

## 랫드에 대한 KDRD-002의 급성경구독성시험

김형식 · 이승기 · 김규봉 · 박승준 · 안미영 · 최병천<sup>1</sup> · 이병무\*

\*성균관대학교 약학대학 독성학교실, <sup>1</sup>광동제약 중앙연구소

### Acute Oral Toxicity of KDRD-002 in Rats

Hyung Sik KIM, Seung Ki LEE, Kyu Bong KIM, Seung Jun KWACK, Mi young AHN,  
Byung Chun CHOI<sup>1</sup> and Byung Mu LEE\*

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

<sup>1</sup>Kwang Dong Pharmaceutical Co., LTD, 212-13, Kuro-Dong, Kuro-ku, Seoul

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

**Abstract**-Acute oral toxicity studies of KDRD-002 (*Coriolus versicolor* polysaccharide:DDB=19.2:1) were carried out in Sprague-Dawley rats of both sexes. In this study, we daily examined number of deaths, clinical signs, body weights and pathological examinations for 7 days after single oral administration of KDRD-002 with different dose levels. KDRD-002 did not show any toxic effect in rats and oral LD<sub>50</sub> value was over 3.25 g/kg in rats.

**Keywords** □ acute toxicity, LD50 values, KDRD-002, pathological examinations

간장은 alcohol, nicotine 및 여러 유해물질의 해독작용뿐만 아니라 담즙의 배설, 장내 지방과 지용성 비타민의 유효를 촉진하는 등 인체에 있어서 중요한 작용을 한다. 단성간염 및 간경변증등은 간암을 유발할 수 있으며 또한 간성혼수 등을 일으켜 사망을 유발하기도 한다. 현재 간질환 치료제로 사용되는 제제들은 상당히 많으나 그 작용이 불확실하며 우수한 효과를 나타내는 제제는 찾아보기 힘들다 (Kitani 와 Kanai, 1982).

최근 다당류는 다양한 생리활성 작용을 가지고 있어 신약으로서의 개발 가능성이 매우 중요시 되고 있다. 특히 항종양, 항게양 및 항바이러스효과등은 매우 우수한 것으로 보고되어 있어 이들 효과에 대한 신약개발에 많은 연구가 진행되리라 본다. 현재 간질환 치료제로 널리 사용되는 DDB(디페닐디메틸카복시레이트)는 간기능의 지표가 되는 여러 효소들의 활성수치를 저하시키는 작용이 매우 강하다. 이와같은 견지에서 서로 작용기전이 상이한 제제를 복합하여 기존의 단일제제보다 효과가 우수한 약물의 개발은 신약개발의 현시점에서 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 안전성평가의 일환으로 급성독성시험을 Sprague-Dawley계 랫드에서 실시하였다.

#### 실험방법

##### 시험물질

본 연구의 시험물질인 KDRD-002 (운지다당류:DDB, 19.2:1(w/w))는 흑갈색의 분말로서 광동제약으로부터 수령하여 시험에 사용하였다.

##### 시험계 및 사육환경

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

##### 군분리 및 투여용량의 설정

순화기간중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이

\* To whom correspondence should be addressed.

용, 균분리를 실시하였다. 동물의 개체식별은 사육상자별 tag표시법을 이용 실시하였다. 피험물질의 조제는 2% Tween 80 용액에 균일하게 현탁되도록 시험당일에 용시조제 하였다. 본 제제의 투여가능 최대용량은 3,250 mg/kg이며 이것을 최고용량군으로 설정하고, 이하 2,160, 1,440, 960 및 640 mg/kg과 대조군을 설정하였다.

**시험물질의 조제 및 투여**

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

**관찰 및 검사항목**

**증상관찰**

모든 시험동물에 대하여 투여일에는 투여후 6시간동안 매 시간마다, 투여익일부서는 1일 1회 7일간 동물의 일반상태의 변화, 증독증상 및 사망발현 유무를 관찰하였다 (Lorke, 1983; National Institute of Safety Research, 1994)

**체중측정**

체중은 시험물질 투여직전, 투여후 1일, 3일 및 최종일에 측정하였다.

**부검**

시험종료후 ether로 마취하고 방혈거사시켜 외관 및 내부장기의 이상유무를 육안적으로 상세히 관찰하였다.

**LD<sub>50</sub>치의 측정**

LD<sub>50</sub>치 및 95% 신뢰한계는 7일간의 누적사망율로부터 Litchfield와 Wilcoxon법에 따라 산출하였다(Zbinden와 Flury-Roversi, 1981).

**통계학적 분석**

모든 실험에 관한 유의성 검정은 One-way Analysis of Variance(ANOVA)에 의한 다중분산비교법인 Dunnett's test에 의해 실시하였다(Obara, 1992).

**실험결과**

**사망동물에 및 임상증상**

모든 시험물질 투여군과 대조군에서 7일간 관찰시 사망

**Table I.** Mortality of Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-002

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment								Final mortality
		0	1	2	3	4	5	6		
Male	3,250	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	2,160	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	1,440	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	960	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	640	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	CON <sup>a</sup>	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
Female	3,250	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	2,160	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	1,440	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	960	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	640	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10
	CON	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10

<sup>a</sup>CON; Treated with 2% Tween 80 solution.

**Table II.** Clinical signs in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-002

Sex	Dosage (mg/kg)	Clinical signs	Hours after treatment						Days after treatment							
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	
Male	3,250	ND <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2,160	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,440	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	960	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	640	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CON <sup>a</sup>	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Female	3,250	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2,160	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,440	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	960	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	640	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CON	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup>CON; Treated with 2% Tween 80 solution. <sup>b</sup>ND=Not detected.

**Table III.** Body weights in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-002

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment				Sex	Dosage (mg/kg)	Days after treatment					
		0	1	3	7			0	1	3	7		
Male	3,250	Mean	157.9	165.9	184.8	205.8	Female	3,250	Mean	135.2	143.7	158.1	171.4
		SD <sup>b</sup>	3.54	3.98	5.55	7.08			SD	2.82	3.33	5.46	7.05
		(n) <sup>c</sup>	10	10	10	10			(n)	10	10	10	10
	2,160	Mean	158.9	166.9	186.9	205.9		2,160	Mean	136.0	144.2	158.2	172.1
		SD	3.34	3.41	5.95	7.12			SD	2.78	4.36	6.41	6.75
		(n)	10	10	10	10			(n)	10	10	10	10
	1,440	Mean	158.5	165.4	191.3	203.7		1,440	Mean	137.0	144.8	159.5	173.0
		SD	4.00	4.42	6.23	6.54			SD	2.40	3.42	4.67	6.00
		(n)	10	10	10	10			(n)	10	10	10	10
	960	Mean	156.4	165.6	180.2	202.9		960	Mean	136.1	143.0	157.7	172.0
		SD	3.83	3.50	5.07	7.18			SD	2.28	2.86	6.07	7.07
		(n)	10	10	10	10			(n)	10	10	10	10
	640	Mean	159.1	166.8	182.2	200.6		640	Mean	135.7	143.7	158.9	176.1
		SD	4.12	4.26	5.18	7.40			SD	2.62	3.26	4.99	7.07
		(n)	10	10	10	10			(n)	10	10	10	10
	CON <sup>a</sup>	Mean	159.6	167.8	188.7	207.5		CON	Mean	137.2	143.8	158.0	174.0
		SD	4.11	4.53	5.71	8.64			SD	3.99	4.51	6.61	6.32
		(n)	10	10	10	10			(n)	10	10	10	10

<sup>a</sup>CON; Treated with 2% Tween 80 solution. <sup>b</sup>SD=Standard Deviation. <sup>c</sup>(n)=number of animals.

**Table IV.** Incidence of necropsy findings in Sprague-Dawley rats orally treated with KDRD-002

Sex	Dosage (g/kg)	Male						Female					
		CON <sup>a</sup>	3,25	2.16	1.44	0,96	0.64	CON	3,25	2.16	1.44	0,96	0.64
No. of rats		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland L.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Brain		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heart		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Kidney		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Interstitial Pneumonia		1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Calcification													
Spleen		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testis L.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup>CON; Treated with 2% Tween 80 solution.

에는 없었다(Table I). 또한 시험물질 투여후 대조군에 비해 특이적으로 관찰된 일반증상의 변화는 없었으나 암컷의 고용량 투여군에서 시험물질 투여후 자발적인 운동감소가 있었다(Table II).

**체중측정결과**

모든 시험물질 투여군의 수컷, 암컷에서 대조군에 비해 체중의 변화에 유의한 차이는 없었다(Table III).

**육안적 해부소견**

KDRD-002를 투여한 수컷과 암컷의 중간용량군 1에서

간장의 비정상적 swelling이 관찰되었으며, 수컷 최저용량군 및 용매대조군에서 폐의 부분적 출혈 반점이 있었다(Table IV).

**고 찰**

KDRD-002에 대한 안전성평가의 일환으로서 실시한 급성경구독성시험에서는 시험물질 투여에 의한 영향으로 평가되는 일반적인 독성증상은 없었다. 본 시험물질인

KDRD-002의 랫드에 대한 최대경구투여 가능용량은 3,250 mg/kg이었으며, 그 용량에서도 사망예는 관찰되지 않았다. 그러나 육안적 해부소견에서 폐장의 부분적 출혈반점이 시험물질 투여군과 대조군의 일부 동물에서 관찰되었으나 이것은 환경적인 원인에 의한 요인이라고 사료되었다.

이상과 같이 KDRD-002의 랫드에 대한 급성경구독성시험에서 상기의 일반증상, 사망률 및 체중변화등에 특이한 독성병변은 관찰되지 않았으므로 본 시험물질의 무해용량은 3,250 mg/kg이상으로 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.  
 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**, 13-20.  
 Zbinden, G. and Flury-Roversi, M. (1981). Significance of the LD<sub>50</sub> test for toxicological evaluation of chemical substance. *Arch. Toxicol.* **47**, 77-99.  
 보건사회부고시 제 92-96호 (1992. 12. 31) 의약품등의 안전성, 유효성 심사에 관한 규정[별표]: 복합제제의 제제별 독성시험방법, pp. 54-55.