응용약물학회지, The Journal of Applied Pharmacology 3, 38-46(1995)

새로운 안트라사이클린계 항암제 DA-125의 생식독성연구: 랫트 주산기 및 수유기시험

정문구* · 이순복[1] · 한상섭 · 노정구

한국화학연구소 안전성연구부, [1]동아제약 주식회사 연구소

Reproductive Toxicity of DA-125, A New Anthracycline Anticancer Agent: Peri- and Postnatal Study in Rats

Moon Koo CHUNG*, Soon Bok LEE[1], Sang Seop HAN and Jung Koo ROH

Korea Research Institute of Chemical Technology, Toxicology Research Center, P. O. Box 107, Daejeon, 305-606, Korea [1]Dong-A Pharm. Co., Ltd., Research Laboratories 47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-gun, Kyunggi-do, Korea

(Received December 30, 1994; accepted February 7, 1995)

Abstract—DA-125, a new anthracycline antitumor antibiotic, was administered at dose levels of 0, 0.04, 0.2 and 1.0 mg/kg/day intravenously to pregnant and subsequently delivered Sprague-Dawley rats from day 17 of gestation to day 21 of lactation. Effects of test agent on general toxicity of dams and growth, behaviour and mating performance of F1 offspring were examined. At 1 mg/kg, one out of the twentytwo dams showed difficult delivery, characterized by a stillbirth. Reduction in body weight, loss in food intake, and decrease in spleen weight were also observed in dams. In addition, the lower rates of successful performances in memory test (28.6%) and necrosis of tail end (9.5%) were seen in F1 offspring. At 0.04 and 0.2 mg/kg, no toxic effect on dams and F1 offspring was observed. There were no malformed F1 and F2 fetuses in all groups. The results indicate that the no effect dose levels(NOELs) of DA-125 are 0.2 mg/kg/day for dams and F1 offspring, and over 1 mg/kg/day for F2 fetuses.

Keywords □ DA-125, antitumor antibiotic, peri- and postnatal study, rat

Adriamycin은 전세계적으로 널리 사용되는 양질의 항암제이지만 장기투약시 높은 심장독성을 나타내기 때문에 사용이 제한되고 있다(Donehower 등, 1979 ; Fantel 등, 1985).

DA-125는 현재 동아제약(주) 연구소(경기도 용인군 기흥읍 상갈리 47-5)에서 개발중에 있는 안트라사이클린계 항종양성 항생제로서, 암세포주 및 일부 실험동물 악성종양에 대하여 현저한 항암작용이 있으며 또한 기존의 anthracycline 계 항암약물로 구조적 유사체인 adriamycin에 비하여 심장독성, 국소자극성 등의 독성이 적다고 한다(백 등, 1993; 안 등, 1993). 그런데 본 약제는 다른 안트라사이클린계 약물과 마찬가지로 DNA에 작용하여 개열과 그에 따른 핵산합성 억제를 유발함으로써 작용한다고 한다(양, 1993). 한편, Adriamycin은 상기한 독특한 작용기작 때문에 인간 및 랫트에 있어서 기형을 유발한다는 사실이 이미 오래전에 발표되었으나(Thompson 등, 1978 ; Murray 등, 1984), 수유시 신생아에 미치는 독성학적 영향에 대한 연구결과는 아직 보고된 적이 없다. 본 연구는 신약후보물질의 생식독성학적 스크리닝(reproductive-toxicological screening)의 일환으로서 adriamycin 의 유도체인 DA-125 가 모동물의 분만 및 수유 그리고 차세대동물의 성장 및 기능발달에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 본 시험은 의약품등의 독성시험기준(국립보건안전원, 1988)과 일본독성시험기준(Yakugyo Jiho Co., 1984)에 준하여 실시하였다.

* To whom correspondence should be addressed.

실험 방법

시험물질

본 시험에는 동아제약에서 합성한 DA-125 (Lot No.

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

실험동물 및 사육환경

실험동물은 한국화학연구소 안전성연구부 실험동물육종실(대전직할시 유성구 장동 100)로 부터 입수한 Sprague-Dawley 랫트(SPF)를 사용하였다. 9주령의 수컷 100마리와 암컷 200마리를 입수한 후 1주일간의 검역 및 순화를 거친뒤 1 : 2로 교배시켜 질구의 정자를 확인한 날을 임신 0일로 정하였으며 교미확인된 암컷 100마리를 시험에 사용하였다.

본 시험은 온도 23± 3℃, 상대습도 50± 10%, 환기횟수 13~18회/hr., 조명시간 12시간(오전 9시~오후 9시), 조도 200~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시되었다. 시험기간중 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료(주))를 방사선 조사(2.0 Mrad)멸균하여, 그리고 물은 상수도수를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

투여량의 설정과 시험군의 구성

랫트 수태능력시험 및 랫트 최기형시험의 결과를 기초로 1 mg/kg/day를 고용량으로 정하고 공비 5로 중용량 및 저용량을 0.2, 0.04 mg/kg/day로 설정하였으며 그 외에 매체(1 mM L(+) lactic acid) 대조군을 두었다.

투여방법 및 투여기간

동물의 미정맥내로 임신 17일부터 분만후 21일까지 1일 1회 오전중에 연속투여하였다. 투여액량은 1 ml/kg으로서 임신기간중에는 임신 17일의 체중을, 포육기간중에는 포육 0, 7 및 14일의 체중을 기준으로 산출하였다.

관찰 및 검사항목

일반증상관찰

시험기간중 1일 1회 동물의 일반증상, 중독증상 및 사망유무에 관해서 관찰하였고 투여기간중에는 투여전후 1일 2회 관찰하였다.

체중 및 사료섭취량 측정 각 군의 전 어미동물에 대하여 임신기간중에는 임신 0, 7, 10, 14, 17 및 20 일째에 그리고 포육기간중에는 포육 0, 7, 14 및 21일째에 체중을 측정하였다. 그리고 사료섭취량은 모든 동물에 대하여 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다(단, 포육 21일째에는 부검으로 인하여 포육 20일째에 사료급여후 익일 잔량을 측정함).

부검

각 군의 모든 동물들을 포육 21일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 모든 부검동물에 대해서 간장, 신장, 비장, 심장, 뇌, 부신 및 난소의 중량을 측정하였다.

차세대동물의 검사

각 군의 모든 동물들을 자연분만시켜 얻은 F1 동물을 생후 4일째에 각 어미동물에 대하여 암수 각각 4마리씩 되게 조정(1배당 동물수가 8마리가 안될 때에는 조정하지 않았음)하고 각 시험군에 암수 각각 1마리씩 속하도록 이유부검, 성장시험, 행동시험, 생식시험등 4개의 시험군으로 나눈 후 시험을 실시하였다. 이때 조정후 남은 동물에 대해서는 변형된 Dawson 법(Dawson, 1926), Wilson 법(Wilson 등, 1972) 또는 현미해부법(Nishimura, 1974)에 따라서 골격 또는 내부장기검사를 실시하였다. 각 분만동물에 대하여 출산일에 생존 및 사망자수, 성비, 생존자의 외표기형 발현유무 등을 조사하였고 포육기간 동안의 생존율을 조사하였다.

이유부검군의 동물들은 생후 21일째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다.

성장시험군의 동물들은 생후 0일부터 10주령까지 주 1회 체중을 측정하였고 이개개전, 피모발생, 절치붕출, 안검개열, 정소하강, 질개구 등의 분화가 완료된 일수를 조사하였으며 10주령째에 부검하여 체표, 체강, 흉강 및 복강의 전장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다.

행동시험군의 동물에 대해서는 정향반사, 부주지성, 견인력, 동공반사, 청각반사, 회전봉시험, open field, 수미로 등의 행동학습기능시험을 실시하여 합격일령, 이동정방형수 또는 합격율을 산출하였다.

생식시험군의 암수동물들은 10주령 이후에 동일군내의 동물끼리 형매교배를 피하여 동거시킨후 교미율, 수태율 및 임신율을 산출하였고 교미확인 암컷동물에 대해서는 임신 0, 7, 14 및 20일에 체중을 측정하였다. 그리고 모동물을 임신 20일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배아(태자)수, 사망태자수, 생존태자의 개체별 체중, 외표이상 등을 조사하였다.

통계학적 분석

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(SAS institute Inc., Ver. 6.04)을 이용하였으며, 체중 사료섭취량 및 장기중량은 일원배치분산분석(ANOVA)과 Dunnett 다중비교검정을, 빈도수를 나타내는 시험자료는 Kruskal-Wallis(H) 검정과 Dunnett 다중비교검정법, 태자의 성비와 출생자의 기억력검사는 χ^2 검정법으로 각각 대조군과 유의차 검정을 실시하였다. 태자에 대한 시험자료는 성비를 제외하고 한배에서 나온 태자들의 평균체중,빈도수(황체수, 흡수배아수, 사망태자수)를 이용하여 통계분석하였고, 출생자에 대한 시험자료는 모동물 단위로 정리하여 분석하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 0.01 혹은 0.05 에서 검사하였다.

실험결과

모동물에 미치는 영향

일반증상

모동물의 임신기간동안 대조군을 포함한 모든 투여군에서 어떠한 특이증상도 관찰되지 않았다. 포육기간동

안에는 0.04 mg/kg군에서 눈주위 암적색 분비물이 1례 발견되었는데 포육불량등의 스트레스 조건하에서 흔히 관찰되는 소견으로서 시험물질에 의한 변화는 아니었다. 그리고 분만시에는 1 mg/kg군에서 난산이 1례(5%) 나타났는데 이는 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

체중

모동물의 임신 및 포육기간동안의 체중은 1 mg/kg군에서 포육 7일 및 포육 14일째 체중이 통계학적으로 유의성있는 감소를 나타냈는데(Fig. 1), 시험물질에 의한 변화로 인정되었다.

사료섭취량 1 mg/kg군에서 포육 1일째와 포육 8일째의 모동물의 사료섭취량이 통계학적으로 유의한 감소를 나타냈는데(Fig. 2), 이는 시험물질에 의한 변화로 판단되었다.

부검소견

모동물의 포육 21일째 부검시 0.04 mg/kg군에서 우측 신장의 신우확장(pelvis dilatation)이 1례 관찰되었는데 이것은 SD 랫트에 있어서 일반적으로 관찰되는 자연발생적 소견으로써 시험물질에 의한 변화는 아니었다. 그리고 대조군에서는 가스로 팽창된 직장과 우측신장의 신우확장이 각각 1례씩 발견되었다.

절대 및 상대장기중량

모동물의 포육 21일째 부검시 측정한 주요장기의 절대 및 상대장기중량에 있어서 1 mg/kg군의 비장이 통계학적으로 유의성있는 감소를 나타냈는데(Table I), 이는 시험물질의 투여에 기인한 독성증상으로 인정되었다.

차세대동물(F1)에 미치는 영향

출산시 소견 및 포육기간중의 생존율

모동물의 분만관찰시 1 mg/kg군에서 사산자만을 출산한 동물이 1례(5%) 발견되었는데, 이는 시험물질의 영향으로 사료되었다. 모동물의 임신기간, 출생시의 사산자 및 생존자수, 생존자의 성비 그리고 포육기간동안의 생존율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의성은 나타나지 않았다. 또한 출생일의 생존자 관찰시 모든 군에서 어떠한 외표기형도 관찰되지 않았다(Table II).

부검소견(이유부검군)

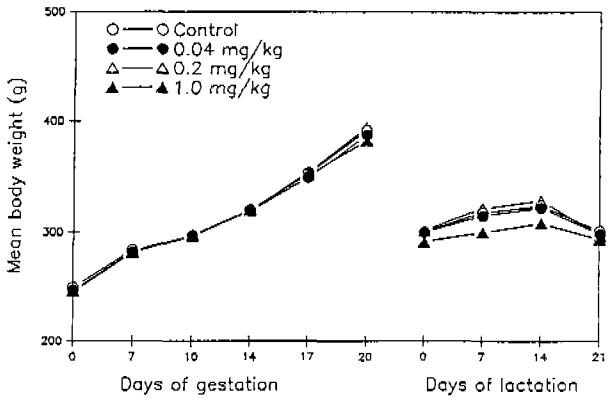

Fig. 1. Changes in body weights of dams treated with DA-125

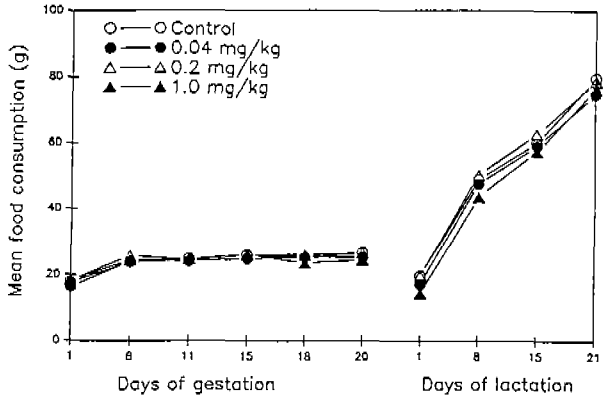

Fig. 2. Changes in food consumption of dams treated with DA-125

Table I. Relative organ weights of dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of animals	20	21	21	21
Body weight (g)	298.7± 17.1	297.4± 20.1	300.4± 22.8	290.5± 18.6
% Body weight				
Brain	0.627± 0.037	0.634± 0.031	0.623± 0.047	0.646± 0.047
Adrenal gland-left	0.012± 0.002	0.013± 0.002	0.013± 0.002	0.013± 0.002
Adrenal gland-right	0.011± 0.002	0.011± 0.002	0.012± 0.002	0.012± 0.002
Liver	4.763± 0.241	4.689± 0.474	4.717± 0.314	4.602± 0.413
Spleen	0.175± 0.016	0.170± 0.016	0.176± 0.016	0.142± 0.017**
Kidney-left	0.373± 0.029	0.391± 0.041	0.391± 0.029	0.376± 0.026
Kidney-right	0.393± 0.036	0.411± 0.034	0.401± 0.036	0.396± 0.029
Heart	0.351± 0.024	0.354± 0.027	0.356± 0.029	0.359± 0.030
Ovary-left	0.014± 0.003	0.015± 0.002	0.015± 0.002	0.013± 0.003
Ovary-right	0.015± 0.003	0.014± 0.002	0.014± 0.002	0.013± 0.003

Values are Mean± S.D.
**indicates significant difference at $p<0.01$ level when compared with the control group.

이유부검군에 속한 F1 암수동물의 생후 21일째 부검시 수컷의 0.2 mg/kg군에서 좌측신장의 백색반점이 1례 관찰되었는데 용량상관성이 결핍되어 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

분화상태

성장시험군에 속한 F1 암수동물의 형태분화(이개개전, 피모발생, 절치붕출, 안검개열, 정소하강, 질개구)의 관찰시 분화일령은 암수 모두 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성을 나타내지 않았다(Table III).

행동기능검사

행동시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 정향반사기능시험, 부주지성시험, 견인력시험, 동공반사시험, 청각반사시험 및 회전봉시험을 실시한 바, 합격일령에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다(Table IV).

Open field test

행동시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 open field test를 실시한 결과, 동물이 이동한 정방형의 수는 암수 모두 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의차를 나타내지 않았다(Table V).

수미로시험

행동시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 수미로시험을 실시한 결과, 기억력시험의 경우 암컷의 1 mg/kg군의 합격율이 대조군에 비해 유의성있는 감소(28.6%)를 나타냈는데, 이는 시험물질의 영향으로 인정되었다. 그리고 학습시험(1~6회)과 역학습시험(1~6회)의 합격율에 있

Table II. Reproductive and littering findings of dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of dams	20	21	21	22
No. of implantations	310	314	327	353
Mean± S.D.	15.5± 1.3	15.0± 2.0	15.6± 2.2	16.0± 1.5
No. of perinatal deaths	0	1	2	17
% to implantation: Mean± S.D.	0	0.3± 1.4	0.6± 2.0	5.0± 16.3
No. of live young at birth				
Male	149	135	151	152
Female	138	154	152	149
Total	287	289	303	301
Mean± S.D.	14.4± 1.5	13.8± 2.4	14.4± 2.3	14.3± 1.4
% to implantation: Mean± S.D.	92.7± 8.2	91.6± 8.3	92.6± 5.9	89.3± 9.9
No. of neonates with external anomalies	0	0	0	0
Pregnancy period (day) (mean± S.D.)	22.2± 0.4	22.2± 0.4	22.1± 0.4	22.1± 0.3
Viability index[a] (%)	97.9	98.3	98.7	98.7
Lactation index[b] (%)	100	100	100	100
Delivery index[c]	20/20	21/21	21/21	21/22

[a](No. of live offspring at day 4/No. of live offspring at birth)×100 [b](No. of live offspring at day 21/No. of live offspring after litter size control)×100 [c]No. of dams with live newborns/No. of pregnant dams

Table III. Postnatal physical development results of F1 pups from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
MALE				
No. of animals	20	21	21	21
Auricular detachment	2.55± 0.51	2.61± 0.50	2.67± 0.48	2.76± 0.44
Hair growth	8.85± 0.49	8.86± 0.48	8.95± 0.50	9.14± 0.57
Incisors eruption	10.95± 0.69	10.52± 0.68	10.90± 0.89	11.05± 0.86
Eyelid opening	13.30± 0.73	13.24± 0.77	13.24± 0.70	13.62± 0.59
Testis descent	22.15± 0.67	22.29± 0.85	22.10± 0.83	22.33± 0.86
FEMALE				
No. of animals	20	21	21	21
Auricular detachment	2.55± 0.51	2.61± 0.50	2.67± 0.48	2.76± 0.44
Hair growth	8.65± 0.49	8.81± 0.40	8.71± 0.56	9.00± 0.45
Incisors eruption	11.05± 1.05	10.52± 0.60	10.52± 0.60	10.62± 0.67
Eyelid opening	13.20± 0.70	13.00± 0.71	12.86± 0.65	13.38± 0.74
Vagina opening	30.35± 0.67	30.57± 0.68	30.24± 0.44	30.57± 0.68

Values are Mean± S.D.(days).

어서는 암수 모두 각 투여군과 대조군간의 유의차가 인정되지 않았다(Table VI).

일반증상(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 생후 0일부터 10주령까지 일반증상 관찰을 실시한 바, 1 mg/kg군의 암수 각각 2례(9.5%)에서 꼬리끝 부분의 괴사(necrosis of tail end)가 관찰되었는데, 이는 시험물질의 투여에 기인한 소견으로 사료되었다.

체중(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 생후 0일부터

Table IV. Faculty tests results of F1 pups from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
MALE				
No. of animals	20	21	21	21
Righting reflex	6.85± 0.37	6.81± 0.40	6.95± 0.22	7.0
Negative geotaxis	11.15± 0.37	11.05± 0.22	11.33± 0.48	11.14± 0.36
Traction test	16.75± 2.43	15.95± 2.67	15.71± 1.93	16.52± 2.34
Pupillary reflex	21.0	21.0	21.0	21.0
Acoustic startle response	21.0	21.0	21.0	21.0
Rotating rod test	24.20± 1.44	23.95± 1.47	23.62± 1.53	24.33± 1.28
FEMALE				
No. of animals	20	21	21	21
Righting reflex	6.85± 0.37	6.81± 0.40	6.95± 0.22	7.0
Negative geotaxis	11.10± 0.31	11.24± 0.44	11.43± 0.51	11.05± 0.22
Traction test	15.50± 1.43	16.48± 2.11	15.86± 1.96	15.52± 1.86
Pupillary reflex	21.0	21.0	21.0	21.0
Acoustic startle response	21.0	21.0	21.0	21.0
Rotating rod test	23.80± 1.28	24.14± 1.28	23.71± 1.65	24.38± 1.66

Values are Mean± S.D.(days).

Table V. Open field test results of F1 pups from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
MALE				
No. of animals	20	21	21	21
No. of squares	22.5± 12.58	19.9± 13.62	21.1± 9.12	18.7± 11.89
FEMALE				
No. of animals	20	21	21	21
No. of squares	31.3± 13.92	32.3± 14.96	29.1± 11.41	30.0± 14.43

Values are Mean± S.D.

Table VI. Water-filled simple T-maze test results of F1 rats from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
MALE				
No. of animals	20	21	21	21
% of correct escapes				
Learning 1-6	76.7± 11.34	69.8± 16.35	73.0± 11.15	75.4± 18.72
Memory	70.0	81.0	71.4	90.5
Reverse learning 1-6	52.5± 22.47	64.3± 27.02	56.3± 23.26	57.9± 25.07
FEMALE				
No. of animals	20	21	21	21
% of correct escapes				
Learning 1-6	74.2± 13.76	77.8± 10.97	77.8± 14.27	75.4± 11.33
Memory	75.0	61.9	52.4	28.6*
Reverse learning 1-6	50.0± 24.18	52.4± 16.06	54.0± 24.10	51.6± 24.10

Values are Mean± S.D.
*indicates significant difference at $p<0.05$ level when compared with the control group.

10주령까지 체중을 측정한 결과, 수컷동물의 경우 0.2 mg/kg군에서 7주령째 체중의 유의성있는 증가가 관찰되었다. 암컷동물에 있어서는 0.2 mg/kg군의 2주령 및 8주령째의 체중은 유의성있는 증가를, 그리고 1 mg/kg군의 2주령째 체중은 유의성있는 감소를 나타냈다. 상기 소견들중에서 0.2 mg/kg군의 암수동물의 체중증가는 용량상관성이 없어서 군내의 몇몇 동물의 사료섭취증가에 기인한 것으로 사료되었고, 1 mg/kg군의 암컷동물의 체중감소는 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

부검소견(성장시험군)

성장시험군에 속한 F1 암수동물에 대해 10주령째에 부검을 실시한 바, 수컷동물의 경우 0.2 mg/kg군에서 우측신장의 신우확장이 1례 관찰되었고, 1 mg/kg군에서는 좌측고환 위축(testis-left atrophy)이 1례(5%) 나타났는데 상기 소견중에서 고환위축은 발현율이 낮고 좌측에만 국한되어 시험물질과는 무관한 자연발생소견으로 사료되었고 신우확장도 역시 자연발생적인 소견으로써 시험물질에 의한 변화는 아니었다. 암컷동물에 있어서는 대조군을 포함한 모든 투여군에서 어떠한 특이소견도 발견되지 않았다.

장기중량(성장시험군)

성장시험군의 부검시 장기중량을 측정한 결과 수컷동물에 있어서는 0.2 mg/kg군에서 비장의 절대중량이 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있는 증가를 나타냈는데(Table VII), 용량상관성이 결핍되어 시험물질의 영향으로 판단되지 않았다. 그리고 암컷동물의 경우는 절대 및 상대중량에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의성은 인정되지 않았다(Table VIII).

교배성적

생식시험군에 속한 F1 암수동물을 10주령 이후에 교배시켰을 때 교미율, 수태율 및 임신율에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 발견되지 않았다.

체중(생식시험군)

F1 암컷동물의 임신기간동안의 체중에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다((Table XI).

부검소견(생식시험군)

F1 동물의 부검시 수컷동물에 있어서는 0.2 mg/kg군에서 백내장이 1례 관찰되었는데 이는 시험물질과는 무

Table VII. Relative organ weights of F1 male rats from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of animals	20	21	21	21
Body weight (g)	421.2± 29.6	414.8± 26.6	437.3± 31.5	412.4± 29.3
% Body weight				
Brain	0.483± 0.034	0.497± 0.035	0.469± 0.030	0.490± 0.037
Adrenal gland-left	0.007± 0.001	0.007± 0.001	0.007± 0.001	0.007± 0.001
Adrenal gland-right	0.006± 0.001	0.006± 0.001	0.006± 0.001	0.006± 0.001
Liver	4.603± 0.583	4.606± 0.447	4.481± 0.581	4.386± 0.526
Spleen	0.174± 0.027	0.177± 0.030	0.190± 0.023	0.178± 0.023
Kidney-left	0.397± 0.046	0.401± 0.033	0.387± 0.028	0.385± 0.027
Kidney-right	0.404± 0.046	0.414± 0.029	0.406± 0.029	0.411± 0.079
Heart	0.309± 0.024	0.313± 0.020	0.317± 0.038	0.319± 0.018
Testis-left	0.380± 0.040	0.383± 0.027	0.386± 0.037	0.369± 0.050
Testis-right	0.389± 0.039	0.383± 0.028	0.387± 0.037	0.381± 0.035

Table VIII. Relative organ weights of F1 female rats from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of animals	20	21	21	21
Body weight (g)	241.7± 22.2	250.7± 19.0	251.4± 27.8	240.7± 21.0
% Body weight				
Brain	0.774± 0.082	0.768± 0.077	0.754± 0.071	0.763± 0.085
Adrenal gland-left	0.015± 0.003	0.014± 0.003	0.015± 0.004	0.015± 0.004
Adrenal gland-right	0.013± 0.003	0.012± 0.003	0.014± 0.002	0.014± 0.003
Liver	3.950± 0.309	3.931± 0.319	3.979± 0.451	3.882± 0.363
Spleen	0.201± 0.025	0.194± 0.025	0.209± 0.026	0.197± 0.022
Kidney-left	0.391± 0.026	0.392± 0.029	0.391± 0.026	0.383± 0.032
Kidney-right	0.405± 0.029	0.406± 0.039	0.407± 0.028	0.391± 0.025
Heart	0.349± 0.024	0.349± 0.026	0.330± 0.077	0.350± 0.027
Ovary-left	0.019± 0.004	0.019± 0.003	0.019± 0.003	0.019± 0.004
Ovary-right	0.019± 0.003	0.019± 0.003	0.020± 0.003	0.020± 0.004

관한 선천성 이상으로 사료되었다. 암컷동물에 있어서는 대조군에서 액와 및 서혜부 피하의 종괴(subcutis; mass in the axillary and inguinal region)가 1례 발견되었다.

F2 태자에 미치는 영향

제왕절개성적

F1 모동물의 제왕절개시 조사된 황체수, 착상수, 흡수배아수, 사망태자수, 산자수, 생존태자의 성비 및 체중은 모든 투여군에서 대조군에 대하여 유의성을 나타내지 않았다. 그리고 외표소견은 1 mg/kg군에서 복벽파열(gastroschisis)이 1례 관찰되었는데(Table X), 발현율이 낮아 시험물질의 영향으로 인정되지 않았다.

조정후 남은 F1 랫트(생후 4일령)에 미치는 영향

내부장기검사

생후 4일째 조정후 남은 랫트의 내부장기 검사시 모든 군에서 어떠한 기형 또는 변이도 관찰되지 않았다(Table XI).

골격검사

생후 4일째 조정후 남은 랫트의 골격검사시 말늑골단소(shortened 13th rib)는 대조군, 0.04 및 0.2 mg/kg군의 순으로 각각 1, 2 및 1례씩 나타났고, 요추의 천추화(sacralization of 6th lumbar vertebrae)는 대조군, 0.04, 0.2 및 1 mg/kg군의 순으로 각각 1, 3, 1 및 2례씩 관찰되었다.

Table IX. Fertility data of F1 rats from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
MALE				
No. of mated animals	20	20	21	21
Copulation index[a] (%)	20/20 (100)	18/20 (90)	21/21 (100)	21/21(100)
Fertility index[b] (%)	15/20 (75)	10/18 (56)	18/21 (86)	20/21(95)
FEMALE				
No. of mated animals	20	20	21	21
Copulation index[a] (%)	20/20 (100)	18/20 (90)	21/21 (100)	21/21 (100)
Pregnancy index[c] (%)	15/20 (75)	10/18 (56)	18/21 (86)	20/21 (95)

[a]No. of animals with successful copulation/No. of mated animals [b]No. of impregnating animals/No. of animals with successful copulation
[c]No. of pregnant animals/No. of animals with successful copulation

Table X. Cesarean section data of F1 female rats from dams treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of pregnant animals	15	10	18	20
Corpora lutea (mean± S.D.)	18.33± 2.19	16.50± 3.37	18.22± 3.77	19.05± 2.72
Implantations (mean± S.D.)	16.00± 1.69	14.70± 3.37	16.50± 3.19	17.70± 2.47
% to corpora lutea (mean± S.D.)	87.94± 9.76	88.61± 8.57	91.24± 6.64	93.20± 6.87
Fetal deaths (resorptions+dead fetuses)	14	9	15	24
Resorptions	14	9	15	22
Early	14	8	15	22
Late	0	1	0	0
Dead fetuses	0	0	0	2
Live fetuses Male/Female	101/125	74/64	136/146	167/163
Litter size (mean± S.D.)	15.07± 1.94	13.80± 3.19	15.67± 3.38	16.50± 2.50
% to implantation (mean± S.D.)	94.01± 5.31	94.16± 5.08	94.35± 7.21	93.22± 5.97
Sex Ratio (male/female)	0.81	1.16	0.93	1.02
No. of fetuses with external anomalies (%)	0	0	0	1 (0.3)[a]
Body weight of live fetuses				
Male (mean± S.D.)	3.17± 0.41	3.06± 0.42	3.19± 0.16	3.29± 0.22
Female (mean± S.D.)	3.02± 0.37	2.94± 0.41	3.06± 0.21	3.17± 0.23

[a]Gastroschisis

Table XI. Visceral findings in the remaining F1 fetuses after litter size control whose dams were treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of dams	20	19	21	21
No. of fetuses examined	57	55	59	58
(mean± S.D.)	(2.9± 0.81)	(2.9± 0.81)	(2.8± 1.12)	(2.8± 0.77)
No. of fetuses with malformations/variations	0	0	0	0

Table XII. Skeletal findings in remaining F1 fetuses after litter size control whose dams were treated with DA-125

Dose (mg/kg)	0	0.04	0.2	1.0
No. of dams	20	20	21	21
No. of fetuses examined	64	62	72	71
(mean± S.D.)	(3.2± 0.89)	(3.1± 1.02)	(3.4± 1.21)	(3.4± 0.74)
No. of fetuses with malformations (%)[a]	1 (1.6)	2 (3.2)	1 (1.4)	0
No. of fetuses with variations (%)[b]	8 (12.5)	4 (6.5)	7 (9.7)	3 (4.2)
No. of ossification centers				
Sternebrae	6.0	6.0	6.0	6.0
Metacarpals in both forelimbs	8.0	8.1± 0.45	8.0	8.0
First & 2nd phalanges in both forelimbs	16.0	16.0	16.0	16.0
Third phalanges	10.0	10.0	10.0	10.0
Metatarsals in both hindlimbs	10.0	10.0	10.0	10.0
First & 2nd phalanges in both hindlimbs	18.0± 0.14	18.0± 0.11	18.0 17.9± 0.44	
Third phalanges in both hindlimbs	10.0	10.0	10.0	10.0
Sacral and caudal vertebrae	24.1± 1.29	24.9± 1.52	24.4± 1.34	24.8± 1.09

[a]Shortened 13th rib [b]Sacralization of 6th lumbar vertebrae, additional ossification center of sternebrae, 14th rib (lumbar)

요늑(14th rib)은 대조군과 1 mg/kg군에서 각각 1례씩 발견되었고, 흉골의 추가골화점(additional ossification center of sternebrae)은 대조군, 0.04 및 0.2 mg/kg군에서 각각 6, 1 및 6례씩 관찰되었다. 그리고 대조군에서는 요늑과 흉골의 추가골화점의 복합변이가 1례 나타났다 (Table XII).

상기한 소견들중에서 말늑골단소는 경기형(minor anomaly)에 속하는 소견으로서 모독성(maternal toxicity)의 결과로 나타날 수도 있으나, 본 시험에서는 고용량군에서는 전혀 관찰되지 않아 자연발생적으로 나타난 것으로 판단되었다. 또한 요추의 천추화, 요늑 및 흉골의 추가골화점은 자연발생적인 변이에 속하는 소견들로서(Morita 등, 1987) 시험물질에 의한 변화는 아니었다.

고 찰

DA-125는 기존의 adriamycin 의 결점인 심장독성과 조혈기계 독성등의 부작용을 줄이기 위하여 개발된 안트라사이클린계 항종양성 항생제의 일종이다. 이러한 DA-125를 0, 0.04, 0.2 및 1 mg/kg의 용량으로 Sprague-Dawley 계통의 랫트에 임신 17일부터 포육 21일까지 정맥투여하여 모동물의 일반상태 및 분만과 차세대동물의 성장 및 기능발달에 미치는 영향을 조사하였다.

모동물의 분만관찰시 1 mg/kg군에서 1례 발견된 난산은 총출생자의 사산(stillbirth)을 동반한 소견으로서 시험물질에 의한 호르몬장애, 대사장애 등을 원인으로 고려할 수 있으나 본 시험에서는 투여스트레스, 체중감소에 따른 허약 등에 기인하여 야기된 것으로 추정된다. 모동물의 체중 및 사료섭취량에 있어서 1 mg/kg군에서 포육 1일 및 8일째에 나타난 사료섭취량의 감소는 시험물질 투여 및 출산 스트레스에 의해 야기된 식욕부진증(anorexia), 대사장애 및 소화장애 등의 결과로서 이로 인해 포육 7일부터 포육 14일까지의 체중이 감소한 것으로 판단된다. 1 mg/kg군에서 나타난 비장중량의 감소는 DA-125의 랫트 급성독성시험(신, 1991), 랫트 수태능력시험(정 등, 1994) 그리고 tetrahydropyranyl-adriamycin(THP-adriamycin)의 주산기 및 수유기시험(Kurebe 등, 1986)에서도 관찰된 소견으로서 시험물질이 조혈기계 및 임파계에 속하는 비장에 독성증상을 나타냄을 알 수 있었다.

행동시험군에 속한 F1 동물의 수미로시험시 암컷의 1 mg/kg군에서 나타난 기억력시험의 합격율 저하는 시험물질 DA-125 또는 연구를 통하여 밝혀진 대사물질 M1, M2, M3 및 M4(Shim 등, 1994)등이 태반통과후 F1 암컷태자의 대뇌에 손상을 주었거나 모동물의 포유시 시험물질이 F1 동물에 노출되어 야기된 것으로 추정되며 추후 기작, 성의 차이 등에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다. 성장시험군에 속한 F1 동물의 일반증상 관찰시 1 mg/kg군에서 암수 각각 2례씩 관찰된 꼬리 끝 부분의 괴사는 동일배당 출생자들에게서 생후 4일 또는 생후 7일째에 나타나기 시작하여 이유전에 괴사부위는 소실되고 새로운 조직으로 재생한 것으로 미루어 보아 모동물에 투여된 시험물질 DA-125 또는 대사물질이 수유로 F1 동물에 이행하여 모세혈관의 분기점인 꼬리 끝 부분의 혈액순환 장애를 초래함으로써 야기된 것으로 추정된다. 성장시험군에 속한 F1 동물의 체중측정시 암컷의 1 mg/kg군에서 나타난 생후 2주일째 체중의 감소는 시험물질의 투여에 따른 출생시 체중의 감소와 포육불량 등에 기인한 것으로 판단된다.

본 시험에서 얻은 결과중 1 mg/kg군에서 나타난 비장중량의 감소는 상기한 바와같이 DA-125 와 같은 anthracycline 계 항암제인 THP-adriamycin 의 주산기 및 수유기시험(Kurebe 등, 1986)에서도 관찰되었다. 그러나 그 밖의 검사항목들에 있어서는 두 물질간에 질적독성효과(qualitative toxic effect)의 유사성을 나타내지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 본 주산기 및 수유기

시험에 의한 DA-125의 무해용량(NOEL)은 모동물과 차세대동물에 있어서 0.2 mg/kg 그리고 F2 태자에 있어서 1 mg/kg 이상이라고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 1993년도 과학기술처 신약개발연구비 지원에 의하여 수행되었습니다. 본 시험을 수행하는데 기술적인 도움을 주신 최규갑, 김종춘, 이상준씨 그리고 통계처리를 맡아주신 김정란씨에게 감사를 드립니다.

참고문헌

Dawson, A. B. (1926). A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin Red S. *Stain Technol.* **1**, 123-124.

Donehower, R. C., Meyers, C. E. and Chabner, B. A. (1979). New developments on the mechanisms of action of antineoplastic drugs. *Life Sci.* **25**, 1-14.

Fantel, A. G., Greenway, J. C. and Juchau, M. R. (1985). The embryotoxicity of adriamycin in rat embryos *in vitro*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **80**, 155-165.

Kurebe, M., Asaoka, H., Hata, T., Watanabe, T. and Sawazaki, S. (1986). A study on the effect of (2"R)-4'-0-tetrahydropyranyl adriamycin, a new antitumor antibiotic, on reproduction. III. Its effects on perinatal and postnatal rats. Japan. *J. Antibiotics,* **39**(2), 507-525.

Morita, H., Ariyuki, F., Inomata, N., Nishimura, K., Kagegawa, Y., Miyamoto, M. and Watanabe, T. (1987). Spontaneous malformations in laboratory animals: Frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. *Cong. Anom.* **27**, 147-206.

Murray, C. L., Reichert, J. A., Anderson, J. and Twiggs, L.B. (1984). Multimodal cancer therapy for breast cancer in the first trimester of pregnancy. *A case report. JAMA* **252**, 2607-2608.

Nishimura, K. (1974). A microdissection method for detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses. *Cong. Anom.* **14**(1), 23-40.

Shim, H. J., Lee, E. D., Yoon, E. J., Lee, S. D., Kim, W. B., Yang, J. I. and Lee, M. G. (1994). Simultaneous determination of a new anthracycline, DA-125, and its metabolites M1, M2, M3 and M4 in plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography B,* **656**, 407-414.

Thompson, D. J., Molello, J. A., Strebing, R. J. and Dyke, I. L. (1978). Teratogenicity of adriamycin and daunomycin in the rat and rabbit. *Teratology,* **17**, 151-158.

Wilson, J. G. and Warkany, J. (1972). Teratology, Principles and Techniques. The university of Chicago press. pp. 1-277.

Yakugyo Jiho Co. (1984). Toxicity Test Guideline: Collection of notifications related to the pharmaceutical affairs law (IV), Japan.

국립보건안전원 (1988). 의약품등의 독성시험기준, 국립보건안전연구원, 예규 제 10호.

백남기, 안병옥, 이순복, 김원배, 양중익, 渡邊俊彦 (1993). 새로운 항암성 항생물질 DA-125의 심장독성에 대한 평가, 응용약물학회지 **1**(1), 9-19.

신천철 (1991). DA-125의 랫트에 있어서 정맥투여 급성독성시험, 한국화학연구소 안전성연구센터. pp. 1-265.

안병옥, 백남기, 이순복, 김원배, 양중익, 김부영, 김대병, 이종권 (1993). DA-125의 국소자극성, 응용약물학회지, **1**(1), 20-25.

양중익 (1993). 항종양 치료제 개발연구, 과학기술처, pp. 271-311.

정문구, 김종춘, 김원배, 노정구 (1994). 새로운 안트라사이클린계 항암제 DA-125의 생식독성연구: (II) 랫트 수태능력시험, 응용약물학회지 **2**(1), 94-101.