

[報 文]

개발한 제3세대 항암제의 아만성 독성연구

정 광 원 · 노 영 수 · 정 세 영

경희대학교 약학과

Study on the Subacute Toxicity of Anticancer Platinum Complexes

Kwang-Won Joeng, Young-Soo Rho and Se-Young Choung

College of Pharmacy, Kyung Hee University

ABSTRACT

The purpose of this study was to characterise the subacute toxic potency of i.v. administered KHPC-005 and 006.

Few test compounds-related toxic effects were observed in body weight gain, clinical signs, urinalysis, hematological parameters and serum biochemical values.

Gross necropsy and histopathology revealed no evidence specific toxicity.

Our data indicated that no-observed effect level of KHPC-005 and 006 were estimated to be 10 mg/kg and 4 mg/kg in male rats, and 10 mg/kg and 1.33 mg/kg in female rats, respectively.

서 론

Cisplatin을 비롯한 백금항암제들은 임상실험에서 매우 탁월한 효과가 인정되어 주로 방광암, 고환암, 난소암, 전립선암 및 경부암 등의 치료제로서 지금까지 널리 사용되고 있으나 임상적으로 심한 신독성, 오심, 구토 및 내이 신경독성 등의 부작용을 나타내는 결점을 갖고 있다.

특히, 신독성은 장기간 투여에 의해 생명을 잃게 되는 주 원인이 되므로 신독성이 적은 백금 항암제 개발을 위해 여러나라에서 경쟁적으로 합성을 하고 있다.

새로 합성한 항암성 백금(II) 착체인 KHPC-005, 006은 carrier ligand로서 dach의 cis체를, leaving group으로서는 DPPP, DPPE를 사용하여 합성한 수용성 화합물로서 in vitro에서 배양한 암세포에 매우 강한 세포독성을 나타내나 정상세포인 신장세포에 대해 매우 낮은 독성을 나타냈다.¹⁾⁻⁴⁾

특히, in vivo에서 cisplatin에 비해 매우 낮은 신독성을 나타내며 급성독성시험에서도 LD50치가 cisplatin의 수십배에 달할 정도로 독성이 작은 물질로 밝혀졌다.

이에 본 실험에서는 LD₁₀을 기준으로하여 그 1/2, 1/5, 1/16에 해당하는 용량을 복강투여로 4주간 연속 투여 하였을 때의 아급성 독성시험을 하여 신약으로서의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 시험물질

본 시험은 의약품 등의 독성시험기준(국립보건안전원, 1994)에 준하여 실시하였으며 시험물질은 경희대 약대 노영수 교수연구실에서 공급받아 순도 95% 이상인 것을 사용하였다.

2. 실험동물 및 사육방법

실험동물은 SD계 rat로서 특정병원체부재 (SPF) 동물을 사용하였다. Rat는 한군을 12마리로 하여 외견상 건강한 암수를 각각 시험에 사용하였다. 시험기간 중 온도는 21~25도, 습도는 40~70%, 시간당 16~18회 환기, 12시간(7:00~19:00) 조명등의 사육환경을 조절, 유지하였으며 사료(Purina, 방사선멸균제)와 음수(자외선멸균수)는 자유섭취시켰다.

3. 투여량의 설정

건강한 암수 rat를 이용하여 체중증가 억제 및 폐사 시험을 실시하고 이를 토대로 본 시험투여용량을 결정하였다.

4. 투여방법 및 투여

Rat의 투여경로는 예정임상경로에 가장 가까운 복강내의 투여로 하였다. 투여는 1일 1회 4주간 연일 실시하였다. Rat의 경우 각 군의 암수 각 5마리를 2주간의 투여 종료후 뇨검사 및 혈액학적 검사를 위해 부검을 실시하였다.

5. 검사항목⁵⁻⁹⁾

1) 폐사상황 및 일반증상 관찰

시험기간을 통해 각 동물의 폐사 및 일반상태는 매일 오전 중에 관찰하였다.

2) 체중, 사료섭취량 및 음수량측정

시험기간 중 체중은 주 2회 투여개시전에 실시하며, 사료 및 음수량은 주 1회 측정하였다. 사료소비량과 음수량은 사육상자별로 측정하며, 각 군당 1일 소비량으로 표시하였다.

3) 안과적 검사

안과적 검사는 투여개시전, 투여종료직전에 모든 동물의 좌우안에 대해 안검 사용 검안경으로 각막 및 홍채 등의 이상유무를 관찰하였다.

4) 혈액학적 검사

혈액은 pentobarbital sodium으로 마취한 동물의 복대동맥에서 채취하였고 채취한 혈액은 EDTA와 구연산 나트륨 등 항응고제를 사용하여 각각 혈액학적 검사를 하며, 잔여혈액은 응고시켜 혈청을 분리, 혈청

생화학 검사를 실시하였다. 혈액학적 검사에서는 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), 혈색소(Hb), 헤마토크리트치(HCT) 평균혈구용적(MCV), 평균혈구혈색소량(MCH), 평균혈구혈색소농도(MCHC) 및 백혈구 백분율 등에 대해 혈구자동측정기를 이용하여 측정하였다.

5) 혈청생화학적 검사

혈청 생화학검사는 혈액 자동분석기를 이용하여, alanine transaminase (ALT, transamination-LDH법), aspartate transaminase (AST, transamination-MDH-LDH법), albumin (BromCresol Green법), alkaline phosphatase (ALP, pNPP hydrolysis법), total bilirubin (Evelyn-Malloy 법), glucose (Hexokinase법), total protein (Biuret법), calcium (Ca, o-cresolphthalein법), urea (BUN, Urease법), Na (Electrode법), Cl (Electrode법) 및 K (Electrode법)에 대해 실시하였다.

6) 뇨검사

투여 제 2주에 rat 각 군의 암수 각 5마리를 metabolic cage에 한마리씩 분리수용하여 검사전일 오후 4시부터 16시간 채뇨하였다. 또한 투여종료시인 4주에 각군의 암수 각 13마리를 동일한 방법으로 채뇨하였다. 채취한 뇨에 대해서 외관과 요량을 관찰한 후 뇨검사용시험지를 사용하여 pH, 단백 (protein), urobilinogen, bilirubin, 포도당 (glucose), 케톤체 (ketone body), 잠혈 (blood), 침사에 관해 검사하였다. 평가는 뇨검사용 시험지의 평가표를 이용하여 잠혈, bilirubin, 단백 등의 항목은 평가표에 의해 평점하였으며, urobilinogen은 <2, 2, 4, 8 Ehulich units/dL을 각각 -, +, ++, +++ 등으로, 케톤체는 <5, 15, 40, 80, 160 mg/L을 각각 -, +, ++, +++ 등으로, 포도당은 <100, 100, 250, 500, 1000 mg/dL을 각각 -, +, ++, +++ 등으로 평가하였다.

7) 부검 및 장기중량측정

투여종료 후 모든 동물을 pentobarbital sodium으로 마취시켜, 외관의 이상유무를 관찰하고 채혈을 실시하였다. 채혈 후 방혈처사시킨 동물에 대해 부검을 실시하여 채강과 각 실질장기에 대해 육안적 검사를

하였다. 각각의 병변을 관찰, 기록한 후 뇌, 심장, 폐장, 비장, 간장, 신장, 부신, 흉선, 고환, 난소 등을 조위조직과 분리하여 각 장기의 절대중량을 측정하였다.

8) 병리조직학적 검사

중량을 측정한 장기와 갑상선, 흉골, 위, 소장, 대장, 장간막임파절, 식도, 기관 등의 장기를 10% 중성 포르마린용액에 1주 이상 고정시킨 다음 통상적인 방법을 거쳐 조직절편을 만들었으며, hematoxylin-eosin염색을 한 후 광학현미경으로 병리조직학적 검사를 실시하였다. 병리조직학적 검사는 대조군과 고용량군에 대해 실시하며, 고용량군에서 병변을 나타내는 장기에 대해서는 무영향량을 조사할 목적으로 다른 용량군에 대해서도 병리조직 검사를 실시하였다.

9) 통계학적 분석

본 시험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 분석은 Barolett test로 분산검정을 실시하여 등분산일 경우 일원배치 분산분석법, 부등분산일 경우 Kurskal-Wallis법으로 유의성 검정을 하였다. 일원배치 분산분석법에서 유의한 경우 Scheffe법을, Kurskal-Wallis법에서 유의성이 인정되는 경우에는 Distribution-free multiple comparison법에 의해 대조군과 각 투여군간의 다중비교를 실시하였다. 분산검정의 통계 처리는 SAS (Statistical Analysis System) 통계 프로그램을 이용하였다.

결 과

SD rat 암수 각각에 KHPC-005의 경우 0, 3.33, 10, 30 mg/kg를 KHPC-006의 경우 0, 1.33, 4, 12 mg/kg를 4주간 반복 복강내 투여하고 동물의 사망, 일반증상 관찰, 체중변화의 측정, 사료와 물섭취량 측정, 뇨검사, 혈액학적 검사, 하액생화학적 검사, 장기 중량측정, 부검조건관찰 및 병리조직조건을 관찰하여 나타나는 독성을 측정하였다.

1. 일반증상 및 사망률

실험동물의 사망은 KHPC-005의 경우 수컷은 30 mg/kg에서 21~28일 사이에 10마리가 관찰되었으며, 암컷은 30 mg/kg에서 28일 되던 날 1마리가 관찰되어졌다. KHPC-006의 경우 수컷은 4 mg/kg 에

서 21일 28일에 각각 한마리씩, 12 mg/kg에서 21~28일 사이에 3마리가 사망하였으며, 암컷은 4 mg/kg에서 21일, 28일에 각각 한마리씩, 12 mg/kg에서 21~28일 사이에 2마리가 사망하였다.

일반증상은 암수 모두 KHPC-005, 006 최고용량군에서 투여 1일 째부터 식욕부진(anorexia)이 나타났으며 일시적인 탈모, 행동의 둔감이 나타나기는 하였으나 전반적으로 모든 투여군에 있어 일반 임상증상은 관찰되지 않았다.

2. 체중변화

체중의 변화는 KHPC-005의 경우 투여 3일째 부터 28일째 되는 날까지 전반적으로 암수 모든 투여군에서 체중증가가 통계학적으로 유의성 있게 감소되었으나 cisplatin (5 mg/kg) 투여시와 같은 급격한 감소는 없었으며 30 mg/kg 투여시 가장 체중 감소가 크게 나타났다.

KHPC-006의 경우 투여 7일째부터 체중증가의 감소가 나타나기 시작하였으며 12 mg/kg 투여시 통계학적으로 유의성있는 감소가 보인 반면 1.33 mg/kg에서는 정상군과 큰 차이를 보이지 않았다.

3. 사료 섭취량

사료 섭취량의 변화는 KHPC-005, 006의 모든 투여 용량군에서 정상군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 감소가 관찰되지 않았다.

4. 물섭취량

물섭취량은 KHPC-005의 경우 암, 수 모두 30 mg/kg, 10 mg/kg 투여시 투여 8일째부터 통계학적으로 유의성있는 섭취량 감소가 나타났다. KHPC-006의 경우는 12 mg/kg, 4 mg/kg 투여시 투여 8일째 부터 암수 모두에서 통계학적으로 유의성있는 섭취량 감소가 나타났다.

5. 안검사

안검사에서는 KHPC-005, 006 공히 모든 투여군에서 암수 모두 아무런 이상이 관찰되지 않았다.

6. 뇨검사

뇨검사에서는 KHPC-005의 경우 암수 모든 투여군에서 잠혈이 나타났으며 이에 따른 비중 증가도 유의성있게 나타났다. 또한, 30 mg/kg, 10 mg/kg 투여

Table 1. Urinalysis of male SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

		GROUP SUMMARY OF URINALYSIS FINDING						
		control			005	006		
		1/16	1/6	1/2		1/16	1/6	1/2
1) Nitrate	-	11	11	11	11	11	11	10
	+	0	0	0	0	0	0	0
2) Urobilinogen	0.1	11	11	11	11	11	11	10
	1.0	0	0	0	0	0	0	0
	2.0	0	0	0	0	0	0	0
	4.0	0	0	0	0	0	0	0
	>8.0	0	0	0	0	0	0	0
3) Protein	-	1	0	0	0	0	0	0
	+/-	2	8	0	0	4	0	0
	30	5	3	2	2	3	7	7
	100	3	0	9	8	4	3	3
	300	0	0	0	1	0	1	0
	1000	0	0	0	0	0	0	0
4) pH	5.0	0	0	0	0	0	0	0
	6.0	1	0	1	0	5	0	0
	6.5	2	3	7	0	2	0	3
	7.0	6	7	3	5	2	1	7
	7.5	2	1	0	4	2	5	0
	8.0	0	0	0	2	0	5	0
	8.5	0	0	0	0	0	0	0
5) Occult Blood	-	1	0	0	0	0	0	0
	+/-	5	0	0	1	0	0	0
	+	1	1	0	0	1	0	0
	++	2	6	5	6	6	2	1
	+++	2	4	6	4	4	9	9
6) Specific gravity	1.000	0	0	0	0	0	0	0
	1.005	0	0	0	0	0	0	0
	1.010	0	0	0	0	0	0	0
	1.015	7	0	0	0	0	0	6
	1.020	0	6	5	2	4	8	4
	1.025	0	5	6	3	7	3	0
	1.030	4	0	0	6	0	0	0
7) Ketone	-	0	0	0	0	0	0	0
	+/-5	2	0	0	0	8	0	0
	15	7	5	7	4	3	0	0
	40	2	6	4	7	0	8	0
	80	0	0	0	0	0	3	3
	160	0	0	0	0	0	0	7
8) Bilirubin	-	11	11	11	11	11	11	11
	+	0	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	0	0	0
	+++5	0	0	0	0	0	0	0
9) Glucose	-	11	11	11	11	11	11	11
	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	0.25	0	0	0	0	0	0	0
	0.5	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0	0	0	0	0	0	0
	2.0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2. Urinalysis of female SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

		GROUP SUMMARY OF URINALYSIS FINDING						
		control			005	006		
		1/16	1/6	1/2		1/16	1/6	1/2
1) Nitrate	-	11	12	11	11	12	10	12
	+	0	0	0	0	0	0	0
2) Urobilinogen	0.1	11	12	10	11	12	10	12
	1.0	0	0	1	0	0	0	0
	2.0	0	0	0	0	0	0	0
	4.0	0	0	0	0	0	0	0
	>8.0	0	0	0	0	0	0	0
3) Protein	-	0	1	6	6	3	0	1
	+/-	3	1	0	3	0	0	0
	30	5	1	3	2	6	4	5
	100	3	8	2	8	3	6	4
	300	0	1	0	0	0	0	2
	1000	0	0	0	0	0	0	0
4) pH	5.0	0	0	0	0	0	0	0
	6.0	2	1	0	0	0	0	0
	6.5	0	2	0	1	0	0	1
	7.0	3	2	0	1	2	0	1
	7.5	0	0	6	3	3	8	2
	8.0	2	3	1	4	4	2	2
	8.5	4	4	4	2	3	0	6
5) Occult Blood	-	5	5	0	2	6	0	2
	+/-	5	1	1	1	0	0	0
	+	0	1	0	1	0	0	0
	++	0	4	6	6	3	3	1
	+++	1	1	4	1	3	7	9
6) Specific gravity	1.000	0	0	0	0	0	0	0
	1.005	0	0	0	0	0	0	0
	1.010	0	0	0	0	0	0	0
	1.015	1	1	1	0	1	3	2
	1.020	1	2	4	4	6	7	10
	1.025	2	0	2	2	3	0	0
	1.030	7	9	4	5	2	0	0
7) Ketone	-	0	1	1	7	0	0	2
	+/-5	9	1	1	1	0	0	0
	15	1	0	0	2	0	0	0
	40	1	4	7	0	4	0	0
	80	0	1	2	1	7	10	6
	160	0	5	0	0	1	0	4
8) Bilirubin	-	10	12	11	7	12	10	12
	+	0	0	0	4	0	0	0
	++	1	0	0	0	0	0	0
	+++5	0	0	0	0	0	0	0
9) Glucose	-	11	11	11	11	11	11	11
	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	0.25	0	0	0	0	0	0	0
	0.5	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0	0	0	0	0	0	0
	2.0	0	0	0	0	0	0	0

군에서 뇨단백, ketone체가 약간 높게 나타났다. KHPC-006의 경우 암수 모두 모든 투여군에서 잠혈이 나타났으며 이에 따른 비중증가도 유의성있게 나타났다. 또한 12mg/kg 투여군에서 암수모두 ketone체의 수치가 약간 높게 나타났다 (Table 1, 2).

7. 혈액학적 검사

혈액학적 검사에서는 KHPC-005의 경우 수컷이

30 mg/kg 투여군에서 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 헤모글로빈량(HGb) 및 헤마토크리치(HCT), 혈소판수(PLT)의 유의성있는 감소가 관찰되었으며 암컷은 30 mg/kg 투여군에서 백혈구수(WBC)의 감소가 약간 나타났다. KHPC-006의 경우 수컷에 있어 12mg/kg투여군에서 백혈구수(WBC), 혈소판수(PLT)의 현저한 감소가 나타났으며 암컷의 경우 12mg/kg, 4mg/kg 투여군에서 평균적혈구해

Table 3. Hematological value of male SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

		Summary of Hematological Tests							
		WBC ($\times 10^3$)	RBC ($\times 10^6$)	HGb (g/dl)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	PLT ($\times 10^3$)
Control		9.643 ± 3.253	7.508 ± 2.122	13.954 ± 3.836	39.990 ± 11.419	53.200 ± 2.403	18.754 ± 0.904	35.300 ± 2.369	561.000 ± 190.694
005	1/16	7.626 ± 4.576	7.897 ± 0.955	14.920 ± 1.268	46.200 ± 4.112	58.890 ± 4.774	19.000 ± 1.158	32.330 ± 1.355	553.500 ± 128.615
LD ₁₀	1/6	8.653 ± 2.417	6.972 ± 0.876	14.020 ± 1.028	42.730 ± 4.346	61.530 ± 3.976	20.260 ± 1.498	32.900 ± 1.222	650.000 ± 156.080
	1/2	2.940 ± 2.940	5.410 ± 5.410	11.200 ± 11.200	34.100 ± 34.100	63.100 ± 63.100	20.700 ± 20.700	32.800 ± 32.800	95.000 ± 95.000
006	1/16	6.461 ± 2.926	7.941 ± 1.369	15.160 ± 1.626	44.580 ± 7.225	56.270 ± 2.111	19.39 ± 2.614	34.430 ± 4.247	761.300 ± 194.890
LD ₁₀	1/6	7.866 ± 4.451	8.128 ± 1.207	14.700 ± 2.275	43.210 ± 7.599	52.960 ± 2.813	18.100 ± 1.114	34.230 ± 2.188	581.100 ± 217.050
	1/2	4.800 ± 5.546	8.117 ± 1.384	15.662 ± 2.155	43.400 ± 4.891	54.012 ± 3.829	19.437 ± 1.152	36.025 ± 1.462	444.250 ± 108.870

Table 4. Hematological value of female SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

		Summary of Hematological Tests							
		WBC ($\times 10^3$)	RBC ($\times 10^6$)	HGb (g/dl)	HCT (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	PLT ($\times 10^3$)
Control		11.975 ± 5.418	6.248 ± 1.419	11.928 ± 2.862	38.785 ± 6.335	63.285 ± 7.554	19.057 ± 0.951	30.441 ± 4.208	496.285 ± 165.485
005	1/16	10.324 ± 4.447	8.638 ± 0.639	16.163 ± 1.135	47.745 ± 3.402	55.327 ± 2.488	18.700 ± 0.761	33.872 ± 1.451	707.909 ± 160.100
LD ₁₀	1/6	7.082 ± 3.903	7.101 ± 0.723	12.428 ± 1.222	43.457 ± 4.884	62.442 ± 8.536	17.785 ± 0.679	28.857 ± 3.352	588.000 ± 131.606
	1/2	4.246 ± 2.832	8.341 ± 0.907	15.133 ± 1.500	46.788 ± 5.893	56.066 ± 2.100	18.166 ± 9.987	32.433 ± 1.524	839.000 ± 366.654
006	1/16	6.396 ± 5.743	5.497 ± 2.593	13.933 ± 1.492	28.350 ± 14.278	51.208 ± 7.840	31.120 ± 15.240	51.800 ± 21.969	4036.250 ± 3727.158
LD ₁₀	1/6	6.635 ± 1.770	7.006 ± 0.508	12.800 ± 0.914	39.616 ± 3.400	56.561 ± 2.407	18.100 ± 0.576	32.366 ± 1.036	842.500 ± 320.145
	1/2	8.138 ± 4.757	7.724 ± 0.770	13.910 ± 1.462	43.210 ± 5.499	55.840 ± 2.330	18.020 ± 0.578	32.290 ± 1.012	508.220 ± 291.891

모글로빈량 (MCH), MCHC, 혈소판수 (PLT)의 현저한 감소가 나타났다 (Table 3, 4).

백혈구 감별 계산에서는 호중구, 림프구수의 감소가 KHPC-005의 경우 숫컷 모두에게 있어 농도의존적으로 나타났으며 암컷의 경우에는 호중구, 림프구, 호산구, 호염기구 등 전반적인 백혈구 감소증이 나타났다. KHPC-006의 경우 12 mg/kg 투여군에서 숫컷에 있어

호중구의 증가와 림프구, 호산구, 호염기구의 감소가 특징적으로 나타났으며 암컷에 있어서는 호중구의 증가와 호염기구의 감소가 두드러지게 나타났다 (Table 5, 6).

8. 혈액생화학적 검사

KHPC-005의 경우 숫컷에서는 30 mg/kg 투여군

Table 5. Differential leucocyte count of male SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

		Summary of Hematological Test				
		Neutrophil ($\times 10^3$)	Lymphocytes ($\times 10^3$)	Monocytes ($\times 10^3$)	Eosiniphil ($\times 10^3$)	Basophiles ($\times 10^3$)
Control		2.055 ± 1.191	6.560 ± 2.304	0.438 ± 0.455	0.161 ± 0.137	0.087 ± 0.066
005 LD ₁₀	1/16	2.376 ± 2.134	4.361 ± 2.759	0.363 ± 0.256	0.105 ± 0.104	0.064 ± 0.055
	1/6	3.749 ± 2.430	3.846 ± 1.940	0.523 ± 0.340	0.140 ± 0.069	0.083 ± 0.049
	1/2	0.090 ± 1.546	2.400 ± 4.348	0.030 ± 0.229	0.010 ± 0.091	0.050 ± 0.110
006 LD ₁₀	1/16	1.546 ± 1.102	4.348 ± 2.128	0.229 ± 0.192	0.091 ± 0.102	0.110 ± 0.190
	1/6	1.619 ± 1.087	5.548 ± 3.261	0.217 ± 0.134	0.088 ± 0.075	0.079 ± 0.065
	1/2	3.168 ± 4.232	1.341 ± 1.285	0.118 ± 0.092	0.036 ± 0.063	0.033 ± 0.016

Table 6. Differential leucocyte count of female SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

		Summary of Hematological Test				
		Neutrophil ($\times 10^3$)	Lymphocytes ($\times 10^3$)	Monocytes ($\times 10^3$)	Eosiniphil ($\times 10^3$)	Basophiles ($\times 10^3$)
Control		3.077 ± 1.659	7.055 ± 3.194	0.707 ± 0.456	0.144 ± 0.155	0.037 ± 0.022
005 LD ₁₀	1/16	2.036 ± 1.296	7.348 ± 3.233	0.426 ± 0.214	0.107 ± 0.109	0.063 ± 0.036
	1/6	2.131 ± 1.094	4.155 ± 2.755	0.378 ± 0.336	0.065 ± 0.041	0.042 ± 0.036
	1/2	1.457 ± 1.570	2.164 ± 2.170	0.348 ± 0.684	0.054 ± 0.038	0.044 ± 0.055
006 LD ₁₀	1/16	1.410 ± 1.346	4.238 ± 4.215	0.363 ± 0.368	0.125 ± 0.126	0.270 ± 0.448
	1/6	2.803 ± 1.485	3.161 ± 0.841	0.271 ± 0.220	0.071 ± 0.038	0.091 ± 0.081
	1/2	1.871 ± 0.880	5.391 ± 3.554	0.307 ± 0.259	0.140 ± 0.121	0.099 ± 0.070

에서 AST, total bilirubin의 수치가 유의성있게 증가 되었으며 Total protein 및 albumin 량이 유의성 있게 감소되어 있었다. 그러나 암컷의 경우에는 모든 용량 투여군에서 정상군과 유의성있는 차이를 보이지 않았다.

KHPC-006의 경우 수컷에서는 ALT, AST, BUN, Creatinine, TG (Triglyceride)의 감소가 유의성있게 관찰되어졌다. 암컷의 경우에는 12 mg/kg

투여군에서 ALT, AST, cholesterol치가 약간 증가 하는 경향이 있었으나 그외의 수치는 정상군과 별 차이를 보이지 않았다 (Table 7, 8).

9. 육안적 부검소견

부검소견에서는 계획 도살된 실험동물들에게서 큰 변화를 관찰 할 수 없었다. 단지 KHPC-005, 006 공히 최고용량 투여군에서 백색 반점 (milky spot)가

Table 7. Serum biochemical values of male SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

Summary of Clinical Chemistry												
		ALT	AST	CHOL	Glu	Total Bili	Total Protein	TG	ALP	Creatinine	BUN	ALB
Control		61.63 ±15.72	215.90 ±97.98	102.54 ±22.86	15.35 ±23.83	0.58 ±0.29	6.83 ±0.35	74.63 ±37.64	188.90 ±149.67	0.936 ±0.143	27.27 ±5.49	3.718 ±0.235
005 LD ₁₀	1/16	101.81 ±109.5	232.17 ±90.00	79.14 ±22.70	140.63 ±32.91	0.55 ±0.29	6.39 ±1.05	73.14 ±37.18	186.50 ±95.97	0.974 ±0.156	22.40 ±7.30	3.441 ±0.562
	1/6	191.20 ±117.98	386.25 ±71.33	87.40 ±17.50	153.00 ±22.06	0.78 ±0.14	7.08 ±0.60	96.89 ±34.98	270.00 ±98.42	1.010 ±0.087	33.70 ±6.16	3.605 ±0.469
	1/2	70	413	81	142	3.2	4.56	317	136	0.8	27	1.9
006 LD ₁₀	1/16	63.00 ±42.59	263.75 ±60.64	78.10 ±15.11	154.20 ±28.09	0.39 ±0.25	6.13 ±0.71	59.20 ±39.16	105.90 ±46.53	0.79 ±0.13	21.40 ±3.02	3.23 ±0.40
	1/6	53.90 ±23.52	225.50 ±59.64	102.44 ±20.53	132.4 ±24.24	0.28 ±0.07	6.49 ±0.39	37.10 ±11.14	73.21 ±16.94	0.81 ±0.12	22.45 ±10.31	3.46 ±0.21
	1/2	112.5 ±58.70	313.11 ±97.90	79.25 ±32.63	102.87 ±56.89	0.33 ±0.10	6.36 ±0.42	33.12 ±1.34	124.25 ±29.36	1.67 ±2.61	89.75 ±9.67	3.51 ±0.40

Table 8. Serum biochemical values of female SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

Summary of Clinical Chemistry												
		ALT	AST	CHOL	Glu	Total Bili	Total Protein	TG	ALP	Creatinine	BUN	ALB
Control		118.25 ±108.59	269.57 ±172.66	62.00 ±22.28	164.50 ±70.90	0.27 ±0.17	5.91 ±0.43	70.30 ±53.02	197.00 ±43.52	0.78 ±0.18	27.60 ±5.55	2.97 ±0.21
005 LD ₁₀	1/16	80.58 ±56.15	208.16 ±85.64	95.41 ±34.24	178.41 ±32.57	0.78 ±0.50	6.81 ±0.78	82.50 ±39.61	216.75 ±141.50	0.85 ±0.21	26.50 ±3.80	3.65 ±0.33
	1/6	73.00 ±53.28	169.27 ±50.36	72.916 ±20.00	139.16 ±41.76	0.45 ±0.24	6.47 ±0.52	62.83 ±21.77	215.08 ±67.07	0.85 ±0.12	25.33 ±6.02	3.23 ±0.34
	1/2	81.88 ±70.80	252.11 ±82.57	103.7 ±35.80	102.3 ±20.14	0.50 ±0.12	6.38 ±0.62	66.60 ±55.33	169.60 ±95.15	0.84 ±0.06	26.50 ±11.22	3.15 ±0.60
006 LD ₁₀	1/16	63.91 ±26.52	194.25 ±74.14	81.25 ±19.97	181.16 ±29.01	6.63 ±0.46	6.39 ±0.49	79.66 ±26.80	191.75 ±101.43	0.87 ±0.08	27.91 ±9.94	3.40 ±0.28
	1/6	79.62 ±22.6	226.00 ±117.82	87.66 ±7.33	180.22 ±16.06	1.36 ±0.60	6.96 ±0.39	127.00 ±22.24	314.00 ±94.44	0.91 ±0.07	26.55 ±3.32	3.53 ±0.20
	1/2	82.22 ±22.70	210.22 ±42.14	103.55 ±16.68	130.77 ±37.31	0.52 ±0.27	6.19 ±0.38	66.11 ±0.38	196.66 ±52.64	0.73 ±0.10	27.11 ±3.33	3.58 ±0.12

Table 9. Ophthalmoscopic findings of male SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

	Group Summary of Ophthalmoscopic findings						
	Control	005			006		
		1/16	1/6	1/2	1/16	1/6	1/2
No. of animals examined	11	11	11	11	11	11	11
No. of abnormalities detected	11	11	11	11	11	11	11

Table 10. Ophthalmoscopic findings of female SD rats treated intraperitoneally with 005 & 006 for 28 days (group summary).

	Group Summary of Ophthalmoscopic findings						
	Control	005			006		
		1/16	1/6	1/2	1/16	1/6	1/2
No. of animals examined	12	12	12	12	12	12	12
No. of abnormalities detected	12	12	12	12	12	12	12

1레씩 발견되었으며 폐의 지방덩어리가 관찰되기도 하였으나 정상군에서도 1레 발견되었으므로 특별한 문제는 없을 것으로 추정된다.

10. 장기중량

KHPC-005의 경우 수컷에 있어 30 mg/kg 투여군에서 간 및 좌, 우 신장, 비장, 폐 중량증가가 통계적으로 유의성 있게 나타났다. 암컷의 경우 비장의 중량 감소가 현저하였다.

KHPC-006의 경우 수컷에 있어 12 mg/kg 투여군에서 좌, 우 신장, 부신, 비장 중량증가와 폐의 중량 감소가 유의성 있게 나타났다. 암컷의 경우 비장의 중량 감소가 약간 나타났다 (Table 9, 10).

고찰 및 결론

시험물질인 KHPC-005, 006은 항암성 백금(II) 착체로서 국립보건안전연구원서 흰쥐에 대한 급성경구 독성시험을 실시한 결과 LD10치가 KHPC-005의 경우 60 mg/kg, KHPC-006의 경우 24 mg/kg인 것으로 판명되었다. KHPC-005, 006은 백금 착체인 cis-platin과는 달리 물에 매우 잘 녹으며 본실험에서는 KHPC-005의 경우 30 mg/kg, 10 mg/kg, 3.33 mg/kg KHPC-006의 경우 12 mg/kg, 4 mg/kg, 1.33 mg/kg의 용량으로 4주간 반복하여 복강내 투여하고 동물의 사망 일반증상 관찰, 체중변화의 측정, 사료와

물섭취량 측정, 안검사, 뇨검사, 혈액학적검사, 혈액 생화학적검사, 장기중량측정, 부검소견관찰 및 병리조직학적소견을 실시하였다.

시험결과 안검사를 제외하고는 모든 측정항목에서 시험물질 투여에 의한 변화가 관찰되어졌다.

KHPC-005의 경우 수컷에 있어 30 mg/kg 투여군에서 투여 21~28일 사이에 10/11의 사망율을 나타내 확실중독량을 확인할 수 있었으며 암컷에 있어서는 30 mg/kg에서 1/11의 사망율을 나타내 독성에 인내하는 정도가 암컷이 더 강하다는 것을 확인할 수 있었다. 임상증상으로는 식욕부진이 전반적으로 나타났으며 이로 인한 체중감소가 유의성 있게 나타났다. 사료 및 물섭취량에 있어서는 사료섭취량에 변화가 없는데 반해 물섭취량은 감소되었으며 이는 갈증을 일으키는 호르몬 분비와도 관련 있을 가능성이 크다고 생각된다. 특히 뇨검사시 모든 투여군에서 잠혈과 이로 인한 뇨의 비중증가가 나타났는데 이러한 이유로 혈액학적 검사에서 적혈구수, 헤모글로빈량, 헤마토크리치가 유의성 있게 감소하였으며 그외에도 혈액학적검사서 백혈구수, 혈소판수가 동시에 감소되는 것으로 보아 골수독성이 나타나며 혈구생성이 감소하는 것도 빈혈의 큰 원인이 된 것으로 추정된다, 또한 농도의존적으로 각종 백혈구수가 감소하였으며 암컷의 경우가 수컷에 비해 일반적으로 독성이 낮게 나타났다.

혈액생화학적 검사에서 간의 독성지표가 상승하였으며 이로 인해 total bilirubin, total protein, albu-

min이 감소하였고 동시에 신장독성 지표의 증가가 나타난다는 점에서 신장을 통한 배설의 증가도 한 원인이 되는 것으로 추정된다.

육안적 소견에서는 신장, 폐에 약간의 이상이 나타났으나 많은 예에서 발견되지는 않았으며 장기 중량비에 있어서는 독성지표가 증가된 장기인 간, 좌우신장, 비장, 폐의 중량비 증가가 현저하였다.

KHPC-006의 경우 수컷에 있어 12 mg/kg 투여군에서 투여 21~28일 사이에 3/11의 사망률을 나타내 확실중독량을 확인할 수 있었으며 암컷에 있어서는 12 mg/kg에서 21~28일 사이에 2/11의 사망률을 나타내 확실중독량을 확인할 수 있었다.

일반증상으로는 식욕부진이 전반적으로 나타났으며 이로 인한 체중감소도 상관성있게 나타났다. 사료 및 물섭취량에 있어서는 12 mg/kg 투여군에서 투여 8일째 부터 물섭취량의 감소가 나타났으나 사료섭취량에는 변화가 없었으며 이로 인해 체중감소가 나타난 것으로 판단된다.

뇨검사에 있어 대부분 투여군에서 잠혈과 비중증가가 나타났으며 이로 인해 혈액학적 검사에서 혈구세포 글로빈량의 감소가 나타난 것으로 추정된다. 혈구수에 있어서는 백혈구, 혈소판수의 감소가 현저하여 골수억제가 나타난 것으로 판단되며 각 백혈구수에 있어서는 호중구수가 증가한 반면 호산구, 호염기구, 림프구의 수가 감소하는 특징을 나타냈다.

혈액생화학적 검사에서는 간독성, 신독성수치가 KHPC-005에 비해 현저하게 증가되어 있었으며 신장 배설 증가로 인해 혈중 glucose, triglyceride량도 감소되는 경향을 보였다.

부검소견에서는 좌우신장, 부신, 비장 중량증가와 폐의 중량 감소가 현저하게 나타나 혈액 생화학적 검사 결과와 일치하는 경향을 보였다.

이상의 결과로 보아 본 시험에서 KHPC-005, 006이 흰쥐에서 독성학적 영향을 준 장기는 신장, 골수이며 이에 동반하여 빈혈과 중량감소가 나타난 것으로 추정되었다.

그리고 본실험에서의 무해용량은 KHPC-005의 경

우 수컷에서는 10 mg/kg, 암컷에서는 10 mg/kg이며 확실중독량은 수컷에서는 30 mg/kg, 암컷에서는 30 mg/kg이었다. KHPC-006의 경우 무해용량이 수컷에서는 4 mg/kg, 암컷에서는 1.33 mg/kg이며 확실중독량은 수컷에서는 12 mg/kg, 암컷에서는 4 mg/kg 이라고 추정된다.

참 고 문 헌

1. 정지창·이재현·노영수, 새로운 백금(II)착체의 항암효과 및 신독성에 관한 연구, *대한화학요법학회지*, 제12권 제1호, 95-106 (1994)
2. Jung, J.C., Yoon, C.H., Chang, S.G., Lee K.T. and Rho Y.S., A New Class of Platinum(II) Complexes [Pt(trans-1-dach) (DPPP)]₂NO₃ and [Pt(trans-1-dach)(DPPE)]₂NO₃ Exhibiting Antitumor Activity and Nephrotoxicity, *The Korean J. Pharmacology*, Vol. **29**, No. 2 (1993)
3. Chang, S.G., Kwon, D.U., Jung, J.C. Rho Y.S. and Robert M. Hoffman, New Platinum Complex Compounds with Reduced Nephrotoxicity Discovered in Long-Term Histoculture of Human Renal Cortical Tissue, *Anticancer Research*, **15**, 675-682 (1995)
4. Loeb, W.F. and Quimby, F.W., *The Clinical Chemistry of Laboratory Animals*, 1st ed, Pergamon Press, (1989)
5. Haschek W.M., Rousseaux C.G., *Handbook of Toxicologic Pathology*, Academic Press, (1991)
6. Jones T.C., Mohr U., *Urinary System in Monographs on Pathology of Laboratory Animals*, Springer-Verlag, (1986)
7. Gary A Boorman et al., *Pathology of the Fischer Rat*, Academic Press, Inc, (1990)
8. Axelsen R.A., Nephrotoxicity of mild analgesics in the Gunn strain of rat, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. **10** suppl 2, (1980) p.3095-3125.
9. "의약품 독성시험기준", 국립보건연구원, 제 94-3호, (1994)