



게르마늄 복합물 STB-HO-BM의 랫드 및 비글견에서 단회투여 독성연구

송시환¹ · 정연권² · 홍동호³

¹(주)켄온 전임상 연구소, ²(주)서봉바이오테크, ³(주)녹십자 개발본부

Single Dose Toxicity Studies of STB-HO-BM in Rats and Dogs

Si Whan Song¹, Winston Jung² and Dong Ho Hong³

¹Preclinical Research Center, ChemOn Inc., Gyeonggi-do 449-826

²SeoBong Biobestech Co., Seoul 137-857

³Green Cross Coporation, 303 Bojeong-dong, Giheung-gu, Yongin 446-770, Korea

Received February 17, 2006; Accepted April 1, 2006

ABSTRACT. The acute toxicity of STB-HO-BM was evaluated in Sprague Dawley (SD) rats and beagle dogs. STB-HO-BM was administered orally to rats at dose levels of 0 and 2,000 mg/kg/day and to dogs at dose levels of 0, 500, 1,000 and 2,000 mg/kg/day. In these experiments, there were no death and clinical changes which were related to STB-HO-BM administration. In addition, there were no significant changes between control and treated groups in body weights and autopsy findings. In conclusion, the administration of STB-HO-BM 2,000 mg/kg in SD rats and up to 2,000 mg/kg in beagle dogs was proved to be safe, and it is thought that STB-HO-BM may not show any toxicity in its clinical use.

Keywords: STB-HO-BM, Single dose toxicity, Dog, Rat.

서 론

게르마늄의 의학적인 효능이 처음 발견된 것은 1930년 프랑스와 스페인의 국경지방인 Lourdes의 샘물이 여러 가지 질병치료에 큰 효과가 있다는 보고서가 발표된 이후 계속된 샘물의 성분분석 결과 게르마늄의 함량이 매우 높다는 사실이 알려지면서 부터이다. 그후 체내에 잔류하지 않고 약리작용을 할 수 있는 유기게르마늄에 대한 연구가 활발히 진행되어 인삼, 마늘, 영지, 명일엽등과 같은 보양, 강장의 작용이 있는 약초에 비교적 많은 양의 유기 게르마늄이 함유되어 있다는 것이 밝혀졌고, 유기게르마늄을 암, 간염, 류마티스 관절염, 피부질환, 노화등과 같은 난치성 성인병 치료에 이용하려는 연구가 계속되고 있다.

현재 게르마늄으로 알려진 물질은 산화 게르마늄과 게르마늄(Ge-132)으로 알려져 있으며, 그 중에서 게르

마늄(Ge-132)의 역사를 보면 일본의 석탄공학 박사로서 아시아가즈히코는 게르마늄 연구소를 설립 30년 동안 연구 끝에 유기게르마늄 제1호 칼보키시 에틸 게르마늄, $(\text{GeCH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2\text{O}_3$, 합성에 성공하였으며, 수용성 게르마늄을 만들어 먹을 수 있는 게르마늄으로 생체에 적용하였다. 유기게르마늄을 Ge-132로 명명하였으며, Ge-132로 세계적으로 통용되었다. 합성 성공 후 무해무독하면서 난치병에 대한 효과를 입증하였다. 현재 세계적인 대학병원 및 연구소에서 생체응용에 대한 연구를 활발하며, 항암효과, 돌연변이억제, 세포활성화, 항바이러스효과, 면역강화작용, 인터페론증가, 해열진통효과, 중금속해독작용등 많은 연구논문이 발표되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 게르마늄을 포함한 복합물로서 본 시험물질의 안전성을 평가하고자 하였다. STB-HO-BM은 (주)서봉바이오테크에서 의뢰한 물질로서 안전성 평가의 일환으로 단회투여시 나타날 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하고자 랫드 및 비글견에 대한 단회 경구투여 독성시험을 "의약품 등의 독성시험기준(식품의약품안전청고시 제1999-61호, 1999)"에 준하여 수행하였다.

Correspondence to: Dong Ho Hong, Green Cross Coporation, 303 Bojeong-dong, Giheung-gu, Yongin 446-770, Korea
E-mail: hongdong@greencross.com

List of abbreviations: SD, Sprague-Dawley.

재료 및 방법

시험물질

본 시험에 사용한 게르마늄 복합물(STB-HO-BM)은 게르마늄을 함유한 광물에서 화학적 처리와 나노화 기술에 의해 처리된 물질로서 (주)서봉바이오 베스텍에서 제공 받아 사용하였다. STB-HO-BM은 5000 mesh 정도로 나노화된 물질로서 밀폐용기에 넣어 냉장 보관하였고, 투여직전 0.5% CMC에 용해시킨 후 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

실험동물 및 사육환경

시험에 사용한 Sprague-Dawley(SD) 랫드는 샴타코 바이오코리아(경기도 오산시 서량동 77-1)에서 7주령의 동물을 입수한 후 1주일간의 검역과 순화, 사육기간을 거쳐 건강한 동물 암·수 각각 5마리씩을 선발하여 실험에 사용하였다. 비글개는 한림실험동물연구소 (경기도 화성시 봉담읍 유리 254-1)에서 약 5.5개월령의 동물을 입수하여 실험에 사용하였다. 순화 및 시험 전기간 동안 동물은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 15\%$, 환기횟수 1020회/hr, 조명시간 12 hrs, 조도 150~300 lux로 설정된 (주)켄온의 전임상연구소 실험동물실에 수용하였으며, 사료는 설치류용 실험동물용 고품사료(폴라스 인터내셔널, Harlan Co. Ltd.)를 비글개는 (주)바이오맥에서 공급받은 성견용 사료를, 물은 지하수를 자외선 살균기 및 미세여과장치로 소독한 후 물병을 이용하여 자유섭취시켰다.

시험군 및 투여방법

랫드에서는 예비시험에서 500 및 2,000 mg/kg 투여군을 설정하여 투여한 결과 사망동물 및 시험물질과 관련된 이상증상이 관찰되지 않아 본 시험에서 부형제 대조군과 "OECD guideline"상 단회 경구 투여 한계용량인 2,000 mg/kg으로 설정하였으며, 투여액은 체중을 기준으로 10 ml/kg으로 하였다. 경구투여는 sonde를 이용하여 위내로 1회 투여하였다. 대조군에는 vehicle(0.5% CMC (sodium carboxymethylcellulose) 용액)를 10 ml/kg의 액량으로 위내로 투여하였다. 투여 후 임상증상, 체중의 변화 및 폐사 여부를 2주일 동안 관찰하였고, 체중 측정 은 투여 직전 및 투여 후 1, 3, 7 및 14일째에 실시하였다. 시험종료후 모든 동물을 ether 마취하에 방혈치사하였고 육안으로 장기의 이상여부를 관찰하였다.

비글개에서는 예비시험결과 구토가 관찰된 2,000 mg/kg을 최고용량, 아무런 증상도 발견되지 않은 500 mg/kg을 최저용량으로 하여 중간에 1,000 mg/kg 투여군을 설

정하여 투여하였다. 투여액은 체중을 기준으로 1.0 ml/kg으로 하였다. 투여 후 당일은 투여 직 후 및 이 후 매 6 시간마다 관찰하였고, 투여 후 7일 동안 임상증상의 발현, 체중의 변화 및 폐사 여부를 관찰하고, 투여 직전 및 투여 후 1, 3, 7 및 14일째의 체중을 측정하였다.

시험군은 랫드의 경우 선발된 암·수 각각 20마리의 동물을 군간 체중이 고르게 1개의 용량군과 1개의 대조군으로 하여 군당 암·수 각각 10마리씩 배치하였다. 체중은 수컷은 250.33~262.04 g, 암컷은 181.69~189.15 g 범위였다. 비글개의 경우 선발된 암·수 각각 6마리의 동물을 군간 체중이 고르게 3개의 용량군으로 하여 군당 암·수 각각 2마리씩 배치하였다. 체중은 수컷은 6.929~8.396 kg, 암컷은 6.335~8.116 kg 범위였다.

통계학적 분석

본 실험에서 얻은 측정치의 대조군과 STB-HO-BM 투여군의 체중증가에 대하여 Student's *t*-Test를 사용하여 유의성을 검증하였다.

결 과

랫드에 대한 단회투여독성

시험물질의 투여와 관련된 사망동물은 암수의 모든 투여군에서 관찰되지 않았다(Table 1). 일반증상에서도 시험물질의 투여와 관련된 어떠한 변화도 관찰되지 않았다. 체중변화는 암컷 대조군에서 3일째 1례의 체중증가 역제가 관찰되었다(Fig. 1).

수컷 대조군 폐에서 1례의 회백색 반점 산재(Diffused gray white spots)가 관찰되었고 암컷에서는 대조군 및 2,000 mg/kg 투여군 폐에서 각각 2례씩 회백색 반점 산재가 관찰되었으며 암컷대조군에서 1례의 폐 표면용기(Surface protuberance)가 관찰되었다(Table 2).

비글개에서의 단회투여독성

시험물질의 투여와 관련된 사망동물은 암수의 모든 투여군에서 관찰되지 않았다(Table 3, 4). 일반증상으로는 시

Table 1. Mortality and clinical signs in rats treated orally with STB-HO-BM

Items	Dose (mg/kg B.W)	Final mortality		Clinical signs	
		Male	Female	Male	Female
Groups	0	0/5	0/5	-	-
	2000	0/5	0/5	-	-

Values are expressed as number of dead animal/total number of animals.

-: no clinical signs.

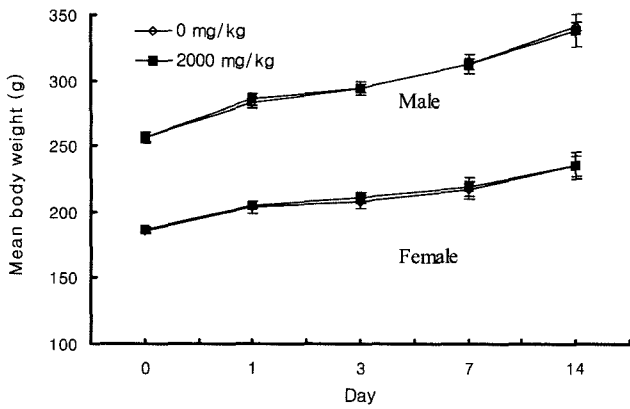


Fig. 1. Body weight changes in rats after single oral administration of STB-HO-BM. Data are mean \pm S.D. (n = 5).

Table 2. Gross findings in rats after single oral administration of STB-HO-BM

Gross observation				
Dose (mg/kg)	Location	Gross Findin	Gsfrequency*	
male	0	No gross findings	5/5	
	2,000	Lung	No gross findings	4/5
		Lung	Diffused gray white spots	1/5
female	0	No gross findings	3/5	
	2,000	Lung	Diffused gray white spots	2/5
		Lung	Surface protuberance	1/5
2,000	Lung	No gross findings	3/5	
		Diffused gray white spots	2/5	

*: Number of animals with the gross lesions/Number of animals examined.

Table 3. Mortality and clinical signs in beagle dogs treated orally with STB-HO-BM

Items	Dose (mg/kg B.W)	Final mortality		Clinical signs	
		Male	Female	Male	Female
Groups	500	0/2	0/2	1/2 ^a	-
	1000	0/2	0/2	1/2 ^b	-
	2000	0/2	0/2	-	-

Values are expressed as number of dead animal/total number of animals.

^a: vomiting, ^b: diarrhea, -: no clinical signs.

흡물질 투여 이후 나타난 증상 변화로는 구토(vomiting)가 관찰되었다. 수컷의 경우 1,000 및 2,000 mg/kg 투여군에서 투여 후 1시간째 각 1례씩 관찰되었다. 암컷에서는 1,000 mg/kg 투여군 1례에서 투여 후 1시간째 구토가 관찰되었다. 수컷 1,000 mg/kg 투여군 1례에서는 투여 후 13일째 설사(diarrhea)가 추가로 관찰되었다. 체중의 변화에서는 통계학적으로 유의한 어떠한 변화도 인정되지 않았다(Table 3). 부검결과 수컷에서는 아무런 이상도 관찰

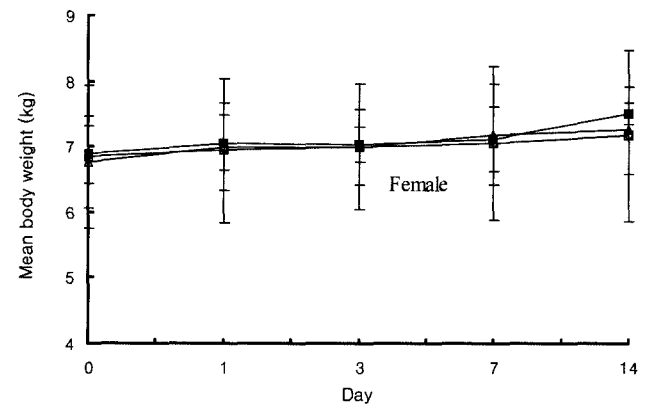
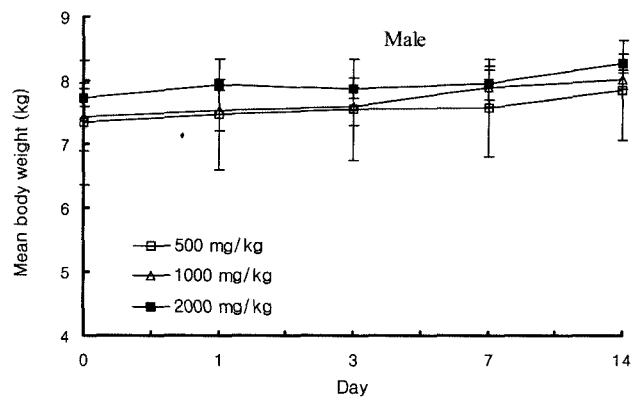


Fig. 2. Body weight changes in beagle dogs after single oral administration of STB-HO-BM. Data are mean \pm S.D. (n = 2).

Table 4. Gross findings in beagle dogs after single oral administration of STB-HO-BM

Dose (mg/kg)	Location	Gross Findings	Frequency*	
male	500	No gross findings	2/2*	
	1,000	No gross findings	2/2	
	2,000	No gross findings	2/2	
female	500	No gross findings	2/2*	
	1,000	Lung	No gross findings	1/2
		Lung	Dark red discoloration in right lobe	1/2
	2,000	Kidney	No gross findings	1/2
Diffused white colored spots in left & right			1/2	

*: Number of animals with the gross findings/Number of animals examined.

되지 않았다. 암컷의 경우 1,000 mg/kg 투여군에서 폐 우엽의 암적색조 변색(dark red discoloration in right lobe) 및 2,000 mg/kg 투여군에서 좌우측 신장의 백색조 반점의 산재(diffused white colored spots in left & right)가 각 1례씩 관찰되었다.

고찰 및 결론

본 연구에서는 (주)서봉바이오베스텍의 게르마늄 복합물 STB-HO-BM에 대한 안전성 평가의 일환으로 반복투여시 발생할 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하기 위하여 랫드 및 비글견의 단회 경구투여 독성시험을 식품의약품 안전청고시 제1999-61호 "의약품 등의 독성시험기준 (1999년 12월 22일 제정)"에 준하여 실시하였다.

랫드의 경우 STB-HO-BM의 단회 경구투여에 의한 독성을 조사하기 위하여 암수 공히 부형제 대조군 및 시험물질 2,000 mg/kg을 투여하는 군을 설정하여 SD 계통의 랫드에 투여하고 2 주간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. 본 시험에서 투여와 관련한 어떠한 특이할만한 증상은 관찰되지 않았다. 체중의 경우 암컷 0 mg/kg 투여군에서 투여 후 3일째 1례의 일시적인 체중증가 역제가 관찰되었으나 그 변화의 폭이 작았고 통계학적 유의성은 나타나지 않은 일시적인 변화로서 시험물질 투여에 의한 변화는 아닌 것으로 판단하였다.

부검소견에서 관찰된 암수의 폐의 이상소견은 SPF사육 구역에서 원인 모르게 관찰되는 병변(Farrar, 1997; 손우찬, 2004)과 유사한 변화로 판단하였고 대조군에서도 관찰된 변화로 시험물질의 투여와 관련된 변화는 아니었다.

비글견의 경우 STB-HO-BM의 단회 경구투여에 의한 독성을 조사하기 위하여 실시하였다. 암수 Beagle견에 시험물질을 500, 1,000 및 2,000 mg/kg을 투여하는 시험물질 투여군을 설정하였다. 각 군별 동물 수는 2마리로 하였고 2주간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다.

본 시험결과 시험물질 투여에 의한 사망동물, 체중변화 및 부검결과에서의 이상은 관찰되지 않았다. 구토증추가 발달된 개에서는 약간의 위장관 자극으로도 구토가 잘 발생하는 것으로 알려져 있다(Farrar, 1997; 손우찬, 2004). 따라서, 일부동물에서 시험물질 투여 직후 일시적으로 관찰된 구토는 절식상태에서 갑작스런 과량의 시험물질 주입으로 인한 위장관 자극에 따른 것으로 본 시험물질에 특이적인 변화는 아닌 것으로 판단하였다.

수컷 1,000 mg/kg 투여군 1례에서 투여 후 13일째 발생한 설사는 시험물질 투여 이후 많은 시간이 경과하였고

다른 동물들에서는 발견되지 않은 것으로 보아 본 시험물 질과는 무관한 것으로 판단되었다. 암컷 일부 동물의 부검소견에서 관찰된 폐의 암적색조 변색 및 신장 표면의 백색반점의 산재는 국산 Beagle견을 이용한 시험에서 간혹 발견되는 것으로 본 시험물질과는 관련이 없는 것으로 판단되었다.

게르마늄을 포함한 음식 첨가물은 1970년대에 일본에서 유행되었고, 후에 다른 여러 나라에 알려지게 되었다. 게르마늄은 생체 필수요소는 아니고, 게르마늄의 급성독성결과는 독성이 약한 것으로 나타났다. 산화게르마늄(GeO₂)의 LD₅₀는 랫드와 웅성 마이스에서 각각 3.7 g/kg 와 6.3 g/kg로 나왔고, Ge-132에 대한 LD50는 웅성 랫드는 11.7, 자성 랫드는 11.0으로 웅성 마이스에서는 12.5, 자성 마이스에서는 11.4 g/kg으로 보고되었다(Tao et al., 1997). 위의 결과와 비교하여 보면 게르마늄 복합물도 독성이 낮은 것으로 판단된다.

이상의 결과로 보아 본 시험 조건 하에서 게르마늄 복합물 STB-HO-BM의 랫드 및 비글견에서의 단회 경구투여 결과 사망동물은 관찰되지 않았으며 최소치사량(MLD)은 암수 모두 2,000 mg/kg 이상인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 (주)서봉바이오베스텍의 용역사업의 일환으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Farrar, L. (1997): Diagnostic Exercise: Interstitial Pneumonia in Viral and Mycoplasmal Antibody-Free Sprague Dawley Rats. ACLAD NEWSLETTER (American Committee on Laboratory Animal Diseases), Fall Vol. 18, No. 1.
- Tao, S.H. and Bolger, P.M. (1997): Hazard assessment of germanium supplements. *Regulatory toxicology and Pharmacology*, **25**, 211-219.
- 손우찬 (2004): 안전성 평가의 평가 기법 및 최신동향 조사(한국과학기술정보연구원).
- 식품의약품안전청 (1999): 의약품 등의 독성시험기준, 식품의약품 안전청고시 제1999-61호, pp. 42-45, pp. 74-76.