

랫드에 대한 KDRD-002의 아급성경구독성시험

김형식 · 김규봉 · 이승기 · 광승준 · 안미영 · 최병천* · 이병무
성균관대학교 약학대학 독성학교실, *광동제약 중앙연구소

Subacute Oral Toxicity of KDRD-002 in Rats

Hyung Sik Kim, Kyu Bong Kim, Seung Ki Lee, Seung Jun Kwack, Mi young Ahn,
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 : Subacute toxicity study was performed in Sprague-Dawley rats after daily oral administration of KDRD-002 0.23, 0.7, 2.1 g/kg for one month. There were no clinical signs and pathological changes compared with control group but slight decrease in spontaneous motor activities and locomotions at high dose group of KDRD-002. Body weights were not significantly changed between control and KDRD-002 treated groups. In histopathological examinations, however, two animals (1 male, 1 female) showed abnormal increases in the weights of spleen tissues at middle dose group of KDRD-002. Also, there were some hemorrhages in lung tissues at low dose group of KDRD-002, but it was not considered to be caused by KDRD-002. These results suggest that KDRD-002 does not induce any significant subacute oral toxicity in Sprague-Dawley rats.

Key Words : Subacute toxicity, Clinical signs, Pathological changes, Histopathological examinations

I. 서 론

간장은 인체내 장기중 최대장기로 혈액 단백질 생성 및 탄수화물, 지방, 생명유지에 필요한 미량원소의 저장장소이다. 또한 alcohol, nicotine 및 다른 유해물질의 해독작용을 하며 담즙의 배설, 장내 지방과 지용성 비타민의 유화를 촉진하기도 한다. 중증급성간염 및 간경변증등은 간암을 유발할 수 있으며 또한 뇌증상이 나타나 간성혼수를 일으키고 사망을 유발한다. 현재 간질환의 치료목적으로 사용하는 제제들은 상당히 많으나 그 작용이 불확실하며 우수한 효과를 나타내는 제제는 찾아보기 힘들다(Kitani and Kanai, 1982).

최근 다당류는 다양한 생리활성 작용을 가지고 있어 신약으로서의 가능성이 매우 중요시 되고 있다. 특히 항종양, 항궤양 및 항바이러스효과등이 매우 우수한것으로 보고되어 있으며 이들 효과에 대한 신약개발에 많은 연구가 있으리라고 본다. 또한 간질환 치료 목적으로 널리 사용되고 있는 DDB(비페닐디메틸카복

시레이드)는 간기능의 지표가 되는 여러 효소들의 활성수치를 저하시키는 작용이 매우 강한 것으로 보고되고 있다.

이와같은 견지에서 서로 작용기전이 상이한 제제를 복합하여 기존의 단일제제보다 효과가 우수한 약물의 개발은 신약개발의 현 시점에서 매우 중요한 과제라고 볼 수 있다.

본 연구에서는 광동제약(주)에서 신약개발의 일환으로 개발된 항종양작용을 갖는 *Coriolus versicolor*(운지버섯)균계 배양물에서 추출, 정제한 다당류와 DDB의 혼합제제인 KDRD-002에 대한 안전성을 평가하기 위하여 급성 및 아급성경구 독성시험을 S.D.계 랫드에서 실시하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시험물질

본 연구의 시험물질인 KDRD-002(운지다당류:DDB

=19.2:1)는 흑갈색의 분말로서 광동제약으로부터 수령하여 시험에 사용하였다.

2. 시험계 및 사육환경

시험구역은 성균관대학교 약학대학의 청정 동물실험실에서 실시하였으며, 청정구역에서 생산된 SPF Sprague-Dawley계 랫드를 국립보건안전연구원으로부터 분양받아 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$, 배기 10~18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280W×420L×170H mm)케이지에 각각 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간에 증상을 관찰하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 실험동물용 고형사료(제일상사)를 자유로이 공급하였으며, 음수는 멸균수도물을 자유롭게 섭취시켰다.

3. 군분리 및 투여용량의 설정

순화기간중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다. 동물의 개체 식별은 사육상자별 tag표시법을 이용 실시하였다. 피험물질의 조제는 2% Tween 80 용액에 균일하게 현탁되도록 시험당일에 용시조제 하였다. 투여용량은 최고용량 2,100 mg/kg, 중간용량군 700 mg/kg 및 저용량군 230 mg/kg 으로한 3단계 등비용량과 용매대조군 및 무처리군을 설정하고 투여액량은 모두 20ml/kg씩 하였다.

4. 시험물질의 조제 및 투여

KDRD-002를 2% Tween 80 용액에 균일하게 현탁되도록 시험당일에 용시조제 하였다. 시험물질의 투여는 랫드용 존데를 이용하여 1일 1회 30일간 경구투여 하였다. 투여용량은 투여직전 체중의 변화에 따라 산출하였다.

5. 관찰 및 검사항목

1) 임상증상관찰 및 안구검사

모든 시험동물에 대한 임상상태를 매일 1회 오전 10시에 관찰하고, 시험물질 투여후 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 매일 주의하여 관찰하였다.

2) 체중, 사료섭취량 및 물섭취량측정

시험에 사용된 모든 시험동물에 대하여 시험기간중 매일 체중을 측정하였으며 또한 시험물질 투여전 및 부검시 체중을 측정하였다. 사료섭취량 및 물섭취량은 주 3회 측정하였다.

3) 혈액학적 검사

부검전 1일간 절식시킨 후, ether로 마취시켜 복부 대동맥에서 채혈 하였다. 채혈한 혈액은 항응고제로 EDTA 2K가 함유된 채혈병에 넣어 자동혈액검사기기를 이용하여 혈액학적 WBC(white blood cell), RBC(red blood cell), HGB(hemoglobin), HCT(hematocrit), MCHC(mean corpuscular hemoglobin concentration), PLT(platelet) 및 lymphocytes(% , $10^3/\text{mm}^3$)등을 측정하였다.

4) 혈액생화학적 검사

복부대동맥에서 채혈한 혈액중 일부를 혈액학적 검사로 이용하고 나머지 혈액은 4°C 냉장보관한 후 원심분리(3000 rpm, 10 min)하여 자동생화학검사기(Express 550)를 이용하여 ALB(albumin), ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), BUN(blood urea nitrogen), CHOL (cholesterol), GLU (glucose), T.BILI(total bilirubin), T.PROT(total protein), TG(triglyceride), ALP(alkaline phosphatase), CREAT (creatinine), CL(chlorine), Na(sodium), K(potassium)등을 측정하였다. ALT, ALP, LDH등은 반응온도에 따라 검사결과가 달라질 수 있으므로 이 측정은 30°C 를 기준으로 하여 측정하였다(Lorke, 1983).

5) 뇨검사

부검 전일 채뇨하여 비중, pH, Protein, Glucose, Ketone체, Bilirubin, 잠혈, Nitrite 및 Urobilinogen을 검사하기 위하여 뇨 시험지(MULTISTIX, AMES)에 뇨를 침적시켜 측정하였다.

6) 장기중량측정

모든 시험군의 전 동물에 대하여 신장, 간장, 비장, 심장, 폐장, 부신, 뇌, 고환, 난소의 중량을 측정하였다.

7) 병리조직 검사

전 동물에 대하여 다음의 장기를 10% 중성 포르말린으로 고정시켰다. 고정장기는 다음과 같다. 신장, 비장, 간장, 심장, 부신, 뇌, 고환, 난소등 병변이 있는 장기의 경우 대조군 및 최고용량군에서는 상기 장기를

전례에 대해서 실행하고, 저용량군 및 중간용량군에서는 육안적 부검소견이 인정되는 장기에 대해 병리조직 검사를 시행하였다.

6. 통계학적 분석

체중측정, 사료섭취량 및 물섭취량의 유의성 검정은 Student's t-test을 사용하였으며, 일반병리 및 조직병리에 관한 자료는 Dunnett's test에 의해 실시하였다.

III. 결 과

1. 임상증상 및 사망에

시험기간중 암·수 모두 시험물질 투여로 인한 사망 동물은 없었다. 종합적인 임상증상관찰에서는 암·수 모두 최고용량투여군에서 투여 개시후 3일부터 연변의 배설이 관찰되었으나 1주후 부터는 점차 소실되었다. 모든 동물에서 시험물질 투여후 호흡률증가와 같은 특이증상은 관찰되지 않았으며 시험기간중에 실시한 안구검사에서도 특이한 안구부위의 이상소견은 관찰되지 않았다(Table 1).

2. 체중, 사료섭취량 및 물섭취량

시험물질 투여군과 대조군에 대한 체중측정결과는 Fig. 1와 같다. 암컷의 양성대조군과 모든 시험물질 투여군에서 음성대조군에 비해 체중의 증가율이 약간 감소하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 반면에 수컷에서는 모든 시험물질투여군과 대조군에서 전체 투여기간중 각 군간의 유의성있는 체중변화는 인정되지 않았

Table 1. Mortality in rats orally treated with KDRD-002 for a month.

Sex	Dosage (g/kg)	Weeks					Final Mortality
		Start	1	2	3	4	
Male	2.1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.7	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.23	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(-) ^a	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(+) ^b	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	2.1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.7	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.23	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(-) ^a	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(+) ^b	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

^aCON(+); Treated with 2% Tween 80 solution.

^bCON(-); Not treated.

다. 또한 시험물질 투여군과 대조군간의 사료섭취량 및 물섭취량의 변화에서도 체중의 변화와 유사한 경향을 나타내었다. 다만, 사료섭취량은 암컷의 고용량 투여군에서 투여 개시후 3일부터 약간 감소하는 경향을 나타내었으나 통계학적 유의성은 없었다. 물섭취량은 모든 약물투여군에서 대조군과 거의 유사하였다.

3. 혈액학적 검사

WBC값의 범위가 대조군에서는 14.80~19.91, 시험물질을 투여한 수컷 및 암컷의 고용량군에서는 각각 15.20 및 16.20으로 약간의 증가가 있었으나 이들 범위는 모두 정상적인 범주에 속하였다. 또한 암컷의 중간용량군에서 RBC 및 lymphocyte ($10^3/mm^3$)치가 대조군보다 약간 증가하였으나 통계학적 유의성은 없었으며 모두 정상의 범위에 속하였다. 그 외의 Hb, Ht, MCV등은 모두 대조군과 시험물질 투여군간에 유의성 있는 차이를 나타낸 변화는 없었다(Table 2).

4. 혈액생화학적 검사

시험물질에 의한 혈액생화학적 소견은 Table 3와 같

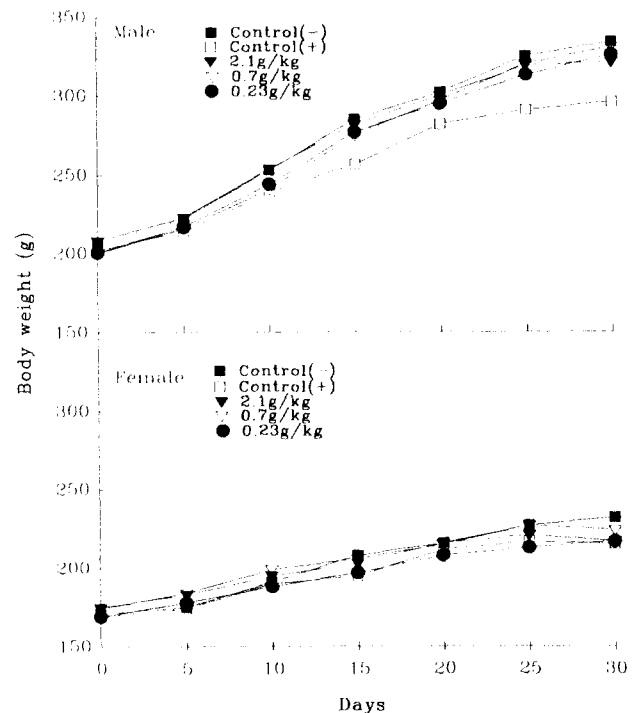


Fig. 1. Body weight changes in Sprague-Dawley rats treated orally with KDRD-002 for 30 days.

다. 시험물질을 투여한 수컷 및 암컷의 모든투여군에서 대조군에 비하여 AST 및 ALT의 감소가 있었으나, 이는 정상적인 표준 수치내의 범위에 근접하기 때문에 시험물질에 의한 영향이라고는 간주되지 않는다. ALP는 암컷의 모든 시험물질 투여군에서 대조군에 비

해 용량의존적으로 점차 감소하였으며, 수컷에서는 중간용량군에서 가장큰 감소를 나타내었다. LDH는 수컷의 중간용량군 및 저용량군에서 감소하였으나 모두 정상적인 범주내에 속하였다. 또한 BUN은 수컷의 저용량군과 암컷의 고용량군에서 감소하였다. Glucose는

Table 2. Hematological findings in rats orally treated with KDRD-002 for a month.

Sex		Male						
Item	Dosage(g/kg)	CON(-) ^a		CON(+) ^b		2.1	0.7	0.23
WBC	(10 ³ /mm ³)	14.80± 3.89	14.27± 3.60	16.84± 5.60	14.18± 3.08	15.20± 1.51		
RBC	(10 ⁶ /mm ³)	7.52± 0.43	7.51± 0.52	7.20± 0.26	7.43± 0.52	7.60± 0.49		
HGB	(g/dl)	15.20± 1.40	14.64± 1.32	14.31± 0.50	14.53± 0.74	14.78± 0.69		
HCT	(%)	42.05± 3.53	44.40± 1.92	43.16± 1.27	43.48± 1.82	43.53± 1.97		
MCV	(fl)	60.45± 9.84	56.89± 2.23	59.99± 1.33	57.88± 3.11	55.89± 1.72		
MCH	(pg)	19.41± 1.47	19.64± 0.71	19.90± 0.62	19.92± 0.56	18.75± 0.77		
MCHC	(g/dl)	34.35± 0.75	33.85± 0.88	33.17± 0.47	33.48± 0.91	33.75± 0.78		
PLT	(10 ³ /mm ³)	684.9 ± 121.5	663.5 ± 158.5	688.4 ± 119.5	714.4 ± 141.9	749.8 ± 141.8		
Lymphocyte	%(%)	88.23± 3.92	85.54± 4.19	87.00± 2.89	89.18± 2.95	84.51± 4.75		
Lymphocyte	(10 ³ /mm ³)	14.83± 4.05	13.65± 4.65	13.54± 3.55	12.25± 2.76	14.91± 2.58		

Table 2. Continued.

Sex		Female						
Item	Dosage(g/kg)	CON(-) ^a		CON(+) ^b		2.1	0.7	0.23
WBC	(10 ³ /mm ³)	15.91± 4.98	15.47± 2.68	17.29± 2.46	14.20± 3.38	16.20± 2.65		
RBC	(10 ⁶ /mm ³)	7.37± 0.65	7.53± 0.55	7.03± 0.49	8.05± 0.41	7.75± 0.62		
HGB	(g/dl)	13.69± 1.37	14.47± 0.74	13.99± 0.75	15.84± 0.68	14.88± 0.99		
HCT	(%)	44.54± 2.78	42.65± 1.87	42.50± 2.30	45.24± 2.37	44.9 ± 2.69		
MCV	(fl)	60.80± 5.78	56.29± 2.18	60.50± 1.65	56.31± 1.33	57.50± 4.96		
MCH	(pg)	18.58± 0.99	19.42± 0.87	19.82± 0.71	19.70± 1.16	19.11± 2.80		
MCHC	(g/dl)	30.84± 3.53	34.30± 0.67	33.04± 0.35	34.93± 1.84	33.37± 1.78		
PLT	(10 ³ /mm ³)	796.0 ± 91.7	895.2 ± 122.7	602.9 ± 112.1	634.7 ± 130.9	593.9 ± 238.5		
Lymphocyte	%(%)	86.61± 4.11	85.14± 6.12	87.60± 4.00	87.11± 2.30	84.55± 2.72		
Lymphocyte	(10 ³ /mm ³)	14.68± 5.30	15.60± 3.37	16.00± 2.90	13.11± 2.68	13.95± 1.87		

^aCON(-); Not treated

^bCON(+); Treated with 2% Tween 80 solution.

Results are the mean ± SD (n=9~10)

Table 3. Biochemical serum values in rats orally treated orally KDRD-002 for a month.

Sex		Male						
Item	Dosage(g/kg)	CON(-) ^a		CON(+) ^b		2.1	0.7	0.23
TP	(g/dl)	7.64± 0.19	7.24± 0.49	7.22± 0.51	7.73± 0.29	7.68± 0.31		
ALB	(g/dl)	2.97± 0.41	3.08± 0.43	3.15± 0.47	2.53± 0.07	3.02± 0.44		
AST	(U/l)	129.3 ± 15.3	113.7 ± 21.9	104.8 ± 21.1	107.1 ± 25.5	112.3 ± 21.9		
ALT	(U/l)	41.2 ± 6.4	46.6 ± 7.3	40.4 ± 9.8	40.2 ± 10.4	44.8 ± 5.9		
LDH	(U/l)	675.3 ± 176	603.9 ± 146	548.2 ± 230	593.6 ± 209	667.2 ± 168		
ALP	(U/l)	154.1 ± 14.6	170.3 ± 28.0	162.9 ± 35.9	145.3 ± 25.7	156.9 ± 33.1		
CHOL	(mg/dl)	56.2 ± 6.6	54.8 ± 5.9	60.4 ± 4.3	59.1 ± 8.0	58.2 ± 9.1		
GLU	(mg/dl)	149.1 ± 27.3	184.4 ± 17.9	187.1 ± 15.2	170.1 ± 11.4	174.1 ± 22.6		
TBIL	(mg/dl)	0.21± 0.04	0.19± 0.04	0.24± 0.05	0.19± 0.02	0.22± 0.04		
BUN	(mg/dl)	21.4 ± 4.5	20.1 ± 1.9	20.2 ± 2.1	21.6 ± 3.6	18.9 ± 3.1		
CREAT	(mg/dl)	0.48± 0.17	0.48± 0.17	0.40± 0.07	0.42± 0.08	0.38± 0.10		
TG	(mg/dl)	81.6 ± 13.5	94.4 ± 23.0	91.4 ± 27.5	63.9 ± 20.6	90.2 ± 17.6		
Cl	(mmol/l)	104.2 ± 3.3	107.5 ± 2.8	107.4 ± 1.1	106.3 ± 2.1	105.2 ± 1.2		
Na	(nmol/l)	143.4 ± 6.1	170.3 ± 28.0	147.7 ± 3.7	146.6 ± 1.4	142.2 ± 2.3		

Table 3. Continued.

Item	Sex Dosage(g/kg)	Female					
		CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23	
TP	(g/dl)	6.70 ± 0.38	6.88 ± 0.29	7.36 ± 0.37	7.27 ± 0.49	7.36 ± 0.27	
ALB	(g/dl)	2.99 ± 0.23	3.05 ± 0.22	3.16 ± 0.21	3.11 ± 0.19	3.07 ± 0.13	
AST	(U/l)	115.7 ± 19.2	119.4 ± 21.4	104.1 ± 18.9	98.8 ± 24.9	93.4 ± 21.9	
ALT	(U/l)	41.0 ± 4.8	43.9 ± 7.0	39.4 ± 4.2	39.7 ± 8.4	36.6 ± 4.3	
LDH	(U/l)	436.6 ± 179	449.4 ± 146	466.3 ± 145	478.2 ± 114	461.5 ± 159	
ALP	(U/l)	156.1 ± 35.9	157.0 ± 31.4	129.4 ± 17.3	136.5 ± 24.2	138.9 ± 28.4	
CHOL	(mg/dl)	27.6 ± 8.3	31.7 ± 8.4	28.6 ± 4.2	35.6 ± 3.7	31.1 ± 8.3	
GLU	(mg/dl)	100.4 ± 15.1	111.0 ± 22.9	118.6 ± 22.2	116.0 ± 25.7	121.8 ± 26.7	
TBIL	(mg/dl)	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.07	0.24 ± 0.04	0.25 ± 0.05	0.20 ± 0.03	
BUN	(mg/dl)	17.9 ± 1.2	17.9 ± 2.4	14.8 ± 1.6	17.7 ± 2.4	17.3 ± 1.8	
CREAT	(mg/dl)	0.36 ± 0.06	0.37 ± 0.05	0.47 ± 0.09	0.48 ± 0.05	0.36 ± 0.07	
TG	(mg/dl)	47.9 ± 14.9	44.5 ± 19.3	35.9 ± 7.8	17.7 ± 2.4	47.9 ± 14.9	
Cl	(mmol/l)	105.6 ± 2.8	103.9 ± 1.7	102.9 ± 9.9	0.48 ± 0.05	105.6 ± 2.1	
Na	(nmol/l)	139.1 ± 7.9	142.4 ± 1.40	143.1 ± 3.5	43.8 ± 11.1	143.1 ± 1.1	

^aCON(-); Not treated^bCON(+); Treated with 2% Tween 80 solution.

Results are the mean ± SD (n=9~10).

Table 4. Urinalysis in rats orally treated with KDRD-002 for a month.

Sex	Dosage(g/kg)	Male					Female					
		CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23	CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23	
	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
1) pH	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	5	4	4	5	5	4	5	2	3	4	
	7	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2) Protein	<0.1 g/l	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5
		0.1 g/l	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 g/l		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5 g/l		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3) Glucose	normal	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	
	50 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	300 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1000 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4) Ketone	-	4	1	5	4	4	5	1	5	1	4	
	+/-	0	4	0	1	0	0	4	0	4	1	
	+	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5) Urobilinogen	normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	1 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6) Occult Blood	-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	+/-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

^aCON(-); Not treated^bCON(+); Treated with 2% Tween 80 solution.

수컷의 모든 투여군에서 약간 증가하였으며 암컷의 고용량 투여군에서는 높은 증가를 나타내었으나 120~180까지 정상적인 수치라고 볼 수 있으므로 약물에 의한 영향이라고 볼 수 없었다. Cholesterol은 암컷의 고용량 및 중간용량군에서 대조군에 비해 증가하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 총 bilirubin은 암컷의 중간용량군 및 고용량 투여군에서 대조군에 비해 소량 증가하였으며 TG는 암컷 고용량군에서 감소하였다.

Sodium은 암컷 중간용량에서 대조군에 비하여 증가를 보였으나, 용매대조군 및 시험물질 투여용량에 비의존적인 증가 경향을 보이고, 정상적 표준 범위내의 값과 유사하므로 시험물질에 의한 독성의 지표에서 제외시켰다. 기타의 모든 항목들은 대조군과 거의 유사

한 경향을 나타내었으며 또한 용량에 비의존적이고, 정상적 표준범위내의 값과 유사하므로 시험물질의 독성에 의한 변화로는 인정되지 않았다.

5. 뇨검사

암수 모두 대조군과 시험물질 투여군간에 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 4). 모든 시험물질 투여군과 대조군에서 뇨의 색도는 정상이었으며, pH는 6.5~7.2의 범위에 속하였다. 또한 glucose는 암컷의 중간용량군 1예가 50 mg/dl 이상이고 기타 다른 시험군에서는 모두 normal범위에 속하였다. 뇨중 protein함량은 암컷의 고용량군 1예에서 100 mg/L이었으며, 기타

Table 5. Histopathological findings in rats orally treated with KDRD-002 for a month.

Sex	Dosage	Male					Female				
		CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23	CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23
	No. of rats	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland	L.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Brain		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heart		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney	L.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung Hemorrhage		0	1	1	0	0	1	0	0	1	
Spleen		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Testis	L.	0	0	0	0	0					
	R.	0	0	0	0	0					
Ovary		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Thymus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stomach		0	0	0	0	0	0	0	0	0	

^aCON(-); Not treated

^bCON(+); Treated with 2% CMC solution.

Table 6. Organ weights in rats orally treated with KDRD-002 for a month.

Sex	Organ	Dosage(g/kg)	Male				
			CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23
		No. of rats	10	10	10	10	10
Adrenal Gland	R.		0.019±0.003	0.024±0.007	0.026±0.010	0.022±0.006	0.021±0.003
	L.		0.018±0.006	0.024±0.005	0.023±0.005	0.336±0.508	0.022±0.00
Thymus			0.252±0.024	0.249±0.041	0.213±0.023	0.213±0.024	0.236±0.028
Brain			2.040±0.04	2.061±0.09	2.114±0.12	2.112±0.15	2.181±0.16
Stomach			1.338±0.130	1.294±0.111	1.265±0.133	1.363±0.197	1.235±0.143
Heart			1.063±0.125	1.004±0.111	1.043±0.059	1.086±0.129	1.081±0.156
Liver			8.540±1.015	7.946±0.128	8.405±1.674	8.870±0.648	8.619±0.956
Kidney	R.		1.105±0.110	1.048±0.148	1.061±0.069	1.120±0.088	1.092±0.072
	L.		1.126±0.136	1.051±0.107	1.056±0.067	1.097±0.085	1.121±0.092
Lung			1.802±0.334	1.718±0.309	1.807±0.240	1.660±0.207	1.646±0.194
Spleen			1.360±0.715	0.778±0.263	0.958±0.475	0.706±0.113	1.246±0.886
Testis	R.		1.588±0.170	1.549±0.134	1.663±0.085	1.638±0.104	1.602±0.133
(Ovary)	L.		1.63±0.200	1.548±0.174	1.657±0.120	1.614±0.103	1.563±0.166

Table 6. Continued.

Sex		Female				
Organ	Dosage(g/kg)	CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	0.7	0.23
No. of rats		10	10	10	10	10
Adrenal Gland	R.	0.033±0.008	0.032±0.006	0.050±0.024	0.042±0.015	0.031±0.010
	L.	0.036±0.007	0.034±0.007	0.048±0.020	0.042±0.015	0.026±0.007
Thymus		0.247±0.028	0.247±0.021	0.204±0.020	0.238±0.021	0.250±0.021
Brain		2.033±0.04	2.035±0.04	1.930±0.06	1.913±0.06	2.041±0.05
Stomach		1.097±0.156	1.092±0.149	1.103±0.140	1.183±0.170	1.066±0.151
Heart		0.800±0.055	0.793±0.094	0.820±0.108	0.861±0.128	0.737±0.068
Liver		6.869±0.864	6.329±1.041	6.998±0.640	7.169±0.664	6.731±0.832
Kidney	R.	0.777±0.050	0.721±0.081	0.709±0.068	0.752±0.089	0.756±0.079
	L.	0.785±0.056	0.720±0.087	0.711±0.059	0.759±0.086	0.745±0.090
Lung		1.646±0.282	1.081±0.513	1.729±0.711	2.043±0.957	2.029±1.008
Spleen		1.073±0.229	1.078±0.282	1.059±0.208	1.260±0.318	1.231±0.358
Testis	R.	0.077±0.007	0.078±0.010	0.076±0.008	0.079±0.010	0.075±0.013
(Ovary)	L.	0.072±0.008	0.073±0.008	0.072±0.010	0.072±0.007	0.074±0.008

^aCON(-); Not treated

^bCON(+); Treated with 2% Tween 80 solution.

Results are the mean ± SD (n=9~10).

는 50~75 mg/L 로서 정상적인 수치로 나타났다.

6. 육안적 부검소견

시험물질투여에 의한 육안적 해부 소견은 Table 5과 같다. 위 내용물의 저류에 의한 소화관의 확장등은 모든 시험동물에서 보이지 않았다. 폐장의 부분적 출혈 반점이 수컷 용매대조군 및 고용량군에서 각각 1예, 암컷 저용량군과 용매대조군에서 각각 1 예 관찰되었다.

7. 장기중량의 변화

암·수 모두 시험물질 투여에 의한 장기중량의 변화는 인정되지 않았다(Table 6).

8. 병리조직학적 소견

간장에 대한 병리조직학적 소견에서는 간소엽 및 문맥의 섬유화가 관찰되지 않았으며 문맥주위 손상도 관찰되지 않았다. 따라서 이 약물에 의한 만성독성이나, 괴사성 염증 및 간장의 진행성 손상은 없다고 사료된다. 또한 담즙울체, 철침착, lipofucin 침착 및 지방변도 관찰되지 않았으나 일부 간조직의 sinusoid 내에서의 세포증가가 시험물질 투여군과 대조군에서 모두 나타났지만, 독성학적으로 특별한 의미를 갖는 요인으로는 사료되지 않았다(Table 7). 기타 장기에서도 시험물질의 투여에 의한 변화라고 인정되는 소견은 없었다.

Table 7. Incidence of histopathologic microscopic findings in rats orally treated with KDRD-002 for a month.

Sex		Male			Female		
Organ	Dosage(g/kg)	CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1	CON(-) ^a	CON(+) ^b	2.1
No. of rats		10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland	L.	0	0	0	0	0	0
	R.	0	0	0	0	0	0
Brain		0	0	0	0	0	0
Heart		0	0	0	0	0	0
Liver		0	0	0	0	0	0
Kidney		0	0	0	0	0	0
Interstitial Pneumonia		0	0	0	0	0	0
Calcification							
Spleen		0	0	0	0	0	0
Testis	L.	0	0	0		0	0
	R.	0	0	0			
Ovary					0	0	0
Thyroid gland		0	0	0	0	0	0
Inflammation & Fibrosis							
Stomach		0	0	0	0	0	0

^aCON(-); Not treated

^bCON(+); Treated with 2% Tween 80 solution.

IV. 고 찰

KDRD-002에 대한 안전성평가의 일환으로서 실시한 아급성경구독성시험에서는 시험물질 투여에 의한 영향으로 평가되는 일반적인 독성증상은 없었다. 본 시험물질인 KDRD-002의 랫드에 대한 최대경구투여 가능용량은 3,250 mg/kg이었으며, 급성경구독성시험에서는 그 이상의 농도에서도 사망에는 관찰되지 않았다. 따라서 아급성경구독성시험에서는 급성독성시험자

료에 기초하여 고용량을 2.1 g/kg으로 하고 0.7 g/kg과 0.23 g/kg의 투여용량을 설정하여 시험하였다 (National Institute of Safety Research, 1994).

본 시험기간중 암·수 모두 시험물질 투여로 인한 사망동물은 없었다. 또한 모든 동물에서 시험물질 투여후 호흡률증가와 같은 특이증상은 관찰되지 않았다.

전체 투여기간중 각 군간의 유의성있는 체중변화는 인정되지 않았다. 또한 시험물질 투여군과 대조군간의 사료섭취량 및 물섭취량의 변화에서도 체중의 변화와 유사한 경향을 나타내었다.

WBC, RBC, Hb, MCV등과 같은 혈액학적 소견에서는 모두 대조군과 시험물질 투여군간에 유의성 있는 차이를 나타낸 변화는 없었다. 시험물질에 투여의한 혈액생화학적 소견에서는 수컷 및 암컷의 모든 투여군에서 대조군에 비하여 AST 및 ALT의 감소가 있었으며, ALP는 암컷의 모든 시험물질 투여군에서 대조군에 비해 용량의존적으로 점차 감소하였다. 또한 glucose는 암컷의 고용량 투여군에서는 높은 증가를 나타내었다. 그러나 이는 용량에 비의존적이고 정상적인 표준 수치내의 범위에 근접하기 때문에 시험물질에 의한 영향이라고는 간주되지 않았다(Nakano 등., 1992; Nakashima 등., 1995).

뇨검사에서는 암수 모두 대조군과 시험물질 투여군간에 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다. 병리조직학적 소견에서는 일부 간조직내에서의 세포증가가 시험물질 투여군과 대조군에서 모두 있었으나 독성학적으로 특별한 의미를 갖는 요인으로는 사료되지 않았다.

이상과 같이 KDRD-002의 랫드에 대한 아급성독성 시험에서 상기의 일반증상, 체중변화, 물 및 사료섭취량, 혈액 및 혈액생화학적 검사, 뇨검사와 병리조직학적 검사등에서 특이한 독성병변은 관찰되지 않았으며, 본 시험조건에서의 무해용량은 2.1 g/kg, 최대내성용량은 2.1 g/kg 이상으로 추정되었다.

참고문헌

- Kitani, K. and Kanai, S. (1982): Effect of ursodeoxycholic acid on the bile flow in the rat. *Life Sci.*, **31**, 1973-1985.
- Lorke, D. (1983): A new approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.*, **54**, 275-287.
- Nakano, S., Hayashi, T., Irimura, K., Maruden, A., Nakagawa, K. and Morita, K.-I. (1992): A thirteen-week oral repeated dose toxicity study of suplastat tosilate (IPD-1151T) in rats. *J. Toxicol. Sci. Jpn.*, **17**, 11-38.
- Nakashima, H., Omae, K., Sakai, T., Yamazaki, K. and Sakurai, H. (1994): Acute and subchronic inhalation toxicity of tetraethoxysilane(TEOS) in mice. *Arch. Toxicol.*, **68**, 277-283
- 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-