응용약물학회지, The Journal of Applied Pharmacology 6, 95-110(1998)

DA-5018 cream의 랫드에 대한 경피투여 아급성독성시험

강경구 · 조 현 · 김동환 · 백남기 · 김원배*
동아제약(주)연구소

A Subchronic Toxicity Study of DA-5018 Creams in Rats

Kyung Koo KANG, Hyeon CHO, Dong Hwan KIM, Nam Gi BAIK, Won Bae KIM*
47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Youngin-si, Kyunggi-do, Korea 449-900
Research Laboratories, Dong-A Pharmaceutical Co. Ltd.

(Received November 10, 1997; accepted January 30, 1998)

Abstract – A 13-week dermal toxicity test was conducted to assess the toxicity of DA-5018, a capsaicin derivative. Three groups of Sprague-Dawley rats (10-15 males and 10-15 females) were treated with DA-5018 cream daily by dermal application at concentrations of 0.1%, 0.3% or 0.9% as 500 mg/kg for 13 weeks. One further group of rats (15 males and 15 females) received cream base at 500 mg/kg/day and acted as controls. One male receiving 0.3% DA-5018 cream died during the treatment period. But the animal did not show any signs of treatment-related toxicity until death. There were no local skin reaction of application site and systemic reaction to the treatment of DA-5018 creams in all experimental groups throughout treatment and recovery period. Weight gain and food consumption in animals that received DA-5018 creams appeared to be comparable to that of the controls. Laboratory analyses (hematology, urinalysis and opthalmoscopic examination) did not revealed pathological values. In biochemical investigations, an increase of glucose level associated with increased food consumption and some other significant changes were noted in the animals of both sexes received DA-5018 creams. But these changes were not considered to be of toxicological importance. Postmortem examination did not show macroscopic or histological alterations attributable to the DA-5018 treatments. Based on these results, NOAEL(no-observable-adverse-effect level) of DA-5018 cream is estimated to be over 500 mg/kg/day as 0.9% cream.

Keywords DA-5018, Analgesic cream, Repeated toxicity, Rat

Capsaicin은 고추의 매운 맛을 내는 주 성분으로 여러 품종의 고추(genus *capsicum*)에서 분리되며, 화학적으로는 vanillyl amide 유도체(8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide)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). 그러나 최근에 GenDerm사에서 capsaicin을 0.075% 함유한 국소도포용 크림제(Zostrix®-HP)를 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 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)은 동아제약(주) 연구소에서 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis 등을 적응증으로 하여 연구중인 진통제로서 capsaicin 유도체이다. 현재까지 DA-5018은 여러가지 동물실험모델에서 기존의 진통제 보다 우수한 진통효력을 나타내었고, 독성측면에서는 모핵인 capsaicin에 비하여 약한 것으로 평가되고 있어 새로운 진통제로의 개발이 기대되는 물질이다(Lee 등, 1994). 본 시험은 DA-5018 cream의 안전성 평가의

* To whom correspondence should be addressed.

일환으로 DA-5018 cream을 랫드에 13주간 반복하여 경피 투여 하였을 때 발현가능한 독성증상 및 그 회복성을 평가하기 위하여 실시하였다.

실험방법

본 시험은 "의약품 등의 독성시험 기준(식품의약품안전본부 고시 제 96-8호, 1996)"에 준하여 실시하였다.

시험물질

시험물질인 DA-5018 cream은 0.9% DA-5018 cream(Lot No.; C-204)과 0.3% DA-5018 cream(Lot No.; C-203) 및 0.1% DA-5018 cream(Lot No.; C-202)을 각각 사용하였으며, 대조물질로는 cream base(Lot No. C-201)를 사용하였다. 모든 시험물질은 실온에서 보관하며 시험에 사용하였다.

시험동물 및 사육환경

5주령의 SPF Sprague-Dawley계 랫드 암 · 수 각 60마리를 CRJ사(일본)로 부터 구입하여 1주일간 청정구역내에서 검역 및 순화사육한 다음 6주령의 동물을 시험에 사용하였다. 검역순화사육기간 및 시험기간중 동물은 온도 23±2℃, 습도 55±15%, 환기횟수 15-20회/시간, 조명시간 12시간(07:00~19:00)의 사육조건에서 사육하였다. 동물의 수용은 랫드용 폴리카보네이트제 사육상자에 순화검역기간에는 케이지당 5마리씩, 시험기간중에는 1마리씩 각각 암 · 수 분리하여 수용하였다. 사료는 랫드용 고형사료 방사선멸균품(천하제일)을, 음수는 자외선멸균 수도수를 자유섭취시켰다.

투여량의 설정

DA-5018 cream의 투여량 설정은 급성독성시험과 아급성독성시험 등의 기초자료를 참고로 하였다. 랫드와 토끼를 이용한 경피투여 급성독성시험 결과 0.1~0.9% DA-5018 cream은 각각 2 g/kg 이하 모든 용량군에서 시험물질과 연관된 임상증상을 나타내지 않았고 시험물질 도포 부위에서도 국소독성이 관찰되지 않았다(강 등, 1997a). 또한, 0.3% DA-5018 cream을 랫드에 1주간 반복하여 도포한 시험에서는 2 g/kg 이하 모든 용량군에서 국소 및 전신독성을 나타내지 않았고(Powell과 Baik, 1996), 개에 대한 4주 아급성독성시험에서도 0.1%~0.9% DA-5018 cream을 1 g/kg의 용량으로 도포한 모든 시험군에서 국소독성이나 전신적인 독성증상이 관찰되지 않았다(Powell 등, 1997). 한편, 일반적으로 cream제의 경우 독성시험은 단일 농도의 시험물질을 도포량을 변화시켜 실시하거나 여러 농도의 시험물질을 동일한 용량으로 도포하여 실시한다. DA-5018 cream은 예정 임상 제형이 0.1~0.9% cream 이므로 시험물질의 도포량을 변화시켜 실시하기 보다는 시험물질의 농도를 변화시켜 0.1%~0.9% 까지의 DA-5018 cream으로 실시하는 것이 타당할 것으로 판단되어 본 시험에서는 0.1%, 0.3% 및 0.9% DA-5018 cream 모두에 대하여 실시하였으며, 각 농도의 DA-5018 cream의 도포량은 500 mg/kg의 단일용량으로 설정하였다. 대조군에는 cream base를 500 mg/kg의 용량으로 경피투여 하였다.

시험군의 구성

시험군의 구성은 Table I과 같다. 검역 및 순화사육 후 건강한 동물을 선발하여 각 군간 체중의 평균치가 균일하게 군 분리하여, DA-5018 cream 3개 투여군과 cream base 투여군인 대조군을 포함하여 모두 4개군으로 구성하였다. 각 투여군의 사용동물수는 대조군 및 0.3% 및 0.9% DA-5018 cream 투여군은 본 시험용 10마리 및 회복시험용 5마리로 암 · 수 각각 15마리씩으로 구성하였으며, 0.1% DA-5018 cream 투여군은 본 시험용 10마리로 암 · 수 각각 10마리씩으로 구성하였다.

투여방법, 투여기간 및 휴약기간

투여경로는 예정 임상 경로인 경피 투여로 하였다. 시험물질 도포 하루전에 랫드 등부위를 electric clipper(Oster)로 제모한 다음 유성펜으로 적용부위를 표시하였다. 시험물질 적용부위의 면적은 경피투여 시험에서 일반적으로 이용되는 체표면적의 약 10%에 해당하는 면적으로 하였다. 시험물질을 동물의 등부위 피부에 적용한 다음 균일하게 반복도포(1일 1회 13주간)하였으며, DA-5018 cream의 임상적 용방식에 준하여 occlusion은 실시하지 않았다. 각 개체의 투여량은 주 2회 측정하는 체중치로 산출하였으며, 제모는 주 2회 실시하였다. 13주간의 투여종료 후 대조군과 0.3% 및 0.9% DA-5018 cream 투여군의 암 · 수 각 5마리에 대하여 4주간의 휴약기간을 두어 회복시험을 실시하였다.

검사항목

Table I. Experimental design for 13-week repeated toxicity study of DA-5018 creams in rats

Groups	Concentration (%)	Dose (mg/kg)	No. of animals sacrificed			
			At the end of dosing period		At the end of recovery period	
			Male	Female	Male	Female
Control	cream base	500	10	10	5	5
DA-5018 cream	0.1%	500	10	10	0	0
	0.3%	500	10	10	5	5
	0.9%	500	10	10	5	5

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 4주 및 부검시에 모든 동물에 대하여 안검사용 검안경을 이용하여 좌우안의 각막 및 홍채 등의 이상유무를 관찰하였다.

혈액학적검사

투여종료 후 각 군의 모든 동물과 회복기간 종료 후 회복군 모든 동물에 대하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 혈액은 ether 마취한 동물의 복대동맥으로부터 채취하여 EDTA와 구연산나트륨 등의 항응고제를 첨가하여 각각 혈액학적 검사와 혈액응고능 측정에 이용하였다. 혈액학적검사에서는 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), 혈색소(Hb), 헤마토크리트치(Ht), 평균혈구용적(MCV), 평균혈구혈색소량(MCH), 평균혈구혈색소농도(MCHC) 등에 대하여 혈구자동측정기(Minos Vet, ABX)를 이용하여 측정하였으며, PT(prothrombin time)와 APTT(activated partial prothrombin time)는 자동응고시간측정기(Automatcd 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(×400)으로 혈구의 형태를 관찰하고 백혈구 백분율을 구하였다.

혈청생화학적검사

채취한 혈액을 응고시킨 후 혈청을 분리하여 혈청생화학적검사를 실시하였다. 혈청생화학적검사는 혈청자동분석기(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), inorganic phosphorous (Molybdate 법), triglyccride(Enzymatic-GPO법) 등을 측정하였으며, 이온분석기(Lytening® System 30, Baxter)를 이용하여 Na(Electrode법), Cl(Electrode법), K(Electrode법) 등을 측정하였다.

뇨검사

투여기간 종료후 각 군의 암·수 모든 동물을 랫드용 metabolic cage에 한마리씩 분리수용하여 검사전일 오후 4시부터 16시간 동안 채뇨하였다. 회복기간 종료시에는 대조군, 0.3% 및 0.9% DA-5018 cream 투여군의 암·수 모든 동물을 동일한 방법으로 채뇨하였다. 채취한 뇨에 대해서 외관과 뇨량을 관찰한 후 뇨 자동분석기(Clinitek 100, Bayer사)를 사용하여 pH, 단백(protein), urobilinogen, bilirubin, 포도당(glucose), 키톤체(ketone body), 잠혈(blood), nitrite, 비중, 백혈구 등에 관하여 검사하였다.

골수검사

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 0.9% DA-5018 cream 투여군에 대하여 병리조직학적 검사를 실시하였으며 검사결과 병변이 인정되면 0.3% 및 0.1% DA-5018 cream 투여군까지 동일한 방법으로 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, skin 등의 장기를 10% 중성포르말린에 1주이상 고정시킨 다음 통상적인 방법을 거쳐 조직절편을 제작하였으며, hematoxylin-eosin 염색을 한 후 광학현미경으로 병리조직학적 검사를 실시하였다. 병리조직학적 검사는 대조군과 0.9% DA-5018 cream 투여군에 대하여 실시하였으며, 여기에서 이상을 나타내는 장기에 대해서는 다른 용량군에 대해서도 병리조직학적 검사를 실시하였다.

통계학적분석

본 시험에서 얻어진 체중, 음수 및 사료섭취량, 혈액학적검사결과, 혈액생화학적 검사결과, 장기중량 등의 자료에 대한 통계학적 분석은 Bartlett test로 분산검정을 실시하여 등분산일 경우 일원배치 분산분석법으로, 부등분산일 경우 Kruskal-Wallis non-parametic법으로 유의성검정을 하였다. 일원배치 분산분석법에서 유의한 경우 Duncan법을, Kruskal-Wallis non-parametic법에서 유의성이 인정되는 경우에는 distribution-free multiple comparision법에 의해 대조군과 각 투여군간의 다중비교를 실시하였다. 병리조직학적 검사결

과는 R×C Chi-square test를 실시하여 유의성이 있는($p<0.05$) 경우에 Fisher's exact test를 실시하여 군간 유의차를 검정하였다. 분산검정외의 통계처리는 SAS(Statistical Analysis System) 통계프로그램을 이용하였다.

실험결과

폐사율

시험물질 투여기간중 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 시험물질 투여 후 65일째 수컷 1마리가 폐사하였다. 그외 0.9% DA-5018 cream이나 0.1% DA-5018 cream 투여군 및 cream base 투여군에서는 암 · 수 모두 투여기간과 회복기간중 폐사한 동물은 관찰되지 않았다.

일반증상

0.1%, 0.3% 혹은 0.9% DA-5018 cream 500 mg/kg을 투여한 모든 동물에서 시험물질 투여와 연관된 것으로 판단되는 임상증상은 관찰되지 않았으며, 시험물질 투여부위 skin에서도 전 시험기간에 걸쳐 특기할 만한 피부반응은 출현하지 않았다. 0.3% DA-5018 cream 투여군의 폐사된 동물에서도 폐사시까지 특기할 만한 임상증상이나 피부반응은 관찰되지 않았다. 대조물질인 cream base 투여군에서도 전 시험기간에 걸쳐 시험물질과 연관된 것으로 판단되는 임상증상은 관찰되지 않았다.

체중변화

시험기간중 체중을 측정한 결과, DA-5018 cream의 농도에 상관없이 암 · 수 모든 시험군에서 대조군과 비교하여 유의성있는 체중변화는 관찰되지 않았으며, 회복기간중 측정한 체중에 있어서도 암 · 수 모든 동물에서 유의성 있는 체중변화는 관찰되지 않았다(Fig. 1, 2).

사료섭취량 및 음수량

사료 및 음수섭취량은 0.1%, 0.3% 혹은 0.9% DA-5018 cream을 투여한 일부 시험군에서 유의성있는 증가나 감소가 관찰되었으나 용량상관성 있는 변화는 나타나지 않았다(Table II, III).

안과학적검사

경피투여한 DA-5018 cream의 농도에 상관없이 모든 용량군에서 암 · 수 동물 모두 안과학적 이상소견을 나타내지 않았다.

혈액학적검사

혈액학적 검사 결과는 Table IV와 V에 나타내었다. 시험기간 종료후 실시한 혈액학적검사 결과 수컷동물에서는 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 Hb치의 유의성 있는 증가가 관찰되었으나, 그외 암 · 수 동물의 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성있는 변화를 보인 항목은 관찰되지 않았다($p<0.05$). 한편, 회복기간 종료시에 실시한 혈액학적 검사결과에서는 암컷 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 MCHC의 유의성 있는 감소가 관찰되었다. 그러나 이와 같은 변화를 나타낸 모든 항목에서 시험물질과 용량상관성 있는 변화는 관찰되지 않았다.

혈청생화학적검사

시험기간 종료후의 혈청생화학적 검사 결과 수컷 동물의 경우 AST치의 용량의존적인 감소와 glucose치의 용량의존적인 증가가 관찰되었다. 암컷 동물의 경우에는 ALT치의 유의성있는 감소, AST치의 용량의존적인 감소 그리고 glucose치의 유의성있는 증가가 관찰되었다(Table VI). 그외

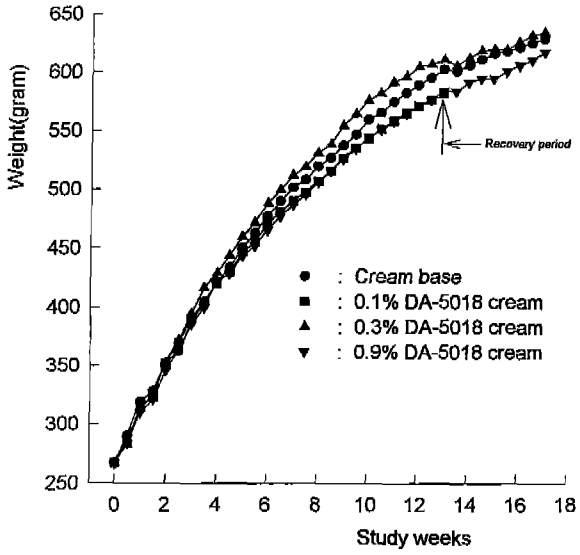

Fig. 1. Body weight changes in male rats percutaneously treated with DA-5018 creams or cream base.

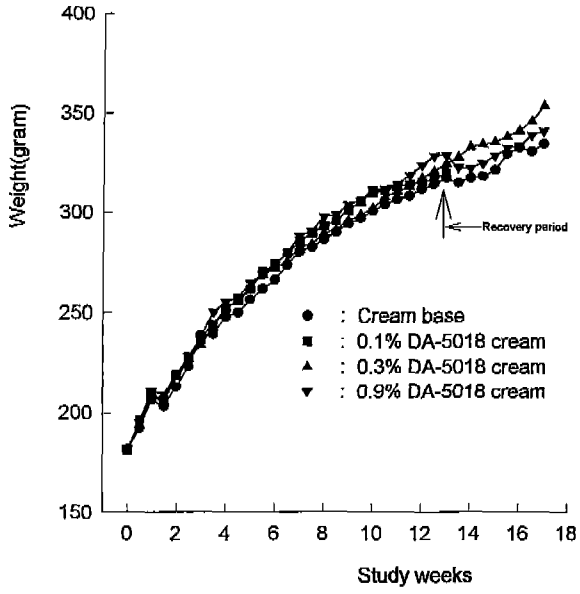

Fig. 2. Body weight changes in female rats percutaneously treated with DA-5018 creams or cream base.

Table II. Food consumption in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Sex	Groups	Days after administration										
		4	7	11	15	18	22	25	29	32	36	39
Male	cream base	22.6±4.9	24.2±1.9	26.4±7.7	25.7±3.2	28.6±3.6	27.3±3.6	26.5±3.2	28.3±4.1	33.3±4.3	27.3±2.6	31.9±5.2
	0.1%	20.2±3.2	25.5±2.3	29.4±7.5	27.5±2.7	31.1±2.5	27.9±3.5	29.3±2.3	28.9±3.4	35.0±2.9	30.5±3.2*	31.0±4.1
	0.3%	23.0±3.8	25.4±2.2	25.8±5.3	26.1±2.4	31.1±1.9	28.3±1.9	31.5±8.7*	30.7±2.7	35.9±4.3	30.0±3.8	34.1±4.2
	0.9%	22.0±3.4	23.3±3.3	25.7±2.3	25.9±2.0	31.1±4.6	28.7±4.2	29.9±3.0	29.3±3.4	35.0±3.6	28.3±4.2	30.8±4.3
Female	cream base	17.5±3.3	16.5±2.4	17.4±2.6	15.9±3.0	20.1±2.8	18.7±1.8	21.3±2.4	21.1±5.8	21.7±5.2	18.9±2.3	21.8±9.3
	0.1%	16.1±3.8	15.9±2.1	15.3±2.9	17.2±1.9	20.9±3.3	19.5±3.6	21.2±2.4	20.8±2.7	22.7±4.1	18.6±2.6	22.1±2.7
	0.3%	17.1±3.2	18.7±5.1	16.6±2.8	17.3±3.5	24.1±5.3	22.2±9.5	20.8±2.3	21.0±2.5	23.0±8.7	21.7±5.2	21.7±4.2
	0.9%	17.1±2.3	18.6±3.9	18.3±2.7	16.7±2.5	26.0±7.1*	26.4±6.9	21.1±4.3	22.7±3.5	23.7±2.9	17.9±3.2	22.9±2.7

Sex	Groups	Days after administration										
		43	46	50	53	57	60	64	67	71	74	78
Male	cream base	30.5±3.4	29.0±4.2	33.3±4.2	27.6±2.9	27.1±3.6	29.7±3.9	27.9±2.7	29.7±3.0	28.8±3.4	28.7±2.8	27.7±4.3
	0.1%	31.8±4.2	29.5±3.1	30.8±3.4	28.4±2.9	28.7±3.9	30.6±3.0	29.8±3.2	31.0±3.1	29.0±3.9	27.9±2.8	28.5±2.1
	0.3%	32.5±4.0	31.0±4.2	32.0±3.5	29.5±3.4	28.3±3.7	30.7±4.1	29.4±2.9	30.9±3.0	31.1±4.5	30.2±3.3	31.4±4.7*
	0.9%	30.4±3.9	28.3±4.9	30.7±2.3	27.7±3.4	28.1±2.7	30.0±3.5	27.9±2.4	27.3±2.9*	28.5±1.9	27.9±2.3	29.0±3.4
Female	cream base	17.9±3.4	20.2±7.2	23.1±3.3	17.8±4.8	18.7±4.8	22.7±9.5	18.3±2.9	17.9±2.9	18.0±5.1	18.7±7.7	17.7±3.0
	0.1%	19.6±2.8	20.9±4.2	23.1±6.5	19.7±3.8	19.7±4.6	21.7±5.0	19.1±2.5	17.3±6.2	18.8±3.7	19.5±4.4	16.6±5.2
	0.3%	19.1±6.1	19.7±3.7	22.5±4.4	22.5±8.5	23.2±8.9	19.4±5.1	19.1±3.4	18.9±3.5	18.4±2.7	19.2±3.2	19.2±3.1
	0.9%	20.7±4.5	21.4±2.8	25.1±3.9	20.4±3.2	20.3±3.4	20.3±2.9	19.3±3.8	19.9±5.0	18.9±3.8	20.3±4.3	17.8±4.9

Sex	Groups	Days after administration											
		81	85	88	92	95[a]	99[a]	102[a]	106[a]	109[a]	113[a]	116[a]	120[a]
Male	cream base	27.1±3.2	24.9±2.8	24.7±3.3	25.5±3.4	32.4±1.5	30.6±10.9	27.0±0.7	28.6±2.3	31.6±3.5	28.8±1.5	28.4±0.9	27.2±2.5
	0.1%	28.3±4.0	27.0±2.6	26.3±3.4	26.7±3.1	-[b]	-	-	-	-	-	-	-
	0.3%	29.2±4.5	26.9±3.7	25.9±3.6	26.6±3.0	35.0±5.5	28.5±2.4	30.0±2.2*	30.0±2.5	31.5±0.6	28.8±1.9	29.8±2.1	28.0±1.8
	0.9%	25.7±2.6	25.4±2.9	24.4±2.7	26.2±2.0	28.2±2.3	27.0±3.3	27.6±2.4	30.6±1.1	31.0±2.9	28.0±3.2	29.0±4.3	28.0±2.2
Female	cream base	18.2±7.0	19.3±7.9	17.1±4.1	16.5±2.9	20.0±4.7	20.2±4.0	16.8±4.7	17.8±4.4	20.6±2.6	22.0±3.1	23.8±5.5	17.6±1.1
	0.1%	17.0±1.8	17.4±2.1	15.1±5.0	17.4±1.6	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.3%	19.4±6.0	18.5±3.7	17.1±2.7	17.4±4.0	16.0±3.2	17.6±3.1	18.2±3.3	18.2±3.1	19.0±3.1	19.2±3.0	20.4±3.8	19.0±4.2
	0.9%	20.0±3.4	17.5±4.2	18.4±4.3	17.4±4.8	16.2±3.4	16.0±3.0	18.4±2.9	20.4±3.2	21.2±6.0	19.8±4.4	21.2±2.2	18.2±2.4

Each value represents maen±S.D. *Significantly different from the control($p<0.05$). [a]Recovery period. [b]Not examined.

Table III. Water consumption in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Sex	Groups	Days after administration										
		4	7	11	15	18	22	25	29	32	36	39
Male	cream base	33.9±10.5	44.5±6.0	42.1±5.6	44.9±5.9	44.4±7.2	45.5±13.9	37.5±5.2	39.9±5.8	40.7±5.4	42.3±5.9	40.7±3.8
	0.1%	29.8±5.3	40.5±5.6	43.5±6.3	46.2±6.0	49.0±8.9	44.4±6.2	43.3±7.7*	42.5±6.2	45.8±7.9	45.4±7.4	42.6±5.0
	0.3%	33.6±6.8	50.1±9.3*	43.4±7.6	49.8±12.3	49.1±7.2	46.0±6.0	42.9±5.7*	44.7±7.7	40.5±8.7	47.3±9.3	43.3±6.7
	0.9%	32.3±6.5	43.1±6.3	46.5±8.4	45.5±6.7	44.5±6.1	45.9±8.7	42.1±7.7	43.3±6.6	43.5±6.4	42.2±5.7	42.7±8.8
Female	cream base	25.3±4.6	25.3±3.5	29.4±4.9	29.2±7.2	30.5±5.5	28.0±3.9	29.0±4.6	30.0±6.0	29.1±6.4	28.2±8.5	26.6±5.9
	0.1%	24.8±5.8	22.7±6.1	24.7±6.4	26.8±3.4	32.4±6.8	29.1±7.0	29.1±5.1	31.1±3.6	30.3±9.6	32.6±14.2	29.0±4.1
	0.3%	27.5±5.8	28.5±7.6	29.7±8.7	32.1±6.2	35.5±11.9	28.6±5.8	29.4±6.6	31.4±6.3	31.8±6.1	31.9±6.6	30.7±6.9
	0.9%	24.2±4.7	30.7±9.2	34.0±9.4	31.7±6.8	33.7±6.7	32.2±7.0	28.9±5.8	32.1±4.3	32.1±7.4	37.9±12.9*	30.4±8.6

Sex	Groups	Days after administration										
		43	46	50	53	57	60	64	67	71	74	78
Male	cream base	42.1±5.1	43.3±5.3	47.8±9.0	41.1±6.2	39.1±5.4	40.5±5.8	38.5±4.1	41.7±6.7	41.5±5.3	41.0±6.6	38.3±5.7
	0.1%	44.6±7.3	44.6±7.4	44.8±7.3	40.7±6.6	42.0±6.7	43.2±6.4	43.0±6.9	44.7±7.7	45.4±8.5	41.0±5.9	39.8±5.6
	0.3%	46.9±8.0	48.6±8.4	49.3±9.9	45.4±7.2	40.5±7.4	42.9±9.4	45.3±9.9*	46.7±8.5	39.9±8.7	45.2±9.1	37.6±8.6
	0.9%	45.1±6.8	45.3±4.5	47.5±11.7	41.3±6.4	41.7±6.9	42.0±6.2	41.3±8.1	42.0±6.3	42.0±6.5	40.9±6.8	41.2±9.8
Female	cream base	26.1±4.5	30.3±5.1	31.7±6.3	30.3±6.2	28.5±5.5	29.3±6.6	27.5±5.0	29.3±6.3	29.2±5.8	30.5±7.9	28.5±6.8
	0.1%	28.3±5.3	33.3±10.2	36.7±13.4	31.7±6.8	29.6±5.6	27.5±8.1	29.0±5.8	28.2±6.2	29.3±7.1	29.6±4.3	29.7±8.6
	0.3%	29.1±7.7	30.5±4.7	32.4±5.5	28.1±6.8	29.9±7.4	29.5±5.8	27.4±4.7	28.5±5.6	29.3±5.7	30.6±7.1	28.1±5.6
	0.9%	31.5±8.5	35.1±9.1	37.7±10.7	32.7±8.2	33.1±9.7	30.1±7.2	30.5±9.8	32.1±11.8	30.2±9.4	35.3±15.6	25.8±14.0

Sex	Groups	Days after administration										
		81	85	88	92	95[a]	99[a]	102[a]	106[a]	109[a]	113[a]	116[a]	120[a]
Male	cream base	39.2±5.2	37.9±5.5	37.7±4.7	39.5±3.6	44.2±3.6	42.0±5.4	45.4±7.4	48.8±5.5	42.8±3.7	42.2±3.3	39.0±4.7	38.8±12.6
	0.1%	38.6±5.2	40.2±4.3	38.2±5.9	38.7±3.5	-[b]	-	-	-	-	-	-	-
	0.3%	35.7±6.5	38.1±12.0	37.9±11.7	40.1±14.0	47.5±6.8	46.0±2.7	49.3±3.5	51.3±7.8	51.0±10.6	43.0±5.4	42.0±5.3	45.8±5.3
	0.9%	37.1±6.4	40.1±6.8	37.9±6.4	40.9±5.4	45.6±3.4	42.6±5.4	48.2±9.9	50.0±11.8	51.6±4.4	41.8±5.9	38.0±2.6	39.4±6.4
Female	cream base	27.9±7.1	29.8±8.7	27.2±6.3	29.1±7.0	33.6±5.4	26.4±7.1	28.0±14.2	29.8±9.2	40.6±10.7	30.4±6.8	26.8±6.3	30.2±5.9
	0.1%	31.7±12.5	28.1±6.8	25.2±7.1	32.1±7.4	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.3%	28.5±5.1	27.2±5.6	25.1±3.8	31.2±6.3	34.6±6.4	28.2±2.2	28.6±5.0	28.0±7.8	35.2±13.7	26.4±9.0	26.6±3.8	28.4±5.7
	0.9%	33.8±16.1	32.7±10.8	28.9±11.4	31.8±11.8	38.0±17.0	34.2±17.5	33.8±23.1	38.0±14.7	40.4±22.3	35.0±12.1	33.2±16.9	27.8±13.0

Each value represents maen±S.D. *Significantly different from the control($p<0.05$). [a]Recovery period. [b]Not examined.

Table IV. Hematological parameters in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Item	Male				Female			
	Cream base	0.1%	0.3%	0.9%	Cream base	0.1%	0.3%	0.9%
WBC(10^3/mm^3)	5.4±1.9	6.6±2.7	7.0±3.4	7.2±2.9	4.5±1.8	5.6±2.4	5.5±2.0	5.8±2.4
Lymphocyte (%)	84.4±5.7	84.0±3.7	83.6±4.7	83.2±6.8	90.2±7.0	90.8±6.0	89.3±5.1	88.8±4.7
Neutrophil (%)	19.0±4.9	17.3±6.7	16.7±3.9	16.6±6.0	15.5±5.1	13.2±4.8	14.7±4.6	16.2±3.6
Eosinophil (%)	0.1±0.3	0.1±0.3	0.0±0.0	0.2±0.4	0.1±0.3	0.1±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0
Monocyte (%)	1.3±1.0	2.0±1.7	1.8±1.4	2.5±1.2	2.0±0.8	3.2±1.8	2.4±1.3	2.0±1.6
Basophil (%)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.1±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
RBC (10^6/mm^3)	8.0±0.6	8.0±0.4	8.2±0.4	8.0±0.5	7.6±0.3	7.1±1.2	7.4±0.3	7.4±0.4
HB (g/dl)	15.1±0.8	15.4±0.5	15.9±0.5*	15.4±0.6	15.5 0.6	14.7±2.5	15.5±0.5	15.3±0.7
HT (%)	36.4±1.9	36.5±1.5	37.3±1.3	35.8±1.9	36.0±1.4	34.0±5.5	35.4±1.2	35.2±1.5
MCV (μ^3)	45.5±1.4	45.5±1.3	45.4±1.1	45.0±0.9	47.1±0.9	47.9±1.3	47.7±1.0	47.5±1.6
MCH (pg)	18.8±0.7	19.2±0.9	19.3±0.7	19.3±0.6	20.3±0.4	20.6±0.8	20.8±0.4	20.6±0.8
MCHC (g/dl)	42.4±0.5	42.3±1.4	42.5±1.1	43.0±1.2	43.0±0.7	43.1±1.2	43.6±1.0	43.5±1.0
PLT (10^3/mm^3)	247.3±18.9	252.5±28.1	239.9±35.5	266.5±28.9	223.4±53.9	203.2±65.5	221.7±73.0	221.0±42.4

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

Table V. Hematological parameters in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks at the end of 4-week recovery period

Items	Male			Female		
	Cream base	0.3%	0.9%	cream base	0.3%	0.9%
WBC(10^3/mm^3)	13.0±5.2	8.3±1.6	7.9±2.0	5.1±1.8	4.4±0.9	4.1±0.3
Lymphocyte (%)	87.0±6.8	81.0±4.1	81.4±5.5	82.4±3.7	81.2±4.8	83.2±7.2
Neutrophil (%)	21.4±6.0	19.3±3.5	26.6±10.3	21.0±1.6	18.0±5.6	24.2±3.6
Eosinophil (%)	0.4±0.6	0.8±0.5	0.2±0.6	0.4±0.9	0.4±0.6	1.0±0.7
Monocyte (%)	3.0±2.6	3.5±1.9	1.6±0.6	2.8±3.1	3.4±1.5	2.2±1.8
Basophil (%)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
RBC(10^6/mm^3)	7.8±0.3	7.7±0.2	7.2±0.3	6.7±0.3	6.8±0.2	6.6±0.3
HB (g/dl)	15.9±0.5	15.8±0.6	15.1±0.8	14.8±1.0	14.9±0.5	14.9±0.5
HT(%)	34.7±0.9	34.5±1.5	33.3±1.8	32.0±1.7	33.2±1.2	32.3±1.1
MCV (μ^3)	44.8±1.1	44.5±1.3	46.2±1.3	47.6±0.9	48.6±0.9	48.8±0.8
MCH (pg)	20.4±0.4	20.4±0.7	20.9±0.7	21.9±0.8	21.9±0.3	22.4±0.5
MCHC (g/dl)	45.7±0.4	45.6±1.0	45.1±0.8	46.0±0.8	45.0±0.6*	45.9±0.3
PLT (10^3/mm^3)	282.2±15.3	261.3±10.1	275.8±28.8	200.6±102.1	228.2±6.0	244.8±22.4

Each valuc represents maen±S.D. *Significantly different from the control ($p<0.05$).

수컷 0.9% DA-5018 cream 투여군에서 PT와 phosphorus치의 감소와 Cl치의 증가, 암컷 동물의 경우 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 albumin량의 감소와 0.9% DA-5018 cream 투여군에서 BUN치의 감소가 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 보인 항목이었다($p<0.05$). 한편, 회복기간 종료후 실시한 혈청생화학적 검사에서는 수컷 동물의 경우 glucose치가 0.9% DA-5018 cream 투여군에서 통계학적 유의성을 나타내며 증가하였고, 암컷 동물에서는 glucose치가 용량의존적으로 증가하였다(Table VII). 그외 시험기간 중 변화를 나타내었던 일부 항목은 모두 정상으로 나타났다.

뇨검사

시험기간 종료후 실시한 뇨검사에서 수컷 동물의 경우 DA-5018 cream을 투여한 모든 시험군에서 bilirubin과 ketone의 수치가 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었으나, 그외 항목에서는 대조군과 비교하여 특기할 만한 변화를 나타내지 않았다. 암컷 동물의 경우에는 모든 시험군의 동물에서 특기할 만한 변화는 관찰되지 않았다(Table VII). 한편, 회복기간 종료후 실시한 뇨검사 결과에서는 암·수 모든 시험군에서 대조군과 비교하여 유의성있는 변화를 나타낸 항목은 관찰되지 않았다(Table IX).

병리학적검사

부검소견

시험기간중 폐사한 수컷 0.3% DA-5018 cream 투여군 동물의 부검소견으로는 방광내 뇨 정체에 의한 방광확장 소

Table VI. Biochemical parameters in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Items	Male				Female			
	Cream base	0.1%	0.3%	0.9%	Cream base	0.1%	0.3%	0.9%
Albumin (g/dl)	4.3±0.4	4.2±0.3	4.4±0.2	4.5±0.3	4.6±0.5	4.8±0.4	5.1±0.5*	4.9±0.5
ALKP (IU/L)	60.1±14.9	50.4±20.2	69.3±24.2	66.4±23.3	61.7±10.5	67.3±9.5	62.2±18.0	57.4±27.0
ALT (IU/L)	30.8±4.2	31.4±7.3	34.6±6.7	27.0±8.0	46.4±27.2	32.7±18.2	23.8±5.5*	24.3±8.4*
AST (IU/L)	250.1±24.9	205.3±39.6*	155.3±54.1*	105.5±25.8*	211.6±47.8	183.6±67.1	138.7±37.7*	122.6±33.5*
Bilirubin (mg/dl)	0.4±0.2	0.4±0.2	0.4±0.2	0.4±0.2	0.5±0.4	0.8±1.3	0.5±0.2	0.5±0.1
Calcium (mg/dl)	9.9±0.4	9.6±0.3	9.6±0.5	9.6±0.3	12.5±2.2	11.2±1.9	11.3±1.6	10.8±1.3
Cholesterol (mg/dl)	83.4±18.3	79.4±15.9	76.1±10.1	93.1±13.6	101.3±21.0	93.0±19.1	88.4±16.7	85.5±14.3
Creatinine (mg/dl)	0.6±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1	0.6±0.1	0.5±0.3	0.5±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
Glucose (mg/dl)	97.5±15.4	124.8±23.8*	145.7±20.8*	155.3±27.2*	62.9±25.8	82.3±22.7*	88.4±9.4*	97.8±17.5*
Phosphorus (mg/dl)	7.5±0.6	7.8±0.9	7.5±1.0	6.8±0.5*	6.6±1.9	5.6±2.6	7.0±1.2	6.3±1.0
Protein (g/dl)	6.6±0.3	6.5±0.2	6.5±0.4	6.8±0.2	7.3±1.3	8.1±0.9	7.2±0.5	6.7±0.8
Triglyceride (mg/dl)	160.3±42.6	134.9±61.0	142.7±50.5	172.4±101.3	100.9±48.0	89.1±20.5	95.6±32.3	89.2±28.4
BUN (mg/dl)	15.1±1.9	15.8±1.7	15.5±2.5	13.7±2.3	19.5±3.0	18.8±2.9	20.0±3.7	15.4±1.9*
Na (mmol/L)	142.0±1.5	145.1±1.6	144.7±1.5	143.7±1.4	135.8±3.6	138.4±4.5	140.8±2.6	122.7±44.3
K (mmol/L)	4.5±0.4	4.4±0.2	4.5±0.4	4.7±0.2	8.1±3.0	9.6±4.6	6.7±0.8	5.7±2.1
Cl (mmol/L)	106.6±1.2	105.9±1.3	106.8±2.6	108.1±1.6*	103.1±2.6	105.3±1.1	104.5±2.9	91.0±33.0
PT (sec)	11.2±0.3	11.1±0.4	11.1±0.3	10.8±0.2*	12.0±4.0	12.5±10.0	10.8±0.3	10.7±0.6
APTT (sec)	20.2±3.3	23.3±5.5	22.6±5.4	24.1±4.2	26.3±9.1	25.0±8.1	22.8±4.9	23.6±5.4

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

Table VII. Biochemical parameters in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks at the end of 4-week recovery period

Items	Male			Female		
	Cream base	0.3%	0.9%	Cream base	0.3%	0.9%
Albumin (g/dl)	4.6±0.3	4.6±0.2	4.4±0.4	5.6±0.5	5.4±0.2	5.5±0.3
LKP (IU/L)	68.0±28.0	73.3±15.2	68.4±34.5	28.0±7.0	34.0±12.7	34.5±23.4
LT (IU/L)	31.4±8.8	33.2±6.3	37.3±5.5	32.4±8.5	28.5±7.7	22.8±7.0
ST (IU/L)	291.7±55.1	244.6±26.8	255.1±34.3	211.1±47.3	196.4±27.0	234.1±16.2
Bilirubin (mg/dl)	0.4±0.1	0.3±0.0	0.4±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1
Calcium (mg/dl)	9.4±1.1	8.7±0.2	9.0±1.2	10.0±0.6	10.1±0.1	10.0±0.2
Cholesterol (mg/	95.3±14.6	77.5±13.4	78.9±21.0	93.0±14.3	89.9±17.9	78.2±13.1
Creatinine (mg/dl)	0.8±0.2	0.8±0.1	0.8±0.3	0.8±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1
Glucose (mg/dl)	75.4±18.4	111.6±31.9	119.3±29.3*	65.1±9.6	107.2±28.6*	105.0±21.1*
Phosphorus (mg/	9.3±3.1	7.1±0.3	8.0±3.1	5.2±2.6	5.5±0.6	5.0±0.4
Protein (g/dl)	7.1±0.6	6.8±0.3	6.8±0.6	7.3±0.6	7.2±0.1	7.3±0.4
Triglyceride (mg/	251.7±71.5	196.9±26.5	191.3±52.5	221.5±80.4	216.4±88.8	198.4±25.7
BUN (mg/dl)	14.0±1.8	15.2±2.2	13.7±2.3	18.5±1.2	16.6±1.8	17.2±2.7
Na (mmol/L)	140.2±4.8	142.4±6.2	142.5±2.8	140.8±0.9	139.6±1.8	140.6±0.6
K (mmol/L)	5.3±1.8	3.9±2.2	5.1±0.1	4.1±0.5	4.5±0.2	4.3±0.2
Cl (mmol/L)	96.4±6.4	80.4±45.1	102.1±2.0	103.4±4.0	104.0±1.6	104.2±1.2
PT (sec)	11.1±0.4	8.9±5.0	11.5±0.5	8.4±4.7	10.7±0.4	10.7±0.2
APTT (sec)	21.1±4.9	18.8±11.9	17.9±1.6	15.8±9.2	14.4±8.3	19.1±2.2

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

견과 방광내 충혈 그리고 출혈괴 저류가 특징적인 소견으로 관찰되었다. 그외 시험물질 도포부위 피부나 각 실질장기는 특기할 만한 육안 소견을 나타내지 않았다. 시험기간 종료후 실시한 동물의 부검소견에서는 수컷 동물의 경우

Table VIII. Urinalysis in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Sex	Groups	Volume	Glucose	Bilirubin			Ketone			Occult blood			Nitrite		pH					Protein			Urobilinogen	WBC			Sediment		
		(ml)	-	-	+	-	±	+	-	±	+	-	+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	+	++	+++	EU/dl	-	±	+	-	±	+
Male	Cream	7.50±1.62	10	8	2	3	6	1	10	0	0	10	0	0	5	2	3	0	0	9	1	0.1±0.0	6	4	0	9	1	0
	0.1%	7.05±1.54	10	3	7	0	4	6	8	1	1	9	1	1	4	3	2	0	1	3	6	0.1±0.0	4	4	2	9	1	0
	0.3%	7.45±1.12	10	5	5	0	4	6	10	0	0	6	4	0	1	7	1	1	0	8	2	0.1±0.0	6	4	0	8	2	0
	0.9%	7.70±1.27	10	5	5	0	4	6	10	0	0	8	2	1	3	3	3	0	0	8	2	0.1±0.0	6	4	0	9	1	0
Female	Cream	4.85±0.94	10	8	2	7	3	0	10	0	0	6	4	2	6	2	0	0	7	3	0	0.1±0.0	10	0	0	10	0	0
	0.1%	4.15±1.27	10	4	6	3	7	0	10	0	0	7	3	4	4	1	1	0	4	5	1	0.1±0.0	9	1	0	8	2	0
	0.3%	4.90±1.24	10	7	3	3	7	0	10	0	0	8	2	2	7	1	0	0	6	4	0	0.1±0.0	10	0	0	10	0	0
	0.9%	5.60±0.74	10	7	3	2	8	0	10	0	0	7	3	0	4	5	1	0	6	4	0	0.1±0.0	10	0	0	7	3	0

Urine volume and urobilinogen were expressed as mean±S.D.
Other data were expressed as the number of rats under the grade.
*Significantly different from the control ($p<0.05$).

Table IX. Urinalysis in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks at the end of 4-week recovery period

Sex	Groups	Volume	Glucose	Bilirubin			Ketone			Occult blood			Nitrite		pH						Protein			Urobilinogen	WBC			Sediment		
		(ml)	-	-	+	-	±	+	-	+	++	-	+	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	±	+	++	+++	EU/dl	-	±	+	-	±	+
Male	Cream	6.70±2.08	5	2	3	0	2	3	5	0	0	5	0	0	0	1	3	1	0	0	3	2	0.1±0.0	1	3	1	5	0	0
	0.3%	8.38±1.80	4	4	0	0	1	3	4	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	1	1	2	0.1±0.0	2	1	1	4	0	0
	0.9%	7.10±2.13	5	5	0	0	2	3	5	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	3	2	0.1±0.0	3	1	1	5	0	0
Female	Cream	4.40±1.75	5	4	1	3	2	0	5	0	0	4	1	1	2	2	0	0	0	2	3	0	0.1±0.0	5	0	0	5	0	0
	0.3%	5.00±1.77	5	5	0	5	0	0	4	0	1	5	0	0	0	3	2	0	2	3	0	0	0.1±0.0	5	0	0	5	0	0
	0.9%	5.10±1.19	5	4	1	1	4	0	5	0	0	4	1	0	1	3	1	0	0	4	1	0	0.1±0.0	5	0	0	5	0	0

Urine volume and urobilinogen were expressed as mean±S.D.
Other data were expressed as the number of rats under the grade.

Table X. Absolute organ weights in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Items	Male				Female			
	cream base	0.1%	0.3%	0.9%	cream base	0.1%	0.3%	0.9%
Brain	2.21±0.11	2.22±0.09	2.27±0.10	2.24±0.12	1.97±0.10	1.99±0.10	2.03±0.11	2.00±0.08
Hypothalamus	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.04	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00
Thyroid gland	0.03±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
Thymus	0.46±0.10	0.41±0.08	0.37±0.16	0.43±0.08	0.30±0.07	0.29±0.07	0.34±0.08	0.32±0.05
Heart	1.65±0.13	1.70±0.12	1.79±0.15	1.79±0.23	1.01±0.11	1.05±0.11	1.03±0.14	1.11±0.08
Lung	1.84±0.10	1.70±0.20	1.80±0.17	1.76±0.20	1.20±0.09	1.29±0.15	1.38±0.24*	1.33±0.11
Liver	17.20±2.83	16.60±2.40	17.57±2.20	17.69±2.68	8.33±0.94	8.50±0.69	8.36±0.94	9.10±1.00
Spleen	0.88±0.13	0.85±0.16	0.86±0.10	0.89±0.18	0.49±0.04	0.54±0.08	0.52±0.09	0.55±0.06
Kidney	3.75±0.28	3.91±0.40	3.99±0.45	3.87±0.41	2.05±0.19	2.17±0.15	2.10±0.25	2.18±0.16
Adrenal	0.07±0.01	0.07±0.02	0.07±0.01	0.08±0.01	0.08±0.02	0.09±0.02	0.08±0.02	0.09±0.01
Testes/Ovary	3.49±0.16	3.29±0.35	3.40±0.57	3.49±0.42	0.15±0.03	0.15±0.02	0.16±0.02	0.16±0.03
Seminal vesicle/Vagina	1.76±0.36	1.67±0.36	1.84±0.37	1.56±0.21	0.62±0.16	0.62±0.18	0.69±0.16	0.71±0.18
Prostate gland	1.05±0.38	0.99±0.52	1.03±0.32	1.08±0.45	-	-	-	-

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

Table XI. Absolute organ weights in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks at the end of 4-week recovery period

Item	Male			Female		
	cream base	0.3%	0.9%	cream base	0.3%	0.9%
Brain	2.30±0.07	2.30±0.17	2.29±0.03	2.06±0.10	2.04±0.08	1.98±0.03
Hypothalamus	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.04	0.02±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00
Thyroid gland	0.03±0.01	0.03±0.02	0.03±0.02	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01
Thymus	0.31±0.21	0.49±0.13	0.40±0.16	0.30±0.07	0.41±0.11	0.32±0.05
Heart	1.70±0.12	1.93±0.07*	1.78±0.23	1.00±0.07	1.12±0.10*	1.03±0.04
Lung	1.97±0.23	2.42±0.90	1.97±0.30	1.29±0.18	1.35±0.07	1.25±0.13
Liver	20.13±2.12	19.34±2.14	18.10±4.65	8.50±1.00	8.75±1.44	8.12±0.63
Spleen	0.93±0.12	0.89±0.46	0.89±0.10	0.55±0.05	0.55±0.02	0.57±0.02
Kidney	3.82±0.30	4.17±0.84	3.72±0.32	2.02±0.14	2.04±0.15	2.14±0.21
Adrenal	0.24±0.36	0.07±0.02	0.08±0.02	0.09±0.02	0.08±0.02	0.09±0.01
Testes/Ovary	3.42±0.21	3.60±0.27	3.48±0.54	0.14±0.03	0.14±0.02	0.14±0.02
Seminal vesicle/Vagina	1.56±0.52	1.89±0.52	1.96±0.23	0.83±0.22	0.58±0.18	0.56±0.15*
Prostate gland	1.05±0.63	1.46±0.63	1.07±0.45	-	-	-

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

0.1% DA-5018 cream 투여군의 1마리에서 경도의 흉선 충혈이 관찰되었고, 대조군인 cream base 투여군의 1마리에서 폐장의 점상 출혈 반점이 육안적 이상 소견으로 관찰되었다. 암컷 동물의 경우 대조군의 1마리에서 폐장의 점상 출혈 반점이 관찰되었다. 한편 4주간의 회복기간 종료 후 실시한 부검에서는 암·수 모든 투여군에서 육안소견상 특기할 만한 변화는 관찰되지 않았다.

장기중량

암·수 모든 동물의 절대중량과 상대중량에서 DA-5018 cream의 투여농도와 용량상관성을 보이며 유의성있게 증가하거나 감소하는 항목은 없었다(Table X, XI, XII, XIII). 그러나, 수컷 동물의 경우 0.1% 및 0.9% DA-5018 cream 투여군에서 심장의 상대장기중량과 0.9% DA-5018 cream 투여군에서 부신의 상대장기중량이 각각 유의성 있는 감소와 증가를 나타내었고, 암컷 동물의 경우 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 폐장의 절대장기중량과 0.1% DA-5018 cream 투여군에서 뇌하수체의 상대장기중량이 대조군과 비교하여 통계학적 유의성있는 차이를 나타내었다($p<0.05$, Table X, XII). 회복기간 종료후 측정한 장기중량에서는 암·수 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 심장의 절대장기중량만이 대조군과 비교하여 유의성있는 차이를 보였을 뿐 그외 모든 동물의 절대중량과 상대중량에서 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다 (Table XI, XIII).

Table XII. Relative organ weights in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Items	Male				Female			
	cream base	0.1%	0.3%	0.9%	cream base	0.1%	0.3%	0.9%
Brain	3.81±0.46	4.03±0.37	3.85±0.30	3.93±0.07	6.52±0.63	6.50±0.58	6.66±0.82	6.40±0.54
Hypothalamus	0.03±0.01	0.03±0.00	0.03±0.01	0.05±0.07	0.07±0.01	0.05±0.01*	0.05±0.01	0.06±0.01
Thyroid gland	0.05±0.02	0.05±0.03	0.04±0.02	0.05±0.02	0.08±0.03	0.05±0.05	0.06±0.04	0.08±0.03
Thymus	0.79±0.15	0.74±0.13	0.63±0.27	0.76±0.14	0.98±0.20	0.93±0.21	1.08±0.17	1.03±0.15
Heart	2.83±0.20	3.07±0.29*	3.03±0.26	3.12±0.26*	3.34±0.28	3.44±0.38	3.36±0.33	3.53±0.30
Lung	3.16±0.21	3.07±0.31	3.04±0.28	3.07±0.22	3.98±0.37	4.21±0.60	4.53±1.11	4.24±0.38
Liver	29.27±3.22	29.83±2.29	29.58±2.53	30.81±2.96	27.37±1.97	27.66±1.88	27.16±1.57	28.98±2.16
Spleen	1.51±0.22	1.54±0.34	1.45±0.16	1.56±0.31	1.62±0.16	1.74±0.25	1.68±0.28	1.77±0.25
Kidney	6.45±0.70	7.07±0.69	6.75±0.82	6.77±0.59	6.77±0.68	7.08±0.25	6.83±0.44	6.97±0.52
Adrenal	0.12±0.02	0.12±0.03	0.13±0.02	0.14±0.02*	0.28±0.06	0.28±0.07	0.26±0.08	0.27±0.03
Testes/Ovary	5.99±0.40	6.01±1.04	5.74±0.98	6.11±0.73	0.50±0.09	0.48±0.06	0.52±0.09	0.52±0.11
Seminal vesicle/Vagina	3.07±0.83	3.05±0.79	3.12±0.64	2.74±0.36	0.44±0.28	0.54±0.25	0.40±0.30	0.49±0.34
Prostate gland	1.78±0.62	1.80±0.96	1.73±0.51	1.86±0.72	-	-	-	-

Each value represents maen±S.D. (Relative organ weight=(organ weight/body weight)×1000)
*Significantly different from the control ($p<0.05$).

Table XIII. Relative organ weights in the rats percutaneously treated with DA-5018 creams for 13 weeks at the end of 4-week recovery period

Items	Male			Female		
	cream base	0.3%	0.9%	cream base	0.3%	0.9%
Brain	3.80±0.16	3.99±0.31	3.98±0.54	6.53±0.55	6.16±0.99	6.14±0.29
Hypothalamus	0.03±0.01	0.03±0.01	0.05±0.07	0.07±0.03	0.05±0.01	0.05±0.01
Thyroid gland	0.05±0.01	0.05±0.03	0.04±0.03	0.08±0.01	0.06±0.04	0.08±0.02
Thymus	0.53±0.36	0.84±0.18	0.67±0.22	0.95±0.21	1.21±0.23	0.99±0.12
Heart	2.80±0.29	3.38±0.61	3.08±0.55	3.15±0.13	3.34±0.14	3.18±0.19
Lung	3.26±0.48	4.41±2.36	3.39±0.51	4.09±0.60	4.06±0.39	3.87±0.25
Liver	33.18±3.57	34.09±7.96	30.61±3.66	26.85±2.18	25.99±2.23	25.17±2.53
Spleen	1.54±0.21	1.62±0.93	1.55±0.32	1.74±0.17	1.66±0.18	1.75±0.04
Kidney	6.30±0.60	7.44±2.58	6.40±0.33	6.38±0.23	6.11±0.49	6.62±0.61
Adrenal	0.40±0.60	0.12±0.05	0.14±0.03	0.28±0.05	0.25±0.08	0.27±0.05
Testes/Ovary	5.63±0.33	6.24±0.39	6.06±1.31	0.44±0.08	0.43±0.09	0.45±0.06
Seminal vesicle/Vagina	2.57±0.82	3.24±0.78	3.40±0.56	0.43±0.37	0.74±0.20	0.53±0.29
Prostate gland	1.75±1.09	2.68±1.58	1.80±0.59	-	-	-

Each value represents maen±S.D. (Relative organ weight=(organ weight/body weight)×1000)

병리조직학적검사

시험기간 종료 후 실시한 병리조직학적 검사결과는 Table XIV와 같다. 0.9% DA-5018 cream을 투여한 암컷 동물에서는 시험물질 도포 부위 skin에서 매우 약한 부종이 1마리에서 관찰되었으며, 폐장의 충혈 3예, 폐 출혈 1예, 흉선의 충혈 1예, 간장의 지방변화 1예, 신장의 국소적 충혈 3예 등이 관찰되었다. 수컷 동물에서는 폐장의 충혈 1예, 흉선의 충혈과 약한 출혈이 각 1예, 간장의 지방변화 1예, 신장의 국소적 염증세포 침윤과 충혈이 각각 1예와 3예가 관찰되었다. 그외 병리조직학적 검사에서 관찰된 소견으로는 폐장의 경우 투여한 시험물질에 상관없이 일부의 암·수 동물에서 폐 충혈과 국소적인 출혈이 관찰되었고, 신장의 경우에도 국소적인 충혈소견이 투여한 시험물질의 농도에 상관없이 모든 시험군의 일부 암·수 동물에서 관찰되었다. 그외 장기에 있어서는 특기할 만한 병리조직학적 소견은 관찰되지 않았다. 한편, 4주간의 회복기간 종료 후 실시한 병리조직학적 검사에서는 모든 시험군의 암·수 일부 동물에서 폐장의 충혈과 신장의 국소적 충혈을 제외하고는 이

Table XIV. Histopathological findings in the rats treated with DA-5018 creams for 13 weeks

Organs and Findings	Groups	Cream base		DA-5018 cream					
				0.1%		0.3%		0.9%	
	Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Skin		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Very slight dermal edema		0	0	0	0	0	0	0	1
Brain		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Eye		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Lung		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Mild congestion		3	2	1	2	2	0	1	3
Focal hemorrhage		0	0	1	0	0	1	0	1
Trachea		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Thyroid gland		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Salivary gland		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Heart		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Thymus		(10)	(10)	(0)	(0)	(10)	(10)	(10)	(10)
Mild congestion		1	0	0	0	0	0	1	0
Slight hemorrhage		0	0	0	0	0	0	1	1
Liver		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Mild hydropic degeneration		0	1	0	1	1	0	2	1
Slight fatty change		1	0	0	0	2	1	1	1
Gastrointestinal tract		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Spleen		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Kidney		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Focal cyst		0	0	0	0	0	0	1	0
Focal cell infiltration		0	0	0	0	0	0	1	0
Focal congestion		2	1	1	0	1	1	3	2
Adrenal gland		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Urinary bladder		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10
Testes		(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(0)
Within normal limits		10	0	0	0	0	0	10	0
Seminal vesicle		(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(0)
Within normal limits		10	0	0	0	0	0	10	0
Prostate		(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(0)
Within normal limits		10	0	0	0	0	0	10	0
Ovary		(0)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)
Within normal limits		0	10	0	0	0	0	0	10
Uterus		(0)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)
Within normal limits		0	10	0	0	0	0	0	10
Bone marrow(Sternum)		(10)	(10)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)
Within normal limits		10	10	0	0	0	0	10	10

Code: ( )=Number of animals examined. M: male, F: female.

Table XV. Histopathological findings in the rats treated with DA-5018 creams for 13 weeks at the end of 4-week recovery period

Organs and Findings	Groups	Cream base		DA-5018 cream			
				0.3%		0.9%	
	Sex	M	F	M	F	M	F
Skin		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Brain		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Eye		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Lung		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
Mild congestion		1	0	1	1	0	1
Trachea		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Thyroid gland		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Salivary gland		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Heart		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Thymus		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Liver		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Pheriacini necrosis		0	0	1[a]	0	0	0
Gastrointestinal tract		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Spleen		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Focal necrosis		0	0	1[a]	0	0	0
Kidney		(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
Focal congestion		0	1	1	0	1	0
Dilatation of ducts		0	0	1[a]	0	0	0
Adrenal gland		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Urinary bladder		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5
Testis		(5)	(0)	(0)	(0)	(5)	(0)
Within normal limits		5	0	0	0	5	0
Seminal vesicle		(5)	(0)	(0)	(0)	(5)	(0)
Within normal limits		5	0	0	0	5	0
Prostate		(5)	(0)	(0)	(0)	(5)	(0)
Within normal limits		5	0	0	0	5	0
Ovary		(0)	(5)	(0)	(0)	(0)	(5)
Within normal limits		0	5	0	0	0	5
Uterus		(0)	(5)	(0)	(0)	(0)	(5)
Within normal limits		0	5	0	0	0	5
Bone marrow(Sternum)		(5)	(5)	(0)	(0)	(5)	(5)
Within normal limits		5	5	0	0	5	5

Code: ( )=Number of animals examined. M: male, F: female. [a]dead animal during the dosing period.

상을 나타낸 장기는 관찰되지 않았다(Table XV).

고 찰

Capsaicin은 전신 투여시 적은 용량에서도 신경계, 호흡기계, 심혈관계 등에 심각한 부작용을 나타내기 때문에 현재까지 전신적인 치료제로는 사용되지 못하고 있으나, 최근에 GenDerm사에서 capsaicin을 주성분으로 하는 국소도포용 크림제인 Zostrix®-HP(0.075% capsaicin 제제)를 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). 그러나, 이 제제 또한 도포 후 초기에 burning pain, stinging, warmth, hyperalgesia, itching, rash, redness, erythema 등과 같은 자극성이 출현하며 일부에서는 4주-8주까지 지속된다고 알려져 있어 사용이 제한되고 있다(Low 등, 1995; Tandan 등, 1992; Basha와 Whitehouse, 1991; Deal 등, 1991; Donofrio, 1991; Peikert 등, 1991). 따라서 이와 같은 부작용을 경감시킬 수 있는 capsaicin 유도체에 관한 연구가 진행되고 있다(Janusz 등, 1993; Park 등, 1995). DA-5018은 동아제약(주) 연구소에서 연구중인 비마약성 진통제로서 postherpetic neuralgia, diabetic neuropathy, arthritis 등을 적응증으로 하여 개발예정인 capsaicin 유도체이다. 본 시험에서는 국소적용제로 개발예정인 DA-5018 cream의 안전성을 평가하기 위하여 랫드에 대한 13주 반복 도포 아급성 · 만성 독성시험을 실시하였으며 일부 동물을 4주간 휴약하여 그 회복상을 검토하였다.

DA-5018 cream을 경피 투여한 모든 시험군에서 DA-5018의 농도에 관계없이 암 · 수 모든 동물의 투여부위 skin에는 발적이나 부종 등의 국소독성이 관찰되지 않아, 임상적용시 DA-5018 cream에 의한 이와같은 부작용의 발현 가능성은 낮은 것으로 사료되었다. 실제로 0.3% DA-5018 cream을 랫드에 1주간 반복투여한 결과 2 g/kg의 용량까지 피부에 홍반이나 발적, 부종 등과 같은 변화는 관찰되지 않았으며, dog에 4주간 반복 투여한 시험에서도 0.1%~0.9% 까지의 DA-5018 cream 모두 1 g/kg의 용량까지 투여부위에서의 국소독성이나 전신적인 독성이 관찰되지 않았다는 시험결과가 있어 본 시험결과와 유사하였다(Powell과 Baik, 1996; Powell 등, 1997). 한편, 일반적으로 동물을 이용한 시험에서 강한 피부 자극성을 나타내는 물질인 경우에는 사람에서의 부작용 발현 가능성에 대한 정확한 예측이 가능하지만 작열감이나 화끈거림 등의 약한 자극성 물질인 경우에는 동물시험의 한계 때문에 평가에 어려움이 있다. 본 시험결과에서도 시험물질 도포부위에서 부종이나 발적 등의 변화는 관찰되지 않았으나, DA-5018 cream과 유사한 국소도포용 제제인 zostrix-HP는 임상사용시 도포초기에 작열감이나 화끈거림 등의 부작용이 나타난다고 알려져 있는 점으로 미루어 볼 때 DA-5018 cream 또한 이와같은 부작용을 나타낼 가능성이 있을 것으로 사료된다. 그러나 위에서 언급한 바와같이 동물시험의 한계 때문에 이와같은 약한 자극성에 대한 정확한 평가는 어려웠으며, 추후 임상시험에서 평가되야 할 것으로 판단된다.

시험기간 중 폐사된 동물은 수컷 0.3% DA-5018 cream 투여군에서 1마리가 관찰되었는데, 폐사 직전까지 시험물질 투여와 연관된 임상증상이 관찰되지 않았고, 시험물질 도포부위 피부에서도 자극성은 관찰되지 않았으며 체중에 있어서도 정상적인 증가를 나타내었다. 그러나 폐사된 동물을 부검한 결과 뇨 정체, 방광내 충, 출혈, 출혈괴 저류 등의 소견이 관찰되었다. 이와같은 소견은 DA-5018을 정맥으로 고용량(10.24 mg/kg 이상)을 투여한 경우에 관찰되었던 전형적인 소견으로(미발표자료, 1994), 시험물질에 의한 영향일 가능성을 배제할 수는 없었다. 그러나 0.3% DA-5018 cream(500 mg/kg)에는 약 0.6 mg 이하의 DA-5018이 함유되어 있는데 이와같은 용량에서는 투여경로에 상관없이 방광의 변화는 관찰되지 않는 용량이고, 둘째 이와같은 방광에서의 변화는 아급성독성시험결과 등에 미루어 볼 때 축적성으로는 나타나지 않는 것으로 판단되고 있으며(강 등, 1997b), 셋째 고용량군인 0.9% DA-5018 cream 투여군에서는 폐사된 동물이나 방광에서 이상을 나타낸 동물이 전혀 관찰되지 않은 점 등으로 미루어 시험물질과의 연관성은 부족한 것으로 사료되었다. 또한, 폐사한 동물의 각 장기에 대한 병리조직학적 검사에서도 방광내 뇨정체에 의한 것으로 판단되는 신장의 세뇨관 확장소견 이외에는 특기할 만한 변화를 나타내지 않아, 본 시험에서 폐사된 동물의 직접적인 사망 원인은 알 수 없었으나 정상적인 경피투여에 의하여 시험물질과 연관되어 나타난 폐사는 아닌 것으로 사료되었다.

시험기간 중 측정한 동물의 체중, 음수 및 사료섭취량, 혈액학적 검사 등에 있어서는 대조군과 비교하여 용량상관성 있는 증가나 감소는 나타나지 않았으며, 일부 용량군에서 대조군과 비교하여 유의성있는 변화를 보인 항목이 있었으나 용량상관성이 없고 정상 범위내에서 일시적인 변화로 사료되어 독성학적 의의는 없는 것으로 판단되었다.

혈청생화학적 변화에서는 수컷 동물의 경우 AST치의 용량의존적인 감소와 glucose치의 용량의존적인 증가가 관찰되었고, 암컷 동물의 경우에는 ALT치의 유의성있는 감소와 AST치의 용량의존적인 감소 그리고 glucose치의 유의성있는 증가 등이 용량상관성을 가져 시험물질에 의한 영향일 가능성이 제시되었다. 암 · 수 동물에서 관찰된 AST와 ALT치는 주로 간장의 변화와 연관된 항목이나 병리조직학적 검사에서 간장에서 특기할 만한 변화는 관찰되지 않았으며 일반적으로 AST와 ALT의 감소는 임상적으로 의

의가 없는 것으로 알려져 있어 시험물질인 DA-5018 cream과 연관된 변화로는 판단되지 않았다. 암·수 동물에서 관찰된 glucose 치의 증가는 주로 사료섭취량과 연관된 것으로 알려져 있는데, 실제로 수컷 동물의 경우 사료섭취량이 통계학적 유의성은 관찰되지 않았지만 대조군에 비하여 증가하는 경향을 나타내었고 동물의 체중에 있어서도 대조군에 비하여 오히려 증가하는 경향을 나타내 생화학적 검사에서 나타난 변화와 일치하였으나, 암컷 동물에서는 사료섭취량이나 체중은 정상으로 관찰되어 비례적인 상관관계가 있다고 보기는 어려웠다. 그외 대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 나타낸 항목이 일부 관찰되었으나 모두 일과성의 증감으로 사료되어 약물의 영향으로는 판단되지 않았으며, 이와같은 시험결과는 Monsereenusorn이 천연 capsaicin을 랫드에 50 mg/kg의 용량으로 60일간 반복하여 투여한 결과 BUN, cholesterol, ALP 등의 감소가 일부 동물에서 나타난다고 한 시험결과(Monsereenusorn, 1983)나 DA-5018의 랫드에 대한 4주 경구투여 아급성 독성시험에서 triglyceride, Ca, creatinine, BUN 등의 일부 항목에서 통계학적으로 유의성있는 증가나 감소가 관찰된 것으로 알려져 있어(강 등, 1997b) 본 시험결과와 유사하였다. 한편, 회복기간 종료후 실시한 혈청생화학적 검사에서는 암·수 동물의 glucose치의 증가를 제외하고는 모두 정상으로 관찰되었다.

뇨검사 결과에서 나타난 수컷 동물의 bilirubin치의 증가와 ketone치의 증가는 acidosis, 절식 등과 같은 여러 가지 원인에 의해 나타날 수 있는 현상이나 일반적으로 간장의 병변과 연관된 경우가 많다(한 등, 1982). 그러나 본 시험결과 간장의 병리조직학적 검사에서 특기할 만한 조직학적 변화가 관찰되지 않았으며, 혈청 생화학적 검사에서도 간장의 병변과 연관된 항목들이 독성학적으로 의미있는 변화를 나타내지 않은 점으로 미루어 시험물질에 의한 변화는 아닌 것으로 판단되며 절식 등의 원인에 의한 생리적인 변화로 추정되었다.

시험기간 및 회복기간 종료 후 측정한 장기중량에 있어서도 통계학적으로 유의성있는 증가나 감소를 보인 장기가 일부 관찰되었으나 모두 용량상관성이 결여되어 독성학적인 의의는 없는 것으로 판단되었으며, 시험물질의 영향으로 판단할 만한 변화는 관찰되지 않았다.

병리조직학적 검사결과 시험물질과 연관된 것으로 판단되는 소견으로는 암컷 0.9% DA-5018 cream 투여군의 skin에서 관찰된 경도의 부종이었다. 그러나 이는 그 정도가 매우 약하고 빈도 또한 매우 낮았으며(20마리중 1마리), 육안소견상 발적이나 홍반 혹은 부종 등의 국소독성으로 나타나지 않았던 점으로 미루어 큰 문제는 되지 않을 것으로 사료된다. 더구나, 아직 임상 사용 방법이 결정되지는 않았지만 DA-5018 cream은 4주 내외의 투여기간을 가질 것으로 예상되므로 본 시험에서와 같이 고용량을 장기간에 걸쳐 반복적으로 적용할 가능성은 없기 때문에 실제 임상에서는 큰 문제가 되지 않을 것으로 사료된다. 그외 조직학적 검사에서 관찰된 이상소견으로는 폐장에서 충, 출혈 소견과 신장에서 국소적 염증세포 침윤과 국소적인 충혈 및 간장에서의 지방변성 등의 조직학적 소견이 있었으나, 일부 동물에서만 용량상관성 없이 나타났고 대조군에서도 관찰된 점으로 미루어 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 판단되었다.

결 론

DA-5018 cream의 안전성 평가의 일환으로 SD계 랫드에 DA-5018 cream base, 0.1%, 0.3% 및 0.9% DA-5018 cream을 각각 500 mg/kg/day의 용량으로 13주간 반복하여 경피투여하고 일부 동물을 4주간 휴약하여 그 회복상을 검토하였다. 시험결과 DA-5018 cream을 투여한 모든 시험군에서 시험물질 투여와 연관된 임상증상은 관찰되지 않았으며, 체중변화, 음수 및 사료 섭취량, 뇨검사, 혈액학적검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량, 부검소견 및 병리조직학적검사 등에서도 독성학적으로 특기할 만한 변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 부터, 본 시험조건 하에서 DA-5018 cream은 0.9%까지 국소독성을 유발하지 않으며 전신적인 독성 또한 나타내지 않는 것으로 판단된다.

감사의 말씀

본 연구는 과학기술처의 특정연구개발사업의 지원을 받아 실시되었으며, 이에 감사 드립니다.

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 Prawer, 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.

Holzer, P. (1991). Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmcol. 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.

Low, P. A., Oper-Gehrking, T. L., Dyck, P. J., Litchy, W. J. and O'Brien, P. C. (1995). Double-blind, placebo-controlled study of the application of capsaicin cream in chronic distal painful polyneuropathy. *Pain.* **62**, 163-168.

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.

Monsereenusorn, Y. (1983). Subchronic toxicity studies of capsaicin and capsicum 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.

Peikert, A., Hentrich, M. and Ochs, G. (1991). Topical capsaicin in chronic post-herpetic neuralgia: efficacy, predictors of response and long-term course. *J. Neurol.* **238**, 452-456.

Powell, L. A. J. and Baik, N. G. (1996). DA-5018 Analgesic cream, Preliminary toxicity to rats by dermal administration for 1 week. Huntingdon Life Science. 미발표자료.

Powell, L. A. J., Harris, B., Hook, W. N., Gopinath, C., Crook, D., Buist, D. P. and Baik, N. G. (1997). DA-5018 Toxicity to dogs by repeated dermal administration for 4 weeks. Huntingdon Life Science. 미발표자료.

Rebecca M. Craft and Frank Porreca. (1992). Therapeutic potential of capsaicin-like molecules. Treatment parameters of desensitization to capsaicin. *Life Science.* **51**, 1767-1775.

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.

강경구, 김동환, 백남기, 김원배, 양중익. (1997 a). 비 마약성 진통제 DA-5018의 급성독성 시험. 응용약물학회지. **5**, 12-22.

강경구, 김옥진, 백남기, 안병옥, 김원배, 양중익. (1997 b). 비 마약성 진통제 DA-5018의 랫 드에 대한 4주 경구투여 아급성독성. 응용약물학회지. **5**, 133-149.

미발표자료. DA-5018의 랫드에 대한 정맥내 단회투여 급성독성시험. (1994). 사내보고서.

식품의약품안전본부. (1996). 의약품등의 독성시험기준.

한홍율, 이정길, 이창우. (1982). 개정수의임상병리. 기전연구사.