

## 새로운 안트라사이클린계 항암제 DA-125의 생식독성연구: (II) 랫트 수태능력시험

정문구\* · 김종춘 · 김원배<sup>1</sup> · 노정구

한국화학연구소 안전성연구부

<sup>1</sup>동아제약 주식회사 연구소

## Reproductive Toxicity Study of DA-125, A New Anthracycline Anticancer Agent: (II) Fertility Study in Rats

Moon Koo CHUNG\*, Jong Choon KIM, Won Bae KIM<sup>1</sup> and Jung Koo ROH

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Toxicology*

*Research Center, P.O.Box 9, Daedeog-Danji, Daejeon, Korea*

<sup>1</sup>*Dong-A Pharm. Co., Ltd., Research Laboratories 47-5,*

*Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-gun, Kyunggi-do, Korea*

(Received February 7, 1994; accepted March 21, 1994)

**Abstract**—DA-125, a new anthracycline antitumor antibiotic, was at dose levels of 0, 0.03, 0.1 and 0.3 mg/kg/day administered intravenously to Sprague-Dawley male rats from pre-mating to mating period and to females from pre-mating to early gestation period. Effects of test agent on general findings and reproductive performance of parent animals and embryonic development were examined. No treatment-related changes in clinical signs, body weight, food consumption and necropsy findings were observed in all groups of both sexes. At 0.3 mg/kg, a decrease in the weight of spleen was found only in male rats. Mating performance and fertility of parent animals were not adversely affected by all doses tested. F1 fetuses showed no changes related to treatment of DA-125, except that at 0.3 mg/kg, an increase in the resorption rate was seen. The results show that the no effect dose levels (NOELs) for general toxicity of parent animals and fetal development are 0.1 mg/kg/day and NOELs for reproductive capability are over 0.3 mg/kg/day.

**Keywords** □ DA-125, antitumor antibiotic fertility study, rat.

DA-125는 현재 동아제약(주) 연구소(경기도 용인군 기흥읍 상갈리 47-5)에서 개발 중에 있는 안트라사이클린계 항종양성 항생제이다. 대표적인 동일계 항암제인 doxorubicin의 단점을 보완하기 위해 합성된 본 약제는 다른 안트라사이클린계 약물과 마찬가지로 DNA에 작용하여 개열과 그에 따른 핵산합성억제를 유발함으로써 작용한다고 한다(양중익, 1993). 현재까지의 전임상연구(pre-clinical study)에 의하면 DA-125는 doxorubicin보다 약효가 뛰어날 뿐만 아니라 심장독성, 국소자극성 등의 부작용이 경감되었다고 한다(백 등, 1993, 안 등, 1993). 한편 adriamycin은 상기한 독특한 작용기작 때문에 인간 및 랫트에 있어서 수태능력의 저해를 유발한다(Lu와

Meistrich, 1979; Lee, 1981). 본 연구는 신약후보물질의 생식독성학적 스크리닝(reproductivetoxicological screening)의 일환으로 adriamycin의 유도체인 DA-125가 암·수컷의 일반상태 및 수태능력과 배아발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 또한 수태능력저해여부의 효율적인 평가를 위해서 정충검사, 호르몬측정, 성주기검사 등을 실시하였다. 본 시험은 의약품 등의 독성시험기준(국립보건안전원, 1988)과 일본독성시험기준(Yakugyo Jiho Co, 1984)에 준하여 실시하였다.

### 실험방법

#### 시험물질

본 시험에는 동아제약에서 합성한 DA-125(Lot No.

\* To whom correspondence should be addressed.

**Table I.** Experimental design for fertility study of DA-125 in rats

Group	Dose (mg/kg/day)	Volume (ml/kg)	No. of animals	
			Male	Female
control	0	1	24	24
DA-125	0.03	1	24	24
	0.1	1	24	24
	0.3	1	24	24
			24	24

DA-125-026)가 사용되었다. DA-125의 구조식은 7-0-(2, 6-dideoxy-2-fluoro-a-talopyranosyl)-adriamycinone-14-b-alaniate HCl이고 분자량은 670이며 적색분말로서 순도는 95% 이상이었다. 주사시 DA-125는 1mM lactic acid (in saline, pH 4.0) 용액에 용해시켜 사용하였다.

**실험동물 및 사육환경**

본 시험에는 한국화학연구소 안전성연구부 실험동물 육종실(대전직할시 유성구 장동 100)로부터 입수한 Sprague-Dawley 랫트(SPF)를 사용하였다. 5주령의 암수 각각 116마리를 입수한 후 수컷은 약 1주일간 그리고 암컷은 약 1개월간 검역과 순화사육을 거쳐 외견상 건강한 암수 각각 96마리를 선별해 시험에 사용하였다.

본 시험은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수 13~18회/hr., 조명시간 12시간(오전 7시~오후 7시), 조도 200~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시되었다. 시험기간 중 사료는 실험동물용 고품사료(제일사료(주))를 방사선조사(2.0 Mrad)멸균하여, 그리고 물은 상수도를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

**투여량의 설정과 시험군의 구성**

0, 0.012, 0.06 및 0.3 mg/kg의 4개 용량으로 DA-125의 90일 랫트 아급성 시험을 실시한 바 0.3 mg/kg군에서 경미한 체중증가억제가 나타났으나 그밖의 군에서는 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다. 이를 기초로 본 시험에서는 0.3 mg/kg을 고용량으로 정하고 공비 3으로 중용량 및 저용량을 0.1 및 0.03 mg/kg으로 설정하고 그외에 매체 대조군을 두었다. 시험군의 구성은 Table I과 같다.

**투여방법 및 투여기간**

동물의 미정맥내로 수컷은 교배 60일 전부터 교배성립시까지, 암컷은 교배 14일 전부터 임신 7일까지 1일 1회 오전 중에 연속투여하였다. 투여액은 암수 모두 주 1회 측정된 체중을 기초로 산출하였다(단, 암컷의 경우 임신기간에는 임신 0일째 체중을 기초로 함).

**관찰 및 검사항목**

**일반증상관찰:** 시험기간 중 1일 1회 동물의 일반증상, 중독증상 및 사망유무에 관해서 관찰하였고 투여기간 중에는 투여전후로 1일 2회 관찰하였다.

**체중 및 사료섭취량 측정:** 시험기간 중 체중은 교배 전에는 암수 모두 주 1회 간격으로 그리고, 암컷동물의

경우 임신기간에는 임신 0, 7, 14 및 20일째에 측정하였다. 그리고 사료섭취량 측정은 모든 동물에 대하여 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다(단, 암컷동물에 있어서는 수컷동물과의 동거로 인하여 교배전일에 사료급여 후 익일 잔량을 측정하였고 임신 20일째에는 제왕절개로 인하여 임신 19일째에 급여 후 잔량을 잴).

**성주기 검사:** 암컷동물에 대하여 시험물질의 투여개시 전후 2주일간 질도말검사를 실시한 후 성주기의 규칙성과 기간을 조사하였다.

**교배의 판정:** 질전 또는 질도말시 정충을 확인한 날을 임신 0일로 정하였으며 임신 유무의 최종 판정은 제왕절개시 자궁의 착상흔적 유무에 따랐다.

**부검:** 시험에 사용된 모든 동물들은 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 해부시기는 수컷은 교배종료 후, 암컷은 임신 20일째 그리고 교미 미확인 암컷동물은 최종동거일 이후이었다. 부검시 간장, 신장, 비장, 심장, 뇌, 부신, 고환, 부고환, 전립선, 정낭선 및 난소의 중량을 측정하였다.

**고환의 병리조직학적 검사:** 최고용량군과 대조군 동물의 좌측 고환을 10% 포르말린액에 고정한 후 파라핀포매, 박질한 뒤 hematoxylin-eosin 염색을 실시하여 검정하였다.

**정충검사:** 각군당 수컷 10마리씩에 대하여 우측의 정소와 정소상체 미부를 10 ml의 생리식염수가 들어있는 용기에 넣은 후 ultra-turrax 균질기(분당 7000회전, 약 2분간)로써 균질화한 뒤 Neubauer 계수판을 이용하여 정자세포 및 정자의 수를 계수하였다. 그리고 정소 1g 내의 정자 세포수를 6.1일로 나눔으로써 1g 정소당의 1일 정자생산율을 산출하였다(Amann 등, 1976; Robb 등, 1978). 또한 정관내의 정자를 채취하여 1ml의 생리식염수로 희석한 정자 현탁액을 염색액(2% 에오신과 3% 구연산염의 혼합액)과 1:1로 혼합하여 도말표본을 만들고 최고 용량군과 대조군 각각 10마리에 대하여 표본당 100마리의 정자를 200배의 배율로 현미경하에서 관찰함으로써 정자의 형태학적 이상유무를 조사하였다.

**호르몬 측정:** 각 군당 수컷 10마리씩 후대정맥에서 혈액을 채취한 후 원심분리(3000 rpm, 10분)시켜 얻은 혈청을 -80℃에 보관하였다. 저장된 혈청을 갖고 Serono SR Analyzer(Serono Diagnostic S. A)를 이용하여 효소면역분석법(enzyme immunoassay)에 따라서 테스토스테론의 함량을 측정하였다.

**제왕절개:** 각 군의 모든 암컷동물들을 임신 20일째 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배아(태자)수, 사망태자수, 생존태자의 성별, 생존태자의 개체별 체중등을 조사하였다.

**태자의 외표검사:** 생존태자를 자궁에서 적출한 후 즉시 외표이상의 유무에 대하여 관찰하고 왼쪽 자궁각의 난소축에서 번호를 매겨 홀수번호는 골격검사에 그리고

작수번호는 내장검사에 사용하였다.

**골격검사 :** 각 배당 생존태자를 95% 에칠알콜에 고정 한 후 Inouye 법(Inouye, 1976)에 따라 골격표본을 제작한 후 골격이상 유무 및 골화상태에 대하여 검사하였다.

**내부장기검사 :** 각 배당 생존태자를 Bouin액에 고정 한 후 두부 및 복부는 Wilson 법(Wilson *et al.*, 1972), 흉부는 현미해부법(Nishimura, 1974)에 의하여 내부장기 이상 유무를 검사하였다.

**통계학적 분석**

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(SAS institute Inc., Ver. 6.04)을 이용하여 다중비교검정법을 실시하였다. 태자에 대한 시험자료는 한배에서 나온 태자들의 평균 체중과 빈도수(황체수, 흡수배아수, 사망태자수)를 이용하였고, 성비는 총 생존태자수에 대한 수컷생존태자수의 비율로 계산하여 분석하였다. 성주기 기간에 대한 분석은 각 용량별로 시험물질 투여효과를 보기위해 t-검정을 실시하였다. 통계학적인 유의성은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

**실험결과**

**일반독성학적 영향**

**수컷동물의 일반증상 :** 전 시험기간 동안 수컷동물에 대하여 일반증상 관찰을 실시한 결과, 매체대조군에서는 탈모(hair loss)가 2례 그리고 후지마비(paralysis of hindlimb), 비루(nasal discharge) 및 눈주위 암적색 분비물(dark material around eye)이 각각 1례씩 관찰되었다. 0.03 mg/kg군에서는 탈모 2례와 후지마비 1례가 나타났고, 0.1 mg/kg군에서는 탈모 및 눈주위 암적색 분비물이 각각 1례씩 발견되었다. 상기 소견들 중에서 0.03 mg/kg군에서 1례 나타난 후지마비는 대조군에서도 1례 관찰되었는데 투여보정시 동물의 격한 운동으로 야기되었고 0.03 mg/kg군과 0.1 mg/kg군에서 소수 예로써 관찰된 탈모와 눈주위 암적색 분비물은 대조군에서도 발견되었

는데 투여보정에 의한 물리적 자극증상으로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

**암컷동물의 일반증상 :** 암컷동물의 경우 교배전 기간 동안 0.03 mg/kg군과 0.1 mg/kg군에서 탈모가 각각 1례씩 나타났고 임신기간 동안에는 모든 군에서 어떠한 이상증상도 관찰되지 않았다.

**수컷동물의 체중 :** 수컷동물의 교배전 기간의 체중에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Fig. 1).

**암컷동물의 체중 :** 교배전 및 임신기간동안의 암컷동물의 체중은 모든 투여군에서 대조군에 대하여 통계학적인 유의성을 나타내지 않았다(Fig. 2).

**수컷동물의 사료섭취량 :** 수컷동물의 경우 교배전 기간 동안 모든 투여군에서 정상적인 사료 섭취가 관찰되었다(Fig. 3).

**암컷동물의 사료섭취량 :** 암컷동물의 경우 교배전 및 임신기간 동안의 사료섭취량에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Fig. 4).

**수컷동물의 부검소견 :** 수컷동물의 교배종료 후 부검시

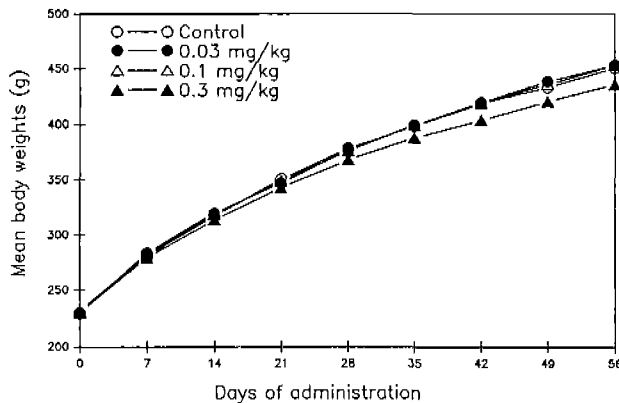


Fig. 1. Changes in body weights of male rats before mating.

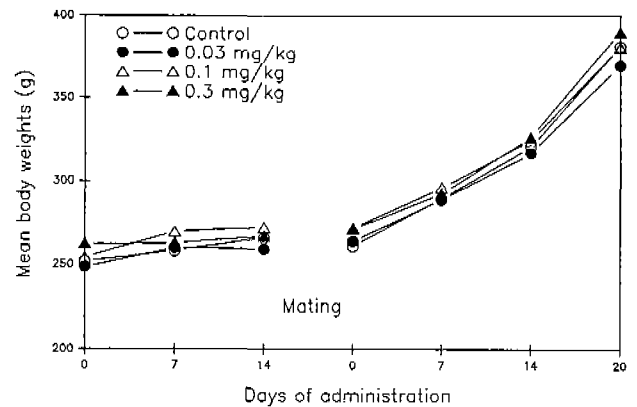


Fig. 2. Changes in body weights of female rats before mating and in gestation period.

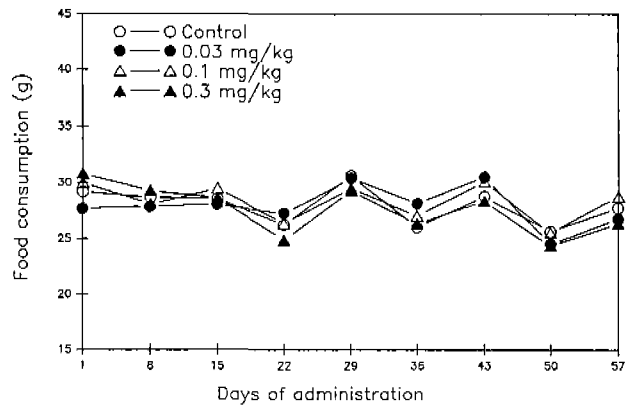


Fig. 3. Changes in food consumption of male rats before mating.

대조군에서는 정소위축(atrophy of testis)이 1례 나타났고, 0.03 mg/kg군에서는 부고환의 황색결절(nodule)이 1례 관찰되었다. 그리고 0.1 mg/kg군에서는 좌측신장의 낭종(cyst) 및 좌측 정낭선위축(atrophy of seminal vesicle)이 각각 1례씩 관찰되었고, 0.3 mg/kg군에서는 횡격막탈장(diaphragmatic hernia)이 1례 발견되었다. 상기 소견들은 S.D. 랫트에 있어서 자연발생적으로 나타나는 소견들로서 시험물질의 영향은 아니었다.

**암컷동물의 부검소견:** 암컷동물의 임신 20일째 부검시 대조군에서는 황백색 자궁(yellow-white uterus)과 신우확장(dilatation of renal pelvis)이 각각 1례씩 관찰되었다. 그리고 0.03 mg/kg군에서는 암적색 흉선(dark-red thymus)이 1례 나타났고, 0.3 mg/kg군에서는 흉선의 암

적색 반점(dark-red spots of thymus)이 1례 관찰되었으나 발현빈도가 낮아서 시험물질의 영향으로 단정하기는 어려웠다.

**수컷동물의 절대 및 상대장기 중량:** 수컷동물의 절대 및 상대장기중량에 있어서 0.03 mg/kg군의 간장은 유의성 있는 증가를 나타냈고 0.3 mg/kg군의 비장은 유의성 있는 감소를 보였다(Table II). 이중 0.03 mg/kg군의 간장중량의 증가는 용량상관성이 없어서 시험물질에 의한 변화는 아니었고, 0.3 mg/kg군의 비장중량의 감소는 시험물질의 투여에 기인한 독성증상으로 인정되었다.

**암컷동물의 절대 및 상대장기중량:** 암컷동물의 절대 및 상대장기중량에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table III).

**정소의 병리조직학적검사:** 정소(특히 곡정세관(tubuli seminiferi contorti))의 조직검사시 고용량군에서 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다.

**정총검사:** 정총검사에 있어서 0.3 mg/kg군의 1g 정소당 정자 세포수와 1일 정자생산율이 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었는데 이는 시험물질의 영향으로 사료되었다. 상기 소견을 제외하고는 정소내의 정자세포수, 정소상체내의 정자수와 1일 정자생산율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table IV). 정관내 정자의 형태학적 검사시 고용량군에서는 무두부(no head), 무미부(no tail), 송곳형 두부(pin head), 두부갈고리의 각도이상(hook at wrong angle) 및 이중두부(double head)가 각각 6.1, 3.2, 0.1 및 0.1%의 비율로 관찰되어 총 1%의 정자기형 발현율을 나타냈다. 그런데 대조군에서도 총 0.6%의 기형정자(무

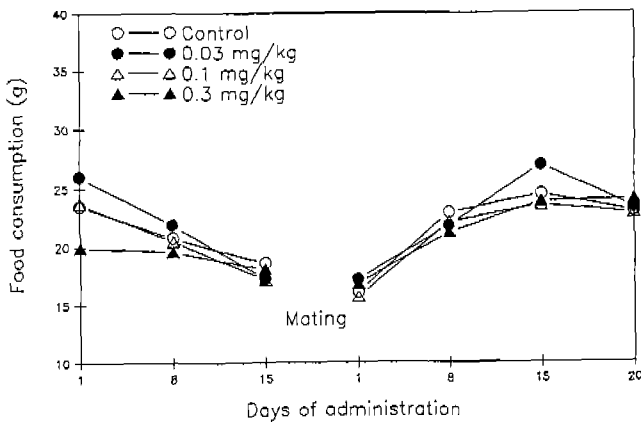


Fig. 4. Changes in food consumption of female rats before mating and in gestation period.

Table II. Relative organ weights of male rats treated with DA-125 during the pre-mating period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of animals	24	24	24	24
Body weight (g)	456.2± 31.2	452.3± 46.0	456.5± 40.8	439.4± 34.6
% Body weight				
Brain (g)	0.480± 0.055	0.476± 0.054	0.472± 0.048	0.505± 0.038
Adrenal Gland-Left (g)	0.006± 0.001	0.006± 0.002	0.006± 0.001	0.007± 0.002
Adrenal Gland-Right (g)	0.005± 0.001	0.006± 0.001	0.006± 0.003	0.006± 0.001
Liver (g)	3.199± 0.451	3.628± 0.365**	3.300± 0.283	3.231± 0.303
Spleen (g)	0.145± 0.018	0.146± 0.015	0.140± 0.014	0.133± 0.015*
Kidney-Left (g)	0.340± 0.039	0.363± 0.052	0.347± 0.048	0.371± 0.048
Kidney-Right (g)	0.341± 0.033	0.368± 0.043	0.355± 0.044	0.370± 0.048
Heart (g)	0.286± 0.024	0.286± 0.025	0.281± 0.025	0.298± 0.024
Testis-Left (g)	0.361± 0.055	0.373± 0.049	0.369± 0.047	0.386± 0.047
Testis-Right (g)	0.364± 0.059	0.364± 0.034	0.373± 0.047	0.386± 0.042
Seminal vesicle (g)	0.266± 0.063	0.254± 0.076	0.285± 0.099	0.277± 0.069
Prostate gland (g)	0.143± 0.043	0.149± 0.045	0.156± 0.050	0.160± 0.042
Epididymis-Left (g)	0.120± 0.019	0.128± 0.050	0.123± 0.019	0.127± 0.176
Epididymis-Right (g)	0.123± 0.020	0.122± 0.015	0.125± 0.018	0.129± 0.012

Values are Mean± S.D.

\* and \*\* indicate significant difference at p<0.05 and p<0.01 levels when compared with control group.

**Table III.** Relative organ weights of female rats treated with DA-125 during the pre-mating and early gestation period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of animals	24	24	24	24
Body weight (g)	378.6± 64.2	371.3± 44.7	380.5± 48.1	389.7± 47.4
% Body weight				
Brain (g)	0.544± 0.108	0.563± 0.084	0.555± 0.105	0.538± 0.073
Adrenal Gland-Left (g)	0.009± 0.003	0.009± 0.002	0.008± 0.001	0.008± 0.001
Adrenal Gland-Right (g)	0.009± 0.003	0.008± 0.002	0.008± 0.002	0.008± 0.002
Liver (g)	3.719± 0.268	3.825± 0.270	3.663± 0.339	3.740± 0.275
Spleen (g)	0.155± 0.022	0.156± 0.018	0.151± 0.019	0.149± 0.022
Kidney-Left (g)	0.277± 0.064	0.293± 0.063	0.266± 0.031	0.273± 0.042
Kidney-Right (g)	0.289± 0.068	0.299± 0.057	0.274± 0.036	0.278± 0.046
Heart (g)	0.255± 0.044	0.251± 0.030	0.254± 0.032	0.247± 0.029
Ovary-Left (g)	0.014± 0.003	0.014± 0.003	0.014± 0.003	0.014± 0.002
Ovary-Right (g)	0.016± 0.003	0.014± 0.004	0.014± 0.002	0.014± 0.003

Values are Mean± S.D.

**Table IV.** Testicular spermatid reserves, epididymal sperm reserves and daily sperm production of male rats treated with DA-125 during the pre-mating period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of animals	9	10	10	10
Body weight (g)	445.1± 25.7	447.6± 47.9	449.5± 36.9	415.2± 29.8
Testis (g)	1.63± 0.10	1.63± 0.08	1.66± 0.23	1.69± 0.08
Cauda epididymidis (g)	0.29± 0.03	0.27± 0.03	0.25± 0.03	0.27± 0.03
No. (million) of:				
Spermatids/testis	268.0± 35.8	253.1± 35.6	239.3± 71.8	218.9± 25.5
Spermatids/g testis	164.4± 18.5	155.3± 21.2	141.8± 35.4	129.5± 11.9**
Spermatids/epididymis	134.0± 38.0	107.4± 29.7	100.1± 36.9	94.7± 27.0
Spermatids/0.1 g epididymis	46.5± 10.9	39.4± 8.2	39.2± 14.0	34.9± 7.9
Daily sperm production rate/g testis	27.0± 3.0	25.5± 3.5	23.2± 5.8	21.2± 2.0**

Values are Mean± S.D.

\*\*indicate significant difference at  $p < 0.01$  level when compared with control group.

**Table V.** Serum testosterone concentration of male rats treated with DA-125 during the pre-mating period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of animals	10	9	9	10
hormone conc. (n mol/L)	7.1± 2.6	7.1± 2.5	7.5± 5.4	7.7± 4.6

Values are Mean± S.D.

두부, 무미부, 송곳형 두부, 두부갈고리의 각도이상 및 소정자(small sperm)가 3.2, 1.8, 0.3, 0.1 및 0.1%의 빈도가 발견되어 시험물질의 영향은 인정되지 않았다.

**호르몬 측정:** 수컷동물의 혈청내 음성호르몬 테스토스테론 함량에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table V).

**생식능력에 미치는 영향**

**성주기검사 성적:** 성주기의 기간은 0.03 및 0.1 mg/kg군에서 투여 후가 투여 전보다 유의성 있는 증가를

**Table VI.** Changes in estrus cycle of female rats treated with DA-125 during the pre-mating period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of animals	24	24	24	24
Estrus cycle				
Before treatment	4.3± 0.6	4.3± 0.6	4.3± 0.5	4.6± 0.7
After treatment	4.5± 0.7	4.7± 0.6*	4.9± 0.7**	4.5± 0.6

Each value shows Mean± S.D. of estrus cycle (days).

\* and \*\*indicate significant difference at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  levels when compared with before treatment group.

보였으나 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 판단되지 않았다(Table VI). 또한 대조군에서 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg군의 순으로 투여전에는 각각 3, 3, 1, 4레씩, 그리고 투여후에는 각각 7, 5, 8, 6레씩 성주기의 불규칙성이 관찰되어 투여 전보다 투여 후에 다소 높은 불규칙성을 나타냈으나, 이는 대조군에서도 관찰되어 투여

스트레스에 기인한 것으로 사료되었다.

**교배성적**: 교미율, 수태율 및 임신율은 모든 투여군에서 대조군에 대하여 유의성을 나타내지 않았다(Table VII).

**태자에 미치는 영향**

**제왕절개성적**: 제왕절개시 조사된 황체수, 착상수, 사망태자수, 생존태자수, 성비 및 태자체중에 있어서 각

투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 착상전 배아사망율(pre-implantation loss)은 0.1 mg/kg군에서, 산자수는 0.03 mg/kg군에서 유의성 있는 감소를 보였고 흡수배아수 및 사망태자수는 0.3 mg/kg군에서 유의성 있는 증가를 나타냈다. 외표이상은 대조군에서 흔적미(vestigial tail)가 2례 관찰되었고 0.1 mg/kg군에서 단미(short tail)가 1례 발견되었다. 그리고 0.3 mg/kg군에서 혀돌출증(protruded tongue)이 1례 나타났다(Table VIII). 상기 소견들 중에서 0.1 mg/kg군의 착상전 배아사망율의 감소와 0.03 mg/kg군의 산자수의 감소는 용량상관성이 없어서 시험물질의 영향으로 인정되지 않았고, 0.3 mg/kg군의 흡수배아수 및 사망태자수의 증가는 시험물질의 투여에 기인한 소견으로 판단되었다. 그리고 0.1 mg/kg군에서 1례 나타난 단미와 0.3 mg/kg군에서 1례 관찰된 혀돌출증은 발현율이 낮아서 시험물질의 영향으로 인정되지 않았다.

**내부장기검사**: 임신 20일째 적출한 태자의 내부장기 검사시 모든 군에서 어떠한 기형도 관찰되지 않았다. 그리고 대조군에서 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg군의 순으로 신우확장(dilatation of renal pelvis)은 각각 0, 2, 4, 4례씩, 그리고 요관확장(dilatation of ureter)은 각각 7, 7, 4, 9례씩 관찰되었다(Table IX). 이들은 자연발생적인 소견

**Table VII.** Fertility data of parent animals treated with DA-125 during the pre-mating period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
<b>MALE</b>				
No. of mated animals	24	24	24	24
No. of copulated animals	23	24	24	24
% to no. of mated animals	95.8	100.0	100.0	100.0
No. of fertilized animals	19	20	20	22
% to no. of copulated animals	82.6	83.3	83.3	91.7
<b>FEMALE</b>				
No. of mated animals	24	24	24	24
No. of copulated animals	23	24	24	24
% to no. of mated animals	95.8	100.0	100.0	100.0
No. of pregnant animals	19	20	20	22
% to no. of copulated animals	82.6	83.3	83.3	91.7

**Table VIII.** Caesarean section data of dams treated with DA-125 during the pre-mating and early gestation period

DOSE(mg/kg):	0	0.03	0.1	0.3
No. of pregnant animals	19	20	20	22
Corpora lutea				
Mean± S.D.	17.00± 2.08	16.30± 1.75	16.45± 2.44	17.59± 2.28
Implantations				
Mean± S.D.	14.74± 3.38	13.50± 2.91	14.60± 2.85	14.91± 3.34
Preimplantation loss (%)	13.3	16.1	7.9*	15.4
Fetal deaths (resorptions%dead fetuses)	9	22	15	34**
Resorptions				
Total	9	19	15	32**
Early	9	19	13	31**
Late	0	0	2	1
Dead fetuses	0	3	0	2
Live fetuses				
Male/Female	114/157	114/134	132/155	150/144
Litter size (Mean± S.D.)	14.26± 3.33	12.40± 3.10*	14.35± 1.98	13.36± 3.26
Fetal loss (%)	3.1	8.2	5.2	10.3*
Sex Ratio (male/female)	0.73	0.85	0.85	1.04
No. of fetuses with external anomalies (%)	2(0.7) <sup>a)</sup>	0	1(0.3) <sup>b)</sup>	1(0.3) <sup>c)</sup>
Body weight of live fetuses				
Male (Mean± S.D.)	3.29± 0.23	3.25± 0.2	3.41± 0.28	3.33± 0.56
Female (Mean± S.D.)	3.12± 0.20	3.08± 0.24	3.26± 0.26	3.18± 0.57

<sup>a)</sup>Vestigial tail.

<sup>b)</sup>Short tail.

<sup>c)</sup>Protruded tongue.

\* and \*\*indicate significant difference at p<0.05 and p<0.01 levels when compared with control group.

**Table IX.** Visceral findings in fetuses from dams treated with DA-125 during the pre-mating and early gestation period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of dams	19	20	20	22
No. of fetuses examined (Mean± S.D.)	131 (6.9± 1.8)	119 (6.0± 1.7)	139 (7.0± 1.1)	143 (6.5± 1.7)
No. of fetuses with malformations (%)	0	0	0	0
No. of fetuses with variations (%)	7(5.3)	9(7.6)	8(5.8)	13(9.1)
Dilatation of renal pelvis	0	2	4	4
Dilatation of ureter	7	7	4	9

**Table X.** Skeletal findings in fetuses from dams treated with DA-125 during the pre-mating and early gestation period

DOSE: (mg/kg)	0	0.03	0.1	0.3
No. of dams	19	20	20	22
No. of fetuses examined (Mean± S.D.)	140 (7.4± 1.6)	129 (6.5± 1.5)	148 (7.4± 1.0)	151 (6.9± 1.6)
No. of fetuses with malformations (%)	1 (0.7) <sup>a)</sup>	1 (0.8) <sup>b)</sup>	2 (1.4) <sup>c)</sup>	3 (2.0) <sup>d)</sup>
No. of fetuses with variations (%)	4 (2.9)	1 (0.8)	3 (2.0)	2 (1.3)
No. of fetuses with retardations (%)	6(4.3)	8 (6.2)	8 (5.4)	6 (4.0)
No. of ossification centers				
No. of sternebrae	4.0± 0.7	4.4± 0.5	4.5± 0.6	4.4± 0.8
No. of metacarpals in both forelimbs	6.0± 1.0	6.1± 0.6	5.1± 0.5	6.3± 0.5
No. of 1st phalanges in both forelimbs	0.8± 1.0	0.6± 1.2	1.2± 2.3	1.4± 3.2
No. of metatarsals in both hindlimbs	7.1± 1.8	7.4± 0.7	7.8± 0.3	7.7± 1.0
No. of 1st phalanges in both hindlimbs	0.0	0.0± 0.0	0.0± 0.1	0.6± 2.4
No. of sacral and caudal vertebrae	6.6± 0.9	6.7± 0.5	7.1± 0.6	6.9± 0.9

<sup>a)</sup>Shortened 13th rib.<sup>b)</sup>Shortened 13th rib.<sup>c)</sup>Fused ribs, shortened 13th rib.<sup>d)</sup>Fused ribs, flying rib, absent thoracic vertebral body, scoliosis.

들로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

**골격검사:** 임신 20일째 적출한 태자의 골격검사시 대조군에서는 말늑골단소 (shortened 13th rib) [기형(malformations)]가 1례(0.7%), 비대칭흉골(asymmetric sternebrae) 및 요추의 천추화(sacralization of lumbar vertebrae) [변이(variations)]가 4례(2.9%) 그리고 흉추추체의 좌우분리(cleaved thoracic vertebral body), 아령형흉추추체(dumbbell-shaped thoracic vertebral body) 및 천문확장(enlarged fontanelle) [골화지연(retardations)]이 6례(4.3%) 관찰되었다. 0.03 mg/kg군에서는 말늑골단소 [기형]가 1례(0.8%), 요늑(14th rib) [변이]이 1례(0.8%) 그리고 흉추추체의 좌우분리 및 아령형 흉추추체 [골화

지연]가 8례(6.2%) 나타났다. 0.1 mg/kg군에서는 늑골유착(fused ribs) 및 말늑골단소 [기형]가 2례(1.4%), 요늑, 비대칭흉골 및 요추의 천추화 [변이]가 3례(2.0%) 그리고 흉추추체의 좌우분리 및 아령형 흉추추체 [골화지연]가 8례(5.4%) 관찰되었다. 또한 0.3 mg/kg군에서는 늑골유착, 부유늑골(flying rib), 흉추추체의 결손(absent thoracic vertebral body) 및 척추외측만곡(scoliosis) [기형]이 3례(2.0%), 경늑(cervical rib) [변이]이 2례(1.3%) 그리고 흉추추체의 좌우분리 및 아령형 흉추추체가 6례(4.0%) 발견되었다(Table X).

상기한 소견들을 살펴볼 때에 기형, 변이 및 골화지연의 발현율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는

인정되지 않았다. 그리고 흉골, 중수골, 중족골, 전후지의 기절골 및 천미추의 골화진행도는 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의차를 나타내지 않았다.

### 고 찰

DA-125는 동아제약에서 개발 중인 안트라사이클린계 항종양성 항생제로서 adriamycin의 유도체이다. 이러한 DA-125를 0, 0.03, 0.1 및 0.3 mg/kg의 용량으로 Sprague-Dawley 계통의 랫트에 수컷은 교배 60일 전부터 교배 성립시까지, 암컷동물은 교배 2주일 전부터 임신 7일까지 정맥투여하여 암수동물의 일반상태, 수태능력 및 태자 발생에 미치는 영향을 조사하였다.

0.3 mg/kg군에서 나타난 비장중량의 감소는 DA-125의 랫트 급성독성시험(신천철, 1991)에서도 관찰된 소견으로서 시험물질이 조혈기계 및 임파계에 속하는 비장에 독성증상을 나타냄을 알 수 있었다. 0.3 mg/kg 투여군에서 관찰된 흡수배아수의 증가는 tetrahydropyranil adriamycin(THP-adriamycin)의 수태능력시험(Kurebe와 Asaoka, 1986)에서도 나타났는데 이는 시험물질의 투여에 기인한 배아치사 효과(embryocidal effect)로 판단되었다. Daunomycin, adriamycin 등의 DNA 작용물질(DNA-intercalating agent)들은 수컷동물에 있어서 정자형성의 억제와 그에 따른 수태능력의 저해를 야기시킬 수 있다고 한다(Lee, 1981). 그러나 DA-125와 같은 anthracycline계 항암제인 THP-adriamycin은 DNA 작용물질이지만 수태능력시험 결과 암수컷 동물의 생식능력에 영향을 주지 않는다는 사실이 보고된 바 있는데(Kurebe와 Asaoka, 1986), DA-125도 수컷동물에서 경미한 일반독성이 유발되었고 1g 정자당 정자세포수와 1일 정자생산율은 감소했지만 본 시험조건하에서 교미율, 수태율 및 임신율에 전혀 영향을 미치지 않았다.

이상의 내용을 종합하여 볼 때 본 수태능력 시험에 의한 DA-125의 무해용량(No Observed Effect Level)은 암수동물의 일반독성 및 태자발생에 있어서 0.1 mg/kg 그리고 수태능력에 있어서는 0.3 mg/kg 이상으로 사료된다.

### 감사의 말씀

시험물질 DA-125를 제공해 주신 동아제약연구소, 본

시험을 수행하는데 기술적인 도움을 주신 이상준, 최규갑, 양병철씨 그리고 통계처리 및 자료정리를 맡아주신 김정란 양께 감사사를 드립니다.

### 참고문헌

- Amann, R. P., Johnson, L., Thompson, D. L. and Pickeet, B. W. (1976). Daily spermatozoal reserves and transit time of spermatozoa through the epididymis of the rhesus monkey. *Biol. Reprod.* **15**, 586-592.
- Inouye, M. (1976). Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by alcian blue and alizarin red S. *Cong. Anom.* **16**, 171-173.
- Kurebe, M. and Asaoka, H. (1986). A study on the effect of (2'R)-4'-O-tetrahydropyraniladriamycin, a new antitumor antibiotic, on reproduction. *The Japanese Journal of Antibiotics* **39**, 463-476.
- Lee, I. P. (1981). Effects of drugs and chemicals on male reproduction. In *Human fertility factors* (Spira, A. et al. eds.), **103**, pp. 311-334. INSERM.
- Lu, C. C. and Meistrich, M. L. (1979). Cytotoxic effects of chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. *Cancer Res.* **39**, 3575-3582.
- Nishimura, K. (1974). A microdissection method for detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses. *Cong. Anom.* **14**, 23-40.
- Robb, G. W., Amann, R. P. and Killian, G. J. (1978). Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J. Reprod. Fert.* **54**, 103-107.
- Wilson, J. G. and Warkany, J. (1972). *Teratology, Principles and Techniques*. pp. 1-277. The university of Chicago press.
- Yakugyo Jiho Co. (1984). Toxicity Test Guideline: Collection of notifications related to the pharmaceutical affairs law (IV), Japan.
- 국립보건안전원 (1988). 의약품 등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원, 예규 제10호.
- 백남기, 안병욱, 이순복, 김원배, 양중익, 波邊俊彦(1993). 새로운 항암성 항생물질 DA-125의 심장독성에 대한 평가, *응용약물학회지* **1**, 9-19.
- 신천철(1991). DA-125의 랫트에 있어서 정맥투여 급성독성 시험, 한국화학연구소 안전성연구센터. pp. 1-265.
- 안병욱, 백남기, 이순복, 김원배, 양중익, 김부영, 김대병, 이종권 (1993). DA-125의 국소자극성, *응용약물학회지* **1**, 20-25.
- 양중익(1993). 항종양 치료제 개발연구, 과학기술처, pp. 171-311.