

랫트에 있어서 DWH-01(Ranitidine : Bismuth subcitrate : Sucralfate)의 급성독성에 관한 연구

김형식 · 박선미 · 변수현 · 김용기 · 이제원¹ · 유영효¹ · 이항우* · 이병무

성균관대학교 약학대학 약학연구소

¹(주)대웅제약 생물약학 연구실

Acute Toxicity of DWH-01 (Ranitidine : Bismuth subcitrate : Sucralfate) in Rats

Hyung Sik KIM, Sun-Mee PARK, Soo Hyun BYUN, Yong-Kee KIM, Je Won LEE¹, Young Hyo YU¹, Hyang Woo LEE* and Byung Mu LEE

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

¹Daewoong Pharm. Co. 223-23 Sangdaewon-dong, Joongwongu, Sungnam, Korea

(Received June 22, 1993; accepted August 14, 1993)

Abstract—Acute toxicities of DWH-01 (Ranitidine : Bismuth : Sucralfate=1.5 : 2 : 6) were investigated in Sprague-Dawley rats. Seven days after oral administration of DWH-01 with different doses (10 g/kg, 5 g/kg, 2.5 g/kg, 1.25 g/kg, 0.625 g/kg), we examined numbers of deaths, general signs, weight measurement and histopathological examination for both sexes of rats. Summaried results are: 1) No deaths were occurred, 2) There were no pathological and clinical differences compared with control group, 3) No significant changes of body weights were observed, and 4) In histopathological examinations of organs and tissues, there was some hemorrhage in a lung tissue of low dose group for male and female respectively, but it was thought to be caused by environmental factor. The results suggest that toxicity of DWH-01 is low and its LD₅₀ is over 10 g/kg in Sprague-Dawley rats.

Keywords □ ranitidine, sucralfate, bismuth.

물질특허를 도입한 우리나라 제약산업계에서 새로운 신물질의 개발은 매우 시급하고 중요한 과제이다. 그러나 현상에서 볼때 새로운 신물질의 개발에는 많은 노력, 시간, 축적된 기술 등이 필요하므로 그 중간과정이라고 할 수 있는 배합신약의 개발도 중요한 의미가 있다고 하겠다. (주)대웅제약 중앙연구소에서는 그러한 배합신약 개발의 일환으로 DWH-01을 개발하였는데 이는 위장질환을 치료 또는 예방하는 목적에 유용한 위장질환 치료용 의약품이다. 위장질환의 원인은 매우 다양한 것으로 알려져 있으나 최근의 연구 결과로는 위산, 펩신, 헬리코박터필로리 등의 공격인자와 점막에서 분비되는 점액, 조직 재생능력, 혈행 개선 능력 등 방어인자의 불균형에 의한 것이 가장 타당한 것으로 받아들여지고 있다. 따라서 이러한 질환을 치료하기 위하여 위산 등의 공격인

자를 억제하여 위궤양을 치료할 목적으로 시메티딘, 라니티딘, 파모티딘 등의 H₂ 길항제가 개발되었으며(Calvo 등, 1990), 방어인자를 증강시킴으로서 위, 십이지장궤양 부위를 보호하고 헬리코박터필로리의 사멸을 목적으로 비스무트 서브시트레이트와 비스무트 서브살리실레이트 등의 비스무트제제가 위장질환을 치료하기 위해 개발되어 왔다(Lambert, 1990). 최근에는 공격인자인 펩신을 불활성화하고 방어인자인 점액분비촉진, 생산작용, 점막 세포의 재생촉진, 프로스타글란딘 분비 자극 작용 등에 의하여 수크랄레이트제제가 위염, 위궤양의 치료 목적에 사용되고 있다. 위에서 언급한 3가지 약물들은 각기 훌륭한 장점을 가지고 있지만 보완해야 할 점도 있으므로(Grant 등, 1989; Nagashima, 1981; Hollander 등, 1985) 위장질환의 보다 완벽한 치료를 위해서 배합 투여에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다(Salinoff와 O'Dell, 1985). H₂ 길항제 단독투여 또는 비스무트 제제 단독투여보다

* To whom correspondence should be addressed.

는 병용투여하는 것이 더 높은 치료효과를 갖는 다는 보고가 있으며, H₂ 길항제와 수크랄페이트제의 병용투여시에도 각 약물군의 단독투여시보다 위궤양 등의 재발이 효과적으로 억제된다고 보고되었다(Magnanelli 등, 1984 ; Wieriks 등, 1982). 따라서 (주)대웅제약 중앙연구소에서 개발된 DWH-01은 위궤양 등을 단기간내에 치료하고 재발을 저하시키기 위해서는 공격인자로 작용하는 요소와 방어인자로 작용하는 요소가 균형을 이루게 함으로써 위장기능을 전체적으로 정상화 시킬 수 있다는 점에 착안하여 위장 질환용 의약 조성물의 개발을 위해 연구하여 오던 중, 상기의 H₂ 길항제 1종, 비스무트제 1종과 수크랄페이트제를 병용투여할 경우 각각의 단점을 보완하여 뛰어난 치료효과 그리고 위 동통의 제거 및 재발을 저하 등을 얻을 수 있음을 알게되었다.

본실험에서는 대웅제약에서 공급받은 배합제인 시험물질 DWH-01을 랫트에 1회 경구투여 하였을 때 나타나는 급성독성을 관찰하기 위하여 실시하였고, 사망률 산출 및 부검을 시행하는 안전성을 평가하였다. 시험방법은 국립보건안전연구원 독성시험 지침서(국립보건안전연구원, 1988)에 준하여 실시하였다.

실험방법

실험물질

(주)대웅제약 중앙연구소로부터 수령하여 시험에 사용한 시험물질 DWH-01은 함습성을 가지는 백색의 가루로 Ranitidine HCl : Bismuth subcitrates : Sucralfate=1.5 : 2 : 6의 혼합물로 된 제제이다.

시험동물 및 사육환경

실험구역은 성균관대학교 약학대학 GLP(Good Laboratory Practice)room에서 실시하였으며, 청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계(Sprague-Dawley) 랫트를 사용하여 온도 23±1℃, 습도 55±5%, 배기 10~18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300~500 Lux의 상육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280 W×420 L×170 H mm) 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간동안에 증상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 신촌사료주식회사의 실험동물사료를 구입하여 고압증기 멸균기에서 121℃, 15분간 멸균한 다음 실험동물에 자유로이 공급하였으며, 음용수는 멸균수도물을 자유롭게 섭취시켰다.

실험방법

군분리 및 투여용량의 설정 : 순화기간중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다(Lorke, 1983; Yamashita 등, 1992; Suzuke와 Shiroba, 1983; 국립보건안전연구원, 1988). 동물의 개체식별은 사육상자별 tag표시법을 이용 실시하였다. 투

여용량의 설정은 예비실험 결과를 토대로 하여 본제제의 투여가능 최대용량인 10 g/kg를 최고용량군으로 하고 일정 공비로 5개 용량군과 대조군으로 하였다. 시험물질을 투여하기 직전 시험동물의 체중범위는 수컷 230~240 g 및 암컷 150~160 g 이었고, 주령은 약 6~7주령이었다.

시험군	투여용량 (g/kg)	투여액량 (ml/kg)	시험계(마리)	
			수컷	암컷
최고용량군	10	14	5	5
고용량군	5	14	5	5
중용량군	2.5	14	5	5
저용량군	1.25	14	5	5
최저용량군	0.625	14	5	5
대조군*		14	5	5

*대조군에는 증류수만 투여하였다.

시험물질의 조제 및 투여 : DWH-01의 정제 내용물을 증류수에 균일하게 현탁되도록 시험물질을 조제하였으며, 시험당일 투여전에 조제하였다.

시험물질의 투여는 경구용 needle을 이용하여 1회 경구투여 하였다. 투여량은 투여직전 체중에 따라 산출하였다.

증상관찰 : 모든 실험동물에 대한 상태는 투여일에는 투여후 6시간동안 매시간마다 관찰하였으며 투여일로부터 7일까지는 1일 1회씩 동물의 일반상태의 변화, 중독 증상 및 사망발현 유무를 관찰하였다.

체중측정 : 시험에 사용된 모든 실험동물에 대하여 시험물질 투여전, 투여후 1일, 3일, 7일째에 체중을 측정하였다.

부검 : 시험종료후 동물을 ether로 가볍게 마취하고 설하동맥 및 복부대동맥을 절단하여 치사시킨 다음 외관 및 내부장기 이상유무를 육안적으로 상세히 관찰하였다. 부검직전 체중을 측정하였다.

자료의 통계학적 해석

통계학적 처리는 Student's t 검정을 행하여 P<0.05, P<0.01의 수준으로 대조군과 시험물질투여군을 비교하였다.

실험결과

사망동물률 및 임상증상

6~7주령 랫트에 DWH-01을 경구투여한 결과 투여용량군 모두에서 사망동물은 없었으며, 대조군에 비하여 특이하게 관찰된 일반증상은 없었다(Table I, Table II).

체중측정결과

체중측정결과 시험물질 투여군은 수컷, 암컷 모두 대조군에 비해 별다른 변화를 보이지 않았다(Table III).

육안적 해부소견

폐장의 부분적 출혈반점이 수컷의 저용량군에서 각각

Table I. Survivals in Sprague-Dawley rats treated orally with DWH-01

Sex	Dosage (g/kg)	Days after treatment								Final Mortality
		0	1	2	3	4	5	6	7	
Male	10	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	2.5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	1.25	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	0.625	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
Female	0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	10	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	2.5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	1.25	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	0.625	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5
	0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5

Table II. Clinical signs in Sprague-Dawley rats treated orally with DWH-01

Sex	Dosage (g/kg)	Clinical Signs	Hours after treatment						Days after treatment						
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7
Male	10	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.25	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.625	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Female	10	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2.5	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.25	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.625	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ND: Not detected.

Table III. Body weights in Sprague-Dawley rats treated orally with DWH-01

Sex	Dosage (g/kg)	Days after treatment				Dosage (g/kg)	Days after treatment						
		0	1	3	7		0	1	3	7			
Male	10	Mean	240	242	252	266	Female	10	Mean	162	165	169	175
		SD	7.7	9.7	10.2	7.7			SD	10.5	10.2	10.3	12.0
		(n)	5	5	5	5			(n)	5	5	5	5
	5	Mean	239	242	252	262		5	Mean	162	165	172	182
		SD	11.7	10.6	9.5	10.0			SD	5.6	12.6	12.5	10.0
		(n)	5	5	5	5			(n)	5	5	5	5
	2.5	Mean	238	241	248	264		2.5	Mean	164	167	175	187
		SD	12.0	14.1	10.2	13.3			SD	7.3	10.0	10.2	11.3
		(n)	5	5	5	5			(n)	5	5	5	5
	1.25	Mean	232	235	257	269		1.25	Mean	154	158	167	180
		SD	5.1	13.2	10.2	17.7			SD	4.4	5.5	6.6	5.2
		(n)	5	5	5	5			(n)	5	5	5	5
0.625	Mean	229	232	233	255	0.625	Mean	154	157	167	182		
	SD	7.7	9.7	10.2	7.7		SD	4.9	4.6	6.2	7.4		
	(n)	5	5	5	5		(n)	5	5	5	5		
0	Mean	228	231	244	262	0	Mean	157	160	171	185		
	SD	7.5	9.1	10.2	12.3		SD	6.0	7.0	7.3	7.0		
	(n)	5	5	5	5		(n)	5	5	5	5		

(n)=number of animals.

Table IV. Gross findings in organs of Sprague-Dawley rats treated orally with DWH-01

Sex (g/kg)	Male						Female					
	0	0.625	1.25	2.5	5	10	0	0.625	1.25	2.5	5	10
Organ												
No. of rats	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
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	0	0	0	0
Kidney 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
Lung Hemorrhage	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testis L.	0	0	0	0	0	0						
R.	0	0	0	0	0	0						
Ovary							0	0	0	0	0	0
Stomach	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*0: normal, 1: number of animals with abnormalities.

1례, 암컷 저용량군에서 각각 1례 관찰되었다. 폐장의 미세한 부분적 출혈반점은 환경에 기인한 폐의 손상으로 무시될 수 있는 소견으로 사료되었다(Table IV).

고 찰

시험물질 DWH-01을 SD계 랫트에 10 g/kg, 5 g/kg, 2.5 g/kg, 1.25 g/kg, 0.625 g/kg을 투여용량군으로 하여 1회 경구투여하여 급성독성을 조사한 결과 투여용량군 모두에서 사망동물은 없었으며, 별다른 이상증상도 보이지 않았으며, 체중측정결과 시험물질 투여에 의한 유의성있는 변화는 없었다. 육안적 해부소견으로는 수컷 저용량군 1례, 암컷 저용량군에서 각각 1례가 폐에서의 미세한 부분적 출혈이 관찰되었으나, 이것은 시험물질에 기인하여 발생하는 출혈 현상과는 구분될 수 있는 매우 경미한 형태로서 환경에 기인하여 흔히 발생됨으로 무시될 수 있는 소견으로 사료되었다. 이상과 같이 DWH-01의 랫트에 대한 급성경구독성시험에서 상기의 일반증상, 체중변화 및 부검소견 등에 별다른 독성이 관찰되지 않았고, LD₅₀치는 10 g/kg 이상으로 DWH-01은 저독성 물질로 평가되었다.

참고문헌

Calvo, M. V., Fruns, I. and Dominguez-Gil. (1990). Decision analysis applied to selection of histamine H₂ receptor antagonists for the formulary. *Am. J. Pharm.* **47**, 2002-2006.
 Grant, S. M., Langtry, H. D. and Brogden, R. N. (1989). Raniti-

dine (Unupdated reviews of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in peptic ulcer and other allied diseases). *Drugs* **37**, 801-890.
 Hollander, D., Tarhawski, A., Krause, W.J. and Gergely, H. (1985). Protective effect of sucralfate agonist alcohol-induced gastric mucosal injury in the rat. *Gastroenterol.* **88**, 366-374.
 Lambert, J.R. (1990). Effect of antiulcer drugs on the *Helicobacter pylori*. *Drug Investigation*, **2** (Suppl. 1), 52-55.
 Lorke, D. (1983). A new approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.* **54**, 275-287.
 Magnaleilli, M., Belvisi, A., Toninelli, A., Matergi, M and Gammari, E. (1984). The association of ranitidine and sucralfate in the short-term treatment of duodenal ulcers as compared to other forms of treatment. *Int. J. Tiss. React.* **VI**(2), 180-193.
 Salinloff, I. M. and O'Dell, C. (1985). Inhibition of peptic activity by sucralfate. *Am. J. Med.* **79** (Suppl. 2C), 15-18.
 Nagashima, R. (1981). Mechanisms of action of sucralfate. *J. Clin. Gastroenterol.* **3** (Suppl. 2), 117-127.
 Suzuke, H. and Shiobra, Y. (1983). Acute toxicity of Famotidine (YM-11170) in mice and rats. *應用藥理* **26**, 147-150.
 Wieriks, J., Hospe, W., Jaitly, K. D., Koekkoex, P. H. and Lavy, V. (1982). Pharmacological properties of colloidal bismuth subcitrate (CBS, DE-NOL). *Scand. J. Gastroenterol.* **17** (Suppl. 80), 11-16.
 Yamashita, K., Nakano, S., Kumata, M., Yada, H., Irimura, K., Morinaga, H. and Morita, K. (1992). Single dose toxicity studies of suplastat tosilate (IPD-1151T). *J. Toxicol. Sci.* **17** (Suppl. II), 1-9.
 醫藥品のための毒性試験法ガイドラインル. (1984). 359-385.
 국립보건안전연구원 (1988). 예규 제 10호; 의약품 등의 독성 시험 기준