

## 피부외용제 Banaron크림의 급성독성시험 연구

조대현\* · 황세진 · 이원용 · 이주영<sup>1</sup> · 윤형중<sup>1</sup> · 문병우

국립보건안전연구원 독성부, <sup>1</sup>한일약품(주) 중앙연구소

### Acute Subcutaneous Toxicity Study of Banaron Cream in Rats

Dae Hyun CHO\*, Se Jin HWANG, Won Yong LEE, Joo Young LEE<sup>1</sup>  
Hyung Jung YOON<sup>1</sup> and Byung Woo MOON

Department of Toxicology, National Institute of Safety Research, Seoul 120-020, Korea  
Central Research Institute Hanil Pharmaceutical Industrial Co., Ltd. Seoul 133-112, Korea

(Received July 2, 1993; accepted October 5, 1993)

**Abstract**—Single subcutaneous injection to SD rats of both sexes was performed to investigate the acute toxicity of new skin allergy-remedy ointment, Banaron. Banaron is composed of lidocaine hydrochloride, chloropheniramine maleate, prednisolone acetate, chlorohexidine hydrochloride, methyl salicylate, l-menthol and d-camphor. The results were as follows. LD<sub>50</sub> values of Banaron were 8373.6 mg/kg for male and 8260.1 mg/kg for females. Death occurred within 24 hours after administration at doses up to 6600 mg/kg. The main cause of deaths seemed to be respiratory disturbance. General symptoms decreased of activity and respiratory rate, salivation, tremor and loss of consciousness which were commonly observed by some survived animals and all dead animals. No significant gross findings of internal organs and body weight changes in treatment groups in comparison with these of control group were observed at the maximum dose levels in Banaron.

**Keywords** □ new skin allergy-remedy, banaron, single subcutaneous injection, LD<sub>50</sub>, rat.

국내 신물질 창출에 의한 신약개발 차원에서 신물질 단일성분에 대한 급성독성시험연구 등에 관한 보고는 국내외적으로 많은 시험연구가 이루어져왔다(Obara 등, 1992; Kang and Lee, 1992; Kim 등, 1992; Kang 등, 1992). 그러나 최근에는 국내에 기소개된 의약품의 유효성분을 대상으로 신처방의 복합제제의 개발이 활발히 추진되고 있다. 이들 복합제는 개개성분의 약리작용과 급성독성시험 결과만으로는, 복합제제의 독성발현이나 그 양상이 매우 복잡하여, 안전성을 평가하기는 거의 불가능하다. 그러한 측면에서 복합제의 제제별 독성시험연구는 매우 중요한 의미를 갖는다고 볼 수 있다.

Banaron 크림은 가려움증, 따뭇, 두드러기, 옷오름, 동상, 습진 등의 피부알레르기에 대한 치료를 목적으로 하는 염산리도카인, 말레인산 클로로페니라민, 초산프레드니솔론, 염산클로르헥시딘, 살리실산 메칠, l-멘톨, d-캄파 등을 주성분으로 하고, 유효제 등의 의약품 첨가

제가 배합된 특이한 냄새가 있는 백색크림의 피부 외용 복합제이다.

국내 기소개된 의약품의 유효성분으로 구성된 피부외용제의 독성시험은 보사부 고시 제 92-96호(1992. 12. 31) 『의약품 등의 유효성·안전성심사에 관한 규정(별표 5) 복합제의 제제별 독성시험방법』에 정한 시험항목에 준하여 실시하되, 이 기준에 구체적으로 정하지 아니한 시험방법 등에 대하여는 국립보건 안전연구원 예규(1988. 10. 29) 『의약품 등의 독성시험 기준』에 따라 실시하였다. 따라서 본 시험물질을 SD계 랫드에 1회 피하주사한 후 7일간의 사망동물 수, 임상증상 및 체중변화 등을 관찰하고, 관찰기간 종료 후 육안적 해부소견 및 LD<sub>50</sub>치를 측정하여, Banaron 크림에 대한 안전성평가의 일환으로, 급성독성시험 결과를 보고하고자 한다.

#### 실험방법

#### 시험계 및 사육환경

\*To whom correspondence should be addressed.

시험구역은 국립보건안전연구원 동물실험실이며, 청정 구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계 랫드를 온도 23±1°C, 습도 55±5%, 배기 10~18회/시간, 형광등 명암 12시간 cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280W×420L×170H mm)에 5 마리씩 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간 동안에 증상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 신촌사료주식회사의 실험동물사료를 구입하여 실험동물에 자유로이 공급하였으며, 음수는 멸균수를 자유롭게 섭취시켰다. 시험동물은 시험물질 투여 전 18시간 동안 절식한 후 사용되었다.

**시험물질의 조제 및 투여**

시험물질의 투여용량은 예비시험의 결과와 시험물질의 용해도 등을 고려하여 Banaron 크림을 공비 1.2로 하여 최고용량을 11400 mg/kg 최저용량을 5500 mg/kg으로 설정하였다. 시험물질에 대하여 시험군은 대조군을 포함하여 6개군으로 정하였고, 투여액은 최대 19.0 ml/kg, 최소 9.2 ml/kg으로 하여 실험직전의 개체 체중에 따라 주사기를 이용하여 1회 후경부에 피하주사하였다. 대조군에는 19.0 ml/kg의 생리식염주사액을 주사하였다. 각 군은 암수 각각 5마리의 랫드로 구성하였다.

**증상관찰, 체중측정 및 부검**

시험물질을 투여한 후 매시간마다 6시간 동안, 다음 날부터 7일째까지는 1일 1회씩 일정시간에 투여동물의 일반상태, 중독증상 및 사망유무를 대조군과 비교 관찰하였다. 시험에 사용된 모든 실험동물에 대하여 시험물질 투여당일을 0일로 하여 투여 후 1, 3, 7일에 체중을 측정하였다.

투여 후 7일째에 모든 동물을 ether로 심마취하여 설하 및 복대동맥 절단법으로 치사시킨 다음 외관 및 내부장기의 이상유무를 육안적으로 해부소견을 관찰하였다.

**자료의 통계학적 해석**

체중의 변화에 대한 통계학적 분석은 ANOVA검정에 의해 대조군과 투여군을 비교하였고, LD<sub>50</sub>치는 Pharmacologic Calculating System(Ver. 4.1; Springer-Verlag, N.Y., 1986)을 이용하여 Litchfield-Wilcoxon법에 의하여 95% 신뢰한계 내에서 결정하였다.

**결 과**

**LD<sub>50</sub>치와 임상증상**

최고용량(11400 mg/kg)투여군에서는 수컷 4마리와 암컷 모두(5마리), 중상용량(9500 mg/kg)투여군에서는 수컷 5마리 모두와 암컷 3마리, 중등용량(7900 mg/kg)투여군에서는 수컷 2마리와 암컷 2마리가 사망하였고, 중하용량(6600 mg/kg)군에서는 암수 각각 1마리씩 사망하였다(Table I). 이로부터 LD<sub>50</sub>치는 95% 신뢰한계에서 수컷이 8260.1 mg/kg, 암컷이 8373.6 mg/kg으로 산출되었다.

사망개체의 경우 투여 30분 후부터 활동성과 호흡수가 현저히 감소하였으며 심하게 유연을 보인채 24시간내에 사망하였다. 일부 생존개체에서도 활동성(activity)과 호흡수(respiratory rate)의 감소, 유연(salivation), 진전(tremor) 및 의식소실(loss of consciousness) 등이 관찰되었으나, 점진적으로 회복하여 투여 1일후에는 정상상태에 도달하였다. 그러나 최고용량군에서 생존한 1마리의 랫드는 투여 다음날부터 자극에 대해 매우 민감한 반응을 보였다(Table II).

**체중변화**

대조군과 시험물질투여군 모두 투여 후 시간이 경과함에 따라 체중도 증가하였다. 그러나 시험물질투여군의 경우 체중증가가 억제되는 경향을 보였다(Table III).

**육안적 해부소견**

사망개체는 별다른 육안적 이상소견이 없는 것으로 보아 시험물질투여로 인한 급성쇼크에 의한 호흡마비로

**Table I.** Mortality and LD<sub>50</sub> values of male and female rats treated subcutaneously with Banaron cream

Sex	Dose (mg/kg)	Number of dead animals (Days after administration)								Mortality	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
		0	1	2	3	4	5	6	7		
Male	0	—	—	—	—	—	—	—	—	0/5	8260.1 (6981.3-9773.1)
	5500	—	—	—	—	—	—	—	—	0/5	
	6600	1	—	—	—	—	—	—	—	1/5	
	7900	2	—	—	—	—	—	—	—	2/5	
	9500	5	—	—	—	—	—	—	—	5/5	
	11400	4	—	—	—	—	—	—	—	4/5	
Female	0	—	—	—	—	—	—	—	—	0/5	8373.6 (6876.6-10196.5)
	5500	—	—	—	—	—	—	—	—	0/5	
	6600	1	—	—	—	—	—	—	—	1/5	
	7900	2	—	—	—	—	—	—	—	2/5	
	9500	3	—	—	—	—	—	—	—	3/5	
	11400	5	—	—	—	—	—	—	—	5/5	

( ): 95% confidence limit.

Table II. Clinical signs of male and female rats treated subcutaneously with Banaron cream

Dose (mg/kg)	*Sex	Clinical sign*	Hours						Days							
			after administration													
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	
0	M		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5500	M	DR	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	DR	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6600	M	DR	4	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	5	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	DR	5	4	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	5	4	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7900	M	LC	1	5	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DR	5	4	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	4	5	4	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		SA	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	LC	—	2	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DR	5	5	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	5	5	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		TR	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9500	M	LC	2	3	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DR	5	3	3	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	4	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		SA	—	1	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	TR	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		LC	—	4	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DR	—	4	2	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	3	4	2	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11400	M	SA	—	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		TR	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		LC	—	5	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DR	5	5	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	DM	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		SA	—	1	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		IR	—	—	—	—	—	—	—	1	1	1	1	1	1	1
		LC	—	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DR	5	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		DM	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		SA	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		TR	1	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\*M : male, F : female.

\*LC : loss of consciousness, DR : decreased respiratory rate, DM : decreased activity, SA : salivation, TR : tremor, IR : increased irritability.

추정된다. 생존개체에서는 시험물질의 제제학적 특성에 의해 투여물질의 투여부위 피하내 잔류, 주변조직의 염증 등이 관찰되었으나, 약물에 기인한 내부장기의 이상소견은 관찰되지 않았다.

## 고 찰

Banaron 크림은 가려움증, 땀띠, 두드러기, 옷오름, 동상, 습진 등의 피부알레르기에 대한 치료를 목적으로 하여 염산리도카인, 말레인산 클로르페닐라민, 초산프레

드니솔론, 염산클로르헥시딘, 살리실산메칠, 1-멘톨, d-카모펜 등을 주성분으로 하는 복합크림제이다.

의약품 등의 안전성유효성 심사에 관한 규정에서 복합제의 제제별 독성시험방법 『외용제의 독성시험법』에 따르면 복합제의 유효성분 중 모두가 피하주사시, 문헌 등에 의한 LD<sub>50</sub>치 등으로 보아 저독성이라고 판단되는 경우에는 그 유효성분 및 복합제제의 독성시험을 생략할 수 있다고 규정되어 있으나, 본 Banaron 크림의 주성분은 염산리도카인, 말레인산클로르페닐라민, 초산프레드니솔론, 염산클로르헥시딘, 살리실산메칠, 1-멘톨, d-

**Table III.** Changes of body weight in rats administered subcutaneously with Banaron cream (unit : g)

Dose (mg/kg)	Sex of animal*	Days after administration			
		0	1	3	7
0	M	189.2± 29.2(5) <sup>a</sup>	216.2± 34.2(5)	228.6± 31.7(5)	240.6± 35.2(5)
	F	144.8± 11.9(5)	164.8± 13.6(5)	172.8± 14.7(5)	180.0± 17.3(5)
5500	M	172.0± 13.8(5)	176.6± 10.8(5)	203.0± 12.0(5)	224.0± 26.0(5)
	F	148.8± 11.4(5)	151.8± 8.8(5)	163.8± 8.3(5)	173.6± 9.4(5)
6600	M	186.4± 21.1(5)	177.8± 26.1(4)	194.3± 25.3(4)	209.3± 24.8(4)
	F	140.0± 11.1(5)	137.8± 11.2(4)	150.8± 15.0(4)	171.8± 15.5(4)
7900	M	184.0± 21.0(5)	160.0± 21.9(3)	188.0± 20.5(3)	222.7± 28.6(3)
	F	141.0± 7.6(5)	134.3± 11.8(3)	155.0± 3.5(3)	181.3± 5.0(3)
9500	M	184.0± 22.1(5)	—	—	—
	F	142.4± 8.9(5)	133.5± 3.5(2)	147.5± 0.7(2)	167.5± 2.1(2)
11400	M	185.8± 21.8(5)	155.0± 0.0(1)	180.0± 0.0(1)	210.0± 0.0(1)
	F	142.8± 9.4(5)	—	—	—

\*M : male, F : female.

<sup>a</sup>Mean± standard deviation; The numbers in parentheses represent number of animals.

카파이며, 살리실산메칠 등은 피하투여시 LD<sub>50</sub>치가 3000 mg/kg 이상이나 염산리도카인, 말레인산 클로로페닐라민은 피하투여시 LD<sub>50</sub>치가 각각 570 mg/kg, 365 mg/kg를 나타낸다고 알려져 있으므로(Sweet, 1987), 본 개개성분의 LD<sub>50</sub>치 및 약리작용 등으로 보아 저독성의 복합제제라고 판단되지는 않아 급성독성시험을 실시하였다.

따라서 랫드에 있어 Banaron 크림은 11400 mg/kg를 최고용량군으로 하고 공비를 1.2로 하여 최저용량군 5500 mg/kg 등 5개 투여군과 생리식염수를 대조물질로 하여 1회 피하주사한 급성독성 시험결과 임상증상, 체중변화 및 육안적 해부소견등에서 약물에 기인한 특이한 이상 소견이 발견되지 않았고, LD<sub>50</sub>치는 압컷 8260.1 mg/kg, 수컷 8373.6 mg/kg이었으므로, 본 시험조건에서 Banaron크림은 저독성이라 평가 할 수 있으나 추후 경피독성시험 및 점막자극시험이 적극 검토되어야 총체적인 안전성평가를 할 수 있을 것이라 사료된다.

**참고문헌**

Kang, K. S. and Lee, Y. S. (1992). Acute and subacute toxicity

of DDT-Hepa in rats and mice. *Environ. Mutat. Carcinogen.*, **12**, 15-34.

Kang, K. S., Shin, D. J., Cho, J. J., Kim, H. O., Kim, B. H. and Lee, Y. S. (1992). Acute toxicity of cis-malonato((4R, 5R)-4, 5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane) platinum (II) (SKI 2053R) in rats and mice. *Korean J. Toxicol.*, **8**, 205-216.

Kim, H. C., Kang, B. H., Ha, C. S., Han, S. S. and Rho, J. K. (1992). Acute toxicity study of recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factors (LBD-005) in rats. *Korean J. Toxicol.*, **8**, 41-48.

Obara, S. (1992). Studies on single-dose toxicity of hydrophobically modified hydroxypropyl methylcellulose in rats. *J. Tox. Sci. Jpn.*, **17**, 13-20.

Sweet, D. V. (1987). Registry of toxic effects of chemical substances. 1985-1986ed. pp.202-4372. HSOIN Co.

보건사회부 (1992). 보건사회부고시 제 92-96호(1992. 12. 31) 의약품 등의 안전성, 유효성 심사에 관한 규정 [별표 5]: 복합제의 제제별 독성시험 방법, pp.54-55.

국립보건안전연구원 (1988). 국립보건안전연구원 예규 제 10호 (1988. 10. 29) 의약품 등의 독성시험 기준, pp.1-5.