



퓨리톤의 안전성 평가

퓨리톤의 안전성 평가

I . 개요

- **시험제목 :**

ICR mouse를 이용한 퓨리톤의 안전성 평가

- **시험기간 :** 2018.04.13 - 2018-11.28

- **시험기관 :** ScreenForFuture

- **시험기관의 주소 :**

전라남도 나주시 건재로 185 동신대학교
산학협력단 307호

- **시험실시자 :** 연구원 김동현

- **동물사육실 :** 해인 2관 501호

- **의뢰기관 :** (주)카데시인코퍼레이션

- **의뢰기관의 주소 :**

서울특별시 종로구 신문로1가 광화문
오피시아 20층 2021호

II. 시험 관련 사항

1. 시험목적 : ICR mouse에 Puriton을 투여하여 differential cell count, 생화학 분석과 tissue의 조직병리학적 분석함으로써, Puriton의 안전성을 평가하기 위하여 수행함.

2. 시험방법 : 식품의약품안전청고시 제2009-116호 (2009년 8월 24일) '의약품 등의 독성시험 기준'에 준하여 실시하였다.

3. 시험물질 및 부형제

1) 특성

(1) 시험물질

- 명칭: Puriton
- 시험기관 내 코드번호: 2018-SS-001-1
- Batch (로트) 번호: N/A
- 입수량 : 2,380mg (170mg/vial x 14 vial)
- 입수일 : 2011.5.30

- 유효기간(Retest Date): N/A
- 외관 및 성상: Transparent liquid
- 보관조건: 실온, 실험실 선반
- 공급처: (주)카데시인코퍼레이션

(2) 부형제

- 명칭: Distilled water
- 시험기관 내 코드 번호: KAI8008 2B
- 로트번호: H6SCa-201105171
- 입수일: 2011.5.30
- 유효기간(Retest Date): 2011.10.17
- 외관 및 성상: Transparent liquid
- 보관조건: 실온, 실험실 선반
- 조성: 0.9% NaCl
- 공급처: 종외제약

2) 시험물질 준비 및 투여

(1) 시험물질 및 vehicle control의 준비

- 시험물질은 원제 그대로 이용하였다.
- Vehicle Control는 0.9% NaCl distilled water를 이용하였다.

(2) 시험물질의 투여

- 사람에게 대한 예정경로인 경구투여를 선택하였다.
- 투여시각은 09:00~15:00로 1일 1회씩 26주간 반복 투여하였다.

3) 시험물질 분석

(1) 시험물질의 안정성 분석

- 안정성 분석은 실시하지 않았다.

(2) 시험물질의 함량, 균질성 분석

- 조제물의 함량, 균질성 분석은 실시하지 않았다.

4.재료 및 방법

1) 시험계

(1) 종 및 계통 : 특정병원체부재(SPF) Mouse

(2) 공급원 : (주)샘타코바이오표(경기도 오산시 서량로 105)

(3) 시험계의 선택이유 : 본 시험에 사용된 마우스는 설치류 독성시험에 적절한 실험동물로서 풍부한 시험 기초자료가 있으므로 시험 결과의 해석에 이를 이용할 수 있다.

(4) 주령 및 체중범위 - 수컷

- 입수 시 주령 및 동물 수: 약 4주령, 20마리
- 투여개시 시 주령 및 동물 수: 약 4주령, 18마리

(5) 검역 및 순화 : 동물을 입수 후 시험을 실시하는 동물에서 4일간 순화시키면서 일반 증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다.

2) 사육환경

(1) 환경조건

본 시험은 온도 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 15\%$, 환기횟수 10~20 회/hr 조명시간 12시간 및 조도 150~300Lux로 유지되는 사육 구역에서 사육되고 시험이 실시되었다.

(2) 사육환경 모니터링

환경검토 결과, 시험에 영향을 미칠 것으로 사료되는 변동은 없었다.

(3) 사육상자 및 사육밀도

동물은 적량의 깔개를 담은 폴리카보네이트 사육상자에서 순화, 투여기간에 3마리 이하 / 사육상자로 사육되었다.

(4) 사료 및 물

1. 사료의 급여방법 : 순화, 검역 및 투여 기간 동안 자유 섭취시켰다.
2. 물의 급여방법 : 폴리카보네이트 병을 이용하여 상수도수를 자유 섭취시켰다.

3) 투여량 및 시험군의 구성

(1) 투여량 설정

마리당 투여할 수 있는 최고용량인 $800\mu\text{l}$ 를 최대로, $400\mu\text{l}$, $0\mu\text{l}$ 를 투여하였으며 총량을 보정하기 위해서 생리식염수 $0\mu\text{l}$, $400\mu\text{l}$, $800\mu\text{l}$ 를 추가하여 활용하였다.

군	성별	동물 수	동물번호	퓨리톤 투여량 ($\mu\text{L}/\text{head}$)	물 투여량 ($\mu\text{L}/\text{head}$)
G1	M	6	1~6	0	800
G2	M	6	7~12	400	400
G3	M	6	13~18	800	0

(2) 군분리 및 동물식별

동물은 순화 기간에는 적색 유성 매직으로, 투여 및 관찰기간에는 흑색 유성 매직을 이용한 미부표식법을 사용하여 식별하고 사육 상자에는 개체식별카드를 부착한다. 순화 기간 중 건강한 것으로 판정한 동물의 체중을 측정하여 순위화하고, 각 군의 평균체중이 균일하게 분포하도록 ‘시험군 구성’과 같이 무작위 분배한다.

4) 관찰 및 검사항목

(1) 일반증상관찰

모든 시험군의 동물에 대하여 입수일부터 부검일까지 매일 1회 이상 증상을 관찰하였다.

(2) 체중 및 사료섭취량 측정

일주일에 1회 체중과 사료량을 측정하고 사료량은 매주 동일한 양의 사료를 공급하였다.

(3) 혈액학적 검사

부검 3시간 전에 절식한 후 zoletil 마취하에 심장으로 채혈하였으며 측정항목은 아래와 같으며 HEMAVET 950FS를 이용하였다.

측정항목
Ⓐ White blood cell count (WBC) Ⓑ Red blood cell count (RBC) Ⓒ Differential leukocyte count(neutrophils : NEU%, lymphocytes : LYM%, monocytes : Mon%, eosinophils : EOS%, basophils : BAS%)

(4) 혈액생화학적 검사

부검 3시간 전에 절식한 후 zoletil 마취하에 심장으로 채혈한 후, 채취된 혈액을 실온에서 약 90분정도 방치한 후 3,000rpm으로 약10분간 원심 분리하여 얻은 혈청을 이용하여 아래의 항목을 측정 하였다.

Testing items automatic biochemical analytic device (Toshiba 200FR NEO, Toshiba co., Japan)is used for the blood test.	
Ⓐ Aspartate aminotrans ferase(AST) Ⓑ Alanine aminotransferase(ALT) Ⓒ Alkaline phosphatase(ALP) Ⓓ Blood urea nitrogen (BUN) Ⓔ Creatinine (CREA) ① Glucose(GLU) ⑨ Total cholesterol(TCHO)	㉕ Albumin/globulin ratio(A/G) ① Total protein(TP) ① Albumin(ALB) ㉕ Creatinine phosphokinase (CK) ① Triglyceride(TG) ㉕ Gamma-glutamyltransferase(GGT) ㉕ Total bilirubin(TBIL)

(5) 부검

부검대상 동물을 zoletil 마취 후 심장으로 채혈한 후 복대동맥을 절단하여 방혈하는 방법으로 절박도살을 실시하고 모든 장기에 대하여 부검소견을 관찰하고 5대 장기(심장, 폐, 신장, 비장, 간)에 대한 고정을 실시하였다.

5) 통계학적 방법

얻어진 자료에 대한 통계분석은 다중비교검정법을 실시하였다. 검사항목에 대해 Bartlett법으로 등분산 검정을 실시하여 유의성이 인정되지 않을 경우에는 일원배치분산분석(ANOVA)을 유의수준 $\alpha=0.05$ 혹은 $\alpha=0.01$ 로 검정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 결과

1) 사망률 : 동물의 사망은 관찰되지 않았다.

2) 일반증상 : 일반증상관찰 결과, 시험물질에 따른 일반증상에 대한 이차 소견은 관찰되지 않았다.

3) 체중변화(Figures 1, Tables 1)

(1) Puriton 투여군 체중의 증가는 상대적(미투여군)으로 적음.

(2) 체중과 사료의 변화 결과를 통해서 확인할 수 있는 것은 Puriton 은 사료의 섭취를 낮추어 체중의 증가를 억제하는 것으로 판단된다.

4) 사료섭취량(Figures 2, Table 2)

Puriton 투여군은 상대적(미투여군)으로 사료의 섭취량이 적음.

5) 혈액학적 검사 (Table 3)

혈액학적검사결과, 본 시험에서 관찰된 유의한 혈액학적 항목의 변화는 그 변화정도가 작거나, 용량에 따른 경향이 관찰되지 않거나, 관련 장기의 변화가 관찰되지 않아서 시험물질과 연관성이 없는 것으로 판단된다.

6) 혈액생화학적 검사 (Table 4)

혈액생화학적 검사결과, 본 시험에서 관찰된 유의한 혈액 생화학적 항목의 변화는 용량에 따른 경향이 관찰되지 않거나, 관련 장기의 변화가 관찰되지 않아서 시험물질과 연관성이 없는 것으로 판단된다.

7) 부검소견

부검 결과, 시험군간 차이가 없었다.

8) 병리조직 검사 (Figure 3)

부검 결과, 시험군간 차이가 없었다.

2.고찰 및 결론

본 시험은 시험물질 Puriton을 ICR mouse에 대한 독성을 조사하기 위하여 매일 26주간 반복 경구투여하여 그 결과를 확인했다. 이를 위해서 사망률 확인, 일반 증상 관찰, 체중측정, 사료 섭취량 측정, 혈액학적 검사 실시, 혈액 생화학적 검사 실시, 부검 소견, 병리학적 소견 등을 실시하였다. 시험 물질 투여에 의한 독성평가를 조사한 결과 시험물질에 의한 변화 혹은 이상 소견은 확인할 수 없었으며, 본 시험에서 관찰된 유의한 혈액학적 항목, 혈액생화학적 항목의 변화, 및 부검 소견과 병리조직학적인 변화는 변화 정도가 작거나, 용량에 따른 경향이 관찰되지 않았기 때문에 독성학적 변화로는 판단되지 않는다.

이상의 결과를 통해서, Puriton을 mouse에 대한 26주 반복 투여에 의한 무독성량은 800 μ L/head를 상회하는 것으로 사료된다.

퓨리톤의 안전성 평가

요약

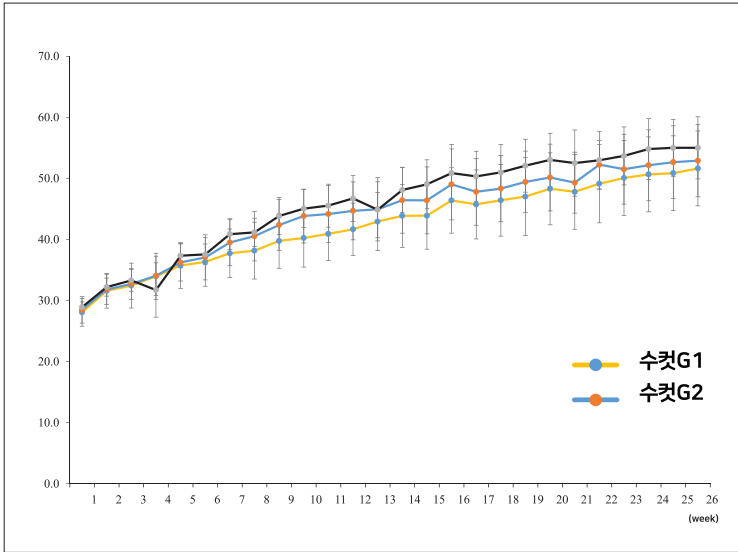
Summary

Puriton을 ICR mouse에 군당 수컷 각 6마리에 0, 400, 및 800 μ L /head의 용량으로 투여하여 독성을 확인한 결과 다음과 같다.

- (1) 시험물질 투여에 의한 사망동물이나 일반증상은 관찰되지 않았다.
- (2) 체중측정 결과, 시험물질투여군 체중의 증가는 상대적(미투여군)으로 적었으며, 체중과 사료의 변화 결과를 통해서 확인할 수 있는 것은 Puriton은 사료의 섭취를 낮추어 체중의 증가를 억제하는 것으로 나타났다.
- (3) 사료의 섭취량 측정결과 Puriton투여군 상대적(미투여군)으로 섭취량이 적었다.
- (4) 혈액학적 검사 결과, 모든 투여군에서 시험물질 투여에 의한 변화는 관찰되지 않았다.
- (5) 혈액생화학적 검사 결과, 모든 투여군에서 시험물질투여에 의한 이상 소견은 관찰되지 않았다.
- (6) 부검 결과, 모두 투여군에서 시험물질 투여에 의한 소견은 관찰되지 않았다.
- (7) 병리조직학적 결과, 모든 투여군에서 시험물질 투여에 의한 변화는 관찰되지 않았다.

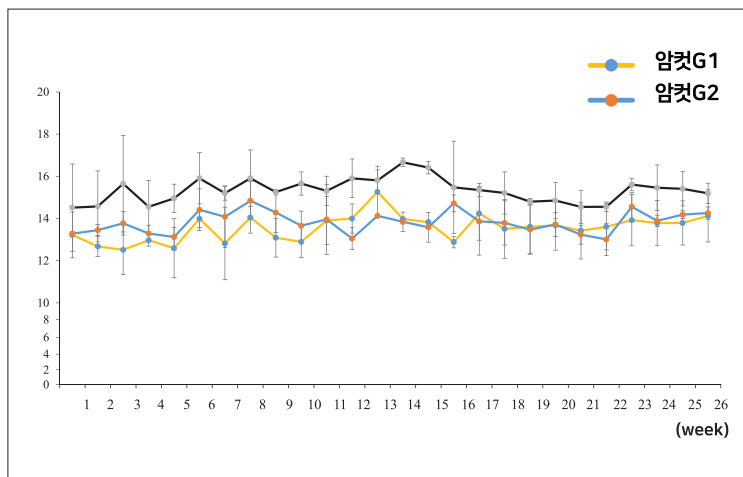
이상의 결과를 통해서, Puriton을 mouse에 대한 26주 반복투여에 의한 무독성량은 800 μ L/head를 상회하는 것으로 사료된다.

체중(수컷)



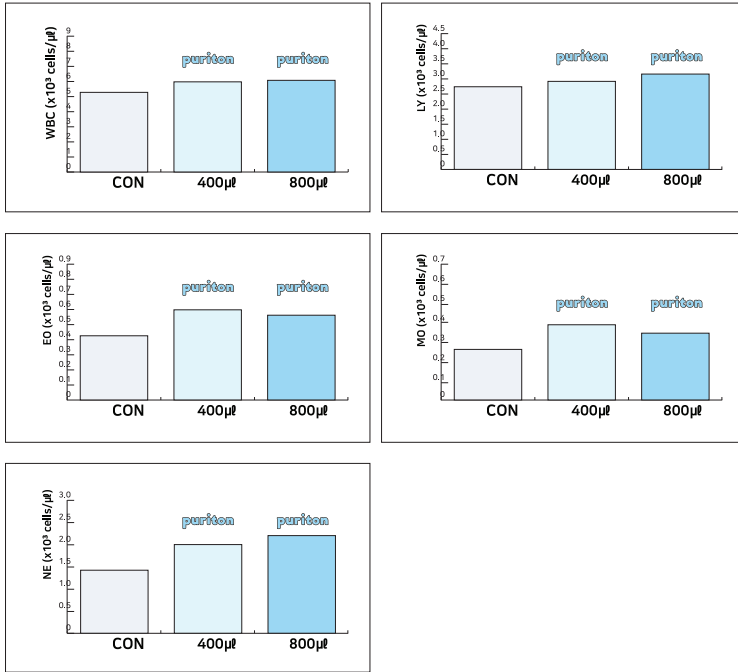
1. Puriton 투여군 체중의 증가는 상대적(미투여군)으로 적음.
2. 체중과 사료의 변화결과를 통해서 확인 할수 있는 것은 Puriton 사료의 섭취를 낮추어 체중의 증가를 억제하는 것으로 판단됨.

사료량(수컷)



1. Puriton 투여군 상대적(미투여군)으로 사료의 섭취량이 적음.

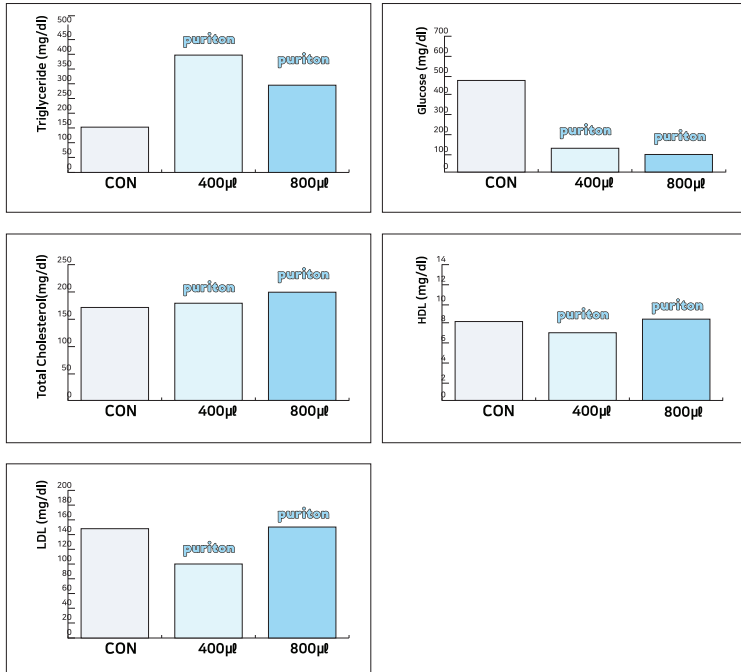
혈구분석 - 수컷



혈구분석(수컷) 분석결과

1. WBC, eosinophil(EO), neutrophil(NE), lymphocyte(LY), monocyte(MO) 모두정상, 즉 혈구세포에는 이상이 없음.

생화학분석 - 수컷



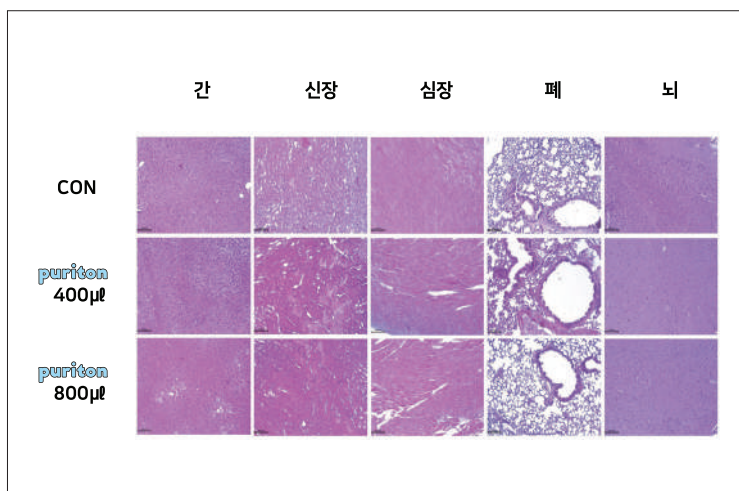
생화학분석(수컷) 분석결과

1. Triglyceride(TG)는 세포기능을 위한 에너지원이나 알코올 대사에 활용되며 Puriton투여군에서 대조군 (con, 물투여군)에 비하여 높게 확인되므로 생체활성에 유리하게 작용하는 것으로 판단됨.
2. Glucose는 혈당량이며 Puriton투여군에서 대조군보다 낮으므로 당뇨병

조절 가능함.

3. 고지혈등, 혈행저하 등의 지표는 Total Cholesterol, low density lipoprotein (LDL)로 LDL이 높은경우 문제가 됨. Puriton투여군에서 상대적으로 적으므로, 고지혈증과 혈행개선 가능.

조직병리 - 수컷



퓨리톤의 안전성 평가

참고문헌

- **식품의약품안전청 (2009) :**
식품의약품안전청고시 제 2009-183호 (2022년 12월 22일) ‘비임상시험관리기준’
- **식품의약품안전청 (2009) :**
식품의약품안전청고시 제 2009-116호 (2009년 8월 24일) ‘의약품등의독성시험기준’
- **U.S. Food and Drug Administration (FDA)**
Good Laboratory Practice Regulations
(21 CFR Part 58).

Puriton