

## 흰쥐에서 HELIKIT™의 급성 및 아급성 경구독성시험

김창중<sup>‡</sup> · 조철형 · 최현호 · 심상수 · 김정례\*

중앙대학교 약학대학 병태생리학실, \*보훈병원 해부병리과

(Received February 3, 1999)

### Acute and Subacute Oral Toxicity of HELIKIT™ in Rats

Chang Jong Kim, Chul Hyung Cho, Hyun Ho Choi,  
Sang Soo Sim and Jeong Rye Kim\*

Division of Pathophysiology, College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

\*Department of Anatomical Pathology, Korean Veterans Hospital, Seoul 134-061, Korea

**Abstracts**—Acute and subacute oral toxicity of HELIKIT™ (<sup>13</sup>C-urea) were carried out in Sprague-Dawley rats of both sex. The toxicity of HELIKIT™ was compared with urea (<sup>12</sup>C-urea which is used for control). In acute toxicity studies, we daily examined number of deaths, clinical signs, body weights and pathological examination for 14 days after single oral administration of HELIKIT or urea (<sup>12</sup>C-urea) at a dose of 5000 mg/kg. The subacute oral toxicity was investigated in Sprague-Dawley rats treated with HELIKIT™ at a dose of 40, 200 and 1,000 mg/kg/day or <sup>12</sup>C-urea at a dose of 1,000 mg/kg/day for 4 weeks. In acute toxicity studies, HELIKIT™ and urea did not show any toxic effect in rats and oral LD<sub>50</sub> value was over 5,000 mg/kg in rats. In subacute toxicity studies, no death occurred and no drug-related changes were found in clinical observations: body weight, food consumption, ophthalmoscopy, auditory test, urinalysis, hematology, blood chemistry, gross pathological examination or organ weight between HELIKIT™, urea and control groups. In histopathological examinations, the slight thickening of mucosa of the limiting ridge in the stomach was noted in the animals treated with HELIKIT™ at a dose of 1,000 mg/kg/day and also the changes in urea group at a dose of 1,000 mg/kg/day was found, but all of these changes in the stomach regressed after withdrawal of the test article for 2 weeks and reversibility of the effect was revealed. These results indicate that the non toxic dose level of HELIKIT™ was 1,000 mg/kg/day in the 4 weeks-repeated dose study, suggesting that the substitution of <sup>13</sup>C for carbon in urea molecule has no effect on the toxicity of urea and changes in stomach are reversible.

**Keywords** □ HELIKIT (<sup>13</sup>C-urea), acute and subacute toxicity, reversible changes of stomach.

HELIKIT™는 뇨소(urea)중 탄소를 안정성 동위원소(<sup>13</sup>C)로 치환한 <sup>13</sup>C-뇨소로서 소화성괴양의 원인균으로 알려진 *Helicobacter pylori*의 진단약으로 캐나다의 Isodiagnostika Institute에서 개발한 약물이다.<sup>1)</sup> 즉, *Helicobacter pylori*는 소화성 괴양을 유발하는 원인균으로 알려져 있고, 이균은 위내에서 뇨소를 암모니아와 탄산가스로 분해하는 특성을 가지고 있다.<sup>2)</sup> HELIKIT™를 소화성괴양 환자에 경구투여한 후 호흡기를 통

하여 배설되는 탄산가스(<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>)를 GC/MS(gas chromatography-mass spectrophotometer)로 정량하여 진단하는 방법이다.<sup>3,6)</sup>

본 연구는 HELIKIT™의 안전성을 평가하는 일환으로서 경구투여로 단회 및 4주간 반복투여독성시험과 2주간 회복시험을 실시하고 뇨소(<sup>12</sup>C-뇨소)와 비교할 만한 결과를 보고한다.

#### 실험방법

<sup>‡</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-820-8600 (팩스) 02-821-7680

KIT(<sup>13</sup>C-urea)는 캐나다의 Isodiagnostika Institute에서 합성한 백색 분말 제품을 사용하였고, urea(<sup>12</sup>C-urea)는 Sigma사 제품을 사용하였다. 시험물질은 매일 주사용 증류수에 녹여 사용하였으며, 투여용량은 10 ml/kg체중으로 하였다. 시험물질은 1회용 주사기로 환취 경구용 금속제 위카테터를 이용하여 강제 경구투여하였다.

### 시험동물 및 사육조건

**실험동물** - 청정구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계 생후 4주령의 흰쥐를 명진실험동물(주)에서 분양받아 약 1주일간 일정한 조건에서 사육하여 검역·순화시킨 후 시험에 사용하였다. 체중의 범위는 단회투여시험에서 투여시 숫컷은 125~130 g, 암컷은 120~125 g 이었으며, 반복투여시험에서 투여시 체중의 범위는 숫컷은 125~130 g, 암컷은 125~130 g 이었다.

**사육조건** - 시험구역은 중앙대학교 약학대학 및 의과대학내 청정실험동물실에서 실시하였으며, 시험은 온도 23±2°C, 상대습도 60±2%, 환기회수 13~15회/시간, 조명 1일 12시간(오전 7시~오후 7시)으로 설정하여 사육하였다. 동물은 환취용 metabolic cage에 한 마리씩 수용하고, 방사선멸균한 고품사료(한일사료 : 그린피아주식회사 멸균) 및 음료수(가열 멸균한 수도물)는 자유로이 섭취하도록 하였다.

**군분리** - 순화 기간중 건강하다고 판정된 흰쥐에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위로 군분리를 실시하였다.

### 실험방법 및 관찰항목

**단회투여시험** - 투여량은 Helikit 및 비교대조물질인 뇨소는 체중 kg당 5000 mg으로 하고, 각군에는 암수 각 10마리를 사용하였다. 시험물질은 약 16시간 절식시킨 다음 금속제 위카테터를 이용하여 흰쥐에 단회 강제 경구투여하였다. 사료는 투여 3시간후에 재개하였다. 관찰기간은 투여후 14일간으로 하였고, 투여 첫날에는 6시간후에 관찰하였고, 그후는 하루 2회(휴일에는 1회)씩 일반상태를 관찰하였다. 특히 관찰기간중 경시적으로 체중 및 섭취량을 측정하였다. 14일간 관찰후 24시간 뇨를 수집하여 뇨검사를 한 후 동물을 에틸로 마취시킨후 개복하여 복부 동맥을 절단하고 방혈치사시킨 후 부검을 행하였다.

**반복투여시험** - 투여용량의 설정은 본 시험물질의 급

성경구시험결과 5000 mg/kg체중을 경구투여하여도 무해하였으며, 미국 식품의약품관리청(FDA)에서 <sup>13</sup>C-urea의 무해량이 2475 mg/kg체중이라고 결론을 내린 점을 감안하여 아급성경구독성시험에서는 1000 mg/kg체중을 최고용량군으로 선정하였으며 공비 5로 3개의 약물투여군과 비교 대조약물( 뇨소) 1000 mg/kg체중 투여군과 용매투여 대조군으로 하였다.

**투여량, 투여방법 및 군구성** - Helikit의 투여량은 40, 200, 1000 mg/kg체중으로 하였고, 비교대조물질인 뇨소의 투여량은 1,000 mg/kg체중으로 하였고, 여기에 주사용증류수(용매)를 투여하여 용매대조군으로 하여 총 5군을 설정하였다. 4주간 투여후 부검동물(주군)은 각군에서 암수 각 10마리를 이용하였으며, 4주간 투여후 2주간 휴약한 후 부검한 동물(회복군)은 용매대조군, Helikit 1,000 mg/kg 및 뇨소 1,000 mg/kg투여군에서 암수 각 10마리를 이용하였다. 금속제 위카테터를 이용하여 1일 1회씩 4주간 반복 제투여하였다. 회복기간은 2주간으로하고 그 기간에는 휴약하였다.

**일반상태관찰** - 투여기간중에는 투여전, 투여직후 및 투여 2시간후, 총 3회(단, 휴일에는 투여전과 투여직후, 총2회), 회복기간중에는 매일 1회씩 일반상태를 관찰하였다.

**체중 및 물섭취량** - 체중은 투여기간 및 회복기간을 통하여 매 3일 마다 측정하였다. 특히 섭취량은 원칙적으로 7일간의 누적섭취량을 매주 1회 측정하고 한마리의 1일 섭취량을 산출하였다.

**안과학적부검** - 검역·순화기간중에는 전동물에 대하여 투여 제4주는 각군의 암수 각 5마리씩 검사하였다. 특히 눈의 외관을 육안적으로 관찰하는중에 산동제(atropine제)를 점안하고 산동을 검안경(BXα형)을 이용하여 전안부, 중간투광체 및 안저를 관찰하였다. 특히 투여 제4주제의 검사결과 투약에 따른 변화를 관찰하여 변화가 없을 경우, 회복기간중의 검사는 실시하지 않았다.

**청각검사** - 투여 제4주제에 각군의 암수 각 5마리씩 가이단보이즈루(약 600 Hz)를 이용하여 이계반사를 검사하였다. 특히 투여 제4주의 검사결과, 투약에 따른 변화를 관찰하여 변화가 없을 경우, 회복기간중의 검사는 실시하지 않았다.

**뇨검사** - 투여 제4주 및 회복 제2주에는 각군의 암수 각 10마리를 절식시키고 물은 자유로이 먹게하여

4시간노를, 그 후 자유급식 및 자유급수하에 20시간노를 채취하였다. 최초의 4시간노를 이용하여 백혈구, 아초산염, urobilinogen, pH, 단백질, 케톤체, 포도당, 잠혈, 비중, bilirubin(이상 AMES 노검사 시험지, N-Multistix™ SG-L : 일본 바이엘 · 삼공주식회사), 색깔 및 침사를 검사하였다. 여기에서 20시간노를 이용하여 나트륨, 칼륨 및 염소(전량측정법)를 측정하였다.

**혈액학적 검사** - 투여기간 및 회복기간 종료 다음 날 도살 계획시에는 전날부터 하루밤(약 16시간) 절식시키고, 동물을 에텔마취하에 정중선을 따라 개복하고, 복대동맥으로부터 항응고제(7.5% EDTA-2K) 함유 체혈병(Vacutainer™ : Bechon Dickinson Vacutainer Systemes Europe, England)에 채혈하여 적혈구수(전기저항변화검출법), hemoglobulin량(cyanomethemoglobin법), hematocrit치(적혈구수 및 평균적혈구용적을 산출), 평균적혈구용적(전기저항변화검출법), 평균적혈구혈색소량(hemoglobin량 및 hematocrit치로부터 산출), 혈소판수(전기저항변화검출법), 백혈구(전기저항변화검출법)(이상 자동분석장치 Cell-Dyne 3000 : Abbot Co.), 망상적혈구(Brecher법) 및 백혈구 백분율(May-Giemsa검정법)을 측정하였다. 이때 3.8% sodium citrate로 처리하여 혈액을 원심분리(3000 rpm, 10분간)하여 얻은 혈장을 이용하여 prothrombin time(Grodo법), 활성화부분 thromboplastin time(Grodo법) 및 prothrombin량(thromboplastin법)(이상 혈액응고 자동측정장치(Coag-A-Mate-RA4 : Instrumentation Laboratory)로 측정하였다.

**혈액화학적검사** - 혈액학적 검사시와 같이 복대동맥으로부터 채혈하여 heparin처리 혈액을 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 혈장을 얻어 AST, ALT 및 LDH(이상 UV rate법, 자동분석장치, CH16 : Texas International INC.)를 측정하고, 나머지 무처리 혈액을 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 혈청을 얻고, ALP(Bessey-Lowry법), total cholesterol(CEH-COD-

POD법), triglyceride(GK-GPO-POD법), phospholipid(GK-GPO-POD법), total bilirubin(azobarbin법), 혈당(Hexokinase PD법), urea-nitrogen(Urea-se-GLDH법), creatine(Jaffe법), 나트륨 및 칼륨, 염소(이상 이온선택전극법), 칼슘(OCPC법), 무기인(Molybdenic acid 법) 및 총단백질(Biuret법)(이상 UV rate법, 자동분석장치 Monach : Instrumentation Laboratory)로 측정하였다.

**병리학적검사** - 체혈후 전동물을 방혈하여 치사시키고 전신의 재기관관 이상유무를 육안적으로 관찰하고 난 후 뇌, 하수체, 갑상선(상피소체를 포함), 타액선(악하선 · 설하선), 흉선, 심장, 폐(기관지포함), 간장, 비장, 신장, 부신, 정소, 난소, 전립선, 정낭 및 자궁을 적출하고 기관중량을 측정하고, 부검당일 절식후 체중으로부터 체중 100 g에 대한 상대중량을 산출한다. 그리고 척수, 좌골신경, 흉대동맥, 기관, 설, 식도, 위, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장, 췌장, 장간막립과절, 경부림과절, 방광, 정소상체, 질, 유선, 피부, 안구, 시신경, Barta선, 골 및 골수(흉골 · 대퇴골), 대퇴근 및 기타 육안적 이상 부위(간장, 신장 및 정소 1예)를 적출하여 인산완충 10% 포르마린액에 고정한 후 paraffin에 포매한다. 주근과 회복군에서 용매대조군과 Helikit 1,000 mg/kg투여군 및 뇨소투여군의 전기관 · 조직의 절편을 hematoxylin-eosin(H · E) 염색하고 검경하였다.

## 결 과

### 단회투여시험

**사망상황** - Helikit 5000 mg/kg 및 뇨소 5000 mg/kg을 암수 흰쥐에 투여했을 때 2주후까지 사망한 동물이 없었다(Table I-1).

**일반상태** - Helikit 5000 mg/kg 및 뇨소 5000 mg/kg을 암수 흰쥐에 투여했을 때 2주까지 대조군과 다른 일반상태의 변화가 전혀 없었다.

**체중 및 섭취량** - Helikit 5000 mg/kg 및 뇨소

**Table I-1** — Mortality in a single dose toxicity of Helikit or urea in rats

Sex	Group	Dose (mg/kg)	Number of animals	Mortality	Lethal dose (mg/kg)
Male	Helikit	5000	10	0/10	>5000
	Urea	5000	10	0/10	>5000
Female	Helikit	5000	10	0/10	>5000
	Urea	5000	10	0/10	>5000

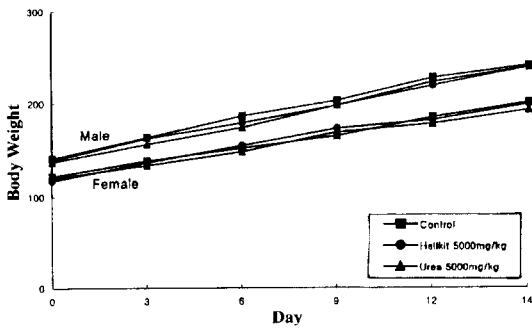


Fig. 1 - Body weight in rats treated orally with Helikit or urea.

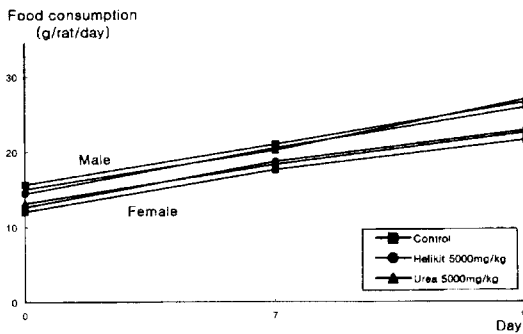


Fig. 2 - Food consumption in rats treated orally with Helikit or urea.

5000 mg/kg을 암수 흰쥐에 투여했을 때 2주까지 대조군과 다른 특기할 만한 체중 및 섭취량의 변화가 나타나지 않았다(Figs. 1 & 2).

**부검** - Helikit 5000 mg/kg 및 뇨소 5000 mg/kg을 암수 흰쥐에 투여하고 2주후 부검했을 때 특기할 만한 이상이 나타나지 않았다.

**뇨검사** - Helikit 5000 mg/kg 및 뇨소 5000 mg/kg을 암수 흰쥐에 투여하고 2주후 뇨검사에서 특기할 만한 이상이 나타나지 않았다(Table I-2).

**반복투여시험**

Helikit 40, 200, 1000 mg/kg 및 뇨소 1000 mg/kg을 각각 매일 1회씩 4주간의 반복 투여기간 과 2주간의 회복기간에서 관찰된 결과는 다음과 같았다.

**일반상태** - 투여기간 및 회복기간에 Helikit 및 뇨소 투여군에서 투약에 기인되었다고 인정되는 일반상태의 변화가 나타나지 않았다.

**체중변화** - 투여기간 및 회복기간에 Helikit 및 뇨소 투여군에서 투약에 기인되었다고 인정되는 체중변화가

나타나지 않았다(Fig. 3).

**섭취량** - 투여기간 및 회복기간에 Helikit 및 뇨소 투여군에서 투약에 기인되었다고 인정되는 음식섭취량의 변화가 나타나지 않았다(Fig. 4).

**안과학적검사** - 투여기간 및 회복기간에 Helikit 및 뇨소 투여군에서 투약에 기인되었다고 인정되는 안과학적 이상이 나타나지 않았다.

**청각검사** - 4주간 반복 투여후 검사에서 Helikit 및 뇨소 투여군에서 투약에 기인되었다고 인정되는 청각이상은 나타나지 않았다.

**뇨검사** - 4주 반복투여후 및 2주 회복후에 측정된 뇨검사에서 Helikit 및 뇨소 투여군에서 용매 대조군과 비교하면 투약에 기인되었다고 인정되는 뇨검사에서 특기할만한 변화가 나타나지 않았다(Table II-1 및 II-2).

**혈액화학적검사**

**투여종료시** - Helikit 200 mg/kg투여군의 숫컷에서 약간의 백혈구 감소가 있었으나 용량과 연관성이 없었으며, 암컷에서는 유의성있는 변화가 없었다. 뇨소와 용매대조군과 비교하면 Helikit 투여군에서 약간의 백혈구수의 변화이외는 특기할만한 변화가 인정되지 않았다(Table III-1).

**회복종료시** - Helikit 200 mg/kg투여군의 숫컷 흰쥐에서 백혈구수와 호염기구 비율이 약간 저하되었으나 암컷에서는 유의성있는 변화가 없었다(Table III-2).

한편 뇨소투여군에서는 숫컷에서 분절핵호중구비율이 상승되었으나, 암컷에서는 유의성있는 변화가 없었다. 이와같이 백혈구수와 호염기구 및 분절핵호중구 비율을 제외하면 용매대조군과 비교할 때 특기할만한 변화가 나타나지 않았다.

**혈액화학적검사**

**투여종료시** - Helikit 200 mg/kg투여군의 숫컷에서 ALP활성의 감소 및 암컷에서 LDH활성의 감소가 있었으나 용량과 연관성이 없었다. 뇨소와 용매대조군과 비교하면 Helikit 투여군에서 ALP 및 LDH 활성의 변화이외는 특기할만한 변화가 인정되지 않았다(Table IV-1).

한편 뇨소 투여군에서는 용매대조군과 비교하면 특기할만한 변화가 인식되지 않았다.

**회복종료시** - Helikit 투여군의 숫컷 흰쥐에서 AST 및 LDH활성의 저하가 있었으나 그 외는 유의성

**Table I-2**—Urinalysis in male and female rats after 2 week recovery period following a single dose of Helikit or urea

Sex	Group	Dose(mg/kg)	n	pH		Protein <sup>1)</sup>	Ketone body <sup>2)</sup>	Glu- cose <sup>3)</sup>	Occult bood <sup>4)</sup>	Bilir- ubin <sup>5)</sup>	Urobili- nogen <sup>6)</sup>	Color <sup>7)</sup> Nitrite <sup>8)</sup>											
				7.5	8.0								8.5	9.0									
Male	Control	-	10	4	1	5	0	3	1	6	3	1	10	8	2	0	0	10	9	1	10	10	
	Helikit	5000	10	2	5	3	0	3	0	7	3	0	10	8	2	0	0	10	10	0	10	10	
	Urea	5000	10	3	6	1	0	4	5	1	0	6	4	0	10	9	1	0	0	10	9	1	10
Female	Control	-	10	2	5	3	0	3	5	2	0	9	1	0	10	7	2	1	0	10	10	0	10
	Helikit	5000	10	2	6	2	0	4	5	1	0	7	2	0	10	7	2	1	0	10	9	1	10
	Urea	5000	10	2	5	3	0	4	5	1	0	7	3	0	10	8	1	1	0	10	10	0	10

<sup>1)</sup> - : 0~5 mg/dl, ± : 10~20 mg/dl, + : 30~70 mg/dl, ++ : 100~200 mg/dl

<sup>2)</sup> - : 0 mg/dl, ± : 5 mg/dl, + : 10~220 mg/dl

<sup>3)</sup> - : 0~10 mg/dl

<sup>4)</sup> - : 0 mg/dl, ± : 0.03 mg/dl, + : 0.06~0.1 mg/dl, ++ : 0.2~0.5 mg/dl

<sup>5)</sup> - : 0 mg/dl

<sup>6)</sup> ± : 0.2~1.0 mg/dl, + : 30~70 mg/dl

<sup>7)</sup> Y: yellow

<sup>8)</sup> - : below 10<sup>5</sup> bacteria/ml.

**Table I-2**—Continued

RBC	WBC	SEC	SREC	Cast	Crystallization			Water intake (ml/24hr)	Urine volume (ml/24hr)	Sp.G	Na (mEq/24hr)	K (mEq/24hr)	Cl (mEq/24hr)						
					PS	CO	CO												
														Urine sediment					
-	±	-	±	-	-	-	-	-	-	1.015	1.020	1.025							
9	1	10	0	10	0	10	1	8	1	0	10	23±5 <sup>b)</sup>	3.2±1.3	1	8	1	1.55±0.46	2.54±1.06	1.97±0.66
9	1	10	0	10	0	10	1	10	24±7	3.0±1.5	2	8	0	1.47±0.38	2.64±0.95	2.01±0.73			
10	0	10	0	10	0	10	1	9	0	10	23±9	3.2±1.7	1	8	1	1.45±0.72	2.59±0.99	1.99±0.76	
10	0	9	1	10	0	9	1	0	10	21±5	3.5±1.6	1	9	0	1.52±0.16	2.38±0.95	1.69±0.61		
10	0	10	0	10	1	8	1	0	10	22±7	3.3±1.2	2	8	0	1.55±0.16	2.57±0.97	1.78±0.75		
10	0	10	0	10	1	8	2	0	10	21±5	4.7±1.5	1	9	0	1.58±0.16	2.37±1.09	1.82±0.66		

SEC: Squamous epithelial cell, SREC: Small round epithelial cell, PS: Phosphate salts, CO: Calcium oxalate

- : Negative, ± : Slight, + : Mild, ++ : Moderate

<sup>b)</sup> Mean±S.D.

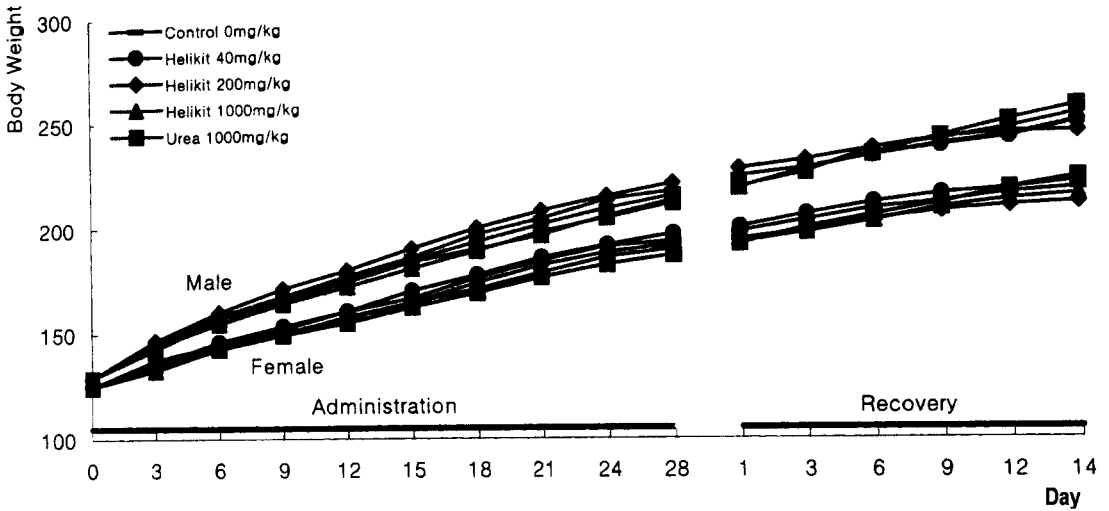


Fig. 3 — Body weight in rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks.

**Food Consumption**

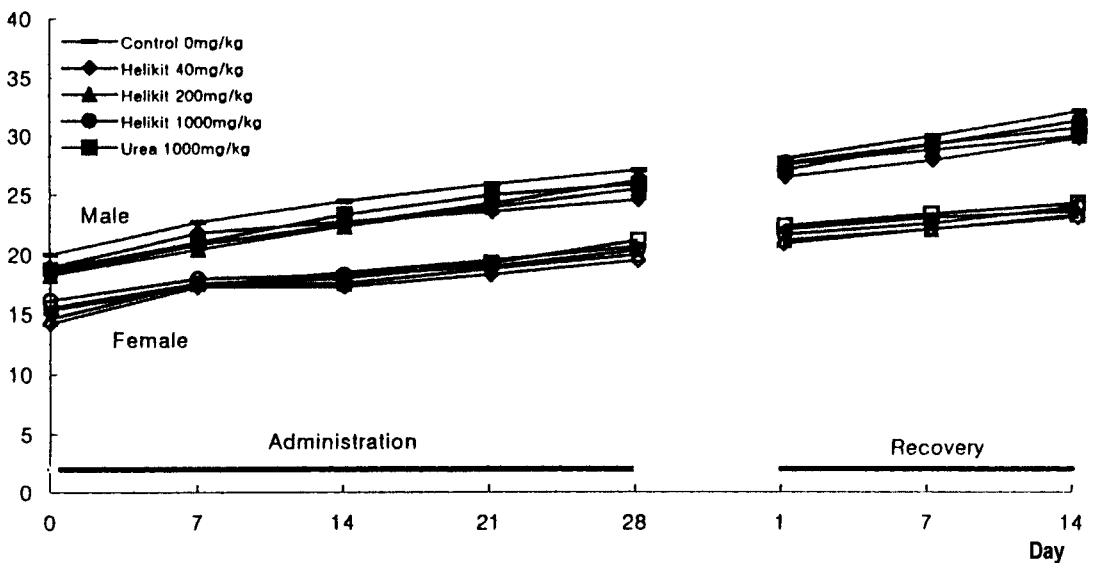


Fig. 4. Food consumption in rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks.

있는 차이를 인식할 수 없었다 (Table IV-2).

**부검**

**투여종료시** - Helikit투여군에서는 간장의 소형화 및 횡격막으로 herniation되어 있는 것이 200 mg/kg 투여군의 숫컷 1예, 정소의 소형화 (편축성)가 200 및 1000 mg/kg투여군의 숫컷 1예에서 관찰되었고, 부신의 소형화 (편축성)이 200 mg/kg투여군의 암컷 1예에

서 나타났으나 이들은 우발적소견으로 판단된다. 한편 뇨소투여군의 숫컷에서 절치의 파손 2예 이외는 이상소견이라고 인정되는 것이 없었다.

**회복종료시** - Helikit 및 뇨소 투여군 모두에서 유의성있는 차이를 인식할 수 없었다.

**장기증량**

**투여종료시** - Helikit 및 뇨소투여군의 모든 장기가

Table II-1 — Urinalysis in male and female rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks

Sex	Group	Dose(mg/kg)	n	pH			Protein <sup>1)</sup>	Ketone body <sup>2)</sup>	Glu- cose <sup>3)</sup>	Occult bood <sup>4)</sup>	Bi-irubin <sup>5)</sup>	Urobilinogen <sup>6)</sup>	Color <sup>7)</sup>	Ni- trite <sup>8)</sup>										
				7.5	8.0	8.5									9.0	-	±	+	++	+++	±	+	Y	
Male	Control	-	10	4	1	5	0	4	1	0	6	3	1	10	8	2	0	0	0	10	9	1	10	10
	Helikit	40	10	4	1	4	1	3	6	1	1	7	3	0	10	7	2	1	0	10	9	1	10	10
	Helikit	200	10	2	2	6	0	5	4	1	0	6	4	0	10	7	1	1	1	10	9	1	10	10
	Helikit	1000	10	2	5	3	0	4	6	0	0	7	3	0	10	8	2	0	0	10	10	0	10	10
	Urea	1000	10	3	6	1	0	4	5	1	0	6	4	0	10	9	1	0	0	10	9	1	10	10
Female	Control	-	10	2	5	3	0	4	5	1	0	7	3	0	10	7	2	1	0	10	10	0	10	10
	Helikit	40	10	3	6	0	1	3	6	0	1	8	1	1	10	7	1	1	1	10	9	1	10	10
	Helikit	200	10	3	7	0	0	4	5	1	0	8	2	0	10	8	1	1	0	10	10	0	10	10
	Helikit	1000	10	2	6	1	0	4	5	1	0	8	2	0	10	7	2	1	0	10	9	1	10	10
	Urea	1000	10	2	5	3	0	4	5	1	0	7	3	0	10	8	1	1	0	10	10	0	10	10

1) - : 0~5 mg/dl ± : 10~20 mg/dl, + : 30~70 mg/dl, ++ : 100~200 mg/dl

2) - : 0 mg/dl, ± : 5 mg/dl, + : 10~20 mg/dl

3) - : 0~10 mg/dl

4) - : 0 mg/dl, ± : 0.03 mg/dl, + : 0.06~0.1 mg/dl, ++ : 0.2~0.5 mg/dl

5) - : 0 mg/dl

6) ± : 0.2~1.0 mg/dl, + : 30~70 mg/dl

7) Y: yellow

8) - : below 10<sup>5</sup> bacteria/ml

Table II-1 — Continued

RBC	WBC	SEC	SREC	SREC	Cast	Urine sediment			Water intake (ml/24hr)	Urine volume (ml/24hr)	Sp.G	Na(mEq/24hr)	K(mEq/24hr)	Cl(mEq/24hr)					
						Crystallization													
						PS	CO	CO											
-	±	-	±	-	-	±	+	++	1.015	1.020	1.025								
9	1	10	0	10	0	10	1	8	1	0	10	23±6 <sup>a)</sup>	6.2±1.6	2	8	0	1.56±0.54	2.67±0.64	2.23±0.44
10	0	9	1	10	0	10	0	9	1	0	10	24±7	5.6±1.4	1	8	1	1.62±0.47	2.70±0.36	2.32±0.56
9	1	10	0	10	1	10	1	9	0	0	10	23±9	7.0±1.8	2	8	0	1.57±0.55	2.80±0.42	2.20±0.39
9	1	10	0	10	0	10	0	8	1	1	10	23±7	5.9±1.6	1	8	1	1.59±0.62	2.77±0.66	2.18±0.35
10	0	10	0	10	0	10	1	9	0	0	10	24±9	6.2±2.1	1	9	0	1.57±0.71	2.72±0.57	2.26±0.45
10	0	9	1	10	0	10	0	9	1	0	10	21±8	5.2±1.1	1	9	0	1.12±0.43	1.85±0.54	1.45±0.34
10	0	10	0	10	0	10	0	9	1	0	10	20±7	6.0±1.4	1	9	0	1.09±0.35	1.78±0.39	1.39±0.41
9	1	10	0	10	1	10	1	8	0	1	10	21±9	4.8±1.0	2	8	0	0.95±0.47	1.88±0.78	1.42±0.47
10	0	10	0	10	0	10	1	8	1	0	10	20±5	5.2±1.1	1	8	1	1.11±0.54	1.82±0.34	1.38±0.41
10	0	10	0	10	0	10	1	8	2	0	10	21±7	5.9±1.5	1	9	0	1.10±0.45	1.89±0.61	1.43±0.39

SEC: Squamous epithelial cell, SREC: Small round epithelial cell, PS: Phosphate salts, CO: Calcium oxalate

- : Negative, ± : Slight, + : Mild, ++ : Moderate

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

**Table II-2**—Urinalysis in male and female rats after 2 week recovery period following 4 week treatment with Helikit or urea

Sex	Group	Dose(mg/kg)	pH			Protein <sup>1)</sup>	Ketone body <sup>2)</sup>	Glucose <sup>3)</sup>	Occult blood <sup>4)</sup>			Bilirubin <sup>5)</sup>	Urobilinogen <sup>6)</sup>	Color <sup>7)</sup>	Nitrite <sup>8)</sup>						
			7.5	8.0	8.5				9.0	-	+					++	+++	-	+	++	Y
Male	Control	-	10	3	2	5	0	4	1	5	4	1	10	8	2	0	0	10	10	10	
	Helikit	400	10	3	2	4	1	4	5	1	0	6	4	0	10	7	2	1	0	10	10
	Helikit	200	10	2	2	6	0	4	4	1	1	5	5	0	10	7	1	1	1	10	10
	Helikit	1000	10	2	4	4	0	3	6	1	0	6	3	1	10	8	2	0	0	10	10
	Urea	1000	10	3	5	4	0	4	5	1	0	6	4	0	10	8	1	1	0	10	10
Female	Control	-	10	2	5	3	0	3	5	2	0	8	2	0	10	7	2	1	0	10	10
	Helikit	400	10	3	6	0	1	3	6	0	1	9	1	0	10	7	1	1	1	10	10
	Helikit	200	10	3	6	1	0	4	5	1	0	7	2	1	10	8	1	1	0	10	10
	Helikit	1000	10	2	6	1	0	4	5	1	0	8	2	0	10	7	2	1	0	10	10
	Urea	1000	10	3	4	3	0	3	6	1	0	7	3	0	10	8	1	1	0	10	10

<sup>1)</sup> - : 0~5 mg/dl. ± : 10~20 mg/dl. + : 30~70 mg/dl. ++ : 100~200 mg/dl

<sup>2)</sup> - : 0 mg/dl. ± : 5 mg/dl. + : 10~20 mg/dl

<sup>3)</sup> - : 0~10 mg/dl

<sup>4)</sup> - : 0 mg/dl. ± : 0.03 mg/dl. + : 0.06~0.1 mg/dl. ++ : 0.2~0.5 mg/dl

<sup>5)</sup> - : 0 mg/dl

<sup>6)</sup> ± : 0.2~1.0 mg/dl. + : 30~70 mg/dl

<sup>7)</sup> Y; yellow

<sup>8)</sup> - : below 10<sup>5</sup> bacteria/ml

**Table II-2**—Continued

RBC	WBC	SEC	SREC	SREC	Cast	Crystallization		Water intake (ml/24hr)	Urine volume (ml/24hr)	Sp.G	Na(mEq/24hr)	K(mEq/24hr)	Cl(mEq/24hr)								
						PS	CO														
-	±	-	±	-	±	+	++	1.015	1.020	1.025											
9	1	10	0	10	9	1	10	1	8	1	0	10	10	24+7 <sup>3)</sup>	7.2+1.9	3	7	0	1.16±0.34	2.17±0.95	1.83±0.98
10	0	9	1	10	10	0	10	0	9	1	0	10	10	23+8	6.7+1.7	2	8	0	1.23±0.67	2.21±0.79	1.72±0.77
9	1	10	0	10	9	1	10	1	9	0	0	10	10	23+8	6.9+1.5	1	8	1	1.17±0.57	2.33±1.21	1.90±0.99
10	0	10	0	10	10	0	10	1	1	1	1	10	10	24+6	7.1+1.4	2	8	0	1.18±0.46	2.45±1.52	1.85±0.76
10	0	10	0	10	10	0	10	0	8	1	0	10	10	24+9	7.0+1.9	2	8	0	1.27±0.62	2.22±1.63	1.76±0.57
10	0	9	1	10	9	1	10	1	8	1	0	10	10	22±7	6.4+1.3	2	8	0	1.08±0.22	1.82±0.78	1.23±0.47
10	0	10	0	10	10	0	10	0	9	1	0	10	10	21±6	6.0±1.5	1	8	1	1.02±0.44	1.77±0.91	1.32±0.55
9	1	9	1	10	9	1	10	1	8	0	1	10	10	22±8	5.8±1.6	3	7	0	0.94±0.56	1.68±0.75	1.21±0.64
10	0	10	0	10	10	0	10	1	8	1	0	10	10	21±6	6.5±1.2	2	8	0	1.01±0.57	1.78±0.88	1.18±0.62
10	0	10	0	10	10	0	10	1	8	1	0	10	10	22±6	6.3±1.6	1	9	0	1.22±0.71	1.84±1.02	1.23±0.72

SEC: Squamous epithelial cell, SREC: Small round epithelial cell, PS: Phosphate salts, CO: Calcium oxalate

- : Negative. ±: Slight. + : Mild. ++ : Moderate

<sup>3)</sup> Mean±S.D.



Table III-1 — Hematological findings in male and female rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks

Sex	Group Dose (mg/kg)	n	RBC (10 <sup>7</sup> /ul)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ <sup>3</sup> )	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo- cyte (%)	Plts (10 <sup>3</sup> /ul)	PT (sec)	APTT (sec)
Male	Control	10	768±27 <sup>a)</sup>	15.2±0.7	45±4	58.6±1.6	19.8±0.7	33.7±0.4	4.5±0.9	872±84	10.8±1.2	16.7±1.4
	Helikit 40	10	755±31	14.8±0.5	47±6	62.2±1.7	19.6±0.8	31.5±0.7	3.4±1.1	894±77	10.2±0.6	16.2±1.6
	Helikit 200	10	764±45	14.6±0.4	45±3	58.8±1.6	19.1±0.6	32.4±0.6	6.3±1.2	850±64	12.4±0.4	15.9±1.3
	Helikit 1000	10	752±55	15.5±0.6	43±5	57.1±1.3	19.9±0.7	36.0±0.7	4.3±1.5	842±87	10.5±0.5	16.5±1.5
	Urea 1000	10	757±26	15.1±0.8	45±4	59.4±1.6	20.6±0.9	33.6±0.6	3.6±1.7	899±66	11.1±0.4	16.1±1.2
Female	Control	10	745±40	14.9±0.6	46±6	61.0±1.1	20.0±0.7	32.4±0.7	6.3±1.8	894±53	9.5±0.6	14.7±1.3
	Helikit 40	10	735±36	14.8±0.3	45±5	61.2±1.6	20.1±0.5	32.9±0.8	4.3±1.4	850±56	10.2±0.6	15.2±1.3
	Helikit 200	10	722±43	15.1±0.5	43±5	59.6±1.7	20.9±0.5	35.1±0.6	3.6±1.9	794±72	10.0±0.4	14.7±1.1
	Helikit 1000	10	740±35	14.5±0.4	43±6	58.1±1.5	19.6±0.6	33.7±0.7	5.4±1.6	889±97	9.7±0.5	14.2±1.5
	Urea 1000	10	737±29	14.9±0.5	43±7	58.3±1.3	20.2±0.8	32.7±0.5	5.5±1.9	862±85	9.6±0.4	14.7±1.3

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

Table III-1 — Continued

Sex	Group Dose (mg/kg)	n	WBC						
			Differential	Lymph	Seg	Eosino	Baso	Mono	Others
Male	Control	10	78±5 <sup>a)</sup>	92.2±4.3	6.3±2.5	0.5±0.4	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 40	10	80±4	94.8±4.3	4.8±3.5	0.4±0.3	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 200	10	70±5*	94.1±4.3	5.4±2.7	0.5±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 1000	10	79±6	94.4±4.3	5.0±4.2	0.4±0.4	0.1±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0
	Urea 1000	10	78±8	94.0±4.3	5.4±3.2	0.6±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Female	Control	10	71±5	91.2±4.3	8.3±3.6	0.5±0.4	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 40	10	72±4	91.2±4.3	8.2±3.3	0.6±0.3	0.1±0.2	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 200	10	72±3	91.2±4.3	8.3±2.5	0.5±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 1000	10	71±4	91.2±4.3	8.3±3.9	0.4±0.6	0.0±0.0	0.1±0.2	0.0±0.0
	Urea 1000	10	73±3	90.7±4.3	8.9±2.3	0.4±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

**Table III-2**— Hematological findings in male and female rats after 2 week recovery period following 4 week treatment with Helikit or urea

Sex	Group Dose(mg/kg)	n	RBC (10 <sup>4</sup> /ul)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ <sup>3</sup> )	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticu- cyte (%)	Plts (10 <sup>3</sup> /ul)	PT (sec)	APTT (sec)
Male	Control	10	721±27 <sup>a)</sup>	14.5±0.6	43±5	59.6±1.2	20.1±0.8	33.7±0.6	5.1±1.2	902±68	10.0±1.5	15.9±1.7
	Helikit 40	10	746±35	14.8±0.8	45±9	60.3±1.5	19.8±0.6	32.8±0.6	4.3±1.2	882±87	9.62±1.2	16.2±1.4
	Helikit 200	10	769±37	14.6±0.6	44±8	57.2±1.4	19.1±0.9	33.4±0.8	5.7±1.6	911±68	10.8±0.9	15.5±1.1
	Helikit 1000	10	798±41	16.8±0.9	47±6	58.9±1.1	21.0±1.2	35.7±0.6	5.2±1.2	898±76	11.2±0.7	16.1±1.6
	Urea	1000	10	761±39	15.4±0.7	48±5	59.1±1.4	20.3±0.8	34.3±0.5	6.0±1.4	899±76	10.5±0.6
Female	Control	10	792±36	15.8±0.7	46±8	58.1±1.0	20.0±0.9	34.4±0.6	5.6±1.4	892±55	9.2±0.8	15.3±1.4
	Helikit 40	10	719±42	15.6±0.5	44±7	61.2±1.4	20.7±0.7	35.6±0.9	6.1±1.1	850±67	9.9±0.7	14.7±1.5
	Helikit 200	10	759±33	14.9±0.4	45±6	59.3±1.3	19.6±0.5	33.1±0.8	5.9±1.6	864±63	10.2±0.6	14.3±1.2
	Helikit 1000	10	768±28	14.2±0.7	46±5	60.7±1.6	18.5±0.7	30.5±0.7	5.8±1.4	895±88	9.7±0.8	15.1±1.3
	Urea	1000	10	725±32	14.4±0.9	44±7	61.0±1.4	20.5±0.9	32.7±0.6	5.9±1.7	882±74	10.5±0.7

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

\*p<0.05. Significant difference from control.

**Table III-2**— Continued

Sex	Group Dose(mg/kg)	n	WBC (10 <sup>4</sup> /ul)	Differential leukocyte counts (%)					
				Lymph	Seg	Eosino	Baso	Mono	Others
Male	Control	10	75±5 <sup>a)</sup>	96.3±5.2	0.4±0.1	0.5±0.4	3.4±1.2	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 40	10	79±3	95.3±4.9	0.4±0.3	0.4±0.3	3.2±0.8	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 200	10	72±5	96.8±8.2	0.5±0.2	0.4±0.5	2.9±1.4*	0.1±0.2	0.0±0.0
	Helikit 1000	10	76±6	95.5±7.1	0.5±0.2	0.5±0.4	3.5±0.7	0.0±0.0	0.0±0.0
	Urea	1000	10	73±4	95.6±7.1	0.6±0.2*	0.6±0.5	3.2±0.9	0.0±0.0
Female	Control	10	71±5	96.0±7.2	0.4±0.3	0.5±0.4	3.3±0.9	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 40	10	74±4	95.7±6.6	0.5±0.3	0.6±0.3	3.2±0.7	0.1±0.2	0.0±0.0
	Helikit 200	10	75±3	95.9±8.6	0.4±0.5	0.5±0.5	3.1±1.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Helikit 1000	10	69±4	96.0±8.5	0.5±0.4	0.4±0.6	3.0±0.8	0.0±0.0	0.0±0.0
	Urea	1000	10	73±3	95.8±7.3	0.4±0.3	0.4±0.5	3.4±0.9	0.0±0.0

**Table IV-1**— Blood biochemical findings in male and female rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks

Sex	Group	Dose(mg/kg)	n	Total bilirubin (mg/dl)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	AIP (IU/L)	LDH (IU/L)	Total Protein (g/ml)	Alb- min (g/ml)	A/G ratio
Male	Control	-	10	0.10±0.01 <sup>a)</sup>	52.4±7.6	36.4±8.4	178±35	195.4±35.4	7.6±0.4	3.4±0.5	0.81±0.05
	Helikit	40	10	0.15±0.01	54.2±9.5	34.5±8.7	165±48	175.5±30.6	7.6±0.5	3.6±0.2	0.90±0.04
	Helikit	200	10	0.10±0.02	55.4±9.9	35.6±9.5	188±55	200.3±36.6	7.3±0.6	3.5±0.3	0.92±0.02
	Helikit	1000	10	0.15±0.01	48.6±8.7	37.2±9.2	164±43*	198.7±35.7	7.8±0.5	3.5±0.5	0.81±0.05
	Urea	1000	10	0.10±0.03	47.8±9.5	36.7±7.7	175±45	192.6±29.9	7.8±0.6	3.5±0.4	0.81±0.06
Female	Control	-	10	0.10±0.01	55.4±8.4	37.4±9.63	165±33	203.4±45.7	7.4±0.5	3.5±0.4	0.90±0.06
	Helikit	40	10	0.20±0.02	49.2±8.9	4.2±7.63	158±43	196.7±34.3	7.5±0.6	3.4±0.3	0.83±0.04
	Helikit	200	10	0.15±0.01	55.4±9.7	5.5±8.73	162±42	195.8±35.7	7.3±0.8	3.5±0.5	0.92±0.05
	Helikit	1000	10	0.10±0.03	48.6±8.7*	6.7±7.53	168±52	190.6±45.2*	7.6±0.6	3.6±0.4	0.90±0.07
	Urea	1000	10	0.15±0.02	49.8±7.5	5.9±8.7	165±46	199.4±35.1	7.6±0.5	3.5±0.6	0.85±0.08

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

\*p&lt;0.05, Significant difference from control.

**Table IV-1**— Continued

Glucose (g/ml)	Total Chol (mg/dl)	Trigly (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creat- tine (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Ca (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Inorganic P(mg/dl)
123±15	54.2±13.2	42.3±8.9	13.1±0.9	0.6±0.1	3.3±0.3	144.5±0.8	4.7±0.3	9.3±0.4	111.6±1.21	9.0±0.5
131±13	55.5±11.4	41.6±7.8	12.5±1.2	0.5±0.1	4.5±0.4	143.6±0.9	4.6±0.4	9.3±0.2	10.4±0.91	8.9±0.6
126±12	49.9±12.5	39.6±6.7	14.4±1.5	0.6±0.1	2.9±0.7	144.0±1.1	4.7±0.3	9.2±0.4	11.3±1.11	9.1±0.4
117±15	51.7±10.0	40.1±7.7	12.8±0.9	0.5±0.1	4.2±0.2	143.8±1.0	4.7±0.2	9.1±0.5	11.0±1.41	9.2±0.5
125±18	52.3±13.6	41.8±9.5	12.9±1.2	0.6±0.1	3.4±0.5	144.2±0.9	4.7±0.3	9.3±0.3	11.5±0.8	9.0±0.3
129±12	55.4±13.2	40.3±7.8	12.5±1.4	0.6±0.1	4.1±0.5	143.9±1.0	4.6±0.3	9.2±0.3	113.3±1.0	9.1±0.3
134±18	54.6±13.2	39.5±8.5	13.2±1.3	0.7±0.2	4.2±0.6	144.2±0.8	4.7±0.2	9.3±0.2	112.6±0.7	9.2±0.4
129±14	52.7±13.2	39.9±7.6	13.5±1.5	0.5±0.2	3.7±0.3	143.7±1.2	4.6±0.4	9.2±0.3	113.2±1.2	9.1±0.5
124±16	56.3±13.2	40.0±6.9	12.1±1.1	0.6±0.2	3.9±0.3	143.8±1.1	4.5±0.3	9.1±0.4	113.1±1.3	9.2±0.4
129±19	55.7±13.2	9.6±8.8	12.3±1.3	0.6±0.3	3.7±0.4	143.5±1.0	4.7±0.3	9.2±0.43	112.5±1.5	9.1±0.4

**Table IV-2**— Blood biochemical findings in male and female rats after 2 week recovery period following 4 week treatment with Helikit or urea

Sex	Group	Dose(mg/kg)	n	Total bilirubin (mg/dl)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	AIP (IU/L)	LDH (IU/L)	Total Protein (g/ml)	Albu- min (g/ml)	A/G ratio
Male	Control	-	10	0.10±0.01 <sup>a)</sup>	47.3±6.2	33.6±7.5	162±37	167.3±41.3	7.8±0.6	3.5±0.6	0.81±0.05
	Helikit	40	10	0.10±0.02	45.6±8.6	36.6±8.8	155±39	165.6±33.5	7.7±0.8	3.5±0.4	0.83±0.04
	Helikit	200	10	0.15±0.01	45.9±7.8	35.8±8.4	168±46	160.3±37.7	7.5±0.7	3.4±0.5	0.83±0.02
	Helikit	1000	10	0.10±0.02	40.7±6.9*	33.6±8.5	161±33	158.9±39.6*	7.8±0.6	3.6±0.6	0.86±0.05
	Urea	1000	10	0.10±0.01	47.1±7.6	32.9±8.8	157±42	162.9±35.8	7.6±0.7	3.5±0.8	0.85±0.06
Female	Control	-	10	0.10±0.01	45.7±8.9	32.5±8.5	145±45	164.7±45.7	7.5±0.6	3.4±0.9	0.83±0.06
	Helikit	40	10	0.15±0.01	44.9±7.8	33.7±6.5	148±53	176.5±45.3	7.6±0.7	3.5±0.6	0.85±0.04
	Helikit	200	10	0.10±0.01	45.5±7.6	33.6±7.9	142±36	165.5±34.6	7.5±0.6	3.6±0.7	0.92±0.05*
	Helikit	1000	10	0.10±0.02	43.5±6.9	35.0±8.7	148±42	170.6±47.6	7.5±0.7	3.5±0.6	0.88±0.07
	Urea	1000	10	0.10±0.01	45.6±9.1	31.7±6.9	146±32	166.7±55.5	7.6±0.9	3.6±0.9	0.90±0.08

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

\* p&lt;0.05, Significant difference from control.

Table IV-2 — Continued

Glucose (g/ml)	Total Chol (mg/dl)	Trigly (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creat-ine (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Ca (mEq/l)	Cl (mEq/l)	Inorganic P(mg/dl)
115±18	55.5±15.5	45.7±6.7	12.6±1.2	0.5±0.1	3.9±0.4	143.5±0.9	4.6±0.4	8.8±0.5	105.4±1.3	8.8±0.6
122±16	54.6±13.3	43.5±6.2	13.1±0.9	0.4±0.1	4.2±0.5	142.6±0.9	4.6±0.5	9.0±0.6	98.7±1.5	8.7±0.5
124±14	50.5±17.6	39.6±8.7	13.5±0.9	0.6±0.1	3.9±0.6	143.7±1.3	4.7±0.7	8.9±0.5	1101.3±1.3	9.0±0.5
119±17	55.4±14.5	44.2±6.9	12.1±1.5	0.5±0.1	4.0±0.3	144.2±1.2	4.6±0.3	8.9±0.4	104.7±1.5	8.9±0.3
121±16	56.2±14.8	42.5±7.8	12.7±1.3	0.5±0.1	3.9±0.4	143.8±0.8	4.6±0.4	9.0±0.5	101.9±0.8	9.0±0.4
124±17	54.3±11.5	43.2±5.6	11.9±1.2	0.5±0.1	3.5±0.4	146.7±1.3	4.6±0.5	8.7±0.4	109.2±1.5	8.4±0.4
126±14	55.1±12.4	41.5±7.4	12.2±1.4	0.6±0.2	3.6±0.5	144.5±0.9	4.7±0.4	8.8±0.3	112.1±0.9	8.6±0.5
131±19	54.1±11.6	40.7±8.2	13.5±1.7	0.4±0.2	3.6±0.5	143.9±1.3	4.6±0.3	9.0±0.4	108.6±1.3	8.6±0.4
126±15	54.5±13.3	41.6±7.4	12.0±1.0	0.5±0.2	3.8±0.4	145.3±1.0	4.6±0.4	8.8±0.4	110.1±1.4	8.5±0.5
125±16	53.9±10.8	43.6±7.5	12.2±1.2	0.5±0.3	3.8±0.3	144.5±1.1	4.6±0.5	8.7±0.5	109.6±1.6	8.6±0.5

용매대조군과 비교하면 특기할만한 변화는 없었다 (Table V-1, V-2).

**회복종료시** - Helikit 40 mg/kg 투여군의 숫컷에서 갑상선의 편축성 상대중량 감소가 있었고, 200 mg/kg 투여군에서 부신의 편축성 상대중량 감소가 있었다. 그러나 암컷에서는 이러한 변화가 나타나지 않았다 (Table V-3, V-4).

**병리조직학적검사(Table 6, Photo, 1-3)**

**투여종료시** - 위(胃)의 경계연접막에서 경미한 비후가 Helikit 1000 mg/kg 투여군 숫컷 5예와 암컷 1예, 뇨소투여군 숫컷 6예와 암컷 2예에서 나타났다. Helikit 및 뇨소 투여군간을 비교하면 변화의 정도와 빈도간에 명확한 차이가 없었다.

위의외의 기관과 조직에서 특기할만한 변화를 인식할 수 없었다.

**회복종료시** - 위를 포함한 모든 기관이나 조직에서 이상이 나타나지 않았다.

**고 찰**

**급성독성시험**

Helikit을 5000 mg/kg 용량으로 흰쥐에 단회 경구투여한 결과 사망한 동물이 없었다. 또 일반상태, 체중, 섭취량 및 부검에서 투약에 기인된다고 인식될만한 변화가 없었다. 또한 뇨소 5000 mg/kg을 투여하여도 특별한 변화가 나타나지 않았다. 그러므로 뇨소중의 탄소(<sup>12</sup>C)를 안정동위원소 <sup>13</sup>C으로 치환하여도 단회투여시의 독성에 영향을 미치지 않았으므로 Helikit의 독성은 뇨소와 거의 같다고 사료된다. 따라서 Helikit의 LD<sub>50</sub>치는 5000

mg/kg체중이상으로서 저독성 물질이라 사료된다.

이와 같은 실험결과는 Shuzo Okasaki씨가 보고한 OPC-198(<sup>13</sup>C-urea : 일본 오스카제약) 2000 mg/kg체중 투여군에서 특이할만한 급성독성이 나타나지 않았다는 결과<sup>7)</sup>와 같았고, 또 FDA가 <sup>13</sup>C-urea는 5000~6000 mg/kg 투여에서 독성을 나타내지 않는다는 결론<sup>8)</sup>과 같았다.

**아급성독성시험**

Helikit 투여군에는 투여기간 및 회복기간을 통하여 사망동물이 전혀 없었고, 또 일반상태, 체중 및 사료 및 물섭취량에서 Helikit에 기인되었다고 인정되는 변화가 없었다. 투여기간 종료시 안과학적 검사, 청각검사, 뇨검사, 혈액학적검사, 혈액화학적검사, 기관중량, 부검 및 간조직 등 여러가지 조직조건에서 Helikit에 기인되었다고 인정되는 변화를 인정되지 않았다.

한편 조직병리학적 검사에서는 Helikit 1000 mg/kg투여군의 암, 수 흰쥐에서 위(胃) 경계연접막에 비후가 나타났으나 회복기에서는 나타나지 않았다. 이러한 변화는 뇨소 1000 mg/kg투여군에서도 같은 빈도로 나타나는 것으로 보아 뇨소중 탄소를 안정동위원소로 치환하므로써 나타나는 것이 아니라는 것을 보여 주었다. 이와같은 점막의 비후(thickening)는 위의 경계연에 국한되어 나타나고, 같은 형태의 편평상피를 갖는 식도나 기타 전위(前胃)영역의 점막에는 변화가 나타나지 않았다. 또한 고유위저선이 있는 선위(腺胃)에는 변화가 없었다. Helikit와 뇨소투여에 의해 유발된 위의 변화는 모든 설치류등에 특유부위에 국한되어 나타나지만 여기에 염증을 수반하지않고 반응성의 결핍에 의한 변화가 없었고, 독성평가상 특별한 문제가 되는 변화는

**Table V-1**—Absolute and relative organ weights in male rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks

Group	Dose(mg/kg)	n	Body weight (g)	Brain (g, g%)	Pituitary (mg, mg%)	Thyroid (mg, mg%)		Salivary gland (mg, mg%)		Thymus (mg, mg%)	Heart (g, g%)		
						(R)	(L)	(R)	(L)			(R)	(L)
Absolute	Control	10	204±20	1.67±0.03	12.4±1.5	5.50±1.7	5.30±1.9	10.80±3.5	149±21	147±19	296±40	282±60	0.71±0.08
	Helikit	40	203±18	1.64±0.04	12.2±1.4	5.27±2.6	5.07±1.5	10.34±3.1	150±26	146±23	296±36	284±72	0.65±0.06
	Helikit	200	205±15	1.70±0.07	12.5±1.8	5.33±3.0	5.53±4.1	10.86±4.3	150±20	150±32	300±34	299±56	0.70±0.12
	Helikit	1000	197±17	1.62±0.04	12.2±1.9	5.51±1.9	5.31±2.3	10.82±3.9	148±18	140±30	288±38	281±37	0.67±0.11
	Urea	1000	200±14	1.62±0.04	12.0±1.9	5.40±2.5	5.20±2.0	10.60±4.0	144±30	146±15	290±42	296±54	0.68±0.04
Relative	Control	10		0.82±0.03	6.1±0.6	2.7±0.4	2.6±0.9	5.3±1.0	73±8	72±9	145±23	138±31	0.35±0.02
	Helikit	40		0.81±0.04	6.0±0.5	2.6±2.2	2.5±1.6	5.1±2.3	74±6	72±2	146±12	140±20	0.32±0.01
	Helikit	200		0.83±0.05	6.1±0.7	2.6±1.2	2.7±1.0	5.3±2.0	73±7	73±4	146±12	146±28	0.34±0.02
	Helikit	1000		0.82±0.04	6.1±0.6	2.8±1.3	2.7±0.8	5.5±1.6	75±4	71±5	146±20	138±27	0.34±0.03
	Urea	1000		0.81±0.04	6.0±0.5	2.7±2.1	2.6±2.0	5.3±2.4	72±7	73±5	145±19	148±31	0.34±0.03

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

**Table V-1**—Continued

Lung (g, g%)	Liver (g, g%)	Spleen (g, g%)	Kidney		Adrenal		Testis				
			(R)	(L)	(R±L)	(R)	(L)	(R)	(L)	(R±L)	
0.73±0.09	6.77±1.02	0.49±0.32	0.78±0.08	0.73±0.06	1.51±0.11	31±4	31±6	62±8	0.78±0.05	0.80±0.06	1.58±0.10
0.77±0.13	6.29±0.48	0.47±0.13	0.69±0.06	0.73±0.04	1.42±0.10	32±6	37±2	69±6	0.73±0.02	0.79±0.07	1.52±0.08
0.74±0.08	6.77±0.21	0.45±0.30	0.70±0.03	0.62±0.04	1.32±0.09	33±5	35±1	68±4	0.74±0.05	0.76±0.03	1.50±0.08
0.69±0.12	6.30±0.69	0.49±0.06	0.77±0.04	0.71±0.02	1.48±0.05	30±4	33±4	63±7	0.73±0.02	0.79±0.04	1.52±0.06
0.70±0.14	6.80±0.92	0.48±0.03	0.80±0.03	0.86±0.07	1.66±0.15	30±5	36±3	66±8	0.76±0.02	0.78±0.09	1.54±0.14
0.36±0.03	3.32±0.16	0.24±0.04	0.38±0.04	0.36±0.02	0.76±0.05	15±2	15±4	30±8	0.38±0.02	0.39±0.03	0.77±0.03
0.38±0.07	3.12±0.28	0.23±0.02	0.34±0.02	0.36±0.01	0.70±0.07	16±3	18±5	34±10	0.36±0.05	0.38±0.01	0.74±0.04
0.36±0.04	3.33±0.35	0.28±0.06	0.34±0.01	0.33±0.30	0.67±0.03	16±5	17±7	33±9	0.35±0.02	0.38±0.03	0.75±0.07
0.35±0.03	3.21±0.05	0.25±0.02	0.39±0.05	0.40±0.02	0.79±0.06	15±3	17±2	32±6	0.37±0.04	0.39±0.02	0.76±0.05
0.35±0.05	3.42±0.19	0.24±0.03	0.40±0.03	0.36±0.02	0.76±0.02	15±4	18±3	33±9	0.38±0.03	0.39±0.05	0.77±0.09

**Table V-2**— Absolute and relative organ weights in female rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks

Sex	Group	Dose(mg/kg)	n	Body weight	Brain (g, g%)	Pitui-tary (mg, mg%)	Thyroid (mg, mg%)		Salivary gland (mg, mg%)		Thymus (mg, mg%)	Heart (g, g%)	
							(R)	(L)	(R)	(L)			
Absolute	Control	-	10	188±14 <sup>a)</sup>	1.50±0.02	11.3±1.4	6.5±1.4	6.6±1.5	13.1±2.6	180±14	184±13	346±69	0.71±0.08
	Helikit	40	10	190±17	1.48±0.04	11.2±1.6	7.2±1.6	6.8±1.3	14.0±2.7	188±16	184±13	348±72	0.76±0.08
	Helikit	200	10	187±18	1.42±0.05	11.0±1.7	7.5±1.3	6.9±1.5	14.4±2.7	187±17	176±13	337±65	0.73±0.09
	Helikit	1000	10	186±13	1.49±0.04	11.2±1.3	7.3±1.6	6.5±1.7	13.8±3.1	179±16	180±11	344±68	0.74±0.05
Relative	Urea	1000	10	183±14	1.48±0.06	10.8±1.2	6.8±1.8	6.2±1.3	13.0±2.9	183±14	176±13	344±66	0.68±0.05
	Control	-	10	0.80±0.06	6.0±0.4	3.6±0.7	3.5±0.4	7.0±1.0	96±7	98±7	194±16	184±35	0.38±0.03
	Helikit	40	10	0.78±0.04	5.9±0.5	3.8±0.9	3.6±0.6	7.4±1.3	95±9	97±7	192±15	183±38	0.40±0.04
	Helikit	200	10	0.76±0.03	5.9±0.6	4.0±0.5	3.7±0.7	7.7±1.1	97±10	97±8	194±17	180±40	0.39±0.05
Relative	Helikit	1000	10	0.80±0.07	6.0±0.5	3.9±1.0	3.5±0.6	7.4±1.5	96±9	97±9	193±16	185±41	0.40±0.02
	Urea	1000	10	0.81±0.06	5.9±0.4	3.7±0.9	3.4±0.8	7.1±1.5	95±10	96±12	191±20	188±39	0.37±0.02

<sup>a)</sup> Mean±S.D.

\* p<0.05, Significant difference from control.

**Table V-2**— Continued

Lung (g, g%)	Liver (g, g%)	Spleen (g, g%)	Kidney		Adrenal		Ovary			
			(R)	(L)	(R)	(L)	(R)	(L)		
0.88±0.05	5.75±0.59	0.51±0.08	0.77±0.06	0.73±0.07	1.50±0.11	32±6	34±5	38.2±8.9	37.0±8.3	75.2±17.3
0.91±0.06	5.89±0.63	0.49±0.06	0.76±0.05	0.80±0.05	1.50±0.10	34±5	34±6	37.6±7.8	38.6±8.2	76.2±15.6
0.94±0.05	5.74±0.49	0.49±0.06	0.80±0.07	0.79±0.06	1.54±0.12	32±4	30±5*	38.3±8.4	39.1±8.7	77.4±16.3
0.87±0.08	5.73±0.54	0.52±0.05	0.74±0.07	0.75±0.06	1.47±0.11	35±4	30±4	39.2±8.3	37.9±8.6	72.2±16.4
0.90±0.07	5.65±0.58	0.49±0.05	0.77±0.07	0.75±0.07	1.52±0.12	29±3	31±4	38.1±7.5	37.9±7.8	76.0±15.2
0.47±0.03	3.06±0.03	0.27±0.04	0.41±0.03	0.39±0.05	0.80±0.07	17±3	18±3	20.3±4.5	19.7±4.1	40.0±8.0
0.48±0.04	3.10±0.04	0.26±0.03	0.40±0.03	0.42±0.03	0.79±0.03	18±3	18±4	19.8±3.9	20.3±2.0	40.1±4.7
0.50±0.03	3.07±0.02	0.26±0.03	0.43±0.04	0.42±0.05	0.81±0.06	17±3	16±2*	20.5±2.6	20.9±4.2	41.4±4.6
0.47±0.05	3.08±0.03	0.28±0.03	0.40±0.04	0.39±0.03	0.79±0.05	19±2	16±4	21.1±2.6	20.4±3.6	41.5±4.1
0.49±0.04	3.09±0.03	0.27±0.04	0.42±0.06	0.41±0.05	0.83±0.09	16±4	17±3	20.8±3.2	20.7±2.0	41.5±4.2

Table V-3—Absolute and relative organ weights in male rats after 2 week recovery period following 4-week treatment with Helikit or urea

Sex	Group Dose(mg/kg)	n	Body weight (g)	Brain (g, g%)	Pituitary (mg, mg%)	Thyroid (mg, mg%)		Salivary gland (mg, mg%)		Thymus (mg, mg%)	Heart (g, g%)		
						(R)	(L)	(R)	(L)				
Absolute	Control	10	225±30	1.15±0.06	13.7±1.6	7.00±2.2	7.20±1.7	14.20±3.0	180±33	182±16	362±45	240±31	0.72±0.04
	Helikit	40	227±25	1.09±0.03	13.6±1.2	7.49±2.4	6.81±2.8	14.30±5.2	179±16	184±22	363±35	254±21	0.70±0.06
	Helikit	200	220±30	1.10±0.02	13.0±1.3	6.38±1.6	6.16±1.9	12.64±3.1	185±23	191±21	376±41	248±32	0.70±0.05
	Helikit	1000	221±36	1.08±0.04	13.3±1.0	6.63±2.0	7.07±0.4	13.70±3.0	181±27	175±14	356±39	243±47	0.73±0.04
Relative	Urea	1000	228±27	1.07±0.10	13.7±1.5	7.29±1.9	6.84±1.3	14.13±2.2	205±19	207±16	412±33	249±16	0.80±0.11
	Control	10		0.50±0.04	6.1±0.5	3.1±1.6	3.2±2.1	6.3±3.8	80±6	81±10	161±18	107±22	0.32±0.05
	Helikit	40		0.48±0.04	6.0±0.4	3.3±2.0	3.0±2.4	6.3±3.0	79±10	81±16	160±30	112±23	0.31±0.08
	Helikit	200		0.50±0.02	5.9±0.6	2.9±2.3	2.8±1.8*	5.7±4.1	84±9	87±8	171±35	113±20	0.32±0.02
Urea	Helikit	1000		0.49±0.03	6.0±0.4	3.0±1.5	3.2±1.0	6.2±2.9	82±12	79±11	161±22	110±18	0.33±0.07
	Helikit	1000		0.47±0.04	6.1±0.5	3.2±1.4	3.0±0.9	6.2±5.1	90±7	91±14	181±18	109±24	0.35±0.11

a) Mean±S.D.

\* p&lt;0.05, Significant difference from control.

Table V-3—Continued

Lung (g, g%)	Liver (g, g%)	Spleen (g, g%)	Kidney		Adrenal		Testis			
			(R)	(L)	(R)	(L)	(R)	(L)		
0.86±0.11	6.95±1.42	0.58±0.22	0.86±0.08	0.83±0.14	36±4	38±6	74±16	0.86±0.08	0.83±0.07	1.69±0.15
0.93±0.08	6.86±1.05	0.43±0.28	0.91±0.05	0.89±0.06	30±6	34±2	64±10	0.86±0.08	0.83±0.09	1.69±0.18
0.75±0.15	6.29±0.56	0.44±0.35	0.90±0.11	0.88±0.04	31±2	33±5	62±9	0.80±0.09	0.82±0.10	1.62±0.14
0.82±0.09	6.85±0.89	0.55±0.19	0.86±0.09	0.77±0.18	1.63±0.24	35±4	68±20	0.82±0.07	0.79±0.08	1.61±0.14
0.96±0.17	6.70±0.57	0.55±0.47	0.86±0.07	0.86±0.09	1.68±0.20	34±1	68±13	0.90±0.10	0.86±0.07	1.76±0.15
0.38±0.05	3.09±0.15	0.26±0.05	0.38±0.02	0.37±0.03	16±2	17±4	33±12	0.38±0.04	0.37±0.04	0.75±0.08
0.41±0.11	3.02±0.28	0.19±0.03	0.40±0.08	0.39±0.10	13±6*	15±8	28±9	0.38±0.04	0.36±0.04	0.74±0.08
0.34±0.06	2.86±0.22	0.20±0.05	0.41±0.06	0.40±0.09	14±6	14±3	28±10	0.36±0.03	0.38±0.02	0.74±0.05
0.37±0.07	3.10±0.17	0.25±0.02	0.39±0.01	0.35±0.03	15±2	16±3	31±5	0.37±0.03	0.39±0.03	0.76±0.07
0.42±0.05	2.94±0.12	0.24±0.04	0.38±0.10	0.38±0.06	15±5	15±4	30±16	0.39±0.03	0.38±0.03	0.77±0.06

**Table V-4**— Absolute and relative organ weights in female rats after 2 week recovery period following 4-week treatment with Helikit or urea

Sex	Group	Dose(mg/kg)	n	Body weight (g)	Brain (g. g%)	Pituitary (mg. mg%)	Thyroid (mg. mg%)		Salivary gland (mg. mg%)		Thymus (mg. mg%)	Heart (g. g%)		
							(R)	(L)	(R)	(L)				
Absolute	Control	-	10	210±21	1.55±0.07	12.8±1.2	6.51±1.3	7.14±1.4	14.07±2.6	179±27	183±25	362±50	294±61	0.76±0.04
	Helikit	40	10	214±18	1.56±0.06	13.3±1.3	5.99±2.0	6.85±1.7	13.48±3.4	184±23	178±23	362±45	306±57	0.77±0.06
	Helikit	200	10	205±15	1.52±0.05	12.1±1.5	6.97±1.5	6.77±1.5	12.50±3.4	172±20	164±19	336±39	309±56	0.70±0.05
	Urea	1000	10	209±13	1.59±0.06	12.7±1.0	6.69±1.8	6.48±1.7	13.87±3.5	178±24	190±23	368±45	293±45	0.75±0.07
Relative	Control	-	10	214±12	1.61±0.10	12.8±1.1	6.63±1.9	6.42±1.3	13.70±3.6	180±29	169±27	349±45	308±50	0.75±0.03
	Helikit	40	10	0.74±0.03	6.1±0.5	3.1±0.6	3.4±0.4	6.7±0.7	85±12	87±13	172±22	140±27	0.36±0.02	
	Helikit	200	10	0.73±0.04	6.2±0.6	2.8±0.6	3.2±0.6	6.3±1.0	86±9	83±10	169±19	143±25	0.36±0.03	
	Urea	1000	10	0.74±0.02	5.9±0.4	3.4±0.7	3.3±0.8	6.1±1.1	84±6	80±8	164±14	148±30	0.34±0.02	
Relative	Control	-	10	0.76±0.03	6.1±0.6	3.2±0.4	3.1±0.7	6.7±1.2	85±9	90±9	176±17	140±28	0.36±0.04	
	Helikit	40	10	0.75±0.04	6.0±0.3	3.1±0.5	3.0±0.6	6.4±0.8	84±9	82±10	163±19	144±31	0.35±0.03	
	Helikit	200	10	0.75±0.04	6.0±0.3	3.1±0.5	3.0±0.6	6.4±0.8	84±9	82±10	163±19	144±31	0.35±0.03	
	Urea	1000	10	0.75±0.04	6.0±0.3	3.1±0.5	3.0±0.6	6.4±0.8	84±9	82±10	163±19	144±31	0.35±0.03	

<sup>a</sup> Mean±S.D.

**Table V-4**— Continued

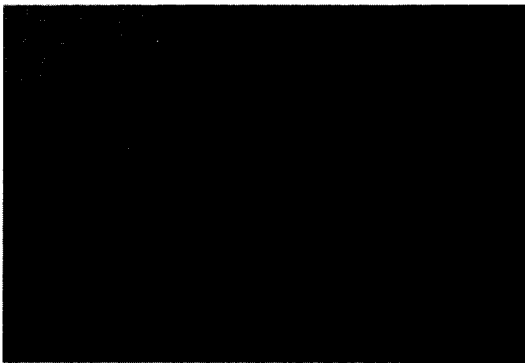
Lung (g. g%)	Liver (g. g%)	Spleen (g. g%)	Kidney		Adrenal		Ovary				
			(R)	(L)	(R)	(L)	(R)	(L)			
0.97±0.05	6.43±0.03	0.55±0.04	0.73±0.07	0.80±0.06	1.53±0.11	32±4	36±3	68±5	38.2±10.5	39.9±12.1	76.0±20.5
0.96±0.06	6.51±0.04	0.54±0.05	0.77±0.05	0.83±0.05	1.60±0.09	32±3	32±2	64±6	37.0±9.8	38.1±10.7	75.1±15.8
0.96±0.05	6.29±0.07	0.55±0.03	0.76±0.06	0.74±0.06	1.53±0.12	33±4	35±4	68±5	39.2±10.2	38.3±9.6	77.5±14.1
0.94±0.09	6.37±0.04	0.54±0.06	0.77±0.03	0.77±0.07	1.54±0.13	31±3	33±5	64±4	38.5±11.1	36.8±10.5	73.6±18.3
0.94±0.07	6.50±0.05	0.54±0.03	0.81±0.03	0.86±0.06	1.67±0.12	36±4	36±2	72±3	37.5±9.2	40.1±10.0	76.0±19.5
0.46±0.02	3.06±0.05	0.26±0.03	0.35±0.03	0.38±0.02	0.73±0.04	15±2	17±2	32±4	18.2±18	18.0±18	36.2±6.1
0.45±0.02	3.04±0.06	0.25±0.03	0.36±0.01	0.39±0.03	0.75±0.06	15±2	15±2	30±2	17.3±11	17.8±13	35.1±4.6
0.47±0.02	3.07±0.04	0.27±0.02	0.37±0.02	0.36±0.02	0.75±0.07	16±2	17±2	33±3	19.1±8	18.7±10	37.8±5.8
0.45±0.03	3.05±0.03	0.26±0.04	0.37±0.01	0.37±0.02	0.74±0.06	15±2	16±1	31±2	18.4±10	17.6±11	35.2±3.2
0.45±0.02	3.04±0.04	0.25±0.03	0.38±0.03	0.36±0.03	0.74±0.05	17±2	17±1	34±3	17.5±9	19.2±9	38.5±4.0



**Table VI**—Histopathological findings in male and female rats treated orally with Helikit or urea for 4 weeks

Sex	Group	Dose (mg/kg)	n	Stomach Thickening of mucosa in limiting		
				-	±	+
Male	Control	-	10	10	-	-
	Helikit	40	10	10	-	-
	Helikit	200	10	10	-	-
	Helikit	1000	10	5	5	-
	Urea	1000	10	4	6	-
Female	Control	-	10	10	-	-
	Helikit	40	10	10	-	-
	Helikit	200	10	10	-	-
	Helikit	1000	10	9	1	-
	Urea	1000	10	8	2	-

-: No remarkable change, ±: Slight, +: Mild



**Photo. 1**—Stomach of control male rat. No remarkable changes in the limiting ridge (H & E stain, ×40).



**Photo. 2**—Stomach of a male rat treated with Helikit at a dose of 1000 mg/kg/day for 4 weeks. Thickening of mucosa in the limiting ridge is seen (H & E stain, ×40).



**Photo. 3**—Stomach of a male rat treated with urea at a dose of 1000 mg/kg/day for 4 weeks. Thickening of mucosa in the limiting ridge is also seen (H & E stain, ×40).

없었다고 사료된다.

또한 위경계선에 나타난 변화는 2주간의 회복기간의 휴약으로 소실되고, 속히 쇠퇴되므로 가역적변화이다. 회복기간 종료시의 검사에서는 용매대조군과 비교하여 분절핵 백혈구 비율(숫컷), 백혈구수 감소(암컷), AST 및 LDH활성의 저하, 인지질의 증가 및 A/G ratio의 저하(이상 모두 암컷), 부신중량의 증가(숫컷) 및 난소중량 감소가 있었다. 그러나 이러한 변화는 투여기간 종료시에는 정상으로 회복되는 것으로 보아 이들은 생리적 변동내의 변화라고 생각되고 형태학적인 변화가 수반되지 않는 것으로 보아 특기할만한 변화가 아니라고 사료된다.

노소투여군에서도 Helikit투여군과 위에서 언급한 위의 경계연에 나타나는 변화이외는 특기할만한 변화는 인정되지 않았다.

이상의 결과로 보아 Helikit을 흰쥐에 4주간 강제경구투여한 결과 1000 mg/kg 투여군에서 위의 경계연에 경미한 점막의 비후가 나타났다. 그러나 이러한 위의 변화는 설치류등에서 특유 부위의 국한성 변화가 있었으나 독성평가상 특히 문제가 되는 변화가 아니라고 사료된다. 본 실험에서 Helikit의 무독성량은 1000 mg/kg/day 이상이라고 판단된다. 한편 위의 변화는 노소투여량과 같은 정도로 인정되는 변화이므로 노소중의 탄소를 <sup>13</sup>C로 치환하여도 독성에서는 차이가 거의 없는 것으로 보여진다.

노소의 탄소에 안정동위원소로 치환한 Helikit(<sup>13</sup>C-urea)는 저독성물질로서 *Helicobacter pylori* 감염에 의한 소화성 궤양의 진단목적으로 Breathing Test<sup>3-6)</sup>로

인체에서 이용하여도 독성이 없을 것으로 사료되고, 또  $^{13}\text{C}$ 는 인체내 뿐만 아니라 음식물, 대기중에 탄소함유 화합물에도 약 1.0% 정도 함유되어 있어 안전한 물질로 사료된다.<sup>8,9)</sup>

## 결 론

암·수의 SD계 흰쥐에서 Helikit(노소중 탄소를 안정동위원소로 치환한  $^{13}\text{C}$ -노소)의 단회경구투여 및 4주간 반복경구투여에 의한 급성 및 아급성 독성시험을 노소를 비교대조하여 시험한 결과는 다음과 같았다.

**단회투여시험** - Helikit 및 노소를 각각 5000 mg/kg의 용량으로 경구투여한 결과 사망한 동물이 없었으며, 일반상태, 체중, 섭취량 및 부검에서 이상이 나타나지 않았으며, 14일간 관찰한 후 노검사에서 이상 나타나지 않았다.

**반복투여시험** - Helikit 40, 200 및 1000 mg/kg/day의 용량과 노소 1000 mg/kg/day를 4주간 반복경구투여한 결과 사망한 동물이 없었으며, 일반상태, 섭취량, 안과학적검사, 청각검사, 뇨검사, 혈액학적검사, 혈액화학적검사, 부검 및 기관중량에서도 Helikit 및 노소 투여에 기인하였다고 인정되는 변화가 나타나지 않았다. 병리조직학적 검사에서도 Helikit 1000 mg/kg 투여군 및 노소 1000 mg/kg투여군에서 위의 경계연 점막에서 경미한 비후가 있었다. 그러나 위(胃)의 경계연은 설치류 동물에서 특유 부위에서 나타나지만 독성평가상 특이한 문제가 되는 변화라고 생각되지 않는다. 그러나 이러한 위의 변화는 2주간의 휴약 종료시에는 관찰되지 않음으로서 이 병변은 가역적 변화(reversible injury)로서 문제되는 것이 아니었다.

이상의 실험 결과로 보아 노소의 탄소를 안정동위원소로 치환한  $^{13}\text{C}$ -urea는 LD<sub>50</sub>치가 5000 mg/kg 이상으로 저독성 물질이며, 1일 1000 mg/kg씩 4주간 반복경구투여하여도 아급성독성이 나타나지 않는 물질이며, 그 독성은 비교대조약품인 노소( $^{13}\text{C}$ -urea)와 같은 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 (주)히포의료기렌드의 연구지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) Logan, R. P. H., Polson, R. J., Misiewicz, J. J., Rao, G., Karim, N. Q., Newell, D. and Johnson, P. : Simplified single sample  $^{13}\text{C}$ Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*; comparison with histology, culture, and ELISA serology. *Gut* **32**, 1461 (1991).
- 2) Martin J. Blaser. : The bacteria behind ulcers. *Scientific American*. February, 104 (1996).
- 3) Dill, S., Payne-James, J. J., Misiewicz, J. J., Grimble, G. K., McSwiggan, D., Pathak K and Wood, A. J. : Evaluation of  $^{13}\text{C}$ -urea breath test in detection of *Helicobacter pylori* and in monitoring the effect of tripotassium dicitratobismutate in non-ulcer dyspepsia. *Gut* **31**, 1237 (1990).
- 4) Dune, T. Smoot and Franak, A. Hamilton : Summary of the National Institutes of Health Consensus Development Conference on *Helicobacter pylori*, *Gastrointestinal Today's*, **4**(2), 1 (1995).
- 5) Eggers, Robert H., Kulp, A., Tegeler R., Ludtke F. E., Lepsien, G., Meyer B. and Bauer F. E. : A methodological analysis of the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infections : high sensitivity and specificity within 30 min using 75 mg of  $^{13}\text{C}$ -urea. *Eur. J. Gastro. Hepatol.*, **2**, 437 (1990).
- 6) Patel, P., Mendall, M. A., Carrington, D., Carrington, D., Strachan, D. P., Leatham E., Molineaus N., Levy J., Blackston C., Seymour C. A., Camm, A. J. and Northfield T. C. : Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamidia pneumoniae* infections with colnary heart disease and cardiovascular risk factors, *BMJ*, **311**, 16, 711 (1995).
- 7) Okasaki, S. : Single dose and 4-week repeated dose toxicity studies of OPC-198 in rats, *Jpn. Pharmacol. Ther.* **24**(4), 759 (1996).
- 8) Seeththaler, K., *FDA Talk Paper of  $^{13}\text{C}$ -urea*, P6 (1996).
- 9) Schoeller, D. A., Klein, P. D., Warkinson, J. B., Heim, T., and MacLean, W. C. :  $^{13}\text{C}$  abundances of nutrients and the effect of variations in  $^{13}\text{C}$  isotope abundances of test meals formulated for  $^{13}\text{CO}_2$  breath tests. *Am. J. Clinical Nutrients*, **33**, 2375 (1980).