

랫드에 대한 KDRD-010의 급성경구독성시험

곽승준 · 김형식 · 천선아 · 임소영 · 홍채영 · 박현선 · 최병천* · 이병무
성균관대학교 약학대학 독성학교실, *광동제약 중앙연구소

Acute Oral Toxicity of KDRD-010 in Rats

Seung Jun Kwack, Hyung Sik Kim, Sun Ah Chun, So Young Lim, Hyun Sun Park,
Che Young Hong, Byung Chun Choi* and Byung Mu Lee

Division of Toxicology, School of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University,
Kyunggi-Do, Suwon 440-746, Korea

*Kwang Dong Pharmaceutical Co., LTD, 212-13, Kuro-Dong, Kuro-ku, Seoul
(Received August 14, 1996)
(Accepted September 7, 1996)

ABSTRACT : This study was carried out to investigate the acute toxicity of KDRD-010 in Sprague-Dawley rats. KDRD-010 was administered orally at a dose level of 26, 78, 233, 700, and 2,100 mg/kg. In this study, we daily examined number of deaths, clinical signs, body weights, and pathological examinations for 14 days after administration of KDRD-010. The results indicate that KDRD-010 did not show any toxic effect in rats and oral LD_{50} value was over 2,100 mg/kg in Sprague-Dawley rats.

Key Words : Acute toxicity, KDRD-010, LD_{50} values, Pathological examinations

I. 서 론

본 시험은 광동제약(주)에서 단일제제를 복합하여 개발한 KDRD-010에 대한 안전성평가를 위하여 실시하였다. 본 시험에서는 시험물질 KDRD-010을 랫드에 1회 경구투여 하였을 때 나타나는 임상증상 및 체중변화등을 관찰하였으며, 사망률 산출과 부검을 시행하여 육안적 해부소견등에 의한 급성경구독성시험을 실시하였다.

물질특허 도입에 따라 새로운 신물질의 개발은 제약업계 뿐만아니라 국가적으로도 매우 시급하고 중요한 과제이다. 또한 신약의 개발에는 많은 노력과 비용과 시간이 소요되며 축적된 기술등이 요구된다고 할수 있다. 이러한 상황에서 활성작용이 있는 생약제제를 배합하여 새로운 신약을 개발한다는 것은 이에 따른 많은 시간과 경비를 절감할수 있고 안전성에 관한 문제도 어느 정도 확보될 수 있어서 앞으로 이에 대한 많은 연구가 있으리라고 사료된다.

현재 신물질의 단일성분에 대한 독성시험등은 국내 외적으로 많은 연구가 이루어져 있다. 그러나 복합제제는 개개성분의 약리작용과 독성작용이 다르기 때문에 이들 복합제제에 대한 안전성을 평가한다는것은 우리나라의 신약개발차원에서 앞으로 매우 중요한 의미

를 갖는다고 하겠다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시험물질

시험물질인 KDRD-010 (운지 다당체:SOAPH = 13.51:1)은 광동제약(주) 중앙연구소로 부터 제공받아 시험에 사용하였다.

2. 시험계 및 사육환경

시험구역은 성균관대학교 약학대학내 청정실험동물실에서 실시하였으며, 청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계 랫드를 명진무역주식회사로 부터 분양받아 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 배기 10~18회/hr, 형광등 명암 12hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 랫드용 폴리카보네이트 사육상자(220W×270L×125H mm) 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일의 순화사육기간 동안에 일반증상관찰을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 제일상사의 실험동물사료를 구입하여 실험동물에 자유로이 공급하였으

며, 음수는 멸균수도물을 자유롭게 섭취시켰다.

3. 군분리 및 투여용량의 설정

순화기간 중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정 하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다. 동물의 개체식별은 사육상자별 tag표시법을 이용하였다. 투여용량의 설정은 예비시험 결과를 토대로 하여 정하였다. 그 결과 본 제제의 투여가능 최대용량은 2,100 mg/kg이며 이것을 최고용량군으로 설정하고, 26 mg/kg을 최저용량군으로 하여 일정 공비로 5개 용량군과 대조군을 설정 하였다. 시험물질 투여 직전 시험동물의 체중범위는 수컷은 180~190 g, 암컷은 160~170 g 이었고, 주령은 약 8주령이었다.

4. 시험물질 조제 및 투여

시험물질인 KDRD-010은 2% Tween 80에 균일하게 현탁되도록 시험당일 용시조제 하였다. 시험물질 현탁액은 경구용 존데를 이용하여 1회 경구투여 하였다. 투여량은 투여직전 체중의 변화에 따라 산출하였다 (Lorke, 1983; Bruce, 1985).

5. 관찰항목

1) 임상증상관찰 및 사망동물수

모든 시험동물에 대한 임상증상관찰 및 사망동물수는 약물투여직후부터 6시간동안은 매 시간마다 관찰하였으며, 투여 익일부터 14일까지는 1일 1회로 동물의 일반상태의 변화, 중독증상 및 사망 유,무를 관찰하였다 (Zbinden and Flury-Roversi, 1981)

2) 체중측정

시험에 사용된 모든 시험동물에 대하여 시험물질 투여직전, 투여후 1일, 3일, 6일, 9일, 12일 및 14일에 체중을 측정하였다.

3) 부검

시험종료후 동물의 체중을 측정한후 ether로 마취하고 설하동맥 및 복부대동맥을 절단하여 치사시킨 다음 외관 및 내부장기의 이상유무를 육안적으로 상세히 관찰하였다. 또한 의심스러운 이상소견이 관찰된 모든 조직은 현미경적 소견을 관찰하기 위하여 10% 포르말린 용액에 고정시켰다.

6. 자료의 통계학적 해석

통계학적 처리는 Student's-t 검정을 행하고 P<0.05, P<0.01의 수준으로 대조군과 시험물질투여군을 비교하였다.

III. 결 과

1. 사망동물에 및 임상증상

약 8주령의 SD계 랫드에 시험물질 KDRD-010를 급성경구독성시험에서 투여가능최고용량률 2,100 mg/kg으로 하고 공비를 3으로 하여 5용량군을 경구투여한 결과 시험물질 투여군에서 암,수 모두 사망에는 없었다 (Table 1). 또한 시험물질 투여후 대조군에 비해 특이적으로 관찰된 일반증상의 변화도 없었다. (Table 2).

Table 1. Survivals in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-010

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment							Final mortality
		0	1	2	3	6	9	12	
Male	CON ^a	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	26	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	78	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	233	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	700	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
Fe-male	2,100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	CON	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	26	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	78	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	233	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	700	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	2,100	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10

^aCON: Treated with 2% Tween 80 solution.

Table 2. Clinical signs in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-010

Sex	Dosage (mg/kg)	Clinical signs	Hour after treatment						Days after treatment							
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	6	9	12	14	
Male	CON ^a	ND ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	78	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	233	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	700	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fe-male	2,100	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CON	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	78	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	233	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	700	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2,100	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^aCON: Treated with 2% Tween 80 solution.

^bND: Not detected

Table 3. Body weights in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-010

Sex	Dosage (mg/kg)		Days after treatment					
			0	3	6	9	12	14
Male	CON*	Mean	174.6	189.6	208.6	221.7	233.4	239.9
		SD	9.72	3.37	7.91	7.76	10.03	8.37
		(n)	10	10	10	10	10	10
	26	Mean	186.1	197.5	208.6	218.8	233.9	228.3
		SD	6.62	9.55	9.67	12.11	11.52	10.79
		(n)	10	10	10	10	10	10
	78	Mean	185.6	196.8	206.4	219.0	226.7	233.7
		SD	6.28	6.99	9.32	11.91	12.07	10.27
		(n)	10	10	10	10	10	10
	233	Mean	187.2	203.1	213.5	221.2	229.0	235.4
		SD	10.30	8.52	11.27	10.01	8.85	7.66
		(n)	10	10	10	10	10	10
	700	Mean	182.5	200.6	216.1	28.5	236.7	243.7
		SD	8.43	7.64	6.52	5.68	4.83	4.54
		(n)	10	10	10	10	10	10
2,100	Mean	182.5	196.8	210.6	219.6	226.4	231.4	
	SD	7.53	8.79	14.62	14.87	14.61	13.07	
	(n)	10	10	10	10	10	10	
Fe-male	CON*	Mean	161.6	172.9	184.0	197.2	209.2	216.0
		SD	3.13	1.96	3.29	6.33	26.23	7.45
		(n)	10	10	10	10	10	10
	26	Mean	171.8	177.0	182.2	186.0	194.3	200.8
		SD	8.18	8.60	9.25	8.34	6.20	6.61
		(n)	10	10	10	10	10	10
	78	Mean	172.4	177.1	181.1	186.4	197.6	203.6
		SD	6.42	7.40	8.84	8.64	10.07	10.66
		(n)	10	10	10	10	10	10
	233	Mean	171.1	177.0	182.4	186.1	191.6	199.2
		SD	7.99	8.07	9.25	9.55	10.03	9.62
		(n)	10	10	10	10	10	10
	700	Mean	170.2	173.9	184.0	191.8	197.2	202.8
		SD	3.67	6.06	5.49	6.86	7.33	8.10
		(n)	10	10	10	10	10	10
2,100	Mean	172.7	179.8	183.7	185.6	191.0	196.7	
	SD	4.74	3.99	5.48	5.80	5.83	7.05	
	(n)	10	10	10	10	10	10	

SD = Standard Deviation

(n) = number of animals

*CON = Treated with 2% Tween 80 solution

2. 체중측정결과

체중측정 결과 시험물질 투여한 후 14일동안 관찰하였을때 암,수 모두 대조군에 비해 유의성 있는 차이를 보인 체중변화는 인정되지 않았으며 시험물질 투여군 간에도 체중의 변화에 유의한 차이는 없었다(Table 3).

3. 육안적 해부소견

KDRD-010를 투여한 수컷과 암컷의 고용량군 1예에서 폐의 부분적 출혈 반점이 있었으나 시험물질에 기인한 원인이라고는 사료되지 않았다(Table 4). 폐의 미세한 출혈반점은 동물실험에서 일반적으로 관찰될 수 있는 현상으로 무시할 수 있는 소견으로 사료된다.

IV. 고 찰

시험물질 KDRD-010를 Sprague-Dawley계 랫드에 2, 100 mg/kg, 700 mg/kg, 233 g/kg, 78 mg/kg 및 26 mg/kg을 투여용량군으로 하여 1회 경구투여한 후 급성독성을 조사하여 그 안전성을 평가하였다(National Institute of Safety Research, 1994; Obara, 1992). 시험물질의 최대투여가능용량인 2,100 mg/kg에서 암,수 모두 사망에는 없었으며 또한 그 이하의 투여용량군에서도 사망동물은 없었다. 시험물질 투여후 나타내는 외관상의 이상증상도 보이지 않았다. 체중의 변화에서는 시험물질투여군과 대조군간의 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다. 육안적 해부소견으로는 수컷과 암컷의 중간용량군 1예에서 비장의 비정상적인 증대가 관찰되었다. 이것은 약물에 의한 영향으로 평가되지 않았다.

Table 4. Incidence of necropsy findings in male SD rats orally treated with KDRD-010

Sex	Organ	Dosage(mg/kg)	Male					Female						
			CON*	26	78	233	700	2,100	CON	26	78	233	700	2,100
		No. of rats	10	10	10	10	10	10						
	Adrenal Gland	L.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		R.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Brain		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Heart		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Liver		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Kidney		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Interstitial Pneumonia		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Calcification													
	Spleen		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Testis	L.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(Ovary)	R.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Stomach		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*CON1; Treated with 2% Tween 80 solution

또한 수컷 저용량군 및 대조군에서 폐의 부분적 출혈 반점이 있었으나 이들은 모두 시험물질에 기인한 원인이 아니라 동물실험에서 일반적으로 관찰될 수 있는 환경에 기인한 원인으로 무시할 수 있는 소견으로 사료된다(Yamashita, 등, 1992; Cho 등, 1993a; Cho 등, 1993b). 이상과 같이 KDRD-010의 랫드에 대한 급성경구독성시험에서 상기의 일반상태, 체중변화 및 부검소견등에는 별다른 독성이 관찰되지 않았으며 최대투여 가능용량인 2,100 mg/kg에서도 사망예가 없었다. 따라서 KDRD-010의 랫드에 대한 경구 LD₅₀치는 최대투여 가능용량인 2,100 mg/kg이상으로 평가되었다.

참고문헌

- Bruce, R. D. (1985): An up-and-down procedure for acute toxicity testing. *Fund. Appl. Toxicol.*, **5**, 151-157.
- Cho, D.H., Hwang, S.J., Lee, W.Y., Lee, J.Y., Yoon, H. J., Moon, B.W. (1993a): Acute subcutaneous toxicity study of banaron cream in rats. *J. Appl. Pharmacol.*, **2**, 280-283.
- Cho, D.H., Hwang, S.J., Lee, W.Y., Lee, J.Y., Yoon, H. J. and Moon, B.W. (1993b): Acute oral toxicity studies of WHS-1 and WHS-2 in rats. *J. Appl. Pharmacol.*, **2**, 275-279.
- Lorke, D. (1983): A new approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.*, **54**, 275-287.
- National Institute of Safety Research (1994): Toxicity test guideline for safety evaluation of drugs for human use, No. 94-3 Korea.
- Obara, S. (1992): Studies on single-dose toxicity of hydrophobically modified hydropropyl methylcellulose in rats. *J. Toxicol. Sci. Jpn.*, **17**, 13-18
- Yamashita, K., Nakano, S., Kuwata, M, Yada, H., Irimura, K., Morinaga, H, Morita, K. (1992): Single dose toxicity studies of suplatast tosilate (IPD-1151T). *J. Toxicol. Sci. Jpn.*, **17**, 1-9.
- Zbinden, G. and Flury-Roversi, M. (1981): Significance of the LD₅₀ test for toxicological evaluation of chemical substance. *Arch. Toxicol.*, **47**, 77-99.