



# Sprague-Dawley 랫드를 이용한 미선나무주정추출물의 2주 반복 경구투여 독성평가

권 순 북\*  
용인대학교 식품영양학과

## Toxicity Assessment of *Abeliophyllum distichum* Nakai Ethanol Extract Orally Administered to Sprague-Dawley Rats for Two Consecutive Weeks

Soon Bok Kwon\*  
Department of Food and Nutrition, Yongin University

### Abstract

*Abeliophyllum distichum* Nakai is a deciduous shrub of a flowering plant in Oleaceae. It is an important plant resource and consists of only one species in the entire world. *A. distichum* Nakai is well known an edible, medicinal herb in its habitat districts, but the toxicological evaluation for the safe use of its extract is still insufficient. The study characterized the toxicity of an *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract in Sprague-Dawley (SD) rats and determined the safe dosage levels in a 13 weeks toxicity study. *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract was orally administered once daily for 2 weeks at 0, 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day to male and female SD rats, while recording the clinical signs of toxicity, body weight, food intake/consumption, eye test and urine analysis. Only the total protein frequency in the urine of male SD rats ( $p < 0.05$ ), the right ovary of the 500 mg/kg group ( $p < 0.01$ ) and the right adrenal gland of the 1,000 mg/kg group ( $p < 0.05$ ) in the female rats showed statistically significant changes. But no toxic effects were noted from repeated-dose administration of the *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract in the SD rats during the observation period. The post-mortem examinations showed no test substance-mediated changes. The hematological analysis and clinical blood chemistry data demonstrated no toxic effects from repeated-dose administration of *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract in the SD rats during the observation period. Based on these results, this data suggests that a dose of 1,000 mg/kg/day is a highest treatment to administer when conducting a further 13 weeks toxicity study.

Key Words: *Abeliophyllum distichum* Nakai, 2 weeks oral toxicity, Sprague-Dawley rats

## 1. 서 론

미선나무(*Abeliophyllum distichum* Nakai)는 물푸레나무과(Oleaceae)에 속하는 미선나무속(*Abeliophyllum*)으로 종자의 형태가 부채를 닮아 미선(尾扇)나무로 불리는 관목이며 우리나라에서 자생하는 한국 특산식물이다(Lee 1976). 세계적으로 1속 1종의 희귀식물이며, 현재 환경부는 미선나무를 보호야생 식물로 지정하고 있다(Park 2011). 미선나무의 희귀성과는 별개로 자생지 주변의 민간에서는 미선나무를 사용하여 고기의 누린내 제거, 해충구제, 각종 염증질환, 화장품 소재 등으로 다양하게 이용하고 있다. 미선나무에 관한 연구는 자생지와 관련된 생태적 특성연구(Lim et al 2009, Park et al. 2010, Lee et al. 2014.), 증식(Yoo & Kim 1997, Yoo

& Kim 2001) 등이 있으며, 잎과 줄기의 성분 분석(Kwon et al. 2014), 그리고 생리활성과 관련된 연구로 간 보호 효과(Chang et al. 2018), 항산화(He et al. 2000, Jang & Park 2017, Chang et al. 2018), 항염증 효과(Schlesier et al. 2002, Park et al. 2014) 등이 있다.

식물유래의 천연물질은 예로부터 질병 치료제, 보약의 처방으로 널리 사용되어 왔으며 최근에 천연물질에 대한 국내외적 관심이 높아지면서 많은 연구가 진행되어 항암 및 생리활성 물질을 밝혀지고 있다. 그리고 약용 뿐 아니라 기능성 식품이나 화장품 등의 소재로서 다양하게 개발되고 있다(Park et al. 2007). 미선나무 소재도 항산화, 항염증 연구가 진행되면서 기능성 식품소재로서의 활용도가 증가하고 있다. 그러나 여전히 식품소재로서의 안정성 평가는 미흡한 상황이다.

\*Corresponding author: Soon Bok Kwon, Department of Food and Nutrition, Yongin University, 134, Yongindaehak-ro, Cheoin-gu, Yongin, Gyeonggido, Korea Tel: +82-31-8020-2758 Fax: +82-31-8020-2886 E-mail: sbkwon61@hanmail.net

본 연구는 미선나무주정추출물을 Sprague-Dawley(SD) 랫드에서 2주간 반복 경구투여 하였을 때 나타나는 독성을 조사하고 13주 반복 경구투여 독성시험의 용량을 설정하기 위해 진행되었다.

## II. 연구 내용 및 방법

### 1. 실험재료 및 시료의 제조

본 연구에 사용된 미선나무는 2013년 10월 경 충북 괴산군 청천면 농가에서 채배되고 있는 개체로부터 채취하였다. 시험물질인 미선나무주정추출물은 미선나무 잎 분말 100g에 70% 주정 900 mL를 가하고 25°C에서 24시간 추출(shaking)한 후 30분 동안 8,000×g에서 원심분리기(Beckman, CA, USA)를 이용하여 고형분을 제거하였고, 원심 분리된 상등액을 모아 감압농축한 후 동결 건조하여 얻었다. 시험기간 중 시험물질 보관실 냉동 보관고에 보관하였고, 투여일 오전에 조제하여 순도에 대한 보정 없이 중량 그대로를 조제에 사용하였다. 본 시험물질의 단회투여독성시험(GT13-0436) 결과, 모든 시험군에서 시험물질에 의한 이상증상 및 독성변화가 관찰되지 않아 2,000 mg/kg의 용량을 고용량으로 설정하고, 중용량 및 저용량을 설정하였다. 이를 위해 시험물질을 칭량하고, 멸균증류수에 균일하게 용해시켜 고용량(2,000 mg/kg)을 조제한 후, 이 용액을 단계별 희석하는 방법으로 나머지 중용량 및 저용량(1,000 및 500 mg/kg)을 조제하였다. 추가로 멸균증류수인 부형제만을 투여하는 부형제 대조군을 두었다.

### 2. 실험동물 및 사육환경

독성시험을 위하여 (주)오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 구입한 암수 각 20 마리, 총 40마리 Sprague-Dawley (SD) 계통의 특정병원균 부재(specific pathogen free, SPF) 랫드를 한국건설생활환경시험연구원(Korea Conformity Laboratories, Incheon, Korea) 특정병원균 부재(SPF) 사육구역 3호실에서 사육하였다. 시험기간 중 사육환경의 온도는 21.4±0.4°C, 상대습도는 60.9±2.0% RH이었고, 조명시간은 12시간(오전 8시오후 8시), 조도는 277 Lux로 설정하여 사육하였다. 검역, 순화, 투여 및 관찰기간 중 스테인레스제 망 사육상자(250W×350L×180H mm)에 3마리 이하로 수용하였다. 사육상자의 교체는 균분리 시 및 월 1회 실시하였다. 사료(Teklad Certified Irradiated Global 18% Protein Rodent Diet, Harlan Co. Ltd., USA)는 두얼바이오텍(Seoul, Korea)으로부터 공급받아 급이기에 넣고 자유섭취 시켰다. 물은 음용 상수도수를 정수시킨 후 폴리카보네이트제 물병에 넣고 자유섭취 시켰다. 본 시험은 동물실험윤리규정의 준수에 따라 한국건설생활환경시험연구원 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인(승인번호: IA13-00602)을 거쳐 수행되었다. 또한, 모든 해당 시험은 식품의

약품안전처 및 Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)의 비임상시험기준(Good Laboratory Practice, GLP)을 준수하여 실시하였다.

### 3. 시험군의 구성 및 시험물질의 투여

시험군은 입수 후 7일간의 검역 및 순화과정을 거친 뒤, 체중감소가 없는 건강한 동물을 선별하여 무작위법으로 군을 분리하였다. 투여개시 시 6주령 되었고, 체중범위는 수컷이 193.72~219.53 g, 암컷이 130.7~162.57 g이었다. 사용 동물 수는 암수 각 20마리, 총 40마리이며, 투여 전일에 체중을 측정하고 excel program을 이용하여 순위화한 체중으로 군 분리를 실시하였다. 경구투여 시의 독성을 알아보기 위하여 경구로 투여하였으며 투여액은 가장 최근에 측정한 체중을 기준으로 10 mL/kg으로 하였다. 투여횟수 및 투여기간은 1회/일, 7일/주, 2주간 매일 투여하였다.

### 4. 일반증상 및 폐사의 관찰

일반증상의 관찰은 투여 전 기간에 걸쳐 1일 1회 투여 직후의 일반증상을 관찰하였고, 사망여부, 증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 개체별로 기록하였다.

### 5. 체중변화, 사료 섭취량 측정

모든 동물에 대하여 입수 시, 군 분리 시, 투여개시 시, 투여 후 주 1회 및 부검일에 체중을 측정하였고, 사료섭취량 측정은 투여개시 시 및 주 1회 측정하였다. 측정방법은 체중 측정일 전날에 사료급여량 및 체중측정일 당일에 잔량을 측정하여 1일간의 사료섭취량을 측정하였으며, 마리 당 평균섭취량(g/rat/day)으로 산출하였다.

### 6. 안검사 및 요검사

군 분리 시에 모든 동물에 대하여 눈의 외관을 관찰하였고, 투여 마지막 주에 투여 마지막 주에 시험군별 각 5마리의 동물을 대사케이지에 수용하여 신선요를 채집한 뒤 아래의 항목을 요검사용 시험지(SIEMENS)와 요자동분석장치(CliniTek 50, SIEMENS, Germany; MAI-050-01)를 이용하여 측정하였으며, 요색조는 육안으로 관찰하였다.

### 7. 혈액학적 검사

부검 시까지 생존한 모든 동물에 대하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 이를 위해 계획부검 동물을 하룻밤 절식한 후 CO<sub>2</sub> 가스 마취하에 개복하여 후대 대동맥으로부터 채혈한 후 혈액분석기(ADVIA 2120, SIEMENS, Germany; MAI-105-01)를 이용하여 검사를 실시하였으며 항응고제로는 EDTA-2K를 사용하였다. 검사항목은 WBC (총백혈구), RBC (총적혈구수), HGB (혈색소량), HCT (헤마토크리트치), MCV (평균적혈구용적), MCH (평균적혈구헤모글로빈양), MCHC (평균적혈구혈색소농), PLT (혈소판수), RDW (적혈구 크기

분표), PLT (Platelet, 혈소판수), MPV (평균혈소판용적), 백혈구감별계산, LUC (미염색대세포), Reti (망상적혈구)이었다.

#### 8. 혈액생화학적 검사

계획부검 시 후대동맥에서 채혈한 혈액을 3,000 rpm, 10분간 원심분리 하여 얻은 혈청에 대해 혈액생화학검사기 (Hitachi7180, HITACHI, Japan MAI-059-01)를 이용하여 혈액생화학 검사를 실시하였다. 검사항목은 AST (아스팔테이트 아미노 전이효소, aspartate aminotransferase), ALT (알라닌 아미노 전이효소, alanine aminotransferase), ALP (알칼라인 포스파타아제, alkaline phosphatase), LDH (락테이트

디하이드로게나아제) BUN (혈액요소질소), CRE (크레아틴), GLU (글루코스), CHO (총콜레스테롤), PRO (Total protein), CPK (크레아틴 키나아제), ALB (알부민), T-BIL (총빌리루빈), A/G, UA (요산) TG (트라이글리세라이드), Ca (칼슘), IP (인), Cl (염소), Mg (Magnesium), K (칼륨) 등이었다.

#### 9. 부검소견 관찰, 장기중량 측정 및 조직병리학적 검사

시험물질 투여종료 후에 부형제 대조군 및 모든 시험군의 생존동물에 대하여 최종계획부검을 실시하여 모든 장기의 부검소견을 관찰하였다. 부검 시 고환, 전립선, 난소, 자궁, 비장, 간장, 흉선, 부신, 신장, 심장, 폐, 뇌 등의 장기를 적출하

<Table 1> Body weights of SD rats orally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Sex	Week	Group (mg/kg)			
		G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
Male	0	206.13±8.30 <sup>1)</sup>	201.84±3.33	208.38±9.54	206.82±8.12
	1	264.31±11.23	266.44±14.83	272.59±16.62	266.36±9.03
	2	307.18±16.10	310.68±23.37	320.3±24.28	308.51±14.08
	Necropsy	279.86±14.97	284.09±19.50	291.70±20.32	281.85±11.64
Female	0	149.91±11.26	150.39±9.22	153.58±3.75	151.41±7.62
	1	172.21±11.29	170.62±10.12	176.79±0.93	172.85±11.94
	2	189.38±13.77	189.48±13.65	193.76±9.01	194.73±11.64
	Necropsy	171.93±10.71	172.60±9.82	176.67±7.83	177.59±10.08

<sup>1)</sup>Values are expressed as Mean±SD

<Table 2> Urinalysis of SD rats orally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Sex	Test item	Male				Female			
		Group (mg/kg)				Group (mg/kg)			
		G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4
	Glucose	-	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	Bilirubin	-	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	Ketone	-	4/5	3/5	2/5	4/5	4/5	3/5	1/5
		+/-	1/5	2/5	3/5	1/5	1/5	0/5	4/5
	Occult blood	-	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	Protein	-	0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	4/5	0/5
		+/-	1/5	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5
		1+	4/5	5/5	4/5	4/5	1/5	0/5	2/5*
		2+	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5	2/5
	Urobilinogen	0.2	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5	5/5	1/5
		1.0	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	3/5
	Nitrate	-	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	Leuko-cyte	-	1/5	0/5	0/5	0/5	4/5	5/5	3/5
		+/-	4/5	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	2/5
	Color	Straw	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

Number of animals with the sign/Number of animals examined

\*Significant difference compared with control value, p<0.05

고 전자저울을 이용하여 각 장기의 중량을 측정하였다. 측정 한 장기 중 고환은 Bouin's액에 고정하였고, 나머지 장기들은 10% 중성 포르말린 액으로 고정하였다.

다른 검사항목의 판단결과, 시험물질에 의한 독성이 의심 되지 않아 부형제 대조군 및 고용량군에 대한 조직병리학적 검사는 실시하지 않았으나 부검 중 이상 소견이 관찰된 장기에 대하여는 조직병리학적 검사를 실시하였다.

10. 통계학적 방법

통계처리는 SPSS 프로그램(SPSS 12.0K Inc., Chicago, Illinois, USA)을 이용하였다. 부형제 대조군과 시험군간의 비교를 위하여 일반적으로 모수적인 다중비교(parametric multiple comparison procedures) 혹은 비모수적인 다중비교(non parametric multiple comparison procedures)를 사용하였다. 발생율의 표기는 일반적으로 백분율로 나타내었다. 연

속자료의 분석(체중, 사료섭취량, 혈액학적 검사, 혈액응고시간, 혈액생화학적 검사, 장기중량)은 일반적인 정규성을 가정하고 통계처리를 실시하였다. 일원배치분산분석을 통하여 군간 유의성을 확인하고 등분산을 검정하였으며, 일원배치 분산분석에서 유의성이 인정되고 등분산이 인정되면 Duncan test를, 등분산이 인정되지 않으면 Dunnett's T test를 사용하였다. 비연속적인 자료의 분석(요검사)은 증상의 정도로 표시되어 있는 데이터를 척도변환 하여 Kruskal-Walis test를 실시하고, 군간 유의성이 인정되면 Man-Whitney U-test를 통하여 대조군과의 유의성을 확인하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 임상증상 및 사망률

미선나무주정추출물을 이용한 2주간의 시험기간 동안 대

<Table 3> Hematological values of male SD rats rally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Test item (Unit)	Group (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
WBC <sup>1</sup> (K/ $\mu$ L)	8.82 $\pm$ 1.99	11.02 $\pm$ 2.25	8.95 $\pm$ 1.60	9.19 $\pm$ 1.95
NE <sup>2</sup> (K/ $\mu$ L)	1.50 $\pm$ 0.14	1.81 $\pm$ 0.36	1.58 $\pm$ 0.39	1.83 $\pm$ 0.44
LY <sup>3</sup> (K/ $\mu$ L)	7.09 $\pm$ 1.76	8.82 $\pm$ 1.97	7.1 $\pm$ 1.26	7.06 $\pm$ 0.08
MO <sup>4</sup> (K/ $\mu$ L)	0.14 $\pm$ 0.07	0.26 $\pm$ 0.10	0.15 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.02
EO <sup>5</sup> (K/ $\mu$ L)	0.04 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.03	0.03 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01
BA <sub>6</sub> (K/ $\mu$ L)	0.0 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.02
LUC <sup>7</sup> (K/ $\mu$ L)	0.05 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.07
NEP <sup>8</sup> (%)	17.4 $\pm$ 2.5	16.8 $\pm$ 3.8	17.6 $\pm$ 2.5	20.1 $\pm$ 3.7
LYP <sup>9</sup> (%)	80.1 $\pm$ 1.9	79.8 $\pm$ 3.7	79.5 $\pm$ 2.8	76.7 $\pm$ 3.6
MOP <sup>10</sup> (%)	1.5 $\pm$ 0.5	2.3 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.7
EOP <sup>11</sup> (%)	0.5 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2
BAP <sup>12</sup> (%)	0.0 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.0
LUP <sup>13</sup> (%)	0.5 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.2
RBC <sup>14</sup> (M/ $\mu$ L)	7.06 $\pm$ 0.28	7.12 $\pm$ 0.27	7.08 $\pm$ 0.23	7.1 $\pm$ 0.52
Hb <sup>15</sup> (g/dL)	14.1 $\pm$ 0.4	13.9 $\pm$ 0.8	14.1 $\pm$ 0.5	14.0 $\pm$ 1.0
HCT <sup>16</sup> (%)	4.8 $\pm$ 2.2	43.7 $\pm$ 2.2	4.2 $\pm$ 1.2	4.5 $\pm$ 2.8
MCV <sup>17</sup> (fL)	63.4 $\pm$ 1.5	61.4 $\pm$ 2.2	62.4 $\pm$ 0.9	62.6 $\pm$ 1.8
MCH <sup>18</sup> (pg)	20.0 $\pm$ 0.7	19.4 $\pm$ 0.5	19.9 $\pm$ 0.7	19.6 $\pm$ 0.7
MCHC <sup>19</sup> (g/dL)	31.7 $\pm$ 1.2	31.7 $\pm$ 0.8	31.8 $\pm$ 0.7	31.4 $\pm$ 0.3
RDW <sup>20</sup> (%)	12.2 $\pm$ 0.2	12.1 $\pm$ 0.4	12.2 $\pm$ 0.4	12.3 $\pm$ 0.5
PLT <sup>21</sup> (K/ $\mu$ L)	1264 $\pm$ 13	1247 $\pm$ 215	185 $\pm$ 107	194 $\pm$ 132
MPV <sup>22</sup> (fL)	1.0 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 1.4	10.8 $\pm$ 2.0	1.0 $\pm$ 1.6
Reti <sup>23</sup> (%)	4.29 $\pm$ 0.69	4.07 $\pm$ 0.17	3.98 $\pm$ 0.64	4.32 $\pm$ 0.64

<sup>1)</sup>Mean $\pm$ SD (Number of animals)

1: White blod cel, 2: Neutrophils, 3: Lymphocyte, 4: Monocyte, 5: Eosinophil, 6: Basophil, 7: Large unstained cel, 8: Percent of neutrophils, 9: Percent of lymphocyte, 10: Percent of monocyte, 1: Percent of eosinophil, 12: Percent of basophil, 13: Percent of large unstained cel, 14: Red blod cel, 15: Hemoglobin, 16: Hematocrit, 17: Mean corpuscular volume, 18: Mean corpuscular hemoglobin, 19: Mean corpuscular hemoglobin concentration, 20: Red cel distribution width, 21: Platelet, 22: Mean platelet volume, 23: Reticulocyte

<Table 4> Hematological values of female SD rats rally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Test item (Unit)	Group (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
WBC <sup>1</sup> (K/ $\mu$ L)	10.35 $\pm$ 2.50	10.09 $\pm$ 2.57	10.27 $\pm$ 2.81	7.89 $\pm$ 2.03
NE <sup>2</sup> (K/ $\mu$ L)	1.86 $\pm$ 1.14	1.03 $\pm$ 0.48	1.08 $\pm$ 0.5	0.98 $\pm$ 0.45
LY <sup>3</sup> (K/ $\mu$ L)	8.02 $\pm$ 2.02	8.75 $\pm$ 2.10	8.80 $\pm$ 2.72	6.64 $\pm$ 1.71
MO <sup>4</sup> (K/ $\mu$ L)	0.27 $\pm$ 0.1	0.16 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.07	0.16 $\pm$ 0.05
EO <sup>5</sup> (K/ $\mu$ L)	0.10 $\pm$ 0.06	0.05 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.02
BA <sub>6</sub> (K/ $\mu$ L)	0.0 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.01	0.0 $\pm$ 0.00	0.0 $\pm$ 0.00
LUC <sup>7</sup> (K/ $\mu$ L)	0.1 $\pm$ 0.06	0.10 $\pm$ 0.03	0.1 $\pm$ 0.05	0.05 $\pm$ 0.03
NEP <sup>8</sup> (%)	17.6 $\pm$ 9.0	10.0 $\pm$ 2.9	10.8 $\pm$ 4.5	12.2 $\pm$ 4.2
LYP <sup>9</sup> (%)	7.7 $\pm$ 9.2	86.9 $\pm$ 2.3	85.3 $\pm$ 5.1	84.5 $\pm$ 4.6
MOP <sup>10</sup> (%)	2.6 $\pm$ 1.0	1.6 $\pm$ 0.5	2.2 $\pm$ 0.9	2.0 $\pm$ 0.4
EOP <sup>11</sup> (%)	1.0 $\pm$ 0.8	0.5 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.3	0.6 $\pm$ 0.2
BAP <sup>12</sup> (%)	0.0 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
LUP <sup>13</sup> (%)	1.0 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.3
RBC <sup>14</sup> (M/ $\mu$ L)	7.02 $\pm$ 0.30	6.93 $\pm$ 0.17	7.08 $\pm$ 0.40	6.84 $\pm$ 0.21
Hb <sup>15</sup> (g/dL)	14.0 $\pm$ 0.6	13.6 $\pm$ 0.5	13.8 $\pm$ 0.6	13.6 $\pm$ 0.3
HCT <sup>16</sup> (%)	42.4 $\pm$ 1.8	41.4 $\pm$ 1.6	42.1 $\pm$ 2.4	41.0 $\pm$ 1.6
MCV <sup>17</sup> (fL)	60.4 $\pm$ 0.7	59.7 $\pm$ 1.4	59.4 $\pm$ 0.7	60.0 $\pm$ 1.3
MCH <sup>18</sup> (pg)	20.0 $\pm$ 0.3	19.7 $\pm$ 0.9	19.5 $\pm$ 0.4	20.0 $\pm$ 0.5
MCHC <sup>19</sup> (g/dL)	33.1 $\pm$ 0.5	32.9 $\pm$ 1.3	32.9 $\pm$ 0.7	33.3 $\pm$ 1.2
RDW <sup>20</sup> (%)	1.5 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 1.0	1.4 $\pm$ 1.0	1.3 $\pm$ 1.1
PLT <sup>21</sup> (K/ $\mu$ L)	1242 $\pm$ 124	197 $\pm$ 21	1251 $\pm$ 89	128 $\pm$ 151
MPV <sup>22</sup> (fL)	1.2 $\pm$ 1.1	1.7 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.6	1.1 $\pm$ 1.7
Reti <sup>23</sup> (%)	3.71 $\pm$ 2.24	3.96 $\pm$ 3.27	3.63 $\pm$ 2.56	3.42 $\pm$ 1.57

<sup>1)</sup>Mean $\pm$ SD (Number of animals)

1: White blod cel, 2: Neutrophils, 3: Lymphocyte, 4: Monocyte, 5: Eosinophil, 6: Basophil, 7: Large unstained cel, 8: Percent of neutrophils, 9: Percent of lymphocyte, 10: Percent of monocyte, 11: Percent of eosinophil, 12: Percent of basophil, 13: Percent of large unstained cel, 14: Red blod cel, 15: Hemoglobin, 16: Hematocrit, 17: Mean corpuscular volume, 18: Mean corpuscular hemoglobin, 19: Mean corpuscular hemoglobin concentration, 20: Red cel distribution width, 21: Platelet, 22: Mean platelet volume, 23: Reticulocyte

조군 및 각 시험물 500, 1,000 및 2,000 mg/kg 용량 투여 암수 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일반증상은 관찰되지 않았다.

## 2. 체중변화 및 사료섭취량

미선나무주정추출물을 이용한 2주간의 시험기간 동안 모든 시험군에서 암컷은 50 g, 수컷은 100 g 내외의 정상적으로 체중이 증가되는 현상을 보였다. 투여 마지막 날 2,000 mg/kg 투여군의 암수 체중은 각각 194.73 $\pm$ 11.64 g과 308.51 $\pm$ 14.08 g이고, 대조군인 0 mg/kg의 암수 체중은 189.38 $\pm$ 13.77 g과 307.18 $\pm$ 16.101 g으로 투여군과 대조군간에 유의적인 차이가 없었다<Table 1>. 500 및 1,000 mg/kg 투여군도 마지막 날에 비슷한 체중을 보였으며, 통계학적으로 유의한 체중변화는 관찰되지 않았다.

## 3. 안검사 및 요검사

안검사를 실시한 암수 모든 시험동물에서 이상소견은 관찰되지 않았다. 요검사 및 요색조 관찰결과, 암컷 1,000 및 2,000 mg/kg 투여군의 단백질 검출빈도가 대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였으나(p<0.05), 뚜렷한 용량 의존성(dose-dependant) 및 암수상관성이 관찰되지 않았을 뿐 아니라, 신장과 관련된 다른 항목(혈액생화학적 검사 중 BUN 및 CRE, 장기중량, 부검 등)과의 연관성이 관찰되지 않아 독성학적 의미는 없는 것으로 사료된다. 따라서 암수 모든 시험군에서 통계학적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다<Table 2>.

## 4. 혈액학적 검사

대조군과 암수의 모든 시험 물질 투여군에서 시험물질 투

<Table 5> Serum biochemical values of male SD rats orally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Test item (Unit)	Group (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
AST <sup>1</sup> (IU/L)	113±51 <sup>1)</sup>	96±23	105±44	97±15
ALT <sup>2</sup> (IU/L)	49±13	45±7	51±7	51±8
ALP <sup>3</sup> (IU/L)	1149±183	958±164	1093±218	1190±264
GGT <sup>4</sup> (IU/L)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.4±0.5
LDH <sup>5</sup> (IU/L)	993±941	780±420	882±692	627±427
BUN <sup>6</sup> (mg/dL)	14.8±1.7	15.5±1.9	17.8±2.0	14.1±2.6
CRE <sup>7</sup> (mg/dL)	0.49±0.01	0.43±0.07	0.49±0.01	0.48±0.02
GLU <sup>8</sup> (mg/dL)	182±12	174±15	158*±15	194±20
CHO <sup>9</sup> (mg/dL)	90±11	84±8	86±5	87±18
TP <sup>10</sup> (g/dL)	5.7±0.2	5.7±0.2	5.6±0.2	6.0*±0.1
CPK <sup>11</sup> (U/L)	360±285	298±132	349±237	250±123
ALB <sup>12</sup> (g/dL)	2.4±0.1	2.4±0.2	2.4±0.0	2.4±0.1
T-BIL <sup>13</sup> (mg/dL)	0.02±0.02	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01
A/G ratio <sup>14</sup>	0.73±0.05	0.72±0.07	0.73±0.03	0.68±0.04
TG <sup>15</sup> (mg/dL)	76±13	105±37	132±51	94±22
UA <sup>16</sup> (mg/dL)	2.5±0.5	2.4±0.5	2.3±0.2	2.8±0.5
Ca <sup>17</sup> (mg/dL)	12.6±2.3	11.9±2.6	13.2±1.1	13.2±1.3
IP <sup>18</sup> (mg/dL)	10.9±1.3	10.6±1.2	10.8±0.7	10.8±0.8
Cl <sup>19</sup> (mmol/L)	104±2	105±2	104±1	103±2
Mg <sup>20</sup> (mg/dL)	3.2±0.1	3.0±0.3	3.0±0.2	3.2±0.2
Na <sup>21</sup> (mmol/L)	148±4	147±2	148±1	147±2
K <sup>22</sup> (mmol/L)	6.1±0.7	6.3±0.2	5.8±0.5	5.7±0.4

<sup>1)</sup>Mean±SD (Number of animals)

1: Aspartate aminotransferase, 2: Alanine aminotransferase, 3: alkaline phosphatase, 4: Gamma (γ)-glutamyl transferase, 5: Lactate dehydrogenase, 6: Blood urea nitrogen, 7: Creatinine, 8: Glucose, 9: Total cholesterol, 10: Total protein, 11: Creatine phosphokinase, 12: Albumin, 13: Total bilirubin, 14: Albumin/Globulin ratio, 15: Triglyceride, 16: Uric acid, 17: Calcium, 18: Inorganic phosphorus, 19: Chloride, 20: Magnesium, 21: Sodium, 22: Potassium

\*Significant difference compared with control value, p<0.05

여 후 혈액학적 검사에서 유의할 만한 변화가 없었다<Table 3, 4>. 혈액학적 분석의 백혈구(WBC) 수를 보면 대조군인 0 mg/kg 그룹의 암수에서는 10.35±2.50, 8.82±1.99를, 2,000 mg/kg 그룹의 암수에서는 7.89±2.03, 9.19±1.95를 보임으로써 유의적 차이를 나타내지 않았다. 또한 HGB (혈색소량), HCT (헤마토크리트치), MCV (평균적혈구용적), MCH (평균적혈구헤모글로빈양), MCHC (평균적혈구혈색소농), PLT (혈소판수), RDW (적혈구 크기분포), PLT (Platelet), MPV (평균혈소판용적) 등에서도 마찬가지로 대조군과 투여군 간에 유의적 차가 없는 결과가 관찰되었다.

##### 5. 혈액생화학학적 검사

혈액 생화학학적 검사에서 대조군과 암수의 모든 시험 물질 투여군에서 시험물질 투여 후 유의할 만한 변화가 없었다<Table 5, 6>. 단지 포도당(GLU, glucose) 수치에서 대조군인 0 mg/kg 투여군 수컷은 182±12를, 1,000 mg/kg 그룹의

수컷은 158±15를 보임으로써 유의적 차이를 나타내었고 (p<0.05), 총단백질(TP, total protein) 수치에서 대조군인 0 mg/kg 그룹의 수컷은 5.7±0.2를, 2,000 mg/kg 투여군의 수컷은 6.0±0.1를 나타내어 통계학적으로 유의적인 증가를 보였다(p<0.05). 그러나 용량의존성이 관찰되지 않았거나, 그 정도가 경미하여 생물학적 변동범위에 속하므로 독성학적 의미는 없었다. 따라서 대조군 및 미선나무주정추출물 투여군에서 독성을 나타낸다고 인지할 수 있을 정도의 발생하지 않은 것으로 사료된다.

##### 6. 장기중량 및 부검소견

암수 모든 시험군의 장기중량 측정결과, 시험물질 투여와 관련된 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 부검결과, 암수 모든 투여군에서 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다<Table 7, 8>. 장기중량 측정결과, 암컷 500 mg/kg 투여군 우측 난소 (p<0.05)와 암컷 1,000 mg/kg 투여군 우측 부신(p<0.01)에

<Table 6> Serum biochemical values of female SD rats orally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Test item (Unit)	Group (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
AST <sup>1</sup> (IU/L)	75±10 <sup>1)</sup>	77±8	68±6	78±14
ALT <sup>2</sup> (IU/L)	33±4	33±4	33±4	36±7
ALP <sup>3</sup> (IU/L)	607±8	580±83	646±76	548±82
GGT <sup>4</sup> (IU/L)	0.8±0.4	0.0±0.0	0.6±0.5	0.4±0.5
LDH <sup>5</sup> (IU/L)	387±221	368±207	471±216	562±374
BUN <sup>6</sup> (mg/dL)	14.6±0.8	14.0±2.2	15.0±1.7	13.2±1.4
CRE <sup>7</sup> (mg/dL)	0.48±0.03	0.48±0.09	0.46±0.04	0.46±0.02
GLU <sup>8</sup> (mg/dL)	183±28	184±20	169±15	183±7
CHO <sup>9</sup> (mg/dL)	91±13	80±11	103±14	94±9
TP <sup>10</sup> (g/dL)	5.9±0.4	5.9±0.1	6.2±0.3	5.9±0.2
CPK <sup>11</sup> (U/L)	212±98	217±65	253±75	268±164
ALB <sup>12</sup> (g/dL)	2.6±0.2	2.6±0.1	2.7±0.2	2.6±0.1
T-BIL <sup>13</sup> (mg/dL)	0.04±0.04	0.04±0.06	0.03±0.02	0.04±0.05
A/G ratio <sup>14</sup>	0.77±0.05	0.80±0.05	0.7±0.04	0.79±0.07
TG <sup>15</sup> (mg/dL)	53±27	32±4	47±32	41±11
UA <sup>16</sup> (mg/dL)	2.4±0.3	2.5±0.2	2.6±0.6	2.6±0.3
Ca <sup>17</sup> (mg/dL)	13.7±1.8	13.6±2.6	13.4±1.3	15.7±1.3
IP <sup>18</sup> (mg/dL)	1.3±0.8	10.9±15	10.8±0.7	11.0±1.2
Cl <sup>19</sup> (mmol/L)	104±1	105±2	103±2	104±1
Mg <sup>20</sup> (mg/dL)	3.0±0.2	3.0±0.2	3.0±0.2	3.1±0.1
Na <sup>21</sup> (mmol/L)	145±2	146±1	144±1	145±1
K <sup>22</sup> (mmol/L)	5.5±0.5	5.3±0.5	5.4±0.4	5.5±0.5

<sup>1)</sup>Mean±SD (Number of animals)

1: Aspartate aminotransferase, 2: Alanine aminotransferase, 3: alkaline phosphatase, 4: Gamma (γ)-glutamyl transferase, 5: Lactate dehydrogenase, 6: Blood urea nitrogen, 7: Creatinine, 8: Glucose, 9: Total cholesterol, 10: Total protein, 11: Creatine phosphokinase, 12: Albumin, 13: Total bilirubin, 14: Albumin/Globulin ratio, 15: Triglyceride, 16: Uric acid, 17: Calcium, 18: Inorganic phosphorus, 19: Chloride, 20: Magnesium, 21: Sodium, 22: Potassium

대한 장기중량 수치가 부형제대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가가 관찰되었으나, 용량의존성을 보이지 않을 뿐 아니라, 그 정도가 경미하여 생물학적 변동범위에 속하므로 독성학적 의미는 없었다. 따라서 대조군 및 미선나무주정추출물 투여군에서 독성을 나타낸다고 인지할 수 있을 정도의 유의적인 차이가 발생하지 않았던 것으로 판단되었다.

#### IV. 요약 및 결론

미선나무(*Abeliophyllum distichum* Nakai)는 물푸레나무과(Oleaceae)의 관목으로 세계적으로 1속 1종의 중요한 식물자원이다. 자생지 주변의 민간에서는 미선나무를 이용하여 질병 치료제, 식품 소재 등으로 다양하게 이용하고 있지만 이를 임상에 적용하기에 앞서 그 안전성을 평가하고자 본 연구를 실시하였다. 시험물질 미선나무주정추출물의 2주 반복 경구투여에 의한 독성을 조사하고 13주 반복 경구투여독성

시험의 용량을 설정하기 위하여 Sprague-Dawley (SD) 계통 암수 랫드에 500 (저용량군), 1,000 (중용량군) 및 2,000 (고용량군) mg/kg 용량으로 시험군을 설정하여 대조군과 비교하였다. 시험항목으로 2주 반복투여에 의한 사망률, 임상증상, 체중변화, 사료섭취량, 안검사, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사 및 부검소견을 관찰하였다.

시험 결과, 암수 모든 시험군에서 사망동물 및 특이한 일 반증상은 관찰되지 않았고, 사료섭취량, 안검사, 요검사, 부검 후 장기 중량 측정에서 통계학적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 단지 요검사 결과 암컷 1,000 및 2,000 mg/kg 투여군의 단백질 검출빈도가 대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였고(p<0.05), 암컷 500 mg/kg 투여군 우측 난소(p<0.05)와 암컷 1,000 mg/kg 투여군 우측 부신에 대한 장기중량 수치(p<0.01)가 대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였지만, 용량의존성을 보이지 않을 뿐 아니라, 그 정도가 경미하여 독성학적 의미는 없었다. 혈액학

<Table 7> Organ weight of male SD rats orally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Organ	Group (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
Body weigh	279.86±4.97 <sup>1)</sup>	284.09±9.50	291.70±20.32	281.85±1.64
Testis (Lt.)	1.5263±0.135	1.5352±0.1399	1.5065±0.1779	1.584±0.0692
Testis (Rt.)	1.5624±0.083	1.5263±0.1447	1.4726±0.1582	1.5624±0.0765
Prostate	0.3783±0.0343	0.3465±0.0599	0.3893±0.1316	0.405±0.0758
Splen	0.7171±0.1229	0.7903±0.2077	0.7872±0.1580	0.707±0.0578
Liver	13.565±0.8380	14.5760±2.0359	14.9391±1.5984	14.5362±0.9607
Adrenal gland (Lt.)	0.0246±0.0029	0.0277±0.0037	0.0216±0.0032	0.0253±0.0026
Adrenal gland (Rt.)	0.0240±0.0044	0.0269±0.0936	0.0238±0.0046	0.0263±0.0036
Kidney (Lt.)	1.2001±0.1294	1.1870±0.0722	1.1268±0.1087	1.1835±0.0843
Kidney (Rt.)	1.2040±0.0929	1.2351±0.0806	1.1533±0.1218	1.2180±0.1066
Heart	1.1255±0.0854	1.0687±0.1432	1.0579±0.0775	1.1099±0.0713
Lung	1.5970±0.2965	1.4366±0.2362	1.3644±0.1239	1.3634±0.1384
Brain	1.9162±0.0504	1.9761±0.1233	1.9260±0.1508	1.939±0.0538
Thymus	0.5708±0.0565	0.5637±0.1196	0.4962±0.0704	0.5351±0.1078

<sup>1)</sup>Mean±SD (Number of animals)

<Table 8> Organ weight of female SD rats orally administered with *Abeliophyllum distichum* Nakai ethanol extract at all doses of 0, 500, 1000 and 2,000 mg/kg/day during the administration period for 2 weeks

Organ	Group (mg/kg)			
	G1 (0)	G2 (500)	G3 (1,000)	G4 (2,000)
Body weigh	171.93±10.71 <sup>1)</sup>	172.60±9.82	176.67±7.83	17.59±10.08
Ovary (Lt.)	0.0397±0.0073	0.0384±0.0061	0.0412±0.0094	0.0396±0.0089
Ovary (Rt.)	0.0385±0.0039	0.0492**±0.0050	0.0388±0.0032	0.0384±0.0068
Uterus	0.3416±0.0592	0.3930±0.0662	0.3939±0.1453	0.5086±0.2741
Splen	0.5297±0.1564	0.5135±0.1100	0.5750±0.1879	0.5050±0.0785
Liver	7.9329±1.3432	7.2899±0.5342	8.6281±0.6398	8.3948±0.9121
Adrenal gland (Lt.)	0.0301±0.0038	0.0283±0.008	0.0320±0.0041	0.0317±0.0064
Adrenal gland (Rt.)	0.0290±0.0049	0.0284±0.0021	0.0341*±0.0026	0.0284±0.0025
Kidney (Lt.)	0.7655±0.0658	0.7210±0.0739	0.8164±0.0481	0.7733±0.0835
Kidney (Rt.)	0.7660±0.0521	0.7406±0.0717	0.8149±0.0435	0.7934±0.0731
Heart	0.7662±0.045	0.7672±0.0900	0.7741±0.0540	0.7892±0.0548
Lung	1.1947±0.0923	1.1524±0.1111	1.1909±0.1918	1.0770±0.1254
Brain	1.8127±0.102	1.8057±0.0891	1.8401±0.0497	1.786±0.0431
Thymus	0.4887±0.1380	0.4741±0.0210	0.5326±0.1077	0.5224±0.0952

<sup>1)</sup>Mean±SD (Number of animals)

\*Significant difference compared with control value, p<0.05

\*\*Significant difference compared with control value, p<0.01

적 검사 결과, 암수 모든 시험군에서 시험물질 투여와 관련된 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 혈액생화학적 검사결과에서는 대조군에 비해 수컷 2,000 mg/kg 투여군의 TP(total protein) 수치 증가와 1,000 mg/kg 투여군의 GLU (glucose) 수치의 감소가 관찰되었다. 그러나 용량의존성이 관찰되지 않았거나, 그 정도가 경미하여 생물학적 변동범위에 속하

로 독성학적 의미는 없었다. 이상의 결과로 보아, 본 시험 조건에서 시험물질인 미선나무주정추출물을 설치류인 Sprague-Dawley 랫드를 이용한 2주간 반복 경구투여 시 시험물질에 의한 전신적인 독성학적인 변화는 보이지 않았다. 따라서 추후 진행될 13주 반복시험에서는 고용량을 1,000 mg/kg/day 으로 설정하여도 무난할 것으로 판단되었다.



## 감사의 글

이 논문은 농림축산식품부 재원으로 한국식품연구원의 지원(식품 기능성평가 지원사업)을 받아 수행된 연구성과입니다.

## Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## References

- Chang SJ, Jeon NB, Park JW, Jang TW, Jeong JB, Park JH. 2018. Antioxidant activities and anti-inflammatory effects of fresh and air-dried *Abeliophyllum distichum* Nakai leaves Korean journal of food preservation 25(1):27-35
- He ZD, Lau KM, Xu HX, Li PC, Pui-Hay BP. 2000. Antioxidant activity of phenylethanoid glycosides from *Brandisia hancei*. J. Ethnopharmacol., 71(3):483-486
- Jang TW, Park JH. 2017. Antioxidative Activities and Whitening Effects of Ethyl Acetate Fractions from The Immature Seeds of *Abeliophyllum distichum*. Journal of Life Science 27(5):536-544
- Kwon SB, Kang HJ, Kim MJ, Kim JH, Shin HS, Kim KS. 2014. Analysis on the Components and Safety Evaluation of *Abeliophyllum distichum* Nakai Leaves and Stems. J Environ Health Sci., 40(3):234-244
- Lee HY, Kim TG, Oh CH. 2014. Recently Augmented Natural Habitat of *Abeliophyllum distichum* Nakai in Yeosu-si, Gyeonggi-do, Korea. Korean J. Environ. Ecol., 28(1):62-70
- Lee TB. 1976. New forms of *Abeliophyllum distichum* Nakai. Kor. J. Plant. Tax., 7(1):21-22
- Lim DO, Hwang IC, Choi HW, Kim YS. 2009. Characteristics and Management Proposal of *Abeliophyllum distichum* Subpopulation in the Byeonsanbando National Park. Korean J. Environ. Ecol. 23(2):116-126
- Park CM, Park SH, Oh HK, Soh MS. 2010. Characteristics and Management Method of *Abeliophyllum distichum* New Habitats in the Byeonsanbando. Journal of Agriculture & Life Sciences. 41(2):58-66
- Park GH, Park JH, Eo HJ, Song HM, Lee MH, Lee JR, Jeong JB. 2014. Anti-inflammatory effect of the extracts from *Abeliophyllum distichum* Nakai in LPS-stimulated RAW264.7 cells. Korean J Plant Res., 27(3):209-214
- Park JH. 2011. Antioxidant activities and inhibitory effect on oxidative DNA damage of extracts from *Abeliophyllum distichum* folium. Korean J. Herbol., 26(4):95-99
- Schlesier K, Harwat M, Bohm V, Bitsch R. 2002. Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. Free Radic Res., 36(2):177-187
- Yoo YK, Kim KS. 1997. Plant Growth Regulators and Cutting Conditions on Rooting of Softwood and Semihardwood Cutting in White Forsythia. J. Kor. Soc. Hort. Sci., 38(3):263-271
- Yoo YK, Kim KS. 2001. Germination Inhibitors in the Seed Coat of White Forsythia (*Abeliophyllum Distichum* Nakai). J. Kor. Soc. Hort. Sci., 42(1):6-10

---

Received October 8, 2019; revised November 11, 2019; accepted November 15, 2019