

새로운 반합성 Rifamycin 유도체 KTC-1의 랫트 최기형 시험

김종춘 · 정문구* · 박종일 · 한상섭
한국화학연구소 안전성연구센터

Teratogenicity Study of KTC-1, a New Semisynthetic Rifamycin Derivative, in Rats

Jong-Choon Kim, Moon-Koo Chung*, Jong-Il Park and Sang-Seop Han

Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-606, Korea

(Received March 25, 1995)

(Accepted April 10, 1995)

ABSTRACT : A teratogenicity study of KTC-1, a new semisynthetic rifamycin antituberculous drug, was conducted in Sprague-Dawley rats. Dosages of KTC-1 0, 7, 21, and 63 mg/kg/day were administered to dams orally gavage from day 7 to day 17 of gestation. Two-third of dams per group were subjected to cesarean section on day 21 of pregnancy for examination of their fetuses, and the remaining one-third of dams per group were allowed to deliver naturally for postnatal examination of their offspring. At 21 mg/kg/day, an increase in the skeletal variations of F1 fetuses and a decrease in the body weight of F1 offspring were seen. At 63 mg/kg/day, a loss in body weight was observed in dams. An increase in fetal death rate, a decrease in litter size and body weight, and an increase in the incidence of visceral malformations and skeletal variations were found in F1 fetuses. In particular, lumbar rib occurred at an incidence of 31%. In addition, an increase in the dead newborns at birth and neonatal deaths during the lactation period, a loss in body weight, and a decrease in spleen weight were observed in F1 offspring. There were no signs of maternal toxicity or embryotoxicity at 7 mg/kg/day. The results suggest that the no-effect dose level(NOEL) for dams is 21 mg/kg/day, and NOELs for F1 fetuses and offspring are 7 mg/kg/day.

Key Words : KTC-1, Antituberculous drug, Teratogenicity study, Rats.

I. 서 론

Rifampicin은 뛰어난 항균력과 빠른 체내 확산력 및 저독성 등의 특성을 가진 우수한 항결핵성 항생제이며, 경구투여시에도 흡수가 잘되어 균에 대한 최저발육억제농도(MIC)보다 수십배 높은 혈중농도를 얻을 수 있어서 결핵치료제로 널리 이용되고 있다(Maggi 등, 1966; Schlossberg, 1983). 반면 약제의 청소율(clearance)면에서 혈청중 반감기가 인체에서 단회 투여시 2.3~5.1시간으로 비교적 짧고, 연속 투여시 간장에서의 대사증가로 2~3시간으로 단축되는 단점을 갖고 있다(Kenny와 Strates, 1981).

생식독성학적 측면에서 rifampicin은 임신한 랫트와 마우스의 기관형성기에 고용량을 연속투여할 경우 기형을

유발하며(Jager 등, 1974; Steen과 Stainton-Ellis, 1977), *in vitro* 시험조건하에서 랫트 배아(embryo)의 발육지연을 야기할 수 있다고 한다(Greenaway와 Fantel, 1983). 사람의 경우에는 임신기간동안 rifampicin 치료를 받은 226명의 임신부중 기형아 출산율은 4.3%로서 이는 약물에 노출되지 않았던 임신부들에게서도 나타날 수 있는 자연발생적인 빈도와 유사하여(Steen과 Stainton-Ellis, 1977) rifampicin의 기형유발성은 없는 것으로 나타났고, 이는 Snider 등(1980)과 Holdiness 등(1987)에 의해서도 확인되었다.

KTC-1은 현재 종근당(주) 연구소(서울특별시 구로구 신도림동 410)에서 개발중에 있는 반합성 rifamycin계 항결핵성 항생제로서 대표적인 동일계약물인 rifampicin의 결점을 보완하기 위해서 합성되었으며 rifampicin과 비교할 때 항균력이 2~10배 이상 높고 혈중반감기도 약 5배 정도 더 지속될 뿐만 아니라 LD₅₀값도 훨씬 높은 것

* To whom correspondence should be addressed.

으로 보고되었다(Arioli 등, 1981).

본 연구는 화학물질의 생식독성학적 스크리닝(reproductive-toxicological screening)의 일환으로서 새로운 반합성 rifamycin인 KTC-1을 임신랫트의 기관형성기에 투여하여 모동물, 태자 및 F1 동물에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 본 시험은 일본독성시험기준(Yakugyo Jiho Co., 1984)에 준하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

본 시험에는 종근당(주) 연구소에서 합성한 KTC-1을 사용하였다. KTC-1의 구조식은 3-[[[4-cyclopentyl-1-piperazinyl]imine]methyl]rifamycin SV이며 적갈색의 결정 또는 결정성 분말형 물질로서 물에 난용성이다. 0.2% CMC 용액에 시험물질을 용량별로 각각 막자사발에서 잘 교반시킨 후 사용하였으며 3일 단위로 조제하였다.

2. 실험동물 및 사육환경

본 시험에는 한국화학연구소 안전성연구부 실험동물육종실(대전광역시 유성구 장동 100)로부터 입수한 Sprague-Dawley 랫트(SPF)를 사용하였다. 10주령의 암수 각각 200마리를 입수하여 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 1:1로 교배시켜 질전(vaginal plug)을 확인한 날을 임신 0일로 정하였으며, 교미확인된 암컷 160마리를 시험에 사용하였다. 본 시험은 온도 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기횟수 13~18회/hr, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시), 조도 200~300럭스로 설정된 동물실에서 실시되었다. 시험기간중 사료는 실험동물용 고품사료(제일사료(주))를 방사선 조사(2.0Mrad) 멸균하여, 그리고 물은 상수도수를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유 섭취시켰다.

3. 투여량의 설정과 시험군의 구성

7, 21 및 63 mg/kg의 3개 용량으로 예비시험을 실시한 바, 63 mg/kg군에서는 모동물 및 태자의 체중감소와 함께 배아흡수율이 증가하였으나, 7 및 21 mg/kg군에서는 어떠한 독성소견도 관찰되지 않았다. 이를 기초로 63 mg/kg을 고용량으로 정하고 공비 3으로 21 및 7 mg/kg 투여군을 설정하였으며, 그 밖에 매체대조군을 두었다. 각 군당 사용된 교미확인 동물수는 각각 40마리였다.

4. 투여방법 및 투여기간

위내로 강제경구투여하였으며 임신 7일에서부터 17일까지 1일 1회 오전중에 연속투여하였다. 투여액은 10 ml/kg으로서 임신 7일 및 12일의 체중을 기준으로 산출하였다.

5. 관찰 및 검사항목

일반증상관찰: 시험기간중 매일 동물의 일반증상, 중독증상 및 사망유무에 대하여 관찰하였다.

체중측정: 각 군의 전 동물에 대하여 임신 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 및 20일째에 체중을 측정하였다.

부검: 각 군당 2/3의 동물은 임신 21일째에 그리고 자연분만군에 속한 동물(각 군당 1/3)은 포육 21일째에 부검을 실시하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전 장기에 대해서 육안적인 검사를 실시하였다.

제왕절개: 각 군당 2/3의 동물들을 임신 21일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 사망태자수, 흡수배아(태아)수, 생존태자의 성별 및 체중 등을 조사하였다.

태자의 외표검사: 생존태자를 자궁에서 적출한 후 즉시 외표이상의 유무를 관찰하고, 왼쪽 자궁각의 난소축에서 번호를 매겨 흡수번호는 골격검사에, 그리고 짝수번호는 내부장기검사에 사용하였다.

내부장기검사: 각 배당 생존태자를 Bouin's 용액에 고정된 후 두부 및 복부는 Wilson법(Wilson과 Warkany, 1972), 흉부는 현미해부법(Nishimura, 1974)에 의하여 내부장기이상 유무를 검사하였다.

골격검사: 각 배당 생존태자를 95% 에틸알콜에 고정하여 Inouye법(Inouye, 1976)에 따라 골격표본을 제작한 후 골격이상 유무와 골화상태에 대하여 검사하였다.

임신, 분만 및 포육관찰: 유산, 조산 및 난산 등의 이상 유무를 관찰하고 임신 기간을 기록하였으며, 분만동물에 대해서는 포육 0, 4 및 21일째의 생존자수를 관찰하여 F1 동물의 생후 4일째 생존율과 이유율을 산출하였다.

차세대동물의 검사: 각 분만동물에 대하여 출산일에 생존자수, 사망자수, 생존자의 체중, 성비 및 외표기형 발현 유무 등을 조사하였다. 자연분만시켜 얻은 F1 동물을 생후 4일째에 각 어미동물에 대하여 암수 각각 4마리씩 되게 조정(한 배당 신생자수가 8마리가 안될 때에는 조정하지 않았슴)하고 성장시험군, 생식시험군, 행동시험군 및 이유부검군의 4개 시험군에 암수 각각 1마리씩 속하도록 나눈 후 시험을 실시하였다.

이유부검군의 동물들은 생후 21일째에 부검하여 체표,

체강, 흉강 및 복강의 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다.

성장시험군의 동물들은 생후 1주부터 10주째까지 암수 각각 주 1회 체중을 측정하였고, 발육분화상태[이개개전(2), 피모발생(9), 절치봉출(9) 및 안검개열(13)]을 관찰하였으며, 10주째에 부검하여 간장, 신장, 심장, 비장, 흉선, 부신 및 정소 또는 난소의 중량을 측정하였다(()는 관찰 시작일령을 나타냄).

행동시험군의 동물에 대해서는 생후 4일부터 21일째까지 1일 1회씩 견인력시험을, 11주째에는 미로시험을 실시하였다.

생식시험군의 암수 동물은 생후 10주째에 동일군내에서 형대교배를 피하여 동거시킨 후 교미율, 수태율 및 임신율 등을 산출하였고, 수컷동물은 교배후에 부검하여 육안적인 검사를 실시하였다. 암컷동물은 임신 0, 7, 14 및 21일째에 체중을 측정하였고, 임신 21일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 사망태자수, 흡수배아(태아)수, 생존태자의 성별, 체중 및 외표이상 등을 조사하였다.

6. 통계학적 분석

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(SAS institute Inc., Ver. 6.04)을 이용하였으며, 체중 및 장기중량은 일원배치분산분석(ANOVA)과 Dunnett 다중비교검정을, 빈도수를 나타내는 시험자료는 Kruskal-Wallis(H) 검정과 Dunnett 다중비교검정법으로 각각 대조군과 유의차검정을 실시하였다. 태자에 대한 시험자료는 성비를 제외하고 한배에서 나온 태자들의 평균체중, 빈도수(황체수, 흡수배아수, 사망태자수)를 이용하여 통계분석하였고, 성비에 대한 분석은 χ^2 검정을 실시하였으며, 출생자에 대한 시험자료는 모동물 단위로 정리하여 분석하였다. 통계학적인 유의성은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

III. 실험결과

1. 모동물(F0) 및 태자(F1)에 대한 영향

일반증상: 모동물의 임신기간동안 7 mg/kg군에서는 황적색 뇨가 임신 11일째에는 2례(6%), 12일째에는 16례(50%), 13일째에는 30례(94%), 14일째부터 17일째까지는 각각 32례(100%) 그리고 18일째에는 5례(16%)가 관찰되었다. 21 mg/kg군에서는 황적색 뇨가 임신 10일째에 25례(69%), 11일부터 17일째까지는 모든 동물에서, 그리

고 18일째에는 30례(83%)에서 발견되었다. 63 mg/kg군에서는 황적색 뇨가 임신 7일째에 3례(9%), 8일째에 18례(56%), 9일부터 18일째까지는 모든 동물에서, 그리고 19일째에는 26례(81%)가 관찰되었다. 또한 63 mg/kg군에서는 황적색 피모가 임신 8일째에 13례(41%), 9일째에 27례(84%)가 나타났다. 상기 소견들은 모두 시험물질의 투여에 기인한 것으로 인정되었다. 한편 모동물의 포육기간동안에는 모든 군에서 어떠한 이상증상도 관찰되지 않았다.

체중: 모동물의 체중은 7 mg/kg군에서 임신 2, 8 및 12일째의 체중이 대조군에 비하여 통계학적으로 유의성있게 증가하였는데(Fig. 1), 임신 2일째의 체중증가는 시험물질 투여이전에 일어난 것으로서 시험물질과는 무관한 우발적 소견(accidental finding)이었고, 임신 8일과 12일째의 체중증가는 용량상관성이 없어서 시험물질에 의한 변화는 아닌 것으로 사료되었다. 63 mg/kg군에서는 임신 12, 14, 16, 18 및 20일째의 체중이 유의성있게 감소하였으며 이는 시험물질에 의한 변화로 판단되었다.

부검소견: 모동물의 임신 21일 및 포육 21일째 부검시 모든 군에서 어떠한 특이소견도 관찰되지 않았다.

제왕절개: 모동물의 임신 21일째 제왕절개시 7 및 21 mg/kg군에서의 모든 결과는 대조군에 비해 유의성이 인정되지 않았으나 63 mg/kg군에서는 임신황체수와 태아 사망수가 유의성있게 증가하였고 생존태자의 동복자수와 암수 체중이 유의성있게 감소하였다(Table 1). 임신황체는 수정이 성립되면서부터 발달하는 것으로서 63 mg/kg

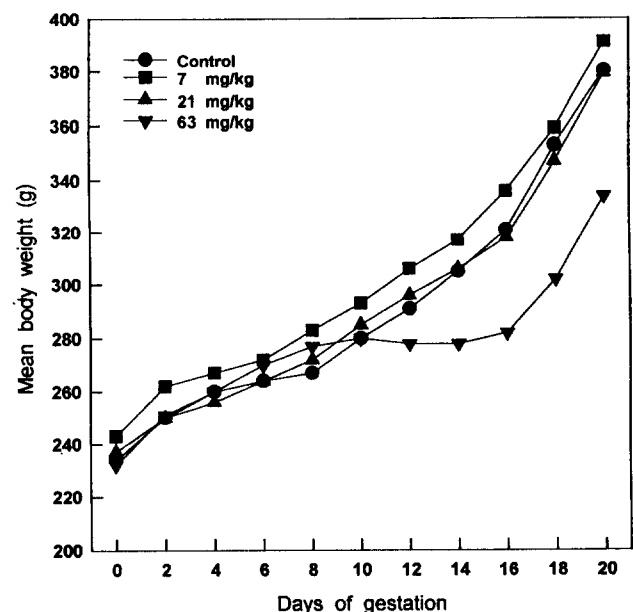


Fig. 1. Mean body weight changes during the gestation of dams treated with KTC-1

Table 1. Cesarean section data of dams treated with KTC-1

Parameter	Treatment(mg/kg/day)			
	0	7	21	63
No. of dams	23	22	26	22
Corpora lutea: mean \pm S.D.	17.0 \pm 2.5	17.3 \pm 2.6	18.5 \pm 3.7	20.4 \pm 4.2**
Implantations: mean \pm S.D.	14.3 \pm 2.6	15.1 \pm 2.7	14.5 \pm 3.3	14.9 \pm 2.3
% to corpora lutea	84.1	87.3	78.4	73.0
Fetal deaths: mean \pm S.D. (resorptions+dead fetuses)	1.0 \pm 1.3	1.0 \pm 1.0	0.5 \pm 0.6	5.9 \pm 5.4**
Resorptions	23	19	14	121**
Dead fetuses	0	3	0	9**
Live fetuses				
Male/female	138/167	158/153	185/178	114/84
Litter size: mean \pm S.D.	13.3 \pm 2.6	14.1 \pm 2.8	14.0 \pm 3.1	9.0 \pm 5.5*
% to implantation	93.0	93.4	96.6	60.4
Sex ratio(male/female)	0.83	1.03	1.04	1.36
Body weights of live fetuses				
Male: mean \pm S.D.	4.0 \pm 0.4	4.0 \pm 0.3	4.0 \pm 0.3	3.0 \pm 0.5**
Female: mean \pm S.D.	3.7 \pm 0.3	3.7 \pm 0.3	3.8 \pm 0.2	2.9 \pm 0.5**

* and ** indicate significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels when compared with the control group.

Table 2. Visceral and skeletal findings in F1 fetuses from dams treated with KTC-1

Parameter	Treatment(mg/kg/day)			
	0	7	21	63
Visceral examination				
No. of dams	23	22	26	22
No. of fetuses examined	152	156	183	99
No. of fetuses with anomalies(%)	0	2(1.3)	0	5(5.1)
Dilatation of the lateral ventricle	0	1	0	0
Cleft palate	0	1	0	5
No. of fetuses with variations(%)	5(3.3)	3(1.9)	8(4.4)	1(1)
Dilatation of the renal pelvis	0	2	1	0
Dilatation of the ureter	5	1	7	1
Skeletal examination				
No. of dams	23	22	26	22
No. of fetuses examined	151	145	180	90
No. of fetuses with anomalies(%)	0	0	1(0.6)	0
Shortened 13th rib	0	0	1	0
No. of fetuses with variations(%)	10(6.6)	23(15.9)	51(28.3)**	28(31.1)**
Lumbar(14th) rib	10	23	51	28
No. of ossification centers: mean \pm S.D.				
Sternebrae	5.8 \pm 0.1	5.7 \pm 0.1	5.7 \pm 0.1	5.5 \pm 0.3
Metacarpals in both forelimbs	8.0 \pm 0.0	7.9 \pm 0.1	8.0 \pm 0.0	8.0 \pm 0.0
First phalanges in both forelimbs	3.4 \pm 0.2	3.1 \pm 0.3	3.6 \pm 0.1	3.1 \pm 0.3
Metatarsals in both hindlimbs	8.0 \pm 0.0	8.0 \pm 0.0	8.0 \pm 0.0	8.0 \pm 0.0
First phalanges in both hindlimbs	0.1 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.1 \pm 0.1	0.0 \pm 0.0
Sacral and caudal vertebrae	8.1 \pm 0.1	8.1 \pm 0.1	8.2 \pm 0.0	7.8 \pm 0.2

** indicates significant difference at $P < 0.01$ level when compared with the control group.

군에서 관찰된 황체수의 증가는 임신 7일째부터 투여된 시험물질과는 무관한 소견이었고, 태아사망수의 증가와 동복자수 및 태자체중의 감소는 시험물질의 영향으로 판단되었다.

외표검사: 제왕절개시 생존태자의 외표이상 유무를 관

찰한 결과 모든 시험군에서 어떠한 외표기형도 관찰되지 않았다.

내부장기검사: 임신 21일째에 적출한 태자의 내부장기 검사시 7 mg/kg군에서는 측뇌실확장(dilatation of the lateral ventricle)과 구개열(cleft palate, Photo. 1)이 각각

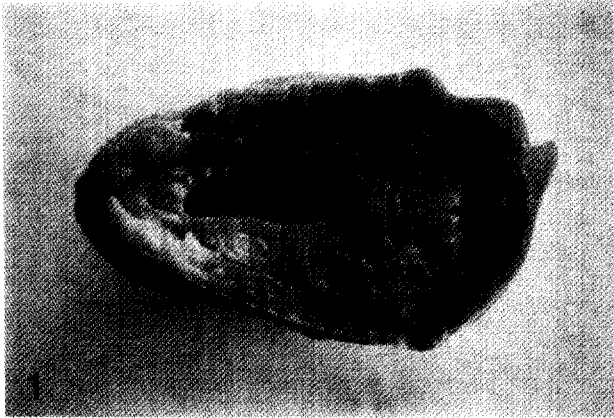


Photo 1. Cleft palate (arrow) in a fetus of the 63 mg/kg/day group.

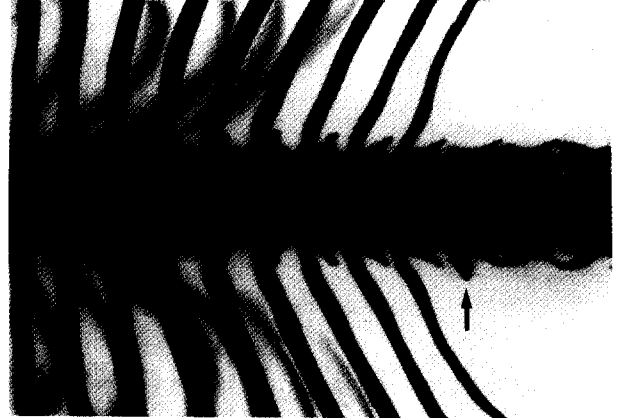


Photo 2. Lumbar rib (14th rib, arrow) in a fetus of the 21 mg/kg/day group.

Table 3. Reproductive and littering findings of dams treated with KTC-1

Parameter	Treatment(mg/kg/day)			
	0	7	21	63
No. of dams	10	10	10	10
No. of live newborns at birth	130	131	138	99
Male/female	61/69	68/63	69/69	53/46
Sex ratio(male/female)	0.88	1.08	1.00	1.15
Litter size: mean \pm S.D.	13.0 \pm 3.0	13.1 \pm 1.8	13.8 \pm 1.8	9.9 \pm 4.6
No. of neonates with external anomalies	0	0	0	0
No. of dead newborns at birth	0	0	0	7**
Pregnancy period(day): mean \pm S.D.	22.9 \pm 0.3	23.0 \pm 0.0	22.4 \pm 0.7	23.1 \pm 0.6
Viability index ^{a)} (%): mean \pm S.D.	98.7 \pm 2.7	99.4 \pm 1.8	100.0 \pm 0.0	79.2 \pm 41.8
Lactation index ^{b)} (%): mean \pm S.D.	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	95.3 \pm 9.3
Delivery index ^{c)} (%)	100	100	100	100

^{a)}No. of live youngs on day 4 of lactation/No. of live newborns at birth \times 100.

^{b)}No. of weanlings/No. of live youngs on day 4 after litter size control \times 100.

^{c)}No. of dams with live newborns/No. of pregnant animals \times 100.

** indicates significant difference at $P < 0.01$ level when compared with the control group.

1례씩 관찰되었는데(Table 2), 이들은 기형 (malformation)에 속하는 소견이지만 발현율이 낮아 시험물질에 기인한 영향은 아닌 것으로 판단되었다. 63 mg/kg군에서는 구개열이 5례 관찰되었는데, 이는 대조군에 비하여 통계학적 유의성은 없었으나 자연발생적인 발현율(Morita 등, 1987; Manson과 Kang, 1989)을 훨씬 상회하는 것으로서 생물학적 유의성이 인정되어 시험물질의 영향으로 사료되었다. 신우확장 (dilatation of the renal pelvis)과 요관확장 (dilatation of the ureter)은 모든 군에서 소수예씩 관찰되었는데, 이들은 변이(variation)에 속하는 자연발생적인 소견들로서 시험물질에 의한 영향은 아니었다.

골격검사: 랫트태자의 골격소견은 기능장애 유발여부와 골화정도 등에 따라서 기형, 변이 및 골화 지연(retardation)으로 구분된다. 임신 21일째에 적출한 태자의 골격검사시 21 mg/kg군에서 경기형 (minor anomaly)

인 말늑골단소 (shortened 13th rib)가 1례 관찰되었는데 (Table 2) 이는 발현율이 낮아 자연발생적인 소견으로 판단되었다. 반면 골격변이인 요늑 (lumbar rib, Photo. 2)은 21 mg/kg군에서 51례(28%) 및 63 mg/kg군에서 28례(31%)가 관찰되어 대조군에 비하여 각각 유의성있게 증가하였는데 이는 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

임신, 분만 및 포육관찰소견: 포육동물의 임신기간과 분만을, F1 동물의 생후 4일째 생존율 및 이유율에 있어서 대조군과 각 투여군간의 유의차는 인정되지 않았다 (Table 3). 그러나 63 mg/kg군에서는 포육 3일째에 모든 출생자가 사망한 포육동물이 2례 관찰되었으며 이로 인하여 생후 4일째 생존율이 감소하였는데, 이는 대조군에 비하여 통계학적 유의성은 나타나지 않았으나 정상적으로는 관찰되지 않는 소견으로서 생물학적 유의성이 인정되

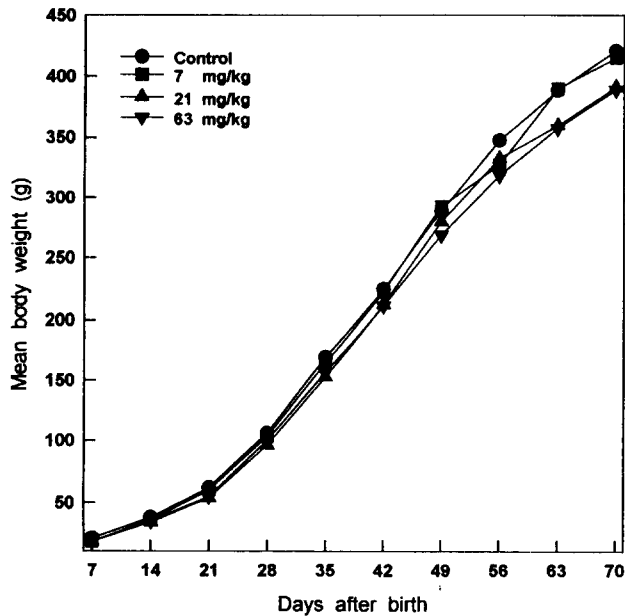


Fig. 2. Mean body weight changes of F1 male rats from dams treated with KTC-1

어 시험물질의 투여에 의한 변화로 생각되었다.

2. 차세대 동물(F1)에 대한 영향

출산시 소견: 모동물의 분만시 조사된 생존자수, 생존자의 성비 및 외표소견 등에 있어서 대조군과 각 투여군 간의 유의차는 인정되지 않았다(Table 3). 반면 63 mg/kg군에서는 출생시 사망자수가 유의성있게 증가하였는데 이는 시험물질의 영향으로 인정되었다.

부검소견(이유부검군): 이유부검군에 속한 F1 암수동물의 생후 21일째 부검시 모든 군에서 어떠한 특이소견도 관찰되지 않았다.

일반증상(성장시험군): 성장시험군에 속한 F1 동물에 대해 출생시부터 10주째까지 일반증상관찰을 실시한 바 대조군과 투여군에서 어떠한 특이소견도 관찰되지 않았다.

체중(성장시험군): 성장시험군에 속한 F1 동물에 대해 생후 1주부터 10주째까지 체중을 측정한 결과 수컷동물의 경우 7 mg/kg군의 1주째 체중과 21 mg/kg군의 1~3주 및 5주째 체중 그리고 63 mg/kg군의 1주째 체중이 대조군에 비하여 각각 유의성있는 감소를 나타냈다(Fig. 2). 암컷동물에 있어서는 7 mg/kg군의 1주째 체중과 21 mg/kg군의 1~5주째 체중 그리고 63 mg/kg군의 1~5주, 8주, 9주 및 10주째 체중이 대조군에 비하여 각각 유의성 있는 감소를 보였다(Fig. 3). 상기한 소견중 7 mg/kg군의

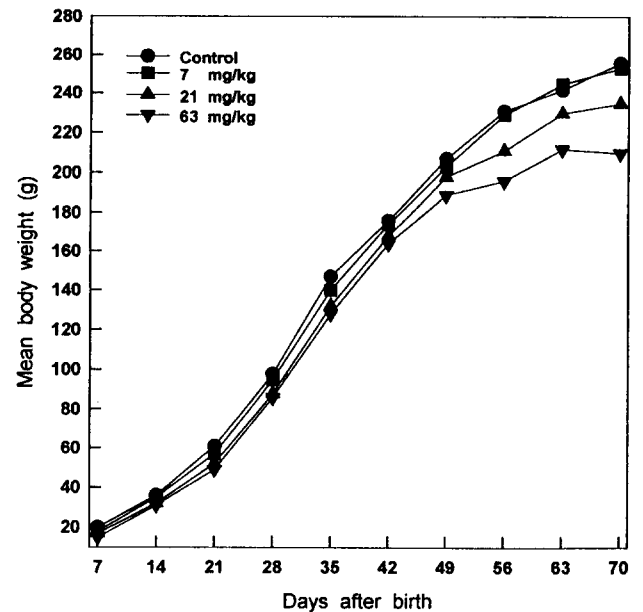


Fig. 3. Mean body weight changes of F1 female rats from dams treated with KTC-1

암수동물에서 관찰된 1주째 체중증가의 억제는 대조군에 비해 일시적으로 나타났으나 정도가 경미하고 또한 이후부터는 대조군과 유사한 체중증가를 나타내어 의미있는 변화는 아니라고 생각되었으며, 21 및 63 mg/kg군에서 관찰된 체중증가의 억제는 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

분화상태(성장시험군): 성장시험군에 속한 F1 동물에 대해 이개개전, 피모발생, 절치분출, 안검개열 등의 분화상태를 관찰한 결과 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성을 나타내지 않았다.

부검소견(성장시험군): 성장시험군에 속한 F1 동물에 대해 생후 10주째에 부검을 실시한 바 모든 군에서 어떠한 특이소견도 관찰되지 않았다.

장기중량(성장시험군): 성장시험군에 속한 F1 동물의 10주째 부검시 측정된 절대장기중량은 7 mg/kg군에서 수컷의 우측정소와 암컷의 우측난소가 대조군에 비해 유의성있게 감소하였고, 21 mg/kg군에서는 암컷의 심장과 우측난소가 유의성있게 감소하였으며, 63 mg/kg군에서는 수컷의 비장과 우측정소 및 암컷의 비장과 심장이 각각 유의성있게 감소하였다. 상대장기중량은 7 mg/kg군에서 암컷의 우측난소가 유의성있게 감소하였고, 63 mg/kg군에서는 수컷의 비장이 유의성있게 감소하였다(Table 4, 5). 상기 소견들 중 7 mg/kg군에서 나타난 수컷 우측정소와 21 mg/kg군의 암컷 심장 및 우측난소, 그리고 63 mg/kg군의 수컷 우측정소 및 암컷 비장과 심장의 절대중량

Table 4. Relative organ weights of F1 male rats from dams treated with KTC-1

Parameter	Treatment(mg/kg/day)			
	0	7	21	63
No. of animals	10	10	10	7
Body weight (g)	420.8±48.5	414.9±38.2	390.7±48.7	387.8±31.3
% Body weight				
Adrenal gland-left	0.008±0.001	0.008±0.002	0.009±0.002	0.008±0.001
Adrenal gland-right	0.008±0.002	0.007±0.002	0.008±0.002	0.007±0.001
Liver	4.825±1.580	5.234±0.458	4.899±0.842	5.056±0.481
Kidney-left	0.425±0.033	0.453±0.035	0.460±0.048	0.443±0.036
Kidney-right	0.425±0.039	0.461±0.036	0.470±0.047	0.447±0.028
Heart	0.318±0.031	0.329±0.050	0.303±0.023	0.279±0.014
Thymus	0.157±0.039	0.144±0.035	0.150±0.048	0.158±0.059
Spleen	0.226±0.030	0.234±0.039	0.205±0.033	0.181±0.028*
Testis-left	0.460±0.043	0.425±0.045	0.471±0.053	0.466±0.040
Testis-right	0.458±0.043	0.422±0.047	0.460±0.053	0.446±0.021

Values are mean±S.D.

* indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

Table 5. Relative organ weights of F1 female rats from dams treated with KTC-1

Parameter	Treatment (mg/kg/day)			
	0	7	21	63
No. of animals	10	10	10	6
Body weight (g)	256.1±23.0	252.5±22.3	234.8±32.1	210.0±42.4
% Body weight				
Adrenal gland-left	0.015±0.003	0.016±0.003	0.016±0.003	0.018±0.005
Adrenal gland-right	0.014±0.004	0.015±0.002	0.014±0.003	0.015±0.003
Liver	5.114±0.375	5.057±0.386	5.178±0.534	5.302±0.634
Kidney-left	0.440±0.046	0.423±0.022	0.444±0.047	0.471±0.092
Kidney-right	0.438±0.053	0.434±0.030	0.457±0.055	0.495±0.102
Heart	0.366±0.029	0.341±0.028	0.333±0.042	0.343±0.047
Thymus	0.194±0.053	0.201±0.024	0.194±0.076	0.189±0.053
Spleen	0.249±0.029	0.246±0.040	0.234±0.032	0.221±0.020
Ovary-left	0.029±0.004	0.050±0.084	0.022±0.004	0.030±0.012
Ovary-right	0.031±0.007	0.023±0.004*	0.026±0.004	0.033±0.011

Values are mean±S.D.

* indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

감소는 체중감소에 따른 상대적 감소로서 시험물질에 의한 변화는 아닌 것으로 판단되었다. 또한 7 mg/kg군에서 나타난 암컷 우측난소의 절대 및 상대중량 감소는 용량 상관성이 결핍되어 우발적인 중량변화로 판단되었고, 63 mg/kg군에서 관찰된 수컷 비장의 절대 및 상대중량 감소는 시험물질의 영향으로 인정되었다.

행동기능검사(행동시험군): 행동시험군에 속한 F1 동물에 대해 견인력시험과 미로시험을 실시한 결과 대조군과 각 투여군간의 유의차는 인정되지 않았다.

교배성적(생식시험군): 생식시험군에 속한 F1 동물을 10주째에 교배시켰을 때 모든 투여군의 교미율, 수태율 및 임신율은 대조군과 비교하여 유의성을 나타내지 않았다.

체중(생식시험군): 생식시험군에 속한 F1 모동물의 임

신기간 동안 체중을 측정된 결과 대조군과 각 투여군간의 유의차는 인정되지 않았다.

제왕절개성적(생식시험군): 생식시험군에 속한 F1 모동물의 임신 21일째 제왕절개시 조사된 황태수, 착상수, 흡수배아(태아)수, 사망태자수, 생존태자수, 생존태자의 체중, 성비 및 외표소견은 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성을 나타내지 않았다.

IV. 고 찰

KTC-1은 현재 종근당(주) 연구소에서 개발중에 있는 항결핵성 항생제로서 동일계의 대표적인 항결핵제 rifampicin의 결점을 보완한 반합성 rifamycin 유도체이다. 이

러한 KTC-1을 0, 7, 21 및 63 mg/kg의 용량으로 Sprague-Dawley 계통의 랫트에 임신 7일부터 17일까지 경구 투여하여 모동물, 태자 및 차세대 동물에 미치는 영향을 조사하였다.

모동물의 일반상태 관찰시 모든 투여군에서 나타난 황적색 뇨는 고용량으로 갈수록 그 발생예와 정도가 증가하였고, 황적색 피모는 63 mg/kg군의 전 동물에서 관찰되었는데, 이는 경구적으로 투여된 적갈색의 시험물질이 상피 조직으로 침착되거나 요중으로 배설됨으로서 나타난 것으로 시험물질에 의한 독성소견으로는 판단되지 않는다.

모동물의 체중에 있어서 63 mg/kg군의 임신 12일째부터 임신 말기까지 관찰된 체중증가의 억제소견은 시험물질의 투여에 따른 모독성(maternal toxicity)의 결과로 사료된다.

임신 21일째 제왕절개시 63 mg/kg군에서 관찰된 태아 사망의 증가는 다수의 배아흡수에 태자의 사망을 동반한 소견으로서 시험물질의 배아사망효과(embryocidal effect)로 설명된다. Rifampicin은 사람에 있어서 모체 혈중 농도의 12~33%가 태반을 통하여 태아에게 이행한다고 하는데 (Kenny와 Strates, 1981), 본 시험에서도 기관형성기에 투여된 KTC-1이 태반을 통과한 후 투여초기에 다수의 배아사망을 유발하고 임신말기에는 태아의 사망을 일으켰으며 이로 인하여 생존태자수가 감소한 것으로 판단된다. 63 mg/kg군에서 관찰된 암수 생존태자의 체중감소는 시험물질의 자궁내 발육지연효과(intrauterine growth retardation effect)로서 이것은 *in vitro* 시험조건하에서 랫트배아의 발육지연을 야기한다는 Greenaway와 Fantel(1983)의 연구결과와 일치한다.

Jager 등(1974)은 마우스에서 임신 9일과 10일에 rifampicin 250 mg/kg을 연속투여한 후 발육지연, 배아사망, 구개열 및 늑골과 척추의 기형 등을 관찰하였고, Steen과 Stainton-Ellis(1977)는 임신랫트의 기관형성기에 rifampicin 150 mg/kg을 연속투여하여 무뇌증, 구개열, 이분척추 및 골화지연 등을 유발하였다. 그런데 본 시험에서는 태자의 내부장기검사시 63 mg/kg군에서 기형인 구개열이 비교적 높은 빈도(5%)로 나타나 상기 연구자들의 보고와 유사한 결과를 얻었으며 KTC-1이 구개의 발생에 간섭(interference)함을 알 수 있다.

낮은 빈도의 변이는 보통 시험물질과 무관하게 자연발생적으로 나타날 수도 있지만 그 발현율이 현저히 높거나 용량상관성있게 나타날 경우 시험물질에 의한 독성효과로 간주된다. 본 연구에서 태자의 골격검사시 21 및 63 mg/kg군에서 요늑이 매우 높은 발현율(각각 28% 및 31%)로 나타남으로서 KTC-1이 변이유도물질임을 알 수 있었다. 그런데 Yasuda와 Maneda(1972)의 보고에 의하

면 랫트와 마우스에 있어서 골격변이인 요늑의 출현빈도는 기형유발성의 평가에 유용한 지표로 이용될 수 있다고 한다.

모동물의 분만시 63 mg/kg군에서 관찰된 사망자수의 증가는 태아사망효과(fetocidal effect)로서 기관형성기에 투여된 시험물질이 투여초기에 배아의 사망을 일으키고 또한 임신 말기에는 태아의 사망을 유발함으로써 분만시 사망자수가 증가한 것으로 판단된다.

모동물의 포육관찰시 63 mg/kg군의 F1 동물에서 나타난 생후 4일째 생존율의 감소는 자연발생적인 발현율을 훨씬 상회하는 것으로서, 사망동물의 부검시 위내에 유즙함량이 전혀 없는 것으로 보아 모동물이 시험물질의 투여에 의해 체중감소와 함께 수유능력을 일부 또는 완전히 상실함으로써 야기된 것으로 판단된다.

성장시험군에 속한 F1 동물의 체중측정시 21 mg/kg군에서 관찰된 수컷의 1~3주 및 5주째와 암컷의 1~5주째의 체중증가 억제는 모유를 통해 이행한 시험물질의 발육지연효과와 모동물의 수유능력감소 등을 원인으로 고려할 수 있다. 그런데 미국 소아과학회 의약품위원회(1983)는 rifampicin이 모유를 통하여 1~3 µg/ml 정도가 분비되지만 이로 인한 유아의 독성영향은 보고된 바가 없다고 하며 또한 수유시에도 투약을 허용하고 있다. 이것으로 미루어 보아 rifampicin과 동일계 유도체인 KTC-1이 수유를 통하여 F1 동물의 성장에 많은 영향을 끼쳤다고 단정하기는 어려우며, 모동물의 수유능력저하가 체중증가의 억제에 직접적인 원인으로 사료된다. 또한 63 mg/kg군에 나타난 수컷의 1주째와 암컷의 1~5주, 8주, 9주 및 10주째의 체중증가 억제는 자궁내 발육지연에 따른 출생시의 체중감소와 모동물의 수유능력저하 등이 주된 원인으로 판단된다.

성장시험군에 속한 F1 동물의 부검시 63 mg/kg군에서 관찰된 수컷 비장의 절대 및 상대중량감소는 시험물질이 조혈기계 및 임파기계에 속하는 비장에 독성증상을 나타냄을 알 수 있으며, 병리조직소견이 없어서 단정하기는 어려우나 시험물질의 투여에 의해 차세대 동물의 비장에 있어서 실질세포의 비가역적인 손상이 일어난 것으로 사료된다.

본 시험에서 얻은 결과중 태자의 체중감소, 태아사망의 증가 및 구개열과 요늑의 발현율증가는 rifampicin의 최기형성 연구(Jager 등, 1974; Steen과 Stainton-Ellis, 1977)에서도 관찰된 소견으로서 동일계열의 약제와 비교할 때에 질적독성효과(qualitative effect)의 유사성이 있음을 확인할 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 최기형시험에 의한 KTC-1의 무해용량(NOEL)은 모동물에 있어서 21 mg/

kg/day, F1 태자 및 차세대 동물에 있어서는 7 mg/kg/day이라고 사료된다.

감사의 말씀

시험물질 KTC-1을 제공해 주신 종근당 중앙연구소와 본 시험을 수행하는데 많은 도움을 주신 차신우, 서정은, 황선구씨께 감사를 드립니다.

참고문헌

- Arioli, V., Berti, M., Carniti, G., Randisi, E., Rossi, E. and Soctti, R. (1981): Antibacterial activity of DL 473, a new semisynthetic rifamycin derivative. *J. of Antibiot.*, **34**, 1026-1032.
- Committee on drugs, American Academy of Pediatrics. (1983): The transfer of drugs and other chemicals into breast mil. **72**, 375-383.
- Greenaway, J.C. and Fantel, A.G. (1983): Enhancement of rifampin teratogenicity in cultured rat embryos. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **69**, 81-88.
- Holdiness, M.R. (1987): Teratology of the antituberculosis drugs. *Early Human Development*, **15**, 61-74.
- Inouye, M. (1976): Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by alcian blue and alizarin red S. *Cong. Anom.*, **16**, 171-173.
- Jager, E., Merker, H.J. and Rass, R. (1974): Investigations on the mode of teratogenic action of high doses of rifampicin. *Teratology*, **10**, 312.
- Kenny, M.T. and Strates, B. (1981): Metabolism and pharmacokinetics of the antibiotic rifampin. *Drug Metab. Rev.*, **12**(1), 159-218.
- Maggi, N. *et al.* (1966): Rifampicin, a new orally active rifamycin. *Chemotherapy*, **11**, 285.
- Manson, J.M. and Kang, Y.J. (1989): Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: *Principles and methods of toxicology*. Hayes ed., Raven Press, New York, p. 311-359.
- Morita, H., Ariyuki, F., Inomata, N., Nishimura, K., Kagegawa, Y., Miyamoto, M. and Watanabe, T. (1987): Spontaneous malformations in laboratory animals: Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. *Cong. Anom.*, **27**, 147-206.
- Nishimura, K. (1987): A microdissection method for detecting thoracic visceral malformation in mouse and rat fetuses. *Cong. Anom.*, **14**(1), 23-40.
- Schlossberg, D. (1983): Tuberculosis. *Praeger monographs in infectious disease*. Vol. 2, Praeger Scientific, New York, p. 73-75.
- Snider, D.E., Layde, P.M., Johnson, M.W. and Lyle, M. A. (1980): Treatment of tuberculosis during pregnancy. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **122**, 65-79.
- Steen, J.S.M. and Stanton-Ellis, D.M. (1977): Rifampicin in pregnancy. *Lancet*, **2**, 604-605.
- Wilson, J.G. and Warkany, J. (1972): *Teratology, Principles and Techniques*. The University of Chicago Press, p. 1-277.
- Yakugyo Jiho Co. (1984): Toxicity test guideline: Collection of notifications related to the pharmaceutical affairs laws(IV), Japan.
- Yasuda, M. and Maneda, H. (1972): Significance of the lumbar rib as an indicator in teratogenicity tests. *Teratology*, **6**, 124-125.