

토끼에서 신델라 겔(송아지의 제단백혈액추출물: 황산 마이크로노마이신=20:1 혼합물)의 피부자극성시험

남석우¹ · 이영진¹ · 고영권¹ · 장만식² · 최완수² · 김규봉²
우태욱² · 한정환¹ · 홍성렬³ · 이항우¹

¹성균관대학교 약학대학, ²영진약품공업(주) 중앙연구소
³성균관대학교 유전공학과

Skin Irritation Study of the Syndella Gel, Topical Drug Containing Deproteinised Dialysate of Calf's Blood and Micronomicin Sulfate in Rabbits

Suk Woo NAM¹, Young Jin LEE¹, Young Kwon KO¹, Man Sik CHANG²,
Wahn Soo CHOI², Kyu Bong KIM², Tae Wook WOO², Jeung Whan HAN¹,
Sung Youl HONG³ and Hyang Woo LEE¹

¹College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

²Central Research and Development Laboratories, Youngjin Pharmaceutical
Co., Ltd., Kyunggi-Do 445-850, Korea

³Department of Genetic Engineering, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

(Received November 15, 1996; accepted December 12, 1996)

Abstract - This study was conducted to investigate the skin irritation toxicity of Syndella gel, a combination topical drug containing a deproteinised dialysate of calf's blood and micronomicin sulfate in the ratio of 20 to 1, in New Zealand White rabbits. In the primary skin irritation test with male New Zealand White rabbits, there was no treatment-related effect on clinical sign, and body weight was not significantly changed. The Primary Irritation Index (PII) was 0.33, indicating that Syndella gel was a mildly irritating formulation.

Keywords □ Syndella gel, primary skin irritation, New Zealand White rabbits

화상, 외상의 육아형성 촉진 및 피부질환 치료를 목적으로 개발된 신델라 겔은 송아지의 제단백혈액 추출물과 광범위 항생제인 황산 마이크로노마이신의 복합외용제이다 (Chung 등, 1994). 송아지의 제단백혈액 추출물은 세포호흡을 활성화 시키고 세포의 에너지 전위를 증가시켜 손상된 조직의 치유를 신속히 증가시키므로(Wyss와 Basfi, 1964) 화상, 피부이식, 경미한 상처, 피부궤양, 말초혈액순환 이상 등의 치유에 뛰어난 효과를 발휘하는 약물이며 황산 마이크로노마이신은 아미노글리코사이드계 항생제로서 그람양성과 그람음성 박테리아에 항균력을 갖는 광범위 항생제이다 (Sato 등, 1977). 황산 마이크로노마이신은 특히 *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Serratia*, *Klebsiella pneumoniae* 등에 높은 항균력을 갖는다.

따라서, 본 연구에서는 신델라 겔의 안전성 시험의 일환으로 실험동물에 대한 피부자극성 시험을 시행하여 국소 자극에 대한 안전성을 평가하고자 한다.

실험방법

본 실험은 의약품 안전성시험 관리기준(KGLP, 1991)에 의거하여 작성된 표준작업지침서, 의약품 등의 독성시험기준(식품의약품 안전본부 고시 96-8) 및 의약품 등의 안전성, 유효성 심사에 관한 규정(보건복지부고시 제1994-46호, 복합제중 외용제)에서 요하는 요건에 적합하게 계획하여 실시하였다.

시험물질

시험물질은 영진약품공업주식회사의 신델라 겔 (송아지의 제단백혈액 추출물 : 황산 마이크로노마이신=20:1)로서 두

* To whom correspondence should be addressed.

여직전 제조하여 시료로 사용하였다.

시험계 및 사육환경

본 실험에 사용된 동물은 해은무역주식회사에서 공급받은 New Zealand White 수컷 토끼로 체중은 약 1.6~1.8 kg으로 약 4개월령이었다. 공급받은 모든 토끼들에 대하여 콧소리(snuffles)와 ear mite의 감염, 피부의 이상유무 및 설사 흔적 등을 조사한 후 건강한 토끼만을 시험에 사용하였다.

모든 토끼들은 성균관대학교 약학연구소 실험동물실에서 개별수용 하였고 온도가 24±2 °C이며, 상대습도는 50±10%, 형광등 명암 12 hr cycle(07:00-19:00)이 유지되는 장소에서 사육하였다. 동물의 순화, 검역 및 시험기간동안, 3단 사육상자내에 배열된 스테인레스 케이지에서 개별수용하여 삼양사료주식회사의 실험동물 사료를 공급하고 음료수는 일반 수돗물을 자유로이 섭취시키면서 사육하였다. 약 1주간의 순화기간동안 매일 일반증상을 관찰하여 그중 건강하고 발모상태가 양호한 동물(체중 1.6~1.8 kg)을 선별하였다.

순화·검역기간동안 선별된 각각의 토끼에 대하여 일련의 고유번호를 귀에 부착한 후 전기 clipper를 이용하여 피부손상을 일으키지 않도록 주의하여 토끼의 등과 옆구리 부위를 제모시켜 피부상태가 시험에 적합한 6마리 토끼를 선택하였다.

시험물질의 투여

시험물질 투여 약 24시간전에 토끼 등의 중앙에서 안쪽으로 위치한 부위를 선택하였다. 이 시험부위는 각 2.5 cm × 2.5 cm 부위에 대하여 윤곽을 표시하였다. 그 후 동물용 전기 clipper로 그 부위를 제모하고, 피부에 손상이 가지않게 면도를 실시하여 처치구획과 대조구획으로 나누고 각각에 비찰과피부와 찰과피부로 나누어 모두 4 부분을 설정하여 실시하였다. 찰과 피부는 면도날을 이용하여 출혈하지 않는 범위내에서 표피만을 찰과하였다. 검체를 처치하기 위해 surgical tape (Microfoam, 3 M)을 폭이 0.5 cm가 되게 하여 2.5 cm × 2.5 cm 크기의 지지체(mold)를 만들고 그 중앙에 거즈를(2.5 cm × 2.5 cm, 3겹) 고정시킨 다음 준비한

검체를 침포용 밴드의 거즈에 0.5 g 취하여 토끼 등피부의 처치 구획에 접착하였다. 시험물질을 적용한 후 피부와 밀접해 있는 시험물질을 유지하고 증발을 막기 위해서, 토끼의 투여부위는 거즈와 비자극성 테이프로 싸서 안전하게 하였다. 검체는 24시간동안 1회 적용하였으며, 대조 구획에는 시험물질을 가하지 않고 동시에 동일한 방법으로 실시하였다. 종료시 잔유물질은 생리식염수를 탈지면에 적시어 잘 닦아내었다. 시험물질 제거 후 약 60분에 각 시험물질을 Draize 기법에 따라 홍반과 부종의 정도를 기록하였다(Draize 등, 1944; Marzulli와 Maibach, 1975).

일반증상 관찰 및 체중측정

순화기간, 시험물질 투여 후, 피검피부가 정상으로 회복될 무렵까지 일반 증상의 변화 및 사망여부를 관찰하였다. 체중측정은 시험에 사용된 모든 토끼에 대하여 시험물질 도포전, 도포후 1일, 2일, 3일, 7일째에 체중을 측정하였다.

투여부위의 관찰

시험물질을 투여한 후 24시간째에 생리식염수로 투여된 시험물질을 잘 제거하고, 60분 후 및 투여 후 72시간, 7일째에 투여부위에 대해 홍반과 가피형성, 부종형성 등의 피부자극 반응을 관찰하였다. 피부반응의 평가는 식품의약품안전본부 고시에 준하여, 시험물질 투여 후 24시간 및 7일째의 평점을 산출하여, 그 결과에 대한 자극성의 정도 판정은 일차 자극지수에 의해 물질의 자극도를 구분하였다(Table I).

실험결과

일반증상관찰 및 체중측정 결과

시험물질 신델라 겔을 토끼의 피부에 적용할 때 시험물질에 기인한 일반증상의 변화는 관찰되지 않았으며 사망동물도 발견되지 않았다(Table II). 시험기간 동안 체중은 유의적인 변화를 나타내지 않았다(Table III).

투여부위의 관찰

Table I. Irritation rating for primary dermal reaction

Rating	Range of primary irritation index
Mild irritant	0-2
Moderate irritant	2-5
Severe irritant	> 5

Table II. General clinical signs and death rate in rabbit dressed dermally with Syndella gel

Sex	Dose	Animal No.	General clinical signs	Death rate
Male	0.5 g	6	No abnormality detected	0 / 6

Table III. Body weights of rabbit dressed dermally with Syndella gel

No. of animal	Sex	Days after treatment				
		0	1	2	3	7
1	Male	1.43	1.50	1.38	1.51	1.55
2	Male	1.59	1.51	1.47	1.58	1.72
3	Male	1.42	1.48	1.32	1.42	1.56
4	Male	1.28	1.17	1.26	1.31	1.43
5	Male	1.97	1.83	1.75	1.92	2.00
6	Male	1.45	1.36	1.38	1.42	1.62
Mean weight ± S.D.*		1.52 ± 0.24	1.48 ± 0.22	1.43 ± 0.17	1.53 ± 0.21	1.65 ± 0.20

*Unit: kg

Table IV. Result of primary dermal irritation test by Draize's method in rabbit dressed dermally with Syndella gel

Sites		Control Site											
Change		Erythema & Eschar					Edema						
Phase		Intact			Abraded		Intact			Abraded			
Time ^a		24 h	72 h	7 day	24 h	72 h	7 day	24 h	72 h	7 day	24 h	72 h	7 day
Animal No.													
1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4		0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
5		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Score		1	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0
Mean Score		1			2		0			1			
P.I.I. ^b		4/24=0.17											
Sites		Test Site											
Change		Erythema & Eschar					Edema						
Phase		Intact			Abraded		Intact			Abraded			
Time ^a		24 h	72 h	7 day	24 h	72 h	7 day	24 h	72 h	7 day	24 h	72 h	7 day
Animal No.													
1		1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
4		0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
5		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
6		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total Score		1	0	0	3	1	0	0	0	0	2	1	0
Mean Score		1			4		0			3			
P.I.I. ^b		8/24=0.33											

^aTime after topical application of Syndella gel (0.5 g). ^bP.I.I.: Primary Irritation Index=T Mean score/24.

시험물질 신델라 겔을 토끼 피부에 적용한 후 홍반, 가피 형성 등을 관찰한 결과 24시간째 찰과 피부에서 6마리중 3마리에서 미세한 홍반이 발생하였다. 또한, 비찰과 피부에서 1마리가 미세한 홍반이 나타났다. 무처리 피부에서는 비찰과 피부에서 1마리, 찰과 피부에서는 2마리가 가벼운 정도의 홍반이 발생하였다.

처리군에서는 72시간째 찰과 피부에서 3마리중 2마리가 회복하는 경향을 나타내었으며 비찰과 피부에서는 24시간째 관찰되었던 1마리가 회복하였다. 무처리 피부에서는 비찰과 피부에서 24시간에 홍반이 관찰되었던 1마리는 소실되었으며 찰과 피부에서 홍반이 있었던 2마리도 정상으로 돌아왔다. 7일째 관찰시 처리군에서 찰과피부 및 비찰과 피부 모두 정상이었으며, 무처리 피부는 모두 정상이었다.

검체를 적용한 후 부종을 관찰한 결과 24시간째 찰과피부 6마리중 2마리에서 가벼운 부종이 관찰되었으며, 비찰과 피부에서는 모두 정상이었다. 무처리 피부에서 6마리중

1마리에서 찰과피부에 가벼운 부종이 관찰된 것 이외에는 정상이었다. 72시간에는 약물을 처리한 찰과피부에서 1마리가 가벼운 부종이 남아있었고 무처리 피부는 모두 정상이었다. 7일째 관찰 역시 모든 피부에서 부종은 관찰되지 않았다(Table IV).

고 찰

신델라 겔은 화상, 외상 및 피부질환 등의 치료를 목적으로 사용되는 송아지의 제단백혈액 추출물과 황산 마이크로노마이신의 복합제제이다. 외용제로 이용되는 신약에 대한 독성시험 항목중에서 가장 중요한 것이 1차 피부자극성 시험이라고 할 수 있다. 아직까지 새로운 복합제제에 대한 피부자극성 시험은 일반화되어 있지 않으나 앞으로는 여러 복합제제의 개발이 활발하게 진행되리라고 보며 그에따라 이들 복합제제의 독성시험은 매우 중요하다고 생각된다.

본 시험에서는 화상, 외상 및 피부질환에 대한 치료제로 개발한 시험물질 신텔라 겔에 대하여 1차 피부자극성을 시험하기 위해 6마리의 New Zealand White 토끼를 이용하여 식품의약품 안전본부 고시의 "의약품의 독성시험 기준"에 준하여 피부자극성을 시험한 결과 시험물질에 기인한 일반 증세는 없었으며 체중도 유의성 있는 변화가 없었다.

피부의 국소자극은 육안적으로 비찰과 피부와 찰과피부의 피부반응을 조사하였다. 시험물질을 일정시간동안 도포한 후 24시간, 72시간, 7일째에 피부의 홍반과 가피형성을 관찰하여 그 자극성을 평가한 결과 1차 자극지수(Primary Irritation Index)가 0.33으로 평가되었다. 이 수치는 Table I에 의거하여 신텔라 겔이 약한 자극성 물질로 분류되며, 자극성이 거의 없는 제제로 사료된다.

따라서, 연구결과들을 종합해보면 신텔라 겔은 피부자극성이 거의 없어 치료목적으로 하는 피부질환 치료를 위한 복합의용제로 사용할 경우 안전하게 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 연구는 1994년도 과학기술처 중간핵심기술개발사업

의 지원에 의해 이루어졌으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Chung, K. J., Chang, M. S., Chun, J. O., Chun, J. K., Kim, S. C., Choi, W. S. and Lee, H. W. (1994). Evaluation of topical drug containing Solcoseryl and micronimicin on surgical wound in mice. *J. Applied Pharmacol.* **2**, 23-27.
- Draize, J. H., Woodard, G. and Calvery, H. O. (1944). Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **82**, 377-390.
- Marzulli, F. N. and Maibach, H. I. (1975). The rabbit as a model for evaluating skin irritants; A comparison of results obtained on animals and man using repeated skin exposures. *Fd. Cosmet. Toxicol.* **13**, 533-540.
- KFDA (1996). Toxicity test guideline for safety evaluation of drugs for human use. No. 96-8, Korea.
- Sato, K., Araki, Y., Fukui, M. and Marumo, H. (1977). Antibacterial activity of KW-1062, a new aminoglycoside antibiotic. *Chemotherapy* **25**, 1844-1850.
- Wyss, J. L. and Basfi, H. (1964). A contribution to clinical experimentation of Solcoseryl in the treatment of decubitus and vascular ulcers and gangrene of the extremities. *Praxis.* **53**, 1599-1601.