

## 새로운 Anthracycline계 항암성 항생물질 DA-125의 랫드에 대한 4주 용량설정시험(DRF)과 13주 아급성 독성시험

백남기<sup>1\*</sup> · 안병옥<sup>1</sup> · 이순복<sup>1</sup> · 이상득<sup>1</sup> · 김원배<sup>1</sup> · 양중익<sup>1</sup> · Eric J. F. Spicer<sup>2</sup> · Susan Novitsky<sup>2</sup> ·  
Lee Bernal<sup>2</sup> · Pamela Ball<sup>2</sup> · Mary Ellen Mckenna<sup>2</sup> and K. P. C. Nair<sup>2</sup>

<sup>1</sup>동아제약(주) 연구소

<sup>2</sup>International Research and Development Corporation

## Four-Week Dose-Range Finding and 13-Week Repeated Dose Intravenous Toxicity Studies in Rats with DA-125, a New Anthracycline Antitumor Antibiotic

Nam Gi BAIK<sup>1\*</sup>, Byoung Ok AHN<sup>1</sup>, Soon Bok LEE<sup>1</sup>, Sang Deuk LEE<sup>1</sup>, Won Bae KIM<sup>1</sup>,  
Junnick YANG<sup>1</sup>, Eric J. F. Spicer<sup>2</sup>, Susan Novitsky<sup>2</sup>, Lee Bernal<sup>2</sup>,  
Pamela Ball<sup>2</sup>, Mary Ellen Mckenna<sup>2</sup> and K. P. C. Nair<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co. Ltd., 47-5, Sanggal-ri,  
Kiheung-up, Yongin-gun, Kyunggi-do, 449-900, Korea

<sup>2</sup>International Research and Development Corporation 500 North  
Main Street Mattawan, MI 49071, USA

(Received June 27, 1994; accepted July 30, 1994)

**Abstract**—This study was conducted to investigate the repeated dose toxicity of DA-125, a new anthracycline antitumor antibiotic, in rats. Before the 13-week main study, a 4-week dose-range finding (DRF) study was carried out. The administration of DA-125 intravenously at dosage levels of 0, 0.125, 0.5, 2.0, and 8.0 mg/kg/day to rats for 4 weeks resulted in premature deaths of all animals in the 8.0 mg/kg/day group and in the deaths of 4 males and 4 females at 2.0 mg/kg/day. Body weights were markedly reduced in the 8.0 mg/kg/day group and showed dose-related decreases in all treatment groups when compared with the control group. Reductions in weight gain were slight and not significantly different at 0.125 mg/kg/day but animals receiving 0.5 mg/kg/day showed more marked decreases in gain in a clear dose-related manner. Based on the results of the above DRF study, a 13-week repeated dose intravenous toxicity study in rats with DA-125 was performed at a dose level of 0, 0.012, 0.08 and 0.3 mg/kg/day. No treatment related effects were noted in behavior or body weight in all treatment groups. One male at the highest dose level died on study day 26, but the death could not be related to test article toxicity. Swelling and scabbing of the ears was present in all of the groups, including the control group. There were no treatment related changes in the hematological, biochemical or urinalysis values in all treatment groups. Thymus weights were significantly reduced in males receiving 0.3 mg/kg/day and they were slightly, and not significantly, reduced in females of the same group. While there were no associated histological changes. Treatment related necrosis was found in the tail vein (injection site) at 0.08 and 0.3 mg/kg/day. On the basis of these results, the no observed effect level (NOEL) was 0.012 mg/kg/day and the maximum tolerated dose (MTD) was estimated to be more than 0.3 mg/kg/day under the conditions tested.

**Keywords** □ DA-125, repeated dose toxicity.

\* To whom correspondence should be addressed.

Doxorubicin과 daunorubicin으로 대표되는 anthracycline계 항암제는 급성백혈병과 여러 고형종양의 치료에 중요한 암화학요법제 중의 하나이다. 그러나 이들 항암제의 임상사용은 총투여량에 비례하여 나타나는 비가역적인 심근증(cardiomyopathy)에 의해서 제한되고 있다. 위와 같은 이유로 독성을 경감시키고 효력을 높이기 위해 수많은 anthracycline 유도체가 합성되어 평가되었으며 그중 극히 일부인 epirubicin, esorubicin, 그리고 idarubicin 등은 우수한 항암효과를 나타내며 심장독성 등의 부작용이 경감된 것으로 나타나고 있다(Chabner와 Myers, 1989; Calabresi와 Chabner, 1991). DA-125는 동아 제약연구소에서 합성한 anthracycline 유도체로서 인체 암세포를 이용한 MTT assay와 마우스 백혈병세포인 L 1210과 P388 세포를 이용한 효력시험에서 doxorubicin (DXR)보다 강한 세포독성과 우수한 항암효과를 나타냈으며 마우스와 랫드를 이용한 1회투여 급성독성시험에서는 반수치사량(LD<sub>50</sub>)이 DXR보다 높은 것으로 나타나 독성도 DXR보다 약했다(안 등, 1993). 또한 햄스터와 랫드를 이용한 심장독성시험에서도 심장독성이 DXR보다 약한 것으로 나타났다(백 등, 1993).

본 연구는 DA-125의 안전성평가의 일환으로 반복투여독성을 연구하기 위해 실시하였다.

**재료 및 방법**

**시험물질**

DA-125(Lot No. DA-125-R-024, 순도 972 mcg/mg)는 무취의 적색분말이며 냉장 건암소에 보관하며 사용하였다.

**4주 용량설정시험(DRF)**

6주령의 Charles River Crl:CD<sub>1</sub>BR rat를 Charles River Laboratories(Portage, Michigan)로부터 구입하여 10일간 순화사육하면서 임상검사 및 안검사를 실시하여, 건강한 동물로 암수 각 50마리를 선택하여 시험에 사용하였으며, 이때 체중은 수컷이 203~235 g이고 암컷이 173~206 g이었다. 동물의 식별은 개별적인 metallic ear tag으로 하였다.

동물은 스텐레스 철망 cage에 개별수용되어 온도 23±0.6°C, 습도 47±4.1%, 12시간 명/12시간 암 cycle로 설정된 사육환경에서 Ground diet(Certified Rodent Chow® #5002, Purina Mills, Inc., St. Louis, Missouri)와 수도수를 자유롭게 섭취하였다.

투여용량의 설정은 전에 실시된 급성독성시험자료를 토대로 하여 4주간 투여시 폐사를 포함하여 다양한 독성을 나타낼 것으로 추정되는 용량범위를 설정하고자 8.0 mg/kg/day를 최고용량으로 하여 이하 공비 4로 2.0, 0.5, 그리고 0.125 mg/kg/day의 총 4개 용량을 설정하였다.

투여액의 조제는 각각의 투여용량으로 평량한 DA-125를 pH 3.6의 1 mM lactic acid 용액으로 용해시켜 0.2

micron filter로 filtration하였으며 용매는 적당량의 lactic acid를 평량하여 saline으로 용해시켰으며 NaOH 또는 HCl을 가하여 pH를 3.6으로 조절하고 0.2 micron filter로 filtration하였다.

약물의 투여는 1.0 cc의 Becton Dickinson 주사기를 이용하여 각각의 용량군에 1 ml/kg의 액량으로 미정맥내 투여하였다. 대조군에는 용매를 같은 식으로 투여하였다.

임상증상은 매일 2회 이상씩 관찰하였으며, 체중은 약물투여 개시전과 매주 1회씩 측정하였으며, 사료섭취량은 주 1회씩 측정하였다. 측정된 체중과 사료섭취량을 이용하여 사료효율을 구하였다.

시험도중 폐사동물이나 투약종료시 살아남은 모든 동물에 대하여 병리학자의 직접적인 지휘아래 부검을 실시하여 두개강, 흉강 그리고 복강내의 이상유·무를 관찰하고 육안적 이상소견은 모두 기록하였다. 그리고 육안적이상이 관찰된 장기는 모두 조직병리학적 검사를 실시하였다. 그리고 폐장, 심장, 간장, 신장, 비장, 췌장, 뇌, 뇌하수체, 위장관, 임파절, 좌골신경, 골격근, 유선부, 이하선, 고환, 난소, 주사부위, 피부, 흉선, 방광, 자궁, 척수 등의 장기를 10% 완충 중성 포르말린에 고정하여 추후 조직검사가 필요할 경우 조직검사를 실시하였다.

체중, 사료섭취량, 사료효율 등의 자료는 Bartlett's test를 실시한 후 ANOVA를 실시하였으며, 약물투여군과 대조군간의 비교는 성별로 나누어 variance의 동질성 유·무를 검사한 후 Steel과 Torrie(Steel과 Torrie, 1980)가 기술한 방법에 따라 적절한 t-test를 이용하여 실시하였다. 모든 통계해석에서 유의수준으로 P<0.05와 P<0.01을 이용하였다. 본 시험에서의 통계처리는 Bartlett's test를 제외하고 모두 통계처리 프로그램인 SAS (statistical analysis system)를 이용하여 실시하였으며 시험은 미국의 international research and development corporation(IRDC)사에서 수행되었다.

**13주 아급성독성시험**

6주령의 Charles River Crl:CD<sub>1</sub>BR rat를 Charles River Laboratories(Portage, Michigan)로부터 구입하여 8일간 순화 사육하면서 건강상태를 관찰하고 안검사를 실시하였으며, 성별로 질병 및 신체적 이상유·무를 확인한 후 건강한 동물만을 선별하여 체중을 측정하고 체중을 근거로 하여 Xyblon randomization 방법(randomization methods)으로 군분리를 하였다. 이때 동물의 체중은 수컷이 191-214 g, 암컷이 157-181 g이었다. 동물의 개체식별은 번호를 새긴 metallic ear tag을 부착하여 실시하였다.

각 동물은 스텐레스 철망 cage에 개별 수용되어 12시간 명/12시간 암 cycle, 온도 19±0.6°C, 그리고 상대습도가 52.4±6.5%로 조정된 사육실에서 사육되었다. 동물은 설치류용 사료(Certified Rodent Chow® #5002, Purina Mills, Inc., St. Louis, Missouri)와 수도수를 자유롭게 섭취하였으며 임상검사용 시료를 채취하기 전날 밤에는

사료를 급여하지 않았다.

투여용량의 결정은 DA-125의 급성독성시험 결과(안 등, 1993)와 4주 용량설정시험 결과 그리고 DA-125와 같은 anthracycline계열의 약제인 THP adriamycin의 급성 및 아급성독성시험 자료(Kurube 등, 1986; Tone 등, 1986)를 참고로 하여 고용량군에서는 폐사례는 나타나지 않으나 control과 비교하여 10% 내외의 체중증가 억제와 기타 다양한 독성을 나타내는 용량을 설정하고, 저용량군은 약물에 의한 독성을 나타내지 않는 용량을 설정하고자 하였다. 위와 같은 목적을 달성하고자 13주 연속 투여용량으로 0.012, 0.08 그리고 0.3 mg/kg/day의 용량을 설정하였다.

투여액의 조제는 각각의 투여용량으로 평량한 DA-125를 pH 3.6의 1 mM lactic acid 용액으로 용해시켜 0.2 micron filter로 filtration하였으며 용매는 적당량의 lactic acid를 평량하여 saline으로 용해시켰으며 NaOH 또는 HCL을 가하여 pH를 3.6으로 조절하고 0.2 micron filter로 filtration하였다.

약물의 투여는 1 ml/kg의 액량으로 DA-125 0.012, 0.08 그리고 0.3 mg/kg/day의 용량을 13주간 연속 좌·우측 미정맥내로 투여하였으며 대조군에는 용매만을 같은 식으로 투여하였다. 꼬리가 건조할 경우 필요에 따라서는 약물투여 후 petroleum jelly를 꼬리에 발라주었다.

폐사 및 임상증상은 매일 2회씩 관찰하였으며 체중의 측정에는 투여개시 전과 매주 1회씩 실시하였다. 사료섭취량은 주 1회씩 측정하였으며 체중측정결과와 사료 섭취량을 이용하여 사료효율을 계산하였다. 음수량은 주 3회씩 측정하여 주 단위로 계산하였다.

안검사는 모든 동물을 대상으로 수의 안과외과가 투약개시전과 시험종료시에 실시하였다. 검사는 binocular indirect ophthalmoscope을 이용하여 1% tropicamide용액으로 동공을 확장시킨 후 각막, 수정체, lens, 초자체 등의 투명도와 안저반사 등을 검사하였다.

임상병리학적 검사로 시험7주째에 대조군과 고용량군의 differential count를 실시하였다. 또한 시험종료시에는 건군의 모든 동물을 대상으로 안와정맥총에서 혈액을 채취하여 혈액학적 검사로 총백혈구수와 백혈구 감별계산, 적혈구수, hemoglobin양, hematocrit, MCV, MCH, MCHC, platelet수, 망상적혈구수 등을 측정하였으며, 혈액응고능 검사로는 PT(prothrombin time)와 APTT(activated partial thromboplastin time)를 측정하였다. 혈액 화학적검사로 transaminase(ALT, AST), ALP(alkaline phosphatase), LDH(lactic dehydrogenase), CPK(creatine phosphokinase), UN(urea nitrogen), Creat(creatinine), T prot(total protein), ALB(albumin), GLO(globulin), A/G ratio, TG(triglyceride), CHOL(cholesterol), GLU(glucose), bili T(total bilirubin), sodium, potassium, chloride, calcium, phosphorus 등을 측정하였다. 뇨검사를 위해서는 약 16시간 동안 뇨를 채취하여 뇨량,

비중, pH, sodium, potassium, chloride 등을 측정하였다.

모든 시험동물을 병리학자의 지도하에 자세하게 부검을 실시하였다. 우선 촉진 가능한 병변을 포함하여 외경검사를 실시한 후 복정중선의 피부를 절개하여 복강, 흉강, 그리고 두개강 내를 관찰하고 관찰된 육안소견은 자세하게 기록하였다. 그리고 뇌, 부신, 심장, 신장, 간장, 폐장, 뇌하수체, 전립선, 이하선(악하), 정낭, 비장, 정소, 갑상선/부갑상선, 난소, 자궁/자궁경 등의 장기는 적출하여 절대장기중량을 측정하였으며, 부검전에 측정된 체중을 이용하여 체중에 대한 상대장기중량을 구하였다.

병리조직검사를 위해서는 대조군과 고용량군(0.3 mg/kg/day)의 부신, 대동맥, 골수(대퇴골, 흉골), 뇌, 귀, 정소상체, 식도, 눈, 시신경, 심장, 주사부위, 신장, 위장관, 후두, 간장, 폐장, 악하임파절, 좌골신경, 췌장, 부갑상선, 뇌하수체, 전립선, 이하선(악하), 정낭, 골격근, 피부, 연조직(꼬리), 척수, 비장, 정소, 흉선, 갑상선, 혀, 기관, 방광, 난소, 자궁, 질 등의 조직을 paraffin 절편을 만들고 H-E 염색을 한 후 광학현미경으로 검경하였으며 주사부위 조직은 0.012와 0.08 mg/kg/day 군까지도 조직검사를 실시하였다.

체중, 사료섭취량, 사료효율, 혈액학적 검사결과, 혈액 화학적 검사 결과, 뇨검사 결과 그리고 절대 및 상대 장기중량 등의 자료는 Bartlett's test를 실시한 후 ANOVA를 실시하였으며, 약물투여군과 대조군간의 비교는 성별로 나누어 variance의 동질성 유·무를 검사한 후 Steel과 Torrie(Steel과 Torrie, 1980)가 기술한 방법에 따라 적절한 t-test를 이용하여 실시하였다. 필요할 경우는 Conover와 Iman(Conover와 Iman, 1981)이 기술한 데로 비모수적 통계처리법을 이용하여 통계해석을 실시하였다. 모든 통계해석에서 유의수준으로  $P < 0.05$ 와  $P < 0.01$ 을 이용하였다. 본 시험에서의 통계처리는 Bartlett's test를 제외하고 모두 통계처리 프로그램인 SAS(statistical analysis system)를 이용하여 실시하였으며 시험은 미국의 international research and development corporation(IRDC)사에서 수행되었다.

## 결 과

### 4주 용량설정시험

8.0 mg/kg/day 투여군에서 시험 8일째부터 동물의 폐사가 나타나기 시작하여 시험 15일째까지 전동물이 폐사하였으며, 2.0 mg/kg/day군에서는 수컷 1마리가 폐사하였고 수컷 3마리와 암컷 4마리가 쇠약하여 절박도살하였다(Table I). 임상증상은 주로 8.0과 2.0 mg/kg/day군에서 옹크림, 활동성감소, 배변감소, 뇨색변화, 연변, 탈모, 피부색변화, 코와 눈주위에 적갈색 물질 부착, 안검하수 등이 나타났다(Table II).

체중측정결과 8.0 mg/kg/day군에서 체중이 현저하게 감소하였으며 2.0 mg/kg/day 투여군에서도 대조군과 비

**Table I.** Mortality in rats treated intravenously with DA-125 for 4 weeks

Weeks	Sex	0 mg/kg/day (Control)		0.125 mg/kg/day		0.5 mg/kg/day		2.0 mg/kg/day		8.0 mg/kg/day	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
		0-4	M	0/10	0.0	0/10	0.0	0/10	0.0	4/10	40.0
0-4	F	1/10	10.0	0/10	0.0	0/10	0.0	4/10	40.0	10/10	100.0

A=Dead/Total, B=% Mortality, F=female, M=male.

**Table II.** Clinical signs in rats treated intravenously with DA-125 for 4 weeks

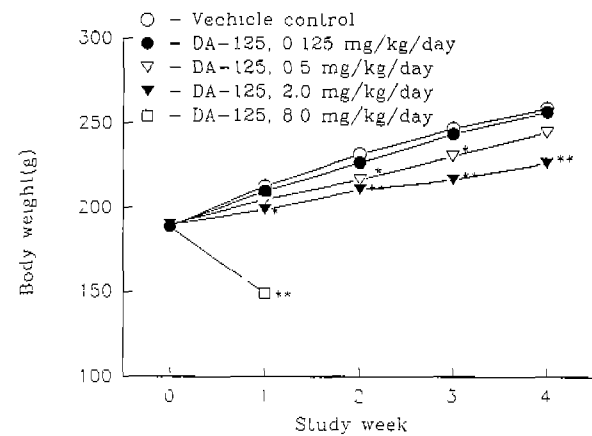
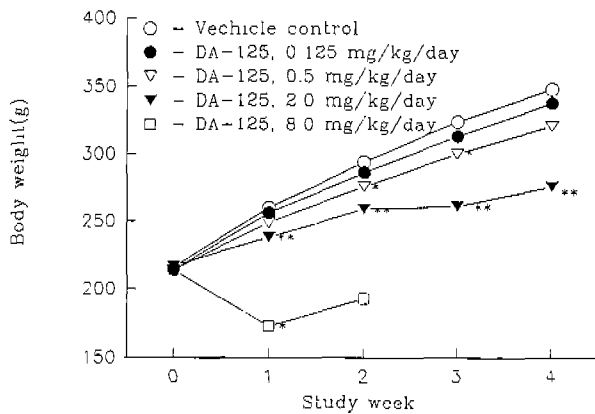
Interval: 1~4 Weeks											
Dosage in (mg/kg/day)											
Observation	0		0.125		0.5		2.0		8.0		
	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
<b>Appearance and condition</b>											
Abnormal material below cage	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
Hunched posture	0	0	0	0	0	0	1	2	5	7	
Moribund	0	0	0	0	0	0	3	4	1	2	
Portion external ear missing	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
Tail bent	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	
Tail/portion of tail missing	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	
Ungroomed	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	
Dead	0	0	0	0	0	0	1	0	9	8	
<b>Behavior/activity</b>											
Decreased activity	0	0	0	0	0	0	1	1	6	6	
<b>Excretion</b>											
Decreased defecation	0	0	0	0	0	0	1	3	7	9	
Discolored urine	0	0	0	0	0	0	9	9	10	10	
Soft stool	0	0	0	0	0	0	0	0	10	8	
<b>Body surface</b>											
Abrasion	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	
Hair loss	1	0	0	0	0	0	0	0	6	6	
Scabbed area	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Skin discolored	0	0	0	2	4	8	10	10	10	10	
<b>Oral/nasal</b>											
Red/brown material around nose	1	2	2	0	0	0	7	4	9	8	
<b>Eyes</b>											
Eye discolored	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
Ptosis	0	0	0	0	0	0	0	1	6	8	

Key: ( )=Number of animals alive at start of interval.

교하여 체중이 감소하였으며 0.5 mg/kg/day 투여군에서는 체중증가 억제 나타났(Fig. 1, 2). 사료섭취량은 시험 첫주에 8.0 mg/kg/day군에서 대조군과 비교하여 유의성있게 감소하였으며 2.0 mg/kg/day 군에서도 약간 감소하였다. 그 이하 군에서는 변화가 없었다. 사료효율의 계산 결과는 DA-125 2.0과 8.0 mg/kg/day 군의 사료효율이 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있는 감소

를 나타냈다.

약물투여와 관련된 육안소견은 주사부위의 피부와 몇 가지 내부장기에서 관찰되었다. 8.0, 2.0 그리고 0.5 mg/kg/day 군에서 꼬리에 가피형성 또는 꼬리피부의 발적 등이 관찰되었으며, 8.0과 2.0 mg/kg/day 군에서 시험도중 폐사동물과 절박도살한 동물의 선위(glandular stomach), 맹장, 신장, 폐장 그리고 방광 등에서 적색반점



**Fig. 1.** Body weight change in male rats treated I.V. with DA-125 for 4 weeks. \*( $P < 0.05$ ), \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from control.

**Fig. 2.** Body weight change in female rats treated I.V. with DA-125 for 4 weeks. \*( $P < 0.05$ ), \*\*( $P < 0.01$ ): Significantly different from control.

**Table III.** Macroscopic findings in rats treated intravenously with DA-125 for 4 weeks

SITE	0 mg/kg/day (Control)		0.125 mg/kg/day		0.5 mg/kg/day		2.0 mg/kg/day		8.0 mg/kg/day	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
-Observation										
Number of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
All Tissues										
-Autolysis, moderate									1	1
Cecum										
-Foci, red, trace										1
-Discolored, red/black, -trace									1	1
-mild									1	3
-moderate									2	
Injection Site										
-Within normal limits	10	9	10	10	10	10	9	8	10	10
-Discolored, red, mild							1	1		
-Scabs, trace		1						1		
Epididymis										
-Focus, yellow, mild			1							
Kidney										
-Discoloration, red, mild							1			
-Foci, tan, mild							1			
Liver										
-Foci, tan, mild							1			
Lung										
-Foci, red/black, -trace				1			1	1		1
-moderate							1			
-Discolored, red, trace						1		1		
moderate							1		1	1
-Consolidation, moderate							1			
-Nodule							1			
-Foci, brown, trace							1			
mild			2							
-Foci, brown, moderate							1			
Lymph Node										
-renal, enlarged, trace							1			
-Iliac, enlarged, mild							1			

Table III. continued

SITE	0		0.125		0.5		2.0		8.0	
	mg/kg/day		mg/kg/day		mg/kg/day		mg/kg/day		mg/kg/day	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
-Observation										
Lymph Node, Mandibular										
-Enlarged, -trace				1			1			
-mild							1	1		
Lymph Node, Mesenteric										
-Discolored, red, mild							1			
Salivary Gland, Mandibular										
-Discoloration, red, mild							1			
Skin/Subcutis										
-Scabbed area, mild							1			
-Discolored, red, mild							1			
Skin, Ear										
-Scabbed area, -trace			2			1	2		0	
-mild							2			
-Discolored, black, -mild							1		0	
-moderate							1			
-Portion missing, no grade			1							
Skin, Head										
-Scab, mild							1			
Skin, Tail										
-Within normal limits	10	9	9	6	9	8	2	2	4	2
-Scabbed area, -trace		1	1	3	1	1	3	2	2	1
-mild				1			3	4	1	1
-moderate								2		
-Discolored, red, -trace				3		2	2	5	4	5
-mild							3		2	3
-moderate								1		
-Portion missing, no grade				2						
Spleen										
-Small, moderate										1
Stomach, Glandular										
-Foci, red/black, -trace							1		1	4
-mild							1		1	1
Testis										
-Enlarged, trace			1							
-Discolored, red, severe							1			
Thymus										
-Discolored, red, mild				1						
Urinary Bladder										
-Discolored, red, mild									1	1

M: male, F: female.

또는 장기의 발적이 관찰되었다(Table III).

육안소견이 관찰된 장기만을 대상으로 실시한 병리조직학적 검사결과 주사부위 피부에서는 necrosis(epidermis와 dermis), hyperkeratosis, acanthosis, inflammation, 그리고 hemorrhage(interstitial과 subcutis)가 관찰되었다. 선위(glandular stomach)에서는 충·출혈과 선위부 점막의 미란(erosion)이 관찰되었고, 맹장에서는 점막선(mucosal gland)의 확장, 그리고 점막선을 피복하

고 있는 상피세포의 hypertrophy가 관찰되었다. 신장에서는 피·수질접합부(corticomedullary junction)에서 전색과 국소 피사가 관찰되었다. 폐장에서는 충·출혈과 삼출성 폐렴소견이 관찰되었다. 또한 방광에서는 근층과 점막하조직에서 다발성 국소성 출혈(multifocal hemorrhage)이 관찰되었다(Table IV).

13주 아급성독성시험

0.3 mg/kg/day 군의 수컷 1마리가 시험 26일째 폐사

**Table IV.** Microscopic observations in rats treated intravenously with DA-125 for 4 weeks

Tissue Observation	0 mg/kg/day (Control)		0.125 mg/kg/day		0.5 mg/kg/day		2.0 mg/kg/day		8.0 mg/kg/day	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Sex										
Cecum	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(4)	(5)
Congestion, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Hemorrhage, -trace	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
-mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
-moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Inflammation, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Dilated/cystic glands, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4
Hypertrophy, epithelial, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Epididymis	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Within normal limits	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Injection Site	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(2)	(0)	(0)
Acanthosis, mild	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Hyperkeratosis, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Inflammation,	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
-trace	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
-mild	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Necrosis,	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
-mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
-moderate	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Kidney	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)
Infarct, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Necrosis, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bacterial colonies, moderate	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Liver	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)
Necrosis, mild.	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bacterial colonies, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lung	(0)	(0)	(2)	(1)	(0)	(3)	(3)	(2)	(1)	(0)
Within normal limits	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Alveolar macrophages, trace	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Congestion, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemorrhage,	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0
-trace	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
-mild	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
-moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Interstitial pneumonia,	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0
-trace	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
-mild	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Bacterial colonies, mild	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Pleuritis, trace	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Pneumonia, acute exudative, mild	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Lymph Node	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Hemorrhage, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Iliac	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Hemorrhage, severe	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymphoid depletion, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bacterial colonies, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Mandibular	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(1)	(2)	(0)	(0)	(0)
Within normal limits	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Hemorrhage, mild	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Mesenteric	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Hemorrhage, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Salivary Gland, Mandibular	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Inflammation, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Table IV. continued

Tissue Observation	0 mg/kg/day (Control)		0.125 mg/kg/day		0.5 mg/kg/day		2.0 mg/kg/day		8.0 mg/kg/day	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Sex										
Skin	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)
Inflammation, mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Necrosis, moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Skin, Ear	(0)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(4)	(5)	(0)	(0)
Inflammation,	0	1	2	3	1	2	3	4	0	0
-trace	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0
-mild	0	0	0	3	0	0	2	1	0	0
-moderate	0	1	0	0	0	2	1	3	0	0
Necrosis, moderate	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Bacterial colonies, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Exudate, epidermal surface, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
moderate	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Skin, Head	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Necrosis, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bacterial colonies, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Skin, Tail	(0)	(1)	(1)	(4)	(1)	(2)	(7)	(8)	(6)	(8)
Within normal limits	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
Acanthosis,	0	0	0	1	0	1	3	5	4	3
-trace	0	0	0	1	0	1	0	1	2	3
-mild	0	0	0	0	0	0	2	3	2	0
-moderate	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Hemorrhage, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4
Hyperkeratosis,	0	0	0	0	0	0	4	3	4	5
-trace	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
-mild	0	1	0	0	0	0	4	3	3	3
Inflammation,	0	0	0	4	1	1	5	5	0	0
-trace	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0
-mild	0	0	0	1	1	0	3	4	0	0
-moderate	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
Necrosis,	0	0	0	3	1	0	3	4	1	2
-mild	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
-moderate	0	0	0	3	0	0	3	3	1	2
Thrombosis, no grade	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Exudate, epidermal surface, mild	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Skin, Thoracic	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Hemorrhage, moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bacterial colonies, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
Lymphoid depletion, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach, Glandular	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(2)	(5)
Within normal limits	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Congestion, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Erosion, mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Hemorrhage,	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4
-trace	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
-mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Testis	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
Dilatation, tubular, mild	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage, mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Aspermatogenesis, mild	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Urinary Bladder	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)
Hemorrhage, trace	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

CODE: ( )=NUMBER OF ANIMALS EXAMINED.

M: male, F: female.



하였다. 이 동물에서 나타난 임상증상은 시험 3주째에 왼쪽 귀의 미약한 국소적 종창뿐이었으며 이외의 특이한 임상증상은 관찰되지 않았다. 그외 동물의 폐사는 암컷의 대조군과 0.3 mg/kg/day군에서 각각 1마리가 시험 92일째 채혈 후 폐사하였으며, 나머지 동물은 모두 시험종료시까지 생존하였다. 시험기간 중 전군의 동물에서 고르게 왼쪽 귀에 미약한 국소적 종창이 나타났으며 특히 0.3 mg/kg/day 군에서는 많은 동물이 종창을 나타냈다. 또한 0.3 mg/kg/day 군에서는 동물의 피부색의 변화가 관찰되었다(Table V).

체중측정결과 시험물질투여와 관련된 체중의 유의한 변화는 어느 군에서도 나타나지 않았으나 시험 13주째 암·수 고용량군의 체중이 대조군의 체중과 비교하여 각각 2.0과 2.8% 적게 나타났었다(Fig. 3, 4).

사료섭취량의 측정결과 시험물질투여와 관련하여 유의한 변화를 나타내지 않았다. 수컷 0.012 mg/kg/day 군이 시험 8주째에, 암컷 0.012와 0.08 mg/kg/day 군이 시험 7주째에 각각 대조군과 비교하여 일시적인 통계적

유의차를 나타냈다. 그리고 고용량군인 0.3 mg/kg/day 투여군에서는 사료섭취량이 감소된 경향을 나타냈으나 통계적 유의차를 보이지는 않았다(Fig. 5, 6). 체중과 사료섭취량을 토대로 산출한 사료효율에서는 어느 군에서도 변화를 나타내지 않았다.

물섭취량은 약물투여군이 대조군보다 낮은 경향을 나타냈으나 용량상관성을 보이거나 통계적 유의차를 나타내지는 않았다. 안검사결과 어느 군에서도 이상은 관찰되지 않았다.

혈액학적 검사결과 0.3 mg/kg/day 군에서 적혈구수가 약간 적게 나타났으나 평균값의 차이도 적고 0.3 mg/kg/day 군의 적혈구수도 정상범위 내에 들어 독성학적으로 중요하지 않은 것으로 판단되었다(Table VI). 혈액생화학적 검사결과와 뇨검사 결과 어느 군에서도 약물투여와 관련하여 변화를 나타낸 항목은 없었다(Table VII, VIII).

시험도중 폐사동물과 시험종료시까지 생존한 동물의 부검시 0.3 mg/kg/day 군의 수컷 1마리가 꼬리에 국소

**Table V.** Clinical signs in rats treated intravenously with DA-125 for 13 weeks

Interval: 1~13 Weeks Dosage in (mg/kg) Observation	0 (Control)		0.012		0.08		0.3	
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
	M	F	M	F	M	F	M	F
<b>Appearance and condition</b>								
Abnormal material below cage	0	0	0	0	0	0	2	0
Firm areas	0	0	1	0	0	0	0	0
Portion external ear missing	1	1	1	0	0	0	0	0
<b>Body surface</b>								
Abrasion	0	0	0	1	2	1	1	2
Focal swelling	4	1	5	2	4	4	6	6
Generalized swelling	0	0	0	0	0	0	0	1
Scabbed area	0	3	1	1	4	2	4	3
Skin discolored	0	0	0	0	0	2	4	
Alopecia	0	2	0	2	1	0	0	3
<b>Oral/nasal</b>								
Malocclusion	0	0	1	0	0	0	1	0
Red/brown material around nose	0	2	1	1	1	0	3	1
<b>Eyes</b>								
Area around eye/eyelids red	0	0	0	0	0	0	1	0
Eye discolored	0	1	0	0	0	0	0	0
Eye small	0	1	0	0	0	0	0	0
Material around eye	0	2	1	0	0	0	1	0
<b>Subcutaneous mass</b>								
Left ventral abdomen	0	0	1	0	0	0	0	0
Posterior ventral abdomen	0	1	0	0	0	0	0	0

Key: ( )=Number of animals alive at start of interval.  
F: female, M: male

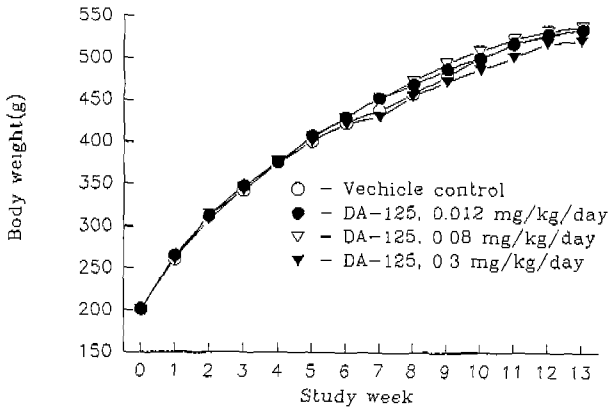


Fig. 3. Body weight change in male rats treated I. V. with DA-125 for 13 weeks.

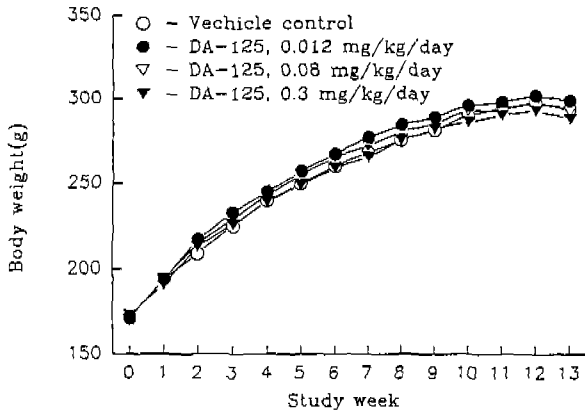


Fig. 4. Body weight change in female rats treated I. V. with DA-125 for 13 weeks.

적으로 초과상을 입은 것이 관찰되었으나 이는 약물투여도중 입은 창상에 의한 것으로 생각되었다. 그외 특기할 만한 육안소견은 관찰되지않았다.

부검시 장기중량을 측정된 결과 수컷 0.3 mg/kg/day 군의 폐장중량 증가와 흉선의 무게감소, 수컷 0.08 mg/kg/day 군의 뇌하수체와 갑상선/부갑상선의 중량 증가 그리고 암컷 0.012 mg/kg/day 군에서 뇌하수체의 중량 증가 등이 통계학적으로 유의성 있는 변화를 나타냈다.

위의 변화 중 흉선 중량의 감소는 용량상관성을 나타냈으며 암·수 0.3 mg/kg/day 군에서 대조군과 비교하여 각각 9와 24%가 적었다. 암컷의 경우는 통계학적으로 유의한 차를 나타내지는 않았으나 용량상관성있는 흉선 중량의 감소를 나타내고 있어 흉선중량의 감소는 약물투여에 기인한 것으로 생각되었다. 그외 폐장, 뇌하수체, 그리고 갑상선/부갑상선 등의 무게변화는 용량상관성을 나타내지도 않고 평균수치의 차이도 적어서 약물투여에 의한 것이라고 생각하기는 어려웠다(Table IX).

시험도중 폐사동물과 대조군 그리고 고용량군(0.3 mg

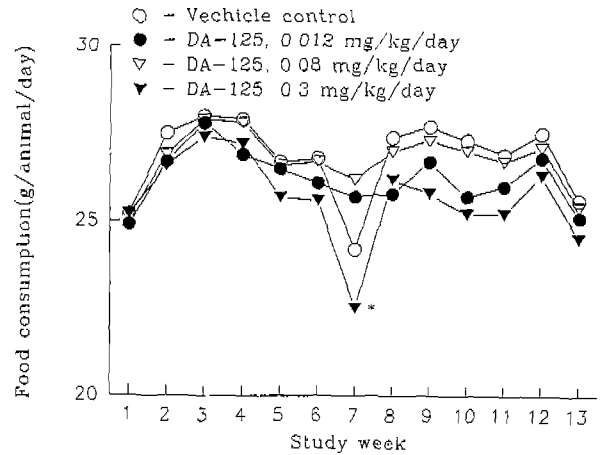


Fig. 5. Food consumption values in male rats treated I. V. with DA-125 for 13 weeks. \*: Significantly different from control (P<0.05).

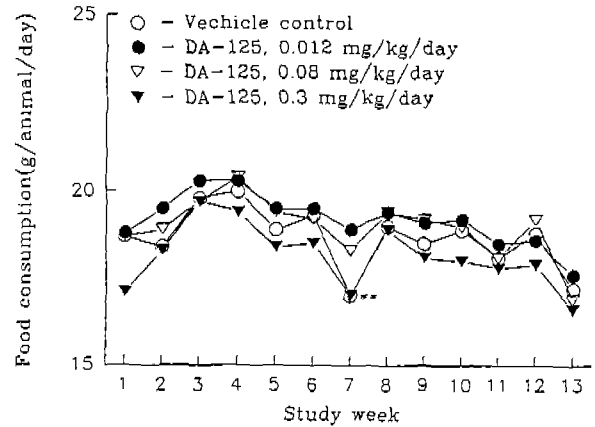


Fig. 6. Food consumption values in female rats treated I. V. with DA-125 for 13 weeks. \*\*: Significantly different from control (P<0.01).

/kg/day)의 전 동물을 대상으로 실시한 병리조직학적 검사에서 약물투여와 관련이 있는 조직학적 소견으로 암·수 0.08과 0.3 mg/kg/day 군에서 주사부위에서 괴사가 관찰되었다. 괴사는 주로 꼬리의 lateral vein의 주위조직에서 관찰되었으나 가끔씩 lateral vein의 벽까지 퍼져있기도 하였다. 괴사조직은 호산성 무구조의 물질로 이루어져 있었으며 때때로 농축된 핵과 섬유소모양의 물질이 혼재되어있었다. 주사부위에서 관찰된 또다른 조직학적 소견으로 미약한 염증, 출혈, 피부염, 정맥염 그리고 혈전증 등이 있었으나 이러한 소견은 전군에서 고루 관찰되어 약물의 주사시에 생긴 창상에 의한 것으로 생각되었다. 위의 소견 중 출혈은 0.08 mg/kg/day군부터 출현빈도가 증가하였다(Table X). 그리고 시험 26일째 폐사한 0.3 mg/kg/day군의 동물의 폐사원인은 육안소견과 조직소견에 의해서 밝혀지지않았다.

**Table VI.** Hematological values in rats treated intravenously with DA-125 for 13 weeks

Parameters	Sex	Dose levels mg/kg/day			
		0	0.012	0.08	0.3
Leukocytes ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	M	7.8 $\pm$ 1.41	9.0 $\pm$ 2.12	8.3 $\pm$ 1.60	6.5 $\pm$ 1.11
	F	5.2 $\pm$ 1.00	6.0 $\pm$ 1.65	5.7 $\pm$ 1.17	5.1 $\pm$ 1.76
Erythrocytes ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	M	7.63 $\pm$ 0.503	8.05 $\pm$ 0.697	7.45 $\pm$ 0.378	6.92 $\pm$ 0.450*
	F	6.81 $\pm$ 0.556	6.64 $\pm$ 0.769	6.54 $\pm$ 0.539	6.40 $\pm$ 0.734
Hemoglobin (g/dl)	M	15.5 $\pm$ 0.88	15.7 $\pm$ 0.49	15.1 $\pm$ 0.77	14.8 $\pm$ 0.75
	F	15.4 $\pm$ 0.61	15.4 $\pm$ 1.02	15.1 $\pm$ 0.39	14.6 $\pm$ 1.38
Hematocrit (%)	M	44.2 $\pm$ 2.96	45.7 $\pm$ 3.48	43.4 $\pm$ 2.50	41.2 $\pm$ 2.74
	F	41.3 $\pm$ 2.83	40.6 $\pm$ 3.59	39.6 $\pm$ 2.84	39.1 $\pm$ 4.82
MCV (fl)	M	58.0 $\pm$ 1.94	56.9 $\pm$ 1.62	58.3 $\pm$ 1.71	59.6 $\pm$ 1.22
	F	60.7 $\pm$ 2.08	61.3 $\pm$ 2.20	60.6 $\pm$ 1.31	61.1 $\pm$ 1.74
MCH (pg)	M	20.4 $\pm$ 1.45	19.6 $\pm$ 1.49	20.3 $\pm$ 1.38	21.4 $\pm$ 1.09
	F	22.7 $\pm$ 1.22	23.3 $\pm$ 2.02	23.2 $\pm$ 1.55	23.0 $\pm$ 1.72
MCHC (%)	M	35.2 $\pm$ 2.04	34.5 $\pm$ 2.20	34.8 $\pm$ 2.36	35.9 $\pm$ 1.42
	F	37.4 $\pm$ 1.75	38.0 $\pm$ 2.11	38.2 $\pm$ 2.17	37.6 $\pm$ 2.44
Platelets ( $\times 10^2/\text{mm}^2$ )	M	1052 $\pm$ 118.3	1047 $\pm$ 86.5	1002 $\pm$ 144.7	1067 $\pm$ 163.5
	F	991 $\pm$ 153.3	982 $\pm$ 112.1	1006 $\pm$ 72.7	1046 $\pm$ 144.1
Reticulocytes (/100 RBC)	M	0.1 $\pm$ 0.08	0.1 $\pm$ 0.07	0.1 $\pm$ 0.08	0.1 $\pm$ 0.08
	F	0.1 $\pm$ 0.08	0.1 $\pm$ 0.05	0.1 $\pm$ 0.06	0.1 $\pm$ 0.07
APTT (seconds)	M	21.3 $\pm$ 2.01	21.0 $\pm$ 2.34	21.5 $\pm$ 2.75	20.8 $\pm$ 1.49
	F	18.1 $\pm$ 2.13	18.4 $\pm$ 1.46	19.3 $\pm$ 1.85	17.9 $\pm$ 1.41
PT (seconds)	M	14.0 $\pm$ 0.79	13.3 $\pm$ 0.67	13.9 $\pm$ 0.77	14.0 $\pm$ 1.11
	F	12.8 $\pm$ 0.61	12.9 $\pm$ 0.53	13.1 $\pm$ 0.46	12.8 $\pm$ 0.28

Each value represents mean $\pm$ S.D. of ten rats.

\*: Significantly different from control ( $P < 0.05$ ).

## 고 찰

새로운 anthracycline계 항암성 항생물질 DA-125의 반복투여독성을 조사하고자 4주 용량설정(DRF) 시험과 13주 아급성독성시험을 실시하였다.

4주 용량설정시험 결과 8.0과 2.0 mg/kg/day 투여군에서 약물투여와 관련하여 동물의 폐사, 체중감소, 웅크림, 활동성감소, 뇨색변화, 연변, 탈모 등이 나타났고 시험도중 폐사한 동물의 부검결과 선위, 맹장, 신장, 폐장 그리고 방광 등의 장기에서 충·출혈이 관찰되었다. 위의 결과는 DA-125의 랫드에 있어서 정맥내투여 급성독성 시험(안 등, 1993) 시에 나타났던 동물의 폐사, 임상증상, 그리고 장기의 출혈소견과 대부분이 일치하는 소견으로 DA-125에 의한 반복투여독성의 양상이 단회 투여시와 같은 것으로 나타났다. 임상증상으로 나타난 뇨색의 변화는 투여된 DA-125의 일부가 신장을 통해 배설되기 때문인 것으로 생각되며 실제로 DA-125를 랫드에 10 mg/kg 투여한 후 뇨중배설을 측정된 결과 투여량의 9%가 DA-125의 대사체중 하나인 M2의 형태로 배설되는

것으로 나타났다(미발표자료). 위와 같은 영향으로 신장에서는 doxorubicin, daunorubicin(Bertani 등, 1982) 그리고 epirubicin(Bertazzoli 등, 1985) 등에 의해서도 일어나는 nephrotic syndrome과 유사한 병변이 나타났으며 방광에서도 충·출혈이 나타난 것으로 추측되었다. 반면 간장은 대부분의 anthracycline계 약물의 주요 대사 및 배설 장기이며(Myers, 1982) DA-125의 경우 투여량의 26%가 간장을 통하여 담즙으로 배설되나(미발표자료) 간장의 변화는 나타나지 않았다. 약물투여시 독성의 발현은 분화가 빠른 모근세포와 위장관 계통의 세포가 상해를 입어 탈모와 위장관 출혈이 일어나며 이에 따라 흡수장애, 연변, 설사, 체중감소 등의 증상이 나타나면서 동물이 서서히 폐사하는 경과를 나타내는 것으로 생각되었다. 위와 같은 소화관 독성은 같은 anthracycline계 항암제인 doxorubicin의 임상사용에서도 나타나는 독성으로 휴약에 의해 회복되는 가역적인 독성이다(Calabresi와 Chabner, 1991). 본 시험에서는 독성의 정도가 강해서 다른 실질장기와 함께 출혈이 생기며 동물이 폐사한 것으로 판단되었다. 2.0 mg/kg/day 군에서 이러한

**Table VII.** Biochemical values in rats treated intravenously with DA-125 for 13 weeks

Parameters	Sex	Dose levels mg/kg/day			
		0	0.012	0.08	0.3
AST (IU/L)	M	92± 18.2	89± 15.5	88± 12.9	86± 17.9
	F	94± 16.4	95± 20.1	98± 32.8	85± 13.3
ALT (IU/L)	M	36± 10.1	33± 4.3	29± 4.1	27± 3.9
	F	32± 8.2	31± 7.9	41± 30.3	30± 9.5
LDH (IU/L)	M	685± 178.3	720± 300.4	642± 298.5	742± 368.9
	F	732± 297.8	671± 316.8	762± 267.8	666± 168.0
CPK (IU/L)	M	463± 168.9	453± 209.5	419± 153.1	466± 262.3
	F	480± 230.9	472± 274.1	501± 164.3	424± 130.0
Urea nitrogen (mg/dl)	F	13± 1.4	12± 1.9	12± 2.2	12± 2.0
	F	13± 1.9	12± 2.2	12± 1.0	13± 2.9
Creatinine (mg/dl)	M	0.6± 0.08	0.5± 0.07	0.5± 0.08	0.5± 0.09
	F	0.7± 0.07	0.6± 0.07	0.6± 0.08	0.6± 0.07
Total protein (g/dl)	M	6.2± 0.48	6.4± 0.35	6.3± 0.32	6.1± 0.42
	F	7.1± 0.55	7.1± 0.66	7.1± 0.66	6.9± 0.43
Albumin (g/dl)	M	3.1± 0.32	3.1± 0.26	3.1± 0.22	3.0± 0.34
	F	3.7± 0.30	3.6± 0.50	3.5± 0.38	3.6± 0.33
Globulin (g/dl)	M	3.2± 0.44	3.3± 0.23	3.2± 0.30	3.1± 0.44
	F	3.4± 0.42	3.5± 0.26	3.6± 0.39	3.3± 0.24
A/G ratio	M	1.0± 0.18	1.0± 0.11	1.0± 0.16	1.0± 0.23
	F	1.1± 0.16	1.1± 0.12	1.0± 0.13	1.1± 0.13
Triglyceride (mg/dl)	M	109± 34.7	113± 28.7	108± 25.3	104± 27.9
	F	67± 13.5	68± 14.1	65± 6.1	61± 12.6
Cholesterol (mg/dl)	M	63± 9.8	62± 17.6	56± 14.3	53± 10.1
	F	74± 18.8	75± 18.5	81± 21.2	72± 19.0
Glucose (mg/dl)	M	101± 8.5	106± 9.1	107± 8.3	101± 7.6
	F	106± 7.0	107± 8.4	108± 11.5	109± 6.4
NA (mEq/L)	M	145± 2.6	144± 3.6	145± 2.8	145± 2.9
	F	144± 2.1	145± 2.9	144± 2.1	144± 2.8
K (mEq/L)	M	5.8± 0.67	5.9± 0.82	6.2± 0.89	5.8± 0.81
	F	5.9± 0.75	5.9± 0.41	5.8± 0.72	5.8± 0.72
Cl (mEq/L)	M	106± 1.3	106± 2.1	106± 1.3	107± 1.3
	F	108± 0.6	109± 2.7	109± 1.8	109± 2.1
Ca (mg/dl)	M	10.1± 0.44	10.0± 0.58	10.2± 0.50	10.0± 0.34
	F	10.4± 0.28	10.6± 0.49	10.4± 0.36	10.3± 0.42
P (mg/dl)	M	7.3± 0.70	6.9± 0.89	7.4± 1.01	7.1± 0.60
	F	5.8± 1.15	6.1± 0.80	5.7± 1.06	5.7± 0.95
ALP (IU/L)	M	113± 33.7	104± 12.2	100± 24.6	96± 19.4
	F	52± 19.8	64± 17.3	58± 21.1	60± 23.0
Total bilirubin (mg/dl)	M	0.3± 0.11	0.2± 0.11	0.2± 0.08	0.2± 0.07
	F	0.2± 0.07	0.2± 0.10	0.2± 0.07	0.2± 0.11

Each value represents mean± S.D. of ten rats.

**Table VIII.** Urinalysis values in rats treated intravenously with DA-125 for 13 weeks

Parameters measured	Sex	0 mg/kg/day (Control)			0.012 mg/kg/day			0.08 mg/kg/day			0.3 mg/kg/day		
		MEAN	S. D.	N	MEAN	S. D.	N	MEAN	S. D.	N	MEAN	S. D.	N
Volume (ml)	M	15.6	6.14	10	19.1	8.44	10	12.5	4.72	10	20.0	8.67	9
	F	11.7	6.23	10	14.6	8.62	10	11.8	4.81	10	9.5	4.21	10
Specific Gravity	M	1.020	0.0044	10	1.017	0.0054	10	1.020	0.0055	10	1.018 <sup>b</sup>	0.0075	10
	F	1.019	0.0120	10	1.016 <sup>b</sup>	0.0064	10	1.017 <sup>b</sup>	0.0098	10	1.019	0.0117	10
pH	M	7.1	0.16	10	7.1	0.50	10	7.0	0.33	10	6.8	0.54	10
	F	6.6	0.55	10	6.3	0.48	10	6.5	0.55	10	6.6	0.50	10
Sodium (mg/16 hr)	M	10 <sup>c</sup>	2.7	10	8 <sup>c</sup>	3.1	10	8 <sup>c</sup>	3.3	10	8 <sup>c</sup>	3.3	9
	F	6 <sup>c</sup>	2.6	10	7 <sup>c</sup>	1.5	9	6	2.1	9	6 <sup>c</sup>	3.1	9
Potassium (mg/16 hr)	M	52.6	14.21	10	49.3	15.69	10	48.9	13.90	10	46.7	14.98	9
	F	29.4	4.98	10	33.2	8.12	9	28.1	10.71	9	27.3	8.65	9
Chloride (mg/16 hr)	F	14 <sup>c</sup>	4.6	10	16 <sup>c</sup>	4.2	10	12 <sup>c</sup>	4.5	10	15 <sup>c</sup>	5.5	9
	M	10 <sup>c</sup>	2.8	10	13 <sup>c</sup>	2.1	9	11 <sup>c</sup>	4.3	9	9 <sup>c</sup>	4.2	9

S. D.—Standard Deviation.

N—Number of Animals, <sup>b</sup>This mean includes value (s) of  $\leq 1.005$ , <sup>c</sup>This mean includes value (s) which exceeded the linear limit.

F—female, M—male.

**Table IX.** Absolute and relative organ weights in rats treated intravenously with DA-125 for 13 weeks

Parameters	Male				Female			
	Control	0.012	0.08	0.3	Control	0.012	0.08	0.3
Body weight (g)	512± 50.8	511± 50.3	516± 38.2	500± 46.5	276± 12.6	282± 26.3	276± 22.9	275± 26.3
Brain (g)	2.04± 0.120	2.09± 0.110	2.05± 0.135	2.07± 0.095	1.92± 0.098	1.90± 0.097	1.86± 0.085	1.94± 0.101
Brain/B. W. (%×10)	4.01± 0.449	4.11± 0.371	3.99± 0.334	4.17± 0.370	6.96± 0.418	6.79± 0.745	6.79± 0.479	7.11± 0.621
Adrenal (mg)	74± 13.1	77± 14.2	81± 24.5	75± 16.0	89± 14.5	88± 13.8	91± 20.6	90± 14.7
Adrenal/B. W. (%×10 <sup>3</sup> )	14.4± 2.51	15.1± 3.02	15.7± 4.30	15.1± 3.54	32.2± 5.00	31.3± 4.59	33.1± 7.98	32.8± 5.72
Heart (g)	1.75± 0.142	1.67± 0.172	1.84± 0.280	1.77± 0.138	1.12± 0.089	1.10± 0.146	1.08± 0.077	1.09± 0.093
Heart/B. W. (%×10)	3.43± 0.268	3.27± 0.199	3.58± 0.542	3.57± 0.432	4.05± 0.334	3.90± 0.508	3.92± 0.212	3.98± 0.242
Kidney (g)	4.42± 0.582	4.10± 0.524	4.28± 0.348	4.09± 0.426	2.32± 0.141	2.46± 0.327	2.32± 0.179	2.36± 0.230
Kidney/B. W. (%×10)	8.63± 0.756	8.06± 0.938	8.33± 0.739	8.19± 0.669	8.40± 0.464	8.76± 0.966	8.41± 0.451	8.62± 0.584
Liver (g)	17.86± 2.232	18.46± 3.329	18.71± 2.401	17.59± 1.701	9.77± 1.199	10.00± 1.432	9.24± 1.041	9.51± 1.274
Liver/B. W. (%)	3.49± 0.233	3.59± 0.349	3.63± 0.346	3.53± 0.258	3.54± 0.390	3.55± 0.444	3.36± 0.366	3.47± 0.386
Lung (g)	2.04± 0.184	2.08± 0.288	2.01± 0.135	2.25± 0.349	1.56± 0.190	1.60± 0.207	1.57± 0.224	1.58± 0.151
Lung/B. W. (%×10)	3.99± 0.348	4.09± 0.576	3.92± 0.330	4.51*± 0.629	5.66± 0.528	5.72± 0.899	5.72± 0.875	5.79± 0.638
Pituitary (PT, mg)	15± 2.0	15± 2.5	17**± 2.0	16± 2.1	19± 3.6	25*± 5.9	19± 4.0	19± 3.1
PT/B. W. (%×10 <sup>3</sup> )	2.88± 0.551	2.98± 0.464	3.33± 0.428	3.16± 0.480	6.93± 1.163	8.78*± 2.167	6.79± 1.514	6.96± 1.011
Spleen (g)	0.82± 0.118	0.81± 0.144	0.87± 0.102	0.78± 0.135	0.53± 0.095	0.55± 0.093	0.51± 0.059	0.47± 0.074
Spleen/B. W. (%×10)	1.61± 0.168	1.58± 0.236	0.69± 0.187	1.56± 0.265	1.94± 0.357	1.96± 0.321	1.85± 0.240	1.72± 0.226
Testis (g)/ovary (mg)	3.84± 0.300	3.40± 0.816	3.70± 0.260	3.63± 0.540	161± 21.4	160± 18.4	161± 27.4	157± 21.8
Testis/ovary/Body weight (%×10/%×10 <sup>3</sup> )	7.54± 0.667	6.71± 1.659	7.19± 0.519	7.32± 1.262	5.86± 0.885	5.71± 0.715	5.88± 1.096	5.74± 0.882
Thymus (g)	0.42± 0.078	0.41± 0.129	0.41± 0.082	0.32*± 0.072	0.32± 0.041	0.32± 0.082	0.30± 0.056	0.29± 0.068
Thymus/B. W. (%×10)	0.82± 0.137	0.80± 0.245	0.80± 0.156	0.64± 0.156	1.16± 0.172	1.12± 0.246	1.10± 0.206	1.05± 0.232
Thyroid (mg)	28± 3.7	29± 5.2	34**± 4.3	28± 4.0	22± 4.5	26± 5.8	23± 5.7	22± 4.9
Thyroid/B. W. (%×10 <sup>3</sup> )	5.45± 0.825	5.70± 1.206	6.56± 0.985	5.75± 1.020	7.89± 1.660	9.29± 1.950	8.27± 2.037	8.07± 1.599

Values represent mean± S. D. of ten to eleven rats.

\*: Significantly different from control ( $p < 0.05$ ).\*\*: Significantly different from control ( $p < 0.01$ ).

**Table X.** Microscopic observations in rats treated intravenously with DA-125 for 13 weeks

TISSUE OBSERVATION	0 mg/kg/day (Control)		0.012 mg/kg/day		0.08 mg/kg/day		0.3 mg/kg/day	
	M	F	M	F	M	F	M	F
NUMBER OF ANIMALS EXAMINED	12	12	12	12	12	12	12	12
NUMBER WITHIN NORMAL LIMITS	0	0	4	3	2	3	0	0
Sex								
Adrenal Gland, Cortex	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	12	12
Adrenal Gland, Medulla	(11)	(11)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	11	11	0	0	0	0	12	12
Brain	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	12	12
Heart	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(0)
Within normal limits	9	12	0	0	0	0	10	10
Cardiomyopathy,	3	0	0	0	0	0	2	0
-trace	1	0	0	0	0	0	2	0
-mild	2	0	0	0	0	0	0	0
Injection Site	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)	(12)	(12)	(12)
Within normal limits	8	1	6	4	2	3	0	0
Hemorrhage,	1	0	0	1	3	4	1	1
-trace	1	0	0	1	1	2	0	1
-mild	0	0	0	0	2	2	1	0
Necrosis, mild	0	0	0	0	4	6	10	11
Dermatitis, trace	1	0	0	0	0	0	2	0
Inflammation,	4	11	6	6	5	4	6	6
-trace	4	11	6	5	5	2	5	5
-mild	0	0	0	1	0	2	1	1
Phlebitis, mild	0	1	1	2	0	0	0	1
Thrombosis, mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidney	(12)	(12)	(0)	(0)	(1)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	5	7	0	0	0	0	10	8
Hydronephrosis, moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Mineralization, tubular, trace	1	5	0	0	0	0	0	3
Nephropathy, chronic progressive, trace	7	0	0	0	1	0	2	1
Liver	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	10	10	0	0	0	0	12	12
Inflammation, trace	2	2	0	0	0	0	0	0
Lung	(12)	(12)	(0)	(0)	(1)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	6	6	0	0	1	0	4	8
Hemorrhage, mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Granuloma, foreign body, mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Macrophages, alveolar,	2	2	0	0	0	0	2	2
-trace	2	0	0	0	0	0	0	0
-mild	0	2	0	0	0	0	2	2
Mineralization, vascular,	4	1	0	0	0	0	6	4
-trace	1	0	0	0	0	0	0	0
-mild	3	1	0	0	0	0	6	4
Pneumonia, interstitial,	2	4	0	0	0	0	4	0
-trace	2	4	0	0	0	0	3	0
-mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Ovary		(12)		(0)		(0)		(12)
Within normal limits		12		0		0		12
Spleen	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	12	12	0	0	0	0	12	12
Testis	(12)		(1)		(0)		(12)	
Within normal limits	12		0		0		11	
Degeneration, seminiferous tubules, moderate	0		1		0		1	
Thyroid Gland	(12)	(12)	(0)	(0)	(0)	(0)	(12)	(12)
Within normal limits	8	12	0	0	0	0	11	8
Cyst, ultimobranchial, no grade	4	0	0	0	0	0	1	4

CODE: ( )=NUMBER OF ANIMALS EXAMINED.

증상이 발현되지 않았거나 회복한 개체는 시험종료시까지 생존하였으며 부검시 육안적 이상소견도 나타내지 않았다. 또한 0.5 mg/kg/day 군에서는 약물투여와 관련하여 체중증가 억제가 나타났으며 0.125 mg/kg/day 투여군에서는 아무런 증상도 나타나지 않았다. 본 4주 용량설정시험 결과 2 mg/kg/day 군에서 40%의 동물이 폐사하고 많은 장기에서 출혈이 나타난 결과와 DA-125의 4주 정맥내투여 아급성독성시험시(이 등, 1993) 1 mg/kg/day 군에서 동물의 폐사와 장기의 총·출혈 소견이 전혀 관찰되지 않았던 결과를 비교해 보면 DA-125에 의한 동물의 독성발현 및 폐사는 상당히 적은 양의 차이에 의하여 결정됨을 알 수 있었다.

4주 용량설정시험의 결과를 토대로하여 13주 아급성독성시험을 0.3, 0.08, 그리고 0.012 mg/kg/day의 용량으로 실시하였다. 시험도중 0.3 mg/kg/day 군의 수컷 1마리가 시험 26일째, 그리고 시험 92일째 암컷의 대조군과 고용량군의 동물이 1마리씩 체혈후 폐사하였다. 시험 26일째 폐사한 동물의 폐사원인은 육안 및 조직소견에 의해 명확히 밝혀지지 않았으며 시험 92일째 폐사한 동물은 체혈때문에 죽은 것으로 판단되었다. 고용량군인 0.3 mg/kg/day 군에서 체중이 대조군과 비교하여 암수 각각 2와 2.8% 적었다. 이러한 체중의 변화는 미약하지만 4주 DRF시험의 0.5 mg/kg/day 투여군에서 약물투여 후 2~3주째에 체중이 대조군과 비교하여 유의하게 적었던 점을 참고로 생각해보면 시험물질 투여에 의해 나타난 체중증가 억제로 생각되었다. 장기중량측정 결과 중 흉선의 무게가 수컷의 경우 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있게 감소하였으며 암컷의 경우는 통계학적 유의성은 나타내지 않았으나 용량의존적으로 감소를 나타냈다. 흉선은 DA-125와 같은 anthracycline계 항암제인 doxorubicin의 토끼와 개를 이용한 13주 아급성독성시험(Bertazzoli 등, 1972)과 DA-125의 4주 아급성독성시험 결과(이 등, 1993)에서 동물의 종에 상관없이 약물투여에 따라 아주 민감하게 중량의 감소를 나타냈던 장기로 본 DA-125의 13주 아급성독성시험에서도 시험물질의 투여에 따른 변화로 판단되었다. 그러나 흉선은 병리조직검사에 중량감소와 일치하는 조직학적 변화를 나타내지 않았다. 또 다른 약물투여와 관련된 변화로 0.3과 0.08 mg/kg/day 군에서 꼬리의 주사부위 주위조직과 혈관벽에서 피사가 관찰되었다. 이러한 병변은 세포독성을 가지는 항암제의 주사시 소량의 누출에 의해서도 나타날 수 있는 소견으로 doxorubicin과 같은 항암제의 투여시도 일어나는 것으로 보고되고 있다(Ignoffo와 Friedman, 1980; Rudolph 등, 1976). DA-125 또한 강한 세포독성을 가지며 본 시험결과에서 주사부위 꼬리 주위조직의 피사를 유발한 것으로 보아 임상에서 투여시 누출 될 경우 조직피사를 유발할 것으로 예측된다. 그외 0.08과 0.012 mg/kg/day 군에서 사료섭취량과 장기중량 등의 지표가 일시적으로 또는 용량상관성 없이 통계학적으로 유의성

있는 증·감을 나타냈으나 생물학적 또는 독성학적으로 의의가 없는 변화로 생각되고 약물투여와 관련해서 일어난 변화로 생각되지 않았다. 본 DA-125의 13주 아급성독성시험의 결과는 투여용량설정시 예상했던 독성보다 상당히 경미하게 나타났다. 이러한 이유는 DA-125가 독성을 나타내지 않는 양과 독성발현과 폐사를 나타내는 용량의 차이가 적어서 투여량의 소량의 증감에 따라 독성발현과 폐사가 나타나거나 독성이 전혀 나타나지 않거나 하기 때문인 것으로 판단되었다.

본 아급성독성 시험에서 0.012 mg/kg/day 군에서는 약물투여와 관련해서 어떠한 독성변화도 관찰되지 않아 무해용량(NOEL)은 0.012 mg/kg/day로 추정되었으며, 고용량군인 0.3 mg/kg/day 군에서는 약한 체중증가억제, 흉선중량감소 그리고 약물투여부위 주위조직의 피사 등의 독성변화가 나타났으나 이러한 독성은 전신적인 독성변화로는 미약한 것으로서 최대내성용량(MTD)은 0.3 mg/kg/day를 약간 상회할 것으로 추정되었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 과학기술처에서 시행한 특정연구개발사업의 지원으로 이뤄졌으며 이에 진심으로 감사드립니다.

## 참고문헌

- Baik, N. G., Ahn, B. O., Lee, S. B., Kim, W. B., Yang, J. and Watanabe, T. (1993). A study on cardiotoxicity of DA-125, a new anticancer antibiotic. *J. Appl. Pharmacol.* **1**, 9-19.
- Bertani, T., Poggi, A., Pozzoni, R., Delaini, F., Sacchi, G., Thoua, Y., Mecca, G., Remuzzi, G., and Donati, M. B. (1982). Adriamycin induced nephrotic syndrome in rats. *Lab. Invest.* **46**, 16-23.
- Bertazzoli, C., Chieli, T., Ferni, G., Ricevuti, G., and Solcia, E. (1972). Chronic toxicity of adriamycin: a new antineoplastic antibiotic. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **21**, 287-301.
- Calabresi, P. and Chabner, B. A. (1991). Antineoplastic agents. In Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics (8th Ed.), pp. 1209-1263. Pergamon, New York.
- Chabner, B. A. and Myers, C. E. (1989). Clinical pharmacology of cancer chemotherapy. In Cancer principles and practice of oncology (3rd Ed.), pp. 349-395. Lippincott, Philadelphia.
- Conover, W. J. and Iman, R. L. (1981). Rank transformation as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *The American Statistician* **35**, 124-133.
- Ignoffo, R. J. and Friedman, M. A. (1980). Therapy of local toxicities caused by extravasation of cancer chemotherapeutic drugs. *Cancer treatment reviews* **7**, 17-27.
- Kurube, M., Sasaki, H., Nizato, T., Miki, M. and Kajita, T. (1986). Toxicological studies on (2''R)-4'-O-tetrahydropyran-yl-adriamycin, a new antibiotics, its acute toxicity in rats. *Jap. J. Antibiotics* **39**, 259-263.
- Lee, S. B., Baik, N. G., Ahn, B. O., Kim, O. J., Kang, K. K., Lee, C. Y., Kim, W. B. and Yang, J. (1993). Subacute toxicity

- of DA-125, a new anthracycline anticancer agent in rats. *J. Appl. Pharmacol.* **1**, 226-235.
- Myers, C. E. (1982). Anthracyclines. In *Pharmacologic principles of cancer treatment* (Chabner Ed), pp. 416-434. Saunders, Philadelphia.
- Randomization methods in SOP of IRDC, 3-4.
- Rudolph, R., Stein, R. S. and Pattillo, R. A. (1976). Skin ulcers due to adriamycin. *Cancer* **38**, 1087-1094.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980). Principles and procedures of statistics. In *a biomedical approach* (2nd Ed.), pp. 107-107, 137-170, 471-472. McGraw-Hill company, Inc., New York.
- 안병옥, 백남기, 이순복, 김원배, 양중익, 김재연, 박정식, 신천철, 노정구 (1993). 새로운 anthracycline계 항암제 DA-125의 급성 및 아급성독성연구. 대한암학회 학술대회 초록집. 119.