



Original Article / 원저

오미자추출물(SFEP)의 90일 반복경구투여 독성 시험을 통한 안전성 검증

김석호¹, 김나영², 김영숙³, 임종민³, 구분화³, 오태우^{4,5}, 고은지¹, 곽경태¹, 전병엽^{1*}

¹(주)큐비엠, ²(주)크로엔, ³(주)글루칸, ⁴한국한의학연구원,
⁵과학기술연합대학원대학교 한의융합과학전공

Safety Verification through Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Test of Schisandra Fruit Extract Powder(SFEP)

Seokho Kim¹, Nayoung Kim², Young-Suk Kim³, Jong-Min Lim³, Bon-Hwa Ku³,
Tae Woo Oh^{4,5}, Eun Ji Go¹, Kyeong Tae Kwak¹, Byeong Yeob Jeon^{1*}

¹QBM Co. Ltd., ²Croen Inc., ³Glucan Co. Ltd., ⁴Korean Medicine(KM)-
Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine(KIOM),
⁵Department of Korean Convergence Medical Science, University of Science
& Technology(UST)

ABSTRACT

Objectives : This study conducted a repeated dose 90-day oral toxicity test in order to up-cycling Schisandra fruit extract powder(SFEP) using discarded Schisandra chinensis by-products and evaluated the NOAEL of SFEP.

Methods : SD-rats were orally administered SFEP at concentrations of 0, 62.5, 125, and 250 mg/kg once daily for 90 days. Body weights and clinical signs were observed during the administration period. After completion of the experiment, the experimental animals were autopsied to observe necropsy findings and organ weights changes, and hematological parameters and blood chemistry values were measured.

Results : During the SFEP administration period, clinical signs such as salivation, wounds, and erosion were sporadically observed in 1 to 2 animals. In the SFEP 250 mg/kg administered group, weights of the liver and thyroid gland significantly increased compared to the control group, but no significant changes were observed in organ weights according to body weights. As a result of measuring hematological parameters and blood chemistry values, a decrease in RDW, T-BIL, and TBA, and an increase in TP, ALB, and Ca were observed due to SFEP administration. However, these changes following SFEP administration were accidental and not dose-dependent. Additionally, no correlation was found between gender and other parameters.

© 2023 The Korean Medicine Society For The Herbal Formula Study

This paper is available at <http://www.formulastudy.com> which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Conclusions : Therefore, the NOAEL of SFEP was confirmed to be 250 mg/kg.

Key-words : Schisandra chinensis, up-cycling, safety, toxicity test, NOAEL

I. 서론

오미자(*Schisandra chinensis*)는 목련과 식물로서 일부 오미자 종을 제외하고 대부분이 동아시아 및 동남아시아에서 자생한다¹⁾. 특히, 한국, 중국을 포함한 동아시아에서 오래전부터 식품의 원료로 사용하고 있으며²⁾, 오미자의 열매는 신맛, 쓴맛, 단맛, 매운맛, 짠맛의 5가지 맛이 있는 특징을 가지고 있어 풍미를 위한 첨가제로도 사용하고 있다³⁾. 또한, 전통적으로 위장관 질환, 호흡 부전, 심혈관 질환, 신체 피로 및 허약, 발한 및 불면증 등의 치료를 위한 약으로서 사용되어 왔으며⁴⁾, 오미자 리그난이라고 불리는 schisandrin, schisandrol, gomisin 등의 오미자 내 성분은 간 보호⁵⁾, 항염 및 항암⁶⁾, 신경 질환 및 인지 장애 개선⁷⁾, 항비만⁸⁾, 근육 감소 개선⁹⁾ 등의 기능성이 있는 것으로 확인되었다^{10,11,12)}.

건강에 대한 관심으로 오미자 리그난을 포함한 건강기능식품 및 화장품의 개발이 활발하게 진행되고 있으나, 아직까지 오미자는 식품 원료로 사용되는 비중이 큰 편이다. 대다수 식품업체는 오미자를 착즙 또는 농축 공정을 거쳐 오미자 제품을 생산하고 있다. 이러한 과정에서 열매 찌꺼기, 씨앗, 껍질을 포함한 오미자 부산물(박)이 버려지고 있다. 식품업체에서 불필요하게 버려지고 있는 오미자 부산물을 up-cycling 하여, 오미자 부산물 내 오미자 리그난을 활용한 제품개발이 이루어진다면 오미자 시장에서 새로운 부가가치를 창출할 수 있다고 생각한다.

오미자는 한국의 식품의약품안전처, 미국 식품의약국(FDA) 등으로부터 전 세계적으로 안전성이 입증된 식품이지만, 오미자 부산물에 대한 안전성 평가는 찾아보기 어렵다. 식품의약품안전처와 FDA의 안전성 검증에 대한 경제협력개발기구(OECD) 가이드라인에 따르면 독성시험 평가는 단회투여독성, 반복투여독성 및 유전 독성(3종) 시험으로 나누어진다^{13,14,15)}. 우리는 오미자 부산물을 활용한 오미자추출물(Schisandra Fruit Extract

Powder; SFEP)의 단회경구투여 독성 시험을 통하여 SFEP의 개략적인 치사량이 2,000~5,000 mg/kg 농도임을 확인할 수 있었다¹⁶⁾. 이번 연구에서는 90일 반복경구투여 독성 시험을 통하여 SFEP를 일정기간 반복 투여하였을 때 발생할 수 있는 독성 반응을 조사하고, 최종적으로 SFEP의 최대무독성용량(No Observed Adverse Effect Level; NOAEL)을 알아보려고 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 오미자추출물(SFEP)

본 연구에서 사용한 오미자(박)은 큰들농업회사법인 주식회사(경상북도 문경시)에서 구매하였다. 오미자(박)을 2회 세척 후 물기를 제거하여 분쇄하였다. 건조기에 분쇄된 오미자(박)을 넣고 60~80°C에서 8시간 건조한 후 건조된 오미자(박)을 9배수의 60% 주정으로 60±5°C에서 약 6시간동안 추출하였다. 60% 주정 추출한 오미자(박)을 1 µm 필터로 여과 및 55~60°C로 30b까지 농축하여 오미자(박) 투입 대비 약 25%의 오미자(박)농축액을 얻었다. 이후 오미자(박)농축액을 살균 및 분무건조하여 최종적으로 오미자(박) 투입 대비 약 7%의 오미자(박)추출물을 얻었으며, 오미자추출물(Schisandra Fruit Extract Powder; SFEP)로 명명하였다.

2) 실험동물

실험동물은 5주령 수컷 및 암컷 Sprague-Dawley(SD) rats를 (주)오리엔트 바이오(경기도 성남시)에서 구매하였다. 실험동물 입수 시 수컷(n=55) 및 암컷(n=55)의 몸무게는 각각 122.67~149.27 g, 114.78~136.72 g이었다. 모든 동물은 7일간의 검역 및 순화 기간(수컷 8일, 암컷 9일)을 거친 후 이상증상이 없는 수컷(190.45~237.34 g) 및 암컷(160.54~202.85 g) 각각 50마리를 선정하여 멸균주사용수(대한약품공업 주식회사, 서울특별시) 혹은 농도별(62.5, 125 및 250 mg/kg) SFEP를

*Corresponding author : Byeong Yeob Jeon, QBM Co. Ltd., 6F 7-25, Gangnam-daero 27-gil, Seocho-gu, Seoul, Republic of Korea(Post code : 06752)
Tel : +82-2-2057-8118, Fax : +82-2-2057-5115, E-mail : byjeon01@qbm.co.kr

•Received : November 1, 2023 / Revised : November 9, 2023 / Accepted : November 15, 2023

투여하였다. 실험기간동안 먹이와 물은 자유로이 하였으며, 온도 22±2℃, 상대습도 55±5% 및 12시간의 명암 주기를 유지하였다.

2. 방법

1) 90일 반복경구투여 독성 시험

독성 평가는 GLP 인증기관인 (주)크로엔(경기도 수원시)에서 진행하였으며, ‘동물보호법’에 따라 동물실험윤리위원회에 의해 승인되었다(승인번호: 22R029). 90일 반복경구투여 독성 시험을 하기 전 28일 용량결정시험을 통하여 본 연구의 고용량군을 250 mg/kg으로 설정하였고, 공비 2를 적용하여 중용량군 125 mg/kg

및 저용량군 62.5 mg/kg로 설정하였으며 91일동안 매일 1회 경구 투여하였다(Table 1). 모든 실험동물은 경구투여 후 매일 일반 증상을 관찰하였으며 관찰기간동안 사망 동물 발견 시 즉시 체중을 측정하고 부검하여 조직병리학적 검사를 실시하였다. 관찰은 피부, 털, 눈, 점막 변화, 분비물과 배설물의 발생 및 자율신경 활동(눈물 분비, 털 세움, 동공 크기, 다른 호흡 패턴), 간대성 또는 간질성 경련, 상동증(과도한 털 손질, 반복적인 빙글빙글 돌기) 또는 기괴한 행동(자해, 뒤로 걷기), 걸음걸이 변화, 자세 및 손을 댄 때 반응의 변화 및 기타 이상증상을 포함하였다.

Table 1. Experiment groups of repeated dose 90-day oral toxicity test

Groups		Dose of SFEP (mg/kg)	Number of animals	
			Male	Female
G1	Control	0	10 5 ^{a)}	10 5 ^{a)}
G2	Low SFEP	62.5	10	10
G3	Middle SFEP	125	10	10
G4	High SFEP	250	10 5 ^{a)}	10 5 ^{a)}

a) Recovery groups

2) 무게 측정 및 조직병리학적 관찰

체중 측정은 주 1회 실시하였으며 실험 종료 후 모든 동물을 부검하여 육안으로 조직병리학적 변화와 실험동물의 갑상샘(Thyroids gland), 가슴샘(Thymus), 간장(Liver), 고환(Testes), 난소(Ovaries), 뇌(Brain), 뇌하수체(Pituitary gland), 부고환(Epididymides), 부신(Adrenal glands), 비장(Spleen), 신장(Kidneys), 심장(Heart), 자궁(Uterus), 전립샘(Prostate), 정낭(Seminal vesicle), 폐(Lung) 무게를 측정하였다.

3) 혈액학 및 혈액생화학적 검사

혈액학 검사를 위하여 부검일 당일 실험동물을 채혈한 후, 혈액을 항응고제가 담긴 채혈 튜브에 넣고 혈액 분석기(XN-V, Sysmex, Japan)를 사용하여 적혈구수(Red blood cell; RBC), 적혈구분포폭(RBC distribution width; RDW), 평균적혈구용적(Mean corpuscular volume; MCV), 평균적혈구헤모글로빈농

도(Mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC), 평균적혈구헤모글로빈량(Mean corpuscular hemoglobin; MCH), 평균혈소판용적(Mean platelet volume; MPV), 헤마토크리치(Hematocrit; HCT), 혈액소량(Hemoglobin; HGB), 백혈구수(White blood cell; WBC), 중성호성백혈구(Neutrophil; NEU), 림프구(Lymphocyte; LYM), 단핵구(Monocyte; MONO), 산호성 백혈구(Eosinophil; EOS), 염기호성 백혈구(Basophil; BASO), 혈소판수(Platelet; PLT), 망상적혈구(Reticulocyte; Retic)를 측정하였다.

혈액생화학적 검사를 위하여 부검일 당일 실험동물을 채혈한 후, 혈액을 항응고제가 없는 채혈 튜브에 넣고 원심분리(3,000 rpm, 10분, 4℃)를 사용하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 혈액생화학 분석기(7180, HITACHI, Japan)와 전해질 분석기(i-Smart 30 Pro, I-Sens Inc., Korea)를 사용하여 아스파테이트 아미노기전이효소(Aspartate aminotransferase; AST), 알라닌 아

미노기전이효소(Alanine aminotransferase; ALT), 알칼라인 포스파타제(Alkaline phosphatase; ALP), 담즙산(Total bile acid; TBA), 총단백질(Total protein; TP), 알부민(Albumin; ALB), 알부민/글로불린 비(Albumin/Globulin ratio; A/G ratio), 총빌리루빈(Total bilirubin; T-BIL), 콜린에스테라아제(Cholinesterase; CHE), 요소(UREA), 혈액요소질소(Blood urea nitrogen; BUN), 크레아티닌(Creatinine; CRE), 크레아틴인산활성효소(Creatine kinase; CK), 칼륨(Potassium; K), 염소(Chloride; Cl), 칼슘(Calcium ion; Ca), 인(Inorganic phosphorus; IP), 나트륨(Sodium; Na), 혈당(Glucose; GLU), 총콜레스테롤(Total cholesterol; T-CHO), 저밀도 지질단백질 콜레스테롤(Low density lipoprotein cholesterol; LDL), 고밀도 지질단백질 콜레스테롤(High density lipoprotein cholesterol; HDL), 트리글리세라이드(Triglyceride; TG)를 측정하였다.

2) 통계 처리

통계분석에는 SPSS(IBM® SPSS statistics, ver. 24) 프로그램을 사용하였으며, 모든 실험동물에 대하여 정규성 검정 후 ANOVA test를 실시하여 통계적으로 유의성을 검증하였다($p < 0.05$).

III. 결과

1. 오미자추출물(SFEP) 투여에 따른 체중 변화

SFEP 투여에 따른 체중 변화를 알아보기 위하여 매일 1회 농도별(G1: 0 mg/kg, G2: 62.5 mg/kg, G3: 125 mg/kg, G4: 250 mg/kg) SFEP를 투여하고, 주1회 체중을 측정하였다. 체중 측정 결과, 수컷 및 암컷 농도별 SFEP 투여군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다(Figure 1).

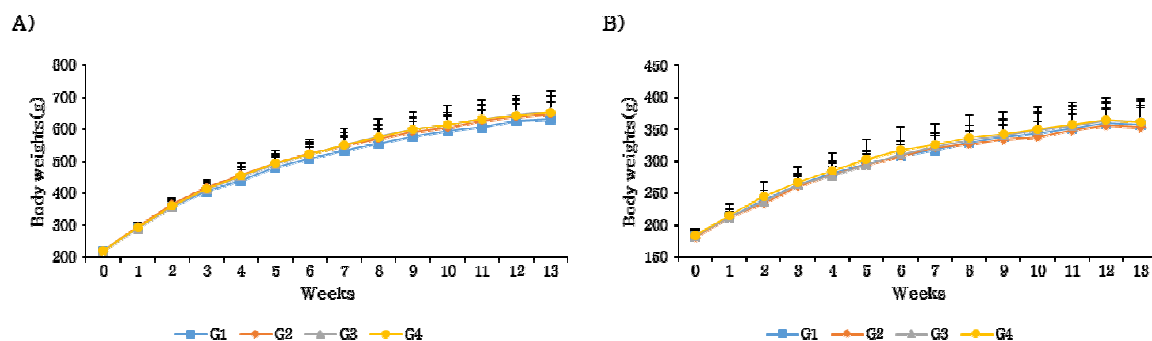


Figure 1. The effects of Schisandra fruit extract powder(SFEP) on body weights in SD-rats. A) Change in body weights of experimental animals(male) after administration of SFEP(G1: 0 mg/kg, G2: 62.5 mg/kg, G3: 125 mg/kg, G4: 250 mg/kg) for 91 days, and B) Change in body weights of experimental animals(female) after administration of SFEP for 91 days. Data are presented as mean \pm standard deviation(SD). Differences are indicated with superscript letters and were considered statistically significant compared to the G1($p < 0.05$)

2. 오미자추출물(SFEP) 투여에 따른 일반 증상 변화

SFEP 투여에 따른 일반 증상 변화를 알아보기 위하여 매일 1회 농도별(G1: 0 mg/kg, G2: 62.5 mg/kg, G3: 125 mg/kg, G4: 250 mg/kg) SFEP를 투여하고 일반 증상 변화를 관찰하였으며, 그 결과는 Table 2 및 Table 3과 같다. 수컷의 경우(Table 2) 대조군에서 한 마리가 투여 5주차(29일~35일)인 29일차에 적색 유루(Reddish tear)와 입 주위 더러움(Staining around mouth)이 1례 관찰되었으며 이 증상은 31일차까지 관

찰되었다. 이후 31일차에 측와(Lying on side) 상태로 사망(Death)하였다. 62.5 mg/kg 및 125 mg/kg 투여군에서는 일반 증상의 변화가 관찰되지 않았으나, 250 mg/kg 투여군에서 0주차(1일~7일)인 2일차에 유연(Salivation)이 1례 관찰되었다. 암컷의 경우(Table 3) 대조군에서는 일반 증상의 변화가 관찰되지 않았으나, 62.5 mg/kg 투여군에서 6주차(36일~42일)인 42일차에 창상(Wound)이 1례 관찰되었고 투여 종료까지 관찰되었다. 동일한 개체에서 미란(Erosion)이 7주차(43일~49



일)인 47일차, 49일차와 8주차(50~56일)인 51일차, 52 일차에 관찰되었다. 125 mg/kg 투여군에서는 유연이 6 주차인 40일차, 12주차(78일~84일)인 81일차에 각 1 레, 13주차(85일~91일)인 91일차에 2레가 관찰되었다. 250 mg/kg 투여군에서는 0주차인 6일차에 유연이 1레 관찰되었다.

Table 2. The effects of Schisandra fruit extract powder(SFEP) on clinical signs in SD-rats(male)

Sex : Male

Group/Dose (mg/kg)	Clinical signs	Weeks													
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
G1 0	NOA	15	15	15	15	15	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	Death						1								
	Reddish tear						1								
	Staining around mouth						1								
	Lying on side						1								
G2 62.5	NOA	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G3 125	NOA	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
G4 250	NOA	14	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	Salivation	1													

NOA : No Observable Abnormality

Table 3. The effects of Schisandra fruit extract powder(SFEP) on clinical signs in SD-rats(female)

Sex : Female

Group/Dose (mg/kg)	Clinical signs	Weeks													
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
G1 0	NOA	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
G2 62.5	NOA	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9
	Wound							1	1	1	1	1	1	1	1
	Erosion								1	1					
G3 125	NOA	10	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10	9	8	
	Salivation							1					1	2	
G4 250	NOA	14	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
	Salivation	1													

NOA : No Observable Abnormality

3. 오미자추출물(SFEP) 투여에 따른 부검 소견
 SFEP에 대한 90일 반복경구투여 독성 시험을 종료하

고 모든 실험동물을 부검하였으며 부검 소견은 Table 4
 와 같다. 수컷 125 mg/kg 투여군에서 간장의 꼬리엽에

노란색 변색(Discoloration, yellow, caudate lobe)이 1례 관찰되었으며, 250 mg/kg 투여군에서 간장의 중간엽에 황색 반점(Spot, yellow, medial right lobe), 좌측 악하

림프절의 부종(Edema)이 1례 관찰되었다. 암컷의 경우 전 개체에서 특이적인 육안 소견이 관찰되지 않았다.

Table 4. Necropsy findings following administration of Schisandra fruit extract powder(SFEP) in SD-rats

Sex	Male						Female				
	Group	Organ*	Necropsy findings	G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4
	Dose (mg/kg)			0	62.5	125	250	0	62.5	125	250
	No. of animals			10	10	10	10	10	10	10	10
	No. of examined			10	10	10	10	10	10	10	10
	Unremarkable findings			10	10	9	9	10	10	10	10
		Liver	Discoloration			1					
		Liver	Spot				1				
		Submandibular lymph node	Edema				1				

*External surface and other organs in body cavity

4. 오미자추출물(SFEP) 투여에 따른 장기 중량 변화

SFEP에 대한 90일 반복경구투여 독성 시험을 종료하고 모든 실험동물을 부검하여 장기 중량을 측정하였으며, 장기 중량 변화는 Table 5와 같다. 수컷의 경우 250 mg/kg 투여군의 갑상샘 무게가 0.036 ± 0.008 g으로 대조군(0.027 ± 0.003 g)과 비교하여 통계적으로 유

의하게 증가하였으며($p < 0.05$), 암컷의 경우 250 mg/kg 투여군의 간장 및 갑상샘의 무게가 각각 10.283 ± 0.845 g 및 0.028 ± 0.003 g으로 대조군의 간장(8.982 ± 1.066 g) 및 갑상샘(0.023 ± 0.005 g) 무게와 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$).

Table 5. Organ weights after administration of Schisandra fruit extract powder(SFEP) in SD-rats

Organ	Group/Dose (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (62.5)	G3 (125)	G4 (250)
Male				
B.W.	590.33 ± 43.00	610.09 ± 53.45	618.61 ± 49.01	637.06 ± 59.67
Pituitary gland	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.014 ± 0.002	0.014 ± 0.002
Adrenal glands	0.063 ± 0.010	0.068 ± 0.012	0.058 ± 0.008	0.059 ± 0.010
Thymus	0.377 ± 0.078	0.403 ± 0.102	0.372 ± 0.139	0.384 ± 0.078
Prostate [@]	3.546 ± 0.469	3.658 ± 0.358	3.368 ± 0.488	3.432 ± 0.393
Spleen	0.933 ± 0.107	0.963 ± 0.159	0.910 ± 0.120	0.967 ± 0.188
Lung	1.819 ± 0.173	1.830 ± 0.128	1.767 ± 0.101	1.955 ± 0.152
Heart	1.700 ± 0.244	1.749 ± 0.103	1.716 ± 0.099	1.762 ± 0.144
Brain	2.184 ± 0.067	2.284 ± 0.135	2.182 ± 0.056	2.223 ± 0.138
Epididymides	1.659 ± 0.146	1.741 ± 0.097	1.738 ± 0.133	1.686 ± 0.103
Testes	3.597 ± 0.303	3.681 ± 0.228	3.809 ± 0.197	3.671 ± 0.203
Kidneys	3.344 ± 0.255	3.606 ± 0.244	3.463 ± 0.289	3.545 ± 0.329
Liver	15.688 ± 2.363	16.635 ± 2.620	17.770 ± 2.820	18.043 ± 2.213
Thyroids gland	0.027 ± 0.003	0.029 ± 0.004	0.032 ± 0.005	$0.036^* \pm 0.008$



Female				
B.W.	341.67±41.20	332.56±28.41	340.88±25.47	352.42±31.37
Pituitary gland	0.020±0.004	0.022±0.010	0.019±0.004	0.023±0.006
Adrenal glands	0.074±0.014	0.069±0.007	0.083±0.013	0.079±0.009
Ovaries	0.098±0.024	0.096±0.031	0.091±0.036	0.101±0.026
Uterus	0.787±0.244	0.694±0.156	0.945±0.351	0.756±0.333
Thymus	0.343±0.100	0.312±0.063	0.356±0.125	0.357±0.114
Spleen	0.637±0.080	0.559±0.057	0.611±0.089	0.619±0.100
Lung	1.439±0.103	1.390±0.106	1.395±0.090	1.438±0.105
Heart	1.186±0.122	1.126±0.118	1.129±0.074	1.133±0.068
Brain	2.054±0.064	1.997±0.053	2.052±0.076	2.046±0.074
Kidneys	2.035±0.138	2.100±0.296	2.101±0.157	2.080±0.156
Liver	8.982±1.066	9.138±1.122	9.453±0.780	10.283*±0.845
Thyroids gland	0.023±0.005	0.024±0.006	0.027±0.003	0.028*±0.003

B.W. : Body weigh

@ : The prostate and seminal vesicle were measured together

* : Significantly differed from G1 by ANOVA-test, p<0.05

5. 오미자추출물(SFEP) 투여에 따른 혈액학적 검사

SFEP에 대한 90일 반복경구투여 독성 시험을 종료하고 모든 실험동물을 채혈하여 혈액학적 검사를 실시한 결과는 Table 6과 같다. 수컷의 경우 SFEP 투여군에서

대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았지만, 암컷의 경우 250 mg/kg 투여군에서 적혈구 분포폭이 12.2±1.0%으로 대조군(13.3±0.6%)과 비교하여 유의하게 감소된 것을 확인하였다(p<0.05).

Table 6. Hematological parameters after administration of Schisandra fruit extract powder(SFEP) in SD-rats

Hematological parameters	Group/Dose (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (62.5)	G3 (125)	G4 (250)
Male				
WBC (x10 ³ /μL)	9.20±2.08	9.78±3.73	9.69±2.71	9.49±1.17
RBC (x10 ⁶ /μL)	8.67±0.37	8.73±0.44	8.69±0.37	8.64±0.23
HGB (g/dL)	15.3±0.7	15.2±0.7	15.2±0.5	15.0±0.5
HCT (%)	44.2±1.5	43.7±1.6	43.8±0.9	43.4±1.3
MCV (fL)	51.0±1.6	50.0±1.1	50.5±1.9	50.3±1.2
MCH (pg)	17.7±0.8	17.4±0.6	17.6±0.8	17.4±0.6
MCHC (g/dL)	34.7±0.7	34.7±0.7	34.8±0.7	34.6±0.6
PLT (x10 ³ /μL)	1065±166	1122±160	1080±167	1186±116
RDW (%)	15.6±0.7	15.8±0.9	15.4±1.1	15.8±0.9
MPV (fL)	7.3±0.2	7.3±0.2	7.2±0.2	7.2±0.2
NEU (%)	24.2±10.2	19.2±8.5	18.0±4.2	15.0±6.6
LYM (%)	67.0±10.8	71.9±10.0	71.7±5.9	76.2±7.5
MONO (%)	7.2±1.8	7.3±2.2	8.5±2.4	7.3±0.8

EOS (%)	1.2±0.4	1.3±0.5	1.3±0.6	1.2±0.5
BASO (%)	0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.2
Retic (%)	2.96±0.42	2.91±0.53	2.81±0.52	2.94±0.50
Female				
WBC (x10 ³ /μL)	6.27±1.92	5.56±1.44	5.52±1.84	6.83±1.38
RBC (x10 ⁶ /μL)	7.88±0.37	7.91±0.66	7.64±0.34	7.68±0.37
HGB (g/dL)	14.7±0.5	14.8±0.8	14.5±0.5	14.5±0.6
HCT (%)	41.1±1.4	41.4±2.4	40.5±1.3	40.7±1.7
MCV (fL)	52.2±1.3	52.4±1.7	53.0±1.4	53.1±1.2
MCH (pg)	18.7±0.5	18.7±0.8	19.0±0.6	19.0±0.5
MCHC (g/dL)	35.7±0.3	35.7±0.6	35.8±0.3	35.7±0.3
PLT (x10 ³ /μL)	1003±91	1123±342	998±119	1055±53
RDW (%)	13.3±0.6	12.5±0.8	12.6±0.5	12.2*±1.0
MPV (fL)	7.6±0.1	7.7±0.3	7.5±0.2	7.5±0.3
NEU (%)	15.2±5.3	16.7±5.5	14.2±4.6	13.4±4.1
LYM (%)	73.1±5.7	73.0±5.7	75.5±5.2	77.2±4.8
MONO (%)	9.5±2.3	8.5±1.2	8.4±1.8	7.7±1.6
EOS (%)	1.9±0.6	1.6±0.8	1.6±0.4	1.3±0.4
BASO (%)	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
Retic (%)	2.54±0.69	2.40±0.39	2.69±0.84	2.40±0.38

* : Significantly differed from G1 by ANOVA-test, p<0.05

6. 오미자추출물(SFEP) 투여에 따른 혈액생화학적 검사

SFEP에 대한 90일 반복경구투여 독성 시험을 종료하고 모든 실험동물을 채혈하여 혈액생화학적 검사를 실시한 결과는 Table 7, Table 8 및 Table 9와 같다. 간 기능과 관련된 혈액생화학적 검사결과(Table 7), 대조군 대비 암수 공통적으로 총빌리루빈의 유의미한 변화를 관찰할 수 있었으며 수컷의 경우 총단백질과 알부민, 암컷의 경우 담즙산의 유의미한 변화가 관찰되었다. 자세히 살펴보면 수컷 250 mg/kg 투여군의 총빌리루빈(0.01±0.01 mg/dL)은 대조군(0.04±0.02 mg/dL)과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였으며(p<0.05), 암컷 62.5, 125, 250 mg/kg 투여군의 총빌리루빈은 각각 0.05±0.03, 0.03±0.03, 0.02±0.02 mg/dL으로 대조군(0.09±0.03 mg/dL)과 비교하여 통계적으로 유의하게

감소하였다(p<0.05). 또한, 총단백질과 알부민은 수컷 125 mg/kg 투여군에서 각각 6.7±0.2 g/dL, 2.7±0.1 g/dL으로 대조군의 총단백질(6.3±0.2 g/dL) 및 알부민(2.5±0.1 g/dL)과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였다(p<0.05). 담즙산은 암컷 125 mg/kg 투여군(15.9±10.2 umol/L)에서 대조군(37.3±11.9 umol/L)과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였다(p<0.05). 신장 기능과 관련된 혈액생화학적 검사결과(Table 8), 암컷에서는 유의미한 변화는 관찰되지 않았으나 수컷 125 mg/kg 투여군에서 칼슘이 10.4±0.3 mg/dL으로 대조군(10.0±0.4 mg/dL)과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였다(p<0.05). 대사 관련 혈액생화학적 검사 결과에서는 암수 모두 유의미한 변화는 관찰되지 않았다(Table 9).

Table 7. Blood chemistry values related to liver function after administration of Schisandra fruit extract powder(SFEP) in SD-rats

Blood chemistry values	Group/Dose (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (62.5)	G3 (125)	G4 (250)
Male				
AST (U/L)	124±36	124±29	112±19	128±28
ALT (U/L)	31.6±5.4	31.7±3.2	32.9±4.8	27.9±4.5
ALP (U/L)	96±13	102±19	98±18	94±14
TBA (umol/L)	19.2±11.2	21.1±14.3	17.1±12.0	19.8±14.0
TP (g/dL)	6.3±0.2	6.5±0.3	6.7*±0.2	6.5±0.2
ALB (g/dL)	2.5±0.1	2.6±0.1	2.7*±0.1	2.6±0.1
A/G ratio	0.67±0.03	0.65±0.03	0.67±0.06	0.66±0.04
T-BIL (mg/dL)	0.04±0.02	0.04±0.02	0.02±0.01	0.01*±0.01
CHE (U/L)	6±1	6±2	6±1	7±2
Female				
AST (U/L)	157±86	116±34	103±28	102±25
ALT (U/L)	59.6±41.9	41.1±15.3	31.2±6.3	35.9±15.7
ALP (U/L)	45±14	41±10	47±10	42±15
TBA (umol/L)	37.3±11.9	25.4±19.9	15.9*±10.2	22.9±19.5
TP (g/dL)	7.2±0.5	7.1±0.5	7.0±0.4	7.2±0.5
ALB (g/dL)	3.3±0.3	3.3±0.3	3.2±0.3	3.2±0.4
A/G ratio	0.82±0.07	0.84±0.08	0.85±0.06	0.79±0.11
T-BIL (mg/dL)	0.09±0.03	0.05*±0.03	0.03*±0.03	0.02*±0.02
CHE (U/L)	5±2	7±2	5±2	6±2

* : Significantly differed from G1 by ANOVA-test, p<0.05

Table 8. Blood chemistry values related to Kidneys function after administration of Schisandra fruit extract powder(SFEP) in SD-rats

Blood chemistry values	Group/Dose (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (62.5)	G3 (125)	G4 (250)
Male				
UREA (mmol/L)	32±5	31±4	29±4	32±4
BUN (mg/dL)	13.0±2.0	12.7±1.7	11.6±1.8	12.9±2.0
CRE (mg/dL)	0.44±0.02	0.46±0.04	0.45±0.04	0.45±0.03
CK (U/L)	854±295	841±354	750±233	976±419
K (mmol/L)	4.6±0.2	4.8±0.4	4.7±0.3	4.8±0.4
Cl (mmol/L)	104±1	103±1	103±1	103±1
Ca (mg/dL)	10.0±0.4	10.1±0.3	10.4*±0.3	10.3±0.2
IP (mg/dL)	5.9±0.4	6.0±0.5	6.4±0.5	6.1±0.5
Na (mmol/L)	143±1	144±1	144±1	144±1

Female				
UREA (mmol/L)	37±5	38±5	37±4	40±5
BUN (mg/dL)	15.6±2.0	15.6±2.0	15.4±1.8	16.6±2.2
CRE (mg/dL)	0.52±0.04	0.52±0.06	0.54±0.06	0.54±0.04
CK (U/L)	627±299	633±375	607±341	501±301
K (mmol/L)	4.2±0.3	4.2±0.4	4.0±0.2	4.0±0.4
Cl (mmol/L)	104±1	104±2	104±2	103±1
Ca (mg/dL)	10.4±0.4	10.6±0.2	10.4±0.4	10.6±0.4
IP (mg/dL)	5.1±0.5	5.3±0.6	5.1±0.6	5.3±0.7
Na (mmol/L)	142±2	143±1	142±2	142±2

* : Significantly differed from G1 by ANOVA-test, p<0.05

Table 9. Blood chemistry values related to metabolism after administration of Schisandra fruit extract powder(SFEP) in SD-rats

Blood chemistry values	Group/Dose (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (62.5)	G3 (125)	G4 (250)
Male				
GLU (mg/dL)	114±10	116±14	111±14	110±13
T-CHO (mg/dL)	84±17	89±21	94±11	88±17
LDL (mg/dL)	7.0±2.1	7.0±1.5	7.1±1.4	6.9±1.5
HDL (mg/dL)	22.7±3.3	23.3±3.2	24.8±1.6	23.5±2.8
TG (mg/dL)	50±26	49±19	70±54	49±16
Female				
GLU (mg/dL)	117±13	120±18	122±9	118±13
T-CHO (mg/dL)	113±18	106±14	111±21	106±23
LDL (mg/dL)	5.1±1.1	5.1±0.7	5.4±1.5	5.4±1.2
HDL (mg/dL)	28.7±3.1	27.9±3.1	28.7±3.2	28.4±3.8
TG (mg/dL)	31±19	32±14	42±30	29±13

* : Significantly differed from G1 by ANOVA-test, p<0.05

IV. 고찰

오미자에 함유되어 있는 schisandrin, schisandrol, gomisin과 같은 오미자 리그난은 오미자의 대표적인 약리학적 성분이며 오미자 부위별로 씨앗, 열매, 꽃, 잎, 줄기 순으로 많이 함유되어 있다^{17, 18)}. 식품업계에서 오미자는 제품 생산 시 열매 찌꺼기와 씨앗, 껍질이 포함된 오미자 부산물(박)이 발생하고 버려진다. 우리는 불필요하게 버려지는 오미자 부산물을 up-cycling하여 건강기능식품 또는 화장품의 원료로 활용하고자 한다. 이를 위한 첫번째 단계는 오미자 부산물에 대한 안전성

검증이며, 현재까지 오미자 부산물의 안전성에 대한 평가 자료는 찾아보기 어렵다. 따라서 오미자 부산물을 활용한 오미자추출물(Schisandra Fruit Extract Powder; SFEP)의 안전성을 확인하고자 독성 평가를 진행하였다. 우리는 오미자 부산물을 활용한 오미자추출물(Schisandra Fruit Extract Powder; SFEP)의 단회경구투여 독성 시험을 통하여 SFEP의 개략적인 치사량이 2,000~5,000 mg/kg 농도임을 확인할 수 있었다¹⁶⁾. 본 연구에서는 SFEP의 90일 반복경구투여 독성 시험을 통하여 최대무독성용량(No Observed Adverse Effect Level; NOAEL)을 확인하였다.

암수 SD-rats에게 90일 동안 매일 1회 0, 62.5, 125, 250 mg/kg 농도의 SFEP를 경구투여 하였다. 투여기간 동안 SFEP 투여 후 일반 증상, 체중 변화를 관찰하였고 투여 종료 후 모든 동물을 부검하여 부검 시 소견과 장기 무게의 변화 및 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사를 진행하였다.

90일 반복경구투여 독성 시험 동안 수컷 대조군에서 사망 개체가 1마리 발생하였다. 부검 결과, 심장에 발생한 고도의 심근병증에 의한 순환장애로 추정되나, SFEP를 투여하지 않은 대조군이었기 때문에 독성학적 의미는 없었다. 일반 증상 관찰 결과, 수컷 SFEP 250 mg/kg 투여군과 암컷 125, 250 mg/kg 투여군에서 유연이 1~2레씩 산발적으로 관찰되었다. 오미자는 다섯가지의 맛을 느낄 수 있지만 그 중 신맛이 강한 편이다³⁾. 유연은 이러한 오미자의 특성으로 인해 유발된 영향으로 판단되나, SFEP를 투여하지 않은 회복기에는 유연이 관찰되지 않았고 다른 관찰 항목의 변화를 동반하지 않았으므로 가역적인 현상이며 독성학적 의미는 없다고 판단된다. 또한, 암컷 SFEP 62.5 mg/kg 투여군에서 창상, 미란이 1레씩 산발적으로 관찰되었으나, 투여 기간 내에 점점 증상이 호전되어 모두 회복되었다. 이 증상은 용량 의존성과 암수 연관성이 없어 우발적인 증상이라고 판단된다. 체중 측정 결과, 통계적으로 유의미한 변화는 관찰되지 않았다.

부검 시 육안 관찰 및 조직병리학적 결과, 수컷 SFEP 125 mg 투여군에서 간장의 꼬리엽에 노란색 변색이 1레 관찰되었으나 용량 의존성은 없었다. 또한, 수컷 SFEP 250 mg/kg 투여군에서 간장의 중간엽에 황색 반점, 좌측 악하림프절의 부종이 1레 관찰되었으나, 이러한 병변은 SD-rats에서 흔히 관찰되는 병변으로 단 1레만 우발적으로 관찰되어 독성학적 의미는 없다고 판단된다^{19,20)}.

장기 무게 측정 결과, 수컷 SFEP 250 mg/kg 투여군의 갑상샘 무게가 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), 암컷 SFEP 250 mg/kg 투여군의 간장 및 갑상샘의 무게가 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 그러나 몸무게 대비 장기 중량(상대 장기 무게)을 비교하였을 때, 유의미한 변화는 관찰되지 않았다.

골수, 간, 신장은 독성 연구에서 시험 물질에 대한 독성 영향을 확인할 수 있는 대표적인 기관이며, 혈액학적 검사를 통하여 면역 체계 등 골수 기능을 평가하고

혈액 생화학적 검사를 통하여 해독 및 노폐물 배출, 대사와 관련된 간 및 신장 기능을 평가하였다^{21, 22)}. 혈액학적 검사 결과, 암컷 SFEP 250 mg/kg 투여군의 적혈구분포폭이 대조군과 비교하여 유의하게 감소된 것을 확인하였다($p < 0.05$). 그러나 감소된 수치는 생물학적 변동 범위 내의 경미한 변동이거나²³⁾, 연관된 다른 항목의 변화를 동반하지 않아 독성학적 의미는 없는 것으로 판단된다. 혈액 생화학적 검사 결과, 간 기능과 관련하여 총빌리루빈은 수컷 SFEP 250 mg/kg 투여군과 암컷 모든 농도의 SFEP 투여군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 또한, 총단백질과 알부민은 수컷 SFEP 125 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 담즙산은 암컷 SFEP 125 mg/kg 투여군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 신장 기능과 관련하여 수컷 SFEP 125 mg/kg 투여군의 칼슘이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 총빌리루빈 수치가 낮은 경우는 일반적으로 문제되거나 모니터 하지 않는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. 총단백질, 알부민, 칼슘의 증가와 담즙산의 감소는 용량 의존성이 관찰되지 않았으며 암수 연관성이 없고, 연관된 다른 항목의 변화가 함께 관찰되지 않아 독성학적 의미가 없는 것으로 판단된다.

식품의약품안전처와 FDA의 안전성 검증에 대한 90일 반복경구투여 독성 시험의 OECD 가이드라인에 따르면 일반 증상 관찰, 체중 측정, 부검 시 육안 관찰 및 조직병리학적 검사, 장기 중량 측정, 혈액학적 검사, 혈액 생화학적 검사 외에 기능 검사, 안과학적 검사 및 뇨 검사, 호르몬 검사, 정자 검사, 질 도말 검사 등의 평가 항목을 포함하고 있다¹⁵⁾. 우리는 OECD 가이드라인에 따라 모든 항목에 대한 검사를 수행하였으며 250 mg/kg 농도까지 SFEP의 독성에 의한 유의미한 변화가 관찰되지 않았다. 따라서 SFEP의 NOAEL은 암수 모두 250 mg/kg로 확인할 수 있었다.

V. 결론

본 연구는 오미자 부산물(박)을 활용한 오미자추출물(Schisandra Fruit Extract Powder; SFEP)을 SD-rats에 일정기간 경구투여 시 나타나는 독성 반응을 관찰하고, SFEP의 최대무독성용량(No Observed Adverse Effect Level; NOAEL) 확인하고자 수행하였다. 암수 SD-rats

에게 90일 동안 매일 1회 0, 62.5, 125, 250 mg/kg 농도의 SFEP를 경구투여 하였으며, 투여기간동안 SFEP 투여 후 일반 증상, 체중 변화를 관찰하였다. 또한, 투여 종료 후 모든 동물을 부검하여 부검 시 소견과 장기 무게의 변화 및 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사를 진행하였다. SFEP는 250 mg/kg 농도까지 일부 개체에서 이상 변화가 관찰되었지만, 이러한 이상 변화는 우발적이고 용량 의존적이지 않았으며 성별과 기타 매개변수 간의 상관 관계가 발견되지 않았다. 따라서 SFEP의 NOAEL은 250 mg/kg로 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 결과물은 환경부의 재원으로 한국환경산업기술원의 야생생물 유래 친환경 신소재 및 공정기술개발사업(과제번호 : 2021003270008)의 지원을 받아 연구되었습니다.

References

1. Szopa A, Ekiert R, Ekiert H. Current knowledge of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. (Chinese magnolia vine) as a medicinal plant species: a review on the bioactive components, pharmacological properties, analytical and biotechnological studies. *Phytochem Rev.* 2017;16(2):195-218.
2. Hu G, Qi Z, Wang A, Jia J. Effects of Decidification on Composition of *Schisandra chinensis* Ethanolic Extract and Studies on Acute Toxicity in Mice. *Molecules.* 2020;25(24):6038.
3. Kopustinskiene DM, Bernatoniene J. Antioxidant Effects of *Schisandra chinensis* Fruits and Their Active Constituents. *Antioxidants* (Basel). 2021;10(4):620.
4. Nowak A, Zak Ł os-Szyda M, B ł asiak J, Nowak A, Zhang Z, Zhang B. Potential of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. in Human Health and Nutrition: A Review of Current Knowledge and Therapeutic Perspectives. *Nutrients.* 2019;11(2):333.
5. Jiang Y, Fan X, Wang Y, et al. Hepatoprotective effects of six *Schisandra* lignans on acetaminophen-induced liver injury are partially associated with the inhibition of CYP-mediated bioactivation. *Chem Biol Interact.* 2015;231:83-89.
6. Hu D, Yang Z, Yao X, et al. Dibenzocyclooctadiene lignans from *Schisandra chinensis* and their inhibitory activity on NO production in lipopolysaccharide-activated microglia cells. *Phytochemistry.* 2014;104:72-78.
7. Jeong EJ, Lee HK, Lee KY, et al. The effects of lignan-riched extract of *Shisandra chinensis* on amyloid- β -induced cognitive impairment and neurotoxicity in the cortex and hippocampus of mouse. *J Ethnopharmacol.* 2013;146(1):347-354.
8. Park HJ, Cho JY, Kim MK, et al. Anti-obesity effect of *Schisandra chinensis* in 3T3-L1 cells and high fat diet-induced obese rats. *Food Chem.* 2012;134:227-234.
9. Kim J.W., Ku S.K., Han M.H., Kim K.Y., Kim S.G., Kim G.Y., Hwang H.J., Kim B.W., Kim C.M., Choi Y.H. The administration of *Fructus Schisandrae* attenuates dexamethasone-induced muscle atrophy in mice. *Int. J. Mol. Med.* 2015;36:29-42.
10. Ekiert R.J., Szopa A., Ekiert H., Krzek J., Dzik E. Analysis of lignans in *Schisandra chinensis* fruits, leaves, biomasses from in vitro cultures and food supplements. *J. Funct. Foods.* 2013;5:1576-1581.
11. Mocan A., Crisan G., Vlase L., Crissan O., Vodnar D.C., Raita O., Gheldiu A.M., Toiu A., Oprean R., Tilea I. Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of *Schisandra chinensis* leaves and fruits. *Molecules.* 2014;19:15162-15179.
12. Szopa A., Ekiert H. The importance of applied light quality on the production of lignans and phenolic acids in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. cultures in vitro. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2016;127:115-121.
13. Korea Food and Drug Administration. Testing



- Guidelines for Safety Evaluation of Drugs. Notification No. 2009-116.
14. OECD Guideline For The Testing Of Chemicals. Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method.
 15. OECD Guideline For The Testing Of Chemicals. Test No. 408: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents.
 16. Kim, S., Yoo, B. R., Kim, Y.-S., Lim, J.-M., Ku, B.-H., Kwak, K. T., & Jeon, B. Y. (2022). Evaluation of Acute Toxicity of Pomace Schisandra chinensis Extracts Using SD-rats. *Herbal Formula Science*, 30(4), 281-291.
 17. Lu Y, Chen DF. Analysis of Schisandra chinensis and Schisandra sphenanthera. *J Chromatogr A*. 2009;1216(11):1980-1990.
 18. Park WS, Koo KA, Bae JY, et al. Dibenzocyclooctadiene Lignans in Plant Parts and Fermented Beverages of Schisandra chinensis. *Plants (Basel)*. 2021;10(2):361.
 19. Brändli-Baiocco A, Balme E, Bruder M, et al. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Endocrine System. *J Toxicol Pathol*. 2018;31(3 Suppl):1S-95S.
 20. Willard-Mack CL, Elmore SA, Hall WC, et al. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Hematolymphoid System. *Toxicol Pathol*. 2019;47(6):665-783.
 21. Sireeratawong S, Jaijoy K, Panunto W, Nanna U, Lertprasertsuke N, Soonthornchareonnon N. Acute and chronic toxicity studies of the water extract from dried fruits of Terminalia bellerica (Gaertn.) Roxb. In Spargue-Dawley rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2012;10(2):223-231.
 22. Hidayat M, Prahastuti S, Rakasiwi AS, Prisilia S, Hasan K. Sub-chronic toxicity study of green peas protein hydrolysate in rats. *Toxicol Rep*. 2022;9:735-742.
 23. Zhong-Ze Han, et al, Reference Data of the Main Physiological Parameters in Control Sprague-Dawley Rats from Pre-clinical Toxicity Studies, *Lab Anim Res* 2010;26(2), 153-164.
 24. Kyung-ah Kim (2009). Understanding and application of liver function tests. *Korean J Med*, 76(2), 163-168.