

## 복합항생제 SM-101(설박탐 - 메탐피실린)의 생식독성연구: 랫트 주산기 및 수유기시험

정문구\* · 김종춘 · 노정구  
한국화학연구소 안전성연구부

### Reproductive Toxicity of SM-101(sulbactam · metampicillin): Peri- and Postnatal Study in Rats

Moon Koo CHUNG\*, Jong Choon KIM and Jung Koo ROH  
Korea Research Institute of Chemical Technology, Toxicology  
Research Center, P.O. Box 107, Yusung, Daejeon, Korea

(Received August 11; accepted November 4, 1996)

**Abstract** - A new composite antibiotic, SM-101 (sulbactam · metampicillin), was at dose levels of 0, 250, 500 and 1000 mg/kg/day administered intravenously to pregnant and subsequently delivered Sprague-Dawley rats from day 17 of gestation to day 21 of lactation. Effects of test agent on dams and growth, behaviour and mating performance of F1 offspring were examined. In dams, one death occurred at 1000 mg/kg. The increase in kidney weight of the 250, 500 and 1000 mg/kg group was found. In F1 offspring, both delayed incisors eruption and decreased body weight were observed in females of the 1000 mg/kg group. The increase in the weights of liver and kidney was found in males of the 1000 mg/kg group. No treatment-related abnormalities were observed in each treated group in terms of behaviour and reproductive performance. In F1/F2 fetuses, no drug-induced abnormalities occurred at all doses tested. The results show that the no effect dose level (NOEL) of SM-101 is under 250 mg/kg/day for dams and 500 mg/kg/day for F1 offspring, and over 1000 mg/kg/day for F1/F2 fetuses.

**Keywords** □ SM-101 (sulbactam · metampicillin), composite antibiotic, peri- and postnatal study, rat

SM-101은 삼성제약공업(주) 연구소(서울특별시 성동구 모진동 199-6)에서 개발한 복합항생제로서 sulbactam natrium(설박탐 나트륨)과 metampicillin natrium(메탐피실린 나트륨)이 1:2의 비율로 배합된 물질이다.

Sulbactam(SBT)은 penicillin 내성균주에서 생산하는  $\beta$ -lactamase의 비가역적인 저해제로서(English 등, 1978), *Neisseria gonorrhoeae*와 *Acinetobacter calcoaceticus* 등에 대해서 뛰어난 항균력을 갖고 있는 penicillin 기본핵의 유도체이다. SBT를  $\beta$ -lactam계 항생제와 병용하면 병용한 항생제의  $\beta$ -lactamase에 의한 분해를 방지해서 내성균에 대한 항균력이 증가된다(Retsema 등, 1980/1986). 현재 SBT와 ampicillin(AP)을 역가비 1:2로 혼합한 주사제가 널리 사용되고 있다.

Metampicillin(MAP)은 AP와 formaldehyde의 축합반응으

로 생성된 반합성 penicillin으로서 AP와 동등한 항균효과를 가지고 있다(Retsema 등, 1986). MAP는 비경구투여시 담즙으로의 배설이 크기 때문에 담석증 등의 수술후에 사용되고 있다(Sutherland 등, 1972; Brogard 등, 1976; Pinget 등, 1976; Brogard 등, 1985). MAP는 AP로 가수분해되기 쉬운데 MAP의 가수분해속도는 pH에 영향을 받는다고 한다(Shimooka, 1988). MAP와 SBT의 동시투여도 AP와 SBT의 동시투여처럼 MAP의 치료효과를 향상시킬 수 있다. 한편  $\beta$ -lactam계 항생제인 T-1982는 랫트에 있어서 수유시 신생아에 독성학적인 영향을 미치지 않는다고 한다(中田 등, 1982).

본 연구는 신약후보물질의 생식독성학적 스크리닝(reproductive-toxicological screening)의 일환으로서 복합항생제인 SM-101이 모동물의 분만 및 수유 그리고 차세대동물의 성장 및 기능발달에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 본 시험은 의약품등의 독성시험기준(국립보건안전연

\* To whom correspondence should be addressed.

구원, 1994)과 일본독성시험기준(Yakugyo Jiho Co., 1984)에 준하여 실시하였다.

## 실험 방법

### 시험물질

본 시험에는 (주)삼성제약공업에서 합성한 SM-101(Lot No. SM-101-002)이 사용되었다. SM-101은 복합항생제로서 설박탐 나트륨(sulbactam sodium)과 메탐피실린 나트륨(metampicillin sodium) (Fig. 1)이 1:2의 비율로 배합된 물질이고 분자량은 각각 255 및 383이며 적색분말로서 순도는 95% 이상이었다. SM-101은 회색비율이 낮을 경우 삼투압이 매우 높아지므로 7 ml/kg의 투여액량으로 생리식염수에 용해시켜 조제한 후 사용하였다.

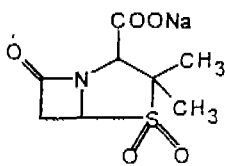
### 실험동물 및 사육환경

실험동물은 한국화학연구소 안전성연구부 실험동물육종실(대전광역시 유성구 장동 100)로부터 입수한 Sprague-Dawley 랫트(SPF)를 사용하였다. 9주령의 수컷 100마리와 암컷 200마리를 입수한 후 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 1:2로 교배시켜 질구의 정자를 확인한 날을 임신 0일로 정하였으며 교배확인된 암컷 100마리를 시험에 사용하였다.

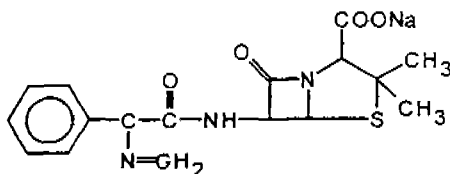
본 시험은 온도  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 10\%$ , 환기횟수 13~18회/hr., 조명시간 12시간(오전 9시~오후 9시), 조도 200~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시되었다. 시험기간 중 사료는 실험동물용 고품사료(제일사료(주))를 방사선 조사(2.0 Mrad)멸균하여, 그리고 물은 상수도를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

### 적정 투여량의 설정과 시험군의 구성

랫트 아급성시험과 수태능력시험의 결과를 기초로 1000



Sulbactam Sodium



Metampicillin Sodium

Fig. 1. Chemical structure of sulbactam sodium and metampicillin sodium.

mg/kg/day를 고용량으로 정하고 공비 2로 중용량 및 저용량을 500, 250 mg/kg/day로 설정하였으며 그 외에 매체대조군을 두었다. 시험군의 구성은 Table I과 같다.

### 투여방법 및 투여기간

동물의 미정맥내로 25~26G의 주사기를 이용하여 분당 2 ml의 속도로 임신 17일부터 분만후 21일까지 1일 1회 오전중에 연속투여하였다. 투여액량은 임신기간중에는 임신 17일의 체중을, 포육기간중에는 포육 0, 7 및 14일의 체중을 기준으로 산출하였다.

### 관찰 및 검사항목

#### 일반증상관찰

시험기간중 1일 1회 동물의 일반증상, 중독증상 및 사망 유무에 관해서 관찰하였고, 투여기간중에는 투여전후 1일 2회 관찰하였다.

#### 체중 및 사료섭취량 측정

각 군의 전 어미동물에 대하여 임신기간중에는 임신 0, 7, 10, 14, 17 및 20 일째에 그리고 포육기간중에는 포육 0, 7, 14 및 21일째에 체중을 측정하였다. 사료섭취량은 모든 동물에 대하여 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다(단, 포육 21일째에는 부검으로 인하여 포육 20일째에 사료급여후 익일 잔량을 측정하였음).

#### 부검

각 군의 모든 동물들을 포육 21일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 모든 부검동물에 대해서 간장, 신장, 비장, 심장, 뇌, 부신 및 난소의 중량을 측정하였다.

#### 차세대동물의 검사

각 군의 모든 동물들을 자연분만시켜 얻은 F1 동물을 생후 4일째에 각 어미동물에 대하여 암수 각각 4마리씩 되게 조정(1배당 신생자수가 8마리가 안될 때에는 조정하지 않았음)하고 각 시험군에 암수 각각 1마리씩 속하도록 이유 부검, 성장시험, 행동시험, 생식시험 등 4개의 시험군으로 나눈 후 시험을 실시하였다. 이 때 조정후 남은 F1 동물에 대해서는 변형된 Dawson 법(Dawson, 1926), Wilson 법(Wilson, 1965) 및 Nishimura법(Nishimura, 1974)에 따라서 골격 또는 내부장기검사를 실시하였다. 각 분만동물에 대하여 출산일에 생존 및 사망자수, 성비, 생존자의 외표기형 발현유무 등을 조사하였고 포육기간동안의 생존율을 조사

Table I. Experimental design for peri- and postnatal study of SM-101 in rats

Group	Dose (mg/kg/day)	Volume (ml/kg)	No. of animals
Control	0	7	25
SM-101	250	7	25
	500	7	25
	1000	7	25

하였다.

이유부검군의 동물들은 생후 21일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다.

성장시험군의 동물들은 생후 0일째부터 10주째까지 주 1회씩 체중을 측정하였고 이개개전, 피모발생, 절치붕출, 안검개열, 정소하강, 질개구 등의 분화가 완료된 일수를 조사하였으며, 10주째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사와 장기중량 측정을 실시하였다.

행동시험군의 동물에 대해서는 정향반사, 부주지성, 견인력, 동공반사, 청각반사, 회전봉, open field, 수미로 등의 행동학습기능시험(Altman, 1975; Walsch, 1976; Hummler, 1978; Zbinden, 1981; Jensh, 1983; Davis, 1984)을 실시하여 합격일령, 이동정방향수 또는 합격율을 산출하였다.

생식시험군의 암수동물들은 10주령 이후에 동일군내의 동물끼리 형매교배를 피하여 동거시킨후 교미율, 수태율 및 임신율을 산출하였고, 교미확인 암컷동물에 대해서는 임신 0, 7, 14 및 20일째에 체중을 측정하였다. 모동물들은 임신 20일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배자수, 사망태자수, 생존태자의 개체별 체중, 외표이상 등을 조사하였다.

#### 통계학적 분석

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(SAS institute Inc., Ver. 6.04)을 이용하였으며, 체중, 사료섭취량 및 장기중량은 일원배치분산분석(ANOVA)과 Dunnett 다중비교검정, 빈도수를 나타내는 시험자료는 Kruskal-Wallis(H) 검정과 Dunnett 다중비교검정법, 태자의 성비와 F1동물의 기억력검사는  $\chi^2$  검정법으로 각각 대조군과 유의차검정을 실시하였다. 태자에 대한 시험자료는 성비를 제외하고 한배에서 나온 태자들의 평균체중, 빈도수(황체수, 흡수배자수, 사망태자수)를 이용하여 통계분석하였고, 출생자에 대한 시험자료는 모동물 단위로 정리하여 분석하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

## 결 과

### 모동물에 미치는 영향

#### 일반증상

모동물의 임신기간동안에는 연변(soft faeces)이 250 mg/kg군에서 1례 그리고 500 mg/kg군에서 3례 나타났고 포육기간동안에는 250, 500 및 1000 mg/kg군에서 연변이 각각 9, 17 및 21례씩 관찰되었는데, 이는 시험물질의 영향으로 인정되었다. 사망동물은 임신기간동안 1000 mg/kg군에서 1례 발견되었는데, 이는 시험물질의 투여에 기인한 소견으

로 판단되었다.

#### 체 중

모동물의 임신 및 포육기간동안의 체중에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다.

#### 사료섭취량

모동물의 사료섭취량은 모든 투여군에서 임신 18일째에 통계학적으로 유의성있는 감소를 나타냈는데, 이는 투여스트레스에 기인한 소견으로서 시험물질의 영향은 아니라고 판단되었다.

#### 부검소견

모동물의 포육 21일째 부검시 대조군에서는 좌측 난소의 낭종이 1례 관찰되었고, 250 mg/kg군에서는 뇌수종(hydrocephalus)과 간장의 결절이 각각 1례씩 발견되었다. 그리고 500 mg/kg군에서는 우측 신장의 낭종이 1례 나타났고, 1000 mg/kg군에서는 우측 신장의 신우확장(pelvis dilatation), 자궁의 결절, 폐, 타액선 및 유선의 암적색화가 각각 1례씩 관찰되었다. 상기한 소견들 중에서 250 mg/kg군에서 관찰된 뇌수종과 간장의 결절 그리고 500 mg/kg군에서 발견된 우측 신장의 낭종은 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 인정되지 않았다. 또한 1000 mg/kg군의 폐사동물에서 각각 1례씩 관찰된 우측 신장의 신우확장과 자궁의 결절은 자연발생적인 소견으로 판단되었고, 암적색 폐, 타액선 및 유선의 암적색화는 사망동물에게서 관찰되는 사후변화(postmortem changes)들이었다.

#### 절대 및 상대장기중량

모동물의 임신 20일째 부검시 측정된 주요장기의 절대중량에 있어서 모든 투여군의 신장중량은 통계학적으로 유의성있는 증가를 그리고 500 mg/kg군의 간장중량은 유의성있는 감소를 나타냈다. 한편 상대중량에 있어서는 250 및 500 mg/kg군의 좌측 신장중량과 500 mg/kg군의 우측신장중량의 통계학적 유의한 증가와 500 mg/kg군의 간장중량의 유의한 감소가 관찰되었다(Table II). 상기한 소견들중에서 신장중량의 증가는 시험물질의 투여에 기인한 소견으로 사료되었고, 500 mg/kg군의 간장중량의 감소는 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 인정되지 않았다.

#### 차세대동물(F1)에 미치는 영향

##### 출산시 소견 및 포육기간중의 생존율

모동물의 임신기간, 출생시의 사산자수 및 생존자수, 생존자의 성비 그리고 F1동물의 생존율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 그리고 출생일의 생존자 관찰시 250 및 1000 mg/kg군에서 무미(acaudate)가 각각 1례씩 관찰되었는데(Table III), 발현율이 낮아서 시험물질과는 무관한 자연발생적 소견으로 판단되었다.

##### 부검소견

이유부검군에 속한 F1 암수동물의 생후 21일째 부검시 모든 투여군에서 어떠한 특이소견도 발견되지 않았다.

**Table II.** Organ weights of dams treated with SM-101.

DOSE : (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of animals	24	25	22	23
Body weight (g)	309.7±18.4	323.2±26.7	311.0±21.2	321.6±22.3
Brain (g)	1.926±0.087	1.928±0.088	1.919±0.065	1.932±0.091
per B. W. (g%)	0.624±0.048	0.600±0.048	0.617±0.033	0.603±0.044
Adrenal gland-left (g)	0.039±0.005	0.041±0.007	0.042±0.007	0.041±0.006
per B. W. (g%)	0.013±0.002	0.013±0.002	0.014±0.002	0.013±0.002
Adrenal gland-right (g)	0.033±0.005	0.035±0.006	0.035±0.005	0.036±0.005
per B. W. (g%)	0.011±0.002	0.011±0.002	0.011±0.002	0.011±0.002
Liver (g)	14.97±1.283	14.94±1.451	13.91±1.789*	15.15±1.450
per B. W. (g%)	4.837±0.354	4.625±0.283	4.464±0.411**	4.706±0.251
Spleen (g)	0.551±0.079	0.573±0.081	0.546±0.075	0.556±0.083
per B. W. (g%)	0.178±0.022	0.178±0.021	0.175±0.019	0.173±0.024
Kidney-left (g)	1.243±0.097	1.374±0.117**	1.353±0.142**	1.350±0.095**
per B. W. (g%)	0.402±0.024	0.426±0.031*	0.435±0.037**	0.421±0.027
Kidney-right (g)	1.291±0.087	1.410±0.118**	1.377±0.156*	1.404±0.086**
per B. w. (g%)	0.417±0.026	0.438±0.038	0.443±0.037*	0.437±0.028
Heart (g)	1.042±0.093	1.086±0.105	1.009±0.100	1.042±0.100
per B. W. (g%)	0.337±0.029	0.337±0.029	0.325±0.027	0.324±0.022
Ovary-left (g)	0.042±0.008	0.042±0.008	0.040±0.007	0.038±0.009
per B. W. (g%)	0.013±0.002	0.013±0.003	0.013±0.002	0.012±0.003
Ovary-right (g)	0.043±0.009	0.046±0.011	0.041±0.010	0.041±0.008
per B. W. (g%)	0.014±0.003	0.014±0.004	0.013±0.003	0.013±0.002

Values are mean ± S.D. \* and \*\* indicate significant difference at P<0.05 and P<0.01 levels when compared with the control group.

**Table III.** Reproductive and littering findings of dams treated with SM-101.

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of dams	24	25	22	23
No. of implantations	373	398	335	355
Mean ± S.D.	15.5 ± 3.1	15.9 ± 2.4	15.2 ± 3.1	15.4 ± 1.6
No. of perinatal deaths	8	5	4	3
% to implantation: Mean ± S.D.	2.0 ± 6.5	1.2 ± 2.4	1.2 ± 2.5	0.8 ± 2.0
No. of live young at birth				
Male	168	196	163	169
Female	160	167	153	156
Total	328	363	316	325
Mean ± S.D.	13.7 ± 3.4	14.6 ± 2.8	14.4 ± 3.1	14.1 ± 1.5
% to implantation: Mean ± S.D.	87.8 ± 12.5	91.6 ± 13.9	93.8 ± 7.7	92.0 ± 9.2
No. of neonates with external anomalies	0	1 <sup>a</sup>	0	1 <sup>a</sup>
Pregnancy period (day) (Mean ± S.D.)	22.2 ± 0.4	22.1 ± 0.3	22.0 ± 0.4	22.1 ± 0.3
Viability index <sup>b</sup> (%)	99.4	97.8	99.1	99.1
Lactation index <sup>c</sup> (%)	100	98.5	100	100
Delivery index <sup>d</sup>	24/24	25/25	22/22	23/23

<sup>a</sup>Acaudate. <sup>b</sup>(No. of live offspring at day 4/No. of live offspring at birth) × 100.

<sup>c</sup>(No. of live offspring at day 21/No. of live offspring after litter size control) × 100. <sup>d</sup>No. of dams with live newborns/No. of pregnant dams.

### 분화상태(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물의 형태분화(이개개전, 피모발생, 절치봉출, 안검개열, 정소하강, 질개구)의 관찰결과와 분화일령은 암컷동물에 있어서 1000 mg/kg군의 절치봉출이 통계학적으로 유의성있는 지연을 나타냈는데(Table IV), 이는 해당동물의 체중감소와 상관된 소견으로서 시험

물질의 영향으로 판단되었다.

### 행동기능검사

행동시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 정향반사, 부주지성, 견인력, 동공반사, 청각반사 및 회전봉 시험을 실시한 바, 합격율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table V).

**Table IV.** Postnatal physical development results of F1 pups from dams treated with SM-101.

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
<b>MALE</b>				
No. of animals	24	25	22	23
Auricular detachment	2.46±0.51	2.28±0.46	2.45±0.51	2.26±0.45
Hair growth	8.50±0.51	8.44±0.51	8.45±0.51	8.48±0.51
Incisors eruption	10.46±0.51	10.36±0.57	10.41±0.50	10.35±0.65
Eyelid opening	13.54±0.66	13.56±0.51	13.45±0.51	13.52±0.51
Testis descent	22.92±0.78	22.96±0.84	22.91±0.81	22.87±0.79
<b>FEMALE</b>				
No. of animals	24	25	22	23
Auricular detachment	2.46±0.51	2.20±0.41	2.23±0.48	2.35±0.49
Hair growth	8.58±0.50	8.76±0.44	8.72±0.46	8.70±0.56
Incisors eruption	10.29±0.46	10.44±0.58	10.36±0.49	10.83±0.65**
Eyelid opening	13.38±0.49	13.56±0.58	13.45±0.60	13.65±0.57
Vagina opening	31.42±0.72	31.48±0.71	31.50±0.91	31.48±0.79

Values are mean ± S.D. (days). \*\*indicates significant difference at P<0.01 level when compared with the control group.

**Table V.** Faculty tests results of F1 pups from dams treated with SM-101.

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
<b>MALE</b>				
No. of animals	24	24	21	23
Righting reflex	5.17±0.38	5.21±0.41	5.10±0.30	5.22±0.42
Negative geotaxis	10.21±0.41	10.21±0.41	10.14±0.36	10.35±0.57
Traction test	16.00±1.22	16.04±1.46	16.81±1.99	15.74±1.05
Pupillary reflex	21.0	21.0	21.0	21.0
Acoustic startle response	21.0	21.0	21.0	21.0
Rotating rod test	23.67±0.82	24.17±1.49	24.43±1.08	24.03±1.29
<b>FEMALE</b>				
No. of animals	22	23	21	23
Righting reflex	5.23±0.43	5.26±0.45	5.38±0.74	5.35±0.57
Negative geotaxis	10.27±0.55	10.13±0.34	10.13±0.34	10.13±0.34
Traction test	15.73±0.98	16.26±1.60	16.04±1.30	16.04±1.30
Pupillary reflex	21.0	21.0	21.0	21.0
Acoustic startle responses	21.0	21.0	21.0	21.0
Rotating rod test	24.05±0.90	24.13±1.14	24.26±1.05	24.26±1.05

Values are mean ± S.D. (days).

**Table VI.** Open field test results of F1 pups from dams treated with SM-101.

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
<b>MALE</b>				
No. of animals	24	24	21	21
No. of squares	25.7±12.64	23.3±14.17	26.9±19.85	23.9±15.35
<b>FEMALE</b>				
No. of animals	22	23	21	23
No. of squares	31.8±16.47	39.0±19.40	35.6±18.38	36.3±15.63

Values are mean ± S.D.

#### Open field test

행동시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 open field test를 실시한 결과, 동물이 이동한 정방향의 수는 암수 모두 모든

투여군에서 대조군에 비해 유의차를 나타내지 않았다 (Table VI).

#### 수미로시험

행동시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 수미로시험을 실시한 결과, 기억력시험의 경우 수컷 250 mg/kg군의 합격율이 대조군에 비해 유의성있는 증가를 나타냈는데, 용량상 관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 판단되지 않았다. 그리고 학습시험(1~6회)과 역학습시험(1~6회)의 합격율에 있어서는 암수 모두 각 투여군과 대조군간의 유의차가 인정되지 않았다(Table VII).

#### 일반증상(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 포육기간 및 이 유후 10주령까지 일반증상 관찰을 실시한 바, 모든 투여군

**Table VII.** Water-filled simple T-maze test results of F1 rats from dams treated with SM-101

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
<b>MALE</b>				
No. of animals	24	24	21	21
% of correct escapes				
Learning 1-6	75.0±14.74	77.1±16.16	71.4±20.51	75.4±13.56
Memory	66.7	91.7*	81.0	76.2
Reverse learning 1-6	53.5±24.07	49.3±29.27	49.2±22.03	59.5±17.93
<b>FEMALE</b>				
No. of animals	22	23	21	23
% of correct escapes				
Learning 1-6	65.2±15.35	64.5±19.66	72.2±14.27	68.8±16.13
Memory	59.1	60.9	81.0	78.3
Reverse learning 1-6	40.2±27.54	44.9±23.27	42.9±22.71	48.6±29.69

Values are mean ± S.D.(seconds). \* indicates significant difference at P<0.05 level when compared with the control group.

**Table VIII.** Body weight changes of F1 female rats from dams treated with SM-101

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of animals	24	25	22	23
0 day	6.3±0.63	6.2±0.71	6.2±0.77	6.1±0.66
1 week	17.5±1.98	16.7±1.52	16.5±1.48	16.2±1.56*
2 week	35.3±3.39	33.6±2.58	34.1±2.57	32.5±2.56**
3 week	57.3±5.29	55.8±4.66	56.4±4.16	54.4±4.77
4 week	94.6±8.23	93.2±7.43	94.2±5.09	91.9±7.55
5 week	135.8±11.15	133.0±11.91	134.3±10.35	133.5±11.31
6 week	168.5±13.24	164.4±12.05	164.8±10.21	165.3±14.82
7 week	195.1±16.83	190.5±14.84	189.7±13.47	192.6±13.52
8 week	214.7±18.43	210.9±16.37	214.1±20.06	216.7±16.24
9 week	227.7±25.21	226.1±19.29	225.2±18.30	227.9±18.11
10 week	240.1±27.64	236.1±20.51	237.6±19.27	239.0±20.69

Values are mean ± S.D. (g). \* and \*\* indicate significant difference at P<0.05 and P<0.01 levels when compared with the control group.

에서 어떠한 이상증상도 관찰되지 않았다.

#### 체중(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 생후 0일부터 10주째까지 체중을 측정 한 결과, 암컷동물의 경우 1000 mg/kg군에서 1 및 2주령째 체중의 통계학적 유의한 감소가 관찰되었는데(Table VIII), 이는 시험물질의 영향으로 사료되었다.

#### 부검소견(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 10주령째에 부검을 실시한 바, 수컷동물의 경우 대조군에서는 뇌수종과 우측 신장의 신우확장이 각각 1례씩 관찰되었고 1000 mg/kg군에서는 횡격막탈장(diaphragmatic hernia), 신우확장, 우측 신장의 낭종과 위의 궤양 및 출혈이 각각 1례씩 발견되었다. 암컷동물에 있어서는 대조군과 500 mg/kg군에서 신우확장이 각각 2 및 1례씩 나타났고 250 mg/kg군에서 간장의 황색결절이 1례 관찰되었다. 상기 소견중 수컷동물의 1000 mg/kg군에서 관찰된 횡격막탈장, 신우확장 및 우측 신장의 낭종 그리고 암컷동물의 250 mg/kg군에서 나타난 간장

의 황색결절과 500 mg/kg군에서 발견된 신우확장은 자연 발생적인 소견으로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다. 또한 수컷동물의 1000 mg/kg군에서 1례 발견된 위궤양과 출혈은 병리조직 소견이 없어서 단정하기는 어려우나 시험물질과는 무관한 자연발생적 소견으로 사료되었다.

#### 장기중량(성장시험군)

성장시험군의 부검시 장기중량을 측정한 결과 수컷동물에 있어서는 1000 mg/kg군에서 간장의 절대 및 상대중량과 신장의 상대중량이 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있는 증가를 나타냈는데(Table IX), 이는 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다. 암컷동물의 경우는 500 mg/kg군의 간장이 유의성있는 감소를 보였는데(Table X), 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 인정되지 않았다.

#### 교배성적

생식시험군에 속한 F1 암수동물을 10주령 이후에 교배시켰을 때 교미율, 수태율 및 임신율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table XI).

#### 체중(생식시험군)

**Table IX.** Organ weights of F1 male rats from dams treated with SM-101

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of animals	24	25	22	21
Body weight (g)	432.4±29.1	426.7±30.2	423.1±25.1	418.5±24.8
Brain (g)	1.980±0.095	2.031±0.066	2.004±0.063	2.002±0.092
per B.W. (g%)	0.460±0.038	0.478±0.032	0.475±0.034	0.480±0.028
Adrenal gland-left (g)	0.027±0.006	0.029±0.006	0.031±0.007	0.027±0.004
per B. W. (g%)	0.006±0.001	0.007±0.002	0.007±0.002	0.007±0.001
Adrenal gland-right (g)	0.026±0.006	0.025±0.006	0.027±0.005	0.025±0.004
per B. W. (g%)	0.006±0.002	0.006±0.002	0.006±0.001	0.006±0.001
Liver (g)	18.22±2.337	17.46±1.790	17.00±1.467	20.98±2.470**
per B. W. (g%)	4.205±0.377	4.110±0.507	4.020±0.281	5.016±0.557**
Spleen (g)	0.779±0.133	0.746±0.101	0.728±0.093	0.737±0.085
per B. W. (g%)	0.180±0.025	0.176±0.028	0.173±0.024	0.176±0.018
Kidney-left (g)	1.550±0.212	1.584±0.161	1.589±0.134	1.681±0.168
per B. W. (g%)	0.358±0.038	0.373±0.046	0.376±0.025	0.402±0.373**
Kidney-right (g)	1.589±0.232	1.596±0.169	1.641±0.144	1.693±0.192
per B. W. (g%)	0.367±0.040	0.375±0.042	0.388±0.029	0.405±0.038**
Heart (g)	1.324±0.109	1.352±0.101	1.361±0.078	1.336±0.132
per B. W. (g%)	0.307±0.023	0.318±0.026	0.323±0.026	0.320±0.031
Testis-left (g)	1.615±0.119	1.581±0.091	1.615±0.059	1.575±0.084
per B. W. (g%)	0.375±0.032	0.372±0.034	0.383±0.026	0.377±0.027
Testis-right (g)	1.626±0.125	1.585±0.083	1.594±0.067	1.578±0.090
per B. W. (g%)	0.377±0.032	0.373±0.033	0.378±0.025	0.378±0.025

Values are mean±S.D. \*\*indicate significant difference at P<0.01 level when compared with the control group.

**Table X.** Organ weights of F1 female rats from dams treated with SM-101

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
No. of animals	24	25	22	23
Body weight (g)	240.1±27.6	236.1±20.5	237.6±19.3	239.0±20.7
Brain (g)	1.860±0.073	1.843±0.095	1.844±0.074	1.866±0.076
per B. W. (g%)	0.784±0.089	0.785±0.070	0.780±0.060	0.786±0.064
Adrenal gland-left (g)	0.034±0.007	0.033±0.005	0.035±0.005	0.035±0.005
per B. W. (g%)	0.014±0.003	0.014±0.002	0.015±0.002	0.014±0.002
Adrenal gland-right (g)	0.031±0.006	0.031±0.005	0.032±0.006	0.032±0.005
per B. W. (g%)	0.013±0.003	0.013±0.002	0.014±0.003	0.013±0.002
Liver (g)	9.945±1.716	9.153±1.088	8.838±0.980*	9.924±2.579
per B. W. (g%)	4.128±0.421	3.878±0.357	3.718±0.279**	4.181±1.257
Spleen (g)	0.485±0.084	0.472±0.065	0.470±0.060	0.491±0.081
per B. W. (g%)	0.202±0.029	0.201±0.028	0.198±0.023	0.205±0.026
Kidney-left (g)	0.992±0.113	0.937±0.093	0.947±0.096	0.966±0.101
per B. W. (g%)	0.414±0.027	0.398±0.035	0.400±0.040	0.405±0.032
Kidney-right (g)	1.031±0.133	0.973±0.094	0.973±0.077	0.988±0.093
per B. W. (g%)	0.430±0.033	0.413±0.035	0.411±0.032	0.414±0.033
Heart (g)	0.818±0.089	0.834±0.079	0.847±0.239	0.824±0.089
per B. W. (g%)	0.342±0.023	0.354±0.030	0.357±0.105	0.345±0.020
Ovary-left (g)	0.041±0.010	0.043±0.010	0.040±0.008	0.044±0.010
per B. W. (g%)	0.017±0.004	0.018±0.004	0.017±0.004	0.018±0.004
Ovary-right (g)	0.044±0.010	0.045±0.008	0.043±0.009	0.046±0.010
per B. W. (g%)	0.018±0.004	0.019±0.004	0.018±0.004	0.020±0.004

Values are mean±S.D. \* and \*\* indicate significant difference at P<0.05 and P<0.01 levels when compared with the control group.

F1 암컷동물의 임신기간동안의 체중은 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성을 나타내지 않았다.  
부검소견(생식시험군)

F1 동물의 부검시 수컷동물의 경우 1000 mg/kg군에서 우측 신장의 신우확장이 1례 관찰되었다. 암컷동물에 있어서는 대조군에서 간장 우측엽의 이분이 1례 나타났고, 500

**Table XI.** Fertility data of F1 rats from dams treated with SM-101

Dose: (mg/kg)	0	250	500	1000
<b>MALE</b>				
No. of mated animals	23	24	22	23
Copulation index <sup>a)</sup> (%)	19/23 (83)	24/24 (100)	21/22 (96)	20/23 (87)
Fertility index <sup>b)</sup> (%)	18/19 (95)	10/18 ( 79)	18/21 (91)	20/21 (95)
<b>FEMALE</b>				
No. of mated animals	23	24	22 <sup>d)</sup>	23
Copulation index <sup>a)</sup> (%)	21/23 (91)	24/24 (100)	22/22 (100)	21/23 (91)
Pregnancy index <sup>c)</sup> (%)	18/21 (86)	19/24 ( 79)	19/22 ( 86)	19/21 (91)

<sup>a)</sup>No. of animals with successful copulation/No. of mated animals. <sup>b)</sup>No. of impregnating animals/No. of animals with successful copulation. <sup>c)</sup>No. of pregnant animals/No. of animals with successful copulation. <sup>d)</sup>Neither sperm nor vaginal plug was detected in one dam, but the animal was found pregnant.

mg/kg군에서는 우측 신장의 위축, 신우확장, 황갈색화 및 변형이 1례 관찰되었다. 상기 소견들은 자연발생적으로 나타나는 소견들로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

**F2 태자에 미치는 영향**

**제왕절개성적(생식시험군)**

F1 모동물의 제왕절개시 조사된 황체수, 착상수, 흡수배자수, 사망태지수, 산자수, 성비 및 생존태자의 체중에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 태자의 외표소견은 대조군에서 무미와 흔적미(vestigial tail)가 각각 1례씩 관찰되었을 뿐, 그 밖의 군에서는 어떠한 이상 소견도 나타나지 않았다.

**조정후 남은 F1 동물(생후 4일령)에 미치는 영향**

**내부장기검사**

생후 4일째에 조정후 남은 F1동물의 내부장기 검사시 500 mg/kg군에서 흉선의 경부잔류(thymic remnant in the neck)[변이]가 1례 관찰되었고 그 밖의 군에서는 어떠한 이상소견도 나타나지 않았다.

**골격검사**

랫트태자의 골격소견은 신체의 기능장애 유발여부, 골화 정도 등에 따라서 기형(malformation), 변이(variation) 및 골화 지연(retardation)으로 구분된다. 생후 4일째에 조정후 남은 F1동물의 골격검사시 대조군에서는 말늑골단소(shortened 13th rib)[기형]가 2례(2.7%), 그리고 요늑(14th rib) 및 흉골의 추가골화점(additional ossification center of the sternbrae)[변이]이 7례(9.5%) 관찰되었다. 250 mg/kg군에서는 흉골분절유착(fused sternbrae)[기형]이 1례(1.1%), 요늑과 흉골의 추가골화점[변이]이 5례(5.7%), 그리고 흉추추체의 이분(bicentric thoracic vertebral body), 아령형 흉추추체(dumbbell-shaped thoracic vertebral body) 및 이분흉골분절(cleaved sternbrae)[골화지연]이 2례(2.3%) 나타났다. 500 mg/kg군에서는 말늑골단소[기형]가 1례(1.3%) 그리고 요늑 및 흉골의 추가골화점[변이]이 8례(10.7%) 관찰되었다. 또한 1000 mg/kg군에서는 말늑골단소[기형]가 1례(1.3

%) 그리고 요늑, 흉골의 추가골화점 및 요추의 천추화(sacralization of the lumbar vertebrae)[변이]가 8례(10.7%) 발견되었다.

상기한 소견들중 모든 투여군에서 각각 1례씩 나타난 말늑골단소는 대조군에서도 관찰되어 시험물질과는 무관한 기형소견으로 판단되었고, 변이발현율은 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의차를 나타내지 않았다. 250 mg/kg군에서 관찰된 골화지연은 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 판단되지 않았다. 또한 흉골, 중수골, 중족골, 전후지의 지골, 경추 및 천미추의 골화진행도에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다.

**고 찰**

SM-101은 삼성제약에서 개발한 β-lactam계 항생제로서 설박탐 나트륨과 메탐피실린 나트륨이 1:2의 비율로 배합된 복합물질이다. 이러한 SM-101을 0, 250, 500 및 1000 mg/kg의 용량으로 Sprague-Dawley 계통의 랫트에 임신 17일부터 포육 21일까지 정맥투여하여 모동물의 일반상태와 분만 그리고 차세대동물의 성장 및 기능발달에 미치는 영향을 조사하였다.

임신기간동안 500 mg/kg군에서, 그리고 포육기간동안 모든 투여군에서 관찰된 연변은 고용량군으로 갈수록 그 발생예와 정도가 증가하였는데, 이는 설박탐 암피실린 등과 같은 복합항생제의 투여시 야기되는 장내세균의 불균형에 기인한 일반적인 증상으로서(中田 등, 1982; Nabata 등, 1988), 본 시험물질에 의한 특이적인 독성증상으로는 사료되지 않았다.

임신기간동안에 1000 mg/kg군에서 1례 발견된 사망례는 이 개체가 타동물들보다 복합항생제인 SM-101에 특히 민감하게 반응하므로써 쇼크사한 것으로 판단된다.

모든 투여군에서 관찰된 신장중량의 증가는 sulbactam ampicillin의 랫트 만성독성시험(Nabata 등, 1988)에서도 나



탄산 소견으로서 병리조직 소견이 없어서 단정하기는 어려우나 SM-101이 신장세뇨관에 독성을 일으켜 나타난 것으로 사료되었다.

성장시험군에 속한 1000 mg/kg군의 F1 암컷동물에서 발견된 절치붕출의 분화지연은 해당동물의 1~2주령째 체중 감소와 상관된 소견으로서 모동물의 시험물질 투여에 의해 유도된 차세대 동물의 발육지연, 포육불량 등에 기인한 소견으로 사료되었다.

성장시험군에 속한 F1 동물의 장기중량 측정시 1000 mg/kg군에서 관찰된 암수동물의 간장중량의 증가는 모동물에서는 나타나지 않은 소견으로서 추후 병리조직 검사 등을 통해 그 원인을 규명할 수 있을 것으로 사료된다. 1000 mg/kg군에서 나타난 수컷동물의 신장중량의 증가는 본 시험의 모동물에서도 관찰되었고, SM-101의 랫트 최기형시험의 차세대동물에서도 발견되어 SM-101이 F0 및 F1 동물의 신장에 독성을 나타냄을 알 수 있었다.

행동기능시험의 합격율과 생식시험의 교배성적 등은 모든 투여군에서 대조군의 결과와 차이를 나타내지 않아 본 시험물질이 F1 동물의 행동 및 생식기능발달에 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다. 그런데 SM-101과 같은  $\beta$ -lactam계 항생제인 T-1982에 대한 랫트 주산기 및 수유기시험에서도 F1 동물의 행동 및 생식기능장애는 관찰되지 않았다는 사실이 이미 보고된 바 있다(中田 등, 1982). 또한 생식시험군에 속한 F1 암컷동물의 제왕절개와 생후 4일째 조정부 남은 F1 동물의 골격 및 내부장기검사에 있어서는 어떠한 시험물질의 영향도 인정되지 않았다.

SM-101의 임상예정용량은 125 mg/kg/day로 추정된다. 그런데 임상예정용량의 2배인 250 mg/kg군에서도 모동물의 신장중량 증가가 관찰되어 본 시험물질의 일반독성학적 역치(threshold)는 임상예정용량에 근접함을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 주산기 및 수유기시험에 의한 SM-101의 무해용량(no observed effect level)은 모동물에 있어서 250 mg/kg 미만, 차세대동물에 있어서 500 mg/kg 그리고 F1/F2 태자에 있어서 1000 mg/kg 이상이라고 사료된다.

## 감사의 말씀

시험물질 SM-101을 제공해 주신 (주)삼성제약공업과 본 시험을 수행하는데 기술적인 도움을 주신 최규갑, 이상준 씨 그리고 통계처리 및 자료정리를 맡아주신 김정란 양께 감사드립니다.

## 참고문헌

- Altman, J. (1975). Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Ani. Behav.* **23**, 896-920.
- Brogard, J. M., Pinget, M., Adloff, M., Dorner, M. and Lavillaureix, J. (1976). Experimental and clinical pharmacology of metampicillin in the biliary tract. *J. Antimicrob. Chemotherapy.* **2**, 363-371.
- Brogard, J. M., Pinget, M., Dorner, M. and Blickle, J. F. (1985). Biliary elimination of  $\beta$ -lactam antibiotics by the isolated perfused rabbit liver. *Liver* **5**, 147-155.
- Davis, M. (1984). The mammalian startle response. In: *Neural mechanisms of startle behaviour*. R. C. Eaton eds, Plenum press, New York and London, 1984, p. 287-351.
- Dawson, A. B. (1926). A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with Alizarin Red S. *Stain. Technol.* **1**, 123-124.
- English, A. R., Retsema, J. A., Girard, A. E., Lynch, J. E. and Barth, W. E. (1978). CP-45899, a  $\beta$ -lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of  $\beta$ -lactams: initial bacteriological characterization. *Antimicrob. Agents Chemother.* **14**, 414-419.
- Hummler, H. (1978). Verwendung von Funktions- und Verhaltenstesten in der Postnatalperiode in der Ratte. In: *Embryotoxikologische Probleme in der Arzneimittelforschung*. B. Schnieders et al. eds, p. 76-82.
- Jensh, R. P. (1983). Behavioral testing procedures. A review. In: *Teratogenesis and reproductive toxicology*. E. M. Johnson et al. eds, Springer Verlag, p. 171-206.
- Nabata, H., Iijima, M., Yamada, S., Munehasu, S., Suzuki, M., Tachibana, M. and Ishiko, J. (1988). Acute, subacute, chronic toxicity and general pharmacological studies of sulbactam ampicillin. *Chemotherapy* **36**, 58-65.
- Nishimura, K. (1974). A microdissection method for detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses. *Cong. Anom.* **14**(1), 23-40.
- Pinget, M., Brogard, J. M., Dauchel, J. and Lavillaureix, J. (1976). Biliary excretion of ampicillin, metampicillin and carbenicillin. *J. Antimicrob. Chemother.* **2**, 195-201.
- Retsema, J. A., English, A. R. and Girard, A. E. (1980). CP-45899 in combination with penicillin or ampicillin against penicillin-resistant *Staphylococcus*, *Haemophilus influenzae* and *Bacteroids*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **17**, 615-622.
- Retsema, J. A., English, A. R., Girard, A. E., Lynch, J. E., Anderson, M., Brennan, L., Cimoehowski, C., Faiella, J., Norcia, W. and Sawyer, P. (1986). Sulbactam/ampicillin: *in vitro* spectrum, potency and activity in models of acute infection. *Rev. Infect. Dis.* **8**, 9528-9534.
- Shimooka, K., Ito, M., Matsumoto, K., Niimi, H., Matsunaga, T. and Kawasaki, K. (1988). Sensitive high-performance liquid chromatographic-amperometric and microbiological assays for determining sulbactam in serum. *Chemother.* **36**, 81-89.
- Sutherland, R., Elson, S. and Croydon, E. A. P. (1972). Metampicillin: Antibacterial activity, absorption and excretion in man. *Chemotherapy* **17**, 145-160.
- Walsch, R. N. (1976). The open field test. A critical review. *Psychological bulletin* **83**(3), 482-504.
- Wilson, J. G. (1965). Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals in *Terat*

- ology: Principles and Techniques* (Wilson J. G. and Warkany, J., ed.), (University of Chicago Press, Chicago and London). pp. 262-277.
- Yakugyo Jiho Co. (1984). Toxicity Test Guideline: Collection of notifications related to the pharmaceutical affairs law (IV), Japan.
- Zbinden, G. (1981). Experimental methods in behavioral teratology. *Arch. Tox.*, **48**, 69-88.
- 국립보건안전원(1988). 의약품등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원, 고시 제 94-3호.
- 中田弘子, 中村昌三, 小前憲久, 潼本陽子, 高井明 (1982). T-