

시험물질 투여 가이드

(Good Practice Guide for Administration of Substances)

출처 : [J Applied Toxicol 21:15-23, 2001](#)

1. 서론

안전성이 확보되어 있지 않는 미지의 화학물질을 실험동물에 적용하는 독성시험은 과학적 연구를 위해서 뿐만 아니라, 해당 물질의 안전성을 확보하여 임상시험을 실시하기 위해서도 필요불가결하다. 한편, 제약기업들은 동물애호적인 측면과 과학적 연구의 모두를 만족시키기 위하여 오랫동안 투여방법의 기준을 설정하기 위한 검토를 진행해왔다 (Hull, 1995). 신약개발을 위해 전임상단계에서 실시되는 안전성평가지험에서는 해당 물질의 안전역을 확립하기 위하여 물질을 여러 단계의 용량으로 투여하는 것이 일반화 되어있다. 따라서, 여기서는 동물실험에 널리 사용되는 각종의 실험동물에 대한 투여용량의 지침을 제공하고자 한다.

2. 투여 용량

가장 널리 이용되고 있는 동물종을 대상으로 각 투여경로별 투여용량을 표 1에 기재하여 두었다. 여기에 제시된 수치들은 기존에 발표된 문헌 또는 각 연구기관에서 사용하고 있는 자료를 참고로 하여 전문가들의 합의가 이루어진 값이다. 한편, 최근 유럽에서 마모셋과 미니돼지를 이용한 실험이 증가되고 있기 때문에 참고를 위하여 첨가해두었다.

표 중의 각 난에는 2개의 값이 기재되어 있는데, 각 난의 좌측에 표시되어 있는 수치는 단회 혹은 반복투여시의 최적투여량을 표시한 것이다. 괄호로 표시한 2번째의 수치는 투여 가능한 최대용량을 표시한 것이다. 본 용량을 초과하는 경우에는 동물복지뿐 아니라 과학적인 측면에서도 문제가 제기될 수 있기 때문에 전문가의 조언을 받도록 하여야 한다.

아래에 제시되어있는 최대투여용량 값의 일부는 최근에 발표된 문헌(Flecknell 1996, Wolfensohn & Lloyd 1998)에서 인용한 것이나, 「최적의」 투여용량 값과 비교하여 보면 약간 높게 책정되어있다. 많은 양을 반복적으로 투여할 경우에도 동물의 복지와 시험물질의 조제에 대한 고려가 필요하다. 과도한 양의 투여로 인한 생리적 변화가 발생하고, 이로 인해 시험기간이 제한되거나 시험결과가 영향을 받을 수도 있다. 따라서, 시험계획

서를 검토하는 단계에서 동물실험윤리위원회가 이 같은 문제점을 심사숙고하여야 한다. 또한, 신규물질에 대한 대규모 동물시험을 실시할 경우에도 과학적인 측면뿐 아니라 윤리적인 측면에서도 해당 물질의 물리·화학적 성상에 대한 *in vitro* 시험과 적은 수의 동물을 이용한 예비시험의 실시가 선행되어야 한다.

표1. 권장투여용량 (허용최대투여용량)

동물종	투여 경로와 투여 용량 (mL/kg, *는mL/투여부위)					
	경구	피하	복강내	근육	정맥(급속)	정맥(저속)
마우스	10 (50)	10 (40)	20 (80)	0.05* (0.1)*	5	(25)
랫드	10(40)	5(10)	10 (20)	0.1* (0.2)*	5	(20)
토끼	10(15)	1 (2)	5 (20)	0.25 (0.5)	2	(10)
개	5 (15)	1 (2)	1 (20)	0.25 (0.5)	2.5	(5)
원숭이	5 (15)	2 (5)	- (10)	0.25 (0.5)	2	-
마모셋	10 (15)	2 (5)	- (20)	0.25 (0.5)	2.5	(10)
미니 돼지	5 (15)	1 (2)	1 (20)	0.25 (0.5)	2.5	(5)

- (-) : 이용 가능한 데이터가 없음
- 수용성이 아닌 오일과 같은 물질을 동일 부위에 반복적으로 주사할 경우에는 해당 물질이 흡수되는 시간을 고려하여야 한다.
- 근육주사를 할 경우에는 하루에 2군데 이상의 부위에 주사를 해서는 안 된다.
- 피하주사를 할 경우에는 주사부위를 하루에 2~3군데로 제한하여야 한다. 그러나 Freund's adjuvant의 경우는 예외로 한다.

3. 투여 경로

1) 경구투여

시험물질의 흡수가 영향을 받을 수 있기 때문에 경우에 따라서는 투여 전에 사료의 섭취를 제한할 필요가 있다. 투여용량이 많아지면(40 mL/kg) 위장에 부하가 걸려 내용물이 급속히 소장으로 이동하거나, 식도로 역류하기도 한다(Hejgaard *et al.* 1999). 절식 기간은 동물 종의 사료섭취패턴, 생리기능, 사료 급여를 제한하기 시작하는 시점, 시험물질을 투여하는데 소요되는 시간, 사료공급 및 조명의 주기에 따라 달라진다(Vermeulen *et al.* 1997). 정확한 양을 투여하기 위하여, 혹은 투여 중의 사고를 방지하기 위하여 용액상태의 시험물질은 경구용 존대를 이용하여 투여한다.

2) 비경구 투여

약물을 비경구로 투여할 경우에는 투여용량, 조제물의 안정성, pH, 점도, 삼투압, 완충능(buffering capacity), 조제물의 무균상태 및 생체 적합성 등을 사전에 충분히 고려하여야 한다. 반복투여시험을 진행할 경우에는 상기의 요인들이 시험결과에 중대한 영향을 미칠 수 있기 때문에 특히 주의하여야 한다. 투여용량, 주사액의 점도, 주사속도 및 동물의 크기를 고려하여 주사바늘도 가능한 가장 작은 사이즈의 것을 사용하여야 한다.

(1) 피하투여

가장 널리 이용되고 있는 경로 중의 하나이다. 조제물의 조성에 따라 약물이 흡수되는 정도 및 속도에 차이가 발생한다.

(2) 복강투여

복강투여는 실수로 장관 내에 주사를 하거나, 자극성이 있는 물질의 경우에는 복막염과 같은 합병증을 유발할 수 있기 때문에 반복투여시험에서는 거의 사용되지 않는다. 약물을 현탁액의 형태로 복강 내에 투여하는 경우에는 당해 약물의 입자 특성과 용매의 성질에 따라 약물의 흡수가 영향을 받으며, 투여된 약물은 체순환 및 문맥순환 내로 흡수된다.

(3) 근육투여

근육 내에 약물을 주사하게 되면 주입된 약물이 근섬유를 압박하여 통증을 동반하는 경우가 많다. 또한, 주입된 약물에 의해 신경이 손상을 받을 수 있기 때문에 투여 부위를 신중히 선택하여야 한다. 따라서, 반복투여시험을 할 경우에는 순번을 정하여 투여부위를 바꾸어 주어야 한다. 또한, 반복적으로 투여할 경우에는 투여부위에 염증이 발생할 수도 있다. 친수성의 약물과 소수성의 약물은 흡수속도에 차가 있기 때문에(소수성의 약물은 투여 부위에 24시간 이상 저류되기도 한다) 구별할 필요가 있다.

(4) 정맥투여

정맥으로 약물을 투여하는 경우에는 급속히 주사를 하는 경우, 천천히 주사를 하는 경우, 장시간에 걸쳐 지속적으로 주입하는 경우로 분류할 수 있다. 표 1에는 급속히 주사하는 경우와 천천히 주사하는 경우에 해당하는 값만을 기재하여 두었다.

① 급속히 주입하는 경우 : 정맥내로 투여하는 대부분의 경우는 시험물질을 대략 1분

정도의 짧은 시간에 종료한다. 이처럼 비교적 짧은 시간에 급속히 주입을 할 경우에는 약물이 혈액과 적합성이 있으며, 점성이 그다지 높지 않아야 한다. 다량을 투여하는 경우에는 주사액을 채운 정도로 데워서 투여를 하여야 한다. 정맥내로 투여를 하는 경우는 주입속도가 매우 중요하며, 설치류에서는 주입속도가 3 ml/min을 초과하면 안 되는 것으로 알려져 있다. 개에게 생리식염수 6 mL/kg을 급속히 주사하여도 헤마토크리트치나 심박수에 아무런 변화가 관찰되지 않았으나, 20 mL/kg을 투여한 경우에는 15%의 혈액희석과 일과성의 빈맥(1분 이상에 걸쳐 46% 증가)이 발생되었다 (Zeoli *et al.* 1998).

② 천천히 주입하는 경우 : 시험물질의 임상적응(증), 용해도 혹은 자극성으로 인해 시험물질을 천천히 투여하여야 하는 경우가 있다. 정맥내로 천천히 주입하는 경우는 시험물질이 혈관 바깥으로 새는 것을 막기 위하여 여러 가지 방안을 고려하여야 한다. 일반적으로 5 ~ 10분간에 걸쳐 천천히 주사를 할 경우에는 표준 주사침 혹은 날개가 달린 주사침을 사용한다. 경우에 따라서는 투관침을 피하정맥에 주입하여 테이프를 고정하거나(단시간의 경우), 외과적 기술을 통해 정맥내에 유치한 후에 사용하는(장시간 혹은 반복적으로 주입하는 경우) 경우도 있다.

랫드에게 등장의 생리식염수를 1 mL/min의 속도로 최대 80 mL/kg까지 4일간 연속하여 정맥내로 투여하여도 고통을 느끼거나, 폐에서 병변이 관찰되지 않았다 (Morton *et al.* 1997a). 그러나, 투여기간을 30일로 연장하고, 주입 속도를 0.25, 0.5, 1.0 mL/min로 한 경우에는 폐에서의 병변이 증가하고, 증상도 악화되었다 (Morton *et al.* 1997b). 이처럼 투여 기간에 따라 병변의 발생에 차이가 나타나는 것은 전자의 경우에도 병변이 나타나기는 하였지만 시간이 짧아 명확한 병변으로 발전하지 못하였을 가능성도 배제할 수 없다.

③ 장기간 점적으로(infusion) 주입하는 경우 : 시험물질의 임상적응(증) 혹은 자극성으로 인해 시험물질을 점적하여 장기간에 걸쳐 시험물질을 주입하는 경우가 있다. 그러나 이 경우에는 여러 가지 사항들에 주의하여야 한다. 먼저, 장기간에 걸쳐 지속적으로 약물을 주입할 때는 동물의 구속을 최소한으로 하여 스트레스를 받지 않도록 하여야 한다. 단회투여를 할 경우는 투여되는 용량이 순환 혈액량의 10% 미만이 되도록 하여, 2시간에 걸쳐서 천천히 투여하여야 한다(참고로 각 동물별 순환혈액량을 표 3에 기재하여 두었다). 투여용량 및 투여속도도 고려되어야 할 중요한 요소들로서, 각 동물별로 시험물질을 불연속적으로 주입을 할 경우(4시간/일)와 연속적으로 주입을 할 경우(24시간/일)에 권장되는 주입속도와 투여용량을 표 2에 정리해두었다. (이 표가 최종적으로 완성되기 위해서는 데이터의 보충적인 축적이 필요하다).

표 2. Infusion에 의한 반복투여 - 투여용량/투여속도
(허용최대투여량/투여속도를 포함)^a

	마우스	랫드	토끼 ^b	개	원숭이	미니 돼지
1일 총투여액량 (mL/kg)						
4시간	-	20	-	20	-	-
24시간	96(192)	60(96)	24(72)	24(96)	60	24
속도 (mL/kg/h)						
4시간	-	5	-	5	-	-
24시간	4(8)	2.5(4)	1(3)	1(4)	2.5	1

· (-) : 이용 가능한 데이터가 없음

a : 수용성이 아닌 물질의 경우는 본문 내용을 참조할 것. 표 중에 2개의 값이 기재되어 있는데, 괄호로 표시된 수치는 투여 가능한 최대용량을 표시한 것이다.

b : 최기형성 시험 데이터에 기초하여 작성됨.

토끼의 투여용량과 투여속도는 최기형성시험 데이터에 기초한 수치이며, 이 시험에서 모체에게 2 mL/kg/h이상의 속도로 약물을 투여한 경우에 태아에서는 아무런 영향이 나타나지 않았으나, 모체에서는 혈관주위에 과립구 침윤(perivascular granular leukocyte cuffing)이나 증식성 심내막염이 발생하였다(McKeon *et al.* 1998). 일반적으로 랫드에서의 주입속도는 1 ~ 4 mL/kg/h이나(Cave *et al.* 1995; Barrow & Heritier 1995; Loget *et al.* 1997), 최기형성 시험을 실시할 경우에는 2 mL/kg/h을 초과하여서는 안 된다. 마우스(van Wijik 1997), 개 및 원숭이(Perkin & Stejskal 1994), 미니돼지(공식적으로 발표되지 않음)의 값은 1개월 반복투여시험의 성적에 기초하여 작성되었다.

고용량을 투여하는 경우에는 용매의 선택이 중요하며(Cornelius *et al.* 1978; Concannon *et al.* 1992; Manenti *et al.* 1992; Mann & Kinter 1993), 이들의 발표에 의하면 용매의 종류에 따라 정맥내로 투여되는 최대허용량에 커다란 차이가 있다.

(5) 피내투여

일반적으로 피내투여는 면역, 염증, 감각반응 등의 평가를 위해 널리 이용되고 있다(Leenaars 1997; Leenaars *et al.* 1998). 투여 물질을 adjuvant와 혼합하여 투여하는

경우가 많으며, 피부의 두께에 따라 0.05 ~ 0.1 ml까지 투여가 가능하다.

4. 투여에 사용되는 용매

동물을 사용하는 모든 시험에서 용매의 선택은 중요한 문제이다. 용매는 시험물질의 체내 노출을 최적화할 수 있어야 하고, 시험물질의 결과에 영향을 미쳐서도 안 된다. 따라서, 가장 이상적인 용매는 생물학적으로는 불활성이고, 시험물질의 생물·물리학적 특성에는 영향을 미치지 않고, 동물에는 아무런 독성을 나타내지 않는 물질이어야 한다. 만약, 용매의 성분이 생물학적 작용을 나타내는 경우는 투여량을 제한하여 그 같은 작용을 최소화하거나, 발생되지 않도록 하여야 한다. 단순히 시험물질의 투여에 사용되는 용매로는 등장성 수용액, 완충액, co-solvent system, 현탁액, 기름 등이 있다. 수용성이 아닌 물질의 경우는 다시 투여하기 전에 용매의 흡수시간을 확인하여야 한다. 따라서, 기름에 녹여서 투여하는 경우는 투여용량을 표 1과 표 2에 표시되어 있는 양의 50%로 줄여서 투여하여야 한다. 현탁액을 투여하는 경우에는 투여액의 점도, pH 및 삼투압을 고려하여야 한다. Co-solvent system을 사용하는 경우는 용매 자체가 dose limiting toxicity를 가지고 있다는 사실에 유의하여야 한다.

5. 참고문헌

- 1). Hull RM. Guideline limit volumes for dosing animals in the preclinical stage of safety evaluation, *Hum. Exp. Toxicol.* 1995; 14: 305-307.
- 2) Flecknell P. Laboratory Animal Anaesthesia (2nd edn). Harcourt Brace and Company: London 1996.
- 3) Wolfensohn S, Lloyd M. Procedural data. In: Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, Wolfensohn S, Lloyd M (eds). Oxford University Press: Oxford, 1998.
- 4) Hejgaard KC, Alban L, Thomsen P, Heller KE, Hansen AK. Assessing welfare of rats undergoing gavaging with varying volumes. Measurements on open field behaviour, temperature, plasma corticosterone and glucose [Abstract]. *Rev. Cienc.* 1999; 23/24: 16.
- 5) Vermeulen JK, De Vries A, Schlingmann F, Remie R. Food deprivation: common sense or nonsense? *Anim. Technol.* 1997; 48: 45-54.
- 6) Claassen V. Neglected factors in pharmacology and neuroscience research. In Techniques in the Behavioural and Neural Sciences, vol. 12, Huston JP (ed.). Elsevier: Amsterdam, 1994: 5-94.

- 7) Zeoli A, Donkin H, Crewell C, Fetrow N, Johnson DK, Kinter LB. A limit rapid intravenous injection volume in dogs [Abstract]. *Toxicol Sci.* 1998; 42: 58.
- 8) Morton D, Safron JA, Rice DW, Wilson DM, White RD. Effects of infusion rates in rats receiving repeated large volumes of saline solution intravenously. *Lab. Anim. Sci.* 1997; 47: 656-659.
- 9) Morton D, Safron JA, Glosson J, Rice DW, Wilson DM, White RD. Histologic lesions associated with intravenous infusions of large volumes of isotonic saline solution in rats for 30 days. *Toxicol. Pathol.* 1997; 25: 390-394.
- 10) McKeon ME, Walker MD, Wakefield AE, Machotka SV. Validation of infusion techniques in nonpregnant and pregnant rabbits using a novel harness system [Abstract]. *Toxicol. Sci.* 1998; 42: 292.
- 11) Cave DA, Schoenmakers ACM, van Wijk JH, Enninga IC, Van der Hoeven JCM. Continuous intravenous infusion in the unrestrained rat - procedures and results. *Hum. Exp. Toxicol.* 1995; 14: 192-200.
- 12) Barrow PC, Heritier B. Continuous deep intravenous infusion in rat embryotoxicity studies: the effects of infusion volume and two different infusion fluids on pregnancy. *Toxicol. Methods* 1995; 5: 61-67.
- 13) Loget O, Nanuel C, Le Bigot J-F, Forster R. Corneal damage following continuous infusion in rats. In *Advances in Ocular Toxicology*, Green, Edelhauser HF, Hackett RB, Hull DS, Potter DE (eds.). Plenum Press: New York, 1997; 55-62.
- 14) Van Wijk H. A continuous intravenous infusion technique in the unrestrained mouse. *Anim Technol.* 1997; 48: 115-128.
- 15) Perkin CJ, Stejskal R. Intravenous infusion in dogs and primates. *J Am. Coll. Toxicol.* 1994; 13: 40-47.
- 16) Cornelius LM, Finco DR, Culver DH. Physiologic effects of rapid infusion of Ringer's Lactate solution into dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1978; 39: 1185-1190.
- 17) Concannon KT, Haskins SC, Feldman BF. Hemostatic defects associated with two infusion rates of dextran 70 in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1992; 53: 1369-1375.
- 18) Manenti A, Botticelli A, Buttazzi A, Gibertini G. Acute pulmonary edema after overinfusion of crystalloids versus plasma: histological observations in the rat. *Pathologica* 1992; 84: 331-334.
- 19) Mann WA, Kinter LB. Characterization of maximal intravenous dose volumes in the dog (*Canis familiaris*). *Gen. Pharmacol.* 1993; 24: 357-366.
- 20) Leenars PPAM. Adjuvants in Laboratory Animals (Synopsis of PhD thesis and

publications). Ponsen and Looijen BV: Wageningen, 1997.

- 21) Leenars PPAM, Koedam MA, Wester PW, Baumans V, Claassen E, Hendriksen CFM. Assessment of side-effects induced by injection of different adjuvant/antigen combinations in rabbits and mice. *Lab. Anim.* 1998; 32: 387-406.