

마우스에 대한 감나무 껍질의 급성경구독성시험

김주희¹ · 박윤정¹ · 조남식¹ · 김대근¹ · 김상현^{2*} · 신태용^{1*}

¹우석대학교 약학대학, ²경북대학교 의과대학

Acute Oral Toxicity of the Bark of *Diospyros kaki* in Mice

Ju Hee Kim¹, Yun Jeong Park¹, Nam Sik Jo¹, Dae Keun Kim¹, Sang-Hyun Kim^{2*} and Tae-Yong Shin^{1*}

¹College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju, 565-701, Korea

²Department of Pharmacology, School of Medicine, Kyungpook National University, Daegu, 700-422, Korea

Abstract – This study was carried out to investigate the acute toxicity of the bark of *Diospyros kaki* (Ebenaceae) in mice. The aqueous extract of the bark of *Diospyros kaki* (AEDK) was administered orally at a doses of 5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg and 2,000 mg/kg. In this study, number of deaths, clinical signs, body weights and pathological examinations were investigated after administration of AEDK. There were neither dead animals nor significant changes of body weights during the experimental period. In addition, no differences were found between control and AEDK treated groups in clinical signs, organ weights and gross pathological findings. AEDK did not show any toxic effect in mice.

Key words – Bark of *Diospyros kaki*, acute toxicity, mice

감나무(*Diospyros kaki* Thunb)는 감나무과(Ebenaceae)에 속하는 낙엽교목(落葉喬木)으로 높이가 14 m에 달하고 가는 가지에 갈색 털이 있다. 잎은 호생(互生)으로 두꺼우며 타원상 난형, 긴 난형 또는 도란형이며 엽병(葉柄)은 길이 5~15 mm로 털이 있다. 꽃은 양성(兩性) 또는 단성(單性)으로 5~6월에 피며 황백색이고 엽액(葉腋)에 달리며 꽃받침과 화관(花冠) 겉면에 잔털이 밀생(密生)한다. 수꽃은 16개의 수술이 있으나 양성화(兩性花)에는 4~16개의 수술이 있으며 암술대는 털이 있고 길게 갈라지며 자방(子房)은 8실이다. 열매는 장과(漿果)로 9~10월에 붉게 익는다.^{1,2)} 감잎은 gallate를 포함한 tannin 화합물, astragalol, myricitrin 등의 flavonoid 배당체 등의 성분이 알려져 있으며 약리작용으로는 혈압상승억제작용, 항암작용, 체지방저하작용, 활성산소의 free radical 억제작용, angiotensin converting enzyme (ACE) 활성 저해작용, 알레르기성 피부염의 치료 작용, 항산화작용 등이 보고되어 있다.³⁻¹⁴⁾ 감의 성숙한 꽃받침을 시체(柿蒂)라 하며 한방에서 딸꾹질, 구토, 야뇨증 등의 치료에 사용하고 있다. 시체는 betulinic acid, oleanolic acid, ursolic acid 등의 성분이 보고되어 있으며 약리작용으로는 항산화작용, 항염증작용, 혈액응고억제작용, 미백작용 등이

보고되어 있다.¹⁵⁻¹⁸⁾

감잎과 시체에 대해서는 다양한 연구가 이루어져 있지만 감나무 껍질에 대한 연구는 극히 미흡하다. 김 등¹⁹⁾의 연구에 의하면 감나무 껍질은 phorbol 12-myristate 13-acetate와 calcium ionophore A23187(PMACI) 자극 HMC-1 cell에서 histamine과 β -hexosaminidase의 유리를 억제하며 cAMP와 intracellular calcium의 농도를 억제하였다. 또 PMACI 자극 HMC-1 cell에서 염증성 cytokine의 gen expression과 분비를 억제하며 NF- κ B와 luciferase의 활성을 억제하였다. 뿐만 아니라 compound 48/80 유도 전신성 알레르기와 IgE 매개 국소 알레르기를 억제 하였다. 이 연구를 통해 김 등은 감나무 껍질의 알레르기 염증에 대한 작용 기전을 규명하였으며 이들 작용의 활성성분은 catechin임을 입증하였다. 김 등은 이런 실험결과를 바탕으로 감나무 껍질의 알레르기 염증성질환에 사용 가능성을 제시하였다.

본 연구는 감나무 껍질에 대한 계속적인 연구이며 감나무 껍질에 대한 안전성평가의 일환으로 식품의약품안전처 고시 제2014-6호(2014년 1월 29일 개정) 의약품등의 독성시험기준²⁰⁾ 및 OECD Guideline²¹⁾에 준하여 감나무 껍질 물 추출물의 단회투여에 의한 급성경구독성을 평가하였다.

*교신저자(E-mail): shkim72@knu.ac.kr, tyshin@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-53-423-4838, +82-63-290-1572

동안 매일 체중을 측정하여 체중의 변화를 관찰하였다. Table II에서와 같이 대조군과 AEDK 투여군에서 모두 정상적인 체중 증가가 관찰되었지만 AEDK 투여군은 대조군에 비해 유의성 있는 체중변화는 없었다.

육안소견 및 장기 중량 - AEDK 투여 후 14일 췌에 AEDK 투여군과 대조군의 부검을 실시하였으며 간, 비장, 심장, 폐, 뇌, 신장, 생식기 등의 장기를 육안으로 관찰한 결과 모든 장기에서 AEDK의 독성에 의한 것으로 인정되는

Table II. Body weights in ICR mice orally treated with AEDK

| Sex | Dose (mg/kg) | Days after treatment | | | | |
|--------|------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|
| | | 1 | 4 | 7 | 10 | 14 |
| Male | CON ^a | 30.67±1.37 | 33.17±1.94 | 33.67±1.86 | 34.83±2.14 | 34.97±2.18 |
| | 5 | 31.11±1.14 | 33.50±1.76 | 34.09±2.19 | 35.33±1.97 | 35.46±2.51 |
| | 50 | 31.33±1.03 | 34.49±0.84 | 34.83±1.17 | 36.52±0.84 | 36.17±1.17 |
| | 300 | 30.67±1.21 | 33.83±1.33 | 35.57±1.87 | 35.67±1.63 | 36.58±1.52 |
| | 2,000 | 31.43±0.82 | 32.75±1.50 | 33.51±1.29 | 35.09±1.83 | 35.11±1.73 |
| Female | CON ^a | 24.50±0.55 | 26.51±0.55 | 26.33±0.52 | 27.17±0.73 | 27.19±1.74 |
| | 5 | 24.67±1.03 | 26.11±0.89 | 26.53±0.84 | 27.52±0.84 | 26.33±0.82 |
| | 50 | 24.17±1.60 | 26.17±2.04 | 25.67±1.75 | 25.67±1.75 | 25.83±1.17 |
| | 300 | 24.26±1.09 | 26.09±0.07 | 25.69±1.14 | 26.32±0.71 | 26.74±0.71 |
| | 2,000 | 23.57±0.84 | 25.14±0.89 | 25.22±1.04 | 26.47±0.63 | 25.33±1.03 |

^aCON : Treated with purified water

^bValues are presented as mean±SD (n=6).

Table III. Absolute organ weights of male mice orally treated with the AEDK

| Organ/Dose(mg/kg) | CON ^a | 5 | 50 | 300 | 2000 | |
|-------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Brain (g) | 0.490±0.021 | 0.486±0.013 | 0.491±0.016 | 0.513±0.007 | 0.484±0.014 | |
| Heart (g) | 0.164±0.009 | 0.173±0.010 | 0.186±0.013 | 0.172±0.010 | 0.178±0.014 | |
| Liver (g) | 1.854±0.164 | 1.886±0.199 | 2.299±0.061 | 2.311±0.111 | 2.236±0.130 | |
| Lungs (g) | 0.221±0.017 | 0.232±0.019 | 0.242±0.015 | 0.240±0.007 | 0.237±0.014 | |
| Spleen (g) | 0.133±0.022 | 0.145±0.008 | 0.160±0.016 | 0.143±0.008 | 0.152±0.043 | |
| Kidney (g) | Right | 0.326±0.028 | 0.347±0.029 | 0.383±0.026 | 0.390±0.021 | 0.345±0.021 |
| | Left | 0.324±0.023 | 0.339±0.029 | 0.375±0.025 | 0.380±0.021 | 0.344±0.012 |
| Testis (g) | Right | 0.111±0.010 | 0.119±0.013 | 0.113±0.009 | 0.109±0.003 | 0.107±0.006 |
| | Left | 0.109±0.010 | 0.119±0.018 | 0.107±0.010 | 0.109±0.004 | 0.100±0.005 |

^aCON: Treated with purified water

^bValues are presented as mean±SD (n=6).

Table IV. Absolute organ weights of female mice orally treated with the AEDK

| Organ/Dose(mg/kg) | CON ^a | 5 | 50 | 300 | 2000 | |
|-------------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Brain (g) | 0.474±0.020 | 0.467±0.016 | 0.480±0.015 | 0.495±0.014 | 0.495±0.017 | |
| Heart (g) | 0.125±0.004 | 0.131±0.007 | 0.137±0.009 | 0.133±0.004 | 0.120±0.049 | |
| Liver (g) | 1.408±0.068 | 1.414±0.063 | 1.399±0.072 | 1.482±0.150 | 1.505±0.109 | |
| Lungs (g) | 0.177±0.016 | 0.178±0.009 | 0.204±0.035 | 0.188±0.011 | 0.208±0.020 | |
| Spleen (g) | 0.118±0.017 | 0.112±0.009 | 0.111±0.012 | 0.136±0.017 | 0.119±0.011 | |
| Kidney (g) | Right | 0.195±0.019 | 0.199±0.015 | 0.201±0.030 | 0.209±0.009 | 0.207±0.017 |
| | Left | 0.191±0.013 | 0.187±0.013 | 0.196±0.014 | 0.198±0.007 | 0.199±0.015 |
| Ovaries (g) | Right | 0.009±0.001 | 0.011±0.003 | 0.012±0.002 | 0.013±0.001 | 0.013±0.001 |
| | Left | 0.008±0.001 | 0.011±0.002 | 0.014±0.004 | 0.012±0.002 | 0.011±0.001 |

^aCON: Treated with purified water

^bValues are presented as mean±SD (n=6).

이상 소견은 관찰되지 않았다. 적출한 각 장기의 중량을 측정하고 결과 수컷 마우스의 경우 Table III에서와 같이 AEDK 50 mg/kg, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg 투여군에서 간의 중량이 약간 증가되었지만 대조군에 비해 유의성 있는 변화는 없었다. 암컷 마우스의 경우 Table IV에서와 같이 대조군과 AEDK 투여군 사이에 통계적으로 유의성 있는 변화는 없었다.

고 찰

감잎은 혈압상승억제작용, 항암작용, 체지방저하작용, 알레르기성 피부염의 치료 작용, 항산화작용 등이 알려지면서 차로 많이 이용되고 있으며 시체는 한방에서 딸꾹질, 구토, 야뇨증 등의 치료에 사용하고 있다.

감잎과 시체에 대해서는 다양한 연구가 이루어져 있지만 감나무 껍질에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 김 등¹⁹⁾의 연구에 의해 감나무껍질이 알레르기 염증에 효과가 있는 것으로 보고되어 있어 알레르기 염증성 질환의 치료제 또는 식품으로서의 개발 가능성이 있지만 아직 안전성에 관한 연구는 전무하다.

본 연구에는 감나무 껍질에 대한 연구의 일환으로 AEDK의 단회경구투여에 의한 급성독성을 식품의약품안전처의 독성 시험기준 및 OECD Guideline에 근거하여 수행하였다. AEDK를 ICR 마우스에 5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg을 투여군으로 하여 체중에 따른 용량으로 단회경구투여하고 14일간 사망률, 체중변화, 일반증상을 관찰한 결과 AEDK 투여군은 대조군에 비해 특이적인 소견이 관찰되지 않았다. AEDK 투여 14일 후 뇌, 심장, 폐, 신장, 간, 비장 등 관찰된 모든 장기에서 육안적 해부소견은 대조군과 AEDK 투여군간의 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며 장기 무게 또한 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 투여된 최고용량인 2,000 mg/kg에서 사망하는 개체는 없었으므로 AEDK의 LD₅₀ 값은 ICR 마우스에서 암수 모두 2,000 mg/kg 이상일 것으로 사료된다. OECD test guideline 420은 2,000 mg/kg에서 사망하는 개체가 없는 경우 무독성으로 인정하므로 본 연구에서는 AEDK의 안전성을 확인할 수 있었다. 따라서 AEDK는 체내에서 안전한 것으로 사료된다.

결 론

마우스에 대한 AEDK의 급성경구독성시험 결과는 다음과 같다.

1. AEDK를 5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg 및 2,000 mg/kg의 용량으로 투여한 후 14일 동안 대조군 및 AEDK 투여군의 운동 활동성, 행동형태 및 경련, 유연, 설사, 수면, 혼수 등의 증상을 관찰한 결과 AEDK 투여군은 대조군에

비해 특이한 이상증상은 관찰되지 않았다.

2. AEDK 투여 후 14일 동안 매일 체중을 측정하여 체중의 변화를 관찰한 결과 AEDK 투여군은 대조군에 비해 유의성 있는 체중변화는 없었다.

3. AEDK 투여군과 대조군의 부검을 실시하였으며 각종 장기를 육안으로 관찰한 결과 모든 장기에서 AEDK의 독성에 의한 것으로 인정되는 이상 소견은 관찰되지 않았으며 적출한 각 장기의 무게를 측정하고 결과 대조군과 AEDK 투여군 사이에 통계적으로 유의성 있는 변화는 없었다.

이상의 결과로 AEDK의 안전성을 확인할 수 있었으며 AEDK는 체내에서 안전한 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 우석대학교 산학협력선도대학(LINC)사업단의 지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 박종희 (2004) 한국약초도감, 1057-1058, 신일상사, 서울.
2. 배기환 (2007) 한국의 약용식물, 395, 교학사, 서울.
3. Funayama, S. and Hikino, H. (1979) Hypotensive principles of *Diospyros kaki* leaves. *Chem. Pharm. Bull.* **27**: 2865-2868.
4. Mallavadhani, U. V., Panda, A. K. and Rao, Y. R. (1998) Pharmacology and chemotaxonomy of *Diospyros*. *Phytochemistry* **49**: 901-951.
5. Duan, J., Zheng, Y., Dong, Q. and Fang, J. (2004) Structural analysis of a pectic polysaccharide from the leaves of *Diospyros kaki*. *Phytochemistry* **65**: 609-615.
6. 정운주, 이정순, 복성해, 최명숙 (2011) 감잎, 메밀잎 및 구기자잎 추출물의 식이 보충이 흰쥐의 체지방 감량과 지질대사 조절에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*. **40**: 1215-1226.
7. 유기환, 정종문 (2009) 감잎(*Diospyros kaki* Thunb) 추출물의 항산화 및 항알레르기 효과. *한국식품영양과학회지*. **38**: 1691-1698.
8. Kawakami, K. I., Aketa, S., Sakai, H., Watanabe, Y., Nishida, H. and Hirayama, M. (2011) Antihypertensive and vasorelaxant effects of water-soluble proanthocyanidins from persimmon leaf tea in spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **75**: 1435-1439.
9. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. and Zhang, Y. (2011) Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem. Toxicol.* **49**: 2689-2696.
10. Xue, Y. L., Miyakawa, T., Hayashi, Y., Okamoto, K., Hu, F., Mitani, N., Furihata, K., Sawano, Y. and Tanokura, M. (2011) Isolation and tyrosinase inhibitory effects of polyphenols from the leaves of persimmon, *Diospyros kaki*. *J. Agric. Food Chem.* **59**: 6011-6017.

11. Matsumoto, N, Okushio. K. and Hara, Y. (1998) Effect of black tea polyphenols on plasma lipids in cholesterol-fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **44**: 337-342.
12. Kotani, M., Matsumoto, M., Fujita, A., Higa, S., Wang. W., Suemura, M., Kishimoto, T. and Tanaka, T. Persimmon leaf extract and astragaloside inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice (2000) *J. Allergy Clin. Immunol.* **106**: 159-166.
13. Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H., Kimura, Y., Okuda, T., Hatano, T., Agata, I. and Arichi, S. (1987) Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J. Nat. Prod.* **50**: 680-683.
14. 문숙희, 김광혁, 박건영 (1996) Sarcoma-180 세포를 이용한 *in vivo*에서 감잎의 항암효과. *한국식품영양과학회지.* **25**: 865-870.
15. Kim, H. J., Park, T. S., Jung, M. S. and Son, J. H. (2011) Study on the anti-oxidant and anti-inflammatory activities of sarcocarp and calyx of persimmon (Cheongdo Bansi). *J. App. Biological Chem.* **54**: 71-78
16. 사유선, 김경아, 최혜선 (2003) 감꼭지로부터 혈액응고저해 물질의 정제와 특성. *한국식품영양과학회지.* **32**: 1323-1327.
17. 차배천, 이은희 (2013) 감꼭지의 tyrosinase와 elastase 저해 활성 성분. *생약학회지.* **44**: 187-187.
18. 차배천 (2014) 감꼭지의 항산화 활성 성분. *생약학회지.* **45**: 35-40.
19. Kim, H. H., Kim, D. S., Kim, S. W., Lim, S. H., Kim, D. K., Shin, T. Y. and Kim, S. H. (2013) Inhibitory effects of *Diospyros kaki* in a model of allergic inflammation: Role of cAMP, calcium and nuclear factor-B. *Int. J. Mol. Med.* **32**: 945-951.
20. 식품의약품안전처, 식품의약품안전처 고시 제2014-6호 (2014. 1. 29 개정), 의약품등의 독성시험기준, 서울.
21. Organization for economic cooperation and development(OECD) (2001) OECD guideline for the testing of chemicals revised graft guideline 420. (2014. 6. 13 접수; 2014. 6. 18 심사; 2014. 6. 19 게재확정)