

랫드에 대한 KDRD-010의 아급성경구독성시험

곽승준 · 김형식 · 임소영 · 천선아 · 박현선 · 홍채영 · 한하수 · 최병천¹ · 이병무*

성균관대학교 약학대학 독성학교실, *광동제약 중앙연구소

Subacute Oral Toxicity of KDRD-010 in Rats

Seung Jun KWACK, Hyung Sik KIM, So Young LIM, Sun Ah CHUN, Hyun Sun PARK,
Che Young HONG, Ha Su HAN, Byung Chun CHOI¹ and Byung Mu LEE*

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

¹Kwang Dong Pharmaceutical Co., LTD, 212-13, Kuro-Dong, Kuro-ku, Seoul

(Received August 14, 1996; accepted November 1, 1996)

Abstract-The subacute toxicity was investigated in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-010 at the doses of 0.056, 0.28, and 1.4 g/kg for one month. There were no clinical signs and pathological changes compared with control group. Body weights were not significantly changed between control and treatment groups. In hematological and biochemical serum parameters, all mean values appear to be within the normal range. In pathological examinations, hemorrhages of lung was observed in one male rat at low dose group and one female rat at high dose group of KDRD-010, but it was not considered to be caused by KDRD-010. These results suggest that KDRD-010 dose not induce any significant subacute oral toxicities in Sprague-Dawley rats.

Keywords □ subacute toxicity, KDRD-010, pathological examinations

본 시험은 광동제약에서 단일성분의 약효를 증가시키기 위한 목적으로 새롭게 개발된 KDRD-010에 대하여 그 안전성을 평가하기 위해 랫드에 대하여 1개월간 아급성독성을 실시하였다. 본 시험물질인 KDRD-010에 대한 급성경구 독성시험을 랫드에 대하여 평가한 결과 최대투여가능용량에서도 약물에 의한 사망에는 없었으며 기타 외견상의 이상증상도 발현되지 않았다. 따라서 본 연구는 급성경구 독성시험에 기초하여 KDRD-010에 대한 30일간의 아급성 경구독성을 평가하기 위한 목적으로 시행하였다.

물질특허 도입에 따라 새로운 신물질의 개발은 제약업계 뿐만 아니라 국가적으로도 매우 시급하고 중요한 과제이다. 또한 신약의 개발에는 많은 노력과 비용과 시간이 소요되며 축적된 기술등이 요구된다고 할수 있다. 이와같은 배경에서 활성작용이 있는 생약제제를 복합하여 신약을 개발할 수 있다면 그에 따른 많은 시간과 경비를 절감할수 있고 또한 신약에 대한 안전성 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 의미를 갖는다고 하겠다.

실험방법

시험물질

본 시험물질인 KDRD-010은 20여종의 생약복합성분인 흑갈색의 분말과 황갈색의 유상액체(SOHAP)가 13.51:1의 비율로 혼합된 제제로 광동제약(주) 중앙연구소로부터 제공받아 시험에 사용하였다.

시험계 및 사육환경

시험구역은 성균관대학교 약학대학내 청정실험동물실에서 실시하였으며, 청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계 랫드를 명진실험동물(주)에서 분양 받아 온도 23±1℃, 습도 55±5%, 배기 10~18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280 Wx400 Lx170 H mm)케이지에 5마리씩

* To whom correspondence should be addressed.

넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간동안에 일반증상등을 관찰하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 제일실험동물상사의 실험동물용사료를 구입하여 실험동물에 자유로이 공급하였으며, 음수는 멸균수도를 물을 자유롭게 섭취시켰다.

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 본 시험물질의 급성경구독성시험 결과 경구투여가능한 최대용량은 2.10 g/kg이었으며 무해용량은 1.40 g/kg이었다. 따라서 그 결과 본 시험물질의 아급성경구독성시험에서는 1.40 g/kg을 고용량군으로 선정하였으며 공비 5로 3개의 약물투여군과 용매대조군 및 무처치대조군으로 하였다. 시험물질을 투여하기 직전 시험동물의 체중범위는 수컷 200~210 g 및 암컷 170~180 g이었고, 주령은 약 8주령이었다.

시험물질 조제 및 투여

시험물질의 조제는 KDRD-010를 2% Tween-80용액에 균일하게 현탁하여 매일 투여직전에 용시조제 하였다. 시험물질은 1회용 주사기를 이용하여 10 ml/kg으로 1회 경구 투여하였다. 투여량은 투여직전 체중의 변화에 따라 산출하였다.

관찰항목

임상증상관찰 및 안구검사

임상증상관찰은 모든 시험동물에 대한 상태를 매일 1회 오전 10시에 관찰하고, 시험물질 투여후 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 매일 주의하여 관찰하였다. 또한 안구검사는 투여 마지막 주에 검안경을 이용한 간이적인 방법으로 실시하였다.

체중측정

시험에 사용된 모든 시험동물에 대하여 시험기간중 매일 체중을 측정하였으며 또한 시험 물질 투여전 및 부검시 체중을 각각 측정 기록하였다.

사료섭취량 및 물섭취량

사료섭취량 및 물섭취량은 주 3회 측정하였다. 사료섭취량은 각 사육상자별로 1일 1회 공급한 사료량에서 남은 잔량을 감하여 측정하였으며, 물섭취량은 물 공급시 마다 최초 공급량에서 줄어든 분량을 계측하고, 다시 새로운 물을 물병에 채우는 작업을 매일 실시 하며, 각 사육상자별 소모된 물의 양을 측정하였다.

혈액학적검사

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(% $10^3/mm^3$)등을 측정하였다.

혈액생화학적 검사

복부대동맥에서 채혈한 혈액중 일부를 혈액학적 검사로 이용하고 나머지 혈액은 4℃ 냉장보관한 후 원심분리(3,000 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℃를 기준으로 하여 측정하였다.

노검사

부검 전일 채뇨하여 비중, pH, protein, glucose, ketone체, bilirubin, 잠혈, nitrite 및 urobilinogen을 검사하기 위하여 뇨 시험지(MULTISTIX, AMES)에 뇨를 침적시켜 측정하였다.

부검소견

모든 시험군의 생존동물에 대하여 시험물질 투여 개시일로 부터 4주후에 부검을 실시하였다. 부검전에 체중을 측정하고 ether 마취하에 복부 대동맥으로부터 채혈한 후, 방혈 치사 시킨 후 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

장기중량측정

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

병리조직 검사

전 동물에 대하여 다음의 장기를 10% 중성 포르말린으로 고정시켰다. 고정장기는 다음과 같다. 신장, 비장, 간장, 심장, 부신, 위, 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.

통계학적 분석

체중측정, 사료섭취량 및 물섭취량과 모든 실험에 대한 유의성 검정은 ANOVA에 의한 다중분산비교법과 Dunnett's test에 의해 실시하였다(Lorke, 1983).

실험결과

임상증상관찰 및 사망에

시험기간중 암, 수 모두 시험물질 투여에 의한 사망동물은 없었다(Table I). 종합적인 임상증상관찰 결과는 Table II에 나타내었다. 시험물질투여군 및 용매대조군의 일부 동

Table I. Mortality in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex	Dosage (g/kg)	Weeks					Final Mortality
		Start	1	2	3	4	
Male	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
	0.056	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.28	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1.40	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	CON (-)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON (+)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.056	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.28	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1.40	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

^aCON (-); Not treated.

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

Table II. Clinical signs in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex	Dosage (g/kg)	Animal numbers with clinical signs							
		(hr)				(weeks)			
		6	12	24	48	1	2	3	4
Male	CON (-) ^a	0/10	0/10	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	0/10	0/10
	0.056	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.28	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1.40	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	CON (-)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON (+)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.056	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.28	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1.40	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

^aCON (-); Not treated.

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

물에서 시험물질 투여후 1일부터 약간의 연변이 관찰되었으나 1주후 부터는 점차 회복되었다. 또한 모든 동물에서 시험물질 투여후 자발적인 운동 및 호흡률의 증가등과 같은 특이증상은 관찰되지 않았으며 최종투여일에 실시한 안구검사에서도 특이한 안구부위의 이상소견은 관찰되지 않았다.

체중, 사료섭취량 및 물섭취량측정

시험물질 투여군과 대조군에서의 체중측정결과는 Fig. 1과 같다. 수컷의 중간용량군 및 고용량군에서 음성대조군에 비해 최종일에서 체중의 증가율이 약간 감소하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 또한 암컷의 중간용량군에서도 약간 감소하였으나 전체 투여기간중 대조군에비해 유의성 있는 체중변화는 인정되지 않았다. 사료 및 물섭취량의 변화는 체중의 증가율과 유사한 경향을 나타내었다(Table III, IV).

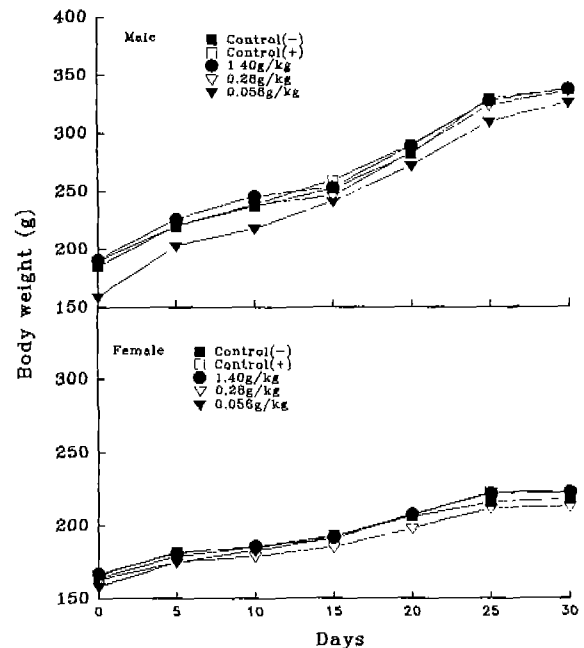


Fig. 1. Body weight changes in Sprague-Dawley rats treated orally with KDRD-010 for 30 days.

혈액학적 검사

혈액학적 검사소견은 Table V에서와 같다. WBC값의 범위가 대조군에서는 17.64~22.81의 범위내였다. 시험물질을 투여한 수컷 고용량군에서 26.89로 음성대조군에 비해 약간 감소하였으며, 중간용량군에서는 17.58로 약간 감소하였다. 그러나 이는 모두 정상적인 범위에 속하였다. 또한 RBC치는 수컷의 고용량군과 음성대조군에서 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 수컷의 고용량군 및 음성대조군에서 hemoglobin량 증가 및 haematocrit치의 증가가 인정되었으나 이들의 변화는 어느것이나 극히 경도하였으며 시험물질에 의한 영향이라고 인정되지는 않았으며, 모두 정상범위에 속하였다. 반면에 암컷의 Hb, Ht, MCV등은 모두 대조군과 시험물질 투여군간에 유의성 있는 변화는 없었다. Lymphocyte($10^3/mm^3$)치는 수컷의 중간용량군에서 약간 감소하였으나 고용량군 및 저용량군에서는 오히려 약간 증가하였다. 또한 암컷의 고용량군에서도 약간 증가하는 경향을 나타내었다.

혈액생화학적 검사

시험물질 투여에 의한 혈액생화학적 소견은 Table VI과 같다. 수컷의 중간용량군 및 고용량투여군에서 음성대조군에 비해 ALT의 증가가 있었으나, 이는 정상적인 표준 수치내의 범위에 근접하기 때문에 시험물질에 의한 영향이라고는 간주되지는 않았다. AST는 모두 대조군과 같은 범위내에 속하였다. ALP는 암컷의 모든 투여군과 양성대조군에서 음성대조군에 비해 증가하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 수컷은 모두 정상적인 범위에 속하였다. 또한

Table III. Food consumption in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex	Dosage (g/kg)		Days								
			4	7	11	14	18	21	25	30	
Male	CON (-) ^a	Mean	211.24	219.02	217.62	219.62	224.00	219.00	210.00	216.00	
		SD ^f	6.32	8.44	17.21	7.56	6.58	18.21	5.46	3.01	
	CON (+) ^b	Mean	193.98	231.00	220.50	213.00	221.30	197.60	207.20	212.00	
		SD	11.03	7.85	9.56	7.89	8.77	9.64	8.99	3.54	
	0.056	Mean	208.22	226.54	216.35	204.46	235.55	219.23	199.85	216.00	
		SD	8.66	5.48	12.30	18.80	9.86	16.08	8.44	9.66	
	0.28	Mean	201.32	226.66	218.50	208.67	235.50	221.50	208.00	223.50	
		SD	12.86	11.04	13.75	15.59	11.09	19.55	8.56	2.20	
	1.40	Mean	213.00	221.50	218.50	207.50	229.50	220.70	209.00	218.50	
		SD	19.28	10.54	13.19	15.69	8.70	13.60	8.90	6.54	
	Female	CON (-)	Mean	151.00	185.50	167.50	154.33	189.75	198.66	165.50	174.00
			SD	14.92	11.04	9.56	12.12	7.54	15.22	11.84	9.63
CON (+)		Mean	161.17	169.57	172.15	166.47	187.50	173.97	165.50	182.00	
		SD	12.32	9.86	13.25	11.02	9.64	11.63	6.28	3.83	
0.056		Mean	161.67	187.50	167.55	162.34	187.75	165.50	162.46	169.50	
		SD	12.35	9.84	12.39	14.26	8.69	14.57	2.68	5.48	
0.28		Mean	158.47	172.21	180.50	164.23	184.25	165.24	163.25	171.50	
		SD	6.37	11.05	18.45	12.06	8.47	12.46	9.32	6.21	
1.40		Mean	159.61	171.20	167.31	169.34	170.21	179.45	182.75	178.50	
		SD	13.12	17.25	6.48	10.26	9.84	11.86	10.53	6.54	

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

Table IV. Water consumption in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex	Dosage (g/kg)		Days								
			4	7	11	14	18	21	25	30	
Male	CON (-) ^a	Mean	348.00	404.13	411.50	349.50	403.00	406.54	455.50	424.20	
		SD ^f	16.46	10.45	6.14	10.20	8.52	15.06	10.21	8.37	
	CON (+) ^b	Mean	346.21	411.20	374.87	289.30	362.14	355.50	381.46	334.00	
		SD	12.05	16.14	10.14	20.13	14.25	12.54	13.47	8.75	
	0.056	Mean	362.40	402.90	381.48	296.00	429.65	397.46	421.50	384.05	
		SD	13.29	10.75	12.30	10.78	11.65	12.86	18.98	20.31	
	0.28	Mean	362.50	394.72	371.64	322.90	408.07	403.12	431.50	391.34	
		SD	15.43	12.05	25.22	10.99	13.51	12.34	20.17	15.20	
	1.40	Mean	370.50	372.92	371.54	304.51	367.21	410.13	421.50	409.88	
		SD	9.57	11.24	16.04	10.54	11.29	14.12	21.24	12.40	
	Female	CON (-)	Mean	199.57	307.43	279.56	248.45	284.21	286.58	277.49	263.21
			SD	6.88	15.32	12.08	15.06	19.58	14.28	20.31	9.68
CON (+)		Mean	244.25	281.32	245.64	237.54	271.27	272.67	220.98	254.57	
		SD	10.82	12.13	15.19	15.19	10.84	13.27	15.26	20.09	
0.056		Mean	242.65	284.21	249.86	221.92	251.34	269.64	236.45	278.90	
		SD	16.06	18.57	14.34	10.46	16.52	17.06	10.59	9.64	
0.28		Mean	241.21	285.20	254.69	222.03	255.50	250.27	241.48	236.51	
		SD	18.87	7.48	13.29	22.05	12.59	11.20	20.48	17.59	
1.40		Mean	254.15	264.68	224.59	237.58	214.32	229.64	235.55	251.47	
		SD	12.03	5.78	15.07	16.97	10.32	12.03	17.69	13.27	

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

LDH는 수컷의 고용량군 및 암컷의 중간용량군과 고용량 투여군에서 음성대조군에 비해 증가하였으나 통계학적인 유의성은 없었다. Cholesterol은 수컷의 고용량군 및 암컷

의 중간용량군과 고용량군에서 대조군에 비해 감소하였으며, BUN은 수컷의 중간용량군에서 TG는 수컷의 고용량군에서 각각 약간 증가하였으나 이들의 변화는 모두 정상

Table V. Hematological findings in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Item	Dosage (g/kg)	Sex				
		Male		Female		
		CON (-) ^a	CON (+) ^b	CON (-)	CON (+)	
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)		22.81±4.76	23.36±7.69	24.81±7.45	17.58±5.72	26.89±8.99
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)		7.48±1.08	9.67±2.12	7.66±1.16	7.44±1.97	9.06±1.10
HGB (g/dl)		15.67±2.05	9.76±3.97	16.35±2.70	15.78±3.86	18.24±2.86
HCT (%)		44.51±4.92	56.69±9.84	45.96±8.54	43.23±11.2	52.71±8.00
MCV (fl)		59.76±4.44	60.34±4.39	59.88±4.05	58.69±2.90	59.36±3.79
MCH (pg)		22.11±3.89	20.95±1.04	21.51±1.00	21.65±1.53	20.61±1.38
MCHC (g/dl)		35.37±1.44	34.39±2.22	35.63±1.73	36.70±2.70	34.51±1.33
PLT ($10^3/\text{mm}^3$)		627.8±79.72	575.0±116.3	582.1±184.3	555.1±237.1	689.7±95.84
Lymphocyte % (%)		75.55±3.33	67.31±9.20	73.39±5.42	73.53±4.41	70.89±4.68
Lymphocyte ($10^3/\text{mm}^3$)		17.39±4.06	15.84±5.54	18.67±5.51	12.84±4.48	19.83±7.85

^aCON (-); Not treated. ^bCON (+); Treated with 2% Tween 80 solution. Results are the mean±SD (n=9~10).

Table VI. Biochemical serum values in female rats orally treated with KDRD-010 for a month

Item	Dosage (g/kg)	Sex				
		Male		Female		
		CON (-) ^a	CON (+) ^b	CON (-)	CON (+)	
TP (g/dl)		6.81±0.23	6.79±0.22	6.91±0.42	7.24±0.45	6.33±0.28
ALB (g/dl)		3.32±0.06	3.36±0.26	3.31±0.27	3.48±0.10	3.32±0.13
AST (U/l)		108.8±20.1	108.7±14.1	115.6±13.3	110.3±16.8	109.9±9.31
ALT (U/l)		59.3±7.6	59.6±8.0	55.3±12.4	65.0±13.0	60.8±10.2
LDH (U/l)		301.7±84.5	289.2±122.8	257.0±75.5	237.1±90.2	331.9±87.2
ALP (U/l)		272.8±51.2	304.8±52.7	311.7±83.7	333.4±76.3	309.3±82.3
CHOL (mg/dl)		44.7±2.9	49.3±6.9	48.3±9.8	45.4±7.9	38.5±4.2
GLU (mg/dl)		192.4±20.0	186.0±9.1	196.4±12.6	211.3±21.4	187.6±15.5
TBIL (mg/dl)		0.51±0.10	0.55±0.07	0.62±0.17	0.53±0.14	0.56±0.07
BUN (mg/dl)		16.8±1.2	17.9±2.7	15.9±1.2	18.3±3.7	17.1±1.5
CREAT (mg/dl)		0.20±0.01	0.25±0.05	0.19±0.03	0.21±0.03	0.24±0.05
TG (mg/dl)		96.8±33.4	93.6±33.1	74.4±29.9	81.2±44.1	111.4±32.9
Cl (nmol/l)		103.8±1.3	103.1±1.1	103.4±0.9	103.4±1.1	103.0±1.1
Na (nmol/l)		140.3±1.2	141.5±1.32	141.1±1.1	141.3±1.7	141.2±1.9
K (nmol/l)		4.01±0.2	4.35±0.4	4.47±0.4	4.14±0.3	4.50±0.7

^aCON (-); Not treated. ^bCON (+); Treated with 2% Tween 80 solution. Results are the mean±SD (n=9~10).

Table VII. Urinalysis in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex	Dosage (g/kg)	Male					Female					
		CON (-) ^a	CON (+) ^b	0.056	0.28	1.4	CON (-)	CON (+)	0.056	0.28	1.4	
	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	1	0	0	0	
	6	4	0	4	0	4	4	4	2	3	4	
	7	1	4	1	4	1	1	0	3	2	1	
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	9	0	1	0	1	0	0	0	1	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	4	5	5	5	5	5	4	4	5
		0.1 g/l	0	1	0	0	0	0	0	1	1	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	4	4	5	5	3	5	3	5	3	5	
	50 mg/dl	1	1	0	0	1	0	2	0	2	0	
	100 mg/dl	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	300 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4) Ketone	1000 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	-	4	1	5	4	4	4	4	4	1	4	
	+/-	0	4	0	1	0	1	0	0	3	1	
	+	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5) Urobilinogen	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	normal	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	
	1 mg/dl	0	0	0	0	0	0	1	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	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	0	0	

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

적인 지표내에 속하여 약물에 의한 영향이라고는 인정되지 않았다.

총 bilirubin은 수컷의 저용량군에서 약간 증가하였으며 기타 Na, K, Cl 등 기타의 모든 항목들은 대조군과 거의 유사한 경향을 나타내었으며 또한 용량에 비의존적이고, 정상적 표준범위내의 값과 유사함으로 시험물질의 독성에 의한 변화로는 인정되지 않았다.

노검사

암수 모두 대조군과 시험물질 투여군간에 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다(Table VII). 모든 시험물질 투여군과 대조군에서 뇨의 색도는 정상이었으며, pH는 수컷의 양성대조군과 중간용량군 1예 및 암컷의 저용량군 1예에서

9.0으로 알카리성을 나타냈으나 그외에는 모두 5.5~7.5의 정상범위에 속하였다. 또한 glucose는 수컷의 고용량군에서 1예가 100 mg/dl 으로 약간 높았으며, 수컷의 대조군에서 각각 1예와 고용량군에서 1예, 암컷의 용매대조군 및 중간용량군에서 각각 2예가 50 mg/dl의 범위에 그리고 기타 다른 시험군에서는 모두 정상범위에 속하였다. 뇨중 protein함량은 수컷의 용매대조군에서 1예 및 암컷의 중간용량군과 저용량군에서 각각 1 예가 100mg/L이었으며, 기타는 50~75 mg/L 로서 정상적인 수치로 나타났다. Ketone치는 수컷의 음성대조군과 고용량군에서 각각 1예, 암컷의 용매대조군과 저용량군과 중간용량군에서 각각 1예가 양성으로 나타났다. 이들 외에는 모두 음성으로 나

Table VIII. Histopathological findings in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex Organ	Dosage (g/kg)	Male					Female				
		CON (-) ^a	CON (+) ^b	0.056	0.28	1.4	CON (-)	CON (+)	0.056	0.28	1.4
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		1	0	1	0	0	1	0	0	0	1
Spleen		0	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
Thymus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

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

Table IX. Organ weights in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex Organ	Dosage (g/kg)	Male					Female				
		CON (-) ^a	CON (+) ^b	0.056	0.28	1.4	CON (-)	CON (+)	0.056	0.28	1.4
No. of rats		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland R.		0.03±0.005	0.02±0.000	0.02±0.004	0.02±0.004	0.03±0.005	0.02±0.000	0.02±0.000	0.02±0.000	0.02±0.000	0.02±0.000
L.		0.03±0.006	0.03±0.005	0.02±0.005	0.03±0.005	0.02±0.005	0.02±0.005	0.02±0.004	0.02±0.000	0.02±0.005	0.02±0.000
Thymus		0.25±0.012	0.25±0.011	0.25±0.018	0.24±0.015	0.25±0.029	0.25±0.020	0.25±0.024	0.25±0.028	0.25±0.021	0.25±0.021
Brain		2.05±0.044	2.07±0.047	2.04±0.041	2.04±0.033	2.07±0.065	2.03±0.035	2.05±0.038	2.03±0.035	2.05±0.043	2.04±0.043
Stomach		1.56±0.207	1.49±0.139	1.55±0.303	1.54±0.263	1.65±0.340	1.04±0.310	1.08±0.093	1.01±0.105	1.06±0.182	1.18±0.286
Heart		0.95±0.316	1.17±0.127	1.02±0.329	1.10±0.106	1.10±0.082	0.81±0.060	0.85±0.079	0.81±0.094	0.77±0.095	0.85±0.109
Liver		13.07±1.762	12.98±1.780	12.44±2.686	12.55±1.045	13.40±1.266	8.44±0.972	8.49±0.485	8.67±0.761	8.28±0.726	8.70±1.037
Kidney R.		1.18±0.162	1.18±0.179	1.22±0.208	1.13±0.076	1.26±0.100	0.80±0.088	0.79±0.081	0.78±0.105	0.73±0.063	0.79±0.098
L.		1.20±0.178	1.19±0.176	1.21±0.223	1.15±0.081	1.26±0.102	0.76±0.079	0.78±0.091	0.77±0.095	0.72±0.053	0.78±0.094
Lung		2.61±0.561	2.15±0.466	3.28±1.759	2.27±0.641	2.23±0.313	2.14±1.26	2.40±1.575	1.60±0.315	1.49±0.259	2.94±3.329
Spleen		1.71±0.401	1.69±0.560	2.11±0.836	1.66±0.348	1.93±0.423	1.15±0.357	1.00±0.220	1.10±0.178	1.12±0.231	1.12±0.313
Testis R.		1.53±0.197	1.55±0.130	1.58±0.204	1.59±0.127	1.63±0.801	0.05±0.005	0.05±0.004	0.05±0.003	0.05±0.003	0.05±0.006
(Ovary) L.		1.54±0.207	1.57±0.130	1.57±0.191	1.59±0.099	1.64±0.100	0.05±0.005	0.05±0.003	0.05±0.005	0.05±0.005	0.05±0.005

^aCON (-); Not treated. ^bCON (+); Treated with 2% Tween 80 solution. Results are the mean ± SD (n=10).

타났다.

육안적 부검소견

시험물질투여에 의한 육안적 해부 소견은 Table VIII와 같다. 위 내용물의 저류에 따른 소화관의 확장은 모든 시험 동물에서 나타나지 않았다. 폐장의 부분적 출혈반점이 수컷 및 암컷의 용매대조군과 음성대조군에서 각각 1예, 수컷의 저용량군에서 1예, 암컷의 고용량군에서 각각 1예가 관찰되었다.

장기중량의 변화

암수 모두 모든 투여 군에서 시험물질 투여에 의한 변화는 인정되지 않았다(Table IX).

병리조직학적 소견

용매대조군에서 pneumonia소견이 암수 각각 1예에서 나타났으며, 약물투여군에서는 병리소견에 아무런 이상이 없었다. 또한 시험물질 투여군에서도 간소엽의 구조가 정상이었으며 문맥의 섬유화도 관찰되지 않았다. 또한 문맥주위 손상도 관찰되지 않아 이 약물에 의한 만성독성이나, 괴사성 염증 그리고 진행성 손상도 없다고 사료된다(Table X). 기타 모든 장기에서도 시험물질투여에 의한 변화는 없었다.

고찰

Table X. Incidence of pathological findings in rats orally treated with KDRD-010 for a month

Sex	Organ	Dosage (g/kg)	Male				Female			
			CON (-) ^a	CON (+) ^b	0.28	1.4	CON (-)	CON (+)	0.28	1.4
	No. of rats		10	10	10	10	10	10	10	10
	Adrenal Gland L.		0	0	0	0	0	0	0	0
	R.		0	0	0	0	0	0	0	0
	Brain		0	0	0	0	0	0	0	0
	Heart		0	0	0	0	0	0	0	0
	Liver		0	0	0	0	0	0	0	0
	Kidney		0	0	0	0	0	0	0	0
	Interstitial Pneumonia		0	1	0	0	0	1	0	0
	Calcification									
	Spleen		0	0	0	0	0	0	0	0
	Testis L.		0	0	0	0				
	R.		0	0	0	0				
	Ovary						0	0	0	0
	Thyroid gland		0	0	0	0	0	0	0	0
	Inflammation & Fibrosis									
	Stomach		0	0	0	0	0	0	0	0

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

시험물질 KDRD-010에 대한 아급성독성을 평가하기 위해 Sprague-Dawley계 랫드에 30일간 경구투여하였다. 시험물질 투여군은 고용량군(1.40 g/kg), 중간용량군(0.28 g/kg), 저용량군(0.056 g/kg) 및 용매대조군(2% Tween 80)과 무처리군으로 하여 30일간 1일 1회 경구투여한후 국립보건 안전연구원의 표준작업지침서에 기준하여 임상소견, 체중변화, 혈액학적 및 혈액생화학적 소견, 뇨검사, 병리조직학적 소견 등을 관찰하였다(National Institute of Safety Research, 1994).

시험기간동안 시험물질 투여에 의한 사망동물은 없었다. 시험물질투여군 및 용매대조군에서 투여 개시 후에 약간의 연변이 관찰되었으나 이것은 시험물질의 기체로서 사용된 Tween 80과 같은 계면활성제의 투여에 의해 일반적으로 나타날 수 있는 현상으로서 약물에 의한 영향이라고는 판단되지 않았다(Nakano 등, 1992; Nakashima 등, 1994). 따라서 본 시험에서도 이들 소견은 용량의존성이 없으므로 약물에 의한 영향으로 판단되지 않았다. 또한 모든 동물에서 시험물질 투여후 자발적인운동 및 호흡률의 증가등과 같은 특이증상은 관찰되지 않았으며 최종투여일에 실시한 안구검사에서 특이한 안구부위의 이상소견은 관찰되지 않았다. 시험물질 투여기간동안 측정한 체중의 변화에서는 수컷의 중간용량군 및 고용량군에서 음성대조군에 비해 최종일에서 체중의 증가율이 약간 감소하였다. 또한 암컷의 중간용량군에서도 약간 감소하였으나 전체 투여기간중 대조군에비해 유의성 있는 차이는 인정되지 않았다.

혈액학적 소견에서 RBC치는 수컷의 고용량군과 음성대

조군에서 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 수컷의 고용량군 및 음성대조군에서 hemoglobin량 증가 및 haematocrit치의 증가가 인정되었으나 이들의 변화는 어느것이 나 극히 경도하였으며 시험물질에 의한 영향이라고 인정되지 않았으며, 모두 정상범위에 속하였다. Lymphocyte치는 수컷의 중간용량군에서 약간 감소하였으나 고용량군 및 저용량군에서는 오히려 약간 증가하였다. 이와같이 혈액학적 소견에서도 약물에 기인한다고 생각되는 이상소견은 보이지 않았다. 또한 혈액생화학적 소견에서는 수컷의 중간용량군 및 고용량투여군에서 음성대조군에 비해 ALT의 증가가 있었으나, 이는 정상적인 표준 수치내의 범위에 근접하기 때문에 시험물질에 의한 영향이라고는 간주되지 않았다. ALP는 암컷의 모든 투여군과 양성대조군에서 음성대조군에 비해 증가하였으나 통계학적 유의성은 없었다. LDH, cholesterol, BUN 및 TG의 변화는 모두 정상적인 지표내에 속하여 약물에 의한 직접적인 영향이라고는 인정되는 소견은 보이지 않았다.

시험종료후 실시한 육안적 부검소견에서는 위 내용물의 저류에 따른 소화관의 확장등은 모든 시험동물에서 나타나지 않았다. 폐장의 부분적 출혈반점을 수반하는 동물이 용매대조군과 음성대조군에서 각각 1~2예 관찰되었다. 이것은 환경에 기인한 원인이라고 사료되며 무시될 수 있는 소견으로 인정되었다(Aburada 등, 1983; Cho 등, 1993a; Cho 등, 1993b)

이상과 같이 KDRD-010의 랫드에 대한 아급성독성시험에서 상기의 일반증상, 체중변화, 물, 사료섭취량 변화, 혈

액 및 혈액생화학적 검사, 뇨검사, 병리조직학적 검사등에서 특이한 독성병변은 관찰되지 않았으며, 본 시험조건에서 KDRD-010의 무해용량 및 최대내성용량은 1.40 g/kg이상으로 인정되었다.

참고문헌

- Aburada, M., Ichio, Y., Sakai, H., Hosoya, E., Inoue, H., Kojima, K. and Enomoto, M. (1983). Subacute Toxicity Test of "SENPUKUKATAISHASEKI-TO" (TK-601) in rats. *應用藥理*, **26**, 151-166.
- Cho, D. H., Hwang, S. J., Lee, W. Y., Lee, J. Y., Yoon, H. J. and Moon, B. W. (1993a). Acute subcutaneous toxicity study of banaron cream in rats. *J. Appl. Pharm.* **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. Pharm.* **2**, 275-279.
- 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 suplastast 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.