

## 1-(4-methylpiperazinyl)-3-phenylisoquinoline(CWJ-a-5)의 Sprague-Dawley(SD) 랫드를 이용한 2주간 반복 경구투여 독성시험

강부현 · 조원제\* · 김대덕\*\* · 김용범 · 차신우 · 장순재\*\*\*

한국화학연구원 안전성평가연구소, \*전남대학교 약학대학, \*\*부산대학교 약학대학, \*\*\*양지화학

## Two-week Oral Toxicity Study of 1-(4-methylpiperazinyl)-3-phenylisoquinoline (CWJ-a-5) in Sprague-Dawley (SD) Rats

Boo-Hyon Kang, Won-Jea Cho\*, Dae-Duk Kim\*\*, Yong-Bum Kim,  
Sin-Woo Cha and Soon-Jae Chang\*\*\*

Korea Institute of Toxicology, KRICT, P.O.Box 107, Yusong, Daejeon, Korea

\*College of Pharmacy, Chonnam National University KwangJu 500,757, Korea

\*\*College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

\*\*\*Yang Ji Chemical, Ansan City, KyunggiDo 425-110, Korea

(Received December 26, 2001)

(Accepted February 15, 2002)

**ABSTRACT :** The subacute oral toxicity of 1-(4-methylpiperazinyl)-3-phenylisoquinoline (CWJ-a-5) was investigated in Sprague-Dawley (SD) rats. Five groups of 5 males and 5 females were orally administered at doses of 0, 37.5, 75, 150 and 200 mg/kg with CWJ-a-5 for 2 weeks. In clinical signs, Salivation was observed in the 75, 150 and 300 mg/kg male and female groups. Loss of fur was observed in the 300 mg/kg male and female group. Body weight were significantly decreased in the 150 and 300 mg/kg male groups and in the 300 mg/kg female group. Food consumption was significantly decreased in the 300 mg/kg male group. In serum biochemistry, total cholesterol and phospholipid were significantly increased in 300 mg/kg male and female group. Aspartate aminotransferase was significantly increased in the 300 mg/kg female group. In histopathological examination, vacuolar degeneration of renal tubules in the kidney, vacuolar degeneration of hepatocytes in the liver, vacuolar degeneration of myocytes in the heart, vacuolar degeneration of histiocytes in the spleen and thymus, atrophy of seminiferous tubule and degeneration of germinal epithelium in the testis, vacuolar degeneration of corpus luteum, granulosa cell and theca cell in the ovary were observed in the 150 and 300 mg/kg male and female groups. Based on these results, the no observed adverse effect level (NOAEL) with CWJ-a-5 was considered to be 75 mg/kg and the absolute toxic dose was considered to be 150 mg/kg in this study

**Key Words :** 1-(4-methylpiperazinyl)-3-phenylisoquinoline, Subacute toxicity, Rat

### I. 서 론

천연에서 다양한 형태로 단리되고 있는 벤조페난트리딘 알칼로이드는 강한 항암활성을 나타내기 때문에 지금까지 많은 연구가 수행되어 왔다(Simeon 등, 1989). 이 알칼로이드 중에서 Fagaronine 및 Nitidine이 미국 NCI에서 집중적으로 연구되었으나 독성 및 좁은 항암 스펙트럼의 문제로 인하여 임상시험에는 도입되지 못하였다. 그러나 최근

에 *Zynthoxylum nitidum*에서 몇 개의 새로운 벤조페난트리딘 알칼로이드가 단리되었으며 이 물질들이 topoisomerase I, II 에 강한 저해활성을 나타냄으로서 항암활성을 보인다는 것이 밝혀졌다(Fang 등, 1993). 또한 이 알칼로이드 중 Fagaridine이 일본에서 개발되어 임상 2상까지 진행되었다(Kobayashi 등, 1993). 우리는 벤조페난트리딘 알칼로이드와 생동동물체의 구조를 갖고 있는 이소퀴놀린 화합물을 합성하고 항암활성을 측정하였으며 컴퓨터를 이용한 약물디자인을 수행함으로써 보다 효율적인 항암제개발을 수행하였다(Cho 등, 1998). 이소퀴놀린 화합물은 벤조페난트리

\*To whom correspondence should be addressed

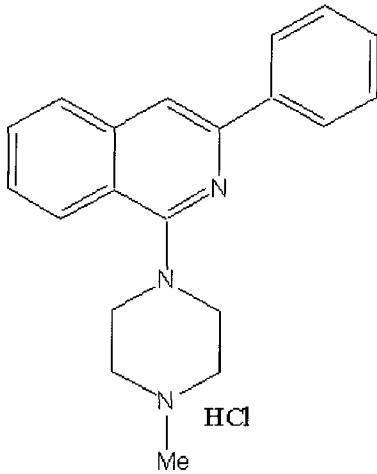


Fig. 1. Structure of 1-(4-methylpiperazinyl)-3-phenylisoquinoline (CWJ-a-5).

던과 유사한 구조를 갖고 있기에 항암활성이 기대되며 합성이 용이하기 때문에 다양한 유도체를 합성할 수 있는 장점이 있다(Cho 등, 1996). 우리가 개발한 합성법을 이용하여 수십종의 항암활성을 갖는 이소퀴놀린 화합물을 합성할 수 있었으며 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통하여 CWJ-a-5 물질을 개발후보 물질로 선정하였다. 이 물질은 1-(4-methylpiperazinyl)-3-phenylisoquinoline 구조를 갖고 있으며(Fig. 1) *in vitro*에서 각종 암세포에 강한 세포독성을 보이고 있으며 *in vivo*에서도 160 T/C(%) (P 388)을 나타냈다. 또한 흰쥐에게 경구투여한 약물동력학 실험에서 50% 이상의 높은 생체이용율(bioavailability)를 나타냈고(Kim 등, 2001a) 제제학적으로도 산성용액에서 높은 안정성과 용해도를 가지고 있음을 알았다(Kim 등, 2001b). 따라서, 우리는 이 물질을 경구용 항암제로 개발하기 위하여 다음과 같은 독성시험을 실시하였다.

즉, 본 실험에서는 CWJ-a-5에 대한 안전성평가시험의 일환으로 반복투여시 발현될 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하기 위하여 랫드에 2주반복경구투여 독성시험을 “의약품등의 독성시험 기준(식품의약품안전청고시 제 1999-61호, 1999년 12월 22일 제정)”을 참고하여 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

시험에 사용한 CWJ-a-5(Lot NO. 99-01, 순도: 96.10%)는 황색분말로 (주)양지화학에서 공급받아 시험에 사용하였다. 시험물질은 실온보관하여 사용하였으며 각 투여군의 농도에 따라 멸균증류수(중외제약, Lot No. AAX8CY)

에 현탁하여 사용하였다. 대조군은 멸균증류수만을 투여하였다.

### 2. 시험동물 및 사육환경

시험동물은 특정병원체 부재 Sprague-Dawley(SD)계 랫드 암·수 각각 30마리씩을 (주)바이오제노믹스(서울특별시 금천구 가산동 459-24번지)로부터 구입하여 1주간 순화사육을 거쳐 그 기간중 일반증상을 관찰하여 체중감소가 없는 건강한 동물 25마리씩을 골라 시험동물로 사육하였다. 검역·순화·사육기간 및 시험기간 중 동물은 온도  $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $55\pm 15\%$ , 환기횟수 10~20회/hr, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시) 및 조도 150~300 Lux의 조건으로 유지하였다. 동물의 수용은 스테인레스제 방사육상자(220 W×410 L×200 H mm)를 사용하였고 순화기간 및 검역기간 중에는 사육상자당 5마리 이하로 사육하였고, 투여기간 중에는 사육상자당 3마리 이하로 사육하였다. 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료 주식회사 : 대전광역시 대덕구 대화동 40-36번지)를 방사선조사(25 kGy, 그린피아 주식회사)하여 멸균한 후 자유로 섭취 시켰고 물은 상수도를 미세여과장치( $1\mu\text{m}$ )와 자외선 우수 살균장치(Steritron SX-1, 대영설비 주식회사)로 살균, 소독하여 자유로 섭취시켰다.

### 3. 투여량 설정

본 시험물질에 대한 예비투여 결과 500 mg/kg 투여군에서 투여 6일째 사망이 관찰되고, 250 mg/kg 투여군의 경우 체중증가가 미약하여 300 mg/kg을 최고용량으로 하고 공비 2로 적용하여 37.5, 75, 150 및 300 mg/kg의 용량군을 설정하였다. 대조군에는 멸균증류수 만을 투여하였다.

### 4. 시험군의 구성 및 투여방법

동물은 암수 각 25마리를 무작위법으로 균분리를 실시하였다. 각 군간의 체중을 고르게 하여 CWJ-a-5에 대한 4개의 투여군 및 대조군의 5군으로 하여 투여 개시시 체중은 수컷은 129.2~156.4 g, 암컷은 107.3~130.3 g으로 군당 암·수 각 5마리씩을 배정하였다. 투여 경로는 임상적용 경로인 경구투여를 택하였다.

### 5. 관찰항목

#### 1) 일반증상 관찰

시험기간중 모든 동물에 대하여 매일 1회 일정한 시간에 일반증상의 변화, 빈사 및 사망 유무를 관찰하였다.

## 2) 체중, 사료섭취량 측정

시험기간중 모든 동물의 체중은 주 2회 투여개시 전에 실시하였으며 사료섭취량은 주 2회 사육상자별로 측정하여 군별로 1일 소비량을 표시하였다.

## 3) 안검사

투여개시전 및 투여마지막날에 각 군당 암수 전 동물에 대하여 외안검사를 실시하였다.

## 4) 뇨검사

투여종료일에 각 군당 암수 전동물에 대하여 신선뇨를 채취하여 뇨비중, pH, 뇨당, 뇨단백, 케톤체, 잠혈(occult blood), 빌리루빈(bilirubin), 유로빌리노겐(urobilinogen) 및 아질산염(nitrite)을 뇨시험지(N-Multistix SG, USA) 및 뇨자동분석장치(CliniTek-100, USA)를 이용하여 검사하였다.

## 5) 혈액학적 검사

혈액학적 검사를 위해 랫드의 복강내 후대정맥으로부터 혈액을 채혈하여 1~2 ml을 EDTA-2K가 처리된 CBS bottle(녹십자 공업)에 넣어 5분 이상 rolling 시킨 후 20분 이내에 혈구자동계측장치(T-540 Coulter Counter, Coulter Counter Electronics, USA)를 이용하여 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 혈색소량(HGB), 헤마토크리트치(HCT), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC), 혈소판(Platelet)을 측정하였다.

## 6) 혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사를 위해 에테르 마취하에 후대정맥에서 채혈한 혈액을 실온에 15분간 방치하여 응고시킨 다음, 3,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 자동분석장치(Shimadzu-CL-7200, Shimadzu Co.)를 이용하여 Aspartate aminotransferase(AST), Alanine aminotransferase(ALT), Alkaline phosphatase(ALP), Creatine phosphokinase(CPK), Glucose, Total protein, Albumin, Albumin/Globulin ratio(A/G), Blood urea nitrogen(BUN), Creatinine, Triglyceride, Phospholipid, Total cholesterol, Total bilirubin, Ca 및 Inorganic phosphorus(IP)를 측정하였고, 전해질 자동분석장치(644 Na/K/Cl Analyzer, Ciba-Corning Co., USA)를 이용하여 Cl, Na 및 K을 측정하였다.

## 7) 장기중량 측정

시험종료후 모든동물을 부검 하루전에 절식시킨 다음 부검직전에 체중을 측정하였다. 에테르 마취 후 방혈 처사시킨 다음 모든 장기에 대하여 육안검사를 실시하였다. 전 실험동물에 대하여 간장, 비장, 신장(좌, 우), 심장, 흉선,

고환(좌, 우) 및 난소(좌, 우)의 중량을 측정하였다.

## 8) 조직병리학적 검사

조직병리학적 검사를 위하여 비장, 공장, 위, 십이지장, 장간막임파절, 난소, 신장, 간장, 흉선, 심장, 대퇴골(골수 포함)을 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였고, 고환은 Bouin's 액에 고정하였다. 모든 장기와 조직은 1주 이상의 충분한 고정을 거친 후 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매하였다. 포매된 조직은 마이크로톰(microtome 820 Ma가 II, Reichert-Jung, Germany)으로 5um 로 박절 한 후 Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하여 광학현미경하에서 조직병리학적 검사를 실시하였다.

## 9) 통계학적 방법

시험물질 투여군과 대조군과의 차이를 비교하기 위하여 Labcat Computer System과 Statistical Analysis Systems (SAS/STAT User's Guide Version 6.12, Cary, NC, USA)을 이용하여 통계학적 분석을 실시하였다. 체중, 사료섭취량, 혈액학적, 혈액생화학치 및 장기중량은 평균값과 표준편차로 표기하였다. Bartlett test에서 분산이 균일하게 나온 검사항목은 일원배치분산분석(one-way analysis of variance)을 하였고, 균일하지 않은 자료는 비모수적 방법인 Kruskal-Wallis test를 실시하였다. 분석결과 군간 차이가 인정되면 Dunnett's test 또는 Scheffe's test의 다중비교 방법으로 분석하였다. 뇨시험지를 이용하여 얻은 뇨검사 결과는 Kruskal-Wallis test와 Scheffe's test로 분석하였고, 일반증상과 부검소견 및 병리조직 소견 등은 백분율로 나타낸 다음 Fisher's exact test로 유의차를 조사하였다. 통계학적 유의수준은 5% 및 1%로 정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 일반증상 및 사망률

시험 전 기간 동안 대조군을 포함하여 암수 모든 투여군에서 사망동물은 관찰되지 않았다. 일반증상을 관찰한 결과, 암수 모두 75, 150 및 300 mg/kg 투여군에서 유연증상이 시험 전 기간 동안 관찰되었으며, 암수 모두 37.5 mg/kg 투여군에서는 경미한 유연증상이 간헐적으로 관찰되었다. 유연증상은 그 정도 및 빈도에 있어서 용량상관성을 보였으며, 투여지후에 증상이 나타나기 시작하여 약 5~15분간 지속적으로 관찰되었다. 유연증상은 전 투여군에서 정도 및 지속시간이 용량의존적으로 관찰된 점으로 미루어 시험물질에 의한 영향으로 사료된다. 탈모증상이 암수 모두 300 mg/kg 투여군의 각 2레에서 투여 8일째부터 지속적

**Table 1.** Clinical signs in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Sex	Dose (mg/kg)	Clinical signs	Days after treatment																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	0 mg	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
		37.5 mg	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	1	5	3	4	5	5	5	5
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	2	1	0	0	0	0	
	75 mg	NAD	4	3	4	4	5	5	2	1	1	1	1	0	0	2	0	0	
		Salivation	1	2	1	1	0	0	3	4	4	4	4	4	5	5	3	5	
	150 mg	NAD	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	
		Salivation	5	4	5	5	4	4	5	4	4	5	4	5	5	5	5	5	
		decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	
	300 mg	NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Salivation	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Loss of fur	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
		Rough fur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	
		Emaciation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	
	Female	0 mg	NAD	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
			37.5 mg	NAD	5	5	5	5	5	5	5	4	5	4	4	5	5	5	5
			Salivation	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
		75 mg	NAD	4	4	5	4	5	5	4	1	5	0	1	0	0	1	0	
Salivation			1	1	0	1	0	0	1	4	0	5	4	5	5	4	5	5	
150 mg		NAD	0	0	0	1	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Salivation	5	5	5	4	3	3	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	
300 mg		NAD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Salivation	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Loss of fur	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
		Reddish tear	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
		Rough fur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	
		Emaciation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	
Decrease in locomotor activity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5		

NAD : no abnormality detected.

Values were expressed as animal numbers.

으로 관찰되었다. 탈모증상의 경우 본 시험물질이 항암제인 것을 감안해 볼 때, 시험물질 투여에 기인한 증상으로 사료된다. 피모거침, 쇠약 및 활동력저하 증상이 암수 모두 300 mg/kg 투여군에서 투여 후반부에 모든 레에서 지속적으로 관찰되었다. 피모거침, 쇠약 및 활동력저하 증상은 동물이 스트레스를 심하게 받거나 허약해졌을 때 나타나는 증상으로 본 시험물질의 직접적인 영향에 의한 특이적인 증상은 아니었고 간접적으로 나타난 증상으로 사료된다(Table 1).

## 2. 체중변화

수컷의 경우 150 및 300 mg/kg 투여군에서 시험 전기간 동안 대조군에 비해 유의성 있는 체중감소가 관찰되었으며, 암컷의 경우 300 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 체중감소가 관찰되었다. 암컷 150 mg/kg 투여군

에서는 투여 3일째 체중에서만 유의성 있는 체중감소가 관찰되었다. 그러나 나머지 측정기간에서 유의성이 인정되지 않았지만 대조군에 비하여 뚜렷한 체중증가 억제 경향이 관찰되었다(Table 2). 암수 모두 150 mg/kg 이상의 투여군에서 관찰된 체중의 감소 또는 증가억제는 시험물질의 투여에 기인된 소견으로 인정된다. 대부분의 화학요법으로 사용되는 항암제들은 세포분열이 활발하게 일어나는 장기들의 증식을 억제함으로써 체중의 감소를 유발한다는 것은 매우 잘 알려져 있다(Calabresi and Charnier, 1991).

## 3. 사료섭취량

수컷 300 mg/kg 투여군에서 투여 10일째에 대조군에 비해 통계학적으로 유의성 있는 사료섭취량의 감소가 관찰되었다. 또한 통계학적으로 유의성은 인정되지 않았으나

**Table 2.** Body weight changes in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment					
		0	3	6	9	13	14
Male	0 mg	144.7±4.75	175.2±8.85	204.0±11.09	231.3±14.76	267.0±17.69	268.6±15.59
	37.5 mg	142.4±3.05	169.2±8.00	198.7±10.29	224.6±13.93	250.8±12.28	254.9±12.50
	75 mg	139.8±5.67	164.5±6.45	193.5±5.30	215.2±4.54	251.2±9.24	256.0±8.07
	150 mg	138.2±7.86	155.4±14.65*	181.1±16.65*	201.3±18.15*	232.4±18.68*	238.0±18.66
	300 mg	142.2±10.62	145.7±12.83**	163.8±13.58**	175.3±18.59**	181.9±26.28**	178.8±31.76**
Female	0 mg	118.9±4.75	135.3±3.77	149.8±10.90	163.1±9.27	177.7±9.57	179.0±10.15
	37.5 mg	118.4±8.82	132.1±8.46	147.3±10.61	157.5±9.18	168.2±9.46	175.0±12.67
	75 mg	118.1±6.89	130.6±6.94	143.4±6.39	150.5±14.46	171.3±6.14	174.8±6.87
	150 mg	114.7±5.03	123.6±3.24*	140.0±6.35	153.1±7.79	164.6±11.04	166.9±10.88
	300 mg	114.7±4.84	117.0±5.31**	124.5±12.18**	133.8±11.73**	132.6±10.99**	131.3±12.80**

Values were expressed as means±S.D. for 5 rats.

\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.05$ ).

\*\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.01$ ).

수컷의 150 mg/kg 투여군 및 암수 모두 300 mg/kg 투여군에서 전 측정기간 동안 대조군에 비해 뚜렷한 사료섭취량의 감소경향을 보였다(Table 3). 사료섭취량의 감소는 일부에서만 통계학적으로 유의성이 인정되었으나 전반적으로 감소 경향을 보였고, 용량의존성이 인정된 점으로 미루어 시험물질에 의한 영향으로 사료된다.

#### 4. 안검사

암수의 모든 투여군에서 시험물질의 투여와 관련된 어떠한 이상증상도 관찰되지 않았다.

#### 5. 뇨검사

암컷의 150 mg/kg 투여군에서 ketone체의 유의성 있는 증가와 단백질의 유의성 있는 증가가 관찰되었다(Table 4). 이러한 변화는 용량상관성이 없고, 수컷의 경우 이러한 변화가 관찰되지 않아 독성학적으로 의의가 없는 변화로

**Table 3.** Food consumption in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment			
		1	4	7	10
Male	0 mg	26.5±1.70	30.0±3.56	36.8±8.73	33.2±1.87
	37.5 mg	27.5±5.19	32.0±6.54	35.1±4.51	30.8±0.40
	75 mg	22.1±3.57	25.9±0.67	27.4±2.14	31.5±2.05
	150 mg	20.4±1.18	27.5±1.77	26.5±0.84	29.8±0.47
	300 mg	17.9±3.39	21.4±0.02	22.0±2.32	20.3±2.79**
Female	0 mg	21.8±3.54	23.7±3.56	25.9±5.41	21.9±3.22
	37.5 mg	21.7±1.78	23.3±1.57	20.3±1.27	21.4±0.57
	75 mg	18.2±0.85	24.4±1.66	22.1±0.87	24.1±0.74
	150 mg	21.7±1.27	23.3±0.98	23.5±1.56	21.6±0.48
	300 mg	16.6±2.60	19.0±0.18	17.8±1.91	18.0±1.73

Values were expressed as means±S.D. for 5 rats.

\*\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.01$ ).

사료된다.

#### 6. 혈액학적 검사

수컷의 경우 300 mg/kg 투여군에서 백혈구수, 헤모글로빈농도 및 헤마토크리트치가 통계학적으로 유의성있게 감소한 반면 적혈구수와 평균적혈구용적(MCV)이 통계학적으로 유의성있게 증가하였다. 암컷의 경우 모든 투여군에서 헤모글로빈농도 및 헤마토크리트치, 300 mg/kg 투여군에서 적혈구수가 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다(Table 5). 백혈구수, 헤모글로빈농도, 헤마토크리트치, 적혈구수 및 평균적혈구용적의 수치변화는 통계학적으로 유의성이 인정되지만 변화 정도가 미약하고 이러한 변화들이 대부분 랫드의 정상 범위내의 변화(Wolford 등, 1986)로서 독성학적으로 의미가 없는 변화로 사료된다.

#### 7. 혈액생화학학적 검사

수컷의 경우 75 mg/kg 투여군에서 glucose 농도가 유의성있게 감소하였으며, 150 mg/kg 투여군에서는 total cholesterol 및 albumin의 농도가 유의성있게 감소하였다. 수컷 300 mg/kg 투여군의 경우 albumin과 chloride 농도가 유의성있게 감소하였으며, total cholesterol, phospholipid 및 potassium 농도가 유의성있게 증가하였다. 암컷의 경우 모든 투여군에서 chloride의 농도가 유의성있게 감소하였으며, 300 mg/kg 투여군에서는 ALT, AST, total cholesterol 및 phospholipid이 유의성 있게 증가하였으며, albumin의 농도와 albumin/globulin의 비(ratio)가 유의성있게 감소하였다. 또한 유의성은 인정되지 않았으나 potassium의 증가 경향이 관찰되었다(Table 6). 본시험의 150 mg/kg 이상의 투여군에서 관찰된 total cholesterol, phospholipid, AST, ALT의 증가와 A/G비의 감소는 조직병리 검경 결과 간장, 신

**Table 4.** Urinalysis in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Parameter	Degree	Male					Female				
		0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
Glucose	-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	+/-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bilirubin	-	2	5	4	5	5	4	4	5	2	3
	1+	3	0	1	0	0	1	1	0	3	2
	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ketone	-	1	3	1	2	4	4	3	1	0
Specific gravity	+/-	4	2	4	3	0	1	2	4	5	2
	1+	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0*	0
	≤ 1.005	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
1.010	0	0	0	0	1	1	0	0	0	3	
1.015	0	2	1	1	1	1	1	1	3	2	
1.020	1	3	2	1	2	3	1	3	1	0	
1.025	4	0	2	3	0	0	1	0	1	0	
≥ 1.030	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	
pH	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7.0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	7.5	1	1	1	0	0	3	0	1	0	1
	8.0	4	1	3	2	3	1	2	3	3	1
	8.5	0	2	1	1	2	0	2	1	1	3
	≥ 9.0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0
Protein	-	0	0	0	0	1	4	2	2	0	1
	+/-	1	3	1	2	2	0	0	0	0	2
	1+	3	1	3	2	1	1	1	3	0	0
	2+	1	1	1	1	0	0	2	0	4	1
	3+	0	0	0	0	1	0	0	0	1**	1
Urobilinogen	0.1	4	4	5	5	4	5	4	4	2	4
	1.0	1	1	0	0	1	0	1	1	3	1
	2.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	≥ 8.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nitrite	-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Occult blood	-	5	5	5	5	5	5	4	5	5	3
	+/-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	1+	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Values were expressed as means±S.D. for 5 rats.

\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.05$ ).

\*\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.01$ ).

장, 심장, 비장, 흉선, 난소의 공포변성에 부합되는 변화로 시험물질에 의한 영향으로 사료된다. 암수 모두에서 관찰된 albumin의 감소는 사료섭취 감소에 기인한 변화로 사

료되며, 암수 모두에서 potassium의 증가는 신장의 근위세뇨관 공포변성과 부합되는 결과로 사료된다. 다만 수컷의 300 mg/kg 투여군 및 암컷의 전 투여군에서 관찰된 chloride

**Table 5.** hematological values in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Parameter	Male				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	13.28±3.469	10.65±2.250	13.98±2.772	11.45±3.045	7.33±2.133*
RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	6.15±0.232	6.32±0.202	6.28±0.266	6.43±0.447	7.32±0.720**
Hb (g/dl)	13.3±0.26	13.7±0.65	13.5±0.90	13.7±0.60	15.1±1.27**
Hct (%)	41.8±1.20	42.9±1.65	42.7±2.32	42.9±1.96	46.8±4.14*
MCV (fl)	68.0±1.46	67.8±1.65	68.1±3.22	66.9±2.72	64.1±1.20*
MCH (pg)	21.6±0.59	21.6±0.65	21.6±1.23	21.3±1.10	20.7±0.47
MCHC (g/dl)	31.7±0.41	31.9±0.39	31.7±0.75	31.8±0.52	32.2±0.20
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1227±183.3	1145±194.1	1123±177.3	955±335.2	1155±95.2
Parameter	Female				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	8.89±2.536	8.35±2.257	7.05±2.470	8.53±2.518	9.40±3.998
RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	5.99±0.380	6.32±0.331	6.30±0.201	6.46±0.159	6.93±0.394**
Hb (g/dl)	12.5±0.51	13.4±0.42*	13.3±0.30*	13.7±0.13**	14.0±0.59**
Hct (%)	38.8±1.82	41.2±1.32*	41.3±1.10*	42.5±0.44**	43.3±1.92**
MCV (fl)	64.9±1.94	65.3±2.07	65.7±1.97	65.9±1.63	62.5±1.76
MCH (pg)	21.0±0.71	21.2±0.87	21.1±0.57	21.2±0.49	20.2±0.76
MCHC (g/dl)	32.3±0.61	32.5±0.42	32.2±0.54	32.1±0.19	32.3±0.43
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	1122±151.4	1138±114.5	1179±47.6	1177±101.9	1171±148.3

Values were expressed as means±S.D. for 5 rats.

\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.05$ ).

\*\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.01$ ).

의 감소는 모두 랫드의 정상 생리치 범위내(Wolford 등, 1986)의 변화로서 시험물질 투여와 관련이 없는 우연한 변화로 사료된다.

## 8. 장기중량

수컷의 절대장기중량 측정 결과 300 mg/kg 투여군에서 간, 비장, 심장, 흉선 및 고환의 중량이 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 감소하였고 이중 간 및 신장에서 상대장기중량이 유의성있게 증가하였다.

암컷의 절대장기중량 측정 결과 암컷의 모든 투여군에서 흉선의 중량이 대조군에 비해 유의성있게 감소하였으며, 300 mg/kg 투여군에서는 비장 및 난소가 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다. 상대장기중량 측정 결과 75, 150 및 300 mg/kg 투여군에서 흉선이 대조군에 비해 유의성있게 감소하였으며, 간 및 신장의 경우 수컷과 동일하게 300 mg/kg 투여군에서 유의성있게 증가하였다 (Table 7).

본 시험의 암컷과 수컷 300 mg/kg 투여군에서 간장과 신장의 상대중량 증가는 조직병리검경결과와 부합되는 변화로 시험물질에 의한 영향으로 사료된다. 그 외에 장기에서 관찰되는 중량 변화는 암컷과 수컷 150 및 300 mg/kg 투여군의 체중과 사료섭취량이 대조군과 비교하여 감소했다는 점을 고려해 볼 때 시험물질의 투여로 인한 사료섭취량 감소와 이에 따른 체중감소의 결과로 생각된다.

## 9. 조직병리학적 검사

조직병리검경 결과, 유의성 있는 변화가 암·수 150 및 300 mg/kg 투여군의 신장, 간, 심장, 비장, 흉선, 고환, 난소에서 관찰되었다(Table 8).

신장의 경우, 세뇨관 공포변성이 수컷의 150 mg/kg 투여군에서 2례, 300 mg/kg 투여군에서 4례가 관찰되었고, 암컷의 300 mg/kg 투여군에서 1례가 관찰되었다. 병변은 주로 근위세뇨관에서 관찰되었고 상피세포는 창백하게 종대된 모습을 나타내었다. 신장에서 상피세포 공포변성은 다량의 sucrose 투여(Monserrat and Chandler, 1975)나 외인성물질 투여시 상피세포의 세포질내 물, 인지질, 지단백이 축적되어 발생한다고 보고되어 있다. 본시험에서 신장의 병변은 시험물질에 의한 영향으로 사료되며 수컷에서 높은 발생빈도와 정도를 나타내고 있어 수컷이 민감하게 반응하는 것으로 판단된다.

간장의 경우, 간세포 공포변성이 수컷의 150 mg/kg 투여군에서 3례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었고, 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 5례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었다. 간세포는 창백하게 종대되고 세포질은 불규칙한 망상구조를 나타내었다. 간세포 공포변성은 150 mg/kg 투여군에서 주로 소엽중심성으로 관찰되는 반면에 300 mg/kg 투여군에서는 소엽내 미만성으로 관찰되었다. 간에서 공포변성은 크게 수분과 전해질 균형의 결함, 대사산물의 과도한 축적, 비분해성 산물 복합체의 축

**Table 6.** Serum biochemical values in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Parameter	Male				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
AST (IU/l)	94.8±11.21	105.0±6.44	111.7±16.66	121.8±26.28	553.4±602.72
ALT (IU/l)	71.7±10.04	74.6±10.30	75.9±10.76	66.7±10.45	380.0±656.32
ALP (IU/l)	757.6±147.06	969.6±130.93	1004.6±93.04	996.6±139.20	1015.0±251.98
BUN (mg/dl)	19.3±2.31	17.1±1.63	16.3±1.39	17.7±0.69	17.5±2.23
Creatinine (mg/dl)	0.62±0.096	0.59±0.103	0.50±0.134	0.50±0.068	0.47±0.100
Glucose (mg/dl)	177.9±11.70	169.3±17.28	148.8±8.68*	171.4±12.52	174.5±16.64
Total cholesterol (mg/dl)	95.5±8.39	103.4±11.12	102.0±23.27	115.5±8.70	181.4±39.03**
Total Bilirubin (mg/dl)	0.04±0.008	0.04±0.008	0.05±0.009	0.04±0.018	0.03±0.071
Total Protein (g/dl)	6.26±0.169	6.40±0.338	6.11±0.289	6.03±0.251	6.12±0.124
Albumin (g/dl)	4.38±0.087	4.38±0.112	4.25±0.155	4.13±0.116*	4.11±0.186*
CPK (IU/l)	434.4±171.33	315.8±107.04	534.5±255.50	326.9±61.21	199.8±42.55
Triglyceride (mg/dl)	117.9±26.30	153.8±58.00	148.2±27.42	161.7±27.86	66.4±28.77
Calcium (mg/dl)	12.34±0.696	12.36±0.594	12.04±0.566	12.09±0.440	12.06±0.542
Inorganic phosphorus (mg/dl)	11.81±1.170	11.33±0.720	11.82±1.134	11.33±1.257	10.80±1.616
Phospholipid (mg/dl)	208.0±26.43	231.4±18.56	225.8±30.70	249.2±14.24	307.8±49.68**
Alumin/Globulin ratio	2.34±0.107	2.19±0.269	2.29±0.238	2.19±0.149	2.06±0.274
Na (mmol/l)	142.6±1.67	141.8±1.30	140.4±1.52	140.0±1.41	140.0±2.35
K (mmol/l)	5.24±0.545	5.37±0.530	5.91±1.375	5.67±0.671	7.11±1.154*
Cl (mmol/l)	103.0±2.35	102.2±1.30	101.6±1.52	101.2±1.30	97.8±4.32*

Parameter	Female				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
AST (IU/l)	92.8±16.30	87.5±7.81	84.7±9.34	109.6±12.77	403.8±144.28**
ALT (IU/l)	51.5±5.75	57.2±6.09	55.0±11.30	54.5±5.10	165.1±103.46**
ALP (IU/l)	602.6±92.39	487.0±140.13	680.7±190.13	624.6±115.58	738.8±67.48
BUN (mg/dl)	15.7±1.60	15.4±3.10	15.4±1.48	13.0±1.80	15.7±1.26
Creatinine (mg/dl)	0.49±0.115	0.53±0.127	0.57±0.112	0.53±0.127	0.49±0.105
Glucose (mg/dl)	164.0±19.78	151.0±13.11	178.4±18.85	165.2±13.73	159.0±31.06
Total cholesterol (mg/dl)	83.0±11.88	106.1±19.50	104.8±8.15	113.4±13.32	167.9±36.36**
Total Bilirubin (mg/dl)	0.03±0.007	0.03±0.005	0.03±0.012	0.03±0.008	0.03±0.013
Total Protein (g/dl)	6.30±0.246	6.49±0.508	6.27±0.246	6.12±0.341	6.00±0.365
Albumin (g/dl)	4.50±0.144	4.52±0.242	4.42±0.068	4.34±0.153	3.91±0.331**
CPK (IU/l)	402.9±172.65	327.6±72.77	227.1±61.94	263.1±116.49	287.1±198.63
Triglyceride (mg/dl)	83.4±43.61	143.0±104.55	101.1±22.66	82.9±17.22	96.3±40.15
Calcium (mg/dl)	12.16±0.886	12.69±0.726	13.08±0.666	12.14±0.642	11.92±0.754
Inorganic phosphorus (mg/dl)	10.69±0.780	11.46±0.712	12.16±0.540	11.07±1.022	9.91±1.229
Phospholipid (mg/dl)	182.2±23.19	222.4±23.39	220.8±13.48	228.2±21.15	317.2±57.38**
Alumin/Globulin ratio	2.52±0.126	2.32±0.262	2.41±0.259	2.46±0.279	1.89±0.236**
Na (mmol/l)	141.2±0.84	140.0±0.71	140.8±0.45	139.4±0.55	141.2±2.17
K (mmol/l)	5.12±0.716	5.35±0.796	5.59±0.711	5.41±0.588	5.65±0.516
Cl (mmol/l)	103.4±0.89	100.6±1.14**	101.0±0.71**	100.4±1.14**	99.8±1.30**

Values were expressed as means±S.D. for 5 rats.

\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.05$ ).

\*\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.01$ ).

적으로 발생하는데(Cheville, 1988) 공포변성은 간세포 손상의 초기변성과정에서 세포질내 수분, 글리코겐, 지질등의 침착으로 발생한다. 간세포 공포변성은 일반적으로 화학물질, 영양장애, 대사장애, 호르몬 장애등에 의해 나타난다고 알려져 있다(Greaves, 2000). 본 시험에서 간의 병변은 용량 의존성이 인정되어 시험물질에 의한 영향으로 사료된다.

심장의 경우, 심근세포 공포변성이 수컷의 300 mg/kg

투여군에서 5레가 관찰되었고, 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 1레, 300 mg/kg 투여군에서 5레가 관찰되었다. 심근세포는 세포질내 다수의 공포를 함유하고 있다. 심근세포에서 공포변성은 외인성 물질 투여시 인지질이나 지방이 축적(Hughes 등, 1971; Adams 등, 1981; Van Vleet and Ferrans, 1986; Jodalen 등, 1982; Greaves 등, 1984)되어 발생한다고 보고 되어 있다. 본시험에서 심장의 병변은 주로 암수의 300 mg/kg 투여군에서 높은 발생빈도와 병변의



**Table 7.** Absolute and relative organ weights in SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Parameter	Male				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
Liver	14.03±1.570	13.16±0.999	12.64±0.843	12.66±1.215	11.45±1.121**
Relative weight (% b.w)	5.22±0.470	5.16±0.154	4.94±0.218	5.32±0.292	6.48±0.611**
Spleen	0.86±0.079	0.71±0.163	0.71±0.165	0.68±0.077	0.51±0.1780**
Relative weight (% b.w)	0.32±0.017	0.28±0.054	0.28±0.058	0.29±0.040	0.28±0.072
Kidney-left	1.09±0.074	1.01±0.127	0.97±0.120	0.93±0.085	0.89±0.103
Relative weight (% b.w)	0.41±0.018	0.40±0.039	0.38±0.038	0.39±0.017	0.50±0.058**
Kidney-right	1.11±0.094	1.02±0.133	1.01±0.102	0.95±0.078	0.93±0.125
Relative weight (% b.w)	0.41±0.020	0.40±0.041	0.39±0.030	0.40±0.018	0.52±0.048**
Heart	1.07±0.136	1.01±0.070	0.98±0.123	0.95±0.109	0.80±0.143**
Relative weight (% b.w)	0.40±0.041	0.40±0.015	0.38±0.038	0.40±0.026	0.45±0.043
Thymus	0.76±0.077	0.63±0.137	0.60±0.039	0.595±0.039	0.313±0.192
Relative weight (% b.w)	0.28±0.019	0.25±0.053	0.23±0.061	0.25±0.018	0.17±0.092
Testis-left	1.26±0.103	1.20±0.101	1.07±0.281	0.99±0.185	0.69±0.196**
Relative weight (% b.w)	0.47±0.062	0.47±0.058	0.42±0.101	0.42±0.081	0.39±0.097
Testis-right	1.27±0.072	1.19±0.099	1.07±0.273	1.00±0.169	0.69±0.197**
Relative weight (% b.w)	0.47±0.051	0.47±0.057	0.41±0.097	0.42±0.072	0.39±0.093
Kidney-left+Kidney-right	2.20±0.160	2.04±0.259	1.98±0.221	1.88±0.162	1.82±0.227
Relative weight (% b.w)	0.82±0.032	0.80±0.080	0.77±0.068	0.79±0.034	1.026±0.104**
Testis-left+Testis-right	2.52±0.174	2.39±0.199	2.14±0.552	1.98±0.353	1.39±0.392**
Relative weight (% b.w)	0.95±0.114	0.94±0.115	0.83±0.197	0.84±0.153	0.78±0.189
Parameter	Female				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
Liver	8.22±0.760	8.70±1.047	8.46±0.374	8.15±0.643	9.50±0.791
Relative weight (% b.w)	4.59±0.286	5.16±0.818	4.84±0.213	4.88±0.257	7.250±0.345**
Spleen	0.47±0.039	0.46±0.073	0.45±0.041	0.42±0.055	0.35±0.029**
Relative weight (% b.w)	0.26±0.022	0.27±0.026	0.26±0.018	0.25±0.020	0.27±0.039
Kidney-left	0.75±0.057	0.074±0.079	0.76±0.049	0.74±0.098	0.71±0.065
Relative weight (% b.w)	0.42±0.034	0.44±0.046	0.44±0.036	0.44±0.034	0.55±0.022**
Kidney-right	0.78±0.049	0.77±0.095	0.80±0.035	0.75±0.108	0.74±0.061
Relative weight (% b.w)	0.43±0.027	0.45±0.047	0.46±0.026	0.45±0.037	0.56±0.021**
Heart	0.73±0.080	0.72±0.068	0.74±0.085	0.72±0.052	0.63±0.044
Relative weight (% b.w)	0.405±0.038	0.43±0.033	0.43±0.050	0.43±0.013	0.48±0.054
Thymus	0.63±0.041	0.50±0.067*	0.49±0.104*	0.42±0.067**	0.24±0.040**
Relative weight (% b.w)	0.35±0.016	0.30±0.041	0.28±0.051*	0.25±0.031	0.18±0.016**
Ovary-left	0.037±0.0089	0.035±0.0065	0.029±0.0054	0.030±0.0036	0.024±0.0062*
Relative weight (% b.w)	0.021±0.0054	0.021±0.0029	0.017±0.0036	0.018±0.0021	0.018±0.0053
Ovary-right	0.035±0.0049	0.027±0.0063	0.029±0.0031	0.030±0.0064	0.022±0.0022**
Relative weight (% b.w)	0.019±0.0032	0.016±0.0042	0.016±0.0018	0.018±0.0038	0.017±0.0029
Kidney-left+Kidney-right	1.52±0.103	1.51±0.173	1.56±0.076	1.48±0.206	1.45±0.125
Relative weight (% b.w)	0.85±0.060	0.89±0.092	0.89±0.060	0.89±0.071	1.105±0.0415**
Ovary-left+Ovary-right	0.072±0.0134	0.062±0.0057	0.058±0.0077	0.060±0.0089	0.046±0.0075**
Relative weight (% b.w)	0.040±0.0082	0.037±0.0039	0.033±0.0052	0.036±0.0049	0.035±0.0072

Values were expressed as means±S.D. for 5 rats.

\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.05$ ).

\*\*Significant difference from v.control group ( $p < 0.01$ ).

정도를 나타내고 있어 시험물질에 의한 영향으로 사료 된다.

비장의 경우, 조직구 공포변성이 수컷의 150 mg/kg 투여군에서 4례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었고, 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 5례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었다. 위축이 수컷의 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었고, 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 1례,

300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었다.

흉선의 경우, 조직구 공포변성이 수컷의 300 mg/kg 투여군에서 3례가 관찰되었고, 암컷의 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었다. 위축이 수컷의 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었고, 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 3례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었다.

비장의 공포변성은 백수와 적수내 조직구에서 관찰되었

**Table 8.** Histopathological findings of SD rats orally administered with CWJ-a-5 for 2 weeks

Organ and histopathology	Male					Female				
	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg	0 mg	37.5 mg	75 mg	150 mg	300 mg
Kidney										
Vacuolar degeneration, renal tubule	0/5 <sup>a</sup>	0/5	0/5	2/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5
Liver										
Vacuolar degeneration, hepatocyte	0/5	0/5	0/5	3/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5	5/5
Heart										
Vacuolar degeneration, myocyte	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	1/5	5/5
Spleen										
Vacuolar degeneration, histiocyte	0/5	0/5	0/5	4/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5	5/5
Atrophy	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	1/5	5/5
Thymus										
Vacuolar degeneration, histiocyte	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	3/5	5/5
Atrophy	0/5	0/5	0/5	0/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5
Testis										
Atrophy, seminiferous tubule	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5					
Degeneration, germinal epithelium	0/5	0/5	0/5	0/5	5/5					
Ovary										
Vacuolar degeneration, corpus luteum						0/5	0/5	0/5	5/5	5/5
Vacuolar degeneration, granulosa cell						0/5	0/5	0/5	5/5	5/5
Vacuolar degeneration, theca cell						0/5	0/5	0/5	1/5	4/5

<sup>a</sup>No. of animal having lesion/total No. of animal examined.

고 흥선의 공포변성은 수질과 피질내 조직구에서 관찰되었다. 조직구는 창백하게 종대되어 있으며 세포질은 불규칙한 망상구조를 나타내고 있었다. 비장과 흥선에서 조직구 공포변성은 외인성 물질 투여시 비장과 흥선에 축적된 glycoproteins, phospholipids, 또는 liposomes을 조직구가 탐식함으로써 발생(Weinberger 등, 1985; van Rooijen and Roeterink, 1980)한다고 보고되어 있다. 본 시험에서 비장과 흥선의 공포변성은 시험물질에 의한 영향으로 사료되며 비장과 흥선내 조직구가 시험물질을 제거하는 과정 중 대사산물이 축적되어 발생된 것으로 판단된다. 비장과 흥선의 위축은 림프구의 괴사 흔적이 현저하게 관찰되지 않았으므로 단정하기 어렵지만 시험물질의 직접적인 독성보다는 사료섭취의 저하로 인한 영향으로 사료된다.

고환의 경우, 정세관 위축이 수컷의 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었고, 정세포 변성이 수컷의 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었다. 정세관은 정조세포, 정모세포, 정자세포의 감소를 보이는 위축과 다핵거대세포의 출현을 보이는 정세포 변성을 나타내었다. 정세관 위축은 일반적으로 가령, 내분비장애, 스트레스, 약물등에 의해 국소적 또는 미만성으로 관찰(Greaves and Faccini, 1992)되지만 본시험에서 고환의 병변은 정세포 변성을 동반한 정세관 위축을 보이고 300 mg/kg 투여군에서 높은 발생빈도와 병변의 정도를 나타내고 있어 시험물질에 의한 영향으로 사료된다.

난소의 경우, 황체 공포변성이 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 5례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었고 과

립세포의 공포변성이 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 5례, 300 mg/kg 투여군에서 5례가 관찰되었으며 난포막세포의 공포변성이 암컷의 150 mg/kg 투여군에서 1례, 300 mg/kg 투여군에서 4례가 관찰되었다. 황체세포, 과립세포, 난포막세포는 종대되고 세포질은 창백하였다. 난소의 간질세포, 과립세포, 난포막세포에서 공포변성은 외인성 물질 투여시 인지질이나 지방이 축적(Food and Drug Administration, 1981; Lullmann-Rauch, 1979)되어 발생한다고 보고되어 있다. 본시험에서 난소의 병변은 150 mg/kg와 300 mg/kg 투여군에서 높은 발생빈도와 병변의 정도를 나타내고 있어 시험물질에 의한 영향으로 사료된다.

본 시험의 조직병리학적 검사 결과에서 관찰된 신장, 간장, 심장, 비장, 흥선, 난소의 공포변성은 혈액생화학적 검사에서 관찰된 total cholesterol와 phospholipid의 증가와 일치되는 소견으로 이들 장기에서 시험물질 투여에 따른 지질의 비정상적인 축적이 발생한 것으로 사료된다.

#### IV. 결 론

CWJ-a-5의 반복 경구투여에 의한 아급성 독성을 조사하기 위해 Sprague-Dawley 계통의 랫드에 0, 37.5, 75, 150 및 300 mg/kg의 용량으로 2주간 반복적으로 경구투여하였다. CWJ-a-5는 랫드에서 유연 및 탈모증상과 사료섭취량감소, 체중증가의 억제, total cholesterol, 인지질, AST 등의 증가와 신장, 간장, 심장, 비장, 흥선, 고환 및 난소에 조직학적인 변화를 유발하였다. 본 시험에서 표적장기는

신장, 간장, 심장, 비장, 흉선, 고환 및 난소로 사료되며 본 시험조건에 의한 무해용량(no observed adverse effect level)은 암수 모두 75 mg/kg이며 확실중독량은 암수 공히 150 mg/kg으로 사료된다.

### 감사의 말씀

이 연구는 1998년도 보건복지부 보건의료기술연구개발 사업(HMP-98-D-1-0010)지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Adams, M.G., Barer, R., Joseph, S. and Ominiabohs, F. (1981): Fat accumulation in the rat heart during fasting. *J. Pathol.*, **135**, 111-126.
- Calabresi, P. and Chabner, B.A. (1990): Antineoplastic agent In Goodman and Gilman's *The Pharmaceutical Basis of Therapeutics (8th ed)*, Pergamon Press, New York, pp. 1209-1263.
- Chevill, N.F. (1988): Introduction to veterinary pathology, Iowa State University press, Ames, 57-68.
- Cho, W.J., Kim, E.K., Park, M.J., Choi, S.U., Lee, C.O., Cheon, S.H., Choi, B.G. and Chung, B.H. (1998): Synthesis and Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) of Antitumor 3-Arylisoquinoline Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.*, **6**, 2449-2458.
- Cho, W.J., Yoo, S.J., Chung, B.H., Cheon, S.H., Whang, S.H., Kim, S.K., Kang, B.H. and Lee, C.O. (1996): Synthesis of Benzo[c]phenanthridine Derivatives and their *In Vitro* Antitumor Activities. *Arch. Pharm. Res.*, **19**, 321-325.
- Cho, W.J., Yoo, S.J., Park M.J., Chung, B.H. and Lee, C.O. (1997): Synthesis and Antitumor Activity of 3-Arylisoquinoline Derivatives. *Arch. Pharm. Res.*, **20**, 264-268.
- Fang, S.D., Wang, L.K. and Hecht, S.M. (1993): Inhibitors of DNA Topoisomerase I Isolated from the Roots of *Zanthoxylum nitidum*. *J. Org. Chem.*, **58**, 5025-5027.
- Food and Drug Administration (1981): Ketoconazole. Summary Basis of Approval. NDA 18-533, Washington, DC.
- Greaves, P. (2000): Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug evaluation, Second Edition, Elsevier, pp. 442-445.
- Greaves, P. and Faccini, J.M. (1992): Rat histopathology: A glossary for use in toxicity and carcinogenicity studies, 2nd revised edition, Elsevier, pp. 192-193.
- Greaves, P., Martin, J., Michel, M.C. and Mompon, P. (1984): Cardiac hypertrophy in the dog and rat induced by oxfenicine, an agent which modifies muscle metabolism. *Arch. Toxicol., Suppl.*, **7**, 488-493.
- Hughes, J.T., Esiri, M., Oxbury, J.M. and Whitty, C.W.M. (1971): Chloroquine myopathy. *Quart. J. Med.*, **40**, 85-93.
- Jodalen, H., Lie, R. and Rotevatn, S. (1982): Effect of isoproterenol on lipid accumulation in myocardial cells. *Res. Exp. Med. (Berl)*, **181**, 239-244.
- Kim, K.E., Cho, W.J., Chang, S.J., Yong C.S., Lee, C.H. and Kim, D.D. (2001a): Pharmacokinetics of a new antitumor 3-arylisoquinoline derivative, CWJ-a-5. *Int. J. Pharm.*, **217**, 101-110.
- Kim, K.E., Cho, W.J., Kim, T.S., Kang, B.H., Chang, S.J., Lee, C.H. and Kim, D.D. (2001b): Physicochemical properties of CWJ-a-5, a new antitumor 3-arylisoquinoline derivative. *Drug Devel. Ind. Pharm.*, in press.
- Kobayashi, F., Yokumoto, H., Suzuki, M. and Tsubaki, M. (1993): *Chem. Abstr.*, **118**, 219845.
- Lullmann-Rauch, R. (1979): Drug related lysosomal storage disorders. In: J.T. Dingle, P.J. Jacques and I.H. Shaw (Eds.), *Lysosomes in Applied Biology and Therapeutics*, North Holland, Amsterdam. Ch. 3, pp. 49-130.
- Monserrat, A.J. and Chandler, A.E. (1975): Effects of repeated injections of sucrose in the kidney: Histologic, cytochemical and functional studies in an animal model. *Virchows Arch. B*, **19**, 77-91.
- Simeon, S., Rios, J.L. and Villar, A. (1989): Pharmacological activities of benzophenanthridine and phenanthrene alkaloids. *Pharmazie*, **44**, 593-597.
- Turton, J. and Hooson, J. (1998): The urinary system In *Target organ pathology*, A basic text, Taylor & Francis, 99-139.
- van Rooijen, J. and Roeterink, C.H. (1980): Phagocytosis and lymphocyte migration: evidence that lymphocyte trapping in the spleen following carbon injection is not due to direct lymphocyte-macrophage adherence. *Immunology*, **39**, 571-576.
- van Vleet, J.F. and Ferrans, V.J. (1986): Myocardial diseases of animals. *Am. J. Pathol.*, **124**, 98-178.
- Weinberger, M.A., Albert, R.H. and Montgomery, S.B. (1985): Splenotoxicity associated with splenic sarcomas in rats fed high doses of D&C Red No. 9 or aniline hydrochloride. *J.N.C.I.*, **75**, 681-690.
- Wolford, S.T., Schroer, R.A., Gohs, F.X., Gallo, P.P., Brodec, M., Falk, H.B. and Ruhren, F.R. (1986): Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environ. Health*, **18**, 161-188.
- 식품의약품안전청(1999): 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품 안전청고시 제1999-61호.