

## 원격무선측정장치를 이용한 항히스타민제의 심혈관계 영향평가

이윤희 · 나한광 · 윤재석 · 정수연 · 김주일 · 최기환<sup>#</sup>

식품의약품안전청 국립독성연구원 일반약리팀

(Received March 7, 2006; Revised March 27, 2006)

### Effects of Antihistamines on the Cardiovascular System in Telemetered Conscious Dogs

Yun Hee Lee, Han Kwang Na, Jae Suk Yun, Soo Youn Chung, Joo-Il Kim and Ki Hwan Choi<sup>#</sup>

General Pharmacology Team, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration,  
5 Nokbundong, Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, South Korea

**Abstract** — Two Antihistamines, terfenadine and astemizole have been withdrawn from major markets for the reason that these drugs have been reported to induce QT interval prolongation associated with the onset of Torsades de Pointes (TdP), resulting in a life-threatening ventricular arrhythmia. In this study, we investigated effects of diphenhydramine on electrocardiograms and hemodynamic parameters in conscious telemetered dogs. We validated and defined the sensitivity of the test system by monitoring basal parameters and using positive control substance, terfenadine. Single administration effects were tested during 24 hours for each test drug at dose 1 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg. We monitored QT, QTc, heart rate, blood pressure and body temperature after administering test drugs. In conscious telemetered dogs, diphenhydramine significantly prolonged QT (6.8% of basal) and QTc (7.8% of basal) at 100 mg/kg. Other parameters were not affected significantly. These findings suggest that antihistamines could induce important clinical relevance for patients taking excessive dosages of conventional antihistamines and those at risk of developing cardiac arrhythmias. Future studies that include other antihistamines and other classes will be necessary to predict the torsadogenic risk of drugs in humans.

**Keywords** □ antihistamines, diphenhydramine, QT interval, arrhythmia, torsadogenic risk

최근 항히스타민제, 항균제 및 항정신병약을 포함한 몇몇의 약품들이 심혈관계부작용과 관련된 안전성 문제로 허가 취소 또는 판매 중지되거나 사용상의 주의사항이나 경고가 추가되고 있다.<sup>1,2)</sup> 이러한 제품들은 매우 드물지만 가사 상태나 갑작스런 사망을 초래할 수도 있는 심실성 부정맥, torsade de pointes를 유발한다.<sup>3,4)</sup>

국제적으로 유럽, 미국, 일본이 주축이 된 ICH(International Conference on Harmonization)의 지침 중 이러한 심혈관계 안전성 평가와 관련하여 "의약품의 심실 재분극 지연(QT 간격 연장에 대한 비임상시험(S7B)<sup>5)</sup> 및 "비항부정맥의약품의 임상시험(E14)<sup>6)</sup>에 대한 가이드라인이 발전을 거듭하여 2005년 5월 현재 "Step 5 : Implementation" 단계에 도달했다.

의약품의 심실성 부정맥 유발 가능성을 평가할 수 있는 방법으로는 무마취 혹은 마취상태에서의 실험동물 심전도에서 QT 간격의 증가 정도를 측정하는 *in vivo* 방법이 제시되고 있으며, *in vitro* 시험법으로는 약물의 hERG 유전자 발현을 통한 칼륨 채널 억제 정도를 측정하는 hERG assay와 분리된 심근조직을 이용한 활동전위기간(APD, action potential duration)을 측정하는 방법이 많이 알려져 있다.<sup>7,8)</sup> 일반적으로 APD가 지연되면 심전도상에서 QT 간격 연장이 나타나며 APD의 지연은 주로 hERG 유전자에서 유래한 칼륨 채널 억제에 의한 심실 재분극 지연에 따른 것으로 알려져 있다.<sup>9)</sup>

우리나라가 ICH 회원국은 아니지만 이러한 국제적 흐름에 발맞추기 위해서, 새로운 안전성약리시험법으로 제시되고 있는 QT 간격 연장 연구를 통해 약물의 안전성 평가를 위한 새로운 방법을 모색할 필요가 있다. 약물의 안전성약리시험은 개발 중인 모든 신약뿐만 아니라, 새로운 용량이나 투여경로 변경 또는 같은 계열 약물의 시판 후 부작용이 발생한 경우에도 수행한다.<sup>10)</sup>

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-380-1804 (팩스) 02-380-1806  
(E-mail) hyokwa@kfda.go.kr

본 연구에서는 QT 간격 연장과 관련성이 있다고 알려져 있는 약물계열 중 항히스타민제 디펜히드라민의 비글견에서 원격측정 장치 삽입에 의한 비구속 상태에서의 QT 간격 연장에 대한 평가를 하고자 하였다.

디펜히드라민은 1세대 항히스타민제로 에탄올아민 구조를 가진 히스타민-1 수용체 저해제로 항콜린성 작용 및 국소적인 마취효과를 가지고 있다. 제2세대 항히스타민제는 치료용량에서도 QT 간격 연장 및 다형성 심실성 빈맥을 보인 바 있으나, 제 1세대 항히스타민제 디펜히드라민의 경우 심장에 대한 효과에 대해 연구가 적은 실정이다.<sup>11)</sup> 이에 이번 연구는 비글견을 이용한 QT 간격 연장 평가 시험계를 확립함과 동시에 테르페나딘과 디펜히드라민의 QT 간격 연장에 미치는 효과를 비교하며 이를 심혈관계 안전성약리시험의 기초자료로 활용하기 위함이다.

## 실험 방법

### 시약 및 기기

테르페나딘, 디펜히드라민은 Sigma로부터 구입하여 사용하였다. 젤라틴 캡슐(송아과학(주))을 약물 및 대조물질 충전에 사용하였다. 마취에는 아트로핀(대한약품), 케타민(유한양행), 럽폰(바이엘코리아)을 사용하였다.

Telemetry system(Data Science International, USA) : 발신기(Transmitter, TL11M2-70-CT type), 수신기(RMC-1 type), 데이터 수집프로그램(Dataquest system)의 실험 기기를 사용하여 수행하였다.

### 실험동물

Canis familiaris(Beagle dogs, male, 8.5 kg, ((주)중앙실험동물))를 사용하여 수행되었다. 본 시험은 시험동물의 관리 및 사용에 적용할 수 있는 모든 규정을 준수하여 실시하였으며(AAALAC international 인증획득 : Accredited Unit-Korea Food and Drug

Administration: unit number-000996) 12시간 밝기/어둠 순환의 조명조건하에, 모든 동물에게 날마다 표준 동물사료를 먹이고 사육상자는 스테인레스제 망 사육상자에 1마리씩 사육하였다.

### 발신기 삽입을 위한 수술

평균 9 kg의 수컷 비글견 5마리를 아트로핀(0.1 cc/kg, I.M.)/rompun(0.15 cc/kg, I.M.)/ketamine(0.2~0.3 cc/kg, I.M.)으로 마취시켰다. 동물수술은 Multiplus™ TL series device manual (Data Sciences International, MN, USA)을 사용하여 수행하였다. 동물을 따뜻한 곳에 회복기를 두었으며 철저한 소독을 하고 항생제를 7일간 투여하였다(1일 1회 근육 투여). 회복기 14일 후, 수축기혈압, 이완기혈압, 평균혈압, 심박수, 체온 그리고 ECG에 관한 데이터들을 각각의 비글견 사육상자에 장착된 원격측정 장치의 발신기(telemetry receiver)로부터 수집하였다.<sup>13,14)</sup>

### 약물투여 및 ECG, 심박수, 혈압 등 심혈관계 파라미터 측정

비글견에 대한 경구투여는 젤라틴 캡슐에 충전하여 약물 농도 별로 매일 일정한 시간에(AM 9:00) 단회 경구 투여하였다(0, 10, 30, 100 mg/kg).

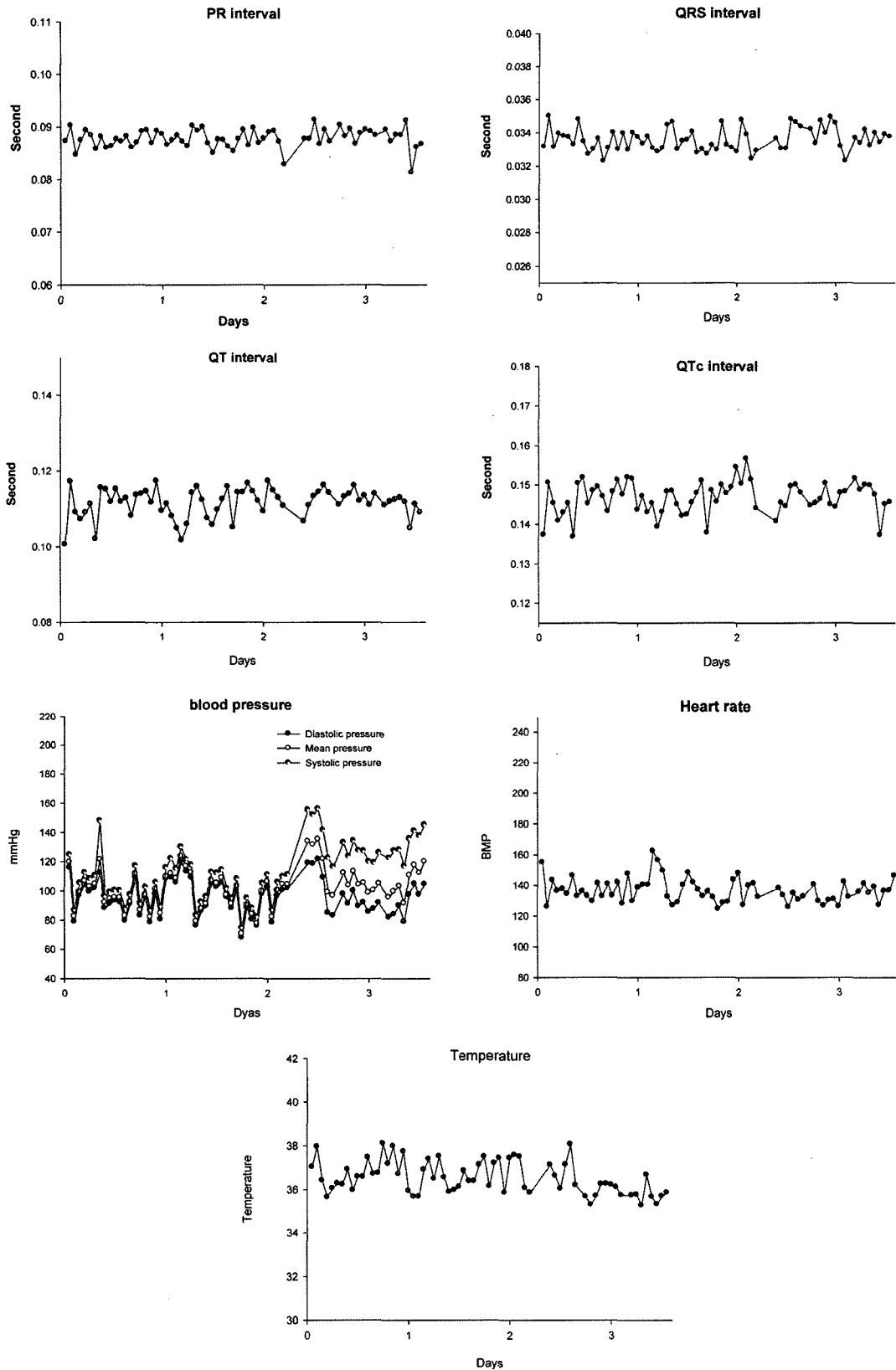
Telemetry receiver는 데이터를 저장하고 분석하는 데 사용되는 desktop computer에 연결되었다. Software package는 DataQuest A.R.T.(Data Sciences International, MN, USA)를 사용하였다. vehicle의 투여(대조군) 및 약물 투여 후 24시간 동안 1시간 간격으로 데이터를 수집하였으며 그 평균값을 사용하였다.

### 통계학적 방법

모든 실험결과는 평균과 표준오차를 사용하여 나타내었고, 각 군간의 비교는 two tailed student's t-test를 사용하여 분석하였다. 평균치에 대해서는 대조군과 처치군간에 차이가 있는지를 검사하기 위해 검정 위험을 P값은 0.05 이하인 경우 각 군간의 유의적인 차이가 있는 것으로 판정하였다.

**Table I** – Baseline values of ECG interval, hemodynamic parameters and core body temperature of normal freely moving beagle dogs by remote radiotelemetry

	Dog 1	Dog 2	Dog 3	Dog 4	Dog 5	Mean±S.E.M
PR-Interval	93.56	93.04	97.29	91.70	90.45	93.21±2.58
QRS-Interval	33.68	33.01	38.25	30.82	29.72	33.10±3.30
QT-Inteval	112.58	111.15	113.22	103.89	103.26	108.82±4.85
Heart rate	142.84	135.87	150.73	156.25	161.37	149.41±10.2
QTcB	175.30	167.27	185.34	169.81	170.89	173.72±7.11
QTcH	194.31	207.04	291.27	228.83	252.80	234.85±38.6
QTcC	151.42	145.86	157.16	144.12	144.40	148.59±5.62
QTcV	99.34	122.45	167.12	113.72	129.70	126.47±25.3
Core temp	37.85	37.68	37.54	37.70	37.76	37.71±0.11
Systolic pressure	101.14	114.16	138.90	148.60	91.66	118.89±24.3
Mean pressure	97.30	108.62	110.23	116.80	76.09	101.81±16.0
Diastolic pressure	95.58	102.59	93.15	98.50	67.20	91.40±13.9



**Fig. 1** – Hemodynamic parameters and ECG values in transmitters implanted conscious dog for 80 hr. Data from one dog are shown but each dog used for experiment was monitored and measured resulting in similar patterns. PR interval, QRS interval, QT interval, and QTc interval are analyzed by ECG analyzer program. Corrected QT interval (QTc) was calculated by Fridericia's correction formula.

## 실험 결과

원격 측정 장치는 발신기의 형태에 따라 측정 가능한 동물의 종과 parameter가 결정된다. 본 연구에서는 심혈관계의 주요 parameter인 혈압과 lead II ECG 그리고 체온을 측정할 수 있는 형태(TL11M20D70-PCT type)를 사용하였다. 원격측정장치는 동물에 수술을 통하여 발신기를 삽입해야하는 과정이 있으나 한번 삽입된 후에는 단기 혹은 장기간의 실험에도 쉽게 사용할 수 있을 뿐만 아니라 연속적인 data의 수집에도 동물에 스트레스가 없이 사용될 수 있는 장점이 있다.<sup>14,15</sup> 본 연구에서도 비굴견에 발신기 삽입 수술을 한 후 30주간 이상의 장기간의 측정이 가능하였다. 기저수준의 측정을 위한 80시간 동안의 모니터링 동안 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 혈압, 심박수 및 RR 간격은 일정 범위의 변동 폭을 나타내었는데 이는 실험동물이 무마취 비구속 상태이므로 동물의 자유로운 움직임과 활동에 가장 영향을 받는 parameter 들이기 때문이며 이러한 결과는 기보고된 결과와 일치하는 것이다.<sup>13</sup> 본 연구에서 사용된 동물 비굴견 5마리를 대상으로 QT, PR, QRS, 체온, 이완기, 수축기 및 평균 혈압, 심박수에 대한 기저값을 측정한 결과, Table I과 같이 측정되었다. 또한 각 수치를 80시간 모니터링한 결과를 Fig. 1에 나타내었으며, 이로부터 수술 후 심혈관계 수치가 안정화됨을 확인할 수 있었다. 특히 혈압의 경우 feeding time 에 평균값에서 벗어나는 변화가 있음을 관찰할 수 있었으나 QT 및 QTc 값에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

QT 간격은 심실의 탈분극 후 재분극까지의 간격을 의미하며 PR 간격은 우심방의 SA node에서 발생한 신경전달신호가 AV node 및 His bundle을 거쳐 심실에 이르는 간격을 의미한다. 따라서 QT-prolongation 작용 평가에 있어서 QT와 PR 간격의 안정된 측정과 정상범위의 확보가 필요하다.<sup>14</sup>

QT 간격 연장효과를 평가하기 위한 양성대조군으로는 이미 심혈관계 부작용으로 의약품시장에서 퇴출된바 있는 테르페나단을 사용하였다. Lead II ECG 성분 중 QT 간격을 기록하였으며 심장 박동수에 의해 교정된 값인 QTc 값도 동시에 기록되었다. QT 간격은 약물투여전의 QT 간격을 기저값을 기준으로 약물투여한 시간별 백분율을 계산하여 Basal % 값을 나타내었다(Fig. 2) 실험결과 QT 및 QTc에서 30 mg/kg 투여 시 각각 4시간 이후에 16%, 6시간 이후에 12%가 유의적으로 연장됨을 관찰 할 수 있었다.

시험 약물인 디펜히드라민을 1, 10, 30, 100 mg/kg의 농도로 경구투여하여 QT 및 QTc 간격을 포함한 심혈관계 파라미터를 측정하였다. 측정결과 모든 농도에서 QT, 이완기, 수축기, 평균 혈압, 심박수, 체온 값의 통계적으로 유의적인 변화가 관찰되지 않았으나, QT 및 QTc 값은 30 mg/kg 투여시 11시간 이후 7.8% QT 간격의 증가가 관찰되었으며, 100 mg/kg에서 약물투여 후 9

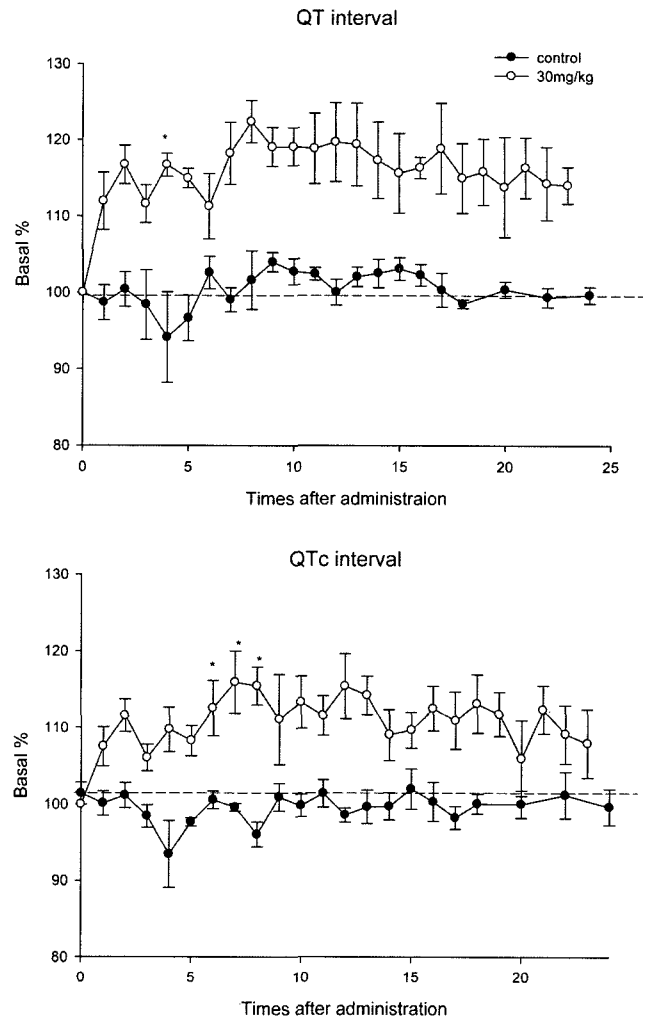


Fig. 2 – The effect of terfenadine on ECG parameter in conscious dogs. Data are presented as means±S.E.M (n=5). \*P<0.05, compared with the control group (gelatine capsule). Corrected QT interval (QTc) was calculated by Fridericia's correction formula.

시간 이후 대조군의 6.8% QT 증가, 8시간 이후 대조군의 7.8% QTc 증가를 보였다.

## 고 찰

항히스타민계열 약물의 QT 간격 연장에 대한 많은 연구결과가 있으며 특히 제2세대 항히스타민제에 대한 연구는 hERG assay 및 APD 간격 연장에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 제1세대 항히스타민제인 디펜히드라민은 과량복용이 다빈도로 발생하는 편이지만 심장에 미치는 영향에 대한 연구가 적은 편이다. 디펜히드라민의 독성 중 심장에 대한 효과는 주로 빈맥이 보고되어왔다. Radovanovic<sup>15</sup> 등의 연구 논문에서는 282건의 디펜히드라민 과복용 증례보고를 분석하여 55%에서 64%의 환자

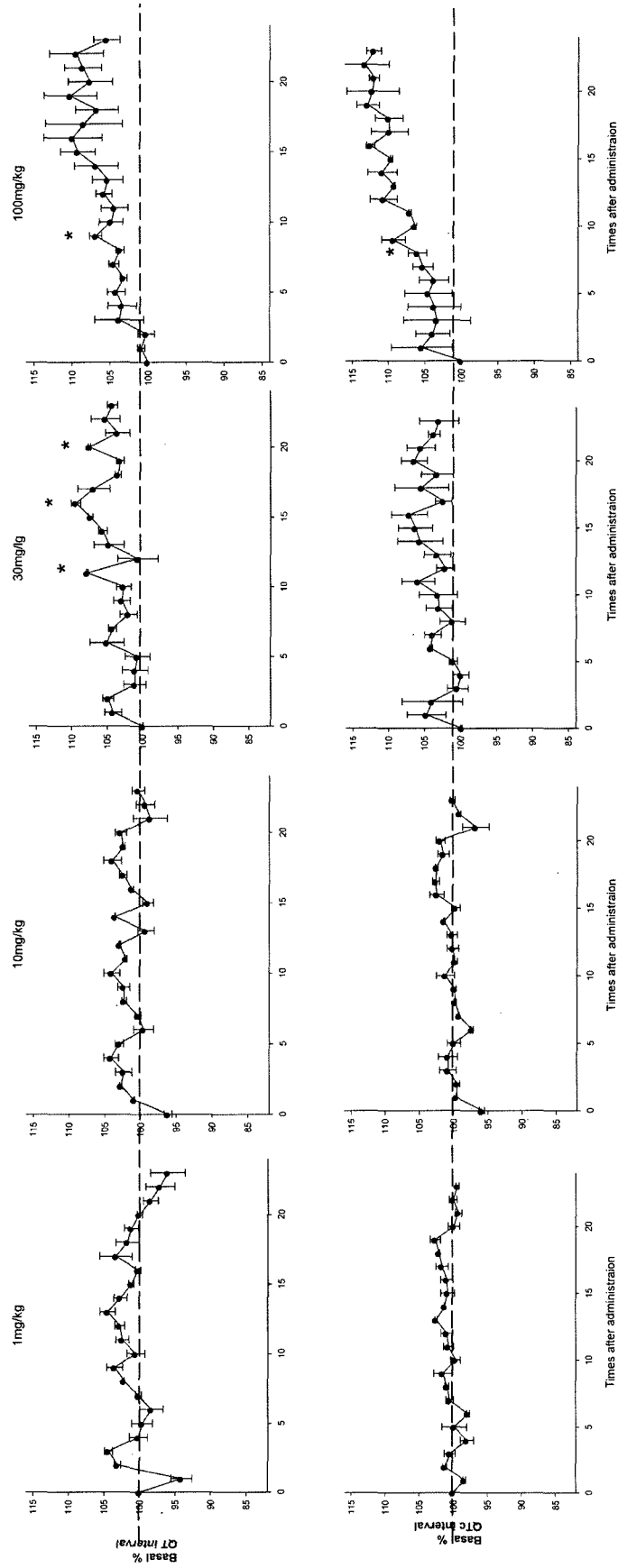


Fig. 3 - Effect of Diphenhydramine (10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg) on delta QT and delta QTc following oral administration in the conscious dogs monitored by telemetry. Data are presented as means  $\pm$  S.E.M (n=5). Corrected QT interval (QTc) was calculated by Fridericia's correction formula. \*P<0.05.

가 빈맥을 호소한 것으로 연구되었다. 그 기전은 디펜히드라민이 고농도에서 칼륨 채널을 억제하는 것으로 알려져 있으며 이로 인해 비정상적인 심실 재분극을 유도하게 된다.<sup>12,16-18)</sup>

실험동물을 이용한 QT 간격 연장 평가는 다른 *in vitro* 시험에서 관찰할 수 없는 통합적인 심혈관계 파라미터에 미치는 영향에 대한 데이터를 제공한다. 약물의 부정맥 위험성을 평가하는 비임상시험법중 비글견에서 원격무선측정장치를 사용한 시험법은 QT 간격 연장 평가의 민감도가 여러 양성대조군 실험으로 입증된 바 있으며 특히 활성 대사물질에 대한 평가를 따로 진행하지 않아도 그 영향 평가를 시행할 수 있다. 또한 ICH S7A 지침에서도 *in vivo* 시험계의 사용을 명백히 하고 있다.<sup>10)</sup> 비마취 상태 및 마취상태의 실험동물을 이용한 시험계의 각각의 장단점이 존재한다. 마취상태의 동물을 이용한 실험의 경우 심박수의 변동이 적어 QT 간격 연장에 대한 민감도가 증대되지만 마취제 사용에 의한 심혈관계 영향을 배제할 수 없는 단점이 있다. 반면 원격측정 장치 삽입 후 비마취견에서의 측정은 마취제 및 구속상태에서의 심혈관계 영향을 배제할 수 있는 시험계라 할 수 있다. 그러나 심박수의 변화를 최소화하기 위한 세심한 주의가 요구되며 이를 위한 지속적인 시험방법이 연구·개발되고 있다.<sup>19,20)</sup>

시험약물의 투여 이전에 실험동물의 수술상태 및 심혈관계 기저값의 안정화가 중요하며 수술 후 14일간은 회복기를 두고 그 이후 지속적인 기저수치를 측정하여 비글견의 수술 후 안정화된 상태를 확인하였다. 테르페나딘은 QT 간격 연장 실험의 양성대조군으로 사용가능하며 본 실험계의 민감성에 대한 입증은 하였다고 볼 수 있다. 같은 계열 약물인 디펜히드라민을 투여하여 나타난 결과 테르페나딘 보다는 고용량에서 유의적인 QT 간격 연장 효과를 보였다. 테르페나딘과 디펜히드라민의 임상 허가 용량을 고려하여 볼 때 비글견에서의 QT 간격 연장에 미치는 효과는 디펜히드라민이 테르페나딘에 비해 적은 것으로 보인다. 또한 고용량에서 나타나는 QT 간격 연장 효과는 디펜히드라민의 과량 복용 이후 나타나는 심실성 부정맥 임상 보고와 일치하는 결과라 해석할 수 있다. 이는 항히스타민제 계열 약물의 평가 및 신약개발단계에서 기초자료로 사용할 수 있는 유용한 자료가 될 것으로 사료된다. 본 시험계에서는 시험동물에서 심실성 부정맥 유발단계까지 도달하지는 못하였으나 이는 건강한 실험동물의 심장 보상기능으로 설명되어질 수 있을 것이다. 시험계의 민감도를 높이기 위한 심실성 부정맥 및 TdP 유발에 민감한 심장질환모델 실험동물의 개발이 시급히 요구되어진다.

약물계열별 QT 간격 연장 평가에 대한 자료의 축적으로 심혈관계 안전성약리의 기초자료로 사용함과 동시에 약물부작용 평가를 위한 연구에도 중요한 역할을 할 것으로 보인다. 또한 이와 관련한 기초자료 마련에 집중함과 동시에 시판 후 부작용 사례 분석 연구 등을 통한 임상자료의 수집을 병행, 통합적인 평가로 우리나라에서도 외국의 사례에 따른 약사행정의 차원을 넘어서

는 보다 과학적이고 주체적인 의약품 관리가 가능할 것으로 사료된다. 또한 신약개발 단계에서 본 부작용을 평가하는 기술이 확립되어 국제적 수준의 제약산업 발전을 위해 필수적인 역할을 할 것이다.

## 결 론

Antihistamine 계열 약물의 심혈관계 미치는 영향을 비글견 시험을 통해 검토한 결과 QT 및 QT(c) 간격 연장효과를 나타내었으며 디펜히드라민 과복용환자에서 나타나는 부정맥 임상 보고와도 상응하는 결과이다. 항히스타민제 계열 약물이 심혈관계질환 환자에게 위험요소가 될 수 있음으로 사료된다.

## 참고문헌

- 1) Brown, A. M. : Drugs, hERG and sudden death. *Cell Calcium* **35**, 543 (2004).
- 2) Topol, E. J. : Failing the public health - Rofecoxib, Merck, and the FDA. *New Eng. J. Med.* **351**, 1707 (2004).
- 3) Fermini, B. and Fossa, A. A. : The impact of drug-induced QT interval prolongation on drug discovery and development. *Nature Rev.* **2**, 439 (2003).
- 4) Redfern, W. S., et al. : Relationship between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. *Cardiovasc. Res.* **58**, 32 (2003).
- 5) ICH Harmonized Tripartite Guideline (S7B revised). The nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals, step 3 (2004).
- 6) ICH Harmonized Tripartite Guideline (E14). The clinical evaluation of QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential for non-antiarrhythmic drugs, step 3 (2004).
- 7) Guth, B. D., et al. : Developing a strategy for the nonclinical assessment of proarrhythmic risk of pharmaceuticals due to prolonged ventricular repolarization. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **49**, 159 (2004).
- 8) Antzelevitch, C. and Shimizu, W. : Cellular mechanisms underlying the long QT syndrome. *Curr. Opin. Cardiol.* **17**, 43 (2002).
- 9) Finlayson, K., et al. : Acquired QT interval prolongation and hERG : implications for drug discovery and development. *Eur. J. Pharmacol.* **500**, 129 (2004).
- 10) ICH Harmonized Tripartite Guideline (S7A). Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals (2001).
- 11) Abhash, C., et al. : QT interval prolongation in diphenhydramine toxicity. *International Journal of Cardiology* **98**, 341

- (2005).
- 12) Sype, J. W., *et al.* : Prolonged QT interval with markedly abnormal ventricular repolarization in diphenhydramine overdose. *International Journal of Cardiology* **99**(2), 333 (2005).
  - 13) Truett, A. A. and West, D. B. : Validation of a radiotelemetry system for continuous blood pressure and heart rate monitoring in dogs. *Lab. Animal. Sci.* **45**, 299 (1995).
  - 14) Gelzer, A. R. M. and Ball, H. A. : Validation of a radiotelemetry system for measurement of blood pressure, electrocardiogram and locomotor activity in beagle dogs. *Clin. Exp. Hypertens* **19**, 1135 (1997).
  - 15) Radovanovic, D., *et al.* : Dose-dependent toxicity of diphenhydramine overdose. *Hum. Exp. Toxicol. Sep.* **19**(9), 489 (2000).
  - 16) Joshi, A. K., *et al.* : Case of polymorphic ventricular tachycardia in diphenhydramine poisoning. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* **15**(5), 591 (2004).
  - 17) Merk, H. F. : Standard treatment : the role of antihistamines. *J. Investig Dermatol. Symp. Proc.* **6**(2), 153 (2001).
  - 18) Yee, G. Y. : Drug induced QT prolongation and torsades de pointes. *Heart* **89**, 1363 (2003).
  - 19) Guth, B. B., *et al.* : Developing a strategy for the nonclinical assesment of proarrhythmic risk of pharmaceuticals due to prolonged ventricular repolarization. *Journal of Pharmacological Toxicological Methods* **49**, 159 (2004).
  - 20) Ajay Joshi, *et al.* : Preclinical strategies to assess QT liability and torsadogenic potential of new Drugs : the role of experimental models. *Journal of Electrocardiology* **37**, 7 (2004).