

갈근 열수 추출물이 알루미늄을 투여한 흰쥐의 혈청 효소 활성도와 호르몬에 미치는 영향

한성희 · 신미경*

원광보건대학 식품영양과, 원광대학교 생활과학대학 식품영양학과*

(2005년 1월 31일 접수)

Effects of Water in Extracts of Pueraria Radix on Serum Enzymes Activities and Hormone in Aluminum-Administered rats

Sung Hee Han and Mee Kyung Shin*

Dept. of Food of Nutrition Wonkwang Health Science College,

Dept. of Food of Nutrition, College of Human Environmental Science, Wonkwang University*

(Received January 31, 2005)

Abstract

This study was designed to investigate the effects of Korean *pueraria radix* water extract in Al(Aluminum) administered rats. Forty-eight male Sprague-Dawley rats weighing 100 ± 10 g were used for this experiment and divided into following 6 groups; control group, 3% *pueraria radix* in water extract group, 1000 and 2000ppm Al group, 1000 and 2000ppm Al group with 3% *pueraria radix* in water extract group. The Al administered rats were given 1000 and 2000 ppm of $Al_2(SO_4)_3$ dissolved in the distilled water. The Al content in the rats tissue of Al administered group was lower than in the rats tissue of Al group with 3% *pueraria radix* in water extract group. Plasma levels of renin and aldosterone activity was increased by Al administration group, compared with 3% *pueraria radix* in water extract group and Al administered group. Glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) and Glutamate pyruvate transaminase(GPT) were increased in Al-administered group and lower in the 3% extracts of *pueraria radix* in water extract group. Lactate dehydrogenase(LDH) was lower in the 3% extracts of *pueraria radix*-Al group than in the Al group. This results suggested that *pueraria radix* in water extract group has a lowering effects on the accumulation of Al and it is believed that the *pueraria radix* in extracted water group has some protective effects to Al administered in rats, but the mechanism of these effects was obscure.

Key Words : *pueraria radix* in water extract group, Al group, GPT, GOT, LDH, rennin, aldosterone

I. 서론

오늘날 산업화의 심각한 공해 문제는 환경오염으로 인해 토양을 산성화 시키기때문에 토양에 존재하는 유해 물질 중에서 알루미늄은 산성에 쉽게 용해

되어 식수의 알루미늄 농도를 증가시킨다. 더욱이 우리가 이제까지 안전한 것으로 사용하여 온 보다 많은 물질들이 면밀한 검색에 의해서 유해성이 밝혀지는 경우가 있어 자연 수준 이상 함유된 물질의 과량 섭취는 일단 위험 요소로 보아야 할 것이다. 이

중 알루미늄은 독성이 없는 것으로 알려져 건축용 자재, 사무용품, 가정용품, 식품포장지, 조리용기에 등에 다양하게 이용되어 왔으나 점차 유해성이 인정되고 있는 실정으로 대기, 식수, 식품, 의약품으로부터 알게 모르게 섭취량이 크게 증가되고 있어 알루미늄의 과량섭취는 식품 위생상 문제가 있는 것으로 인식되고 있다. 알루미늄의 섭취경로를 보면 식품에 들어있는 발효제, 향응고제, 표백제, 유화제 등의 식품첨가물 사용¹⁾과 식수를 통한 섭취²⁾, 제산제, 진통제, 지사제, 항궤양성 약물등에 많은 양의 알루미늄이 들어 있다고 밝혀졌으며³⁾ 이러한 여러 경로를 통해 알루미늄이 인체에 흡수될 가능성도 매우 높아지고 있다. 반면 알루미늄의 주요 배설경로는 신장을 통한 배설로 Alfrey⁴⁾는 1980년 정상적인 신장 기능을 갖고 있는 사람의 조직 중 알루미늄 수준(tissue aluminum level)은 항상 낮게 유지되나 신장 기능에 이상이 있는 사람은 알루미늄이 정상적으로 배설되지 못하여 조직에 축적된다고 한다⁵⁻⁷⁾. 알루미늄과 관련된 질병으로는 투석성 뇌질환(dialysis encephalopathy), 거대적아구성빈혈(macrocytic anemia), 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 근위축성측상경화증(alcohol dementia), 골연화증(osteomalacia), 골이영양증(ostedystrophy)과 같은 질병을 유발한다고 보고하였다⁸⁾.

최근 동물체내의 중금속 중독 증상을 완화시키기 위하여 자유라디칼(free radical scavenger) 역할을 하는 동시에 중금속을 체외로 배설 시킬 수 있는 천연 물질에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 그 가운데 차류는 다량 존재하는 polyphenol계 화합물인 tannin 및 catechin 성분은 강한 항산화 작용과 더불어 유해성금속 이온과 착염을 형성하고^{9,10)} 2,3-dimercaptosuccinin, EDTA와 BAL(2,3-dimercaptopropanol)이 chelating agent로 작용해 중금속의 배설을 증가시키고 체내 중금속 함량을 감소시킨다는 보고¹¹⁻¹³⁾가 있어 열수 침출한 차류 음료 음용에 의한 인체의 중금속 해독 식품으로 기대할 수 있을 것으로 사료된다. 더구나 최근에는 우리 전통 식품에 대한 과학적인 연구가 활하게 이루어지고 있는 가운데 갈근(*Pueraria radix*) 뿌리를 약용 및 식용으로 이용되고 있다¹⁴⁾. 갈근의 약리성분으로는 flavonoid계 화합물인 daidzein과 gesterin, puerarol, kaldonein 등¹⁵⁻²⁰⁾과 alcohol dehydrogenase와 mitochondrial

dehydrogenase의 저해제로서의 기능^{21,22)}과 배당체인 pueraria glycoside는 지질과산화물을 억제하고 항산화 작용과 보간작용이 있는 것으로 보고하였다^{22,23)}. 일반적으로 차류와 이노 효과는 매우 밀접한 관계에 있어 고혈압이 있는 대부분의 사람은 일부러 차를 많이 음용한다고 볼 때 이에 본 연구에서는 한국의 전통 음료로서 일반 가정에서 흔히 우려마실뿐 만 아니라 시판 다류 음료로서 많이 음용하고 있는 갈근 열수추출액이 알루미늄 중독 완화 효과에 대한 영향을 흰쥐를 사용한 동물 설정에 의해서 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 갈근은 서울 경동시장의 한약 재료상에서 구입하여 60-70°C 열풍 건조기에서 6시간 건조한 후에 분쇄기(대우 분쇄기 KMF-360, 한국)로 마쇄하여 100 mesh로 분말화 하였다. 3% 갈근 열수 추출액은 분말화 한 30 g의 갈근을 1 L의 탈이온 증류수에 넣어 6시간 동안 밀봉 상태로 순환냉각기를 사용해서 60±10°C에서 가열한 후 여과하여 회전 감압농축기로 농축시켜 갈근 열수 추출액을 제조하였다. 농축 정도는 물 추출액으로 3% 농도(고형분 함량비)의 시료 용액을 만들어 실험쥐에게 음용수 대신 공급하였다.

2. 실험동물 사육

실험에 이용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계(male, 100±10g)로 일반 cage에 8마리씩 넣어 일반 고형사료(Purina Co, Seoul, Korea)로 1주일 동안 환경(온도 23±2°C, 습도 50~60%)에 적응시킨 다음 체중에 따른 난괴법(Randomizes complete block design)으로 대사 케이지에 1마리씩 넣어 각 군당 8마리씩 6개군으로(Table 1)과 같이 구분하였다. 즉, 정제수만을 급수한 대조군, 3% 갈근 열수 추출물군, 각각 알루미늄 농도를 달리한 1000ppm, 2000ppm 단독 급여군, 3% 갈근 열수 추출물에 각각 1000ppm, 2000ppm 알루미늄 병합 급여군으로 나눈 다음 4주

<Table 1> Classification of experimental groups

Experimental groups	Aluminum in drinking water	Pueraria radix in drinking water
CON ¹⁾	-	-
PR ²⁾	+	+
LAL ³⁾	1000 ppm	-
HAL ⁴⁾	2000 ppm	-
PR-LAL ⁵⁾	1000 ppm	+
PR-HAL ⁶⁾	2000 ppm	+

- 1) CON(Control diet): deionzed water, without heavy metals.
- 2) PR: Pueraria radix water extract tea group.
- 3) LAL: Al-1000 ppm added, non-Pueraria radix water extract group.
- 4) HAL: Al-2000 ppm added, non-Pueraria radix water extract group.
- 5) PR-LAL: Al-1000 ppm added, 3% Pueraria radix water extract group.
- 6) PR-HAL: Al-2000 ppm added, 3% Pueraria radix water extract group.

동안 사육하였다. Aluminum(Al_2SO_4)₃ 공급은 일상 생활에서 식수를 통하여 오염될 가능성이 높다고 보는 중금속 농도 음용수 수질기준인 0.2ppm을 중심으로 1000ppm, 2000ppm의 알루미늄을 함유하게 하였다. 실험기간 동안 명암의 주기는 12시간 간격으로 조정하였고, 몸무게는 1주일에 한 번 측정하였으며, 식이효율은 전 체중 증가량을 같은 기간 동안의 식이섭취량으로 나누어 계산 하였다. 식이섭취량은 매일 정해진 시간에 측정하였으며 실험에 사용된 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위하여 0.5% EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid)용액으로 세척 한 후 탈이온 증류수로 행구어 사용하였다.

3. 시료채취

실험 종료 후 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 가볍게 마취시킨 다음 개복한 즉시 심장 정맥에서 10 mL 주사기로 혈액을 채취하였고 각 장기는 간, 폐, 심장, 신장, 및 비장을 적출하여 무게를 측정하였다. 혈청은 15°C에서 20분간 방치한 후 3000rpm에서 15분간 원심분리한 다음 Kit 시약을 이용하여 측정하였고, 혈장은 채혈 즉시 항응고 처리된 관에 넣어 검사하였다

4. 각 조직의 알루미늄 함량 분석법

간, 폐, 심장, 신장 및 비장을 -70°C에서 냉동 보

<Table 2> The operating condition of ICPS

Classification	Condition
Plasma	15.0 m/min
Auxiliary	1.50 L/min
Pump speed	25.0 rpm
Carrier gas flow	75 psi
Nebulizer	250 kpa
Intergration time	3 sec
Cooling water flow	2 kgF/cm ²

관 한 후 Ganje 습식분해법²⁴⁾에 준하여 분석하였다. 즉, 약 1 g의 조직을 취하여 HNO₃:HClO₄(2:1, v/v)의 혼산용액 10 mL를 가한 다음 열판(100±10°C)에서 가열하여 분해액이 미색으로 변하면 분해가 종료된 것으로 하였다. 방냉한 액을 50 mL로 정용한 다음 여과하여 여과액을 ICPS(inductively coupled plasma spectrometer, Liberty 110-Varian)를 사용하여 <Table 2>의 조건으로 측정하였다.

5. 혈청중의 효소 활성도 측정

Asparatate amino transaminase(AST, Glutamate oxaloacetate transaminase, GOT) 및 alanine amino transaminase(ALT, Glutamate pyruvate transaminase: GPT) Reitman-Frankle법²⁵⁻²⁷⁾에 기초한 혈청 transamiase 측정용 Kit 시약(한국, 아산제약)을 사용하여 측정하였다. 즉 기질액(AST의 경우 L-aspartic acid, ALT의 경우 DL-alanine) 1.0mL을 37°C에서 4분간 방치한 후 표준액 및 혈청 0.2mL를 가하여 37°C에서 60분간 반응시키고 (ALT의 경우 30분간 반응) 정색시약(2,4-dinitrophenyl hydrazine) 1.0mL를 넣어 실온에서 20분간 발색시킨 후 0.4N-NaOH 10mL 가하여 증류수 blank를 대조로 하여 spectrophotometer (Model Gilford ATASAR-3)로 50nm에서 비색정량하였다. AST(GOT), ALT(GPT)의 활성 단위는 혈청 mL 당 Karmen unit로 하였다.

Lacate dehydrogenase(L-Lactate: NAD+, Oxidoreducatase:LDH)²⁸⁻²⁹⁾ Lactate dehydrogenase 측정용 Kit 시약(일본, Mizuho, Medy, SR-1110)을 이용하여 기질 완충액(lithium lactate 144mM, tris buffer(pH 8.5)100mM)과 정색시약(lithium lactate 144mM, tris buffer(pH 8.5) 100mM)과 정색시약

(nicotinamide adenine dinucleotide(NAD) 6mM, diaphorase 2.0IU/ML, nitrotetrazolium blue(NTB) 0.6mM) 혼합액 1.0ml를 37°C 항온 수조에서 5분간 예비가열한 후 혈청 및 표준액 0.05mL를 가하여 10분간 반응시키고 반응정지액 (0.1N-HCl, surface active agent 0.1%) 3.0 mL를 가하여 실온에서 5분간 정색시킨 후 blank를 대조로 하여 spectrophotometer (Model Gilford STASAR-3)로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성도는 아래 공식에 의하여 Wro. Unit(Wro. U=0.4821 IU/L)로 하였다.

$$\text{LDH activity (Wro. U)} = \frac{\text{혈청의 흡광도}}{\text{표준시료의 흡광도}} \times \text{표준시료의 환산계수}$$

6. 혈장 renin과 aldosterone 활성도 측정

혈장 renin 활성도는 소량 (25ul)의 혈장에 대량의 renin 기질을 사용하여 생성된 angiotensin I을 측정하는 방법으로 정량하였다³⁰⁾ Angiotensin I의 항체는 Goodfriend 등의³¹⁾방법에 따라 angiotensin I(5-Ile, 9-His)을 토끼의 혈청 albumin에 접합시켜 동량의 Freund's adjuvant 와 잘섞어 6주간 1회씩 여러 부위에 주사하였다. 2 주후부터 채혈하여 그 titer를 측정하였으며 혈장은 56°C에서 30분간 불활성화하여 측정하였다. Titer가 결정된 angiotensin I 항혈청은 사용에 편리하도록 일단계 희석하여 소량씩 나누어 -70°C에 보관하였다. Renin기질은 Cho³²⁾의 방법에 따라 만들었으며 renin 활성도의 측정을 위한 angiotensin I의 측정은 Sealey 등³³⁾의 방법을 변형한 Cho 등^{34,35)}의 방법에 따랐다. 변환효소 및 angiotensinases의 억제제로는 EDTA, phenyl-methyl sulfonyl-fluoride 및 8-hydroxyquinoline을 사용하였다. Angiotensin I의 radiommuo-assay는 bovine serum albumin을 포함한 Tris-acetatr buffer(pH 7.4, 0.1M)를 사용하는 일반적인 방법에 따랐다. 4°C 하에서 18-30시간 방치 후 charcoal suspension(activated Norit A charcoal, 6.0g; dextran T 70, 0.625g; phenylmercuric acetate 34 mg; Tris-acetate buffer (pH 7.4, 0.1M)로 1L 되게 하여 bound form과 free form을 분리하였으며 gamma counter(Autogamma 5500, Packard, Downers Grovn, IL, U.S.A.)를 사용하

여 그 radioactivity를 측정하였다.

혈장 aldosterone 농도는 aldosterone solid-phase RIA kit(Diagnostic Products Corporation, Los Angles, CA., U.S.A)를 사용하여 측정하였다.

7. 통계처리

실험 결과는 통계처리하여 실험군당 평균치와 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(ANOVA)의 다중 비교법 중에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 평균치간의 유의성은 P=0.05 수준에서 유의성을 검증하였다³⁶⁾.

III. 결과 및 고찰

1. 체중 증가량 및 식이 효율

알루미늄 용액과 갈근 열수 추출액의 급여에 따른 체중 증가량, 식이 섭취량, 식이효율은 <Table 3>에서 보는 바와 같다. 식이섭취량에서 대조군은 24.62g, 갈근 열수 추출물 단독 급여군은 24.00g으로 대조군과는 별다른 차이를 보이지 않았다. 또한 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 24.19~25.76g, 갈근과 알루미늄 병합 급여군은 20.67~22.09g으로 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군에 비하여 감소하였으나 각 실험군간에 유의성은 나타

<Table 3> 'Food intakes, weight gains, food efficiency ratio of experimental rats

Group ¹⁾	Food intake (g/a day)	Body weight gain(g/4 week)	FER
CON	24.62 ± 4.14 ²⁾	75.45 ± 18.45 ^{a3)}	0.11 ± 0.02
PR.	24.00 ± 5.25	73.21 ± 9.29 ^a	0.11 ± 0.08
LAI	25.76 ± 2.17	72.74 ± 24.88 ^b	0.10 ± 0.04
HAI	24.19 ± 3.55	70.70 ± 6.68 ^b	0.10 ± 0.01
PR-LAI	22.09 ± 5.17	69.02 ± 13.57 ^c	0.11 ± 0.05
PR-HAI	20.67 ± 3.23	62.88 ± 16.45 ^c	0.11 ± 0.02

1) Refer <Table 1>.

2) Mean ± SD from 8 experminents of rat

3) Values with different alphaet within the same column different of a=0.05 by Duncan's multiple range test.

나지 않았다.

체중 증가량에서 대조군은 75.45g, 갈근열수 추출물 단독 급여군은 73.21g, 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 70.70-72.74g, 갈근과 알루미늄의 병합 급여군은 62.88-69.02g으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 체중 증가량에서 다른 실험군에 비하여 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군의 체중이 유의적으로 감소하였는데 이는 식이 섭취량의 체중 감소와 관련이 있는 것으로 사료되며, 식이효율은 각 실험군간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 체중 감소는 식이 섭취량의 감소와 관련이 있는 것으로 사료되며 알루미늄이 인체에 흡수될 수 있는 경로는 식품, 식수, 약제를 통한 경구적 경로 이외에 비경구적 경로를 통한 흡수가 가능하다. 한편, Berlyne³⁷⁾도 흰쥐에 1-2%의 $Al_2(SO_4)_3$ 를 투여한 결과 식욕결핍증으로 체중이 감소하였다고 보고하였으며, 이 등³⁸⁾도 1-2%의 $Al_2(SO_4)_3$ 의 급여로 농도가 높을 수록 식이섭취량과 체중의 감소가 나타났다고 하였는데 본 연구결과와도 유사한 경향을 보였다.

2. 장기 조직의 무게

알루미늄과 갈근 열수 추출액을 급여한 각 장기 조직의 무게 함량은 <Table 4>에서 보는 바와 같다. 간조직의 무게는 대조군이 9.37g, 갈근 열수 추출물 단독 급여군이 9.55g, 알루미늄 농도를 달리한 단독 급여군이 7.95~8.16g, 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군은 8.93~8.94g으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 알루미늄과 갈근 병합 급여군이 증가

하였으며 대조군과 갈근 단독 급여군간에는 별다른 차이를 보이지 않았다. 심장, 폐, 비장 조직의 무게는 대조군과 갈근 단독 급여군간의 무게는 별다른 차이를 보이지 않았으며, 알루미늄 농도를 달리한 단독 급여군에 비하여 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군의 무게에도 유의한 차이는 인정되지 않았다. 특히 신장조직은농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 1.78~1.83g으로 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군의 2.10~2.19g에 비하여 유의적으로 증가하였고, 대조군과 갈근 열수 추출물 단독 급여군 간에는 별다른 차이를 보이지 않았다. 알루미늄을 경구 투여 한 연구에서 Gorsky 등³⁹⁾은 알루미늄 투여량이 1~3g/day 일 때 소변으로의 배설량은 65~280ug/day³⁹⁾, Rucker⁴⁰⁾등은 투여량이 3~8g/day으로소변 중 배설량은 86~495ug/day으로 보고하여 알루미늄의 주요 배설경로는 신장을 통해 배설된다는 것을 알수 있으나 아직 소변으로나 대변으로의 배설량은 정해져 있지 않은 상태 이다⁴¹⁻⁴²⁾. 따라서 알루미늄이 다른 조직에 비하여 신장 기능의 약화를 가져온다고 볼 수 있으며, 이는 신장 기능에 이상이 있는 사람은 알루미늄이 정상적으로 배설되지 못하고 조직에 축적된다고 하는 보고⁴³⁻⁴⁴⁾와 유사하였다.

3. 각 조직중의 알루미늄 함량

간, 심장, 신장, 폐, 및 비장 조직 중의 알루미늄 함량에서 대조군과 갈근 열수 추출물 단독 급여군 간에는 별다른 차이를 보이지 않았으며 각각의 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군에 비하여 알루미늄

<Table 4> Effects of puerariae radix water extracts on tissue weight in Aluminum poisoned rats (unit:g/a wet body weight)

Group ¹⁾	liver	kidney	heart	lung	spleen
CON	9.37±1.92 ^{2)a3)}	2.69±0.12 ^a	0.87±0.12	1.24±0.09	0.50±0.14
PR.	9.55±1.84 ^a	2.64±0.26 ^a	0.86±0.13	1.20±0.16	0.51±0.13
LAI	8.16±1.73 ^b	1.78±0.17 ^c	0.99±0.21	1.29±0.17	0.55±0.18
HAI	7.95±1.53 ^c	1.83±0.32 ^c	0.94±0.18	1.35±0.42	0.57±0.17
PR-LAI	8.94±1.64 ^{ab}	2.19±0.19 ^b	0.93±0.17	1.25±0.31	0.54±0.14
PR-HAI	8.93±1.70 ^{ab}	2.10±0.14 ^b	0.91±0.15	1.20±0.21	0.55±0.13

1) Refer <Table 1>.

2) Mean ± SD from 8 experiments of rat

3) Values with different alphaet within the same column different of a=0.05 by Duncan's multiple range test.

<Table 5> Effects of pueraria radix tea on Aluminum concentrations in Aluminum poisoned rats (unit: mg/100g)

Group/Tissue	liver	heart	kidney	lung	spleen
CON	0.34±0.09 ^b	0.66±0.07 ^b	1.17±0.27 ^c	1.64±0.14	0.66±0.17
PR	0.28±0.02 ^b	0.64±0.06 ^b	1.20±0.08 ^c	1.55±0.09	0.75±0.14
LAI	0.48±0.05 ^a	1.52±0.24 ^a	3.28±0.18 ^a	3.43±0.14	1.85±0.09
HAL	0.50±0.07 ^a	1.78±0.29 ^a	3.30±0.16 ^a	3.85±0.19	2.54±0.13
PR-LAI	0.29±0.03 ^b	0.60±0.09 ^b	3.07±0.22 ^b	2.35±0.21	0.51±0.19
PR-HAL	0.25±0.04 ^{ab}	0.56±0.05 ^{ab}	2.98±0.19 ^b	2.12±0.19	0.82±0.18

1) Refer <Table 1>.

2) Mean ± SD from 8 experiments of rat

3) Values with different alphaet within the same column different of a=0.05 by Duncan's multiple range test.

미늄과 갈근 병합 급여군의 함량은 감소하였다. 전체적으로 대조군은 0.34~1.64mg/100g, 갈근 열수 추출물 단독 급여군은 0.28~1.55mg/100g으로 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군에서 1000ppm 단독 급여군은 0.48~3.43mg/100g, 10000ppm 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군은 0.29~3.07mg/100g, 2000ppm 알루미늄 단독 단독 급여군은 0.50~3.85mg/100g로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 감소하였다. 2000ppm 알루미늄과 갈근 병합 급여군은 0.25~2.98mg/100g으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 다른 조직에 비하여 알루미늄 단독 급여군이 갈근과 알루미늄 병합 급여군에 비하여 나타났는데 Quarty 등⁴⁵⁾은 알루미늄을 투여한 흰쥐의 체조직 중 알루미늄 함량은 24시간 이후 신장조직이 다른 조직에 비하여 높게 증가한 것으로 보고하였는데, 본 연구결과에서도 다른 조직에 비하여 높게 신장 조직이 높게 증가한 것으로 나타났다. 또한 Beryne 등⁴⁶⁾은 알루미늄을 식수에 녹여 흰쥐에게 경구적으로 투여한 결과 안구 출혈과 식욕 감퇴, 죽음에 도달함을 관찰하였으며 뇌, 신장, 간, 폐조직의 농도가 정상 쥐보다 높았다고 보고하였다. 본 연구에서도 알루미늄 단독 급여군이 정상군보다 유의적으로 증가하였다. 알루미늄 단독 급여군에 비하여 갈근과 알루미늄 병합 급여군에서 알루미늄 함량이 유의적으로 감소됨으로써 갈근 열수 추출물이 흰쥐의 체내에 알루미늄 축적량을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 갈근의 급여는 차류에 존재하는 polyphenol계 화합물인 tannin 및 catechin 성분의 강한 항산화적 작용과 더불어 중금속의 화학흡착으로 침전을 일으켜 중금속을 제

거한 것으로 결국 갈근의 급여는 각 조직의 알루미늄 축적을 완화시킬 수 있을 것으로 보인다.

4. Rennin과 aldosterone 혈장 호르몬에 미치는 영향

신장의 생리적인 기능은 항상성 유지, 노폐물의 배설, 산-염기의 평형, 및 내분비 기능의 역할을 하는 기관⁴⁷⁾으로 알루미늄이 신장 기능 여부에 따라 체조직에 축적되어 많은 질병을 유발하는 원인이⁴⁸⁾ 되기 때문에 알루미늄과 갈근을 급여한 흰쥐의 rennin 활성도와 aldosterone 활성도는 <Table 6>에서 보는 바와 같다. rennin 활성도에서 대조군은 285.57ngAl/ml/hr은 갈근 열수 추출물 단독 급여군은 270.08ngAl/ml/hr, 각각 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 399.98~464.58ngAl/ml/hr, 알루미늄

<Table 6> Effects of pueraria radix tea on the plasma renin activity and aldosterone activity in Aluminum-treated rat

Group	Plasma rennin activity (ngAl/ml/hr)	Plasma Aldosterone activity (pg/ml)
CON	285.57±58.70 ^b	618.90±46.21 ^c
PR	270.08±24.70 ^b	627.17±40.21 ^c
LAI	399.98±24.38 ^a	1351.6±145.57 ^a
HAL	464.58±24.14 ^a	1394.83±155.55 ^a
PR-LAI	302.88±49.62 ^b	954.54±23.14 ^b
PR-HAL	289.74±42.45 ^b	962.57±41.28 ^b

1) Refer <Table 1>.

2) Mean ± SD from 8 experiments of rat.

3) Values with different alphaet within the same column different of a=0.05 by Duncan's multiple range test.

과 갈근 열수 추출물 병합 급여군 289.74~302.88ng AI/ml/hr으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. aldosterone 활성도는 대조군이 618.90pg/ml, 갈근 단독급여군은 627.17pg/ml 각각 농도를 달리한 알루미늄 병합 급여군은 1351.60~1394.83pg/ml, 농도를 달리한 알루미늄과 갈근 병합 급여군은 954.54~962.57pg/ml으로 알루미늄 병합 급여군에 비하여 감소하였다. Renin 호르몬의 생리 기능은 나트륨의 배설량을 감소시키고 교감신경을 자극하여 angiotensin(AI) 생성에 영향을 끼치기 때문에 renin 활성도가 높으면 신장기능이 저하되고 부신피질에서 분비되는 aldosterone은 세뇨관에 작용하여 혈장 내 Na⁺의 농도를 높이고 동시에 K⁺ 농도를 낮추는 작용을 한다. 즉, 체내 전해질 및 체액량과 삼투압 농도를 적절하게 유지시키는 호르몬으로 체액량의 변동, 전해질의 변동 및 신장에서 분비되는 renin의 효소 작용에 의해 생성되는 angiotensin의 영향을 받는 것으로 보고하였다⁴⁹⁾. 생체는 중금속 침입시 그 독성을 해독하기 위한 반응으로써 MT(metallothionein)를 합성화하여 무독화시키는데 중금속이 체내에 흡수될 경우 주로 간장 및 신장 조직에서 MT의 합성이 크게 증가됨으로써 유독성의 중금속을 무독성의 물질로 만들어 그 독성을 완화시키며 간장조직에서 신장조직으로 중금속을 운반하여 중금속을 체외로의 배설을 돕는다고 한다⁵⁰⁾. 따라서 renin 농도에서 알루미늄 급여군에 비하여 갈근 열수 추출액과 알루미늄 병합 급여군의 유의적인 감소는 알루미늄 중독시에 갈근차가 metallothionein의 작용으로서 불용성 착화합물을 형

성하여 체내 알루미늄 흡수를 억제하고 해독기구를 강화시킴으로써 대변이나 뇨로 배설을 촉진시켜 혈액 및 신장 조직내의 알루미늄 축적을 완화 시킬수 있는 것으로 사료되나 이에 대한 확실한 기전은 좀 더 많은 연구가 필요하다.

5. 혈청 중 GPT, GOT, LDH 활성도

혈청중의 GPT, GOT 활성은 정상상태에서는 효소의 활성이 낮으나 심장, 간, 근육, 혈구 등의 조직이 병적 상태에 빠지거나 혹은 붕괴되어 질병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 유출되어 활성이 증가하는 효소로 만성간염, 급성간염, 지방간, 알콜성 간염, 간암 등 주로 간세포의 변성이나 괴사를 반영한다⁵¹⁾. LDH는 해당계 효소의 일종으로 간, 심장, 골격근에 분포되어 있는 효소로 이 활성의 증가는 심장, 간, 신장질환, 암, 악성빈혈 및 백혈병 등에서 볼 수 있다⁵²⁾. 알루미늄 급여에 따른 갈근 열수 추출액 급여가 GPT, GOT, 및 LDH 활성에 어느 정도의 영향을 미치는지를 조사한 결과는 <Table 7>과 같다. GOT는 대조군이 199.7IU/L에 비하여 갈근차 갈근 열수 추출액 급여군은 196.44U/L로 약간 증가하였다. 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 358.60~395.80 IU/L인데 비하여 알루미늄과 갈근차 음용수 병합 급여군이 314.20~320.20 IU/L으로 유의적으로 감소하였다. GPT는 대조군이 62.71 IU/L에 비하여, 갈근 열수 추출액 급여군은 63.46 IU/L으로 약간 증가하였으나 유의한 차이는 없었다. 농도를 달리한 알루미늄 급

<Table 7> Effects of pueraria radix tea on the serum glutamate pyruvate transaminase(GPT), gutamate oxaloacetate transaminase(GOT) and activities Lactate dehydrogenase(LDH) in Aluminum treated rats (unit: IU/L)

Group ¹⁾	GOT	GPT	LDH
CON	199.71 ± 99.13 ^{2)c3)}	62.71 ± 8.55 ^c	2191.71 ± 453.90 ^c
PR	196.44 ± 10.19 ^c	63.46 ± 8.27 ^c	2218.60 ± 293.14 ^c
LAI	358.60 ± 68.07 ^a	108.20 ± 29.21 ^a	3157.20 ± 632.14 ^a
HAI	395.80 ± 57.98 ^a	100.40 ± 14.32 ^a	3726.40 ± 713.85 ^a
PR-LAI	314.20 ± 75.05 ^b	81.00 ± 22.66 ^b	2993.20 ± 432.88 ^b
PR-HAI	320.20 ± 33.69 ^b	70.80 ± 13.46 ^b	2846.60 ± 235.87 ^b

1) Refer <Table 1>.

2) Mean ± SD from 8 experiments of rat

3) Values with different alphaet within the same column different of a=0.05 by Duncan's multiple range test.

여군은 100.40~108.20IU/L 인데 비하여 갈근 열수 추출액 급여군과 알루미늄 병합 급여군은 70.80~81.00 IU/L으로 유의적으로 감소하였다. LDH는 대조군이 2191.70 IU/L, 갈근차 급여군은 2218.60 U/L으로 대조군에 비하여 약간 증가하였다. 농도를 달리한 알루미늄 급여군은 3157.20~3726.20 IU/L 인데 비하여 갈근 열수 추출액 급여와 알루미늄 동시 병합 급여군은 2846.60~2993.20 IU/L으로 유의적으로 감소하여 갈근 열수 추출액 급여군에 의한 알루미늄 중독 완화 효과를 볼 수 있었다.

IV. 요약

알루미늄 용액과 갈근 열수 추출액의 급여가 흰 쥐의 Aldosterone, rennin의 호르몬과 GOT, GPT, LDH의 효소 활성도에 미치는 영향을 조사하였다. 식이섭취량은 각 실험군간에 유의성은 나타나지 않았으며 체중증가량은 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군에 비하여 갈근과 알루미늄의 병합 급여군이 유의적으로 감소하였다. 신장조직은 다른 조직에 비하여 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 1.78~1.83g이었으나 알루미늄과 갈근 병합 급여군은 2.10~2.19g으로 유의적으로 증가하였다. rennin 활성도에서 각각 농도를 달리한 알루미늄 급여군은 399.98~464.58ngAl/ml/hr에 비하여 알루미늄과 갈근 병합 급여군이 289.74~302.88ngAl/ml/hr으로 알루미늄 단독 급여군에 비하여 유의적으로 감소하였다. aldosterone 활성도는 각각 농도를 달리한 알루미늄 병합 급여군은 1351.60~1394.83pg/ml, 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군이 954.54~9632.57pg/ml으로 알루미늄 병합 급여군에 비하여 감소하였다. GOT는 농도를 달리한 알루미늄 단독 급여군은 258.60~395.80 IU/L인데 비하여 알루미늄과 갈근 열수 추출물 병합 급여군이 314.20~320.20 IU/L으로 유의적으로 감소하였다. GPT는 농도를 달리한 알루미늄 급여군은 100.40~108.20IU/L 인데 비하여 갈근 열수 추출액 급여군과 알루미늄 병합 급여군은 70.80~81.00 IU/L으로 유의적으로 감소하였다. LDH는 농도를 달리한 알루미늄 급여군은 3157.20~3726.20 IU/L 인데 비하여 갈근 열수 추출액 급여와 알루미늄 동시 병합 급여군은 2846.60~

2993.20 IU/L으로 유의적으로 감소하여 갈근 열수 추출액 급여군에 의한 알루미늄 중독 완화 효과를 볼 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 원광보건대학 교내 연구비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

■참고문헌

- 1) Committee on nutrition. Aluminum toxicity in infants and children. *Pediatrics* 78:1150-1160, 1986
- 2) Klein GL. Nutritional aspects of aluminium toxicity. *Nutrition reaseach review* 3:117-141, 1990
- 3) Greger JL, Lane HW. The toxicology of dietary tin aluminum and selenium. Ch 9. In *nutritional toxicology vol II*, Hathcock JN(Ed) Academic press New York No 223, 1987
- 4) Alfrey AC. Aluminum. *Advance in clinical chemistry* 23:69-91, 1983
- 5) Andreoil SP, Bergstein JM, Sherrard JD. Aluminum intoxication from aluminum-containing phospahte binders in children with azotemia not undergoing dialysis. *New England Journal of medicine* 310:1079-1084, 1984
- 6) Sedman AB, Wilkening, GN, Bradeley PD. Warrady BA, Lum GM, Alfrey AC. Encephalopathy in childhood secondary to aluminum toxicity. *Journal of pediatrics* 105:835-838, 1984
- 7) Krschbaum BB, Schoolwerth AC. Acute aluminum toxicity associated with oral citrate and aluminum-containing antacids. *American Journal Medical science* 297:9-11, 1989
- 8) Crapper DR, Boni UD. Experimental and clinical neurotoxicology. *Aluminum* 22:326-335, 1986
- 9) Smith DR, Fiegal AR. Stable isotropic traces of lead mobilized by DMZA chelation in low lead-exposed rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 116:85-90, 1992
- 10) Cantilena LR, Klassen CD. Decreased effectiveness of chelation therapy with after actue cadmium

- poisoning. Toxicol Appl Pharmacol 63:173-180, 1982
- 11) Smith DR, Fiegel, AR. Stable isotopic trace of lead mobilized by DMSA chelation in low lead-exposed rats. Toxicol Appl Pharmacol 116:85-90, 1992
 - 12) Cantilena LR, Klassen CD. Decreased effectiveness of chelation therapy with time after acute cadmium poisoning. Toxicol Appl Pharmacol 63:173-180, 1982
 - 13) Kapor SC, Wielopolski L, Graziano JH, Lolocono N. Influence of 2,3,-dimercaptosuccinic acid on gastrointestinal lead absorption and whole body lead retention. Toxicol Appl Pharmacol 97:525-530, 1990
 - 14) Lee SJ. Bonchokangmok. Komunsa Seoul 18:110-116, 1990
 - 15) Kitagawa I, Fukuda Y, Taniyama T, Yoshikawah M. Chemical studies on crude drug processing X On the constituents of rehmanniae radix, comparison of the constituents of various rehmanniae radix originzting in China, Korea and Japan. Yakugaku zasshi 115:992-1003, 1995
 - 16) Hayakawa J, Noda N, Yamada S, Unok. Studies on physical and chemical quality evaluation of crude radix and species puerariae. Yudagaku Zasshi. 104:50-56, 1984
 - 17) Han SH, Kim,JB, Min SG, Lee CH. The effects of Puerariae radix catechins administration on liver function in carbon tetrachloride-treated rats. J Korean Soc Food Nutr 24:713-720, 1995
 - 18) Ohshims Y, Okuyama T, Takahashi K, Takizawa T. Isolation and high performance liquid chromatography (HPLC) of isoflavonoids from the pueraria root. Planta Med 54:250-254, 1988
 - 19) Keung WM, Vallee BB. Biochemical studies of a new class of alcohol dehydrogenase inhibition from puerariae radix. Alcohol Clin Exp Res 17:1254-1260, 1993
 - 20) Keung WM, Vallee BB. Daidzin a potent selective inhibitor of human mitochondria aldehyde dehydrogenase proc. Natl Acad Sci USA 90:1247-1251, 1993
 - 21) Sato T, Kawamoto A, Tamura A, Tatsumi Y, Fujii T. Mechanism of antioxidant action of pueria glycoside(PG)- I (an isoflavonoid) and mangiferin(a xanthonoid). Chem Pharm Bull. Tokyo Japan 40:721-724, 1992
 - 22) Keung WM, Vallee BL. Kudzu root an ancient chinese source of modern antisotropic agents. Phytochemistry 47:499-506, 1998
 - 23) Kurihara T, Kikuchi M. Studies on the constituents of flowers V. on the components of flower of Pueria a thunbergiana benth(2). Isolation of new isoflavones glycosides Yakugaku Zasshi 95:1283-1285, 1975
 - 24) Ganje JJ, Page AL. Rapid acid dissoulation of plant tissue for cadium determination by atomic absorption spectrophotometry. At Absorpt Newsl 131:108-110, 1976
 - 25) Reitman S, Frankel S. A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. Amer J Clin Pathol 28:56-60, 1957
 - 26) Ginsberg AL. Very High Levels of SGOT and LDH in Patients with Extrahe-patic Billiary Tract Obstruction. J Amer Dig Dis 15:803-805, 1970
 - 27) Bardwill C, Chang C. Serum lactic dehydrogenase, leucine amino peptidase and 5-nucleotidase activities, observations in patients with carcinoma of the pancreas and metatobiliary disease. J Canad Med Ass 89:755-800, 1963
 - 28) Wroblewski F, LaDue JS. Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc Soc Exper Biol. Med, 90:210-215, 1955
 - 29) Amador E, Dorfman E, Wacker WE. Serum lactic dehydrogenase activity an analytical assessment of current assays. Clin Chem 9:391-399, 1963
 - 30) Cho KW, Kim SH, Koch GY. Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh water turtle. L Exp Zool. 242:255-262, 1987
 - 31) Goodfriend TL, L Levine, Fasma GD. Antibodies to bradykinin and angiotensin. A use of carbodiimide in immunololgy. Sci 144:1344-1346, 1964
 - 32) Cho KW, Malvin RL, Renin inactivation during in vitro. Experimental Am J Physiol 236:501-504, 1979
 - 33) Sealey JE, Laragh JH. Searching out low renin

- patients limitation of some commonly used methods. *Am J Med* 55:303-314, 1973
- 34) Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Huh KS, Chu D, Rap NS, Moon HB, Kim KK, Kook YJ. Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in different phase of korean hemorrhagic fever. *Nephron* 51:215-219, 1989
- 35) Cho KW, Kim SH. Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity. *Kor J Physiol* 16:63-69, 1982
- 36) SAS. SAS User's guide statistics 5th ed SAS Institute. INC Cary NC USA 1987
- 37) Berlyne, NC, Yagil. R, Ben Ari J, Weinberger G, Knopf E, Danovitch GM. Aluminum toxicity in rats. *Lancet* 11:564-568, 1984
- 38) Lee HS. Analysis of aluminum concentration in serum and phospholipid composition and catecholamin concentration in the brain of rats feed aluminum in drinking water. Dept of food. 1992.
- 39) Gorsky JE, Dieta AA, Spencer Hand Osis D. Metabolic balance of aluminum studied in six men. *clinical chemistry*. 25:1739-1743 1979.
- 40) Rocker RR Blotcky, AJ Leffler JA, Rocker EP. Evidence for aluminum absorption from the gastrointestinal tract and bone absorption by aluminum carbonate ingestion with normal renal function. *Journal of laboratory and clinical medicine* 90:810-815, 1977
- 41) Klein GL, Alfey AC, Miller NL, Sherrard DJ, Hazlet TK, Pharm D, Amnet ME, Coburn JW. Aluminum loading during total parenteral nutrition. *American Journal of clinical nutrition*. 35:1425-1429, 1982
- 42) Williams JW, Vera SR, Peters TG, Luther RW, Bhattacharya S, Spenars M, Graham A, Pitcock JA and Crawford AJ. Bilary excretion of aluminum in aluminum osteodystrophy with liver disease. *Annals of Internal Med*, 104:782-785, 1986
- 43) Sedman AB, Wikenning GN, Bradely PD, Warady BA, Lum GM, Alfrey AC. Encephalopathy in childhood secondary to aluminum toxicity. *Journal of pediatrics*. 105:835-836. 1984.
- 44) Kirschbaum BB, School werth AC. Acute aluminum toxicity associated with oral citrate and aluminum-containing antacids. *American Journal of Medical sciences*. 297:9-11, 1989
- 45) Quarty, B, Esselmont G, Taylor A, Dobrota MC. Effects of orally aluminum citrate on short term tissue distribution of aluminum. *Food and chemical toxicology* 34:543-548, 1993
- 46) Beryne GM, Yagil R, Ari JB, Weinderger G, Knoof E, Danovitch BM. Aluminum toxicity in rats. *Lancet* 546-568, 1972
- 47) Laragh JH, Angers M, Kelly WG, Loberman S. Hypotensive agents and presser substances. *J Am Med Assoc* 174:234-240, 1980
- 48) Alfrey AC. Aluminum metabolism in uremia. *Neurotoxicol* 143:53, 1984
- 49) Babaggy SP, Mndonald WJ. Increased plasma renin activity in mature spontaneously hypertensive rats. *Proc Soc Eed Biol Med* 139:1213-1216, 1982
- 50) Rhee SJ, Hung PC. Metallothionein accumulation in CHO of cells in response fead treatment. *Chem Biol. Interaction* 72:347-361, 1989
- 51) Bergmeyer HU. Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie, Academic press Weinheim 1:20-28, 1995
- 52) Rhee SJ Kim SO, Choe WK, Cho SH. Effect of cadmium dose injection on peroxidative damage in rat liver. *J Korean Soc. Food Nutr* 21:601-607, 1992