

## 새로운 간질환치료제(고덱스 : 헤파디프에스)의 랫드에 대한 4주반복투여 경구독성시험

강종구\* · 정은용 · 박선희 · 김선희 · 이수해 · 장호송 · 황재식 · 남상윤  
충북대학교 수의과대학

### Four-week Repeated Oral Dose Toxicity Study of A New Hepatotherapeutic Agent GODEX (HEPADIF-S) in Rats

Jong-Koo Kang\*, Eun-Yong Jung, Sun-Hee Park, Sun-Hee Kim, Su-Hae Lee,  
Hu-Song Zhang, Zai-Zhi Huang and Sang-Yoon Nam

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

(Received April 14, 2001)

(Accepted May 28, 2001)

**ABSTRACT** : This study was designed to evaluate a repeated oral dose toxicity of a new hepatotherapeutic agent GODEX in Sprague-Dawley rats. Male and female rats were orally administered with dosages of 500, 100, 20, and 0 mg/kg/day of GODEX daily for 4 weeks, respectively. There were no dose-related changes in clinical signs, body weight changes, food and water consumption, ophthalmoscopy, organ weights, urine analysis, biochemical examination, and hematological findings of all animals treated with GODEX. Gross and histopathological findings revealed no evidence of specific toxicity related to GODEX. These indicate that GODEX may have no side effects and its oral maximum tolerated dose value may be over 500 mg/kg in rats.

**Key Words** : GODEX, A hepatotherapeutic agent, Repeated dose toxicity, SD rats

## I. 서 론

간장은 생체내에서 가장 큰 장기로서 외부로부터 유입된 다양한 화학물질과 음식물에 대하여 각종 소화 및 해독에 관련된 효소들을 생산하여 일차적으로 대사를 담당하는 생명유지에 있어서 중요한 역할을 수행한다. 따라서 이와 같이 생체에 필수적인 기능을 담당하는 간장은 여러 가지 손상에 대하여 일차적으로 반응함으로써 가장 취약할 수가 있어 간염 등과 같은 간질환을 겪게된다(Plaa, 1991). 한서제약(주) 헤파디프는 최근 carnitine orotate를 주성분으로 하여 개발된 간장보호 및 간질환 치료제로서

손상된 간세포를 회복시켜주며, 지방간으로 진행될 수 있는 친지방성 성상들을 기능적, 조직학적으로 제거시킨다고 알려져 왔다. 이 약물의 주된 약리작용은 간세포의 미토콘드리아에서 자유지방산대사에 관여하는  $\beta$ -oxidation에 영향을 준다고 알려져 있다(Miyazawa 등, 1982). 또한, 고덱스(GODEX : 헤파디프에스)에 함유된 antitoxic fraction은 순수 분리정제된 해독성 간장추출물로서 간질환에서의 내적, 외적 독성물질의 해독에 관여하는 것으로 알려져 있다(Tokmakjian과 Haines, 1985). 한편 최근 간염치료, 간질환예방 및 간장보호를 위하여 사용되는 DDB(dimethyl-4, 4'-dimethoxy-5, 6, 5', 6'-dimethylene dioxybiphenyl 2, 2'-dicarboxylate)에 대하여 많은 보고가 있으나 반복투여를 중단하게 되면 다시 질환의 상태가 악화되고 간손상 지표 효소치가 다시 상승한다는 단점이 있다(Akbar 등, 1998). 이에 한서제약(주)에서는 이런 점을 보완하여 급·아급성 및 만성간질환, 지방간증, 간경변증, 약물이나 화학물질에 의한 간중독증의 치료를 기대할 수 있게 개발한 헤파디프 제제에 기존의 간질환 치료제인 DDB를 첨가한 고덱스를 개발하였다. 따라서, 본 연구에서는 합성된 고덱스에 대한

\*To whom correspondence should be addressed

ABBREVIATIONS: DDB, dimethyl-4, 4'-dimethoxy-5, 6, 5', 6'-dimethylene dioxybiphenyl 2, 2'-dicarboxylate; SD, Sprague-Dawley; CMC, Carboxymethyl cellulose; RBC, red blood cell; WBC, white blood cell; Hct, hematocrit; Hgb, hemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT, platelet; PT, prothrombin time; APTT, activated partial thromboplastin time; ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase; TG, triglyceride; T-protein, total protein; BUN, blood urea nitrogen; T-bilirubin, total bilirubin; GGT,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase; LDH, lactate dehydrogenase.

안전성 평가의 일환으로 반복투여시 발현될 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하고자 고텍스를 4주간 연속적으로 경구투여한 랫드에 대하여 임상증상 및 생화학적 및 병리조직학적 분석을 실시하였다. 본 시험은 의약품 등의 독성시험기준(식품의약품안전청, 1999)에 준하여 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험물질

시험에 사용한 고텍스는 한서제약(주)로부터 공급받아 사용하였다. 고텍스는 황갈색의 분말이 들어있는 상압갈색, 하압갈색의 분말제제로서 기밀용기에 넣어 실온에 보관하였고, 시험시 0.5% Carboxymethyl cellulose(CMC) 용액에 현탁시켜 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 2. 실험 동물 및 사육환경

본 시험에 사용한 Sprague-Dawley(SD)계 랫드는 삼육 실험동물연구소로부터 5주령의 암·수 각각 52마리를 입수한 후 1주일간 검역과 순화·사육을 거쳐 건강한 암수를 각각 40마리씩을 선별하여 시험에 사용하였다. 본 시험은 온도 23±2°C, 상대습도 50±10%, 환기 회수 10~12회/hr, 조명시간 12 hr, 조도 150~300 lux로 설정된 실험동물실에서 실시되었다. 사료는 실험동물용 고품사료(삼양사료, 원주)를, 음수는 상수도를 자유섭취 시켰다.

### 3. 투여량 설정과 시험군의 구성

투여량의 산출은 투여 직전의 랫드의 체중을 기준으로 하여 최대내성용량 및 무해용량 등을 포함하여 용량 반응 관계가 나타날 수 있도록 용량군을 설정하였다. 투여량의 산출은 현탁시킨 시험물질을 투여 직전의 랫드의 체중을 기준으로 하여 500 mg/kg투여군에는 사람의 1일 임상용량[약 8.625 mg/kg(약 431.25 mg/50 kg)]의 약 58배인 500 mg/kg B.W.으로 설정한 다음, 이 용액을 기준으로 일정공비(×0.2)로 산정한 3개의 용량군을 설정하였다. 용매 대조군에는 현탁액인 0.5% CMC 용액만을 투여하였다. 투여액량에 있어서 고용량군에 500 mg/kg에 상당하는 투여액량을 체중 kg 당 2 ml의 시험물질을 투여하였고 그 밖의 군에는 0.5% CMC 용액으로 희석하여 동일한 액량을 투여하였다.

시험군의 구성은 선발된 암·수 각각 40마리의 동물을 군간 체중이 고르게 3개 용량군 및 용매 대조군의 4개 군으로 군당 암수 각 10마리씩 배치하였다. 평균체중은 수컷은 140±15 g, 암컷은 120±10 g 범위였다.

### 4. 투여방법 및 투여기간

투여경로는 인체 적용경로가 경구이므로 경구독성의 유무를 검색하기 위하여 경구로 Sonde를 이용하여 위내에 강제투여를 실시하였다. 투여기간은 시험물질을 1일 1회 주당 7회 4주간 반복 투여하였다.

### 5. 관찰 및 검사항목

#### 1) 일반증상 및 폐사의 관찰

시험기간 중에 1일 2회 실시하였다. 관찰방법은 일반 임상증상의 종류와 그 정도 등을 기록하였다.

#### 2) 체중변화, 사료섭취량 및 음수량 측정

시험시간 중 체중은 주 1회 투여 직전에 실시하였으며, 사료 섭취량은 모든 동물에 대하여 사육케이지별로 사료 섭취량과 사료잔량을 투여종료일까지 매주 1회씩 4주간 측정하여, 군당 사료섭취량(g/group/day)을 산출하였다. 음수섭취량은 모든 동물에 대하여 사육케이지별로 급수총량과 급수잔량을 투여종료일까지 매주 1회씩 4주간 측정하여, 군당 음수섭취량(ml/group/day)을 산출하였다.

#### 3) 안과학적 검사

모든 시험동물에 대하여 투여최종일에 안과학적 검사를 실시하였다. 검사는 육안 및 검안경(RC-2; Kowa, Japan)으로 실시하되, 관찰 10분 전에 산동제(Midorin P; 삼천제약, Japan)를 1~2방울 점안한 후 전안부, 중간투광체 및 안저의 각각에 대해서 실시하였다.

#### 4) 뇨검사

모든 시험동물에 대하여 투여최종일에 뇨검사를 실시하였다. 뇨검사는 Combur-<sup>10</sup>test®(Boehringer Mannheim, Germany)를 이용하여 specific gravity, pH, leukocyte, nitrite, protein, glucose, ketone, urobilinogen, bilirubin, blood, hemoglobin치를 검사하였다.

#### 5) 혈액학적 검사

부검시에 모든 시험 동물에 대하여 혈액학적인 검사를 실시하였다. 혈액학적 검사는 부검전일 20~24시간 절식시킨 동물에 대하여 에테르 마취하에 후대정맥으로부터 전 채혈해서 얻은 혈액의 일부를 EDTA로 항응고 처리한 vial(녹십자의료공업)에 넣어 잘 보관한 다음 3시간 이내에 적혈구수(RBC), 백혈구수(WBC), 헤마토크리트치(Hct), 혈색소량(Hgb), 평균적혈구용적(MCV), 평균적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC) 및 혈소판수(PLT)를 자동혈구측정기(Celltac α; NIHON KODEN,

Japan)를 이용하여 측정하였다. 백혈구백분율은 혈액도말 표본을 제작 후 Wright and Giemsa염색을 한 후에 호중구(neutrophil), 호산구(eosinophil), 호염기구(basophil), 림프구(lymphocyte), 단핵구(monocyte)의 백분율을 현미경 하에서 산정하였다. 망상적혈구검사는 methylene blue 염색을 한 후 현미경으로 검정하였다. 혈액응고시간에 있어서 PT(Prothrombin time)와 APTT(Activated partial thromboplastin time)치를 측정하기 위하여 채취한 일부 혈액(Sodium citrate : blood = 1 : 9)을 원심분리 (3,000 rpm, 10 분)하여 얻은 혈장으로 자동응고시간측정기(ACL100 Instrumentation Laboratory, Italy)를 이용하여 측정하였다.

#### 6) 혈청생화학적 검사

혈청생화학적 검사는 부검전일 20~24시간 절식시킨 동물을 에테르 마취하에 후대정맥에서 전체혈에서 얻은 혈액을 실온에 30분간 방치하여 응고시킨 다음, 원심분리 (3,000 rpm×15 min) 해서 얻은 혈청에 대해서 alanine transaminase(ALT), aspartate transaminase(AST), triglyceride, cholesterol, glucose, total protein, albumin, blood urea nitrogen(BUN), calcium, chloride, creatine kinase, creatinine, total bilirubin,  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase(GGT), inorganic phosphate, lactate dehydrogenase(LDH), A/G ratio치를 자동분석기(Express Plus; Chiron, USA)를 이용하여 측정하였다.

#### 7) 부검 및 장기중량 측정

시험종료 후 모든 생존동물에 대하여 에테르 마취하에 방혈, 치사시켜 육안적으로 장기를 검사하였다. 전 시험동물에 대하여 심장, 간장, 비장, 신장(좌, 우), 부신(좌, 우), 고환(수컷 : 좌, 우), 난소(암컷 : 좌, 우), 뇌 및 뇌하수체, 폐, 가슴샘, 갑상샘, 전립샘, 타액샘, 정낭샘, 자궁의 중량을 측정하였다.

#### 8) 병리조직학적 검사

모든 시험군에 대하여 피부, 젖샘, 림프절, 타액샘, 골 및 골수(홍골, 대퇴골), 흉선, 기관, 폐 및 기관지, 심장, 갑상

샘 및 부갑상샘, 혀, 식도, 위 및 십이지장, 소장, 대장, 간장, 췌장, 비장, 신장, 부신, 방광, 정낭샘, 전립샘, 고환, 난소, 자궁, 질, 뇌, 뇌하수체, 척수, 안구 및 그 부속기에 대하여 장기를 채취한 다음 10% 중성포르말린용액에 고정시켰다. 충분한 고정을 거친 모든 장기조직은 파라핀 포매기에 포매하여 마이크로톰(Leica 820, Sweden)으로 4  $\mu$ m 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin염색을 하여 광학현미경으로 검사하였다.

#### 6. 통계학적 분석

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적분석은 one-way analysis of variance(ANOVA)에서 유의차가 인정되는 F 값이 관찰될 때 용매 대조군과 각 시험군과 비교하기 위하여 Dunnett's *t*-test를 하였으며, 발생변인의 빈도는  $\chi^2$ (chi-square) 검정을 실시하였다.

### III. 결 과

#### 1. 일반증상 및 사망율

시험기간동안 암·수 모든 처치군 및 용매 대조군에서 특기할 만한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 폐사 및 빈사 동물 또한 시험 전기간을 통하여 관찰되지 않았다.

#### 2. 체중변화

투여기간 중 약물투여에 의한 체중감소는 인정되지 않았다. 오히려 투여 3주 후부터 암·수 모든 처치군은 용매 대조군에 비교하여 체중이 다소 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 1).

#### 3. 장기중량변화

절대장기치에서 500 mg/kg을 투여한 수컷의 좌·우 부 고환에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰

**Table 1.** Body weight change of male and female rats administered orally with GODEX for 4 weeks

Sex	GODEX (mg/kg B.W.)	Experimental day			
		6	13	20	27
Male	500	138.5±8.64	174.3±9.78	289.6±15.08	302.7±15.10
	100	138.3±8.80	170.7±7.27	287.5±11.77	303.3±14.11
	20	140.1±7.18	176.9±10.73	289.3±12.39	303.0±11.87
	0	140.6±8.35	172.7±8.25	293.2±12.38	299.7±13.81
Female	500	119.5±5.75	137.9±8.31	203.8±9.94	207.1±10.24
	100	120.4±4.68	138.3±7.01	198.6±12.08	204.1±6.80
	20	119.5±5.02	140.6±4.87	199.8±14.88	205.4±13.23
	0	119.4±7.14	138.1±4.67	193.5±9.34	200.5±8.54

Values represent means±S.D. (n = 10).

**Table 2.** Absolute and relative organ weights of SD rats administered orally with GODEX for 4 weeks

(unit : g)

Absolute weight	Male				Female				
	Relative weight (%)	500	100	20	0 (control)	500	100	20	0 (control)
Testis or ovary	1.466±0.120	1.504±0.100	1.539±0.110	1.541±0.070	0.059±0.011*	0.052±0.014	0.062±0.015	0.062±0.013	0.062±0.013
(%)	0.486±0.054	0.496±0.032	0.507±0.037	0.478±0.527	0.028±0.006	0.026±0.007	0.030±0.008	0.031±0.007	0.031±0.007
Pituitary gland	0.010±0.002	0.009±0.002	0.009±0.001	0.010±0.001	0.008±0.003	0.009±0.002	0.010±0.004	0.009±0.002	0.009±0.002
(%)	0.003±0.001	0.003±0.001	0.003±0.000	0.003±0.003	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.002	0.005±0.001	0.005±0.001
Brain	2.046±0.080	1.989±0.060	1.967±0.110	1.986±0.120	1.824±0.088	1.870±0.071	1.844±0.242	1.849±0.069	1.849±0.069
(%)	0.677±0.045	0.657±0.029	0.649±0.049	0.598±0.680	0.855±0.049	0.917±0.055	0.897±0.116	0.832±0.290	0.832±0.290
Thymus	0.633±0.060	0.690±0.120	0.642±0.120	0.600±0.120	0.514±0.056	0.481±0.066	0.475±0.108	0.506±0.119	0.506±0.119
(%)	0.210±0.024	0.228±0.041	0.211±0.037	0.195±0.205	0.241±0.026	0.218±0.076	0.232±0.056	0.239±0.095	0.239±0.095
Heart	1.043±0.130	1.037±0.060	1.025±0.040	0.986±0.060	0.747±0.032	0.767±0.049	0.708±0.042**	0.777±0.055	0.777±0.055
(%)	0.346±0.047	0.342±0.015	0.338±0.011	0.336±0.338	0.350±0.021	0.376±0.021	0.344±0.016	0.389±0.037	0.389±0.037
Lung	1.311±0.130	1.349±0.120	1.338±0.130	1.378±0.190	1.094±0.079	1.097±0.093	1.133±0.134	1.097±0.079	1.097±0.079
(%)	0.435±0.057	0.445±0.038	0.440±0.032	0.471±0.068	0.513±0.042	0.538±0.044	0.551±0.058	0.548±0.037	0.548±0.037
Liver	8.465±0.760	8.684±0.570	8.485±0.470	8.514±0.750	5.944±0.467	5.692±0.494	5.61±0.432	5.662±0.407	5.662±0.407
(%)	2.801±0.272	2.864±0.150	2.795±0.111	2.919±0.408	2.786±0.253	2.787±0.192	2.730±0.233	2.829±0.244	2.829±0.244
Spleen	0.785±0.130	0.973±0.190*	0.760±0.120	0.798±0.150	0.591±0.054	0.600±0.058	0.605±0.099	0.615±0.107	0.615±0.107
(%)	0.260±0.043	0.320±0.052	0.250±0.038	0.336±0.271	0.277±0.034	0.294±0.027	0.295±0.052	0.307±0.058	0.307±0.058
Kidney	1.044±0.060	1.026±0.090	1.093±0.110	1.027±0.080	0.694±0.037	0.670±0.026	0.686±0.133	0.666±0.029	0.666±0.029
(%)	0.346±0.027	0.338±0.023	0.360±0.025	0.353±0.053	0.325±0.023	0.329±0.015	0.333±0.062	0.333±0.024	0.333±0.024
Adrenal gland	0.022±0.006	0.022±0.007	0.028±0.001	0.022±0.003	0.025±0.004	0.027±0.010	0.059±0.093	0.025±0.008	0.025±0.008
(%)	0.007±0.002	0.007±0.002	0.009±0.003	0.008±0.001	0.012±0.002	0.013±0.005	0.029±0.048	0.011±0.005	0.011±0.005
Thyroid gland	0.010±0.002	0.009±0.002	0.008±0.002	0.009±0.003	0.007±0.002	0.007±0.001	0.006±0.008	0.007±0.001	0.007±0.001
(%)	0.003±0.001	0.003±0.001	0.003±0.001	0.003±0.000	0.004±0.001	0.003±0.006	0.004±0.001	0.004±0.001	0.004±0.001
Submaxillary gland	0.539±0.046	0.510±0.063	0.519±0.064	0.530±0.038	0.384±0.064	0.467±0.137	0.428±0.039**	0.380±0.030	0.380±0.030
(%)	0.179±0.020	0.168±0.017	0.171±0.018	0.182±0.025	0.180±0.031	0.208±0.097	0.208±0.017	0.190±0.016	0.190±0.016

Results are means±S.D. (n = 10).

Significantly different from control group at \*p &lt; 0.05 or \*\*p &lt; 0.01.

되었으나(P < 0.01) 상대장기중량 비에서는 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다. 암컷 500 mg/kg 투여군의 좌측 난소는 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소(P < 0.05)가, 우측신장은 용매 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 증가가 인정되었고(P < 0.05), 100 mg/kg 투여군의 우측난소는 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 인정되었으며(P < 0.05), 암컷 20 mg/kg 투여군의 심장은 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 인정되었으며(P < 0.01), 악하선은 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 증가가 나타났다(P < 0.01). 그러나 상대장기 중량비에서는 각 처치군의 해당 장기에 있어서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다(Table 2).

#### 4. 사료섭취량과 음수량의 변화

군당 사료섭취량과 음수소비량에 있어서 암·수 모든 처치군과 용매 대조군사이에 시험기간 동안 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다.

#### 5. 안검사조건

시험 전기간을 통하여 전 군에서 시험물질의 투여에 기

인한 변화는 인정되지 않았다.

#### 6. 뇨검사조건

암·수 모든 시험군과 용매 대조군에서 시험물질 투여 후의 각 측정항목에 있어서 뚜렷한 차이는 관찰할 수 없었다(Table 3).

#### 7. 혈액학적 검사조건

혈액학적 검사에 있어서 수컷 500 mg/kg 투여군에서는 WBC, Hgb, MCH, MCHC치가 용매 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었으나(P < 0.01), 그 밖의 수치에 있어서는 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 한편 암컷의 모든 시험군에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. 또한 백혈구의 분별계수에 있어서도 모든 시험군에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 4).

#### 8. 혈청생화학적 검사조건

Table 5에 나타난 것처럼 수컷 500 mg/kg 투여군에서

**Table 3.** Urine analysis results in SD rats administered orally with GODEX for 4 weeks

Items	Sex				Male				Female				
	Dose (mg/kg)	500	100	20	0	500	100	20	0	500	100	20	0
Specific gravity	1.000												
	1.005												
	1.010	5	1	4	3	5	2	3	2				
	1.015	1	5	3	3	2	6	1	4				
	1.020	2	2	3	3	2	1	6	2				
	1.025	2	2		1	1	1		2				
pH	1.030												
	5												
	6						1	3					
	7		2	1		1		2	1				
	8	4	6	6	6	8	9	5	6				
Leukocytes (leuko/ $\mu$ l)	9	6	2	3	4	1			3				
	0	8	10	10	10	10	10	10	10				
	10-25	2											
Nitrite	75												
	500												
Protein (mg/dl)	neg	10	10	10	10	10	10	10	10				
	pos												
	0	3	5	4	5	2	5	5	4				
	30	5	4	6	5	8	5	5	6				
Protein (mg/dl)	100	2	1										
	500												

ALT, AST, T-protein, albumin, calcium, creatine kinase, creatine, LDH치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰되었으나(P < 0.01), A/G ratio치에서는 용매

**Table 3. Continued**

Items	Sex Dose (mg/kg)	Male				Female			
		500	100	20	0	500	100	20	0
Glucose (mg/dl)	normal	9	10	10	10	9	10	10	10
	50	1				1			
	100								
	300								
	1000								
Ketone	-	9	10	10	9	10	10	10	10
	+	1			1				
	+++								
Urobilinogen (mg/dl)	0	10	10	9	10	10	10	10	10
	1			1					
	4								
	8								
	12								
Bilirubin (mg/dl)	-	10	10	10	10	10	10	10	10
	+								
	+++								
Blood (RBC/ $\mu$ l)	0	10	10	10	10	10	10	10	10
	5-10								
	50								
Hemoglobin (RBC/ $\mu$ l)	250								
	0	10	10	10	10	10	10	10	10
	5-10								

neg : negative, pos : positive. RBC : red blood cell.

**Table 4.** Hematological data in SD rats administered orally with GODEX for 4 weeks

Sex	Male				Female				
	Dose (mg/kg B.W.)	500	100	20	0 (control)	500	100	20	0 (control)
RBC ( $\times 10^6/\mu$ l)		7.6 $\pm$ 0.18	7.6 $\pm$ 0.37	7.5 $\pm$ 0.33	7.67 $\pm$ 0.52	7.7 $\pm$ 2.17	7.4 $\pm$ 0.25	7.0 $\pm$ 0.93	7.35 $\pm$ 0.30
Hgb (g/dl)		14.3 $\pm$ 0.43*	15.4 $\pm$ 0.80	15.0 $\pm$ 0.60	15.2 $\pm$ 1.10	15.0 $\pm$ 0.75	15.9 $\pm$ 0.73	15.5 $\pm$ 1.51	15.6 $\pm$ 0.75
Hct (%)		40.6 $\pm$ 1.13	41.5 $\pm$ 2.16	40.5 $\pm$ 1.81	41.51 $\pm$ 2.95	42.8 $\pm$ 11.41	41.4 $\pm$ 1.73	39.5 $\pm$ 5.11	41.0 $\pm$ 1.91
MCV (fL)		53.7 $\pm$ 0.82	51.0 $\pm$ 12.45	54.3 $\pm$ 0.95	54.2 $\pm$ 1.81	55.4 $\pm$ 1.78	56.2 $\pm$ 1.03	56.8 $\pm$ 1.40	55.8 $\pm$ 0.92
MCH (pg)		19.0 $\pm$ 0.43**	22.4 $\pm$ 6.80	20.1 $\pm$ 0.48	19.9 $\pm$ 0.62	21.3 $\pm$ 0.98	21.6 $\pm$ 0.40	22.4 $\pm$ 1.46	21.2 $\pm$ 0.60
MCHC (g/dl)		35.3 $\pm$ 0.39**	38.7 $\pm$ 5.75	36.9 $\pm$ 0.44	36.7 $\pm$ 0.52	38.4 $\pm$ 0.90	38.4 $\pm$ 0.55	39.4 $\pm$ 2.02	38.0 $\pm$ 0.93
PLT ( $\times 10^3/\mu$ l)		770.9 $\pm$ 98.49	661.6 $\pm$ 331.24	845.8 $\pm$ 54.20	835.9 $\pm$ 66.55	731.8 $\pm$ 125.25	838.1 $\pm$ 87.25	761.8 $\pm$ 295.04	683.9 $\pm$ 217.56
Reticulocyte (%)		1.4 $\pm$ 0.83	1.3 $\pm$ 1.13	1.8 $\pm$ 0.64	1.78 $\pm$ 1.27	1.3 $\pm$ 0.45	1.5 $\pm$ 0.80	1.5 $\pm$ 0.55	1.5 $\pm$ 0.38
PT (sec)		13.2 $\pm$ 0.49	13.6 $\pm$ 0.47	13.5 $\pm$ 0.44	13.33 $\pm$ 0.69	13.0 $\pm$ 0.39	13.5 $\pm$ 0.50	13.4 $\pm$ 1.06	13.1 $\pm$ 0.63
APTT (sec)		15.2 $\pm$ 2.08	17.2 $\pm$ 2.24	17.1 $\pm$ 1.32	16.53 $\pm$ 3.58	17.0 $\pm$ 1.92	18.3 $\pm$ 3.88	18.5 $\pm$ 2.21	18.1 $\pm$ 2.41
WBC ( $\times 10^3/\mu$ l)		5.4 $\pm$ 2.16*	8.0 $\pm$ 1.65	6.4 $\pm$ 1.19	7.91 $\pm$ 2.11	4.0 $\pm$ 1.81	5.4 $\pm$ 1.33	4.9 $\pm$ 1.03	5.6 $\pm$ 2.01
Neutrophil									
Band (%)		0.40 $\pm$ 0.34	0.46 $\pm$ 0.23	0.93 $\pm$ 0.38	0.63 $\pm$ 0.51	0.37 $\pm$ 0.33	0.40 $\pm$ 0.47	0.30 $\pm$ 0.29	0.40 $\pm$ 0.26
Segmented (%)		15.20 $\pm$ 3.18	9.63 $\pm$ 3.08	12.60 $\pm$ 3.04	11.90 $\pm$ 3.82	15.30 $\pm$ 2.95	15.20 $\pm$ 4.87	15.30 $\pm$ 4.90	13.00 $\pm$ 4.13
Eosinophil (%)		0.20 $\pm$ 0.23	0.67 $\pm$ 0.05	0.53 $\pm$ 0.57	0.47 $\pm$ 0.53	0.37 $\pm$ 0.33	0.37 $\pm$ 0.33	0.17 $\pm$ 0.18	0.43 $\pm$ 0.35
Basophil (%)		0.10 $\pm$ 0.16	0.30 $\pm$ 0.25	0.23 $\pm$ 0.32	0.23 $\pm$ 0.22	0.13 $\pm$ 0.17	0.13 $\pm$ 0.17	0.07 $\pm$ 0.14	0.07 $\pm$ 0.14
Lymphocyte (%)		82.27 $\pm$ 3.24	87.40 $\pm$ 3.37	83.97 $\pm$ 3.84	85.07 $\pm$ 4.02	81.93 $\pm$ 3.09	82.17 $\pm$ 5.87	82.07 $\pm$ 5.58	84.40 $\pm$ 4.40
Monocyte (%)		1.83 $\pm$ 0.86	1.53 $\pm$ 0.67	1.73 $\pm$ 0.66	1.70 $\pm$ 0.46	1.90 $\pm$ 0.57	1.77 $\pm$ 0.61	2.10 $\pm$ 0.86	1.67 $\pm$ 0.54

Results are means $\pm$ S.D. (n = 10).

Significantly different from control group at \*p < 0.05 or \*\*p < 0.01.

**Table 5.** Serological data in SD rats administered orally with GODEX for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	500	100	20	0	500	100	20	0
Dose (mg/kg BW)								
ALT (U/L)	49.9±4.73*	72.4±13.35	61.6±5.30	67.8±13.60	49.7±6.86**	97.2±17.00	112.4±17.50*	87.3±21.53
AST (U/L)	146.0±25.64**	206.8±38.97	200.8±22.1	210.9±25.20	121.6±8.83**	183.4±29.90	216.3±35.98*	171.6±40.93
TG (mg/dl)	11.5±0.10	76.9±27.59	65.9±18.45	68.6±19.18	58.1±19.80**	70.1±20.60	50.3±15.15**	86.8±22.15
Cholesterol (mg/dl)	9.8±0.96	73.3±6.67	62.3±6.53	67.9±7.48	77.5±14.60	78.1±16.20	82.3±17.63	79.1±19.38
Glucose (mg/dl)	14.9±0.82	65.8±13.52	57.5±13.16*	78.4±24.96	79.2±8.54	56.0±14.20*	50.3±10.50*	72.1±15.59
T-Protein (g/dl)	5.5±0.26*	5.74±0.38	5.5±0.42**	6.1±0.45	5.9±0.42*	6.4±0.48	6.7±0.49	6.3±0.43
Albumin (g/dl)	7.6±0.37**	8.03±0.45**	7.3±0.53**	9.2±0.68	9.5±0.77**	12.5±1.02**	13.5±1.15**	10.4±0.61
BUN (mg/dl)	11.0±2.21	14.2±1.48	12.5±2.07	12.6±1.90	12.8±1.69	15.6±1.78	14.5±2.88	14.2±2.66
Calcium (mg/dl)	7.2±0.46**	7.1±0.36**	8.8±1.04	9.7±9.47	10.0±0.10	7.40±0.73**	8.2±1.30*	10.4±2.22
Chlorides (mEq/L)	99.9±1.97	98.5±1.27	110.9±9.20**	95.2±8.90	104.4±18.17	92.5±10.26	98.4±8.67	97.3±8.74
Creatine kinase (U/L)	1601.7 ±419.02**	1566.3 ±305.24**	2426.0 ±191.71*	2123.0 ±300.40	1147.6 ±242.90**	1656.1 ±667.90**	1075.0 ±388.01**	582.4 ±226.76
Creatinine (mg/dl)	0.5±0.07*	0.5±0.12	0.5±0.07**	0.6±0.09	0.6±0.08	0.5±0.10	0.6±0.05	0.6±0.12
T-Bilirubin (mg/dl)	0.3±0.07	0.4±0.19	0.2±0.08	0.4±0.15	0.4±0.13	0.5±0.10**	0.6±0.36	0.4±0.09
GGT (U/L)	10.1±2.86	13.7±4.89	15.5±4.29	12.8±6.37	6.9±3.57*	8.1±5.44	10.9±6.08	13.2±4.09
Phosphorous (mg/dl)	5.8±0.52	6.8±1.11	6.2±0.60	6.4±0.65	5.4±0.40*	6.0±0.59	6.9±0.76**	6.0±0.55
LDH (U/L)	1471.2 ±461.69**	2422.5 ±253.74*	2422.5 ±253.74*	2147.1 ±227.83	947.9 ±209.26*	1927.4 ±547.40	2290.9 ±566.70*	1517.1 ±589.30
A/G ratio	3.7±0.32*	4.12.0±0.47**	4.1±0.47**	3.1±0.60	2.7±0.26	2.1±0.06**	2.0±0.11**	2.6±0.14

Results are means±S.D. (n = 10)

Significantly different from control group at \*p &lt; 0.05 or \*\* p &lt; 0.01.

대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(P < 0.05). 수컷 100 mg/kg 투여군에서 albumin, calcium, creatine kinase 치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰되었으나(P < 0.01), A/G ratio치에서는 용매 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(P < 0.05). 수컷 100 mg/kg 투여군에서 glucose, T-protein, albumin, creatine, LDH치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰되었으나(P < 0.01), chloride, creatine kinase, A/G ratio치에서는

용매 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(P < 0.01). 암컷 500 mg/kg 투여군에서 ALT, AST, TG, T-protein, albumin, GGT, phosphorus, LDH치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰되었으나(P < 0.01), creatine kinase치에서는 용매 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다(P < 0.01). 암컷 100 mg/kg 투여군에서 calcium, A/G ratio치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰되었으나(P < 0.01), albumin, creatine kinase, T-bilirubin

**Table 6.** Histopathological findings of SD rats administered orally with GODEX for 4 weeks

Organs	Sex				Female				
	Dose (mg/kg)	500	100	20	0	500	100	20	0
	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10
<b>Kidney</b>									
Cell infiltration in interstitial tissue		0	1	0	1	0	1	2	1
Calcification of renal tubule		0	1	0	2	1	1	2	2
Vacuolation of renal tubules		1	0	1	0	1	2	0	1
<b>Spleen</b>									
Follicular hyperplasia		2	1	0	1	1	1	0	0
Extramedullary hematopoiesis		0	1	1	2	0	0	1	0
<b>Liver</b>									
Microgranuloma			2	2	1	0	1	2	1
Vacuolation of hepatocytes		10	1	0	1	0	1	0	0
Cell infiltration in Glisson's sheath		0	1	0	3	0	0	1	2
<b>Heart</b>									
Congestion		1	0	1	0	0	1	0	0
Cell infiltration in interstitial tissue		0	1	0	0	0	0	0	0
<b>Lung</b>									
Thickening of alveolar wall		0	2	2	1	2	3	1	2

치에서는 용매 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다 ( $P < 0.01$ ). 암컷 100 mg/kg 투여군에서 TG, glucose, calcium, A/G ratio치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 감소가 관찰되었으나 ( $P < 0.01$ ), ALT, AST, albumin, creatine kinase, phosphorous치에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었다 ( $P < 0.01$ ).

## 9. 부검소견

전 생존 동물의 부검시 암·수 모든 시험군과 용매 대조군에서 시험물질 투여로 인한 특기할 만한 부검소견은 관찰되지 않았다.

## 10. 병리조직학적 소견

신장의 세뇨관에서 간질의 세포침윤, 석회화 및 부분적인 공포변성소견이 일부의 시험군에서 관찰되었으나 그 관찰빈도가 정상용매 대조군과 유사하였다. 비장에서는 림프여포의 증생이 용매 대조군 수준 정도로 시험군의 일부 동물에서 관찰되었다. 시험군의 간장의 동모양혈관내에 소육아종(microgranuloma) 형성, 간세포의 공포변성 및 Glisson's sheath내의 세포침윤 소견이 용매 대조군수준으로 관찰되었다. 또한 심장의 울혈과 폐의 폐포벽비후소견이 용매 대조군수준으로 관찰되었으나, 그 밖의 장기에서는 특기할 만한 병변은 관찰되지 않았다(Table 6).

## IV. 고 찰

새로운 간질환치료제 고텍스에 대한 안전성 평가의 일환으로 반복투여시 발현될 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하기 위하여 시험물질을 6주령 SD계 랫드에 체중 kg 당 500, 100, 20 및 0 mg의 용량으로 매일 일정시간에 1회씩, 4주간 총 28회 경구투여하였다. 시험결과에 있어서 암·수 모든 시험군 및 용매 대조군에서 특기할 만한 임상증상은 관찰되지 않았으며, 폐사 및 빈사 동물은 시험 전기간을 통하여 관찰되지 않았다. 체중변화에 있어서도 투여기간 중 약물투여에 의한 체중감소는 인정되지 않았다. 오히려 투여 3주 후부터 암·수 모든 시험군에서 용매 대조군에 비교하여 체중이 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 본 시험물질의 고용량인 체중 kg당 500 mg의 용량에서도 용매 대조군에 비하여 10% 이내의 체중증가 및 폐사소견이 관찰되지 않아 최대내성용량(maximum tolerate dose)은 체중 kg당 500 mg 이상일 것으로 사료된다.

사료섭취량 및 음수섭취량에 있어서 암·수 모든 시험군과 용매 대조군에서 시험기간 동안 주목할 만한 변화는

관찰되지 않았다. 또한 안검사에서 시험 전기간을 통하여 전군에서 시험물질의 투여에 기인한 변화는 인정되지 않았다. 뇨검사에 있어서 암·수 모든 시험군과 용매 대조군에서 시험물질 투여전과 투여후의 각 측정항목에 있어서 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었다. 혈액학적 검사에 있어서 수컷 500 mg/kg 투여군에서는 WBC, Hgb, MCH, MCHC치가 용매 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었으나, 그 밖의 항목과 암컷의 전항목에 있어서는 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다. 또한 백혈구의 분별계수에 있어서도 모든 시험군에서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과로부터 일부 몇몇 혈액학적인 수치에서 유의차가 인정되었으나, 암·수 성차가 없었으며 결과 또한 산발적이고 용량의존성을 보이지 않았으므로, 약물에 기인된 변화는 아닌 것으로 사료된다.

Table 5에서 보는바와 같이 혈청생화학적 검사 항목의 결과에 있어서 표적장기 손상의 지표가 되는 해당항목의 높은 생화학적 수치와는 달리 시험군의 대부분의 결과들은 용매 대조군보다 낮게 관찰되었다. 또한, 같은 항목에서도 오히려 용매 대조군 또는 저용량에서 높게 관찰되는 예도 관찰되어 본 결과는 암·수 산발적이며 용량의존적이지 않았으며, 대부분의 수치들이 정상 생리학적 범위에 있었으므로 본 제제는 생체내에서 비정상적인 변화를 유발하지 않을 것으로 사료된다.

절대장기중량에서 일부장기의 용매 대조군과 유의차를 보였지만, 상대장기 중량비에서는 각 시험군의 해당 장기에 있어서 용매 대조군에 비하여 유의성 있는 변화는 인정되지 않았다. 부검소견에서는 암·수 모든 시험군과 용매 대조군에서 시험물질 투여로 인한 특기할 만한 육안소견은 관찰되지 않았다. 이상의 결과, 암·수 성차를 관찰할 수 없었으며 결과 또한 산발적으로 용량의존성이 인정되지 않아 고텍스에 의한 독성변화는 아닌 것으로 생각된다.

병리조직학적 소견에서는 신장의 세뇨관 간질에 세포침윤, 세뇨관의 석회화, 세뇨관의 공포변성, 비장의 림프여포의 증생이 모든 시험군과 용매 대조군에서 고르게 관찰되었다. 또한 간장의 소육아종, 간세포내의 공포형성, Glisson's sheath에 세포침윤 등의 소견과 심장의 울혈, 간질에 세포침윤 소견도 모든 군에서 관찰되었다. 폐에 있어서도 모든 시험군과 용매 대조군에서 미약한 폐포벽 비후 소견이 관찰되었다. 이상과 같이 몇몇 장기에서 관찰된 병리조직학적인 소견들은 아급성·만성독성 시험시 자주 유발되는 자연발생적인 병변 또는 우발적인 병변으로서 암·수 산발적으로 나타나고 용량의존성을 보이지 않았으며, 용매 대조군에서도 유사하게 관찰되어 고텍스투여에 의한 독성변화는 아닌 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 한서제약(주) 고택스제의 팻드에 대한 4주경구 반복투여독성 시험에 있어서 최고용량인 500 mg/kg 투여군에서도 특기할 만한 독성변화가 관찰되지 않아, 무해용량은 500 mg/kg 이상으로 본 제제는 인체에 적용했을 때 안전성이 높을 것으로 추정된다.

### 감사의 글

본 연구는 한서제약 주식회사 및 충북대학교 동물의학 연구소의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

### 참고문헌

- Akbar, N., Tahr, R.A., Santoso, W.D., Soemarno, Sumaryono, Noer, H.M. and Liu, G. (1998): Effectiveness of the analogue of natural Schisandrin C (HpPro) in treatment of liver diseases: an experience in Indonesian patients. *Chin. Med. J.*, **111**, 248-251.
- Miyazawa, S., Furuta, S. and Hashimoto, T. (1982): Reduction of  $\beta$ -oxidation capacity of rat liver mitochondria by feeding orotic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, **711**, 494-502.
- Plaa, G.L. (1991): Toxic responses of the liver in *Casarett and Doull's Toxicology* (Amdur, M.O, Doull, J. and Klassen, C.D. Eds.). Pergamon Press, New York, pp. 334-353.
- Tokmakjian, S.D. and Haines, D.S. (1985): Early effects of dietary orotic acid upon liver lipid synthesis and bile cholesterol secretion in rats. *J. Lipid Res.*, **26**, 478-486.
- Wolford, S.T., Schroer R.A., Gohs, F.X., Gallo, P.P., Brodeck, M., Falk, H.B. and Ruhren, R. (1986). Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol. Environm. Health*, **18**, 161-168.
- 식품의약품안전청고시 제1999-61호 의약품 등의 독성시험기준, 식품의약품안전청(1999. 12. 22. 제정).