

## SD랫드에서 (R)-JG-381의 단회경구독성시험

이상호 · 오우용 · 김종춘<sup>1</sup> · 주상섭<sup>2</sup> · 박형근<sup>2</sup> · 함광수<sup>3</sup> · 조장섭<sup>3</sup> · 이선미\*

성균관대학교 약학대학, <sup>1</sup>한국화학연구원 안전성연구센터,

<sup>2</sup>서울대학교 약학대학, <sup>3</sup>(주)태평양제약 중앙연구소

## Single Oral Toxicity of (R)-JG-381 in Sprague-Dawley Rats

Sang-Ho LEE, Woo-Young OH, Jong-Chun KIM<sup>1</sup>, Sang-sup JEW<sup>2</sup>, Hyeung-geun PARK<sup>2</sup>,  
Kwang-Su HAM<sup>3</sup>, Jang-Sup CHO<sup>3</sup> and Sun-Mee LEE\*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

<sup>1</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

<sup>3</sup>Central Research Institute, Pacific Pharm. Co., Ltd., Anseong 456-370, Korea

(Received December 4, 2001 ; accepted February 20, 2002)

**ABSTRACT** – A single administration toxicity of (R)-JG-381 was studied in Sprague-Dawley rats of both sexes. In this study, rats were administered orally with dose of 50, 100, 200, 400 and 800 mg/kg of (R)-JG-381. We daily examined number of deaths, clinical signs, body weights and gross findings for 14 days after (R)-JG-381 administration. When we administered different doses of 100, 200, 400 and 800 mg/kg, we found 5, 3, 5 and 5 male rats and 1, 4, 4 and 5 female rats dead within 1 day after administration, respectively. Some clinical signs(decrease of locomotor activity, decreased respiration rate, lacrimation, prone position) were observed during the experimental period. Our findings suggest that oral LD<sub>50</sub>s(95% confidence limit) for male and female rats are 93.8 mg/kg (28.8~161.6 mg/kg) and 166.3 mg/kg (89.1~284.8 mg/kg), respectively.

**Key words** □ (R)-JG-381, antidiabetic, acute toxicity, LD<sub>50</sub>, rat

당뇨병은 세계적인 평균 수명의 연장과 식생활의 변화로 그 발생빈도가 꾸준히 증가하고 있는 난치병 중의 하나이다. 당뇨병 치료제로는 인슐린이 가장 이상적이고 효능적이거나 그 지속시간이 짧고 경구적으로는 작용을 나타내지 못하므로 주사제로 사용하여야 하는 단점이 있다.

당뇨병은 생체내 주 에너지원인 당의 대사 장애가 주요 인이며 또한 생체내 또 다른 에너지원인 지방의 대사와 함께 조절된다. 지방은 지방산의 산화(fatty acid oxidation)를 통해 생체내 에너지원으로 이용된다. 최근 이 지방산의 산화를 억제하여 혈당을 조절할 수 있음이 밝혀졌다(Collier 등, 1993). 한편 Ho 등(1986)은 글리시드산(alkylglycidic acid)유도체를 합성하였고 이들이 흰쥐의 혈당을 낮출 뿐 아니라 생체내 실험에서 지방산 산화를 현저히 억제하며 미토콘드리아 내 지방산 산화에 필요한 요소인 carnitine palmitoyl transferase(CPT) 활성을 억제함을 보고하였다. 즉 지방산 산화의 억제는 CPT활성을 억제함으로써 가능하며, 이는 CPT 억제제가 혈당을 저하시킬 수 있음을 의미한다

(Martin 등, 1991). 이러한 기전의 경구용 혈당강하제로 개발이 시도된 대표적인 물질로는 etomoxir(ethyl 2-(6-(4-chlorophenoxy) hexyl) oxirane-2-carboxylate, Byk Gulden, Constance, Germany; Fig. 1)가 있으며(Ratheiser 등, 1991; Wolf, 1992) 이의 입체이성질체 중 R form이 혈당강하효과가 더 크다고 한다(Agius 등, 1991). 그러나 etomoxir의 경우 심장비독성이 있는 것으로 확인되었고(Turcani와 Rupp, 1999), 이로 인해 임상시험 중 당뇨치료제로서의 개발이 중단되었다. 그러므로 본 연구자들은 글리시드산계 화합물이 가진 특징에 착안하여 이의 여러 유도체들을 합성하였고 그중 우수한 혈당강하작용이 있는 JG-381(ethyl 2-[6-(2-thienylmethoxy) hexyl] oxirane-2-carboxylate)을 얻게

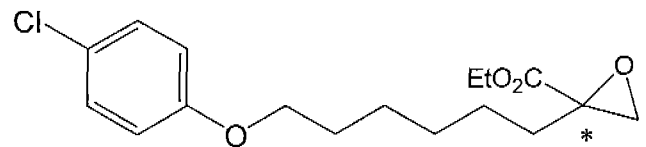


Fig. 1. Chemical structure of etomoxir(Byk Gulden, Constance, Germany). \*Chiral center.

\*To whom correspondence should be addressed.

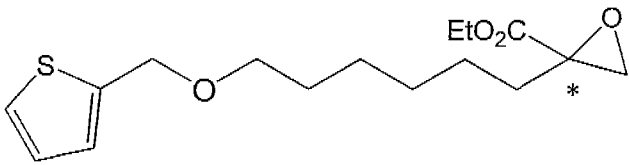


Fig. 2. Chemical structure of JG-381 ( $C_{16}H_{24}O_4S$ , M.W. 312). \*Chiral center.

되었다(Fig. 2). 또한 최근에는 JG-381의 입체이성질체 중 R form을 선택적으로 합성하였고, racemic form보다 우수한 혈당강화작용이 있음을 관찰하였다.

따라서 본 연구실에서는 새로운 경구용 당뇨병치료제로 개발중인 JG-381의 단회경구독성시험 결과(Oh 등, 2001)와 더불어 (R)-JG-381의 흰쥐에서 치사율 및 독성증상 등의 안전성 자료를 확보하기 위하여 의약품등의 독성시험기준(식품의약품 안전청 고시 제 1999-61호) 및 비임상시험 관리기준(식품의약품안전청고시 제 2000-63호)에 따라 단회경구독성시험을 실시하였다.

## 실험방법

### 시험물질

본 연구의 시험물질인 (R)-JG-381은 서울대학교 약학대학 박형근 교수로부터 HPLC 분석결과 98.5%이상인 시험물질을 제공받았으며, 약간 미황색을 띠는 투명한 oil상의 액체로서 실온에 보관하여 시험에 사용하였다. 메체 대조군은 (R)-JG-381의 현탁용매로 사용된 0.5% CMC(carboxymethyl cellulose) 용액을 사용하였다.

### 실험동물 및 사육환경

4주령의 흰쥐를 (주) 바이오제노믹스로 부터 SPF(특정병원체부재) Sprague-Dawley계 흰쥐를 공급받아 온도  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $50 \pm 10\%$  및 150~300 Lux의 조도로 12시간 간격(오전 8시~오후 8시)으로 조절되는 동물실험실에서 순화, 검역기간 및 군분리 후 투여 관찰기간 동안 스테인레스 제 망사육상자(220W × 410L × 200H mm)에 사육상자당 5마리 이하로 수용하였다. 6일간 순화사육 기간에 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 사용하였다. 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료(주))를 자유 섭취시켰으며, 음수는 자외선살균기로 소독한 상수도수를 자유롭게 섭취시켰다.

### 투여량 및 시험군의 구성

순화기간중 건강하다고 판정된 동물에 대하여 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용, 군분리를 실시하였다. 동물의 개체식별은 피모색소마킹법 및 개체식별카드 표시법으로 실시하였다. 투여량은 240,

360, 540 및 810 mg/kg 용량으로 암수 각각 5마리씩에게 단회 투여한 결과 수컷은 모든 용량의 전 동물이 사망하였고, 암컷은 상기한 투여군의 순으로 각각 1례, 5례, 3례 및 4례가 사망하여 성차이 뿐만 아니라 개체차이가 매우 크게 나타났다. 따라서 본 시험에서는 최고 용량을 800 mg/kg으로 하고 공비 2의 간격으로 아래의 4용량 400, 200, 100, 50 mg/kg을 설정하였다.

### 시험물질의 조제 및 투여

(R)-JG-381를 0.5% CMC 용액에 현탁하여 최고 용량군의 시험물질을 조제하였고, 이를 다시 단계별로 희석하면서 아래 용량의 시험물질을 조제하였다. 시험물질의 투여는 하룻밤 절식시킨 흰쥐에게 경구투여용 바늘을 이용하여 1회 강제 경구투여 시켰다. 투여 용량은 투여 당일 측정된 체중을 기준으로 산출하였다.

### 관찰 및 검사항목

#### 일반증상 및 사망동물의 관찰

모든 시험동물에 대하여 투여일에는 투여후 6시간 동안 매 시간, 투여 익일부터 14일까지는 매일 1회 일반증상의 변화, 독성증상 및 사망동물의 유무를 관찰하였다. 14일간 일반상태의 변화와 중독증상, 사망동물의 유무 및 시험물질에 의해 나타날 가능성이 있는 증상에 대하여 주의하여 관찰하였다.

#### 체중측정

모든 시험동물의 체중은 시험물질 투여개시전과 투여 후 1, 3, 7 및 14일에 측정하였다.

#### 부검

시험 종료후 모든 생존동물을  $\text{CO}_2$  가스마취하에서 개복하여 방혈치사시킨 후 육안적으로 모든 내부장기의 이상유무를 관찰하였다.

#### 통계학적 분석

시험기간중의 일반증상과 체중의 변화는 Labcat module을 이용하여 표시하였으며, 반수치사량인  $\text{LD}_{50}$  값은 SAS 프로그램(SAS/STAT User's Guide Version 6.12, Cary, NC, USA)에서 제공되는 Probit법을 이용하여 산출하였다.

## 실험결과

### 사망예 및 $\text{LD}_{50}$ 값

시험기간 중 사망동물을 관찰한 결과, 100 mg/kg 용량에

서 수컷 전례와 암컷 1례, 200 mg/kg 용량에서 수컷 3례와 암컷 4례, 400 mg/kg 용량에서 수컷 전례와 암컷 4례, 그리고 800 mg/kg 용량에서 암수 전례가 투여당일 또는 투여 익일에 사망하였다(Table I). 상기 결과를 Probit법을 이용하여 LD<sub>50</sub>값을 구한 결과 수컷은 93.8(95% 신뢰한계: 28.8~161.6 mg/kg), 암컷은 166.3(95% 신뢰한계: 89.1~284.8 mg/kg)으로 산출되었다.

### 일반증상

일반증상 관찰시 시험물질의 투여에 기인된 이상소견은 자발운동저하(decrease of locomotor activity), 호흡수 감소 (decreased respiration rate), 유루(lacrimation) 및 복 와위 (prone position)였으며, 100 mg/kg 이상 투여군의 암수동물에서 투여당일에만 용량의존적으로 관찰되었고, 생존동물의 경우 투여익일부턴 이상소견이 관찰되지 않았다(Table II).

### 체중변화

체중변화를 관찰한 결과, 최저용량인 50 mg/kg 투여군의 암수동물은 전 시험기간동안 정상적인 체중증가를 나타내었다. 반면, 100 mg/kg 이상 투여군의 암수동물에서는 투여 후 1일째의 체중이 최저용량군에 비해 체중증가의 억제가 나타났으며, 투여 후 3일째부터는 정상적인 체중증가가 관찰되었다(Table III).

### 부검소견

시험기간중 사망한 사망동물과 투여 후 14일째에 실시한 생존동물의 부검시 암수 모든 투여군의 동물에서 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다(Table IV).

## 고 찰

(R)-JG-381의 단회 경구투여에 의한 독성을 관찰하기 위

**Table I.** Mortality of rats orally treated with (R)-JG-381

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment															Final mortality <sup>a)</sup>	
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5
	200	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3/5
	400	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5
	800	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5
Female	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5
	100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5
	200	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/5
	400	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/5
	800	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5

<sup>a)</sup> Values are expressed as dead number/total number of animals.

**Table II.** Clinical signs in rats orally treated with (R)-JG-381

Sex	Signs observation	Dose (mg/kg)				
		50	100	200	400	800
Male	Appears normal	5/5 <sup>a)</sup>	5/5	5/5	5/5	5/5
	Prone position	0/5	5/5	0/5	1/5	4/5
	Decrease of locom. activity	0/5	5/5	4/5	4/5	1/5
	Decreased respiration rate	0/5	4/5	0/5	3/5	4/5
	Lacrimation	0/5	3/5	2/5	3/5	5/5
	Death	0/5	5/5	3/5	5/5	5/5
Female	Appears normal	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
	Prone position	0/5	0/5	2/5	4/5	4/5
	Decrease of locom. activity	0/5	1/5	3/5	1/5	1/5
	Decreased respiration rate	0/5	0/5	2/5	3/5	4/5
	Lacrimation	0/5	1/5	5/5	4/5	4/5
	Death	0/5	1/5	4/5	4/5	5/5

<sup>a)</sup> No. of animals with the sign/No. of animals examined

**Table III.** Body weight of rats orally treated with (R)-JG-381

Sex	Dose (mg/kg)	Days after treatment				
		0	1	3	7	14
Male	50	92.6 ± 4.0(5) <sup>a)</sup>	106 ± 2.7(5)	123.7 ± 4.2(5)	164.4 ± 6.0(5)	224.0 ± 7.5(5)
	100	92.5 ± 3.2(5)	— <sup>b)</sup>	—	—	—
	200	93.4 ± 5.2(5)	100.7 ± 8.9(2)	125.3 ± 11.5(2)	161.71 ± 5.1(2)	227.5 ± 17.5(2)
	400	92.1 ± 3.5(5)	—	—	—	—
	800	91.6 ± 3.3(5)	—	—	—	—
Female	50	91.0 ± 2.8(5)	108.5 ± 2.6(5)	124.4 ± 2.3(5)	145.1 ± 3.8(5)	172.4 ± 5.0(5)
	100	90.2 ± 3.5(5)	103.9 ± 2.6(4)	124.3 ± 2.1(4)	145.3 ± 3.0(4)	174.8 ± 5.3(4)
	200	92.6 ± 5.8(5)	98.5(1)	118.0(1)	139.8(1)	164.7(1)
	400	92.7 ± 3.1(5)	104.4(1)	125.1(1)	143.1(1)	163.4(1)
	800	92.4 ± 2.9(5)	—	—	—	—

<sup>a)</sup> (n)=number of animals, <sup>b)</sup> - Data unavailable

**Table IV.** Gross observation of necropsy in rats orally treated with (R)-JG-381

Sex	Dose (mg/kg)	Observation	Frequency	
			Decedents	Survivors
Male	50	N.G.F. <sup>a)</sup>	0/0	5/5 <sup>b)</sup>
	100	N.G.F.	5/5	0/0
	200	N.G.F.	3/3	2/2
	400	N.G.F.	5/5	0/0
	800	N.G.F.	5/5	0/0
Female	50	N.G.F.	0/0	5/5
	100	N.G.F.	1/1	4/4
	200	N.G.F.	4/4	1/1
	400	N.G.F.	4/4	1/1
	800	N.G.F.	5/5	0/0

<sup>a)</sup>No gross Findings. <sup>b)</sup>No. of animals with the sign/No. of animals examined

하여 50, 100, 200, 400 및 800 mg/kg 용량으로 암수 각각 5마리씩의 SD 계통의 흰쥐에게 1회 경구투여한 후 14 일간의 사망률, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다.

사망동물은 암수 모두 100 mg/kg 이상 투여군의 동물에서 투여당일 또는 투여익일에만 나타났고, 투여 후 2일째부터 시험종료시까지 관찰되지 않았다. 일반증상을 관찰한 결과 100 mg/kg 이상의 투여군에서 투여당일에만 일시적으로 자발운동저하, 호흡수 감소, 유루 및 복외위 등의 전신적인 독성소견들이 용량의존적으로 나타난 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 독성증상으로 사료된다. 앞서 언급한 바와 같이 본 시험물질의 투여에 기인하여 나타난 사망동물과 독성소견들은 투여당일 또는 투여익일에만 나타났고, 투여 후 2일째부터는 어떠한 독성소견도 인정되지 않은 것으로

로 보아 본 시험물질의 1회 투여로 인한 지연독성은 없을 것으로 사료된다.

100 mg/kg 이상 투여군의 암수동물에서 투여 후 1일째에 관찰된 일시적인 체중증가의 억제 또한 시험물질의 투여에 기인된 독성영향으로 사료되며, 체중증가의 억제 역시 투여 후 3일째부터는 인정되지 않았다. 한편, 사망동물과 생존동물의 부검시 암수 모든 투여군의 동물에서 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 암수 SD 흰쥐에 있어서 (R)-JG-381의 단회 경구투여는 자발운동저하, 호흡수 감소, 유루, 복외위, 체중의 증가억제 및 사망을 일으키지만 특이적인 부검소견은 발견되지 않았으며, 암수 흰쥐에게 단회 경구투여로 인한 LD<sub>50</sub>값은 수컷이 93.8(95% 신뢰한계:28.8~161.6 mg/kg) mg/kg, 암컷이 166.3(95% 신뢰한계:89.1~284.8 mg/kg) mg/kg으로 산출되었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1999년도 보건 의료기술연구개발사업(HMP-98-D-7-0018)의 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

## 참고문헌

- Agius, L., Meredith, E. J. and Sherratt, H. S. (1991). Stereospecificity of the inhibition by etomoxir of fatty acid and cholesterol synthesis in isolated rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* **9**, 1717-1720.
- Collier, G. R., Traianedes, K., Macaulay, S. L. and O'Dea, K. (1993). Effect of fatty acid oxidation inhibition on glucose metabolism in diabetic rats. *Horm. Metab. Res.* **25**, 9-12.
- Ho, W., Tutwiler, G. F., Cottrell, S. C., Morgans, D. J., Tarhan, O. and Mohrbacher, R. J. (1986). Alkylglycidic acids: potential new hypoglycemic agents. *J. Med. Chem.* **29**, 2184-2190.

- Martin, C., Odeon, M., Cohen, R. and Beylot, M. (1991). Mechanisms of the glucose lowering effect of a carnitine palmitoyl transferase inhibitor in normal and diabetic rats. *Metabolism*. **40**, 420-427.
- Oh, W. Y., Lee, S. H., Kim, H. J., Jew, S. S., Park, H. G., Ham, K. S., Cho, J. S. and Lee, S. M. (2001). Single oral toxicity of JG-381 in rats. *J Appl. Pharmacol.* **9**, 231-235.
- Ratheiser, K., Schneeweiss, B., Waldhausl, W., Fasching, P., Korn, A., Nowotny, P., Rohac, M. and Wolf, H. P. (1991). Inhibition by etomoxir of carnitine palmitoyltransferase I reduces hepatic glucose production and plasma lipids in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*. **40**, 1185-1190.
- Turcani, M. and Rupp, H. (1999). Modification of left ventricular hypertrophy by chronic etomoxir treatment. *Br. J. Pharmacol.* **126**, 501-507.
- Wolf, H. P. (1992). Possible new therapeutic approach in diabetes mellitus by inhibition of carnitine palmitoyltransferase I (CPT1). *Horm. Metab. Res. Suppl.* **26**, 62-67.
- 식품의약품안전청(1999). 의약품등의 독성시험기준, 식품의약품안전청고시 제1999-61호
- 식품의약품안전청(2000). 비임상시험 관리기준, 식품의약품안전청고시 제2000-63호