을 미쳐 나타났다는 鄭¹⁷⁾의 報告와 같이 이러한 效果는 血漿 aldosterone 및 ANP 濃度の 變動과 關聯이 있다고 思料된다.

結 論

六味地黃湯 煎湯液 投與가 白鼠 血漿 renin 活性度 및 atrial natriuretic peptide 濃도에 미치는 影響을 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 六味地黃湯 1.5 ml/kg 投與 후 血漿 renin 活性도는 減少를 하였다.

2. 六味地黃湯 煎湯液 投與 후 血漿 ANP 濃도는 減少하였다.

3. 六味地黃湯 煎湯液 投與 후 血漿 aldosterone 濃도는 增加하였다.

參 考 文 獻

1. 錢 乙 : 小兒藥證直訣, 江蘇, 江蘇科學技術出版社, pp. 47- 48, 1983.
2. 張仲景 : 金匱要略方論, 台北, 台聯國風出版社, pp. 34-35, 1973.
3. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 147, 1987.
4. 吳 謙 : 醫宗金鑑, 北京, 人民技術出版社, p. 31, 1982.
5. 張介賓 : 景岳全書, 大邱, 東洋綜合通信教育院, pp. 979, 1073, 1987.
6. 上海中醫學院 : 新編中醫學教材 方劑學, 香港, 商務印書館香港分館, pp. 235-238, 1983.
7. 趙獻可 : 醫貫, 北京, 人民衛生出版社, p. 82, 1982.
8. 鄭津矣 : 中醫處方解說, 臨床, 應用, 서울, 癸丑文化社, pp. 84-85, 88, 89, 1986.
9. 召念方 : 臟腑證治與用藥, 山東, 山東科學技術出版社, p. 291-292, 316, 318-319, 324, 326, 1983.
10. 董黎明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, p. 463, 1986.

11. 上海中醫學院 : 全國高等醫藥院校試用教材 (內科學下冊), 上海, 上海科學技術出版社, p.384, 1983.
12. 王 宇, 矢 禾 : 中醫腎臟病學, 河南, 河南科學技術出版社, p. 60, 1990.
13. 游士勳 : 實用中醫方劑學, 臺北, 樂群出版社, pp. 112-114, 397-400, 1983.
14. 柳道坤 : 東醫生理學講義, 益山, 圓光大學校出版局, pp. 365-377, 1996.
15. 柳道坤, 李昊燮, 康舜洙, 鄭遇悅, 腎機能에 대한 東西醫學的 考察, 大韓漢醫學會誌, 第8卷 1號, pp. 102-122, 1987
16. 李兆華 : 腎與腎病的證治, 河北, 河北省新華書店, pp. 8-9, 32, 1979.
17. 鄭銀卿^外 : 六味地黃湯 煎湯液 投與가 白鼠의 腎臟機能에 미치는 影響, 東醫生理學會誌, Vol. 11(2) : 73-79, 1996.
18. 金宇炫, 申攻圭, 金完熙. 六味地黃湯投與가 rat의 成長 및 血清總 cholesterol 含量에 미치는 影響, 慶熙大學校 韓醫科大學 論文集, Vol. 111-115, 1978.
19. 柳志允 : 六味地黃湯 및 八味地黃湯이 抗改良型 馬杉腎炎에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1982
20. 金炯均, 左歸飲과 六味地黃湯 煎湯液 投與가 家兔 腎臟機能 및 血漿 aldosterone 濃도에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1992
21. 李彥政. 六味地黃湯 煎湯液이 腎性高血壓 白鼠의 血漿 및 血漿 renin 活性도에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1986.
22. 許 浚, 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 147, 1975
23. Lee, H.S., Song, J.C., Kim, K.S. : Effects of Accupuncture on the plasma atrial natriuretic peptide, aldosterone and renin activity in Man. Acupuncture and Electro-Therapeutic Res., Int. J., Vol 16, pp. 111-115, 1991.
24. Cho, K. W., S. H. Kim and G. Y. Koh.

- Radiomunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh water turtle. J. Exp. Zool., 242, 255-262, 1987.
25. 康舜洙 : 바른 方劑學, 서울, 大星文化社, p. 138, 1996.
26. 辛民教, 本草維新, 서울, 慶苑文化社, pp. 58, 78, 91-92, 96-97, 289, 1979
27. 申佶求, 申氏本草學 (各論), 서울, 壽文社, pp. 16-29, 77-79, 92-95, 101-106, 110-112, 1973
28. 李尙仁, 安德均, 辛民教, 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp. 124, 171-172, 175-176, 225-226, 232, 356, 395, 1982
29. 王浴生. 中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, pp. 264-270, 400-405, 442-445, 483-489, 529-532, 575-580, 718-722, 741-743, 767-769, 1983.
30. 尹惠淑, 鄭聖顯, 韓秉勳. 植物生藥의 angiotensin 變換酵素 抑制作用 檢索, 서울, 大韓生藥學會誌, 12(1) 51-54, 1981.
31. Jin Ichi Inokuchi, Hikaru Okabe, Tatsuo Yamauchi and Atsuo Nagamatsu, Inhibitors of angiotensin converting enzyme in crude drugs, I. Chem. Pharm. Bull. 32(9) 3615-3619, 1984.
32. 上海中醫學院, 中草藥學, 香港, 商務印書館, pp. 127, 226, 229, 292, 296, 521, 525, 555, 561, 681, 589, 1983.
33. 廣東中醫學院, 中醫方劑學, 北京, 廣東人民出版社, pp. 153, 234, 237, 303, 305, 306, 551, 561, 589, 1983.
34. 宋鍾燦, 心俞, 腎俞, 針刺가 人體의 血漿 atrial natriuretic peptide, β -endorphin, aldosterone, cortisol 및 renin 活性度에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1988.