

## 비 마약성 진통제 DA-5018의 랫드에 대한 4주 경구투여 아급성독성

강경구 · 김옥진 · 백남기 · 안병옥 · 김원배\* · 양중익  
동아제약(주)연구소

### Four-week Oral Toxicity Study of DA-5018, a New non-narcotic Analgesic Agent

Kyung Koo KANG, Ok Jin KIM, Nam Gi BAIK, Byoung Ok AHN,  
Won Bae KIM\* and Junnick YANG

47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Youngin-si, Kyunggi-do, Korea 449-900  
Research Laboratories, Dong-A Pharmaceutical Co. Ltd.

(Received March 14, 1997; accepted April 12, 1997)

**Abstract** - 4-week repeated dose toxicity of DA-5018, a new capsaicin analogue analgesic agent, was examined in SD rats at dosage levels of 0, 0.4, 2, 10 and 50 mg/kg/day. DA-5018 was administered orally to 17 males and 17 females per group at doses of 0, 10 and 50 mg/kg and to 12 males and 12 females per group at doses of 0.4 and 2 mg/kg. After the administration period, 5 males and 5 females at the 0, 10 and 50 mg/kg were placed on withdrawal for 2 weeks. Treatment-related clinical signs were observed at 10 and 50 mg/kg. Clinical signs observed immediately after the administration of DA-5018 were grooming, sedation or depression, lacrimation, ataxia, reddening of extremities and ears, ventral or lateral recumbency, respiratory distress, cyanosis and convulsion. Delayed-type clinical signs including focal scabbing and depilation around nose were also observed 1 or 2 weeks after the start of administration of DA-5018. Only at the 50 mg/kg group, corneal opacities, reduced body weight gain (male) and death (male 6/17, female 3/17) were noted. In blood biochemical analysis, serum levels of glucose and triglyceride decreased at 10 and 50 mg/kg. In hematological examination, there were increases in the number of red blood cell, hemoglobin content and percent of hematocrit at 10 and 50 mg/kg. Pulmonary enlargement and hemorrhagic spot, focal scabbing and depilation around nose and corneal opacities were seen at the necropsy of the animals died during the dosing of DA-5018 50 mg/kg. Focal scabbing and depilation around nose were observed in the animals terminally necropsied at doses of 10 and 50 mg/kg. Histopathological examination revealed pulmonary hemorrhage, focal necrosis in the scabbed area, corneal necrosis, fibrosis and neovascularization in the stroma. At 0.4 and 2 mg/kg, there were no significant toxic changes attributable to the administration of DA-5018. In conclusion, target organs following to 4-week repeated dose of DA-5018 in the rat were determined to be lung, skin and eyes. Definite toxic dose and no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) were estimated to be 50 and 2 mg/kg/day, respectively.

**Keywords** □ DA-5018, non-narcotic analgesic agent, repeated toxicity, rat

Capsaicin은 고추(hot peppers)의 매운맛을 내는 주성분으로 여러 품종(*genus capsicum*)의 고추에서 분리되며, 화학적으로는 vanillyl amide 유도체(8-methyl-N-vanillyl-6-non-enamide)이다(Holzer, 1991). Capsaicin은 Jancso가 처음으로 순수하게 분리하고 그 성질을 밝힌 이래 현재까지 수많은 연구자들에 의하여 물리화학적 성질, 약리학적 성질 및 신경전달물질의 하나인 substance P와 연관되어 나타나는 진통효과를 이용한 치료학적 이용 가능성이 연구되었으나

투여 후 신경계, 호흡기계, 심혈관계 등에서 나타나는 부작용 때문에 전신적인 치료제로는 아직 사용되지 못하고 있다(Surh와 Lee, 1995; Rebecca와 Frank, 1992; Holzer, 1991; Maggi, 1991; Lynn, 1990; Monsereenusorn 등, 1982). 그러나 최근에 GenDerm사에서 국소도포용 크림제(Zostrix®-HP)로 개발하여 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis, psoriasis 등의 치료에 사용하고 있다(Watson 등, 1993; Charles 등, 1993; Tandan 등, 1992; Donofrio, 1991; Deal 등, 1991). 그렇지만, 이 제제 또한 도포 후 초기에 작열감(burning pain), 화끈거림(sensation)과

\* To whom correspondence should be addressed.

같은 자극성이 출현하기 때문에(Basha와 Whitehouse, 1991) 이와 같은 부작용을 경감시킬 수 있는 capsaicin 유도체에 관한 연구가 진행되고 있다(Janusz 등, 1993; Park 등, 1995).

DA-5018(N-{3-(3,4-Dimethylphenyl)propyl}-4-(2-aminoethoxy)-3-methoxy phenyl acetamide)도 동아제약(주) 연구소에서 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis 등을 적응증으로 하여 연구중인 진통제로 capsaicin 유도체이다. 현재까지 DA-5018은 여러가지 동물실험모델에서 기존의 진통제 보다 우수한 진통효력을 나타내었으며, 의존성이 형성되지 않는 비 마약성이며 변이원성도 가지지 않는 물질로 나타나 독성측면에서도 모핵인 capsaicin에 비하여 약한 것으로 평가되고 있어 새로운 진통제로의 개발이 기대되는 물질이다(Lee 등, 1994). 본 시험은 DA-5018의 안전성 평가의 일환으로 DA-5018을 랫드에 경구로 4주간 반복투여 하였을 때 발현가능한 독성증상 및 그 회복성을 평가하기 위하여 실시하였다.

### 실험방법

본 시험은 의약품 등의 독성시험기준(국립보건안전연구원, 1994)에 준하여 실시하였다.

#### 시험물질

시험물질인 DA-5018의 Lot No.는 DA-5018-KR-002 이었으며 분자량 407의 염산염형태로 백색의 분말이었다. 시험물질은 냉장보관하였으며, 시험당일 최고용량군의 농도에 맞게 주사용증류수로 용해하고 단계회석하여 사용하였다.

#### 시험동물 및 사육환경

5주령의 SPF Sprague-Dawley계 랫드 암·수 각 90마리를 Charles River Japan사로 부터 구입하여 1주일간 청정구역내에서 검역 및 순화사육한 다음 6주령의 동물을 시험에 사용하였다. 검역순화사육기간 및 시험기간중 동물은 온도  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 15\%$ , 환기횟수 15-20회/시간, 조명시간 12시간(07:00~19:00)의 조건으로 유지하였다. 동물의 수용은 랫드용 폴리카보네이트제 사육상자에 순화검역기간에는 케이지당 5마리씩, 시험기간중에는 3마리씩 각각 암·수 분리하여 수용하였다. 사료는 랫드용 고품사료 방사선 멸균품(천하제일)을, 음수는 자외선멸균 수도수를 자유섭취시켰다.

#### 투여량의 설정

DA-5018의 투여량 설정은 급성독성시험 등(문헌투고중)의 기초자료를 참고로 하여 독성증상이 명확히 발현될 것으로 예상되는 50.0 mg/kg/day을 최고용량으로하고 이하 공비 1/5로 10.0, 2.0 및 0.4 mg/kg/day으로 설정하였으며, 대조군은 매체대조물질인 주사용증류수 투여군으로 설정하였다. 투여용량은 대조군을 포함하여 모두 5 ml/kg으로 하였다.

**Table I.** Experimental design for 4-week repeated toxicity study in rats orally administered with DA-5018.

Group	Dose (mg/kg/day)	No. of animals sacrificed			
		At the end of dosage period		At the end of recovery period	
		Male	Female	Male	Female
Control	-(D.W.)	12	12	5	5
	0.4	12	12	0	0
DA-5018	2.0	12	12	0	0
	10.0	12	12	5	5
	50.0	12	12	5	5

#### 시험군의 구성

시험군의 구성은 Table I과 같다. 검역 및 순화사육 후 건강한 동물을 선발하여 각 군간 체중의 평균치가 균일하게 군 분리하여, DA-5018 4개 투여군과 주사용증류수 투여군인 대조군을 포함하여 모두 5개군으로 구성하였다. 각 투여군의 사용동물수는 대조군 및 DA-5018 50.0, 10.0 mg/kg/day 투여군은 반복 투여 독성시험용 12마리 및 회복시험용 5마리로 암·수 각각 17마리씩으로 구성하였으며, DA-5018 2.0 및 0.4 mg/kg/day 투여군은 반복 투여 독성시험용 12마리로 암·수 각각 12마리씩으로 구성하였다.

#### 투여방법, 투여기간 및 휴약기간

투여경로는 임상적용 예정경로중의 하나인 경구 투여로 랫드용 존데를 이용하여 강제적으로 1일 1회 4주간(28일) 반복투여 하였다. 각 개체의 투여용량은 주 2회 측정하는 체중치로 산출하였으며, 4주간의 투여종료후 대조군 및 DA-5018 50.0, 10.0 mg/kg/day 투여군의 암·수 각 5마리에 대하여 2주간의 휴약기간을 두어 회복시험을 실시하였다.

#### 검사항목

##### 폐사율 및 일반상태

약물 투여 기간중에는 매일 투여직전과 직후에 각 개체의 사망유무와 일반상태를 관찰하였으며, 회복기간중에는 1일 1회 사망유무와 일반증상을 관찰하였다.

##### 체중, 사료 및 음수 섭취량

투여기간 및 회복기간 동안 전군에 대하여 매주 2회씩 체중, 사료섭취량 및 음수섭취량을 측정하였다. 사료와 음수섭취량은 케이지별로 측정하여 마리당 1일 평균섭취량을 산출하였다.

##### 안과학적검사

투여개시전과 투여개시 후 4주에 모든 동물에 대하여 안검사용 검안경을 이용하여 최우안의 각막 및 홍채 등의 이상유무를 관찰하였다.

##### 혈액학적검사

투여종료 후 각 군 모든 동물과 회복기간 종료 후 회복군 모든 동물에 대하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 혈액은 ether 마취한 동물의 복대동맥으로부터 채취하여 EDTA와

구연산나트륨 등의 항응고제를 이용하여 각각 혈액학적검사와 혈액응고시간(prothrombin time, PT) 측정에 이용하였다. 혈액학적검사에서는 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), 혈색소(Hb), 헤마토크리치(Ht), 평균혈구용적(MCV), 평균혈구혈색소량(MCH), 평균혈구혈색소농도(MCHC) 등에 대하여 혈구자동측정기(Minos Vet, ABX)를 이용하여 측정하였으며, PT는 자동응고시간측정기(Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory)를 이용하여 측정하였다. 한편, 백혈구 백분율을 조사하기 위하여 혈액을 슬라이드에 도말하여 건조시킨 후 0.5% Modified Giemsa 염색액(Sigma)으로 50분간 염색하여 광학현미경( $\times 400$ )으로 혈구의 형태를 관찰하고 백혈구 백분율을 구하였다.

#### 혈청생화학학적검사

혈액학적검사를 위하여 채취한 혈액의 잔여혈액을 응고시킨 후 혈청을 분리하여 혈청생화학학적검사를 실시하였다. 혈청생화학학적검사는 혈액자동분석기(Spectrum, Abbott)를 이용하여 alanine transferase(ALT, Transamination-LDH법), aspartate transaminase(AST, Transamination-MDH-LDH법), albumin(Brom Cresol Green법), alkaline phosphatase(ALP, pNPP hydrolysis법), total bilirubin(Evelyn-Malloy법), glucose(Hexokinase법), total protein(Biuret법), urea(BUN, Urease법), cholesterol(효소법), creatinine(Jaffe법), calcium(OCPC법), lactate dehydrogenase(LDH, Optimized UV법), inorganic phosphorous(Molybdate 법), triglyceride(Enzymatic-GPO법), Na(Electrode법), Cl(Electrode법), K(Electrode법) 등을 측정하였다.

#### 뇨검사 및 골수검사

투여기간 종료후 각 군의 암·수 모든 동물을 랫드용 metabolic cage에 한마리씩 분리수용하여 검사전일 오후 4시부터 16시간 동안 채뇨하였다. 회복기간 종료시는 대조군, DA-5018 10.0, 50.0 mg/kg/day 투여군의 암·수 모든 동물을 동일한 방법으로 채뇨하였다. 채취한 뇨에 대해서 외관과 뇨량을 관찰한 후 뇨검사용시험지(multistix, Ames)를 사용하여 pH, 단백(protein), urobilinogen, bilirubin, 포도당(glucose), 키톤체(ketone body), 잠혈(blood), 침사 등에 관하여 검사하였다. 평가는 뇨검사용시험지의 평가표에 의해 평점하였으며, urobilinogen은 <2, 2, 4, 8 Ehrlich units/dL을 각각 -, +, ++, +++ 등으로, 키톤체는 <5, 5-15, 40, 80, 160 mg/dL을 각각 -, ±, +, ++, +++ 등으로, 포도당은 <100, 100, 250, 500, 1000 mg/dL을 각각 -, ±, +, ++, +++ 등으로 평점하였다. 골수검사를 위해 투여종료 후 부검한 각 동물의 흉골을 절제하여 10% 중성 포르말린에 고정하였다. 고정한 표본을 다시 탈회용액(10% formic acid in 10% formalin)에 넣어 탈회시켰다. 탈회한 표본중 대조군과 고용량군에 대하여 병리조직학적 검사를 실시하였으며 검사결과 고용량에서 병변이 인정되면 중용량군까지 동일방

법으로 표본을 제작하여 검사하였다.

#### 부검 및 장기중량측정

투여기간 및 회복기간 종료후 각 군의 동물을 ether로 마취시켜 외관의 이상유무를 육안적으로 관찰하고 채혈을 실시하였다. 채혈후 방혈치사시킨 동물에 대해 부검을 실시하여 체강과 각 실질장기에 대해 육안적검사를 하였다. 각각의 병변을 관찰, 기록한 후 뇌, 뇌하수체, 심장, 폐장, 비장, 간장, 신장, 부신, 전립선, 흉선, 타액선, 갑상선, 고환, 정소, 난소, 정낭, 자궁 등을 주위조직과 분리하여 각 장기의 절대중량을 측정하였으며, 체중에 대한 상대중량을 산출하였다. 시험기간중 폐사한 동물에 대하여도 동일한 방법으로 부검 및 장기중량을 측정하였다.

#### 병리조직학적소견

중량을 측정한 장기와 흉골, 위, 소장, 대장, 장간막임파절, 안구 등의 장기를 10% 중성포르말린에 1주이상 고정시킨 다음 통상적인 방법을 거쳐 조직절편을 제작하였으며, hematoxylin-eosin 염색을 한 후 광학현미경으로 병리조직학적 검사를 실시하였다. 병리조직학적 검사는 대조군과 고용량군에 대하여 실시하였으며, 고용량군에서 이상을 나타내는 장기에 대해서는 다른 용량군에 대해서도 병리조직학적 검사를 실시하였다.

#### 통계학적분석

본 시험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 분석은 Bartlett test로 분산검정을 실시하여 등분산일 경우 일원배치 분산분석법으로 유의성검정을 하였으며, 일원배치 분산분석법에서 유의한 경우 Scheffe법으로 다중비교를 실시하였다. 분산검정의 통계처리는 SAS(Statistical Analysis System) 통계프로그램을 이용하였다.

## 실험결과

#### 폐사율

시험물질 투여기간중 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 암·수 각각 3마리 및 6마리가 폐사하였다. DA-5018 10.0 mg/kg 이하 투여군에서는 암·수 모두 투여기간과 회복기간중 폐사한 동물은 관찰되지 않았다(Table II).

#### 일반증상

시험물질 투여와 연관된 일반증상으로는 약물투여직후 관찰된 급성적 독성증상과 지연형으로 안면부 좌상, 상처 부위 탈모 및 안구병변 등이 관찰되었다.

급성적 독성증상은 암·수 모두 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 약물투여후 약 30분 동안 사지 및 귀발적, 세안운동, head flicking, 보행실조, 복외, 웅크림, 유루, 호흡곤란, 경련, sedation 혹은 depression 등의 증상이 전 시험기간에 걸쳐 관찰되었다. DA-5018 10.0 mg/kg 투여군에서는 일부 개체에서만 정도가 약하게 관찰되었으며, DA-5018 2.0



조군과 비교하여 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다. DA-5018 10.0 mg/kg 이하 용량군에서는 암·수 모두 대조군에

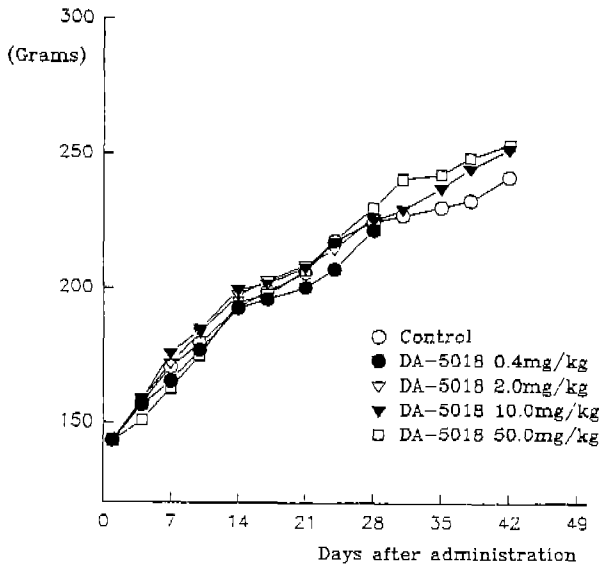


Fig. 2. Body weight changes of female rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks.

비하여 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Table III).

음수량에 있어서는 수컷 동물의 경우 약물을 투여한 21일 및 24일째 측정된 결과에서 각각 DA-5018 2.0 및 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 통계학적 유의성을 보이며 증가하였고 회복기간인 38일째 측정된 결과에서도 10.0 mg/kg 투여군에서 일시적으로 증가하였으나 모두 용량상관성은 없었다. 한편, 암컷 동물의 경우에는 모든 용량군에서 시험기간과 회복기간을 통하여 대조군과 비교하여 유의성있는 변화가 관찰되지 않았다(Table IV).

**안과학적검사**

시험기간중 관찰된 안구병변은 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군의 암·수 동물에서 약 2주후 부터(암컷 18일째 이후, 수컷 15일째 이후) 각막혼탁이 관찰되어 회복기간 종료시까지 지속되었다. 안구병변은 양안에서 동시에 관찰되었으며, 초기에는 안구중심부에 흰색 또는 회백색의 반점이 나타나 안구각막이 불투명하게 변화하는 각막혼탁의 양상을 보였고 시간이 경과하면서 이 반점이 크게 돌출하거나 함몰되었으며 일부개체에서는 각막표면이 거칠게 변화하면서 부종, 안구돌출, 각막괴사의 양상을 띄었다. DA-5018

Table III. Food consumptions (g/animal/day) in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Sex	Dose (mg/kg)	Days after administration												
		3	7	10	14	17	21	24	28	31 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	38 <sup>a</sup>		
M	Control	21.9±4.6	23.2±4.0	27.0±1.3	28.8±1.7	27.8±2.7	26.1±2.2	27.5±3.4	24.0±3.9	26.4±3.8	30.1±2.0	32.6±0.1		
	0.4	25.7±0.7	25.5±2.6	27.8±2.7	26.2±2.6	28.3±3.9	24.8±2.5	27.6±1.3	22.2±3.5					
	2.0	24.0±0.9	23.1±1.5	27.2±0.6	27.4±1.6	28.9±3.1	22.3±2.4	25.8±1.4	24.2±0.2					
	10.0	21.8±2.6	23.0±1.8	27.4±1.3	24.6±2.1	26.2±1.4	25.6±2.4	26.2±1.5	25.0±1.8	24.4±0.5	26.8±1.8	29.3±1.1		
	50.0	15.8±1.8*	21.0±5.1	23.9±3.6*	23.6±3.0*	26.9±2.6	26.6±2.8	27.5±1.5	25.6±3.9	25.0	29.0	28.0*		
F	Control	17.1±1.6	15.2±1.6	18.1±0.8	16.8±2.0	17.7±1.9	15.2±1.9	18.0±0.4	15.9±1.3	14.4±1.6	16.9±0.6	20.0±2.8		
	0.4	17.1±1.0	15.2±1.1	19.9±2.3	17.9±1.1	19.3±2.0	15.8±1.3	16.7±3.0	17.8±3.6					
	2.0	17.1±1.7	13.8±1.9	17.4±1.0	15.8±2.1	19.0±2.2	16.5±1.9	17.0±2.1	16.2±2.2					
	10.0	16.4±1.2	14.9±0.7	16.7±0.7	16.3±1.3	16.6±1.5	17.4±1.0	18.0±1.3	15.1±1.5	13.9±1.2	17.2±0.2	21.2±0.2		
	50.0	12.9±3.8*	12.8±2.0*	19.0±2.2	18.7±1.0	19.1±1.0	18.8±5.9	18.8±2.7	14.7±2.9	12.0	14.7*	113		

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05). <sup>a</sup>Recovery period.

Table IV. Water consumptions (ml/animal/day) in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Sex	Dose (mg/kg)	Days after administration												
		3	7	10	14	17	21	24	28	31 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	38 <sup>a</sup>		
M	Control	34.2±2.6	32.8± 8.2	35.6±11.4	40.8± 4.3	38.6±6.0	37.1± 9.5	35.7±10.4	35.6± 4.8	38.8± 1.8	31.3±8.8	32.6±0.1		
	0.4	33.3±7.6	37.9±16.5	36.2± 9.7	34.6± 9.5	39.6±23.4	35.4± 6.5	38.4± 4.5	33.3± 7.1					
	2.0	32.5±9.9	29.6± 8.9	36.3± 4.6	49.6± 2.9	49.6±10.7	39.2± 2.2*	42.9± 3.5	40.9± 5.9					
	10.0	32.2±8.6	40.1± 5.6	42.0± 3.3	38.5±13.5	42.2± 7.1	43.3± 3.8*	46.3± 4.7*	43.6± 2.7	32.5±17.7	41.7±4.7	47.9±0.6*		
	50.0	30.8±3.1	32.9±13.3	41.8±13.0	47.8± 9.5	45.4±16.9	49.0±11.7*	50.4± 8.0*	51.9± 9.4*	45.0	60.0	50.0		
F	Control	25.7±12.9	29.2±7.9	26.4±2.9	28.7±3.1	28.7± 5.5	26.3±8.2	26.3±5.2	25.7±3.0	19.2±1.2	25.0±0.0	30.4±3.0		
	0.4	23.3± 9.8	30.4±9.3	29.2±6.5	30.0±4.9	29.2± 5.2	24.6±3.4	27.5±4.0	27.6±8.6					
	2.0	22.9± 5.0	22.9±8.5	28.8±3.7	25.4±8.7	37.1±10.0	30.9±6.7	27.5±9.7	29.2±5.2					
	10.0	23.2± 7.9	28.8±5.1	28.1±4.5	30.0±6.4	35.0± 7.0	33.1±3.7	32.2±3.5	26.4±4.2	23.4± 4.7	28.8±8.8	36.7±9.4		
	50.0	31.1±13.5	28.4±4.8	34.2±8.1	31.4±2.2	32.9±15.1	26.2±8.9	33.1±6.8	27.1±6.8	18.3	21.7	20.0		

Each value represents maen±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05). <sup>a</sup>Recovery period.

**Table V.** Hematological changes in male rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	0.4 n=12	2.0 n=12	10.0 n=12	50.0 n=10
WBC	7.1±2.4	8.4±1.6	8.7±1.8	8.6±2.6	6.9±2.8
Lymphocyte	90.3±3.1	86.0±6.2	89.4±2.9	89.1±3.5	87.4±6.9
Neutrophil	9.2±2.8	13.6±5.9	10.1±3.3	10.6±3.5	11.8±7.0
Eosinophil	0.2±0.4	0.2±0.4	0.3±0.6	0.2±0.4	0.4±0.8
Monocyte	0.2±0.4	0.1±0.3	0.1±0.3	0.1±0.3	0.1±0.3
Basophil	0.2±0.4	0.1±0.3	0.2±0.4	0.1±0.3	0.3±0.5
RBC	6.9±0.3	6.6±0.3	6.5±0.5	7.6±0.4*	7.6±0.8*
HB	12.9±0.6	12.8±0.4	12.8±0.9	14.1±0.7*	13.9±1.3*
HT	38.9±1.5	39.5±1.2	39.6±2.6	42.3±1.9*	42.1±3.6*
MCV	56.3±1.3	54.9±1.2*	55.2±1.5	55.4±1.4	55.7±1.7
MCH	18.5±0.7	18.2±0.6	18.3±0.7	18.4±0.6	18.3±0.5
MCHC	33.0±0.7	33.1±0.6	33.2±0.6	33.2±0.5	32.9±0.3
PLT	841.8±143.0	805.7±43.2	800.4±143.6	835.0±80.4	843.8±60.5

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

**Table VI.** Hematological changes in female rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	0.4 n=12	2.0 n=12	10.0 n=12	50.0 n=10
WBC	7.0±1.7	7.0±2.8	7.6±2.1	7.1±1.6	7.2±2.9
Lymphocyte	88.3±3.5	88.5±3.7	88.3±3.4	89.9±3.1	88.2±6.1
Neutrophil	11.3±3.1	11.1±3.7	11.2±3.0	9.8±3.2	11.4±5.9
Eosinophil	0.2±0.4	0.3±0.5	0.3±0.6	0.1±0.3	0.1±0.3
Monocyte	2.0±0.4	0.1±0.5	0.3±0.5	0.1±0.3	0.2±0.4
Basophil	0.1±0.3	0.1±0.3	0.1±0.3	0.1±0.3	0.2±0.4
RBC	7.0±0.3	7.2±0.3	7.3±0.3	7.3±0.3	7.2±0.3
HB	12.7±0.3	12.8±0.5	12.2±0.7	13.4±0.5*	13.7±0.4*
HT	38.9±1.1	39.6±1.2	40.1±2.1	39.5±1.1	40.1±1.2
MCV	55.3±1.6	55.4±1.9	55.0±1.3	54.3±1.8	55.7±1.4
MCH	18.1±0.6	18.4±0.7	18.4±0.5	18.4±0.8	19.0±0.7*
MCHC	33.7±0.6	33.2±0.5	33.5±0.4	33.8±0.6	34.0±0.5
PLT	774.4±150.3	779.4±114.9	799.7±117.0	788.8±102.9	805.1±105.8

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

**Table VII.** Hematological changes in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks at the end of 2-week recovery period

Item	Male			Female		
	Control n=5	10.0 n=5	50.0 n=1	Control n=4	10.0 n=5	50.0 n=2
WBC	7.5±1.7	7.0±1.8	6.2	8.2±1.0	10.2±4.8	8.1±0.3
Lymphocyte	88.2±3.6	88.4±4.5	89	88.0±5.5	86.2±5.5	84.5±5.0
Neutrophil	10.8±3.61	11.4±4.6	11	11.6±5.3	13.6±5.3	14.0±5.7
Eosinophil	0.0±0.0	0.0±0.0	0	0.2±0.5	0.0±0.0	1.0±0.0
Monocyte	0.0±0.0	0.2±0.5	0	0.2±0.5	0.2±0.5	0.0±0.0
Basophil	0.0±0.0	0.0±0.0	0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.5±0.7
RBC	7.5±0.2	7.5±0.2	7.0*	7.3±0.6	7.3±0.1	7.2±0.1
HB	13.6±0.5	13.8±0.3	13.0	13.4±0.9	13.4±0.7	13.4±0.1
HT	39.1±1.2	39.3±0.8	36.9	38.9±2.3	38.6±1.2	39.6±0.2
MCV	52.2±1.1	52.6±1.1	53.0	53.0±1.4	52.8±0.8	55.0±2.0
MCH	18.1±0.4	18.4±0.5	18.6	18.2±0.6	18.2±0.8	18.7±0.4
MCHC	34.6±0.2	35.0±0.3	35.2*	34.4±0.5	34.6±0.8	33.9±0.5
PLT	542.8±221.8	615.6±29.0	661.0	605.0±67.3	653.6±27.2	667.0±55.2

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

10.0 mg/kg 이하 용량군에서는 암·수 모두 안구병변이 관찰되지 않았다.

#### 혈액학적검사

혈액학적 검사 결과는 Table V~VII과 같다. 시험기간 종료후 실시한 혈액학적검사 결과 수컷 동물에서는 DA-5018 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 통계학적 유의성있는 RBC, HB, HT치의 증가가 관찰되었으며, DA-5018 0.4 mg/

kg 투여군에서는 MCV치의 유의성있는 감소가 인정되었다 ( $p<0.05$ ). 암컷동물의 경우에는 DA-5018 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 HB치의 유의성있는 증가와 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 MCH치의 증가가 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 가지는 것으로 나타났다( $p<0.05$ ). 그외 각 군에서 특이적인 변화를 보인 항목은 없었다. 한편, 회복기간 종료시에 실시한 혈액학적 검사 결과, DA-5018 50.0

**Table VIII.** Blood biochemical changes in male rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	DA-5018 0.4 n=12	DA-5018 2.0 n=12	DA-5018 10.0 n=12	DA-5018 50.0 n=10
Albumin	1.3 ±0.1	1.3 ±0.1	1.4 ±0.1	1.4 ±0.1	1.3 ±0.1
Alkaline phosphatase	223.2 ±54.1	207.6 ±57.3	218.5 ±74.4	198.7 ±54.0	190.4 ±47.4
ALT	31.4 ±3.5	26.3 ±4.3	30.1 ±6.4	36.1 ±11.2	32.9 ±4.5
AST	177.0 ±55.0	26.3 ±4.3	167.7 ±59.9	217.2 ±111.6	241.0 ±105.7
Bilirubin	0.4 ±0.1	128.8 ±19.7	0.6 ±0.4	0.5 ±0.2	0.5 ±0.3
Calcium	9.9 ±0.3	0.5 ±0.2	10.5 ±0.6*	10.4 ±0.6	9.9 ±0.7
Cholesterol	90.7 ±17.0	10.0 ±0.7	91.7 ±10.3	89.2 ±14.8	92.2 ±11.9
Creatinine	0.53±0.1	88.9 ±12.7	0.45±0.1	0.48±0.1	0.43±0.2*
Glucose	154.5 ±19.4	0.46±0.1	158.2 ±20.1	146.4 ±30.2	114.8 ±45.9*
LDH	2754.8 ±1045.5	175.4 ±28.1	2628.8 ±1211.2	2371.0 ±929.1	3345.6 ±1484.9
Phosphorus	9.0 ±0.9	1888.2 ±536.7	9.8 ±1.4	9.5 ±0.4	8.5 ±0.7
Protein	5.9 ±0.2	9.3 ±0.9	6.2 ±0.4	6.3 ±0.4	6.3 ±0.6
Triglyceride	139.7 ±24.6	6.1 ±0.3	132.1 ±42.3	105.9 ±27.5*	109.1 ±29.4*
BUN	18.9 ±2.3	128.1 ±28.8	16.3 ±1.2*	16.9 ±2.6	19.8 ±3.7
Na	143.4 ±1.3	17.3 ±3.5	144.3 ±2.0	143.9 ±2.5	144.3 ±1.7
K	4.8 ±0.3	142.8 ±1.4	4.9 ±0.3	5.1 ±0.5	5.0 ±0.4
Cl	102.0 ±1.2	4.6 ±0.4	103.5 ±1.4	102.4 ±2.6	102.9 ±1.5
PT	11.6 ±0.5	103.4 ±1.4	11.9 ±0.6	11.8 ±0.9	12.0 ±0.5

Each value represents mean ± S.D. \*Significantly different from the control ( $p<0.05$ ).

**Table IX.** Blood biochemical changes in female rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	DA-5018 0.4 n=12	DA-5018 2.0 n=12	DA-5018 10.0 n=12	DA-5018 50.0 n=12
Albumin	1.4 ±0.1	1.5 ±0.1	1.5 ±0.1	1.4 ±0.1	1.4 ±0.1
Alkaline phosphatase	121.0 ±23.2	151.0 ±26.3	125.0 ±34.8	120.6 ±43.3	139.6 ±57.4
ALT	26.3 ±5.3	26.6 ±14.1	28.4 ±8.8	32.5 ±14.9	26.5 ±6.5
AST	145.8 ±44.0	144.1 ±46.0	135.4 ±20.3	149.8 ±53.7	122.1 ±19.1
Bilirubin	0.3 ±0.2	0.3 ±0.2	0.4 ±0.2	0.6 ±0.5	0.4 ±0.2
Calcium	10.2 ±0.4	10.2 ±0.5	10.4 ±0.5	10.2 ±0.2	10.2 ±0.4
Cholesterol	100.7 ±17.4	85.2 ±18.7*	101.1 ±14.3	95.2 ±10.9	94.9 ±13.9
Creatinine	0.52±0.1	0.51±0.1	0.44±0.1	0.43±0.1*	0.42±0.1*
Glucose	162.1 ±28.2	165.2 ±31.1	159.9 ±18.1	154.9 ±15.1	155.4 ±19.5
LDH	1961.0 ±1936.7	2031.4 ±1113.0	1997.8 ±442.5	1722.2 ±409.3	1612.1 ±572.0
Phosphorus	7.8 ±0.8	8.1 ±0.6	8.2 ±1.6	8.2 ±0.7	8.5 ±0.9
Protein	6.4 ±0.3	6.2 ±0.3	6.4 ±0.3	6.5 ±0.3	6.5 ±0.3
Triglyceride	70.8 ±17.3	80.0 ±13.1	71.4 ±17.7	62.4 ±15.8	71.2 ±20.6
BUN	23.8 ±4.1	23.5 ±4.8	19.7 ±3.4*	19.8 ±2.1*	20.2 ±4.5*
Na	142.0 ±0.9	142.3 ±1.49	141.6 ±0.8	141.6 ±1.3	141.6 ±1.0
K	4.2 ±0.4	4.3 ±0.4	4.6 ±0.6	4.3 ±0.3	4.6 ±0.6
Cl	105.4 ±1.7	104.9 ±1.4	104.1 ±2.3	104.5 ±1.7	104.5 ±1.9
PT	11.6 ±0.4	12.9 ±3.9	11.4 ±1.8	11.0 ±0.3	10.9 ±0.3

Each value represents mean ± S.D. \*Significantly different from the control ( $p<0.05$ ).

mg/kg 투여군의 수컷동물에서 RBC수의 감소와 MCHC치의 증가가 관찰되었으나 폐사때문에 동물수가 1마리 였기 때문에 통계학적 의의는 부여할 수 없었으며 그의 시험기간 중에 나타난 각 용량군의 모든 변화는 소실되었다.

**혈청생화학적검사**

투약기간 종료후의 혈청생화학적 검사 결과 암컷 동물의 creatinine치의 감소를 제외하고는 DA-5018을 투여한 모든 용량군에서 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 보이며 용량의존적으로 증가하거나 감소하는 항목은 없었다 (Table VIII, IX). 그러나, 수컷동물의 경우에는 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서는 creatinine, glucose, triglyceride치의 감소가, 10.0 mg/kg 투여군에서는 triglyceride치의 감소

가, 2.0 mg/kg 투여군에서는 BUN치의 감소와 calcium치의 증가가 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 보이는 항목이었다(p<0.05). 암컷동물에서는 DA-5018 2.0 mg/kg 이상 투여군에서 BUN치의 감소와, DA-5018 2.0 mg/kg 투여군에서 phosphorus치의 증가가 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있는 차이를 나타내었다(p<0.05). 한편, 이상에서 관찰되었던 모든 변화는 수컷 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 glucose치의 감소를 제외하고는 회복기간 종료후 실시한 혈청생화학적검사 결과에서 모두 정상으로 관찰되었다(Table X).

**뇨검사**

시험기간 종료후 실시한 뇨검사에서 DA-5018 50.0 mg/

**Table X.** Biochemical changes in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks at the end of 2-week recovery period

Item	Male			Female		
	Control n=5	DA-5018 10.0 n=5	DA-5018 50.0 n=1	Control n=5	DA-5018 10.0 n=5	DA-5018 50.0 n=2
Albumin	1.3 ±0.1	1.2 ±0.1	1.4	1.5 ±0.0	1.4 ±0.1	1.3 ±0.1
Alkaline phosphatase	153.2 ±33.5	137.3 ±24.8	182.5	102.9 ±20.8	104.5 ±16.9	85.1 ±16.5
ALT	31.1 ±3.3	29.4 ±8.5	40.3	22.2 ±2.7	25.7 ±3.4	21.3 ±1.9
AST	105.9 ±10.4	125.4 ±8.3	119.1	101.9 ±10.5	90.5 ±12.7	85.1 ±8/4
Bilirubin	0.4 ±0.2	0.3 ±0.1	0.5	0.3 ±0.1	0.5 ±0.2	0.5 ±0.3
Calcium	9.7 ±0.2	9.4 ±0.7	10.2	10.4 ±0.2	10.7 ±0.7	10.9 ±0.2
Cholesterol	90.3 ±11.3	96.3 ±14.9	72.4	97.4 ±30.8	100.8 ±26.8	111.7 ±5.4
Creatinine	0.70±0.1	0.56±0.1	0.89	0.63±0.2	0.60±0.1	0.47±0.0
Glucose	156.8 ±12.0	120.1 ±14.9*	114.8*	158.6 ±33.1	151.9 ±26.0	161.0 ±16.5
LDH	1126.4 ±244.1	1283.8 ±347.5	1007.0	1184.4 ±297.4	848.4 ±162.9	855.5 ±28.9
Phosphorus	8.2 ±0.6	7.7 ±0.8	8.4	8.5 ±0.7	8.2 ±0.6	7.9 ±0.5
Protein	6.1 ±0.1	5.7 ±0.2	6.2	6.3 ±0.3	6.6 ±0.4	6.4 ±0.1
Triglyceride	148.6 ±31.0	113.3 ±20.6	196.7	69.1 ±10.4	69.4 ±17.4	50.9 ±1.7
BUN	17.3 ±1.6	17.9 ±2.7	18.3	18.3 ±3.5	16.6 ±0.9	14.2 ±0.1
Na	142.4 ±0.8	142.4 ±0.9	145.3	142.9 ±0.7	143.2 ±1.7	143.4 ±0.5
K	4.4 ±0.2	4.4 ±0.3	4.6	4.7 ±0.5	4.5 ±0.6	5.2 ±0.1
Cl	101.4 ±0.9	103.7 ±1.3	103.7	103.4 ±1.3	103.3 ±1.7	103.1 ±0.7
PT	12.3 ±1.4	12.9 ±4.5	12.1	11.2 ±0.6	10.8 ±0.4	20.8 ±14.9

Each value represents mean ± S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

**Table XI.** Urinalysis in rats orally administered with DA-5018 once a day for 4 weeks

Sex	Dose (mg/Kg)	No. of animals	Volume (ml)	Glucose			Bilirubin			Ketone			Occult blood			pH			Protein			Uro-bilongen		WBC Sediment			
				-	-	+	-	±	+	-	±	+	6.0	6.5	7.0	7.5	±	+	++	-	+	-	-	+	++		
Male	Control	12	8.18±2.80	12	10	2	2	10	0	12	0	2	4	6	0	1	7	0	12	0	12	2	4	6			
	0.4	12	8.38±2.81	12	11	1	3	4	5	12	0	0	5	7	0	4	7	0	12	0	12	2	4	6			
	2.0	12	7.58±1.96	12	12	0	3	6	3	12	0	0	3	8	1	2	10	1	12	0	12	1	5	6			
	10.0	12	6.24±2.05	12	12	0	3	6	3	12	0	1	3	4	4	0	4	4	12	0	12	0	4	8			
	50.0	12	4.13±1.88*	12	10	0	4	5	1	7	3	2	6	2	0	0	2	0	10	0	10	0	1	9			
Female	Control	12	5.56±1.62	12	12	0	11	1	0	12	0	2	7	3	0	12	0	0	12	0	12	3	9	0			
	0.4	12	4.93±1.02*	12	12	0	11	0	1	12	0	6	6	0	0	12	0	0	12	0	12	5	7	0			
	2.0	12	5.06±1.83	12	11	1	11	1	0	12	0	3	7	2	0	7	5	0	12	0	12	6	6	0			
	10.0	12	4.95±1.31	12	12	0	11	1	0	12	0	2	8	2	0	7	5	0	12	0	12	5	5	2			
	50.0	12	5.41±1.12	12	12	0	12	0	0	12	0	0	7	2	3	8	4	0	12	0	12	6	2	1			

Urine volume was expressed as mean ± S.D. Other data are expressed as the number of rats under grade. \*Significantly different from the control (p<0.05).



kg 투여군의 수컷동물과 DA-5018 0.4 mg/kg 투여군의 암컷 동물에서 대조군과 비교하여 유의성있는 뇨량 감소를 보였으나( $p < 0.05$ ) 모두 용량상관성은 결여되었으며, 그의 시험 물질과 연관된 것으로 보이는 변화는 관찰되지 않았다 (Table XI). 한편, 회복기간 종료후 실시한 뇨검사 결과에서는 뇨량을 포함하여 모든 항목에서 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다 (Table XII).

**병리학적검사**

**부검소견**

시험기간중 폐사한 수컷 50.0 mg/kg 투여군 동물의 부검 소견으로는 폐장의 출혈소견이 모든 동물에서 공통적으로 관찰되었으며, 일부 동물에서는 혈액성의 포말성 비루(2/6예), 안면부좌상(4/6예)이 관찰되었다. 암컷 50.0 mg/kg 투여군의 폐사동물에서는 안면부좌상, 폐장의 출혈반점, 흉선의 충혈 및 흑색 혹은 적색반점 등이 공통적으로 관찰되었으며, 각막혼탁 2예와 소장부위에 혈액성의 암적색 수양성 내용물 및 코주위 혈액성의 비루가 각 1예에서 관찰되었다.

시험기간 종료후 실시한 동물의 부검소견에서는 암·수 모두 DA-5018 10.0 및 50.0 mg/kg 투여군에서 각각 1예 및

6예와 3예 및 8예에서 안면부 좌상과 상처부위에서의 탈모나 가피형성 등이 관찰되었다. 또한 암·수 50.0 mg/kg 투여군에서 각각 1예 및 4예에서 각막혼탁이 관찰되었는데, 이중 수컷 2예에서는 안구돌출 및 가피, 피사소 형성등 비교적 증상이 심한 것으로 관찰되었다. 또한, 암·수 동물에 상관없이 전 용량군의 일부 동물에서 폐장의 국소적 점상 출혈 반점과 흉선의 충혈이나 흑색 혹은 적색반점이 관찰되었다. 그의 특기할 만한 것으로는 암컷 50.0 mg/kg 투여군에서 간장의 흉강내 횡격막이탈(diaphragmatic hernia of the liver)과 공장내 점액성 내용물 증만이 각 1예, 수컷 10.0 mg/kg 투여군에서 공장부위 충, 출혈이 1예에서 관찰되었다. 한편, 2주간의 회복기간 종료후 실시한 부검에서는 암·수 모두 50.0 mg/kg 투여군에서 각막혼탁과 안면부 좌상을 제외하고는 특기할 만한 변화가 관찰되지 않았다.

**장기중량**

암·수 모든 동물의 절대중량과 상대중량에서 DA-5018 투여용량과 용량상관성을 보이며 유의성있게 증가하거나 감소하는 항목은 없었다 (Table XIII, XIV, XVI, XVII). 그러나, 수컷 동물의 경우 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 심

**Table XII.** Urinalysis in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks at the end of 2-week recovery period

Sex	Dose (mg/Kg)	No. of animals	Volume (ml)	Glucose			Bilirubin			Ketone			Occult blood		pH				Protein			Uro-biliogen		WBC Sediment			
				-	-	+	-	±	+	-	±	+	-	±	6.0	6.5	7.0	7.5	±	+	++	-	+	-	+	-	+
Male	Control	5	7.00±0.97	5	5	0	2	2	1	5	0	0	2	3	0	0	2	3	5	0	5	0	3	2			
	10.0	5	7.30±3.26	5	5	0	3	2	0	5	0	0	2	3	0	0	2	3	5	0	5	0	3	2			
	50.0	1	4.50	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0			
Female	Control	5	4.64±1.51	5	5	0	5	0	0	5	0	3	1	0	1	4	1	0	5	0	5	3	2	0			
	10.0	5	4.10±1.51	5	5	0	5	0	0	5	0	1	3	0	1	2	2	1	5	0	5	1	4	0			
	50.0	2	6.15±0.35	2	5	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	0	0			

Urine volume was expressed as mean±S.D. Other data are expressed as the number of rats under grade.

**Table XIII.** Absolute organ weights in male rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	DA-5018 0.4 n=12	DA-5018 0.2 n=12	DA-5018 10.0 n=12	DA-5018 50.0 n=12
Brain	2.11±0.23	2.07±0.10	2.08±0.06	2.15±0.19	2.07±0.26
Hypothalamus (mg)	13.37±1.93	13.92±4.04	14.73±6.08	14.19±4.41	10.18±2.00
Heart	1.17±0.11	1.16±0.07	1.14±0.11	1.16±0.11	1.05±0.13*
Liver	11.30±1.38	11.29±1.13	11.16±1.15	10.59±1.21	10.86±2.05
Kidney	2.67±0.28	2.81±0.29	2.62±0.18	2.78±0.32	2.45±0.20*
Spleen	0.78±0.11	0.76±0.10	0.75±0.12	0.69±0.11	0.60±0.12*
Prostate gland	0.48±0.10	0.46±0.12	0.45±0.12	0.46±0.15	0.39±0.16
Adrenal (mg)	66.83±8.23	70.56±14.4	66.43±13.74	76.38±16.85	65.65±9.71
Testes	3.01±0.21	3.16±0.24	3.07±0.17	2.87±0.58	2.57±0.54*
Lung	1.41±0.21	1.38±0.13	1.48±0.26	1.45±0.28	1.51±0.50
Salivary gland	0.63±0.09	0.67±0.11	0.65±0.04	0.69±0.12	0.54±0.11*
Thymus	0.68±0.15	0.58±0.10	0.63±0.12	0.59±0.15	0.60±0.14
Seminal vesicle	0.92±0.28	0.96±0.13	0.99±0.19	0.95±0.17	0.93±0.13
Thyroid gland (mg)	25.67±7.20	22.89±0.87	21.90±3.03	18.33±5.30*	18.43±2.37*

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control ( $p < 0.05$ ).

**Table XIV.** Absolute organ weights in female rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	DA-5018 0.4 n=12	DA-5018 2.0 n=12	DA-5018 10.0 n=12	Da-5018 50.0 n=12
Brain	1.80±0.11	1.84±0.09	1.83±0.11	1.81±0.10	1.87±0.11
Hypothalamus (mg)	10.60±2.07	9.86±2.30	12.38±1.58	10.66±2.13	11.57±2.37
Heart	0.72±0.06	0.72±0.04	0.71±0.05	0.72±0.05	0.74±0.06
Liver	6.74±0.69	6.55±0.67	7.09±0.52	6.81±0.53	7.59±1.11*
Kidney	1.52±0.10	1.62±0.10*	1.69±0.11*	1.65±0.15*	1.75±0.17*
Spleen	0.47±0.07	0.47±0.05	0.45±0.07	0.46±0.04	0.47±0.05
Adrenal (mg)	62.66±14.88	61.33±12.11	62.21±8.12	63.01±7.00	72.99±11.25*
Ovaries	0.12±0.02	0.11±0.02	0.11±0.02	0.11±0.01	0.11±0.02
Lung	0.96±0.09	0.96±0.08	1.04±0.11	0.91±0.04	1.18±0.38*
Salivary gland	0.39±0.04	0.39±0.04	0.39±0.03	0.39±0.03	0.43±0.05*
Thymus	0.42±0.08	0.42±0.08	0.41±0.10	0.37±0.06	0.41±0.09
Vagina	0.44±0.08	0.41±0.05	0.43±0.06	0.45±0.12	0.45±0.07
Thyroid gland (mg)	21.83±7.33	16.56±2.76	20.80±3.66	17.20±2.49	23.11±7.05*

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

**Table XV.** Absolute organ weights in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks at the end of 2-week recovery period

Item	Male			Female		
	Control	DA-5018 10.0	DA-5018 50.0	Control	DA-5018 10.0	DA-5018 50.0
Brain	2.00±0.07	2.05±0.12	2.05	1.91±0.06	1.92±0.05	1.91±0.09
Hypothalamus (mg)	10.96±1.03	9.50±4.72	11.50	12.40±2.09	11.94±1.44	11.00±3.82
Heart	1.24±0.06	1.17±0.04	1.11*	0.72±0.07	0.74±0.06	0.79±0.06
Liver	13.44±1.17	13.76±0.89	10.77*	8.00±0.91	7.49±0.44	8.20±0.63
Kidney	3.11±0.16	2.70±0.23	3.09	1.68±0.20	1.75±0.18	1.84±0.05
Spleen	0.76±0.11	0.67±0.10	0.65	0.48±0.08	0.55±0.03	0.55±0.05
Prostate gland	0.57±0.21	0.49±0.08	0.49	-	-	-
Adrenal (mg)	48.38±5.65	57.56±6.61	53.20	61.70±7.15	59.36±5.98	60.90±1.97
Testes/Ovaries	3.09±0.23	2.94±0.16	3.01	0.11±0.01	0.11±0.02	0.13±0.06
Lung	1.36±0.14	1.24±0.12	1.33	0.99±0.15	1.10±0.13	1.01±0.03
Salivary gland/Thymus	0.65±0.04	0.63±0.05	0.58	0.40±0.05	0.40±0.04	0.40±0.04
Seminal vesicle	0.60±0.07	0.45±0.08	0.48	0.37±0.10	0.39±0.02	0.35±0.04
/Vagina	1.20±0.21	1.33±0.09	1.23	0.54±0.14	0.47±0.07	0.45±0.06
Thyroid gland (mg)	28.90±6.14	24.08±6.06	18.30	24.73±7.75	19.03±2.41	24.50±3.45

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

**Table XVI.** Relative organ weights in male rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	DA-5018 0.4 n=12	DA-5018 2.0 n=12	DA-5018 10.0 n=12	DA-5018 50.0 n=12
Brain	0.63±0.09	0.61±0.03	0.63±0.05	0.68±0.07	0.80±0.16*
Hypothalamus (mg)	4.06±0.46	4.09±1.05	4.42±1.66	4.49±1.42	3.98±1.15
Heart	0.35±0.02	0.34±0.01	0.32±0.02	0.37±0.02	0.40±0.08*
Liver	3.35±0.30	3.35±0.29	3.36±0.19	3.34±0.25	4.34±1.59*
Kidney	0.79±0.07	0.83±0.07	0.79±0.03	0.88±0.09	0.95±0.18*
Spleen	0.23±0.04	0.23±0.04	0.22±0.03	0.22±0.03	0.23±0.04
Prostate gland	0.13±0.05	0.14±0.03	0.14±0.04	0.14±0.05	0.14±0.04
Adrenal (mg)	19.93±3.12	21.04±4.27	20.11±4.63	24.14±5.25*	25.24±4.85*
Testes	0.89±0.07	0.94±0.06	0.93±0.08	0.90±0.17	0.96±0.08
Lung	0.44±0.07	0.41±0.04	0.45±0.09	0.46±0.08	0.60±0.26*
Salivary gland	0.19±0.03	0.20±0.03	0.19±0.01	0.22±0.04	0.21±0.04*
Thymus	0.20±0.04	0.17±0.03	0.19±0.03	0.19±0.05	0.23±0.09*
Seminal vesicle	0.27±0.08	0.29±0.04	0.29±0.06	0.30±0.06	0.36±0.07*
Thyroid gland (mg)	7.64±2.32	6.86±0.42	6.60±0.88	6.14±0.15*	7.06±1.39

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control (p<0.05).

장, 신장, 비장, 정소, 타액선, 갑상선의 절대장기중량이 통계학적 유의성을 보이며 감소하였으나, 상대중량에서는 심장, 신장, 타액선 뿐 아니라 뇌, 간장, 부신, 폐장, 흉선, 정낭선 등의 상대장기중량은 오히려 증가하였다( $p<0.05$ ). 10.0 mg/kg 투여군에서는 갑상선의 절대중량 및 상대중량의 감소와 부신의 상대중량 증가가 대조군과 비교하여 통계학적 차이를 보이는 항목이었다( $p<0.05$ ). 한편, 암컷 동물의 경우에는 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 간장, 신장, 부신, 타액선의 절대중량 및 상대중량이 증가하였으며, 폐장과 갑상선은 절대중량만 통계학적 유의성을 보이며 증가하였다. 0.4 mg/kg 이상 투여군에서는 신장의 절대중량 및 상대중량의 증가가 관찰되었으며, 0.4 mg/kg 투여군에서 뇌의 상대중량증가가 관찰되었다( $p<0.05$ ). 이 중에서 수컷 동물의 비장은 절대중량에서, 암컷동물의 신장은 절대중량과 상대중량에서 용량상관성을 보이며 통계학적 유의성을

나타내었다.

회복기간 종료후 측정된 장기중량에서는 수컷동물의 경우에는 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군의 간장과 심장의 절대중량 감소가 관찰되었으나 폐사로 인하여 동물수가 1마리 밖에 없던점으로 미루어 통계학적 의미를 부여할 수는 없었다. 그외 암·수 모든 동물의 절대중량과 상대중량에서 시험기간 중 나타난 변화들은 소실되고 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다( $p<0.05$ , Table XV, XVIII).

#### 병리조직학적검사

약물투여종료후 실시한 병리조직학적 검사결과는 Table XIX와 같다. DA-5018 50.0 mg/kg을 투여한 수컷 동물에서는 폐장의 폐기종 8예, 폐출혈 3예, 간장의 국소적 round cell 침윤 3예, 상처부위의 국소적 괴사 12예, 눈의 각막괴사 4예 및 각막기질층의 섬유소화 및 혈관신생 각 2예가 관

**Table XVII.** Relative organ weight in female rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks

Item	Control n=12	DA-5018 0.4 n=12	DA-5018 2.0 n=12	DA-5018 10.0 n=12	DA-5018 50.0 n=12
Brain	0.87±0.09	0.94±0.04*	0.89±0.09	0.87±0.06	0.91±0.08
Hypothalamus (mg)	5.61±1.02	4.93±1.19	6.01±0.94	5.19±1.02	5.65±1.22
Heart	0.35±0.03	0.34±0.02	0.34±0.03	0.35±0.02	0.36±0.05
Liver	3.22±0.17	3.25±0.32	3.43±0.30	3.27±0.24	3.70±0.65*
Kidney	0.73±0.05	0.81±0.04*	0.82±0.09*	0.79±0.07*	0.86±0.11*
Spleen	0.22±0.02	0.23±0.03	0.22±0.03	0.22±0.01	0.23±0.02
Adrenal (mg)	29.92±6.39	30.47±5.79	30.06±3.65	30.28±3.56	35.77±6.85*
Ovaries	0.06±0.01	0.06±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01
Lung	0.46±0.05	0.48±0.04	0.51±0.05	0.44±0.03	0.54±0.19
Salivary gland	0.19±0.02	0.20±0.02	0.19±0.02	0.19±0.01	0.21±0.02*
Thymus	0.20±0.04	0.21±0.04	0.20±0.05	0.17±0.02	0.20±0.05
Vagina	0.21±0.03	0.20±0.02	0.21±0.03	0.21±0.05	0.22±0.04
Thyroid gland (mg)	10.61±3.57	8.29±1.59	10.17±2.00	8.29±0.99	11.26±3.77

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control ( $p<0.05$ ).

**Table XVIII.** Relative organ weight in rats orally administered with DA-5018 for 4 weeks at the end of 2-week recovery period

Item	Male			Female		
	Control	DA-5018 10.0	DA-5018 50.0	Control	DA-5018 19.0	DA-5018 50.0
Brain	0.49±0.02	0.55±0.05	0.54	0.85±0.06	0.85±0.05	0.83±0.00
Hypothalamus (mg)	2.68±0.22	2.53±1.26	3.01	5.55±0.98	5.36±0.80	4.77±1.43
Heart	0.30±0.01	0.31±0.02	0.29	0.32±0.02	0.33±0.03	0.34±0.01
Liver	3.28±0.30	3.86±0.24	2.81	3.52±0.28	3.28±0.22	3.58±0.10
Kidney	0.76±0.04	0.72±0.04	0.81	0.75±0.05	0.77±0.05	0.81±0.02
Spleen	0.19±0.02	0.18±0.03	0.17	0.21±0.03	0.24±0.02	0.24±0.01
Prostate gland	0.14±0.05	0.13±0.03	0.13	-	-	-
Adrenal (mg)	11.85±1.69	15.28±1.62	13.91	27.50±2.52	26.08±3.22	26.26±0.44
Testes/Ovaries	0.75±0.04	0.78±0.04	0.79	0.05±0.01	0.05±0.01	0.06±0.03
Lung	0.33±0.04	0.33±0.04	0.35	0.44±0.06	0.48±0.06	0.044±0.03
Salivary gland	0.16±0.01	0.17±0.01	0.15	0.18±0.03	0.18±0.03	0.18±0.01
Thymus	0.15±0.02	0.12±0.03	0.12	0.16±0.03	0.17±0.02	0.15±0.01
Seminal vesicle/Vagina	0.29±0.05	0.35±0.03	0.32	0.24±0.06	0.20±0.02	0.20±0.04
Thyroid gland (mg)	6.92±1.52	6.40±1.63	4.78	11.09±2.27	8.28±1.00	10.35±1.10

Each value represents mean±S.D. \*Significantly different from the control ( $p<0.05$ ).

**Table XIX.** Microscopic findings in rats treated with DA-5018 for 4 weeks

Tissue observation	DA-5018 (mg/kg/day)									
	0		0.4		2.0		10.0		50.0	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Skin	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(16)	(15)
Focal necrosis	0	0	0	0	0	0	3	1	12	9
Eye	(12)	(12)	(1)	(1)	(1)	(0)	(12)	(12)	(16)	(15)
Keratinization of cornea	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3
Focal hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Fibrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Lung	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(16)	(15)
Mild emphysema	7	6	4	0	3	1	4	3	8	5
Mild congestion	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0
Focal eosinophilic exudate	0	1	0	0	0	0	0	0	4	1
Focal hemorrhage	0	1	0	0	0	0	1	1	3	1
Liver	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)	(16)	(15)
Focal cell infiltration	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1
Thymnus	(12)	(12)	(0)	(0)	(1)	(0)	(12)	(12)	(16)	(15)
Mild congestion	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3
Urinary bladder	(12)	(12)	(3)	(1)	(6)	(3)	(4)	(4)	(16)	(15)
Eosinophilic material	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Testis	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(16)	(0)
Hypotrophy of spermatoid	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Brain	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Heart	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Kidney	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Spleen	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Adrenal gland	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Ovary	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(15)
Within normal limits	0	12	0	0	0	0	0	0	0	15
Thyroid gland	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Gastrointestinal tract	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15
Bone marrow	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(16)	(15)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	0	0	16	15

Code:( )=Number of Animals Examined. M: male, F: female.

찰되었다. 암컷 50.0 mg/kg 투여 동물에서는 폐장의 폐기종 5예, 폐출혈 1예, 간장의 국소적 round cell 침윤 1예, 상처 부위의 국소적 괴사 9예, 눈의 각막괴사 및 각막기질층의 섬유소화 혹은 혈관신생이 각 3예 및 1예에서 관찰되었으며, 그외 장기에 대한 검사결과 유의한 병리조직학적 소견은 관찰되지 않았다. 한편, 회복기간 종료후 실시한 병리조직학적 검사결과에서는 수컷동물에서 폐장의 폐기종 1예, 간장의 국소적 round cell 침윤 1예, 눈의 각막괴사 및 각막기질층의 섬유소화나 혈관신생이 1예에서 관찰되었으며, 암컷동물에서는 폐장의 폐기종 1예, 상처부위의 국소적 괴

**Table XX.** Microscopic findings in rats at the end of 2-week recovery period

Tissue observation	DA-5018 (mg/kg/day)					
	0		10.0		50.0	
Sex	M	F	M	F	M	F
Skin	(5)	(5)	(5)	(5)	(1)	(2)
Focal necrosis	0	0	2	1	1	1
Eye	(5)	(5)	(5)	(5)	(1)	(2)
Keratinization of cornea	0	0	0	0	1	1
Focal hemorrhage	0	0	0	0	1	1
Fibrosis	0	0	0	0	1	0

Table XX. Continued.

Tissue observation	DA-5018 (mg/kg/day)					
	0		10.0		50.0	
Sex	M	F	M	F	M	F
Lung	(5)	(5)	(5)	(5)	(1)	(2)
Mild emphysema	3	2	2	0	1	1
Mild congestion	0	0	0	1	1	0
Focal eosinophilic exudate	0	0	0	0	1	0
Focal hemorrhage	0	0	0	0	1	0
Liver	(5)	(5)	(5)	(5)	(1)	(2)
Focal cell infiltration	2	0	0	0	1	0
Thymus	(5)	(5)	(5)	(5)	(1)	(2)
Mild congestion	0	0	0	0	0	0
Urinary bladder	(5)	(5)	(5)	(5)	(1)	(2)
Eosinophilic material	0	0	0	0	0	0
Testis	(5)	(0)	(5)	(0)	(1)	(2)
Hypotrophy of spermatoid	0	0	0	0	0	0
Brain	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Heart	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Kidney	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Spleen	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Adrenal gland	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Ovary	(0)	(5)	(0)	(0)	(0)	(2)
Within normal limits	0	5	0	0	0	2
Thyroid gland	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Gastrointestinal tract	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2
Bone marrow	(5)	(5)	(0)	(0)	(1)	(2)
Within normal limits	5	5	0	0	1	2

사 및 각막의 섬유소화 1예가 병리조직학적 이상소견으로 관찰되었다(Table XX).

## 고 찰

DA-5018은 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis 등을 적응증으로 하여 동아제약(주) 연구소에서 연구 중인 비 마약성 진통제이다. 본 시험은 DA-5018의 안전성 평가의 일환으로 랫드에 DA-5018을 0, 0.4, 2.0, 10.0 그리고 50.0 mg/kg/day의 용량을 경구로 4주간 반복 투여하여 이때 발현되는 독성학적 변화를 관찰하고, 대조군, DA-5018 10.0 및 50.0 mg/kg 투여군의 일부동물을 2주간 휴약하여 그 회복상을 검토하기 위하여 실시하였다.

DA-5018 투여 직후 관찰되는 급성적 독성증상인 사지 및 귀발적, 세안운동, head flicking, 보행실조, 복와위자세, 웅크림, 유루, 호흡곤란, 경련, sedation 혹은 depression 등의

증상은 DA-5018 10.0 mg/kg 투여군에서는 일부동물에서, 50.0 mg/kg 투여군에서는 모든 동물에서 전 시험기간 동안 시험물질 투여 직후 약 30분 동안 관찰되었다. 이와같은 증상 중 복와위자세, 웅크림 등의 증상은 독성이 심한 동물에서 흔히 나타나는 자기 방어적 기작의 일반증상으로 사료되었으며 유루, 혼수, 진전, 발작 등의 증상은 주로 자율신경계통과 관련있는 증상으로서 시험물질이 자율신경계에 직, 간접적으로 영향을 주었을 것으로 추정되었다. 호흡곤란, 복식호흡 등의 일반증상은 심장이나 폐의 병변에 따른 것인지 중추신경계내의 호흡중추의 장애 등에 기인한 것인지 명확히 알 수는 없었으나 이들의 영향에 따른 것으로 추측되었다(Hayes, 1989). 이와같은 임상증상은 본 연구소에서 랫드를 이용한 경구투여 급성독성시험(문헌투고중)에서는 9 mg/kg 이상 용량군에서부터 관찰되었으며, 한국화학연구소에서 랫드를 이용하여 KR-25018(DA-5018의 free base)로 실시한 아급성 독성시험(한국화학연구소, 1993)에서는 12 mg/kg 이상 용량군에서 관찰된 증상으로 본 시험 결과와 유사하였다.

DA-5018 투여후 지연형으로 관찰된 독성증상으로는 안면부좌상과 안구병변이 각각 10.0 mg/kg 이상 투여군과 50 mg/kg 투여군의 암·수 동물에서 출현하였다.

안면부 좌상이나 상처부위 탈모 등의 증상은 출현 빈도가 용량의존적으로 증가하였으며, 50.0 mg/kg 투여군에서는 시험물질 투여후 약 1주부터, 10.0 mg/kg 투여군에서는 약 2주부터 관찰되어, 병변이 관찰된 개체수 뿐만 아니라 출현시기에 있어서도 용량반응성을 나타내었다. 한편, 이와같은 증상은 전신적으로 출현하는 것이 아니라 얼굴부위나 목부위에 국한되어 관찰되었는데 동일계 약물인 capsaicin의 경우에도 랫드에서 이와같은 안면부 좌상(wound, scab, spot of alopecia)이 나타나는 것으로 보고되어 있으며, 그 이유로는 첫째, 시험물질을 투여한 경우 실험동물의 behavior가 변화(ex, excitation, fighting)하거나 둘째, capsaicin이 안면부에 광범위하게 분포하는 sensory trigeminal nerve에 영향을 미치고 따라서 삼차신경에 의해 유지되는 안면부의 tissue integrity가 저하되어 발생하거나 셋째, 세안작용과 같은 microtrauma 작용이 반복되어 나타난다고 알려져 있다(Maggi 등, 1987). 이에 근거하여 판단하면, 본 시험에서 관찰된 DA-5018 투여후 나타나는 흥분, 돌진, 세안운동증가 등이 안면부 좌상을 유발하는 원인으로 작용하였을 것으로 추측되며, DA-5018의 신경독성시험(I)(미발표자료 b, 1995)의 안구병변 발생기전 처럼 sensory trigeminal nerve가 연 관되었을 가능성도 배제할 수 없을 것으로 사료되었다.

안구와 관련된 병변은 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 암·수 모두 약 2주째 부터 각막혼탁이 관찰되어 회복기간 종료시까지 지속되었다. 안구를 육안적으로 관찰한 결과 병변은 주로 양안에서 동시에 관찰되었는데, 초기에는 안

구중심부에 흰색 또는 회백색의 반점이 나타나 안구각막이 불투명하게 변화하는 각막혼탁의 양상을 보였고 시간이 경과하면서 이 반점이 크게 돌출하거나 함몰되었으며 수컷 2예와 암컷 1예에서는 각막표면이 거칠게 변화하면서 부종, 안구돌출, 각막괴사의 양상을 띠었다. 이와같은 소견은 capsaicin으로 실시한 안구 독성 시험에서의 육안적소견과 일치하며(Shimizu 등, 1984; 1987), 본 연구소에서 실시했던 신경독성시험(I)에서의 소견과도 일치하는 결과였다. 한편, 이와같은 안구를 조직학적으로 관찰한 결과, 변화는 주로 각막상피와 기질층에서 관찰되었다. 즉, 안구 각막상피층의 각화, 증생, 각막 상피세포의 증창 및 각막 기질층에서의 섬유화 등은 안구중심 부위의 흰색 또는 회백색의 육안소견으로 나타났으며, 섬유화가 진행된 각막 기질층에서의 모세혈관 신생과 혈액의 침윤은 육안적으로 흰색부위 주위의 충혈된 부분으로 관찰된 것이었다. Shimizu 등(Shimizu 등, 1987)은 capsaicin에 의해 유발되는 neuroparalytic keratitis-like corneal lesions은 삼차신경의 감각신경지배 이상에 의해 유발되는 것이라고 하였으며 각막상피에서의 변화와 nerve axon 손실이 특징적인 조직학적 소견이라고 하였다. 이와같은 점에 근거하여 판단하면, 본 시험에서 DA-5018에 의하여 나타난 안구 병변의 육안적소견 및 안구 각막상피에서의 조직학적소견이 모두 capsaicin과 유사한 것으로 미루어 볼때 DA-5018도 동일계 약물인 capsaicin과 유사한 기전으로 각막의 병변을 일으키는 것으로 사료되었다. 한편, 한번 출현한 안구병변은 회복기간 종료시까지 지속되었는데, 이는 시험물질이 안구각막에 지속적인 독성학적 영향을 주었거나 단회의 강한 회복 불가능한 자극을 주었기 때문인 것으로 추측되었다. 그러나 DA-5018 10.0 mg/kg 이하 용량군에서는 암·수 모두 안구와 연관된 변화가 없었으며, 급성독성시험에서도 안구병변이 출현한 점으로 미루어, DA-5018은 축적되기 보다는 일정역치 이상에서 단회 투여만으로도 회복 불가능한 비가역적인 강한 독성학적 영향을 나타내는 것으로 판단되었다. 참고로 이와같은 안구병변은 DA-5018의 신경독성시험(I)(미발표자료 b, 1995)과 랫드 경구투여 급성독성시험(문헌투고중)에서도 각각 12.5 mg/kg 이상 및 27 mg/kg 이상 용량군에서 관찰되었으며, Shimizu 등(Shimizu 등, 1984)의 마우스와 랫드를 이용한 capsaicin의 안구독성시험에서도 동물종에 상관없이 12.5 mg/kg 이상 용량군에서 관찰되었다. 또한, 한국화학연구소의 KR-25018의 아급성 독성시험(한국화학연구소, 1993)에서도 48 mg/kg 용량군에서 각막혼탁이 관찰되어 본 시험 결과와 유사하였다. 그러나 안구병변이 유발되는 용량은 동물종과 투여방법의 차이가 있어 직접적인 용량 비교는 어려웠으며, 병변의 출현시기에 있어서도 KR-25018의 아급성 독성시험에서는 시험물질 투여후 2-4일 이후부터 나타나 본 시험결과와 약간의 차이를 보였다. Shim-

izu 등(Shimizu 등, 1984)에 따르면 Wistar rat을 이용한 capsaicin의 안구 독성 시험에서 strain 차이가 있다고 하였는데, 이에 근거한다면 본 시험결과와 한국화학연구소의 시험결과와의 차이는 랫드 strain에 기인한 것으로 추정되었다.

동물의 폐사는 암·수 모두 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서만 관찰되었는데, KR-25018의 아급성 독성시험에서는 48 mg/kg에서 폐사가 관찰되어 본 시험에서의 용량과 비슷하였으나 Monsereenusom(Monsereenusom, 1983)은 DA-5018과 동일계 물질인 capsaicin과 capsicum fruit crude extracts를 랫드에 각각 50 mg/kg/day 및 0.5 g/kg/day의 용량으로 60일간 경구투여 하여도 동물의 폐사는 없었다고 하여 차이를 보였다. 폐사한 동물을 부검하였을 경우 모든 동물에서 폐장이 크게 확장되어 있고 폐표면이 선홍색 또는 암적색으로 변색되어 있는 점에 미루어 보면, DA-5018 투여 후 심한 호흡곤란에 이어 폐출혈로 동물이 폐사하며 급성적인 호흡곤란을 넘긴 동물은 생존하는 것으로 사료되었다. Glinsukon 등(Glinsukon 등, 1980)은 capsaicin을 랫드에 투여하면 1-2분 이내 흥분, 경련이 나타나고 곧바로 무호흡상태가 되어 2-5분 이내에 호흡부전으로 폐사하며, 폐사하지 않는 동물은 30분 이내 회복된다고 하였다. 또한 Glinsukon 등(Glinsukon 등, 1980)은 capsaicin을 경구투여한 경우 부검소견으로는 mucus 물질의 분비증가를 동반한 desquamatic necrosis와 같은 위점막 변화 이외에는 특기할만한 조직소견을 나타내지 않았다고 하였다. 본 시험에서도 시험기간 중 폐사한 동물을 부검한 경우에는 소장외의 변화가 관찰되었으나, 시험기간 종료후 부검한 동물에서는 안구관련 병변과 안면부 좌상 및 폐장의 소견을 제외하고는 특기할만한 육안소견을 나타내지 않아 이와 유사한 결과로 사료되었다.

동물의 체중에 있어서는 수컷 동물의 경우 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서 유의성있는 체중증가 억제, 암컷동물의 경우 모든 용량군에서 정상으로 관찰되어 sex 차이가 있는 것으로 추정되었다. DA-5018의 랫드에 대한 경구투여 급성독성시험에서 체중은 수컷이 암컷보다 더 크게 영향을 받는다고 하여(문헌투고중) 본 시험결과와 유사하였으나, KR-25018의 시험에서는 암·수 모두 12 mg/kg 이상 투여군에서부터 체중증가 억제가 관찰된다고 하여(한국화학연구소, 1993) 본 시험결과와는 차이를 보였다. 일반적으로 capsaicin에 대한 실험동물의 반응은 strain차는 있으나 sex차는 없는 것으로 알려져 있다. 따라서 화학연구소(Fischer 344계 rat)의 시험결과와 본 시험 결과와는 차이는 strain에 기인한 것으로 추정 되었다. 한편, 이와같은 체중증가 억제는 사료섭취량의 감소와 연관성이 있다고 설명되어 있다(한국화학연구소, 1993). 그러나 본 시험결과 사료섭취량은 약물투여 후 2주까지는 수컷 50.0 mg/kg 투여군에서 유의성있는 감소를 보였지만, 그 이후에는 사료섭취량은 정상

인 반면 체중증가억제는 지속되어 비례적인 상관관계가 있다고 보기는 어려웠다.

혈액학적검사 결과 수컷 동물에서 나타난 적혈구 수의 증가는 HT치의 증가를 동반하였으며 MCV치는 정상적인 것으로 미루어 적혈구 용적의 증가보다는 적혈구 수의 증가에 기인한 것으로 추측되었으며, HB량의 증가도 또한 적혈구 수의 증가에 따른 동반현상으로 판단되었다. 일반적으로 적혈구 수의 증가는 선천성 원인, 탈수, 체액의 소실에 따른 혈장의 농축과 만성호흡곤란 이나 저산소상태의 지속, 스트레스 등 여러가지 원인에 의하여 나타날 수 있다(김 등, 1987; 한 등, 1982). 따라서 본시험에서 나타난 적혈구 수의 증가는 약물투여후 출현한 호흡곤란 등의 임상증상이 DA-5018 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 관찰된 점으로 미루어 저 산소상태에서 유발된 2차적인 적혈구 생산 증가에 기인하였을 것으로 추정되었다(김 등, 1987). 한편, 암컷 동물에서 관찰된 HB량의 증가는 수컷 동물에서와 같이 유의성있는 적혈구 수 및 HT치의 증가는 동반하지는 않았으나, 이들 수치가 대조군보다는 조금씩 증가한 것으로 나타나 수컷동물에서와 유사한 원인에 의한 것으로 추정되었다. 그외 암·수 동물에서 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 보인 항목이 일부 관찰되었으나 용량상관성이 없는 점으로 보아 일과성의 증감이며 시험물질에 의한 영향은 아닌것으로 판단되었다.

혈청생화학적 검사에서는 암컷 동물의 creatinine치의 용량상관성 있는 감소를 제외하고는 암·수 모든 투여군에서 용량반응성을 보이며 통계학적으로 유의성을 나타내는 항목은 없었다. creatinin치의 감소는 DA-5018의 랫드에 대한 피하 2주 반복 투여 독성시험에서도 관찰되었으며 그 이유를 피하투여에 따른 국소에서의 근위축에 따른 변화라고 하였으나(미발표자료 c, 1994), 본 시험에서는 투여경로가 경구였으며, 용량상관성은 없었지만 BUN치의 감소가 동반되었고, 신장의 절대 및 상대중량증가가 관찰된것으로 미루어 신장과의 연관성도 배제할수는 없었다. 그러나, 신장의 조직학적 소견에서 특기할 만한 소견이 없었던 점은 이와 상반된 결과였다. 한편, 한 등(한 등, 1982)은 creatinine치의 감소는 임상적 의의는 없다고 하였다. 그외, glucose치의 감소는 수컷 동물에서 관찰되었는데 통계학적 유의성은 50.0 mg/kg 투여군에서만 나타났으나 회복기간 종료후의 혈청생화학적 검사 결과 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 유의성있는 감소가 지속되어 시험물질의 영향으로 판단되었으며, triglyceride치 또한 수컷 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 통계학적으로 유의성 있는 감소를 나타내 시험물질의 영향으로 추정되었다. Monsereenusorn( Monsereenusorn, 1983) 랫드로 실시한 아급성 독성시험에서 capsaicin 50.0 mg/kg을 투여한 경우에 triglyceride, glucose치의 감소가 나타났으며 그 이유는 사료섭취량의 감소에 의한 것이라고

하였다. 그러나 본 시험결과 사료섭취량은 약물투여 후 2주까지는 수컷 50.0 mg/kg 투여군에서 유의성있는 감소를 보였지만, 그 이후에는 사료섭취량은 정상으로 나타나 비례적인 상관관계가 있다고 보기는 어려웠다. 그외 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 나타낸 항목은 모두 일과성의 증감으로 사료되어 약물의 영향으로는 판단되지 않았으며, 이와같은 결과는 Monsereenusorn(Monsereenusorn, 1983)의 실험결과 BUN, cholesterol, ALKP 등의 감소가 일부 동물에서 나타난다고 하여 본 시험결과와 유사하였다. 한편, 이상에서 나타난 모든 변화는 2주간의 회복기간 후 수컷 동물의 glucose치의 감소를 제외하고는 모두 정상으로 관찰되었다.

Capsaicin의 경우 랫드에 50.0 mg/kg을 60일간 반복 투여 시 장기중량에서의 특기할 만한 변화는 없었으나(Monsereenusorn, 1983), KR-25018은 비장과 부신이 표적장기로 용량상관성있는 반응을 보인다고 하였다. 본 시험결과 장기중량에서는 DA-5018 투약과 연관되어 통계학적 유의성을 보이며 용량상관성있게 증가하거나 감소하는 항목은 관찰되지 않았다. 그러나, 수컷동물의 경우 비장의 절대중량은 DA-5018 50.0 mg/kg 투여군에서만 유의성이 인정되었지만 용량상관성 있게 감소하여 시험물질의 영향일 가능성도 배제할 수 없었다. 그러나 부검소견에서 비장의 이상소견이 관찰되지 않았으며, 병리조직학적 검사 결과에서도 뚜렷한 형태학적인 이상이 관찰되지 않았고, 또한 수컷동물에서만 나타난 점 등은 본 시험계에서 DA-5018의 표적장기를 비장으로 단정하는 데는 다소 무리가 있을 것으로 사료되었다. 암컷 동물에서는 신장의 절대 및 상대중량이 용량상관성은 결여되었지만 DA-5018을 투여한 모든 용량군에서 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 가지는 것으로 나타나 시험물질에 의한 영향으로 추정할 수 있었으나, 이것 또한 조직학적 검사에서 특기할만한 변화가 인정되지 않아 정확한 원인규명은 어려웠다. 한편, 화학연구소에서 KR-25018로 실시한 시험에서 표적장기로 판단한 부신의 경우, 본 시험에서는 암컷 50.0 mg/kg 투여군에서 절대 및 상대중량의 유의성있는 증가를 나타내었으며, 수컷동물에서는 10.0 mg/kg 이상 투여군에서 상대중량만 증가하고 용량상관성도 결여되어 다소 차이를 보였다. 이와같은 부신의 변화는 시험물질 투여시 동물이 받는 스트레스에 의하여도 나타나는 것이며, 병리 조직학적 소견에서 이상소견이 관찰되지 않았으므로 생체 생리반응에 기인한 것으로 추측되었다. 한편, 이상에서 관찰된 변화들은 2주간의 회복기간 종료후 측정된 장기중량에서는 모두 정상적으로 관찰되어 DA-5018의 장기중량에 대한 영향도 빠르게 회복되는 경향을 보였다.

병리조직학적 소견에서는 안구의 각막괴사 등의 병리조직학적 소견과 상처부위의 국소적괴사는 대조군에서는 나

타나지 않은 조직소견으로서 시험물질의 영향으로 추정되었으나 그의 시험물질 투여군에서 관찰된 모든 소견은 대조군에서도 관찰된 소견으로서 시험물질에 의한 영향은 아닌것으로 판단되었다.

이상의 결과로부터 DA-5018은 50.0 mg/kg 투여군에서 동물의 폐사, 시험물질 투여직후 급성적 독성증상, 지연형의 안구관련 병변과 안면부 좌상, 체중증가 억제, RBC, HB 및 HT치의 증가, glucose 및 triglyceride치의 감소를 유발하였고, 10.0 mg/kg 투여군의 일부 동물에서 시험물질 투여직후 급성적 독성증상, 지연형의 안면부 좌상, RBC, HB 및 HT치의 증가, glucose치와 triglyceride치의 감소 등을 유발하여 본 시험조건하에서 DA-5018에 의한 독성학적 변화는 10 mg/kg 용량군에서 부터 출현하는 것으로 사료되었다.

## 결 론

DA-5018의 안전성 평가의 일환으로 SD계 랫드에 DA-5018을 0, 0.4, 2.0, 10.0 그리고 50.0 mg/kg/day의 용량으로 4주간 반복하여 경구투여한 결과, DA-5018은 자율신경계, 중추신경계 및 호흡기계 등에 폭넓게 영향을 미쳐 유루, 보행실조, 호흡곤란, 경련 등의 급성적 임상증상과 지연형으로 각막혼탁, 안면부 좌상, 상치부위 탈모 등의 독성증상을 유발하였다. 또한, DA-5018은 동물의 체중증가 억제, 혈액학적 및 혈액생화학적 검사에서 RBC, Hb, Ht치의 증가, glucose, triglyceride치의 감소 등의 변화를 나타내었으며, 이와 같은 변화들 중 일부는 2주간의 회복기간 종료후에도 지속적으로 관찰되었다. 이상의 결과로부터 DA-5018의 표적장기는 안구, skin 그리고 폐장으로 판단되며, 본 시험조건하에서 DA-5018의 확실중독량은 DA-5018 50.0 mg/kg/day 이었으며, 무영향량은 2.0 mg/kg/day 이하로 추정되었다.

## 참고문헌

- Basha, K. M. and Whitehouse, F. W. (1991). Capsaicin: A therapeutic option for painful diabetic neuropathy. *Henry Ford Hospi. Med. J.* **39**, 138-140.
- Charles N. Ellis, Brenda Berberian, Virginia, I., Sulica, W., Alan Dodd, Michael, T. Jarratt, H., Irving Katz, Steven Praver, Gerald Krueger, Ira H. Rex and John E. Wolf (1993). A double-blind evaluation of topical capsaicin in pruritic psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* **29**, 438-442.
- Deal, C. L., Schnitzer, T. J., Lipstein, E., Stevens, R. M., Levy, M. D., Albert, D. and Renold, F. (1991). Treatment of arthritis with topical capsaicin: double-blind trial. *Clin. Ther.* **13**, 383-395.
- Donofrio, P. (The capsaicin study group) (1991). Treatment of painful diabetic neuropathy with topical capsaicin. A multicenter, double-blind, vehicle-controlled study. *Arch. Intern. Med.* **151**, 2225-2229.
- Glinsukon, T., Stittunnaithum, V., Toskulkao, C., Buranawuti, T. and Tangkrisanavinont, V. (1980). Short communications Acute toxicity of capsaicin in several animal species. *Toxicol.* **18**, 215-220.
- Hayes, A. W. (1989). Principles and methods of toxicology. 3rd ed. Raven press. New York. USA.
- Holzer, P. (1991). Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* **43**, 143-201.
- Janusz, J. M., Buckwalter, B. L., Young, P. A., LaHann, T. R., Farmer, R. W., Kasting, G. B., Loomans, M. E., Kerckaert, G. A., Maddin, C. S., Berman, E. F., Bohne, R. L., Cupps, T. L. and Milstein, J. R. (1993). Vanilloids. 1. Analogs of capsaicin with antinociceptive and antiinflammatory activity. *J. Med. Chem.* **36**, 2595-2604.
- Lee, B., Kim, J. H., Park, N. S. and Kong, J. Y. (1994). KR-25018: A Novel, orally active analgesic with non-narcotic properties. *Arch. Pharm. Res.* **17**, 304-308.
- Lynn, B. (1990). Capsaicin: Actions on nociceptive C-fibres and therapeutic potential. *Pain* **41**, 61-69.
- Maggi, C. A. (1991). Capsaicin and primary afferent neurons: from basic science to human therapy. *J. Auto. Nerve System.* **33**, 1-14.
- Maggi, C. A., Borsini, F., Santicoli, P., Geppetti, P., Abelli, L., Evangelista, S., Manzini, S., Theodorsson-Norheim, E., Somma, V., Amenta, F., Bacciarelli, C. and Meli, A. (1987). Cutaneous lesions in capsaicin-pretreated rats. A trophic role of capsaicin-sensitive afferents? *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **336**, 538-545.
- Monserenusorn, Y. (1983). Subchronic toxicity studies of capsaicin and capsiicum in rats. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* **41**, 95-110.
- Park, N. S., Park, I. Y., Lee, J. C. and Kim, Y. B. (1995). KR-25003, a potent analgesic capsaicinoid. *Acta. Crystallogr. C.* **51**, 927-929.
- Rebecca M. Craft and Frank Porreca (1992). Therapeutic potential of capsaicin-like molecules. Treatment parameters of desensitization to capsaicin. *Life science* **51**, 1767-1775.
- Shimizu, T., Fujita, S., Izumi, K., Koja, T., Ohba, N. and Fukuda (1984). Corneal lesions induced by the systemic administration of capsaicin in neonatal mice and rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* **326**, 347-351.
- Shimizu, T., Izumi, K., Fujita, S., Koja, T., Sorimachi, M., Ohba, N. and Fukuda, T. (1987). Capsaicin-induced corneal lesions in mice and the effects of chemical sympathectomy. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **248**, 690-695.
- Surh, Y. J. and Lee, S. S. (1995). Capsaicin, a double-edged sword: Toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sci.* **56**, 1845-1855.
- Tandan, R., Lewis G. A., Krusinski, P. B. and Fries, T. J. (1992). Topical capsaicin in painful diabetic neuropathy. Controlled study with long-term follow-up. *Diabetes Care* **15**, 8-14.
- Watson, C. P., Tyler, L. K., Bickers, D. R., Millikan, L. E., Smith, S. and Coleman, E. (1993). A randomized vehicle-controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia. *Clin. Ther.* **15**, 510-526.



국립보건안전연구원. (1994). 의약품등의 독성시험기준.  
김우권, 한방근, 권종국, 이호일, 양일석, 김상근, 김주현.  
(1987). 가축생리학. pp.20-39, 아카데미서적.  
미발표자료 a. 비 마약성 진통제 DA-5018의 급성독성시험.  
문헌투고중.  
미발표자료 b. DA-5018의 신경독성시험 (I): BALB/c new  
born mouse에서 DA-5018의 안구독성시험.

미발표자료 c. DA-5018의 랫드 피하투여 2주 반복투여 독성  
시험.  
한국화학연구소. (1993). KR-25018의 랫드에 있어서 4주 경  
구투여 아급성독성시험(시험번호: S-310).  
한홍율, 이정길, 이창우. (1982). 개정수의임상병리. 기전연구  
사.