

## 樗根白皮 成分의 生理活性에 관한 研究 (II)

—클로로포름분획의 급성 및 신장에 대한 독성—

金 鐘 · 金惠京 · 朴銖完 · 崔鐘元 · 李晶揆

慶星大學校 藥學大學

### Studies on the Biologic Activities of the Constituents of *Ailanthi Cortex Radicis* (II)

—Acute and Renal Toxicity of Chloroform Fraction—

Jong Kim, Hyekyung Kim, Soo Wan Park, Jong-Won Choi and Chung Kyu Lee

College of Pharmacy, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

**Abstract**—During the serial attempts to identify the chemical and biological characteristics of *Ailanthi Cortex Radicis*, the root bark of *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae), we find out the serious toxic effect on kidney by chloroform fraction of the methanolic extract of the herb drug. The toxicities were revealed as the increase of urea nitrogen amount in blood and lactate dehydrogenase and  $\gamma$ -glutamyl-transferase activities in urine and the decrease of the concentration of glutathione and both of protein bound and non-protein bound -SH in kidney tissue.

**Keywords**—*Ailanthi Cortex Radicis* · *Ailanthus altissima* · Simaroubaceae · renal toxicity

저근백피(樗根白皮)<sup>1-5)</sup>의 성분과 효능을 구명하기 위한 일련의 연구중 그 메탄올추출물과 이로부터 얻은 분획의 epoxide 분해계에 미치는 영향을 검토한 前報<sup>6)</sup>에 이어, 클로로포름분획의 급성독성과 신장에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 이 분획을 투여한 흰쥐에 있어서의 血中 urea nitrogen 및 尿中 lactate dehydrogenase 및  $\gamma$ -glutamyltransferase의 활성 변화와 신장조직의 glutathione 농도와 단백질합 -SH 및 비단백 결합 -SH의 농도의 변화를 관찰하였다.

### 실 험 방 법

**재료 및 실험동물**—실험에 사용한 재료는 시중에 유통되는 국산 저근백피로 가축나무의 근피임을 확인하고, 세절된 것을 그대로 사용하였다. 실험동물은 본교 사육실에서 계대, 관리하

는 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(180~200 g)로 외견상 건강한 것을 사용하였다.

**추출 및 분획**—세절된 저근백피(2.9 kg)를 수욕상에서 메탄올로 4회 추출한 후 감압농축하여 메탄올 추출물(368 g)을 얻고 이것을 물에 현탁한 후 hexane으로 4회 처리하여 hexane 가용분(hexane분획)을 얻은 후 클로로포름으로 4회 처리하여 클로로포름분획(32 g)을 얻었다.

**사망을 측정과 투여액 조제**—각각 10마리의 흰쥐를 한 군으로 하여 메탄올추출물과 클로로포름분획 현탁액을 50~600 mg/kg의 용량을 매일 1회씩 6주간 연속 경구투여하여 각 용량에서의 일주일 단위의 사망동물수를 세었다.

투여액은 1% Tween 80 용액에 현탁시킨 메탄올추출물과 클로로포름 분획물의 0.4 ml/200 g 이 체중 kg당 표시용량이 되도록 하였다.

**血中 요소성 질소 측정**—혈청을 채취한 후

urease-indophenol법에 따라 kit 시약으로 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**尿中 Lactate Dehydrogenase(LDH) 활성 측정**—Young 등<sup>7)</sup>의 방법에 따라 6.3  $\mu$ mol의 NAD와 50  $\mu$ mol의 *l*-lactate를 함유하는 완충액 (pH 8.9)의 반응액에 효소원 50  $\mu$ 를 가하여 340 nm에서의 흡광도의 증가율을 관찰함으로써 활성을 측정하였다.

**尿中  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT) 활성 측정**—N-glycylglycine (40 mmole)을 함유한 완충액 (pH 8.9)에 대사 cage에서 수집한 오줌 50  $\mu$ 를 가하여 Szasz<sup>8)</sup>의 방법에 따라 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**신장조직중 단백질결합 및 비단백결합 -SH 양 측정**—10% 신장균질액을 각각 Sedlak과 Lindsay<sup>9)</sup>의 방법 및 Higashi<sup>10)</sup>의 방법에 따라 처리하고 412 nm 및 540 nm에서 흡광도를 측정, 계산하였다.

**신장조직중 glutathione 농도 측정**—10% 신장균질액으로 부터 Gaitonde<sup>11)</sup>의 방법에 따라 cysteine을 정량한 후 비단백결합 -SH 양에서 cysteine의 양을 제한 값을 glutathione의 양으로 간주하였다.

## 결과 및 고찰

**사망율과 용량/기간**—급성독성과 이후 실험에 적용할 용량을 측정하기 위한 48시간내의 사망

율을 검토한 실험의 결과는 Table I에 나타난 바와 같다. 메탄올추출물은 이 실험의 최고용량인 600 mg/kg(p.o.)의 용량을 6주간 투여하여도 모두 살았고, 클로로포름분획의 경우 100 mg/kg을 2주간만 투여할 경우 100%의 생존율을 나타내다가 투여기간을 그 이상 연장하면 사망율이 높아지며, 300 mg/kg의 용량에서는 일주간의 투여로 90%의 생존율 밖에 보장하지 못하므로 이후의 실험에서 투여용량과 기간은 100 mg/kg (p.o.), 2주간으로 하였다.

**혈중 요소성 질소와 요중 LDH 및  $\gamma$ -GT의 활성에 미치는 영향**—신장기능의 지표가 되는 혈중요소성 질소의 양에 있어서 메탄올추출물 투여군의 경우 29.7 mg/dl로 대조군의 26.8 mg/dl에 비해 약 10% 정도 증가하였으나 유의성이 없었으며, 클로로포름분획 투여군에서는 56.2 mg/dl로 100% 이상의 증가를 나타내어 독성성분이 클로로포름 분획에 농축되어 있음을 알 수 있었다. 또한 세뇨관의 손상을 반영하는 요중 LDH 및  $\gamma$ -GT의 활성에 있어서 클로로포름분획 투여군은 각각 44.0 unit 및 61.4 unit로 모두 대조군에 비해 각각 50% 및 250% 이상의 증가를 나타내었고 메탄올추출물 투여군의 경우 유의적인 변화를 인정할 수 없었으므로, 역시 클로로포름분획에 독성성분이 집중되어 있음을 알 수 있었다(Table II). 이렇게 LDH보다  $\gamma$ -GT의 활성에 현저한 변화를 주는 것은 클로로포름분획의 신독성은 원위세뇨관 보다는 근위세뇨관에

Table I. Survival rate of rats given methanol extract and its chloroform fraction of the root bark of *Ailanthus altissima* with various doses and periods

Dose (mg/kg, p.o.)	No. survived/No. treated						
	1	2	3	4	5	6 weeks	
Methanol ex.	50	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	300	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	600	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
Chloroform fr.	50	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
	100	10/10	10/10	9/10	8/10	6/10	0/10
	300	9/10	5/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	600	6/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

**Table II.** Effects of methanol extract and its chloroform fraction of the root bark of *Ailanthus altissima* on the amount of blood urea nitrogen (BUN) and activities of urinary lactate dehydrogenase (LDH) and  $\gamma$ -glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT) in rats

Treatments*	BUN	LDH	$\gamma$ -GT
	mg/dl serum (% of Control)	Unit, 24 hrs (% of Control)	Unit, 24 hrs (% of Control)
Control	26.8±2.59	27.7±1.68	17.1±2.17
Methanol ex.	29.7±2.35 (110.8)	28.5±1.77 (102.9)	18.3±2.13 (107.0)
Chloroform fr.	56.2±4.01†(209.7)	44.0±2.42†(158.8)	61.4±2.28†(359.1)

\* Each group was consisted of 10 rats and was administered 100 mg/kg of sample orally for two weeks. Control group was administered vehicle only. Significantly different from control as  $\dagger p < 0.01$ .

더욱 손상을 줌으로써 나타나는 것으로 생각된다.

신장조직중 -SH양에 미치는 영향—시료의 투여에 의한 신장조직 중의 sulfhydryl양의 변화는 Table III에 나타난 바와 같다. 즉 클로로포름분획 투여군에 있어서 단백결합 및 비단백결합-SH의 양이 모두 대조군에 비해 20% 이상의 감소를 보였고, 메탄올추출물 투여군의 경우에는 감소를 나타내지 못했다. 이러한 현상은 클로로포름분획 중에는 신장세뇨관 구성세포와 결합함으로써 신장독성을 야기하는 성분이 함유되어 있음을 뜻하며 이들 성분은 요소성 질소나 LDH의 증가로 나타나는 것과는 또다른 기전에 의하여 신장독성이 진행됨을 암시한다.

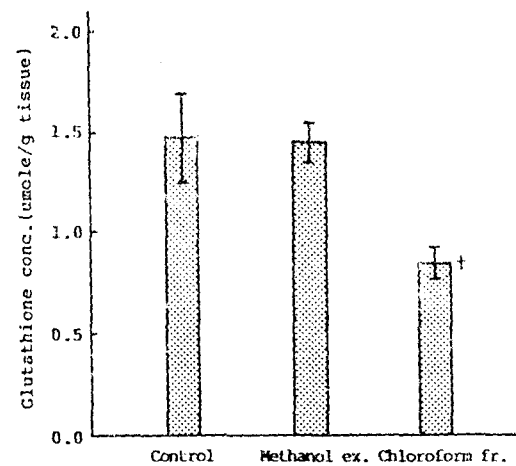
신장조직중 Glutathione양에 미치는 영향—신

**Table III.** Effects of methanol extract and its chloroform fraction of the root bark of *Ailanthus altissima* on the concentrations of renal protein-bound sulfhydryl(P-SH) and nonprotein-bound sulfhydryl(NP-SH) in rats

Treatments*	Sulfhydryl conc. ( $\mu$ mole/g tissue)	
	P-SH	NP-SH
Control	18.7±1.24	3.87±0.22
Methanol ex.	17.8±0.75	3.60±0.24
Chloroform fr.	14.5±1.14†	2.78±0.17†

\* Each group was consisted of 10 rats and was administered 100 mg/kg of sample orally for two weeks. Control group was administered vehicle only. Significantly different from control as  $\dagger p < 0.01$ .

장조직중의 sulfhydryl의 양이 시료의 투여로 현저히 감소됨이 확인되었으므로 이와 함께 해독기전에 관여하는 glutathione의 양에 미치는 영향을 검토한 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 즉 메탄올추출물 투여군은 유의적인 변화를 보여주지 않았으나 클로로포름분획 투여군에 있어서는 대조군에 비해 약 45%가 감소된 효과를 나타냈다. 세포내 glutathione 고갈은 화학물질,<sup>12)</sup> 방사선<sup>13)</sup> 및 활성산소<sup>14)</sup> 등으로 야기된 독성에 대하여 감수성을 증가시키며, glutathione



**Fig. 1.** Effects of methanol ex. and its chloroform fr. of the root bark of *Ailanthus altissima* on renal glutathione concentration in rats\*

\* Each group was consisted of 10 rats and was administered 100 mg/kg of sample orally for two weeks. Control group was administered vehicle only. Significantly different from control as  $\dagger p < 0.01$ .

고갈자체는 신장기능을 손상시키는 것으로 알려져 있다.<sup>15)</sup> 따라서 앞서의 sulfhydryl 양의 변화를 고려하면 클로로포름분획의 이러한 효과는 신장세포중에서 glutathione을 고갈시킴으로써 신장기능 장애를 야기하는 성분이 함유되어 있음을 확신케 한다.

## 결 론

저근백피의 메탄올추출물과 이로부터 얻은 클로로포름분획을 대상으로 급성독성과 신장기능에 미치는 영향을 검토한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 클로로포름분획은 경구투여시 100 mg/kg (5주간), 300 mg/kg (2주간) 및 600 mg/kg (1주간)의 용량에서 생존율 50~60%의 급성독성을 나타내었다.

2. 혈중 요소성 질소의 양은 클로로포름분획의 투여에 의해 100% 이상의 증가효과를 나타내었고 요중 LDH 및  $\gamma$ -GT의 활성도 각각 50% 및 250% 이상의 증가효과를 나타내었으며 메탄올 추출물 투여군의 경우 유의적인 변화가 없었다.

3. 신장조직중 단백결합 및 비단백결합 -SH 모두 클로로포름분획의 투여로 20% 이상 감소되었다. 또한 glutathione 농도도 클로로포름분획의 투여로 인해 현저히(약 45%) 감소되었으나 메탄올 추출물 투여군에서는 역시 유의적인 변화가 없었다.

(1994년 1월 20일 접수 : 1월 28일 수리)

## 참 고 문 헌

1. 保健社會部 : 大韓藥典外韓藥(生藥)規格集, 한국메디칼인덱스사, 서울, p.111 (1984).
2. 陸昌洙 : 原色韓國藥用植物圖鑑, 제 1 판, 아카데미서적, 서울, p.325 (1989).
3. 江蘇新醫學院(中國) : 中藥大辭典, 제 1 판, 下冊, 上海科學技術出版社, 上海, pp.2587~2589 (1979).
4. 許鴻源 : 少用藥之研究, 제 1 판, 行政院衛生署中醫藥委員會, 臺北, pp.65~66 (1974).
5. Tang, W. and Eisenbrand, G.: *Chinese Drugs of Plant Origin*, Springer-Verlag, New York, pp.51~57 (1992), 및 인용문헌.
6. Kim, J., Choi, J.-W., Kim, H., Park, S.W. and Lee, C.K.: *Kor. J. Pharmacogn.* 25, 47 (1994).
7. Young, D.S., Pastaner, L.E. and Gibberman, V.: *Clin. Chem.* 21, 323 (1975).
8. Szasz, F.: *Clin. Chem.* 15, 124 (1969).
9. Sedlak, J. and Lindsay, R.H.: *Anal. Biochem.* 25, 192 (1968).
10. Higashi, T.: *Protein, Nucleic acid & Enzyme* 33, 1370 (1988).
11. Gaitonde, M.K.: *Biochem. J.* 104, 627 (1967).
12. Szavo, S., Trier, J.S. and Frankel, P.W.: *Science* 214, 200 (1987).
13. Dethmors, J.K. and Merister, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78, 7492 (1981).
14. Arrick, B.A., Narham, C.F., Griffith, O.W. and Cohn, Z.A.: *J. Biol. Chem.* 257, 1233 (1982).
15. Torres, A.M., Kodriguez, J.V. and Elias, M.M.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 25, 247 (1989).