

랫트에 있어서 DWH-01(Ranitidine : Bismuth subcitrate : Sucralfate)의 아급성독성에 관한 연구

박선미 · 김형식 · 김용기 · 변수현 · 연제덕* · 유영효* · 이병무 · 이향우#
성균관대학교 약학대학 약학연구소, (주)대웅제약 생물약학 연구실

(Received June 23, 1993)

Subacute Toxicity of DWH-01(Ranitidine : Bismuth subcitrate : Sucralfate) in rats

Sun-Mee Park, Hyung Sik Kim, Yong-Kee Kim, Soo Hyun Byun, Je Deuk Yeon*,
Young Hyo Yu*, Byung Mu Lee and Hyang Woo Lee#
College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

*Daewoong Pharm. Co., 223-23 Sangdaewon-dong, Joongwon-gu, Sungnam, Korea

Abstract—Subacute toxicities of DWH-01(Ranitidine : Bismuth : Sucralfate=1.5 : 2 : 6) were investigated in Sprague-Dawley rats. After oral administration of DWH-01 with different dosages of 5 g/kg, 1 g/kg, and 0.2 g/kg, we examined the number of deaths, general signs, food intake, water intake, body weight and histopathological changes for both sexes of rats. During the administration period, urinalysis and ophthalmological examination were also performed in the treated animals. 1) Animals were all survived for 4 weeks. 2) There were no significant differences in pathological and ophthalmological findings between the control and treated animals. 3) There were no significant changes in body weight, food intake and water intake compared with control group. 4) In hematological examination and blood chemical analysis, there was no significant change compared with control group. 5) In histopathological examinations of organs and tissues, there was some hemorrhage in a lung tissue of low dose group, but it was thought to be caused by environmental factor. These data suggest that DWH-01 is not subacutely toxic in Sprague-Dawley rats.

Keywords □ Ranitidine, sucralfate, bismuth, subacute toxicity.

물질특허를 도입한 우리나라 제약산업계에서 새로운 신물질의 개발은 매우 시급하고 중요한 과제이다. 그러나 현상형에서 볼때 새로운 신물질의 개발에는 많은 노력, 시간, 축적된 기술등이 필요하므로 그 중간과정이라고 할 수 있는 배합 신약의 개발도 중요한 의미가 있다고 하겠다. 대웅제약 중앙연구소에서는 그러한 배합신약 개발의 일환으로 DWH-01을 개발하였는데 이는 위장질환의 원인은 매우 다양한 것으로 알려져 있으나 최근의 연구 결과로는 위산, 펩신, 헬리코박터필로리 등의 공격인자와 점막에서 분비되는

점액, 조직 재생능력, 혈행 개선 능력등 방어인자의 불균형에 의한 것이 가장 타당한 것으로 받아들여지고 있다. 따라서 이러한 질환을 치료하기 위하여 위산 등의 공격인자를 억제하여 위궤양을 치료할 목적으로 시메티딘, 라니티딘, 파모티딘 등의 H₂ 길항제가 개발되었으며,¹⁾ 방어인자를 증강시킴으로서 위, 십이지장궤양 부위를 보호하고 헬리코박터필로리의 사멸을 목적으로 비스무스 서브시트레이트와 비스무스 서브살리시레이트 등의 비스무스제제가 위장질환을 치료하기 위해 개발되어 왔다.²⁾ 최근에는 공격인자인 펩신을 불활성화하고 방어인자인 점액분비촉진, 생산작

#본 논문에 관한 문의는 이 서자에게로.

용, 점막세포의 재생촉진, 프로스타글란딘 분비 자극 작용등에 의하여 수크랄레이트제제가 위염, 위궤양의 치료목적에 사용되고 있다. 위에서 언급한 3가지 약물들은 각기 훌륭한 장점을 가지고 있지만 보완해야 할 점도 있으므로^{11, 13)} 위장질환의 보다 완벽한 치료를 위해서 배합 투여에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다.³⁾ H₂ 길항제 단독투여 또는 비스무스 제제 단독투여보다는 병용투여하는 것이 더 높은 치료효과를 갖는다는 보고가 있으며, H₂ 길항제와 수크랄레이트제의 병용투여시에도 각 약물의 단독투여시보다 위궤양등의 재발이 효과적으로 억제된다고 보고되었다.^{4,14)} 따라서 (주)대웅제약 중앙연구소에서 개발한 DWH-01은 위궤양등을 단기간내에 치료하고 재발을 저하시키기 위해서는 공격인자로 작용하는 요소와 방어인자로 작용하는 요소가 균형을 이루게 함으로써 위장기능을 전체적으로 정상화 시킬수 있다는 점에 착안하여 위장 질환용 의약 조성물의 개발을 위해 연구하여 오던 중, 상기의 H₂ 길항제 1종, 비스무스제 1종과 수크랄레이트제를 병용투여할 경우 각 약물의 단점을 보완하여 뛰어난 치료효과 그리고 위 동통의 제거 및 재발을 저하등을 얻을 수 있음을 알게 되었다.

본 실험에서는 (주)대웅제약 중앙연구소에서 공급받은 배합제인 시험물질 DWH-01을 랫트에 주 5회 경구투여 하였을 때 나타나는 아급성독성을 관찰하기 위하여 실시하였고, 시험기간동안 대조군 및 시험물질 투여군의 모든 동물에 대하여 일반증상, 안구검사, 체중측정, 사료섭취량 및 물섭취량 등을 측정하였으며, 투여종료 후 모든 동물에 대하여 육안적 해부조건, 장기중량, 혈액 및 혈액생화학적 검사(노검사 포함) 및 병리조직검사를 실시하여 본 시험물질에 대한 안전성을 평가하였다. 시험방법은 국립보건안전연구원 독성시험 지침서에 준하여 실시하였다.⁵⁾

시험재료 및 시험방법

시험물질

(주)대웅제약 중앙연구소로부터 수령하여 시험에 사용한 시험물질 DWH-01은 합습성을 가지는 백색의 분말로 Ranitidine HCl : Bismuth subcitrate : Sucralfate=1.5 : 2 : 6의 혼합물로 된 제제이다.

시험동물 및 사육환경

시험구역은 성균관대학교 약학대학 약학연구소내 GLP(Good Laboratory Practice)room에서 실시하였으며, 청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD (Sprague-Dawley)계 랫트를 사용하여 온도 23±1℃, 습도 55±5℃, 배기 10~18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280W×420L×170H mm) 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간 동안에 증상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 신촌사료 주식회사의 실험 동물사료를 구입하여 고압증기 멸균기에서 121℃, 15분간 멸균한 다음 실험동물에 자유로이 공급하였으며, 음용수는 멸균수도물을 자유롭게 섭취시켰다.

시험방법

군분리 및 투여용량의 설정—순화기간중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다.^{5, 10)} 동물의 개체식별은 사육상자별 tag 표시법을 이용 실시 하였다. 투여용량의 설정은 예비 실험 결과를 토대로 하여 최고용량군 5g/kg, 중간용량군 1g/kg 및 저용량군 0.2g/kg으로 한 3단계 등비용량을 설정하고 각 시험군마다 시험계를 아래와 같이 설정하였다. 시험물질을 투여하기 직전 시험동물의 체중범위는 수컷 160~190g 및 암컷 130~180g 이었고, 연령은 약 5~6주령이었다.

시험군	투여용량 (g/kg)	투여액량 (ml/kg)	시험계(마리)	
			수컷	암컷
최고용량군	5	14	10	10
중간용량군	1	14	10	10
저용량군	0.2	14	10	10
대조군*	0	14	10	10
무처리군	0	14	10	10

* 대조군에는 증류수만 투여하였다.

시험물질의 조제 및 투여

DWH-01의 정제 내용물을 증류수에 균일하게 현탁되도록 시험물질을 조제하였으며, 시험당일 투여전에 조제하였다. 시험물질의 투여는 랫트용 존데를 이용하여 1회 경구투여 하였다. 투여용량은 투여직전 체중의 변화에 따라 산출하였다.

임상증상관찰 및 안구검사

임상증상관찰은 모든 실험동물에 대한 상태를 매일 1회 일정시간에 주의하여 관찰하였다. 또한 안구검사는 투여 마지막 주에 otoscope를 이용한 간이적인 방법으로 실시하였다.

체중측정

시험에 사용된 모든 실험동물에 대하여 시험기간중 매주 3회 측정하였으며 또한 시험물질 투여전 사료 섭취량 및 물섭취량은 주 2~3회 측정하였다. 사료 섭취량은 각 사육상자별로 1일 1회 공급한 사료량에서 남은 잔량을 감하여 측정하였으며, 물섭취량은 물 공급시 마다 최초공급량에서 줄어든 분량을 계속하고, 다시 새로운 물을 물병에 채우는 작업을 매일 실시하며, 각 사육상자별 소모된 물의 양을 측정하였다.

혈액학적 검사

부검전 1일간 절식시킨 후, ether로 마취시켜 복부 대동맥에서 채혈하였다. 채혈한 혈액은 항응고제로 EDTA 2K가 함유된 채혈병에 넣어 자동혈액검사기기를 이용하여 혈액학적 WBC(white blood cell), RBC(red blood cell), HGB(hemoglobin), Hct(Hematocrit), PCV(packed cell volume), MCHC(mean corpuscular hemoglobin concentrartion)등을 측정하였다.

혈액생화학적 검사

복부대동맥에서 채혈한 혈액중 일부를 혈액학적 검사로 이용하고 나머지 혈액은 4℃ 냉장보관한 후 원심분리(3000 rpm, 10 min), 하여 자동생화학검사기(Express 550)를 이용하여 ALB(albumin), ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), BUN(blood urea nitrogen), CHOL(cholesterol), GLU(glucose), TBILI(total bilirubin), T PROT(total protein), TRIG(triglyceride), ALP(alkaline phosphatase), CREAT(creatinine), CL(chloride), Na(sodium), K(potassium)등을 측정하였다. ALT, ALP, CK(G-6-PDH), LDH등은 반응온도에 따라 검사결과가 달라질 수 있으므로 30℃를 기준으로 하여 측정하였다.

백혈구 백분비 검사

혈액도말 표본을 만들어 Wright염색하여 백혈구를

Lymphocytes, Neutrophils, Monocytes, Eosinophils, Basophils등으로 구분하여 검경하였다.

뇨검사

부검 전일 채뇨하여 비중, pH, PRO(protein), Glucose, Kotone체, Bilirubin, 잠혈, Nitrite 및 Urobilinogen을 검사하기 위하여 뇨 시험지(MULTISTIX, AMES)에 뇨를 침적시켜 측정하였다.

부검

모든 시험군의 생존동물에 대하여 시험물질 투여 개시일로 부터 4주후에 부검을 실시하였다. 부검전에 체중을 측정하고 ether 마취하에 방혈치사시킨 후 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

장기적출

모든 시험군의 전동물에 대하여 위, 신장, 간장, 비장, 심장, 폐장, 갑상선, 부신, 뇌, 고환, 난소 및 육안적 병변 부위를 적출하였다.

장기중량측정

모든 시험군의 전동물에 대하여 위, 신장, 비장, 심장, 폐장, 부신, 뇌, 고환, 난소의 중량을 측정하였다.

병리조직 검사

전 동물에 대하여 신장, 간, 심장, 폐장, 갑상선, 부신, 뇌, 고환 및 난소를 10%중성 포르말린으로 고정시켰다. 병변이 있는 장기의 경우 대조군 및 최고용량군에서는 상기 장기를 전례에 대하여 실행하고 흉선에서의 무처리대조군, 용매대조군 암수 각 2마리, 최고용량군 암수 각 1마리, 저용량군 및 중간용량군에서는 육안적 부검조건이 인정되는 장기에 대해 병리조직 검사를 시행하였다.

통계학적 분석

체중측정, 사료섭취량 및 물섭취량의 유의성 검정은 Student's t-test을 사용하였으며, 일반병리 및 조직병리 부분의 자료는 Dunnett's test에 의해 실시하였다.

시험기초자료의 보관

시험과정에서 얻어진 조직검체 및 기타 기록사항등 시험기초자료는 성균관대학교 약학대학 약학연구소에 보관하였다.

실험결과 및 고찰

임상증상 및 안구검사—시험물질 투여기간 중 사망한 동물은 없었다(Table 1). 종합적인 임상증상관찰 결과는 Table 2에 나타내었다. 모든 동물에서 연변, 호흡불의 증가등의 특이증상은 관찰되지 않았으며 최종투여일에 실시한 안구검사에서 특이한 안구부위의 이상소견은 관찰되지 않았다.

체중측정결과—DWH-01 투여군 및 대조군들의 체중측정결과는 Table 3에 나타내었다. 수컷 및 암컷에서 전체 투여기간중 각 군간의 유의성있는 변화는 인정되지 않았다.

사료섭취량 및 물섭취량—DWH-01 투여군 및 대조군들의 사료섭취량과 물섭취량의 측정결과는 Table 4와 Table 5에 나타내었다.

혈액학적 검사—WBC가 수컷 최고용량군(P<0.001), 중간용량군(P<0.001), 저용량군(P<0.001) 모두 대조군보다 감소하였다. Lymphocyte는 수컷 최고용량군(P<0.001), 중간용량군(P<0.01)에서 대조군에 비해 유의성있게 감소하였고, 암컷 중간용량군(P<0.001)에서는 유의성있게 감소하였으나 저용량군(P<0.001)에서는 증가하였다. 그러나 변화된 값 모두 정상적인 지표내의 수치로서, 혈액학적 검사에 사용된 종합적 지표와 비교하여 보면 약제에 의한 혈액학적 변화로 판단되지 않는다(Table 6).

혈액생화학적 검사—대조군과 시험물질 투여군간에 유의성 있는 변화는 없었다(Table 7).

백혈구 감별검사—Neutrophil이 시험물질투여군에서 대조군보다 유의성있게 증가하였다. 이는 이물질이 생체내 반복투여될 때 가장 흔하게 나타나는 현상으로 독성학적 견지에서는 독성지표로 간주되지 않는다.

노검사—대조군과 시험물질 투여군간에 유의성있는 변화는 관찰되지 않았다(Table 8).

육안적 부검소견—폐장의 부분적 출혈반점이 수컷 처치대조군 및 최고용량군에서 각각 1예, 암컷 저용량군과 처치대조군에서 각각 1예 관찰되었다. 폐장의 부분적 출혈반점은 환경에 기인한 폐의 손상으로 무시될 수 있는 소견으로 사료되었다(Table 9).

Table 1—Mortality of rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)	Weeks after treatment					Final Mortality
		Start	1	2	3	4	
Male	5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(+) ¹	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(-) ²	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(+)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(-)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

1 Treated with distilled water.

2 Not treated with distilled water.

Table 2—Clinical signs in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)	Animal numbers with clinical signs				
		Start	1	2	3	4(week)
Male	5	0/10 ³	0/10	0/10	0/10	0/10
	1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(+) ¹	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(-) ²	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Female	5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	0.2	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(+)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	CON(-)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

1 Treated with distilled water.

2 Not treated with distilled water.

3 0/10 means no clinical signs were observed in 10 animals treated with DWH-01.

장기중량의 변화—비장의 중량이 수컷의 경우 최고용량군이 무처리대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다.(P<0.001) 또한 중간용량군도 무처리대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다.(P<0.05) 암컷의 경우도 최고용량군(P<0.05)과 중간용량군(P<0.001)이 무처리대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다. 비장의 무게증가는 생체의 이물질로서 약제가 반복투여될 때 흔히 나타나는 소견으로서, 병리조직에서 특이병변이 관찰되지 않아 독성지표에서 제외시켰다(Table 10).

병리조직검사—간장 : 간소엽 구조가 정상이며 간소엽 내지 문맥 섬유화도 볼 수 없었으며 문맥주위

Table 3—Body weights in rats treated orally with DWH-01 for month

Sex	Dosage (g/kg)		Days after treatment									
			0	4	7	11	14	18	20	24	27	
Male	5	Mean	173	178	214	223	232	250	258	266	276	
		SD ¹	29.7	14.6	16.1	16.0	16.0	18.0	18.0	20.0	19.8	
	1	Mean	174	197	213	227	240	255	262	270	280	
		SD	18.2	21.7	20.0	21.6	23.3	25.3	26.7	28.0	28.9	
	0.2	Mean	180	204	225	241	253	273	280	286	290	
		SD	18.2	21.7	20.0	23.3	25.3	26.7	28.0	28.9	14	
	CON(+) ²	Mean	168	188	208	222	235	243	260	270	275	
		SD	22.6	26.9	29.9	30.2	30.1	29.7	29.8	31.1	31.2	
	CON(-) ³	Mean	172	190	208	224	235	243	260	27	276	
		SD	14.5	17.4	18.0	26.5	26.5	28.0	29.0	31.0	27.9	
	Female	5	Mean	136	147	152	161	168	174	181	187	191
			SD	12.5	11.6	12.5	15.0	11.5	11.5	15.0	15.0	15.0
1		Mean	145	150	163	167	173	177	183	188	196	
		SD	11.1	17.0	14.8	17.4	21.9	20.9	20.6	18.0	19.7	
0.2		Mean	146	151	161	170	176	181	186	190	197	
		SD	12.6	14.8	13.1	14.3	16.0	15.9	16.1	16.9	15.6	
CON(+)		Mean	147	151	161	171	177	179	187	193	199	
		SD	8.9	10.4	10.6	13.4	14.1	14.3	14.8	15.5	15.1	
CON(-)		Mean	144	150	160	172	178	184	190	198	202	
		SD	10.4	12.7	12.9	14.3	12.3	14.8	13.8	14.5	15.3	

1. SD : Standard deviation

2 Treated with distilled water.

3 Not treated with distilled water.

* Each group of 10 animals was treated with DWH-01 and all animals survived during the period of experiment.

손상도 관찰되지 않아 이 약물에 의한 만성 간독성이나 괴사성 염증활동은 없고, 진행성 손상도 없다고 사료된다. 담즙울체, 철 침착, lipofuscin 침착, 지방변성도 관찰되지 않았다. 다만 sinusoidal lymphocytosis와 perisinusoidal cell hyperplasia가 대조군 및 약물투여군 모두에게 나타나지만 이는 의미없는 요인으로 사료된다(Table 11). 비장:수질의 조혈형성(extramedullary hemopoiesis)은 대조군 및 약물투여군에서 발견되었으나 이는 의미없는 요인이며 그외 두드러진 조직학적 소견은 없었다.

결 론

시험물질 DWH-01을 SD계 랫트에 시험물질 투여군으로 5 g/kg, 1 g/kg, 0.2 g/kg, 용매대조군(증류수), 무처치대조군 등 5개군으로 하여 1개월간 주 5회 경구투여하여 아급성독성을 조사하였다. 그 결과 본

시험조건에서는 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 일반증상(안구검사 포함), 체중 증가율, 사료섭취량 및 물섭취량의 변화 등은 대조군과 시험물질투여군간에 유의성있는 변화는 나타나지 않았다.

2. 혈액학, 혈액생화학 및 뇨검사 결과에서 분석종합한 결과 약물에 기인한 독성소견은 인정되지 않았다.

3. 병리조직학적 검사의 결과에서 환경적 요인으로 추정되는 폐장 및 비장의 소수병변을 제외하고는 그외 두드러진 조직학적 소견은 없었다. 종합적으로 보면 약물에 기인한 직접적인 독성병변은 인정되지 않았다.

이상과 같이 DWH-01의 랫트에 대한 아급성독성 시험에서 상기의 일반증상, 체중변화, 물·사료섭취량 변화, 혈액 및 혈액생화학적 검사(뇨검사 포함), 병리조직학적 검사 등에서 특이한 독성병변은 관찰되지 않았으며, 본 시험조건에서의 무해용량은 5 g/kg, 최대내성용량은 5 g/kg 이상으로 추정된다.

Table 4—Food consumption in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)		Days after treatment								
			4	7	11	14	18	21	25	27	
Male	5	Mean	53.33	42.70	49.46	44.92	64.15	48.00	62.00	40.00	
		SD ¹	4.05	8.31	7.68	10.62	19.80	15.09	13.47	11.70	
	1	Mean	51.13	40.27	51.33	42.69	59.30	46.90	65.00	39.00	
		SD	6.68	10.02	8.39	10.70	6.41	6.00	7.54	8.20	
	0.5	Mean	54.53	42.87	56.80	44.06	55.87	45.60	62.70	38.90	
		SD	2.91	4.79	5.97	3.39	6.00	8.53	4.86	4.32	
	CON(+) ²	Mean	51.13	42.60	55.00	42.00	60.40	52.00	65.00	39.00	
		SD	2.31	6.53	9.35	4.27	5.35	10.01	8.33	7.20	
	CON(-) ³	Mean	57.00	45.00	54.50	46.90	63.60	46.00	65.40	38.10	
		SD	2.02	5.54	11.28	6.11	6.78	7.32	8.29	7.21	
	Female	5	Mean	53.33	42.70	49.46	44.92	64.15	48.00	62.00	32.2
			SD	4.05	8.32	7.68	10.62	19.80	15.09	13.47	11.70
1		Mean	51.13	40.27	51.33	42.69	59.30	46.90	65.00	39.00	
		SD	6.68	10.02	8.30	10.70	6.41	6.00	7.54	8.20	
0.5		Mean	54.53	42.87	56.80	44.06	55.87	45.60	62.70	38.90	
		SD	2.91	4.79	5.97	3.39	6.00	8.53	4.86	4.32	
CON(+)		Mean	51.13	42.60	55.00	42.00	60.40	52.00	65.00	54.00	
		SD	2.31	6.53	9.35	4.27	5.35	10.01	8.33	7.20	
CON(-)		Mean	57.00	45.00	54.50	46.90	63.60	46.00	65.40	48.10	
		SD	2.02	5.54	11.28	6.11	6.78	7.32	8.29	7.21	

1. SD : Standard deviation

2 Treated with distilled water.

3 Not treated with distilled water.

* Each group of 10 animals was treated with DWH-01 and all animals survived during the period of experiment.

참고문헌

1) Calvo, M.V., Fruns, I. and Dominguez-Gil : Decision analysis applied to selection of histamine H₂ receptor antagonists for the formulary. *Am. J. Pharm.* **47**, 2002 (1990).

2) Lambert, J.R. : Effect of antiulcer drugs on the Helicobacter pylori. *Drug Investigation*, **2**(suppl 1), 52 (1990).

3) Salinloff, I.M. and O'Dell, C. : Inhibition of peptic activity by sucralfate. *Am. J. Med.*, **79**(Suppl 2C), 15 (1985).

4) Magnalelli, M., Belvisi, A., Toninelli, A., Matergi, M. and Gammari, E. : The association of ranitidine and sucralfate in the short-term treatment of duodenal ulcers as compared to other forms of treatment. *Int. J. Tiss. React.* VI(2), 180 (1984).

5) 국립보건안전연구원(1988) : 예규 제 10호 ; 의약품 등의 독성시험 기준

6) Lorke, E. : A new approach to practical toxicity testing. *Arch. Toxicol.* **54**, 275 (1983).

7) 醫藥品のための 毒性試験法 가이드ラトソル. p.359 (1984).

8) Yamashita, K., Nakano, S. Kumata, M., Yada, H., Irimura, K., Morinaga, H. and Morita, K. : Single dose toxicity studies of suplastat tosilate(IPD-1151 T). *J. Toxicol. Sci.* **17**(Suppl II), 1 (1992).

9) Suzuka, H. and Shiobra, Y. : Acute toxicity of Famotidine(YM-11170) in Mice and Rats ; 應用藥理. **26**(1), 147 (1983).

10) Nakano, S., Hayashi, T., Irimura, K., Maruden, A., Nakagawa, K. and Morita, K. : A thirteen-week oral repeated dose toxicity study of suplastat tosilate(IPD-1151T) in rats. *J. Toxicol. Sci.*, **17**(suppl.

Table 5—Water consumption in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)		Days after treatment								
			4	7	11	14	18	21	25	27	
Male	5	Mean	138	110	150	90	137	131	168	90	
		SD ¹	15.4	16.6	31.7	24.3	29.4	19.7	57.3	24.3	
	1	Mean	126	106	157	83	141	111	136	80	
		SD	21.0	16.9	27.2	19.3	36.7	18.6	23.5	15.2	
	0.2	Mean	130	99	161	87	144	113	149	86	
		SD	21.9	28.5	57.2	10.7	51.2	40.7	39.1	19	
	CON(+) ²	Mean	153	119	175	102	155	134	165	87	
		SD	26.0	33.5	17.3	29.7	33.2	22.9	30.4	19.2	
	CON(-) ³	Mean	157	129	133	98	167	126	180	85	
		SD	19.0	18.5	11.3	11.2	33.3	9.7	19.4	14.3	
	Female	5	Mean	108	88	96	74	113	86	113	77
			SD	10.4	8.3	24.0	24.6	14.1	25.7	49	18.2
1		Mean	89	75	95	62	102	73	115	78	
		SD	9.8	14.1	20.3	15.1	33.7	15.9	23.7	11.2	
0.2		Mean	99	72	104	61	96	75	109	78	
		SD	12.4	19.3	24.4	7.94	11.7	27.6	14.9	9.7	
CON(+)		Mean	95	77	100	59	106	73	107	68	
		SD	10.5	10.3	18.8	3.3	28.6	10.0	25.4	15.7	
CON(-)		Mean	96	80	103	68	110	75	106	68	
		SD	13.8	11.1	14.8	6.1	24.9	13.7	10.5	12.7	

1. SD : Standard deviation

2 Treated with distilled water.

3 Not treated with distilled water.

* Each group of 10 animals was treated with DWH-01 and all animals survived during the period of experiment.

II), 11 (1992).

- 11) Grant, S.M., Langtry, H.D. and Brogden, R.N. : Ranitidine (Unupdated reviews of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in peptic ulcer and other allied diseases) *Drugs* 37, 801 (1989).
- 12) Hollander, D., Tarhowski, A., Krause, W.J. and Gergely, H. : Protective effect of sucralfate agonist alcohol-induced gastric mucosal injury in the rat. *Gastroenterol.* 88, 366 (1985).
- 13) Nagashima, R. : Mechanisms of action of sucralfate. *J. Clin. Gastroenterol.* 3(suppl. 2), 117 (1981).
- 14) Wieriks, J., Hospe, W., Jaitly, K.D., Koekkoex, P.H. and Lavy, V. : Pharmacological properties of colloidal bismuth subcitrate (CBS, DE-NOL). *Scand. J. Gastroenterol.* 17(suppl. 80), 11 (1982).

Table 6—Biochemical findings in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Item	Sex Dosage (g/kg) No.of rats	Male					Female				
		CON(-) ¹	CON(+) ²	5	1	0.2	CON(-)	CON(+)	5	1	0.2
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
ALB	(g/l)	3.54 ± 0.07	3.36 ± 0.06	3.56 ± 0.06	3.57 ± 0.04	3.46 ± 0.05	3.89 ± 0.07	3.67 ± 0.07	3.54 ± 0.09	3.46 ± 0.10	3.45 ± 0.07
AST	(u/L)	128.70 ± 4.45	126.6 ± 8.68	132.3 ± 15.4	97.2 ± 4.70	91.92 ± 0.47	97.2 ± 5.36	91.4 ± 3.94	104.7 ± 7.70	111.6 ± 17.3	94.25 ± 4.12
ALT	(U/l)	38.5 ± 3.60	39.3 ± 4.03	36.8 ± 3.40	35.1 ± 2.29	36.5 ± 3.24	30.8 ± 2.90	26.8 ± 1.37	33.9 ± 3.24	32.9 ± 6.90	30.17 ± 1.20
BUN	(mg/dl)	19.5 ± 0.76	19.8 ± 1.28	19.9 ± 1.06	18.4 ± 0.89	17.9 ± 0.55	19.8 ± 0.95	20.1 ± 1.18	18.8 ± 1.33	21.1 ± 0.84	22.5 ± 1.04
CHOL	(mg/dl)	39.0 ± 3.22	37.9 ± 2.49	39.4 ± 1.83	37.1 ± 6.35	36.6 ± 1.73	36.2 ± 2.03	37.7 ± 1.47	38.9 ± 2.27	33.9 ± 1.80	33.5 ± 1.16
GLU	(mg/dl)	94.6 ± 5.28	99.2 ± 9.33	124.1 ± 9.30	118.7 ± 6.37	96.8 ± 7.30	119.6 ± 8.40	106.9 ± 7.06	81.1 ± 5.89	96.5 ± 2.16	94.7 ± 7.02
T.BILI	(mg/dl)	0.14 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.008
T.PROT	(g/dl)	7.13 ± 0.08	6.78 ± 0.15	18.8 ± 0.49	7.20 ± 0.12	6.8 ± 0.13	7.40 ± 0.14	7.02 ± 0.11	6.91 ± 0.11	6.98 ± 0.10	6.87 ± 0.10
TRIG	(mg/dl)	68.8 ± 7.51	61.4 ± 5.77	64.9 ± 6.56	61.7 ± 2.69	62.85 ± 5.17	47.7 ± 2.60	48.4 ± 5.27	63.8 ± 6.40	51.0 ± 5.29	53.8 ± 8.95
CK	(U/l)	232.2 ± 46.7	241.3 ± 47.9	206.3 ± 29.2	122.4 ± 19.7	147.7 ± 26.6	123.4 ± 24.3	173.3 ± 25.1	148.1 ± 28.7	233.3 ± 40.0	261.8 ± 40.9
ALP	(U/l)	128.3 ± 4.45	172.3 ± 21.5	169 ± 11.7	168.9 ± 9.10	192.3 ± 21.29	89.1 ± 8.95	90.4 ± 9.06	100.8 ± 11.8	80.7 ± 8.60	76.25 ± 9.04
CREAT	(mg/dl)	0.76 ± 0.03	0.87 ± 0.03	0.88 ± 0.02	0.78 ± 0.03	0.7 ± 0.03	0.90 ± 0.05	0.80 ± 0.03	0.70 ± 0.03	0.70 ± 0.02	0.80 ± 0.03
Na	(nmol/l)	144.1 ± 0.55	144.7 ± 0.53	144.6 ± 0.43	143.1 ± 0.53	143.9 ± 0.73	141.6 ± 0.56	143.0 ± 0.56	143.4 ± 0.92	143.0 ± 0.95	139.7 ± 0.27
K	(nmol/l)	4.94 ± 0.12	5.1 ± 0.20	4.8 ± 0.12	4.86 ± 0.19	5.3 ± 0.32	4.410 ± 0.15	4.83 ± 0.15	7.90 ± 1.98	5.10 ± 0.30	4.69 ± 0.25
LDH	(U/l)	412.9 ± 130.6	410.7 ± 147.2	481.3 ± 96.5	333.4 ± 57.2	409.8 ± 104.2	319.0 ± 65.1	508.1 ± 89.2	440.0 ± 86.6	525.0 ± 70.7	586.11 ± 91.2

1 Not treated with distilled water.

2 Treated with distilled water.

Table 7—Hematological findings in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Item	Sex Dosage (g/kg) No. of animals	Male					Female				
		CON(-) ¹	CON(+) ²	5	1	0.2	CON(-)	CON(+)	5	1	0.2
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
WBC	10 ³ cells/mm ³	16.31 ± 0.47	17.31 ± 0.91	11.08*** ± 0.49	10.80*** ± 0.72	12.56 ± 0.71	11.38 ± 0.91	11.74 ± 0.39	12.12 ± 0.47	11.63 ± 0.52	14.19 ± 0.88
RBC	10 ⁶ Cells/mm ³	8.44 ± 0.11	8.49 ± 0.11	7.97 ± 0.17	8.04 ± 0.14	7.93 ± 0.16	7.19 ± 0.12	7.24 ± 0.12	6.85 ± 0.22	7.11 ± 0.09	6.99 ± 0.14
HGB	g/dl	16.43 ± 0.14	16.18 ± 0.16	15.31 ± 0.23	15.16 ± 0.15	16.00 ± 0.21	14.29 ± 0.23	14.39 ± 0.13	13.67 ± 0.32	14.19 ± 0.26	14.15 ± 0.20
PCV	%	49.57 ± 0.46	49.26 ± 0.54	45.30 ± 0.48	47.09 ± 0.59	47.69 ± 0.73	43.26 ± 0.72	43.71 ± 0.39	42.35 ± 0.65	42.33 ± 0.33	42.13 ± 0.47
MCV	fl	57.60 ± 0.50	55.96 ± 0.33	58.69 ± 0.85	58.74 ± 0.78	60.91 ± 0.26	59.73 ± 0.70	59.11 ± 0.41	60.02 ± 1.02	60.25 ± 0.49	61.07 ± 0.71
MCH	pg	19.18 ± 0.23	18.44 ± 0.24	19.18 ± 0.27	19.32 ± 0.22	19.78 ± 0.12	20.21 ± 0.24	19.89 ± 0.17	19.52 ± 0.39	20.44 ± 0.40	19.73 ± 0.25
MCHC	g/dl	33.48 ± 0.14	33.08 ± 0.21	33.00 ± 0.12	32.60 ± 0.20	32.76 ± 0.18	33.93 ± 0.15	33.55 ± 0.18	32.83 ± 0.27	33.95 ± 0.28	33.18 ± 0.21
Lymphocyte	10 ³ cells/mm ³	13.71 ± 0.40	13.70 ± 0.85	9.02*** ± 0.45	10.18** ± 0.62	12.23 ± 0.40	9.77 ± 0.64	10.76 ± 0.22	10.48 ± 0.32	7.05*** ± 0.53	12.06* ± 0.59
Lymphocyte	%	84.27 ± 1.36	85.06 ± 0.84	87.22 ± 0.97	85.49 ± 1.35	89.13 ± 1.52	88.82 ± 0.79	92.03 ± 1.00	85.09 ± 0.95	85.81 ± 1.26	89.07 ± 0.93
Neutrophil	10 ³ cells/mm ³	1.57 ± 0.14	1.50 ± 0.11	3.89 ± 0.12	3.54 ± 0.17	1.90 ± 0.19	1.35 ± 0.14	1.48 ± 0.13	4.88 ± 0.10	3.78 ± 0.18	1.78 ± 0.09
Monocytes	10 ³ cells/mm ³	0.34 ± 0.14	0.39 ± 0.10	0.35 ± 0.09	0.39 ± 0.06	0.38 ± 0.08	0.20 ± 0.15	0.28 ± 0.12	0.23 ± 0.17	0.21 ± 0.11	0.25 ± 0.11
Eosinophil	10 ³ cells/mm ³	0.03 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.08	0.04 ± 0.05	0.06 ± 0.03	0.08 ± 0.07	0.05 ± 0.05	0.06 ± 0.05

1 Not treated with distilled water.

2 Treated with distilled water.

* : Significantly different from control at P<0.05,

** : Significantly different from control at P<0.01,

*** : Significantly different from control at P<0.001

Table 8—Urinalysis in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)	Male					Female					
		CON(-) ¹	CON(+) ²	5	1	0.2	CON(-)	CON(+)	5	1	0.2	
No. of animals		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
1) pH	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	7	5	5	4	5	5	5	5	4	5	5	
	8	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	9	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2) Protein	0	5	5	4	4	5	4	5	5	4	5
		0.3 g/l	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0
1 g/l		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5 g/l		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3) Glucose	normal	5	5	5	5	5	5	5	5	0	0	
	50 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	300 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4) Ketone	1000 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	-	4	1	5	1	4	5	1	5	1	4	
	+/-	0	4	0	0	0	0	4	0	4	1	
	+	1	0	0	4	1	0	0	0	0	0	
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5) Urobilinogen	normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	1 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	4 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	12 mg/dl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
6) Occult Blood	-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0	
	+/-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

1 Not treated with distilled water.

2 Treated with distilled water.

Table 9—Gross finding in organs of Sprague-Dawley rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)	Male					Female				
		CON(-) ¹	CON(+) ²	5	1	0.2	CON(-)	CON(+)	5	1	0.2
Organ											
No. of rats		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland L.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R.		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Brain		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Heart		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kidney L.		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
R.		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lung Hemorrhage		0	1	1	0	0	0	1	0	0	1
Spleen		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testis L.		0	0	0	0	0					
R.		0	0	0	0	0					
Ovary							0	0	0	0	0
Thymus		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Stomach		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

1 Not treated with distilled water.

2 Treated with distilled water.

Table 11—Incidence of neoplasia in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)	Male			Female		
		CON(-) ¹	CON(+) ²	5	CON(-)	CON(+)	5
Organ							
No. of rats		10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland L.		0	0	0	0	0	0
R.		0	0	0	0	0	0
Brain		0	0	0	0	0	0
Heart		0	0	0	0	0	0
Liver		0	0	0	0	0	0
Kidney		0	0	0	0	0	0
Interstitial Pneumonia		0	0	0	0	0	0
Calcification							
Lung		0	0	0	0	0	0
Interstitial Pneumonia		0	0	0	0	0	0
Inflammation & Fibrosis							
Spleen		0	0	0	0	0	0
Testis L.		0	0	0			
R.		0	0	0			
Ovary					0	0	0
Thyroid gland		0	0	0	0	0	0
Inflammation & Fibrosis							
Stomach		0	0	0	0	0	0

1 Not treated with distilled water.

2 Treated with distilled water.

Table 10—Organ weights in rats treated orally with DWH-01 for 1 month

Sex	Dosage (g/kg)	Male					Female				
		CON(-) ¹	CON(+) ²	5	1	0.2	CON(-)	CON(+)	5	1	0.2
Organ	No. of rats	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland	L.	0.030	0.028	0.029	0.030	0.26	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
	R.	± 0.001	± 0.001	± 0.001	± 0.002	± 0.005	± 0.002	± 0.001	± 0.004	± 0.002	± 0.002
Brain		1.520	1.540	1.520	1.520	1.600	1.440	1.470	1.400	1.410	1.540
		± 0.030	± 0.050	± 0.030	± 0.050	± 0.050	± 0.040	± 0.040	± 0.050	± 0.030	± 0.020
Heart		0.860	0.880	0.970	0.900	1.030	0.760	0.770	0.700	0.740	0.710
		± 0.040	± 0.040	± 0.080	± 0.030	± 0.020	± 0.030	± 0.020	± 0.020	± 0.020	± 0.010
Liver		6.910	6.800	6.970	7.410	8.340	5.890	6.030	6.040	6.280	6.230
		± 0.220	± 0.210	± 0.170	± 0.280	± 0.270	± 0.270	± 0.130	± 0.220	± 0.240	± 0.170
Kidney	L.	0.920	1.000	0.980	1.050	1.100	0.730	0.770	0.760	0.760	0.760
	R.	± 0.030	± 0.060	± 0.030	± 0.040	± 0.080	± 0.030	± 0.020	± 0.030	± 0.020	± 0.020
Lung		1.700	1.810	1.760	1.680	1.740	1.520	1.470	1.620	1.560	1.490
		± 0.100	± 0.080	± 0.070	± 0.090	± 0.070	± 0.110	± 0.060	± 0.150	± 0.080	± 0.060
Spleen		1.010	1.080	1.250***	1.110*	1.060	0.910	0.990	1.200*	1.120**	1.010
		± 0.100	± 0.080	± 0.080	± 0.040	± 0.070	± 0.050	± 0.060	± 0.110	± 0.050	± 0.050
Testis	L.	1.320	1.550	1.460	1.410	1.510					
	R.	± 0.040	± 0.130	± 0.030	± 0.030	± 0.030					
		1.340	1.550	1.450	1.430	1.520					
		± 0.050	± 0.460	± 0.030	± 0.040	± 0.020					
Ovary							0.080	0.080	0.080	0.080	0.080
							± 0.003	± 0.006	± 0.004	± 0.006	± 0.004
Stomach		1.280	1.390	1.300	1.280	1.300	1.210	1.180	1.210	1.231	1.271
		± 0.100	± 0.080	± 0.080	± 0.090	± 0.890	± 0.079	± 0.089	± 0.079	± 0.059	± 0.079

1 Not treated with distilled water.

2 Treated with distilled water.

* : Significantly different from control at P<0.05,

** : Significantly different from control at P<0.01,

*** : Significantly different from control at P<0.01.