

Single Dose Oral Toxicity of Schisandrae Semen Essential Oil in ICR Mice

Min Ho Han¹, Joo Wan Kim², Ki Young Kim², Sung Goo Kim², Gyeong Jin Yu³, Yong Bok Cho³, Hye Jin Hwang^{1,4}, Byung Woo Kim^{1,5}, Cheol Min Kim^{6,7} and Yung Hyun Choi^{1,3*}

¹Anti-Aging Research Center & Blue-Bio Industry RIC, Donggeui University, Busan 614-714, Korea

²Research Institute, Bio-Port Korea INC, Marine Bio-industry Development Center, Busan 619-912, Korea

³Department of Biochemistry, Donggeui University College of Oriental Medicine, Busan 614-052, Korea

⁴Department of Food and Nutrition, Donggeui University, Busan 614-714, Korea

⁵Department of Life Science and Biotechnology, Donggeui University, Busan 614-714, Korea

⁶Department of Biochemistry, Busan National University College of Medicine, Yangsan 626-870, Korea

⁷Research Center for Anti-aging Technology Development, Busan Techno-Park, Busan 617-829, Korea

Received January 13, 2014 / Revised January 21, 2014 / Accepted January 22, 2014

Essential oils extracted or purified from various plants have shown various beneficial effects. Seed parts of *Schizandra chinensis* Baillon (Schisandrae Semen) have been used as a traditional medicine for thousands of years in parts of Asia, including Korea, China, and Japan. However, the pharmacological mechanisms of essential oils purified from *S. fructus* (*S. chinensis* Baillon) remain largely unresolved. The aim of this study was to investigate the safety of Schisandrae Semen essential oil (SSEO) by a single-dose toxicity study in mice. SSEO was orally administered at a dose of 5,000 mg/kg in ICR mice. All animals were sacrificed after 14 days of treatment. After a single administration, mortality, clinical signs, body weight changes, and gross pathological findings were observed for 14 days. We also measured parameters of organ weight, clinical chemistry, and hematology. No toxicological change related to the test substance or mortality was observed after administration of a single oral dose of SSEO. There were no adverse effects on clinical signs, body weight, or organ weight and no gross pathological findings in any treatment group. The clinical chemistry and hematological parameters were within the normal ranges except total bilirubin. Therefore, the approximate lethal dose for oral administration of SSEO in mice was considered to be over 5,000 mg/kg. The results on the single-dose toxicity of SSEO indicate that it is not possible to reach oral dose levels related to death or dose levels with any harmful side effects.

Key words : ICR mice, safety, Schisandrae Semen essential oil, single dose oral toxicity

서 론

최근 부작용이 적은 천연물의 과학화를 통한 보다 효과적인 신소재의 생리 활성 및 약리학적 연구가 활발히 진행되고 있으며, 이런 천연물 소재의 확보가 국가 경쟁력의 중요한 요인으로 부각되고 있다. 이러한 인식에 따라 다양한 천연물 소재는 전통적인 대체 의약품 범주에서 벗어나 각종 산업용 및 의약 소재로서 개발이 진행되고 있다. 하지만 이들의 안전성에 대한 연구는 예로부터 한의학 및 민간처방으로 사용되어 왔다는 사실만으로 완전하게 검증되지 있지 않은 실정이다. 최근에는 인체에 대한 안전성 문제가 무엇보다 중요시되고

있어 안전성이 확보되지 않은 기능성 소재는 아무리 효능이 탁월하다 해도 그 이용가치를 인정받지 못하고 있다. 이에 표준화된 최신의 평가법을 이용하여 천연물 소재로부터 추출 및 정제된 유효성분의 독성 및 부작용을 정확히 평가하는 일은 매우 중요해지고 있다.

정유(精油, essential oils)는 식물에서 유래하는 방향족 화합물을 함유하는 농축된 소수성 액체로 예로부터 식품의 보존료 뿐만 아니라 향균, 항산화 및 살균 효과 등 다양한 약리 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[1,4, 7]. 오미자(五味子, *Schizandra chinensis* Baillon) 열매는 한국, 러시아와 중국, 일본을 포함한 극동 아시아 지역에서 전통적으로 식품 및 약재로 널리 사용되고 있으며, 신체 기능 촉진 작용뿐만 아니라 스트레스 보호 효과, 항염증, 중금속 해독, 혈당 강하 등의 효능이 보고되고 있다[5, 8]. 이러한 오미자는 현재 많은 산업화 등을 통해 여러 가지 상품으로 제조되어 판매되고 있으나, 오미자 열매의 부산물로 나오는 종자는 큰 관심을 받지 못하고 있다. 이에 오미자 종자에 대한 산업화의 기초 연구로서 오미자 종자 유래 정유(Schisandrae Semen essential oil, SSEO)에 대한 단회투여

*Corresponding author

Tel : +82-51-850-7413, Fax : +82-51-853-4036

E-mail : choiyh@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

독성 평가를 실시함으로써 기능성 천연물 소재로써의 안전성을 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 실험에서는 샐타코(경기도, 오산시)로부터 구입한 6주령의 SPF ICR 마우스를 사용하였다. 동의대학교 한의과대학 동물사육 시설에서 1주일 간 순화 적응시킨 후 건강한 동물을 사용하였다. 시험동물은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 조명시간 12시간(08:00~20:00) 및 조도 150~300 Lux로 설정된 사육 환경에서 스테인레스제 망사육 상자에 사육상자 당 5마리 이하로 수용하였으며 고행사료(샐타코)와 프리필터한 상수도를 자유롭게 섭취할 수 있게 하였다.

시험물질의 추출 및 조제

오미자 종자는 경북 문경 일대에서 수거한 다음, furnace (대한과학, Korea)를 이용하여, 180°C 에서 완전 건조한 다음 분쇄하고, 동결건조기(Freezezone 1; Labconco Corp., MO, USA)로 동결 건조한 다음 100% 주정에 실온에서 24시간 동안 침전시킨 다음 여과하고, 여과액을 rotary vacuum evaporator (Buchi Rotavapor R-144, Switzerland) 농축한 다음 Minaiyan et al. [6]의 방법에 준하여 3시간 동안 hydrodistillation을 통해 분리하였다.

투여용량 설정 및 투여 방법

25마리의 실험동물을 5마리씩 무작위로 분리하고 체중을 측정하였다. 투여 용량은 미국 환경보호청(US environmental protection agency) [10]에서 무해 물질 분류 기준인 5,000 mg/kg을 최고용량으로, Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)의 급성독성시험 허용 한계용량[9]인 2,000 mg/kg을 고용량군으로, 1,000 mg/kg을 중용량군으로, 500 mg/kg을 저용량군으로 설정하였다. 투여경로는 경구투여법을 사용하였으며 모든 실험동물은 투여 전 18시간 동안 절식시킨 후, 경구투여용 금속제 sonde를 이용하여 위 내로 강제 경구투여를 시행하였다. 투여당일의 체중을 기준으로 5 ml/kg을 단회투여하였다.

일반증상 관찰 및 체중측정

투여 당일에는 투여 후 6시간까지 매 시간, 투여 후 1일부터 14일까지는 1일 1회 이상씩 일반 상태의 변화, 중독 증상의 발현, 사망 동물의 유무 및 시험물질 투여 후 시험 물질에 의하여 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 관찰하였으며, 모든 동물에 대하여 투여 직전과 투여 후 2일 간격으로 체중 변화를 측정하였다.

부검

실험동물을 희생하기 전날 밤 18시간 절식 시킨 후, 에테르를 이용하여 마취시킨 후 개복하여 혈액을 채취하였다. 혈액 채취 및 방혈 후, 주요 내부 장기의 병변을 육안적으로 관찰하였고, 간, 심장, 신장, 폐, 비장, 부신, 고환, 흉선, 침샘, 뇌 및 림프절을 적출하여 무게를 측정하였다.

혈액학적 검사

혈액학적 검사는 백혈구(white blood cell, WBC), 적혈구(red blood cell, RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), 혈구 hemoglobin 평균 농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 혈구 hemoglobin 농도(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 혈구 hemoglobin 부피(mean corpuscular volume, MCV), 혈소판 농도(platelet, PLT) 등을 혈구분석기(Coulter counter, Coulter Co., Miami, FL, USA)를 이용하여 측정하였다.

혈액 생화학적 검사

혈액 생화학적 검사는 albumin, 총 bilirubin, alkaline phosphatase (ALP), glutamic oxaloacetic transaminase (GOT; aspartate aminotransferase, AST), glutamic pyruvic transaminase (GPT; alanine aminotransferase, ALT), glucose, blood urea nitrogen (BUN), 총 cholesterol, triglyceride 등을 측정하기 위하여 자동혈액생화학분석기(Prestige 24i, Tokyo Boeki Medical System Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하였다.

통계학적 방법

실험결과는 SPSS package program (version 22.0)을 이용하여 평균과 표준 편차를 구하였으며 실험군간의 차이의 유의성은 one-way ANOVA와 student t-test에 의하여 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결 과

사망동물 및 폐사율

시험 전 기간을 통하여 최고 용량군을 비롯하여 모든 마우스 동물군에서 사망동물은 발생하지 않았다(Table 1). 따라서 마우스에서 본 시험 물질의 최소치사량(minimal lethal dose)은 5,000 mg/kg을 초과할 것으로 관찰되었다. 또한 시험물질에 의한 LD₅₀은 5,000 mg/kg 이상이나 본 실험에서 값을 산출하는 것은 불가능하였다.

임상증상

시험물질 투여군과 대조군의 ICR 마우스를 2주 간 관찰한 결과 보행 장애, 행동이상, 웅크림, 설사, 부종, 호흡축박, 몸단장, 뛰오름, 유루, 무기력증, 구토, 비루, 마비, 유연 등 시험

Table 1. Mortality of ICR mice orally treated with SSeo

Group	Days after treatment														LD ₅₀ (mg/kg)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
con	0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	>5,000 mg/kg
S ₁	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
S ₂	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
S ₃	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
S ₄	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		

CON; Control group, S₁; SSeo 500 mg/kg (day) Medication Group, S₂; SSeo 1,000 mg/kg (day) Medication Group, S₃; SSeo 2,000 mg/kg (day) Medication Group, S₄; SSeo 5,000 mg/kg (day) Medication Group.

*: Values are expressed as No. Dead/No. animal.

물질 투여와 관련된 어떠한 임상증상의 이상 소견도 관찰되지 않았으며, 투여 전, 투여 후 모두 대조군과 모든 시험물질 투여군(500, 1,000, 2,000 및 5,000 mg/kg) 사이의 유의적인 체중 변화의 차이는 관찰할 수 없었다(Table 2).

체중변화

경구 투여 후 시험물질 투여군과 대조군 모두 개시 체중에 비하여 체중이 증가하였으며, 투여 전, 투여 후 모두 대조군과 모든 시험물질 투여군(500, 1,000, 2,000 및 5,000 mg/kg) 사이

육안적 부검소견 및 장기무게 변화

2주간의 관찰기간 종료 후 동물을 도살하여 모든 주요 장기 에 대한 육안적 검사 및 장기 무게 변화를 측정하였다. 시험물질 투여군 모든 마우스에서 본 시험물질의 투여에 기인한 다

Table 2. Body weights change of ICR mice orally treated with SSeo

Group	No. of animals	Body weight (g)							
		0 day*	2 day	4 day	6 day	8 day	10 day	12 day	14 day
con	5	30.73±1.94	33.88±1.21	33.13±1.37	33.45±1.19	34.39±1.27	35.04±1.37	35.77±1.54	33.56±1.25
S ₁	5	28.92±0.98	33.94±0.82	33.66±0.91	34.08±1.05	34.58±1.02	34.98±0.97	35.53±1.01	33.60±1.02
S ₂	5	28.24±1.08	32.71±0.98	33.16±1.33	32.92±1.53	33.37±1.53	33.82±1.59	34.26±1.90	32.68±2.80
S ₃	5	33.73±3.93	35.83±2.61	35.88±2.63	35.94±2.84	36.36±2.80	36.83±2.47	37.04±2.53	34.68±2.20
S ₄	5	33.34±4.67	35.08±4.19	34.91±3.24	34.64±2.95	35.07±2.65	35.38±2.75	36.24±2.78	33.63±2.04

CON; Control group, S₁; SSeo 500 mg/kg (day) Medication Group, S₂; SSeo 1,000 mg/kg (day) Medication Group, S₃; SSeo 2,000 mg/kg (day) Medication Group, S₄; SSeo 5,000 mg/kg (day) Medication Group.

The data are presented as mean ± SD.

*: Day of treatment after SEO

Table 3. Organ weights of ICR mice orally treated with SSeo

Group	No. of animals	Organ weight (g)										
		Salivary glands	Thymus	Lung	Heart	Speen	Liver	Kindey	Lymph node	Testis	Adrenal gland	Brain
con	5	0.246 ±0.019	0.038 ±0.009	0.186 ±0.010	0.162 ±0.015	0.136 ±0.011	1.458 ±0.085	0.282 ±0.030	0.006 ±0.002	0.117 ±0.013	0.003 ±0.001	0.480 ±0.025
S ₁	5	0.235 ±0.016	0.048 ±0.008	0.189 ±0.013	0.162 ±0.012	0.130 ±0.018	1.362 ±0.042	0.266 ±0.021	0.007 ±0.001	0.112 ±0.011	0.002 ±0.001	0.486 ±0.029
S ₂	5	0.201 ±0.018	0.036 ±0.016	0.184 ±0.007	0.163 ±0.008	0.123 ±0.023	1.324 ±0.080	0.255 ±0.032	0.007 ±0.002	0.113 ±0.009	0.002 ±0.001	0.453 ±0.122
S ₃	5	0.233 ±0.032	0.040 ±0.008	0.201 ±0.010	0.179 ±0.013	0.188 ±0.041	1.437 ±0.065	0.280 ±0.037	0.011 ±0.002	0.136 ±0.013	0.003 ±0.000	0.514 ±0.031
S ₄	5	0.226 ±0.018	0.034 ±0.008	0.200 ±0.018	0.178 ±0.020	0.172 ±0.049	1.454 ±0.115	0.258 ±0.020	0.008 ±0.003	0.117 ±0.009	0.003 ±0.001	0.482 ±0.032

CON; Control group, S₁; SSeo 500 mg/kg (day) Medication Group, S₂; SSeo 1,000 mg/kg (day) Medication Group, S₃; SSeo 2,000 mg/kg (day) Medication Group, S₄; SSeo 5,000 mg/kg (day) Medication Group.

The data are presented as mean ± SD.

고 사료되는 장기의 어떠한 병변도 관찰되지 않았으며, 시험 물질 투여 농도 증가에 따른 장기의 무게 변화 역시 관찰되지 않았다(Table 3).

혈액학적 검사

혈액학적 검사(WBC, RBC, HGB, HCT MCHC, MCH, MCV 및 PLT) 결과에 있어서 대조군과 시험물질 투여군 비교 할 때 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 4).

혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사(abumin, total bilirubin, ALP, GOT, GPT, glucose, BUN, total cholesterol 및 triglyceride) 결과에 있어서 대조군과 시험물질 투여군 비교 할 때 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 5).

고 찰

본 연구에서는 오미자 종자 정유(SSeo)의 급성독성을 실험적으로 평가하고자 ICR 마우스에 시험물질을 투여한 후 임상 증상 및 부검 소견, 치사율과 체중변화 등의 관찰 및 혈액학적 검사를 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 시험기간 중 모든 실험동물에서 사망 동물이 관찰되지 않아, 경구투여에 의한 LD₅₀ 값이 5,000 mg/kg 이상일 경우 무해한 물질로 분류하는 미국 환경보호청[10]의 기준으로 볼 때 시험물질인 오미자 종자 정유는 급성독성의 측면에서 매우 안전한 물질인 것으로 판단된다. 실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적 병변의 관찰 및 무게변화를 측정하였을 때 이상 병변 및 무게 변화는 관찰되지 않았다. 실험 종료 시 채취한 혈액 및 혈청으로 혈액학적 검사 및 혈청 생화학적 검사를 실시한 결

Table 4. Levels of hematological analysis in ICR mice orally treated with SSeo

Group	No. of animals	WBC (10 ³ /ul)	RBC (10 ⁶ /ul)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Platelet (10 ³ /ul)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
con	5	2.11 ±0.49	8.19 ±0.19	13.45 ±0.26	48.35 ±0.72	691.50 ±84.42	59.05 ±0.87	16.43 ±0.22	27.80 ±0.57
S ₁	5	2.54 ±0.62	8.50 ±0.48	13.88 ±0.94	47.50 ±2.50	562.50 ±102.28	57.87 ±0.95	16.33 ±0.39	29.22 ±1.62
S ₂	5	4.73 ±2.13	7.38 ±1.32	15.43 ±7.26	41.35 ±6.31	624.33 ±86.32	56.30 ±2.54	16.08 ±0.41	28.65 ±1.33
S ₃	5	3.88 ±1.74	7.93 ±0.38	12.47 ±0.87	44.15 ±2.91	780.67 ±117.52	56.42 ±2.15	15.72 ±1.59	28.90 ±0.81
S ₄	5	3.19 ±0.97	8.54 ±0.14	13.48 ±0.37	46.38 ±1.04	737.75 ±105.08	57.10 ±1.46	15.43 ±0.94	29.05 ±1.05

CON; Control group, S₁; SSeo 500 mg/kg (day) Medication Group, S₂; SSeo 1,000 mg/kg (day) Medication Group, S₃; SSeo 2,000 mg/kg (day) Medication Group, S₄; SSeo 5,000 mg/kg (day) Medication Group. The data are presented as mean ± SD.

Table 5. Levels of serum biochemistry analysis in ICR mice orally treated with SSeo

Group	No. of animals	Albumin (g/dl)	Total Bilirubin (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	Glucose (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
con	5	2.88 ±0.18	0.23 ±0.02	149.60 ±28.53	35.40 ±7.54	86.20 ±21.68	27.98 ±3.84	135.20 ±15.99	90.60 ±21.23
S ₁	5	2.85 ±0.11	0.24 ±0.04	106.40 ±35.18	26.00 ±10.84	93.20 ±13.68	30.38 ±4.34	141.80 ±13.85	80.40 ±20.14
S ₂	5	2.86 ±0.22	0.22 ±0.03	118.20 ±15.09	34.00 ±2.45	79.00 ±17.71	28.22 ±3.05	133.60 ±10.29	84.20 ±21.12
S ₃	5	2.62 ±0.25	0.25 ±0.02	75.87 ±41.04	29.50 ±5.01	80.50 ±13.28	30.85 ±6.86	135.50 ±17.89	75.67 ±16.45
S ₄	5	2.64 ±0.23	0.23 ±0.02	93.50 ±16.96	28.00 ±3.69	89.33 ±9.16	30.35 ±1.52	133.50 ±15.78	78.00 ±12.13

CON; Control group, S₁; SSeo 500 mg/kg (day) Medication Group, S₂; SSeo 1,000 mg/kg (day) Medication Group, S₃; SSeo 2,000 mg/kg (day) Medication Group, S₄; SSeo 5,000 mg/kg (day) Medication Group. The data are presented as mean ± SD.

과 용량 의존적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 오미자 종자 정유는 실험동물에 대하여 급성 독성이 없는 천연물 소재로 그 효능 규명을 통한 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 및 한국산업기술평가관리원의 항노화 산업 제품화 기술개발사업의 일환으로 수행하였음 (10040391, 노화성 근기능 저하 방지를 위한 기능성식품소재 및 기기 개발).

References

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem Toxicol* **46**, 446-475.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J Food Microbiol* **94**, 223-253.
- Fратиани, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R. and Nazzaro, F. 2010. Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *J Food Sci* **75**, M528-535.
- Leal-Cardoso, J. H. and Fonteles, M. C. 1999. Pharmacological effects of essential oils of plants of the northeast of Brazil. *An Acad Bras Cienc* **71**, 207-213.
- Lu, Y. and Chen, D. F. 2009. Analysis of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*. *J Chromatogr A* **1216**, 1980-1990.
- Minaiyan, M., Ghannadi, A. R., Afsharipour, M. and Mahzouni, P. 2011. Effects of extract and essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. on TNBS-induced colitis in rats. *Res Pharm Sci* **6**, 13-21.
- Oussalah, M., Caillet, S., Salmiéri, S., Saucier, L. and Lacroix, M. 2004. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J Agric Food Chem* **52**, 5598-5605.
- Panossian, A. and Wikman, G. 2008. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail.: an overview of Russian research and uses in medicine. *J Ethnopharmacol* **118**, 183-212.
- OECD. 2001. Test Guideline 423. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class.
- US Environmental Protection Agency. 1998. Health effects test guidelines OPPTS 870.1100, acute oral toxicity. U.S. Government printing office, Washington, DC, USA.

초록 : ICR 마우스를 이용한 오미자 종자 정유의 단회경구투여 독성시험

한민호¹ · 김주원² · 김기영² · 김성구² · 유경진¹ · 조용복³ · 황혜진^{1,4} · 김병우^{1,5} · 김철민^{6,7} · 최영현^{1,3*}

(¹동의대학교 항노화연구소 및 Blue-Bio Industry RIC, ²㈜바이오포트 코리아, ³동의대학교 한의과대학 생화학교실, ⁴동의대학교 식품영양학과, ⁵동의대학교 생명응용학과, ⁶부산대학교 의과대학 생화학교실, ⁷항노화 기술개발센터)

오미자(*Schizandra chinensis* Baillon., *Schisandrae Semen*)의 열매는 한국을 포함한 아시아 지역에서 오랫동안 전통 의약제로 광범위하게 사용되어 왔다. 식물에서 분리된 정유(essential oils)는 다양한 약리효능을 지니고 있지만, 오미자 열매에서 추출한 정유의 약리학적 기전은 밝혀진 바 없다. 본 연구에서는 오미자 종자의 정유(*Schisandrae Semen* essential oil, SSeo)에 대한 안정성을 확보하기 위하여 단회경구투여 독성시험을 ICR 마우스를 대상으로 실시하였다. SSeo는 ICR mice에 5,000 mg/kg 농도로 경구 투여하였으며, 14일 후 희생시켰다. SSeo 투여 후 치사율, 임상 증상, 체중 및 부검 소견 상의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 또한 각 장기의 무게, 혈액학적 및 혈청학적 임상 화학적 지표에도 총 bilirubin량을 제외한 유의적인 변화는 관찰할 수 없었다. 따라서 SSeo 단회 투여에 따른 치사량은 5,000 mg/kg 이상일 것으로 추정되어 급성 독성 측면에서 유해성이 없다는 의미를 지니며, 경구투여에 따른 어떤 부작용도 나타내지 않았음을 의미한다.