



Original Article / 원저

SD-rats를 이용한 오미자박 추출물의 급성경구독성 평가

김석호¹, 유보라², 김영숙³, 임종민³, 구본화³, 곽경태¹, 전병엽^{1*}

¹(주)큐비엠, ²(주)크로엔, ³(주)글루칸

Evaluation of Acute Toxicity of Pomace *Schisandra chinensis* Extracts Using SD-rats

Seokho Kim¹, Bo Ra Yoo², Young-Suk Kim³, Jong-Min Lim³, Bon-Hwa Ku³,
Kyeong Tae Kwak¹, Byeong Yeob Jeon^{1*}

¹QBM Co. Ltd., ²Croen Inc., ³Glucan Co. Ltd.

ABSTRACT

Objectives : In this study, acute oral toxicity test of pomace *Schisandra chinensis* extracts was conducted in order to up-cycling to a high value-added industry using by-products discarded in the production process of *Schisandra chinensis* products and active ingredients such as dibenzocyclooctadiene lignans in *Schisandra chinensis*.

Methods : Pomace *Schisandra chinensis* extracts were orally administered to SD-rats(female, n=3) without a control group according to the 'OECD guidelines'. After, mortality and clinical signs were observed, and the deceased animals were subjected to an autopsy. In addition, acute oral toxicity test was sequentially performed in step I (300 mg/kg), step II (300 mg/kg), step III (2,000 mg/kg), and step IV (2,000 mg/kg) according to the mortality.

Results : There were no abnormalities caused by pomace *Schisandra chinensis* extracts in step I and step II. However, one animal each died in step III and step IV. In addition, clinical signs(salivation, decrease in food intake, prone position, decrease of locomotor activity, loss of locomotor activity, convulsion, hypothermia, lacrimation, staining around mouth, soiled perineal region, reddish urine, chromaturia, decrease of fecal volume, lying on side, blackish stool, no stool, compound-colored stool, refusal to feed, excitement, hypersensitivity, rigidity, dorsal position, etc.) were observed. But, no clinical signs were observed from 5th day, and experiment animals recovered completely.

Conclusions : As a result of this study, pomace *Schisandra chinensis* extracts may exhibit acute toxicity at concentrations of 2,000 to 5,000 mg/kg, and the GHS classification was designated as 'Category 5'.

Key words : Pomace *Schisandra chinensis*, up-cycling, acute toxicity, OECD, GHS.

I. 서론

*Schisandra chinensis*는 목련과 오미자(五味子)속에 속하는 20~30 종의 오미자 중 한 종으로 한국, 일본, 중국, 러시아 등 동아시아에 널리 분포하고 있다¹⁾. 오미자의 열매는 신맛, 쓴맛, 단맛, 매운맛, 짠맛의 5가지 맛을 가지고 있어 오미과(五味果)라고도 불린다²⁾. 오미자는 식품 뿐만 아니라 오미자 내 유효성분들로 인하여 오랫동안 중국전통의학과 현대중국의학에서 위장관 질환, 호흡 부전, 심혈관 질환, 신체 피로 및 허약, 발한 및 불면증의 치료를 위한 약의 원료로서 사용되었다³⁾. 오미자 내 40 여종의 유효성분 중 오미자 리그난이라고 불리는 오미자에 특정되어 발견되는 schisandrin, schisandrol, gomisin과 같은 dibenzocyclooctadiene lignans 성분은 간 보호⁵⁾, 항염 및 항암⁶⁾, 신경 질환 및 인지 장애 개선⁷⁾, 항비만⁸⁾, 근육 감소 개선⁹⁾ 등 다양한 기능성에 대한 연구들이 꾸준히 보고 되어 왔으며 현재도 많은 연구가 진행되고 있다^{10, 11, 12)}.

오미자 리그난 성분의 기능성 입증과 소비자들의 건강에 대한 관심은 오미자 관련 건강기능식품 및 화장품에 대한 수요로 이어졌지만, 아직까지 오미자 관련 시장은 오미자즙 또는 오미자농축액 형태의 제품들이 주를 이루고 있다. 오미자 관련 가공품의 생산과정에서 착즙 또는 농축 과정을 거치면 오미자 부산물인 오미자박이 남게 되는데, 오미자박은 영양성분이 다량 함유되어 있음에도 불구하고 폐기물로서 버려지고 있다. 이러한 문제들을 해결하고자 오미자 관련 가공품을 생산하고 남은 폐기물인 오미자박을 식품의 원료로 recycling하여 불필요한 산업 폐기물을 없애고, 더 나아가 오미자박 유효성분을 up-cycling 하여 건강기능식품 및 화장품 등 새로운 부가가치를 창출하고자 제안한다.

오미자박을 recycling 및 up-cycling 하기 위하여 오미자박의 안전성 검증 및 섭취량 평가가 필요하며, 이를 위하여 독성시험이 우선적으로 진행되어야 한다. 한

국의 식품의약품안전처와 미국 FDA의 안전성 검증에 대한 OECD 가이드라인에 따르면 독성시험 평가는 크게 단회투여독성, 반복투여독성 및 유전독성 3종 시험으로 나누어진다^{13, 14)}. 본 연구는 OECD 가이드라인에 따라 독성시험 평가 중 단회투여 독성시험인 급성경구투여 독성시험을 진행하고, GHS(Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals)의 'Category'를 구분하여 오미자박 및 오미자박 내 유효성분에 대한 안전성 검증 및 추가 연구에 대한 기반을 마련하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 오미자박 추출물

본 연구에서 사용한 오미자박은 큰들농업회사법인주식회사(경상북도 문경시)에서 구매하였다. 오미자박을 분쇄한 후 분쇄한 오미자박 대비 9배수의 60% 주정으로 60±5°C에서 약 6시간동안 추출하였으며, 1 μm 필터로 여과 및 30 bx로 농축하여 오미자박 투입 대비 약 25%의 오미자박 농축액을 얻었다. 이후 오미자박 농축액을 살균 및 분무건조하여 최종적으로 오미자박 투입 대비 약 7%의 오미자박 추출물(분말)을 얻었다.

2) 실험동물

실험동물은 암컷 7주령 Sprague-Dawley(SD) rats (176.60 g ~ 207.30 g)를 (주)오리엔트 바이오(경기도 성남시)에서 구매하여 사용하였다. 모든 동물은 검역실에서 3일동안 검역, 순화기간을 거친 후 해당 동물실로 이동하였으며, 동물실에서 Step I (187.50 g ~ 190.42 g) 5일, Step II (202.32 g ~ 207.56 g) 8일, Step III (215.78 g ~ 226.90 g) 12일, Step IV (211.91 g ~ 226.87 g) 15일의 순화 기간을 추가로 두었다. 순화기간 및 실험기간동안 먹이와 물은 자유로이 하였으며,

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

•Received : November 4, 2022 / Revised : November 9, 2022 / Accepted : November 18, 2022

온도 21±1°C, 상대습도 48±4% 및 12시간의 명암 주기를 유지하였다.

2. 방법

1) 급성경구투여 독성시험

독성시험은 GLP 인증기관인 (주)크로엔(경기도 수원시)에서 진행하였으며, ‘동물보호법’에 따라 동물실험은 영윤리위원회에 의해 승인되었다(승인번호 : 21R107). ‘OECD Guideline For Testing Of Chemicals No. 423, Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method’에 따라 시험군 및 투여량 설정은 대조군 없이 각 단계별 3마리씩 총 4단계로 구성하였으며¹⁴⁾, 순차적으로 Step I (300 mg/kg), Step II (300 mg/kg)를 진행한 후 실험동물의 사망여부를 확인하여 사망동물이 발생하지 않을 시 다음 단계인 Step III (2,000 mg/kg) 및 Step IV (2,000 mg/kg)를 진행하였다. 오미자박 추출물 투여 전 12시간동안 금식시킨 후 투여 당일 10 mL/kg 투여액량으로 1회 경구투여하였다. 오미자박 추출물 투여 후 30분, 1, 2, 3 및 4시간째에 일반상태 및 사망유무를 관찰하였으며 14일까지 매일 1회 일반증상을 관찰하였다. 일반증상은 피부와 털, 눈 및 점막, 호흡계, 순환계, 자율 및 중추 신경계, 신체 운동 및 행동 유형의 변화를 포함하여, 진전, 경련, 유연, 설사, 기면, 수면 및 혼수상태를 특히 주의하여 관찰하였다. 관찰기간 중 발생

한 사망동물은 체중 측정 후 신속히 부검하였다. 또한, 관찰기간 종료 후 모든 실험동물의 체중을 측정 후 CO₂ 가스를 이용하여 희생시켰다. 이후 부검소견을 확인하기 위하여 외관, 두부, 흉강(폐) 및 복강(간, 위, 장 등)의 모든 장기 및 조직을 육안으로 관찰하였다.

2) 통계 처리

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

III. 결과

1. 오미자박 추출물의 독성시험 사망률

Step I (300 mg/kg) 및 Step II (300 mg/kg)에서 오미자박 추출물 투여 후 사망동물이 관찰되지 않았지만, Step III (2,000 mg/kg) 및 Step IV (2,000 mg/kg)에서 오미자박 추출물 투여 후 사망동물이 발생하였다. Step III에서 오미자박 추출물 투여 후 2일차에 한 마리 (Animal ID : 2302)가 사망하였으며, 동일한 농도의 Step IV에서도 오미자박 추출물 투여 후 3일차에 한 마리 (Animal ID : 2403)가 사망하였다(Table 1).

Table 1. Mortality due to pomace *Schisandra chinensis* extracts

Sex : Female											Total
Step/Dose (mg/kg)	Animal ID	Days									Mortality
		0	1	2	3	4	5	6	7	~14	
Step I 300	2101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/3
	2102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Step II 300	2201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/3
	2202	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2203	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Step III 2,000	2301	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/3
	2302	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
	2303	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Step IV 2,000	2401	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/3
	2402	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	2403	-	-	-	+	-	-	-	-	-	

- : No mortality + : Death

2. 오미자박 추출물의 독성시험 체중변화

오미자박 추출물 투여 후 관찰기간 동안 체중 측정 결과(Table 2), 0일차에 Step I (300 mg/kg)의 평균 체중(188.70±1.63 g), Step II (300 mg/kg)의 평균 체중(205.51±2.80 g), Step III(2,000 mg/kg)의 평균 체중(222.73±6.06 g) 및 Step IV(2,000 mg/kg)의 평균 체중(218.36±7.69 g) 간의 유의미한 차이를 보였으며 ($p<0.05$), 오미자박 추출물 투여 후 1일차에 체중 감소가 관찰되는 개체가 2례 있었으나 통계적으로 각 단계별 평균 체중의 유의미한 차이가 없었다. 이는 본 시험법의 특성상 각 단계별 투여물질에 의한 사망동물 여부에 따라 다음 단계를 진행하기 때문에 오미자박 추출물 투여시 각 단계별 실험동물의 평균 체중에서 통계적으로 유의미한 차이가 나타난 것으로 판단된다.

이에 각 단계별 실험동물의 체중 변화를 계산하여 비교해본 결과(Figure 1), 1일차에 Step I 과 Step II에서는 체중이 증가하는 반면에, Step III 및 Step IV에서는 체중이 감소하였고 통계적으로 유의미한 차이를 보였다 ($p<0.05$). 그러나 일시적인 감소로 보이며 3일차부터 회복하여 이후 14일차까지 체중 감소가 관찰되지 않았다.

에 따라 다음 단계를 진행하기 때문에 오미자박 추출물 투여시 각 단계별 실험동물의 평균 체중에서 통계적으로 유의미한 차이가 나타난 것으로 판단된다.

Table 2. Body weights

Sex : Female		(g)					
Step/Dose (mg/kg)	Animal ID	Days					
		0	1	3	7	14	0~14(gain)
Step I 300	2101	188.50	201.35	222.37	233.97	250.82	62.32
	2102	190.42	205.50	213.55	223.50	235.43	45.01
	2103	187.17	204.51	220.78	239.03	249.87	62.70
	Mean	188.70 ^c	203.79	218.90 ^b	232.17	245.37	56.68
	S.D.	1.63	2.17	4.70	7.92	8.62	10.11
	N	3	3	3	3	3	3
Step II 300	2201	202.32	221.03	229.16	238.76	247.71	45.39
	2202	206.66	225.83	249.81	264.97	284.25	77.59
	2203	207.56	222.32	240.82	247.33	261.62	54.06
	Mean	205.51 ^b	223.06	239.93 ^a	250.35	264.53	59.01
	S.D.	2.80	2.48	10.35	13.36	18.44	16.66
	N	3	3	3	3	3	3
Step III 2,000	2301	215.78	204.12	222.59	249.90	271.96	56.18
	2302	226.90	212.29	-	-	-	-
	2303	225.51	231.77	238.71	254.13	270.48	44.97
	Mean	222.73 ^a	216.06	230.65 ^{ab}	252.02	271.22	50.58
	S.D.	6.06	14.21	11.40	2.99	1.05	7.93
	N	3	3	2	2	2	2
Step IV 2,000	2401	226.87	223.21	236.36	244.77	267.83	40.96
	2402	216.29	204.55	235.35	257.64	265.36	49.07
	2403	211.91	197.95	-	-	-	-
	Mean	218.36 ^a	208.57	235.86 ^{ab}	251.21	266.60	45.02
	S.D.	7.69	13.10	0.71	9.10	1.75	5.73
	N	3	3	2	2	2	2

S.D. : Standard Deviation

N : Animal Number

- : Death

Differences were considered statistically significant by Duncan's multiple range test and Each superscript letter indicates significant difference at $p<0.05$ in each group.

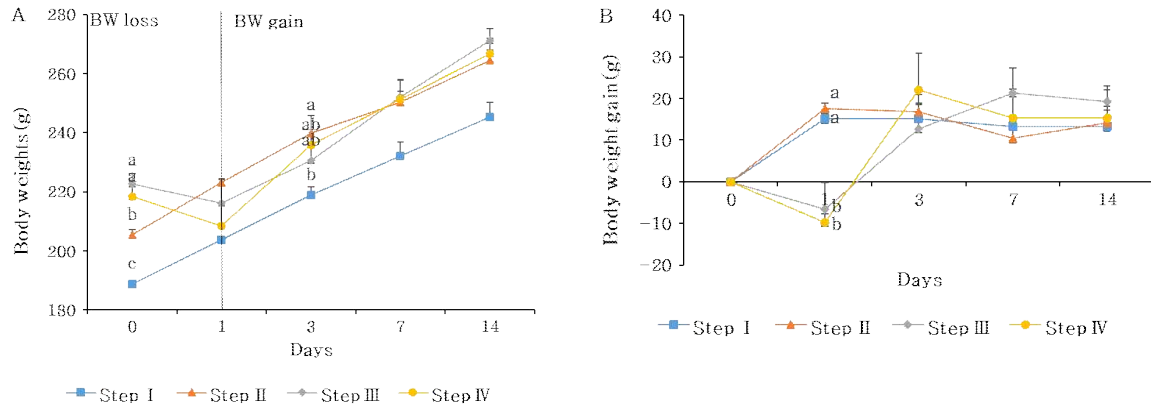


Fig. 1. The effects of pomace *Schisandra chinensis* extracts on body weight in SD-rats. A) Body weight for 14 days after administration of pomace *Schisandra chinensis* extracts, and B) body weight gain for 14 days administration of pomace *Schisandra chinensis* extracts. Data are presented as mean \pm standard deviation(SD). Differences were considered statistically significant by Duncan's multiple range test and each superscript letter indicates significant difference at $p < 0.05$ in each group.

3. 오미자박 추출물의 독성시험 일반증상

오미자박 추출물 투여 후 관찰기간 동안 일반증상 관찰 결과는 Table 3 및 Table 4와 같다.

Step III(2,000 mg/kg)에서 투여 당일 1시간부터 3시간까지 유연(Salivation)이 3례 관찰되다가 4시간째부터 회복되었다. 투여 후, 1일차에 사료섭취량의 감소(Decrease in food intake) 2례, 복와위(엎드린 자세, Prone position) 2례, 자발운동의 저하(Decrease of locomotor activity) 1례, 자발운동의 소실(Loss of locomotor activity) 1례, 경련(Convulsion) 1례, 체온하강(Hypothermia) 2례, 유루(Lacrimation) 3례, 입주위의 더러움(Staining around mouth) 2례, 하복부의 오염(Soiled perineal region) 2례, 적색뇨(Reddish urine) 1례, 착색뇨(Chromaturia) 1례, 변량 감소(Decrease of fecal volume) 3례가 관찰되었다. 투여 후, 2일차에 사료섭취량의 감소 1례, 측와(옆으로 누운 자세, Lying on side) 1례, 체온하강 1례, 유루 1례, 입주위의 더러움 2례, 하복부의 오염 2례, 흑색변(Blackish stool) 1

례, 무변(No stool) 2례, 사망(Death) 1례가 관찰되었다. 투여 후, 3일차부터 4일차까지 약물혼입변(Compound-colored stool) 2례가 관찰되었다. 투여 후, 5일차부터 14일차까지는 일반증상이 관찰되지 않았다.

Step IV(2,000 mg/kg)에서 투여 당일 1시간부터 3시간까지 유연이 관찰되다가 4시간째부터 회복되었다. 투여 후, 1일차에 거식증(Refusal to feed) 1례, 사료섭취량의 감소 2례, 복와위 1례, 흥분(Excitement) 1례, 과민(Hypersensitivity) 1례, 경련 1례, 근경직(Rigidity) 1례, 체온하강 2례, 하복부의 오염 3례, 약물혼입변 3례, 변량감소 3례가 관찰되었다. 투여 후, 2일차에 거식증 1례, 사료섭취량의 감소 2례, 배와위(누운 자세, Dorsal position) 1례, 흥분 1례, 과민 1례, 경련 1례, 체온하강 1례, 하복부의 오염 1례, 약물혼입변 3례, 변량감소 2례가 관찰되었다. 투여 후, 3일차에 사료섭취량의 감소 2례, 측와 1례, 약물혼입변 2례, 변량감소 2례, 사망 1례가 관찰되었다. 투여 후, 4일차부터 14일차까지는 일반증상이 관찰되지 않았다.

Table 3. Clinical signs(hours after dosing) due to pomace *Schisandra chinensis* extracts

Sex : Female

Step/Dose (mg/kg)	Animal ID	Clinical Signs	Hours(Day 0) after dosing				
			0.5	1	2	3	4
Step I 300	2101		-	-	-	-	-
	2102		-	-	-	-	-
	2103		-	-	-	-	-
Step II 300	2201		-	-	-	-	-
	2202		-	-	-	-	-
	2203		-	-	-	-	-
Step III 2,000	2301	Salivation	-	+	+	+	-
	2302	Salivation	-	+	+	+	-
	2303	Salivation	-	+	+	+	-
Step IV 2,000	2401	Salivation	-	-	+	+	-
	2402	Salivation	-	+	+	+	-
	2403	Salivation	-	-	+	+	-

+ : Observable abnormality - : No observable abnormality

Table 4. Clinical signs(1~14 days after dosing) due to pomace *Schisandra chinensis* extracts

Sex : Female

Clinical signs	Step/Dose (mg/kg)	Days (Number of observable abnormality)							
		1	2	3	4	5	6	7	~14
Decrease in food intake	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	1	1	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	2	2	2	-	-	-	-	-
Refusal to feed	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	1	1	-	-	-	-	-	-
Prone position	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	2	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
Lying on side	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	1	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	1	-	-	-	-	-
Dorsal position	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	1	-	-	-	-	-	-
Decrease of locomotor activity	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-



Loss of locomotor activity	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Excitement	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	1	1	-	-	-	-	-	-
Hypersensitivity	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	1	1	-	-	-	-	-	-
Convulsion	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	1	1	-	-	-	-	-	-
Rigidity	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
Hypothermia	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	2	1	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	2	1	-	-	-	-	-	-
Lacrimation	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	3	1	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Staining around mouth	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	2	2	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Soiled perineal region	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	2	2	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	3	1	-	-	-	-	-	-
Reddish urine	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-

Chromaturia	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	1	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Compound-colored stool	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	-	2	2	-	-	-	-
	Step IV 2,000	3	3	2	-	-	-	-	-
Blackish stool	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	1	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Decrease of fecal volume	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	3	-	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	3	2	2	-	-	-	-	-
No stool	Step I 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step II 300	-	-	-	-	-	-	-	-
	Step III 2,000	-	2	-	-	-	-	-	-
	Step IV 2,000	-	-	-	-	-	-	-	-

- : No observable abnormality

4. 오미자박 추출물의 독성시험 부검소견

실험동물 사망 후 신속히 부검을 진행하였으며 부검 시 폐, 간 및 위장의 육안적 검사 결과, Step III(2,000 mg/kg)의 사망동물에서 간 황갈색 변색(discoloration,

yellowish brown), 위 다발성 검정 변색(discoloration, black, multifocal)이 관찰되었다. 또한, Step IV(2,000 mg/kg)의 사망동물에서는 간 황갈색 변색, 폐 검붉은 변색(discoloration, dark red)이 관찰되었다(Table 5).

Table 5. Necropsy findings

Sex : Female

Organ	Step/Dose (mg/kg)	N	Necropsy Findings
Lung	Step I 300	-	-
	Step II 300	-	-
	Step III 2,000	-	-
	Step IV 2,000	1	Discoloration, dark red
Liver	Step I 300	-	-
	Step II 300	-	-
	Step III 2,000	1	Discoloration, yellowish brown
	Step IV 2,000	1	Discoloration, yellowish brown
Stomach	Step I 300	-	-
	Step II 300	-	-
	Step III 2,000	1	Discoloration, black, multifocal
	Step IV 2,000	-	-

N : Animal Number

- : No observable abnormality

IV. 고찰

오미자는 전세계적으로 널리 퍼져있는 식물이지만, 한국에서 재배되는 오미자는 *Schisandra chinensis*로 그 열매는 부드럽고 광택이 있으며, 선홍색의 불규칙한 원형 또는 타원형이 특징이다^{15, 16}. 오미자는 고대부터 식품과 약의 원료로서 사용되어왔으며, 오미자의 대표적인 약리학적 성분인 오미자 리그난(dibenzocyclooctadiene lignans)은 오미자의 부위별로 씨앗, 열매, 꽃, 잎, 줄기 순으로 많이 함유되어 있다^{17, 18}. 또한, 오미자 내 오미자 리그난은 schisandrol A, schisandrin B, schisandrin A, schisandrol B, angeloylgomisins H, schisandrin C, tigloylgomisins H 순으로 많이 함유되어 있다¹⁸. 오미자 리그난에 대한 다양한 기능성 연구가 꾸준히 보고되고 있으며, 건강기능식품 및 화장품 시장에서도 오미자를 이용한 제품들이 출시되고 있다¹⁹. 그러나 오미자 가공품을 생산하는 과정에서 부산물인 오미자박이 산업적 폐기물로서 버려지고 있으며, 이를 처리하기 위한 산업적, 환경적 부담이 증가하고 있다. 국내에서는 씨앗과 열매의 껍질 등으로 이루어져 오미자 리그난이 풍부한 오미자박을 활용하기 위하여 오미자박 추출물의 항암²⁰, 항염 및 항산화²¹ 등에 대한 기능성 연구가 추가적으로 진행되어왔지만, 오미자의 기능성 연구에 비하면 오미자박의 기능성 연구는 초기 수준이고 안전성 검증에 대한 독성시험 관련 연구는 전무하다. 오미자박을 식품의 원료로 recycling 하고 더 나아가 오미자박 내 유효성분을 up-cycling 하여 새로운 부가가치를 창출하고자 오미자박의 안전성 검증 및 섭취량 평가를 위한 독성시험 평가가 필요하다.

오미자박 추출물에 대한 독성시험 평가는 전무하나, 오미자 추출물에 대한 독성시험 평가 연구에 따르면 마우스에서 오미자 추출물의 LD₅₀이 7.15~9.74 g/kg BW로 나타났다³. 본 연구에서는 독성시험 평가 항목 중 'OECD Guideline'에 따라 단회투여 독성시험인 급성경구투여 독성시험을 진행하고 사망률에 따른 오미자박 추출물의 GHS의 'Category'를 구분하였다. 이 시험법은 고정용량을 이용한 단계적인 방법이며 대조군 없이 단계별로 3마리의 동일한 성별의 동물을 사용하고, 투여물질에 의한 실험동물의 사망 여부에 따라 시험 종료, 동일한 용량으로 3마리에 추가 투여, 더 높은 용량(0~1마리 사망 시) 혹은 낮은 용량(2~3마리 사망 시)으로 3마리에 추가 투여의 3 가지 중 하나를 결정하여

다음 단계를 진행할 수 있다²². 원칙적으로 정확한 LD₅₀을 산출하기 위한 방법은 아니지만, 투여물질에 의한 실험동물의 사망률을 확인하기 위한 방법으로 유용하며 실험실 간의 일관성과 재현성을 확보할 수 있다. 또한, 기존 LD₅₀ 시험에서 성별에 따른 민감도 차이가 없으며, 암컷이 감수성이 높기 때문에 일반적으로 암컷을 사용하게 된다^{23, 24, 25}.

오미자박 추출물에 대한 독성 정보가 없기 때문에 Step I의 투여량을 300 mg/kg로 설정하고 시험을 진행하였으며 Step II 또한 동일한 농도로 진행하였다. 두 단계 모두 사망동물과 체중변화 및 일반증상이 관찰되지 않았으므로 독성이 나타나지 않은 것으로 판단하였다. 그러나 다음 단계인 투여량을 2,000 mg/kg로 설정한 Step III(2,000 mg/kg) 및 Step IV(2,000 mg/kg)에서 각각 3마리 중 1마리씩 사망동물이 발생하였다. 사망하지 않은 실험동물은 오미자박 추출물 투여 후 3~4일까지는 유연, 사료섭취량의 감소 또는 거식증, 측와, 복와위, 배와위, 자발운동의 저하 또는 소실, 경련, 흥분, 과민, 근경직, 체온하강, 유루, 입주위의 더러움, 하복부의 오염, 적색뇨, 착색뇨, 변량 감소, 흑색변, 약물혼입변, 무변 등의 일반증상들이 관찰되었지만, 4~5일 이후부터는 완전히 회복되었다. 또한, 모든 실험동물들을 부검한 결과, 사망동물의 폐, 간, 위장에서 변색을 확인하였으며 이러한 결과를 종합해 볼 때 오미자박 추출물은 2,000~5,000 mg/kg 농도에서 급성독성이 나타날 수 있으며 GHS 분류를 'Category 5'로 지정하는 것이 적합하다고 판단하였다.

V. 결론

본 연구는 시험물질 오미자박 추출물을 SD-rats에 경구투여 시 나타나는 급성독성반응을 관찰하고, GHS의 'Category'를 구분하고자 수행하였다. 독성시험은 순차적으로 진행하였으며, 300 mg/kg 농도의 Step I과 Step II 및 2,000 mg/kg 농도의 Step III과 Step IV로 구성하여 오미자박 추출물을 투여한 후 각 단계별 사망 여부 및 부검 소견과 14일동안의 체중변화와 일반증상을 관찰하였다. 본 시험의 조건에서 오미자박 추출물을 SD-rats에 급성경구투여 한 결과, Step III과 Step IV에서 각각 1마리씩 사망동물이 관찰되었다. 또한 일반증상 관찰과 부검 소견의 결과를 종합해 볼 때 이러한 이상 변화는 오미자박 추출물에 의한 급성독성반응으로

판단되었다. 이에 GHS의 분류를 'Category 5'로 지정하였다.

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. Kopustinskiene DM, Bernatoniene J. Antioxidant Effects of *Schisandra chinensis* Fruits and Their Active Constituents. *Antioxidants (Basel).* 2021; 10(4):620.
3. Hu G, Qi Z, Wang A, Jia J. Effects of Deacidification on Composition of *Schisandra chinensis* Ethanolic Extract and Studies on Acute Toxicity in Mice. *Molecules.* 2020;25(24):6038.
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. Hepato-protective 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. Notification No. 2009-116 Testing Guidelines for Safety Evaluation of Drugs. (2009) Aug 24;
14. OECD_423. Test No. 423: Acute Oral toxicity – Acute Toxic Class Method. OECD; 2002.
15. Panossian A, Wikman G. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail.: an overview of Russian research and uses in medicine. *J Ethnopharmacol.* 2008;118(2):183–212.
16. Choo SH, Sung HH, Chae MR, et al. Effects of *Schisandra chinensis* extract on the relaxation of isolated human prostate tissue and smooth muscle cell. *J Ethnopharmacol.* 2014;156:271–276.
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. Li Z, He X, Liu F, Wang J, Feng J. A review of polysaccharides from *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*: Properties, functions and applications. *Carbohydr Polym*. 2018;184:178-190.
20. Kim, H.-J., Seo, Y.-M., Lee, E.-J., Chung, C., Sung, H.-J., Sohn, H.-Y., Kim, J.-S. Anti-proliferative and Pro-apoptotic Activities by Pomace of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. and Schizandrin. *Journal of Life Science*. 2018;28(4), 415-420.
21. Park, B. N., & Lee, J.-W. Antioxidation activity of residue after omija (*Schisandra chinensis*) juice extract. *Journal of Applied Biological Chemistry*. 2017; 60(2) 95-100.
22. Roll R., Höfer-Bosse Th. And Kayser D. New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. *Toxicol. Lett., Suppl.* 1986:31-86.
23. Diener W, Siccha L, Mischke U, Kayser D, Schlede E. The biometric evaluation of the acute-toxic-class method (oral). *Arch Toxicol*. 1994;68(10): 599-610.
24. Diener W, Mischke U, Schlede E, Kayser D. The biometrical evaluation of the OECD modified version of the acute toxic class method (oral). *Arch Toxicol*. 1995;69(10):729-734.
25. Diener W, Schlede E. Acute Toxic Class Methods: Alternatives to LD/LC50 Tests. *ALTEX*. 1999; 16(3):129-134.