

DA-125의 국소자극성

안병욱* · 백남기 · 이순복 · 김원배 · 양중익 · 김부영¹ · 김대병¹ · 이종권¹

동아제약 주식회사 연구소
¹국립보건안전연구원 특수독성과

Local Irritation of DA-125

Byoung Ok AHN*, Nam Gi BAIK, Soon Bok LEE, Won Bae KIM, Junnick YANG,
Pu Young KIM¹, Dai Byung KIM¹ and Jong Kwon LEE¹

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co., Ltd.

47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-kun, Kyunggi-do 449-900, Korea

¹Department of Toxicology, National Institute of Safety Research 5, Nokbun-dong, Eunpyung-ku, Seoul, Korea

(Received January 28, 1993; accepted March 8, 1993)

Abstract—DA-125, a new anthracycline derivative, shows significant anticancer activities. We conducted a study to examine the local irritating effect of DA-125 using mice and rabbits. In the skin test in mice, intradermal injection of 0.4 mg of DA-125, compared to a dosage of 0.2 mg of adriamycin, had weak irritating potentials to induce skin ulceration and erythematous induration. A dosage of 0.6 mg of DA-125 produced similar degree of lesions in perivascular irritation model to that of 0.2 mg of adriamycin, but the healing time was shorter in the case of mice treated with DA-125. In ocular irritation study in rabbit, the highest M.O.I.(mean ocular irritation index) of 0.5% DA-125 solution was 0.67, therefore DA-125 could be considered as a practically non-irritating anticancer agent. These results suggest that substitution of DA-125 for Adriamycin would reduce the possibility of outbreaks of local irritation and the severity of the lesions.

Keywords □ DA-125, local irritation, mouse, rabbit.

Adriamycin(doxorubicin)은 anthracycline계의 대표적인 항암제로서 다양한 종류의 고형암 및 혈액암에 널리 사용되거나 조혈기계독성, 심장독성 등의 특징적인 부작용과 함께 정맥내 투여시 혈관밖으로의 누출(extravasation)로 인한 국소적 케양을 일으키기도 한다(Rudolph, R. 등, 1976, Reilly, J. J. 등, 1977). DA-125는 동아제약(주) 연구소에서 합성한 개발예정인 신규 anthracycline계 항암성 항생물질로서 약효검색과 안전성연구 등 현재까지의 연구결과에 의하면 기존의 대표적인 anthracycline계 항암제인 adriamycin보다 우수한 것으로 나타나고 있다. 본 실험은 마우스에서의 피부자극시험과 토끼에서의 안점막자극시험을 이용하여 DA-125의 국소자극성을 adriamycin과 비교평가하고자 하였다.

실험방법

실험동물

피부자극시험의 피내모델에서는 5주령의 자성 ICR (CD-1) 마우스를, 혈관주위모델에서는 5주령의 웅성 ICR 마우스를 한국 화학연구소에서 분양받아 본 시험에 사용하였으며, 안점막자극시험에서는 3~4월령의 웅성 New Zealand White계를 사용하였다. 시험개시전 약 1주일간 순화사육을 하였으며, 시험기간중 사육환경은 통상적인 조건(온도 23±2°C, 습도 60±10%)을 유지하였고, 사료와 물은 자유섭취시켰다.

시험물질

시험물질인 DA-125(Lot No. DA-125-R-024)는 동아제약(주) 연구소 합성연구실에서 공급받아 사용하였으며, HPLC분석결과 순도는 95% 이상이었다. 대조물질인 adriamycin(Lot No. CTXB-2014)은 일본 명치제과에서 공급받아 사용하였으며 순도는 95% 이상이었다. 투여시 DA-125는 1 mM의 lactic acid용액에 용해시켜 사용하였으며, adriamycin은 멸균 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

* To whom correspondence should be addressed.

Table I. Experimental design for intradermal irritation model

Group	Drug	Dose (mg/mouse)	Route of Administration	No. of Animals
1	D.W.	—	i.d.	8
2	Adriamycin	0.2	i.d.	8
3	DA-125	0.2	i.d.	8
4	DA-125	0.4	i.d.	8

Table II. Experimental design for perivascular irritation model

Group	Drug	Dose (mg/mouse)	Route of Administration	No. of Animals
1	Saline	—	p.v. ^a	10
2	Lactic acid ^b	—	p.v.	10
3	Adriamycin	0.2	p.v.	10
4	DA-125	0.2	p.v.	10
5	DA-125	0.4	p.v.	10
6	DA-125	0.6	p.v.	10

^aPerivascular injection of caudal vein.

^b1 mM lactic acid in saline.

피내모델을 이용한 피부자극성시험

피내주사에 의한 피부자극성시험의 군구성은 Table I 과 같다.

투여 1일전에 모든 동물은 니트크림(치오글리콜산, 일동제약)을 이용하여 배부의 피모를 제거하였다. 투여는 제모부위에 28G의 인슐린주사기를 사용하여 피내로 단회 주사하였다. 제 3, 4시험군에는 시험물질인 DA-125를 각각 0.2, 0.4 mg의 용량으로 주사하였으며, 제 1, 2시험군에는 용매인 증류수와 대조물질인 Adriamycin 0.2 mg을 주사하였다. 투여시 투여액량은 모두 0.1 ml이었다. 투여 후 각 군의 모든 동물은 1주간격으로 주사부위의 병변을 측정하였다.

피부병변은 궤양과 홍반성 경변으로 구분하였으며, 병변은 digital caliper를 이용하여 장경 및 단경을 측정하고 그 곱으로 병변면적을 산출하였다.

혈관주위모델에 의한 국소자극성시험

혈관주위주사에 의한 국소자극성시험의 군구성은 Table II와 같다.

투여는 미정맥주위(perivascular)에 단회투여하였다. 시험 제 0일에 제 1, 2시험군에는 멸균 생리식염수와 DA-125의 용매인 1 mM lactic acid 용액을 주사하였으며, 제 3시험군에는 대조물질인 Adriamycin 0.2 mg을, 제 4, 5, 6시험군에는 시험물질인 DA-125 0.2, 0.4, 0.6 mg을 각각 주사하였다. 투여시 액량은 모두 0.05 ml이었으며, 26G의 주사침과 Hamilton주사기를 사용하였다. 투여방법은 Balsari 등(1989)의 방법으로 하였다. 투여 후 각 군의 모든 동물은 주 2회 총 4주간 주사부위의 병변을

Table III. Irritation rating for ocular reaction

Rating	Range of mean score ^a
Non-irritating	0.0 to 0.5
Practically non-irritating	>0.5 to 2.5
Minimally irritating	>2.5 to 15.0
Mildly irritating	>15.0 to 25.0
Moderately irritating	>25.0 to 50.0
Severely irritating	>50.0 to 80.0
Extremely irritating	>80.0 to 110.0

^aMean score for rating is taken from the observation time which has the highest mean score.

관찰 평가하였다. 평가방법은 점수제로 하였으며, 평가 기준은 다음과 같다.

- 0 ; No visible lesions observed
- 1 ; Erythematous, swelling, induration, but no necrotic change
- 2 ; Erythematous, swelling, and/or severe induration, mild necrosis
- 3 ; Obvious necrosis, but no deformity of tail
- 4 ; Severe necrosis and eschar formation and/or deformity of tail

투여 후 2주에 대조군을 포함하여 모든 군의 2마리를 도살, 주사부위의 병리조직학적 검사를 실시하였다. 조직표본은 파라핀에 포매시킨 후 박절하여 H-E염색하는 통상적인 방법에 의해 제작하였다.

안검막자극시험

순화, 검역기간 동안 선별된 동물중, 육안적 관찰 및 1% sodium fluorescein용액을 이용하여 안구 및 내안검 등의 이상유무를 확인하여 양안이 정상인 토끼 9마리를 선택 군구성하였다. 선택된 토끼 9마리에 0.5% DA-125 0.1 ml를 오른쪽 눈에 점안하고, 투여된 9마리 토끼중 3마리는 20초내에 점안용 생리식염수로 세안하여 B군으로 하고, 나머지 6마리를 A군으로 하였다. 시험물질을 투여하지 않은 왼쪽 눈에는 점안용 생리식염수를 0.1 ml 넣어 대조로 하였다. 투여후 투여된 눈이 회복될 시기 까지 일반증상의 변화 및 사망 여부를 관찰하였으며, 체중은 모든 동물에 대하여 시험물질 투여직전, 투여후 1일, 2일, 3일, 4일, 7일째에 측정하였다.

시험물질투여 후 24시간에 안구검사용 손전등으로 투여군 및 대조군인 양안을 검안하고, 육안적 각막손상의 유무, 홍채의 충혈이나 빛에 대한 반응을 검사하였다. 또한 안검결막, 안구결막 등의 혈관상태, 발적여부, 결막의 부종 및 배출물의 유무를 관찰하였다. 안구병변의 평가는 국립보건안전연구원 예규 제 10호(1988. 10. 29) "의약품등의 독성시험기준"에 준하여 평가하였으며, 이에 따라 시험물질 투여후 3시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 7일의 평점을 산출하였으며, 그 결과에 대한 자극성의 정도판

정은 Table III에서의 평점의 범위에 의해 물질의 자극도를 구분하였다.

통계처리

피부병변측정치의 각 구간 유의성 검정은 분산분석과 t-test로 실시하였다.

실험결과

피내모델을 이용한 피부자극시험

피부궤양 : 시험기간중 관찰된 주사부위의 궤양면적은 Table IV에서와 같다.

증류수를 주사한 제 1시험군에서는 시험기간동안 궤양의 발생이 나타나지 않았다. DA-125를 투여한 제 3, 4 시험군에서는 투여 후 1주에 각각 0.12 ± 0.10 , 0.16 ± 0.05 cm²로 최고치의 궤양면적을 나타내고 그 후 점차 감소되는 것으로 나타났다. DA-125 0.2 mg을 투여한 제 3 시험군에서는 주사 후 3주에 반수이상의 동물이 궤양치유를 나타내었으며, 4주에는 모든 동물에서 궤양소실이 나타났다.

DA-125 0.4 mg 투여군인 제 4시험군에서는 주사 후 2주 이후부터 궤양의 급속한 치유가 진행되어 3주 이후에는 거의 정상으로 회복되는 양상을 나타내었으며, 제 3, 4시험군의 시험결과에 의하면 DA-125는 병변의 형성정도 및 회복과정에서 용량의존성을 나타내는 것으로 생각된다.

한편 대조물질 Adriamycin 0.2 mg을 주사한 제 2시험군에서는 주사 후 1주에 궤양면적이 0.34 ± 0.10 cm²으로 최고치를 기록한 후 점차 감소되었으나, 관찰종료시인

주사후 4주에도 8마리중 6마리에서 궤양치유(가피소실)가 일어나지 않아 이미 보고된 바와 같이 국소독성이 강한 것으로 나타났다. 이에 비하여 DA-125는 Adriamycin과 동일용량인 제 3시험군은 물론 2배 용량군인 제 4시험군(DA-125, 0.4 mg)에서도 시험기간동안 제 2시험군에 비해 유의하게 궤양면적이 적게 나타나 Adriamycin보다 국소독성이 약한 것으로 판단되었다.

홍반성 경변 : 주사부위의 홍반성 경변면적은 Table V와 같다.

증류수를 주사한 제 1시험군에서는 주사후 1주에 주사의 영향으로 보이는 국소적 경변이 3마리에서 관찰되었으나 홍반은 인정되지 않았으며, 곧 소실되었다. 홍반성 경변의 발생정도와 치유과정은 궤양에서의 유사하였으며, 궤양부위의 소실에 따라 경변범위도 감소되었다. Adriamycin 0.2 mg을 주사한 제 2시험군에서는 주사후 1주에 0.77 ± 0.16 cm²의 경변면적으로 최고치를 나타내었으며, 이후 점차 그 면적이 감소되었다.

한편 DA-125를 주사한 제 3, 4시험군에서는 궤양면적에서와 유사하게 용량의존성의 경향을 나타내었으나 구간 유의성은 인정되지 않았다. Adriamycin용량의 2배 용량인 0.4 mg의 DA-125를 투여한 제 4시험군에서의 홍반성 경변면적은 시험기간동안 제 2시험군에 비해 유의하게 적었으며($p < 0.01$), 주사후 4주에는 반수의 동물에서 완전한 경변소실이 나타났다.

혈관주위모델에 의한 국소자극성시험

국소병변 : 시험기간중 관찰된 주사부위의 국소병변 평점은 Fig. 1에서와 같다.

생리식염수를 주사한 제 1시험군에서는 주사후 3~4

Table IV. The skin ulcer induced by i.d. injections of DA-125 and Adriamycin on the back of CD-1 mice. The numbers represent ulceration area(cm²)

Group	Drug	Dose (mg/mouse)	Weeks after Administration			
			1	2	3	4
1	D.W.	-	0	0	0	0
2	Adriamycin	0.2	0.34 ± 0.10^a	0.27 ± 0.07^a	0.11 ± 0.07^a	0.07 ± 0.06^a
3	DA-125	0.2	0.12 ± 0.10	0.03 ± 0.03	0.01 ± 0.02	0
4	DA-125	0.4	0.16 ± 0.05	0.11 ± 0.03^b	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01

^aSignificantly different from Group 3 ($p < 0.01$), and Group 4 ($p < 0.01$).

^bSignificantly different from Group 3 ($p < 0.01$).

Table V. The erythematous induration induced by i.d. injections of DA-125 and Adriamycin on the back of CD-1 mice. The numbers represent induration area(cm²)

Group	Drug	Dose (mg/mouse)	Weeks after Administration			
			1	2	3	4
1	D.W.	-	0.08 ± 0.11	0	0	0
2	Adriamycin	0.2	0.77 ± 0.16^a	0.67 ± 0.18^a	0.35 ± 0.12^a	0.22 ± 0.06^a
3	DA-125	0.2	0.43 ± 0.16	0.16 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.00 ± 0.01
4	DA-125	0.4	0.52 ± 0.10	0.24 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.03 ± 0.04

^aSignificantly different from Group 3 ($p < 0.01$), and Group 4 ($p < 0.01$).

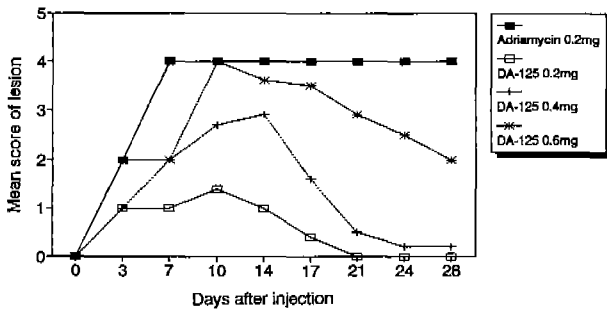


Fig. 1. Kinetics of skin lesions induced in CD-1 mice by PV injection of either Adriamycin 0.2 mg or DA-125 0.2, 0.4, and 0.6 mg. Mean score value is evaluated twice a week for 4 weeks. The tails of the mice injected with saline or 1mM lactic acid solution were normal throughout the study.

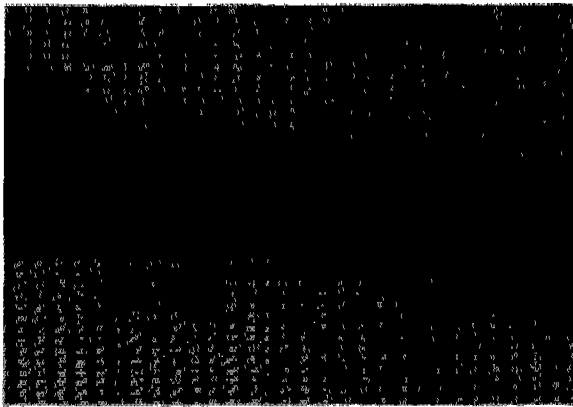


Fig. 2 Skin lesion induced 1 week after perivascular injection of Adriamycin 0.2 mg/0.05 ml. Ulceration was evident on injection site, and induration was noticed around the ulcerous lesion. Note club deformity of the tail.

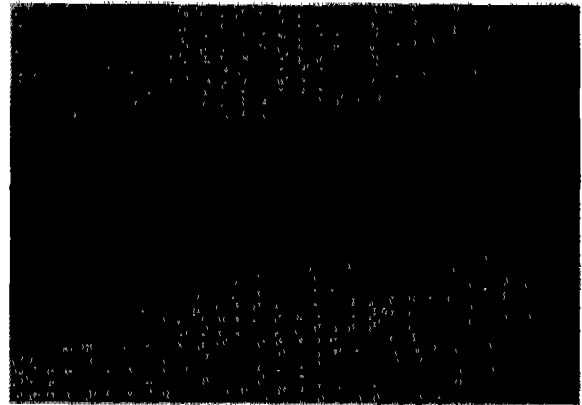


Fig. 3 Skin ulceration formed 2 week after perivascular injection of Adriamycin 0.2 mg. Caudal nerves and muscles were seen.

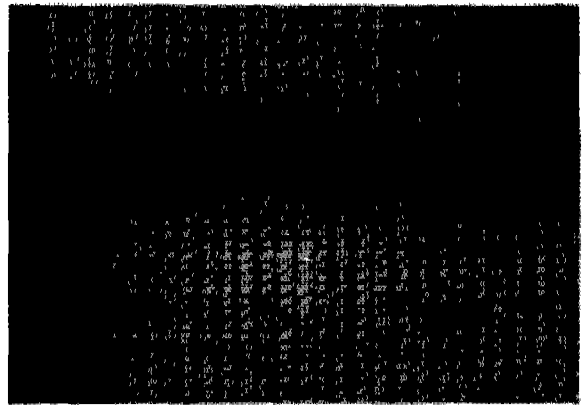


Fig. 4 Tail of the mouse 1 week after p.v. injection of 0.6 mg of DA-125. Swelling, erythema and mild necrosis were observed.

시간에 주사액이 모두 흡수되어 정상으로 나타났으며, DA-125의 용매인 lactic acid 용액을 주사한 제 2시험군에서도 주사후 3~4시간부터 정상으로 나타났다. 한편 대조물질인 Adriamycin 0.2 mg을 주사한 제 3시험군에서는 주사후 홍반, 종창 등의 병변이 진행되어 주사후 3일에는 궤양이 관찰되었으며, 7일후부터는 심한 궤양, 피사와 함께 꼬리의 변형(deformity of tail)이 인정되었다 (Fig. 2). 이러한 병변은 주사후 2, 3주에는 더욱 심해지는 경향을 나타냈으며, 궤양의 깊이는 더욱 깊어져 일부개체에서는 신경 및 근육의 형태가 노출되기도 하였으며 (Fig. 3), 궤양부위에 가피가 형성되기도 하였다. 병변은 관찰기간동안 지속되었다.

한편 DA-125 0.2 mg을 주사한 제 4시험군에서는 주사후 종창, 홍반, 경도의 경변이 약 2주간 지속된 후 병변이 서서히 소실되어 3주부터는 정상으로 관찰되었다. DA-125 0.4 mg을 주사한 제 5시험군에서는 주사후 홍반, 종창, 경변이 인정되었으며, 주사후 10일부터는 궤양이 형성된 후 17일부터 가피형성이 되며 서서히 회복되어

관찰종료시인 4주에는 거의 정상으로 나타났다. DA-125 0.6 mg을 주사한 제 6시험군에서는 주사후 홍반, 종창, 경변과 함께 10일부터는 심한 궤양이 형성된 후 3주부터 서서히 회복되는 경향을 나타내었으나 (Fig. 4), 4주후에도 일부개체에서는 궤양과 가피가 잔존하였다.

병리조직학적 소견: 주사후 2주에 실시한 병리조직학적 검사결과, 생리식염수와 lactic acid 용액을 투여한 제 1, 2시험군은 특기할 만한 변화가 인정되지 않았다. Adriamycin 0.2 mg을 투여한 동물에서는 궤양과 가피형성이 인정되었으며 (Fig. 5), 각화대(Stratum corneum)와 표피(epidermis)의 비후, 국소적 화농, 근섬유의 위축과 변성 등이 관찰되었다.

DA-125 0.2 mg 투여군인 제 4시험군에서는 병변이 관찰되지 않았으며, DA-125 0.4 mg을 투여한 제 5시험군에서는 표피 및 각화대의 비후가 관찰되었으나, 궤양은 없었다 (Fig. 6). 한편 DA-125 0.6 mg을 주사한 제 6시험군에서는 표피 및 각화대의 비후, 궤양, 가피형성 등 Adriamycin을 주사한 제 3시험군에서와 유사한 병변을 나



Fig. 5 Photomicrograph of the tail 2 week after p.v. injection of 0.2 mg of Adriamycin. Note keratinization and thickening of the epidermis, and atrophy of the longitudinal muscles. Ulceration and huge eschar were seen on the right side.

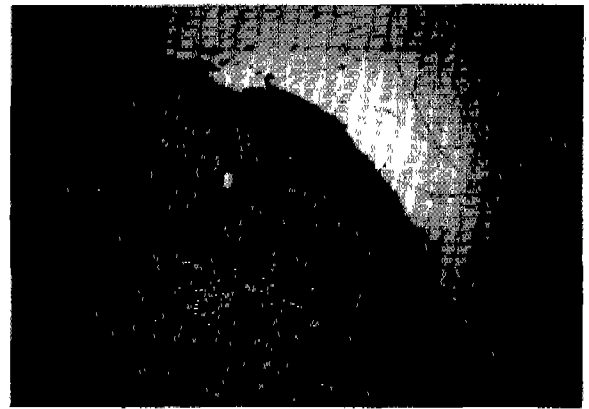


Fig. 6 The tail of the mouse 2 week after p.v. injection of 0.4 mg of DA-125. Note keratinization and thickening of the epidermis. Ulceration was not observed.

Table VI. General clinical signs and death rate in rabbits treated with 0.5% DA-125 in the conjunctival sac

Sex	Dose	No. of animals	General clinical signs	death rate
Male	0.1 ml	9	No Abnormalities Detected	0/9

Table VII. Body weights of rabbits treated with 0.5% DA-125 in the conjunctival sac

Group	No. of animals	Days after treatment					
		0	1	2	3	4	7
A	6	2.37± 0.07	2.38± 0.09	2.47± 0.07	2.57± 0.09	2.70± 0.06	3.23± 0.09
B	3	2.33± 0.05	2.37± 0.05	2.47± 0.05	2.60± 0.08	2.77± 0.06	3.30± 0.08

Table VIII. Ocular irritational reaction of A group to 0.5% DA-125

Time	No. of animals	Cornea			Conjunctivae			Score Mean
		Opacity	Area	Iris	Redness	Chemosis	Discharge	
3 hrs.	6	0	0	0	0	0	0	0.00
1 day	6	0	0	0	1×2 ^a	0	0	0.67
2 days	6	0	0	0	1×1	0	0	0.33
3 days	6	0	0	0	1×1	0	0	0.33
4 days	6	0	0	0	0	0	0	0.00
7 days	6	0	0	0	0	0	0	0.00

^aThe former number represents score and the latter does number of animals.

Table IX. Ocular irritational reaction of B group to 0.5% DA-125

Time	No. of animals	Cornea			Conjunctivae			Score Mean
		Opacity	Area	Iris	Redness	Chemosis	Discharge	
3 hrs.	3	0	0	0	0	0	0	0.00
1 day	3	0	0	0	1×1 ^a	0	0	0.67
2 days	3	0	0	0	0	0	0	0.00
3 days	3	0	0	0	0	0	0	0.00
4 days	3	0	0	0	0	0	0	0.00
7 days	3	0	0	0	0	0	0	0.00

^aThe former number represents score and the latter does number of animals.

타내었다.

안점막자극시험

일반 임상증상 및 체중변화: 시험에 사용된 동물들은 시험물질을 안구에 점안할 때 특이한 증상을 나타내지 않았으며, 또한 특기할 만한 증상변화도 관찰되지 않았으며, 사망동물도 없었다(Table VI). 시험기간중 A군 및 B군의 체중은 정상으로 나타났다(Table VII).

투여부위 관찰: 0.5% DA-125 투여후 3시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 7일째에 각막손상, 홍채의 충혈이나 빛에 대한 반응과 안검결막, 안구결막 등의 혈관, 결막의 부종 및 배출물의 유무 등을 관찰한 결과 비세척군의 경우 투여후 1일에 2마리에서 경도의 결막발적이 관찰되었고, 2, 3일째 각각 1마리에서 경도의 결막발적이 관찰되었으며, 4일째 모두 회복되었다(Table VIII). 세척군의 경우 투여 1일후 1마리에서 경도의 결막발적이 관찰되었으나, 2일째 회복되었다(Table IX).

고 찰

DNA-결합성 항암요법제의 사용시 혈관의 누출로 인한 국소독성은 비교적 흔히 발생하는 부작용은 아니나, 일단 발병하면 심각한 조직병변을 일으킬 수 있으며(Ignoffo, R. J.와 Friedman, M. A., 1980), 그 중 Adriamycin(doxorubicin)은 국소독성을 일으키는 대표적인 항암요법제로서 육아조직의 형성억제 및 혈관신생 장애 등 창상치유 과정의 지연을 나타내며 치료하기가 어려운 것으로 알려져 있다.

항암제의 피부독성정도를 예측하고, 또한 해독제를 발견할 목적으로 다양한 동물모델이 개발되고 있다. Dorr, R. T. 등(1980)은 BALB/c 마우스 피내에 Adriamycin을 주사하여 용량의존적 피부병변을 유발시켰으며, 병변의 정도를 경변, 홍반, 궤양 등의 면적으로 표현하였다. 또한 이들은 피하주사에 의해서는 규칙적이며 예측가능한 병변이 형성되지 않는다고 보고하였다.

한편 설치류에서와는 달리 돼지의 이개에 피하로 Adriamycin을 주사하면 사람에서의 피부병변과 유사한 병변이 유발된다고 보고되었으며(Wolgemuth, R. L. 등, 1982), 최근에는 임상에서의 extravasation과 유사한 병변을 유발하기 위해 혈관주위 주사에 의한 perivascular model(Balsari, A. 등, 1989)도 이용되고 있다. DA-125는

개발예정인 anthracycline계 항암물질로서 현재까지의 약효 및 안전성 시험결과에 의하면, 대표적인 anthracycline계 항암제로 가장 널리 사용되는 Adriamycin보다 우수한 것으로 나타나고 있다.

본 시험은 임상적용시 문제가 될 수 있는 DA-125의 국소자극성을 검색할 목적으로 실시되었다. 피내모델과 혈관주위모델에 의한 피부자극시험결과 DA-125 0.2, 0.4 mg 피내주사시 홍반, 경변, 궤양, 괴사 등의 국소병변을 나타내었으나 대조물질인 Adriamycin에 비하여 정도가 경미하게 나타났으며, 병변의 회복도 Adriamycin에 비해 빠른 것으로 나타났다. 또한 안점막자극시험결과에서도 DA-125 0.5% 용액은 0~0.67범위의 평점을 보여 실제적으로 거의 무자극(practically non-irritating)한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 DA-125가 임상에서 Adriamycin의 대체약물로 사용될 경우 국소독성의 발현가능성과 병변정도를 크게 경감시킬 수 있음을 시사한다.

감사의 말씀

본 연구는 과학기술처의 특정연구개발사업과 보건사회부주관 신규 항암제 DA-125의 개발연구에 의해 지원 받았으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Balsari, A., Lombardo, N. and Ghione, M. (1989). Skin and perivascular toxicity induced experimentally by doxorubicin. *J. Chemother.* **1**, 324-329.
- Dorr, R.T., Alberts, D.S., and Chen, H.S.G. (1980). Experimental model of doxorubicin extravasation in the mouse. *J. Pharmacol. Methods.* **4**, 237-250.
- Ignoffo, R.J. and Friedman, M.A. (1980). Therapy of local toxicities caused by extravasation cancer chemotherapeutic drugs, *Cancer Treat Rev.* **7**, 17-27.
- Reilly, J.J., Neifeld, J.P. and Rosenberg, S.A. (1977). Clinical course and management of accidental adriamycin extravasation, *Cancer* **40**, 2053-2056.
- Rudolph, R., Stein, R.S. and Pattillo, R.A. (1976). Skin ulcers due to adriamycin, *Cancer* **38**, 1087-1094.
- Wolgemuth, R.L., Myers, C.A., Luce, J.K., Imondi, A.R. and Carrano, R.A. (1982). Doxorubicin extravasation ulceration: Animal model development and testing of potential antidotes. *AACR Abstracts* **673**, p. 171.