

마우스에 있어서 Pyrimethamine과 Folic acid의 병용에 의한 태아독성 상승효과

정문구 · 조규혁 · 김종춘 · 홍기창* · 한상섭
한국화학연구소 안전성연구센터, *고려대학교 자연자원대학

Synergistic Embryotoxicity of Combination Pyrimethamine and Folic Acid in Mice

Moon-Koo Chung, Kyu-Hyeok Cho, Jong-Choon Kim, Ki-Chang Hong and Sang-Seop Han

KRICT, Toxicology Research Center, Daejeon 305-606, Korea

*College of Natural Resources, Korea University, Seoul 136-701, Korea

(Received August 22, 1996)

(Accepted September 20, 1996)

ABSTRACT : The increased embryotoxicity of the antifolate drug pyrimethamine (PYM) with concomitant dietary dosing of folic acid (FA) was examined in mice. The preventive effects of folinic acid (FNA) on PYM embryotoxicity were also examined. Six groups were constructed: PYM I (pyrimethamine 80 ppm), PYM II (pyrimethamine 150 ppm), PYM II+FNA (pyrimethamine 150 ppm and folinic acid 12 mg/kg/day), PYM II+FA (pyrimethamine 150 ppm and folic acid 350 ppm), FA (folic acid 350 ppm) and a control group. The agents were administered for 7 days from day 6 throughout 12 of gestation. PYM and FA were administered with mashed feed and FNA was intraperitoneally injected. The high incidence of fetal malformations was observed in the PYM II group; these included kinky tail, open eyelids, club foot, cleft palate, absence of the pulmonary lobe, diaphragmatic hernia, fused sternbrae, fused cervical or thoracic vertebral arch, among others. All embryos of the PYM II+FA group were resorbed. No malformed fetuses were observed in the PYM II+FNA group. These results show that the concomitant dosing of FA augments PYM embryotoxicity. The preventive effects of FNA were also observed.

Key Words : Pyrimethamine, Folic acid, Folinic acid, Concomitant dosing, Mice

I. 서 론

Pyrimethamine(PYM)은 디하이드로폴레이트 환원효소 억제제(dihydrofolate reductase inhibitor)로서 작용하며(Miller 등, 1989) 말라리아와 톡소플라즈마증의 치료 및 예방에 널리 이용되고 있다(Main 등, 1983). 상기한 독특한 작용기작 때문에 PYM은 인간 및 실험동물에 있어서 기형을 유발할 수 있는데(Raynaud와 Horvath, 1994; Fig. 1) 본 약제의 배아 및 태아독성효과(embryo-/fetotoxicity)는 랫트(Thiersch, 1964; Sullivan과 Takacs, 1971; Izumi 등, 1984; Kudo 등, 1988; Tsunematsu 등, 1990), 햄스터(Sullivan과 Takacs, 1971), 돼지(Misawa 등, 1982; Yamamoto 등, 1984; Hayama와 Kokue, 1985) 및 인간(Harpey 등, 1983; Smithells와 Sheppard, 1983)에서 확인되어 보고된 바 있다.

또한 PYM은 체내 엽산대사를 저해하기 때문에 인

체에 투약시 거대적아구성 빈혈(megaloblastic anemia)을 유발할 수 있으며, 이러한 빈혈의 치료에는 folic acid(FA)와 folinic acid(FNA)가 추천되고 있다(Webster, 1985). 따라서 PYM과 FA 또는 PYM과 FNA의 병용(drug combination)시 나타나는 독성효과의 변화, 특히 독성상승작용(synergism)의 출현여부에 관한 정보를 얻는 것은 매우 의미있는 일로서 이와 관련된 일련의 연구가 수행되어 왔다.

Kudo 등(1988)의 보고에 의하면 랫트에 FA를 기형유발농도(teratogenic dose)의 PYM과 동시에 사료내 혼합투여할 경우 FA는 PYM의 배아 및 태아독성효과를 상승시킨다고 한다. 이러한 독성상승작용은 Chung 등(1993)도 랫트에 FA를 PYM과 동시에 강제 경구투여함으로써 관찰할 수 있었다고 한다. 또한 Kudo 등(1994)은 마우스에 FA를 기형유발농도의 PYM과 동시에 강제 경구투여한 뒤 FA가 PYM에 의한 배아 및 태아독성효과의 상승을 유발시킴을 발견하고 두 물질의

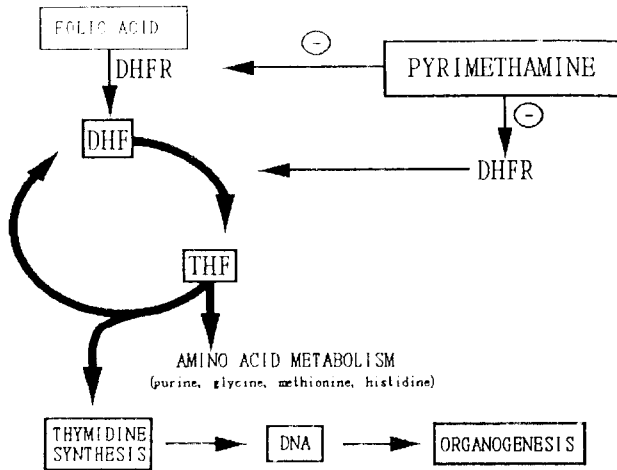


Fig. 1. Role of folic acid in organogenesis. Folic acid and its biological active derivatives, dihydrofolic acid(DHF), tetrahydrofolic acid(THP), are involved in DNA synthesis and amino-acid metabolism. Pyrimethamine, a dihydrofolate reductase (DHFR) inhibitor, prevents DNA synthesis, thus leading to abnormal organogenesis.

혼용시 나타나는 독성상승작용에 있어서 랫트와 마우스간의 독성효과의 차이, 즉 종의 특이성(species-specificity)은 존재하지 않는다는 결론을 내렸다.

시험물질의 투여경로는 생체내 이용율(bioavailability)에 커다란 영향을 줄 수 있고 그로 인해 상이한 독성효과가 나타날 수도 있다. 또한 PYM의 마우스에 있어서 최기형성에 관한 보고는 매우 미흡한 상태에 있고 최근의 Kudo 등(1994)의 마우스를 이용한 약물혼용연구 보고에는 PYM이 마우스에 있어서 어떤 종류의 기형을 유발했는지 전혀 기술되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 사료내 혼합투여법을 이용하여 PYM과 FA를 동시에 투여함으로써 일차적으로 마우스에 있어서 PYM의 최기형효과를 조사하고 동시에 FA가 PYM의 배아 및 태자독성에 미치는 영향을 검토하고자 하였다. 또한 엽산의 환원활성형(reduced active folate form) 유도체의 하나인 FNA가 PYM의 배아 및 태자독성효과에 미치는 영향을 동시에 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

본 시험에는 Sigma Chemical Company(St. Louis, Mo, USA)에서 구입한 pyrimethamine(Lot No. 88F 0320), folic acid(Lot No. 40H0321) 및 folic acid(Lot No. 117F00501)가 사용되었다. Pyrimethamine과 folic

acid는 사료내에 혼합조제하여 투여하였고, folic acid는 증류수에 용해시켜 사용하였다.

2. 동물사육 및 교배방법

한국화학연구소 안전성연구부 실험동물 육종실(대전광역시 유성구 장동 100)로부터 입수한 ICR 마우스를 인공조명하의 SPF 조건하에서 사육하였다. 시험기간중 사료는 실험동물용 고형사료(제일사료(주))를 방사선 조사(2.0 Mrad)멸균하여, 그리고 물은 상수도수를 자외선 유수살균기로 소독시킨후 자유섭취시켰다. 교배는 암수동물을 2:1로 동거시킨 후 질전이 확인된 날을 임신 0일로 정하였다.

3. 투여량의 설정과 시험군의 구성

Pyrimethamine 60, 80, 110, 150 및 210 ppm의 5개 용량으로 예비시험을 실시한 바, pyrimethamine의 기형유발농도는 150 ppm이었고 무해용량(no observed effect level)은 80 ppm이었다. 이를 기초로 매체대조군, PYM I군(pyrimethamine 80 ppm), PYM II군(pyrimethamine 150 ppm), PYM II+FNA군(pyrimethamine 150 ppm and folic acid 12 mg/kg/day), PYM II+FA군(pyrimethamine 150 ppm and folic acid 350 ppm) 및 FA군(folic acid 350 ppm)의 6개 군을 두었으며 군당 12 마리씩의 교배확인동물을 사용하였다.

4. 시험물질의 투여

시험물질은 임신 6일부터 12일까지 연속투여하였는데 PYM과 FA는 각 용량별로 사료에 혼합하여 급여하였고, FNA는 임신 6일과 10일의 체중을 기초로 하여 복강내로 주사하였다.

5. 모동물의 관찰

임신기간중의 모동물의 체중변화, 사료섭취량, 독성증상 등을 조사하였고 임신말기에 부검하였다.

6. 제왕절개

각 군의 모든 동물들을 임신 18일째에 경추탈구하여 도살한 후 착상수, 생존태자수, 흡수배아수 및 사망태자수 등을 조사하였다. 모든 생존태자에 대해서

성별을 확인한 뒤 체중을 측정하였고 외표기형을 조사하였다. 생존태자의 1/2은 5% 포르말린에 고정하여 KOH로 처리한 후 alizarin red로 골격을 염색한 뒤 골격이상 유무를 조사하였고(Dawson, 1926), 나머지 1/2은 부양액에 고정한 뒤 두부와 복부는 Wilson법(Wilson, 1965)에 따라서 그리고 흉부는 Nishimura법(Nishimura, 1974)에 의하여 내부장기검사를 실시하였다.

7. 통계학적 분석

모동물의 체중, 사료섭취량, 착상수, 생존태자수 및 생존태자의 암수체중은 일원배치분산분석과 Dunnett법(Dunnett, 1970) 또는 Scheffe법(Scheffe, 1953)에 따라서 분석하였고, 태아사망수는 Kruskal-Wallis법에 의하여 분석하였다. 성비분석에는 χ^2 법을 사용하였으며, 태자의 외표, 내부장기 및 골격기형은 빈도수로 나타낸 후 변수변환법을 이용하여 유의성을 검정하였다. 통계학적 유의성은 5% 수준에서 검정하였으며 litter effect는 관찰되지 않았다.

III. 결 과

1. 모동물에 미치는 영향

모든 군에서 어떠한 특이증상 또는 이상행동도 관찰되지 않았다. 모동물의 체중증체량(임신 6-18일)은 PYM II군과 PYM II+FA군에서 대조군과 비교할 때 통계학적으로 유의성있는 감소를 나타냈으나 그 밖의 군에서는 정상적인 체중증체가 관찰되었다. 또한 PYM II+FA군의 체중증체량은 PYM II군에 비하여 유의성있는 감소를 나타냈다(Fig. 2). 모동물의 사료섭취량에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 그리고 각 군의 모동물 부검시 시험물질의 투여에 기인한 특이소견은 관찰되지 않았다.

2. 태자에 미치는 영향

착상수, 산자수 및 성비에 있어서 각 투여군과 대조군간의 유의차는 인정되지 않았다. 흡수배아수는 PYM II군에서 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있는 증가를 나타냈고 그로 인하여 생존태자수의 감소가 관찰되었다. 또한 태자체중은 역시 PYM II군에서 암수 모두 대조군과 비교하여 유의성있는 감소를 나타냈다. PYM II군의 태자들은 뇌탈출증(exencephaly, Fig.

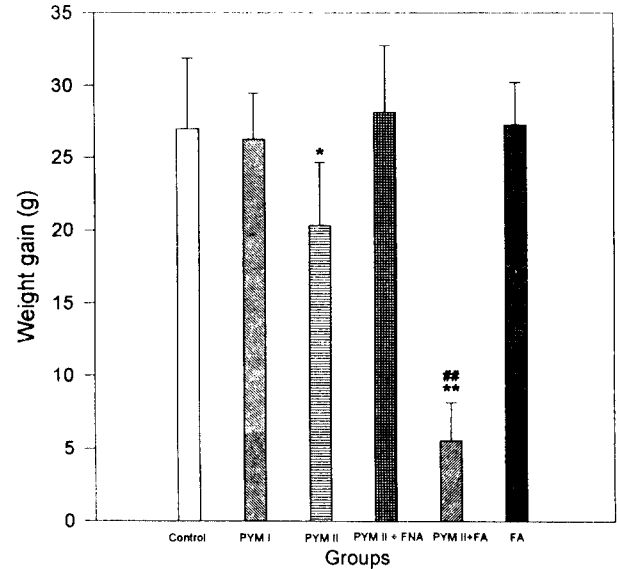


Fig. 2. Weight gain of dams treated with pyrimethamine combined with folic acid or folic acid(day 6 to day 18 of gestation) * and ** indicate significant difference at $P<0.05$ and $P<0.01$ levels when compared with the control group. ## indicates significant difference at $P<0.01$ level when compared with the PYM II group.

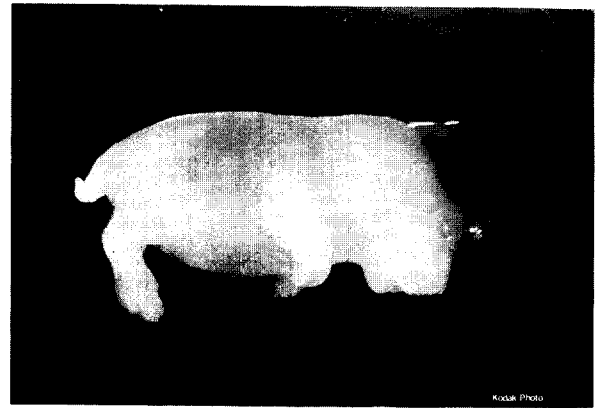


Fig. 3. Multiple external anomalies(exencephaly, open eyelids, protruded tongue, kinky and short tail) in a fetus of the PYM II group.

3), 개안(open eyelids, Fig. 3), 혀돌출증(protruded tongue, Fig. 3), 만곡족(club foot), 단미(short tail, Fig. 3), 꼬미(kinky tail, Fig. 3), 구순열(cleft lip, Fig. 4) 등의 외표기형을 48.6%의 빈도로 나타냈다. PYM II+FA군에서는 전 배아의 흡수가 관찰되었고, 그 밖의 투여군의 태자에 있어서는 어떠한 이상소견도 발견되지 않았다(Table 1).

태자의 내부장기검사 결과는 Table 2와 같다. PYM II군에서는 구개열(cleft palate, Fig. 5), 폐엽의 결손 또는 형성부전(absence or hypoplasia of the pulmonary lobe, Fig. 6), 횡격막탈장(diaphragmatic her-



Fig. 4. Cleft lip in a fetus of the PYM II group.

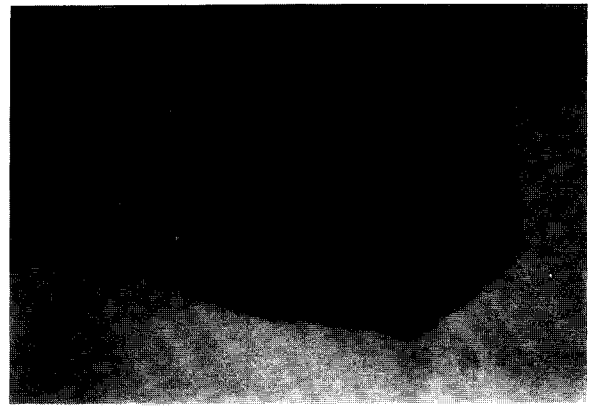


Fig. 5. Cleft palate in a fetus of the PYM II group.

Table 1. Fetal effects of treatment

Parameter	Control	PYM I	PYM II	PYM II+FNA	PYM II+FA	FA
No. of pregnant animals	11	11	11	11	12	11
Implantations(mean ± S.D.)	13.2±4.2	14.3±2.1	16.2±1.7	14.3±3.8	14.6±1.8	14.6±2.3
Fetal deaths (resorptions+dead fetuses)	10	16	73**	18	175**	14
Resorptions	8	15	69**	15	175**	9
Dead fetuses	2	1	4	3	0	5
Live fetuses						
Male/Female	61/74	74/67	54/51	60/79	0	73/73
Litter size(mean ± S.D.)	12.3±4.2	12.8±3.1	10.5±4.6	12.6±4.4	0	13.3±2.2
% of implantations (mean ± S.D.)	92.8±8.8	88.7±12.7	65.9±26.9**	87.9±16.0	0	91.2±5.3
Sex Ratio(male/female)	0.82	1.10	1.06	0.76	-	1.0
Body weight of live fetuses						
Male(mean ± S.D.)	1.35±0.14	1.34±0.20	0.93±1.21**	1.34±0.09	-	1.33±0.09
Female(mean ± S.D.)	1.31±0.13	1.25±0.17	0.91±0.18**	1.31±0.07	-	1.29±0.08
No. of fetuses with external anomalies(%)	0	0	51(48.6) ^{a)}	0	-	0

^{a)} Exencephaly, open eyelids, protruded tongue, cleft lip, club foot, short tail, kinky tail.

** indicates significant difference at P<0.01 level when compared with the control group.

Table 2. Visceral findings in fetuses

Parameter	Control	PYM I	PYM II	PYM II+FNA	PYM II+FA	FA
No. of fetuses examined	67	70	50	65	0	70
No. of fetuses with anomalies(%)	2(3.0)	1(1.4)	38(76.0)**	0	-	0
Cleft palate	2	1	33			
Absence of the pulmonary median lobe	0	0	6			
Hypoplasia of the pulmonary median lobe	0	0	5			
Absence of the pulmonary middle lobe	0	0	1			
Hypoplasia of the pulmonary middle lobe	0	0	2			
Diaphragmatic hernia of the stomach	0	0	5			
No. of fetuses with variations(%)	1(1.5)	0	3(6.0)	0	-	0
Dilatation of the renal pelvis	0		3			
Dilatation of the ureter	0		2			
Thymic remnant in the neck	1		0			

** indicates significant difference at P<0.01 level when compared with the control group.

nia) 등의 기형이 높은 빈도(76 %)로 나타났다. PYM I군에서 관찰된 구개열은 기형에 속하지만 빈도가 낮

아 자연발생적 소견으로 사료되었고, PYM II군에서 발견된 신우확장(dilatation of the renal pelvis)과 요관

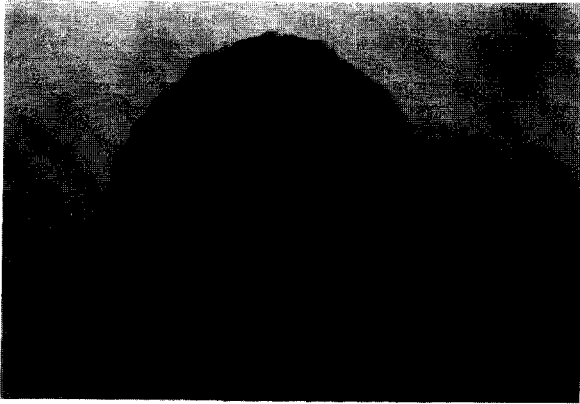


Fig. 6. Absence of the pulmonary median and middle lobes in a fetus of the PYM II group.

확장(dilatation of the ureter)은 변이에 속하는 소견으로서 시험물질의 영향은 아니라고 판단되었다. 그리고 PYM II+FNA 및 FA군에서는 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다.

태자의 골격검사 결과는 Table 3에 나타나 있다. PYM II군에서는 두개골, 후지, 흉골, 늑골, 척추 등의 부위에서 기형과 변이가 높은 빈도(각각 74.5 및 70.9%)로 나타났다. 대표적인 기형소견으로서는 흉골분절 유착(sternum: oss. cent. fused), 경추추궁 유착(vertebrae cerv. lat.: fused), 흉추추궁 유착(vertebrae thor. lat.: fused, Fig.7), 흉추추체 유착(vertebrae thor. ventr.: fused, Fig.7) 및 요추추체 유착(vertebrae lumb. ventr.: fused, Fig.7), 늑골유착(fused ribs, Fig.7) 등이

Table 3. Skeletal findings in fetuses

Parameter	Cotrol	PYM I	PYM II	PYM II+FNA	PYM II+FNA	FA
No. of fetuses examined	68	71	55	74	0	76
No. of fetuses with anomalies(%)	2(2.9)	6(8.5)	41(74.5)**	0	-	0
Skull						
Os supraocci; missing	0	0	2			
Sternum						
Oss. cent. fused	2	3	23			
Oss. cent. missing	0	0	2			
Ribs						
Fused	0	0	5			
Flyig	0	0	4			
Missing	0	0	2			
Vertebral column						
Cerv. lat.; fused	0	0	23			
Thor. lat.; fused	0	0	23			
Thor. vent.; fused	0	0	20			
Thor. vent.; missing	0	0	16			
Lumb. vent.; fused	0	3	20			
Sac. vent.; fused	0	0	4			
Sac. vent.; missing	0	1	0			
Atlas; add. oss. cent.	0	0	2			
Hindlimbs						
Ilium; missing	0	0	2			
Ilium; incompl. oss.	0	0	2			
Ischium; missing	0	0	4			
Os pubis; missing	0	0	4			
Femur; missing	0	0	2			
Tibia; missing	0	0	2			
Fibula; missing	0	0	14			
No. of fetuses with variations(%)	11(16.2)	27(38.0)	39(70.9)**	33(44.6)	-	14(18.4)
Skull						
Os interpariet.; incompl. oss.	0	0	2	0		0
Sternum						
Oss. cent. asym.	5	2	7	9		6
Add. oss. cent.	0	2	5	0		1
Ribs						
Lumbar	6	23	23	25		8
Cervical	0	0	5	0		0
Vertebral column						
Thor. vent.; o.c. bicentr.	0	0	7	0		0

Table 3. Continued.

Parameter	Cotrol	PYM I	PYM II	PYM II+FNA	PYM II+FNA	FA
Thor. vent.; o.c. dumbbell	0	0	12	0		0
Lumb. vent.; o.c. bicentr.	0	2	7	0		0
Lumb. vent.; o.c. dumbbell	0	3	4	0		0
Sacr. vent.; o.c. bicentr.	0	4	2	0		0
Sacr. vent.; o.c. dumbbell	0	5	2	0		0
Degree of ossifications						
No. of sacral and caudal vertebrae	11.9±1.8	11.4±2.3	6.6±3.3**	11.0±0.8	-	11.6±1.1

o.c./oss. cent.: ossification centers, os supraocci.: os supraoccipitale, incomple.: incomplete, cerv.: cervical, lat.: lateral, thor.: thoracic, vent.: ventral, lumb.: lumbar, sacr.: sacral, add.: additional, os interpariet.: os interparietale, asym.: asymmetric, bicentr.: bicentric.

** indicates significant difference P<0.01 level when compared with the control group.

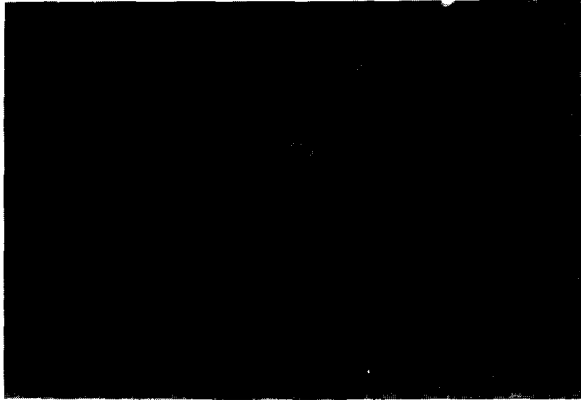


Fig. 7. Multiple skeletal anomalies(fused vertebral body and arch, fused ribs, 14th rib) in a fetus of the PYM II group.

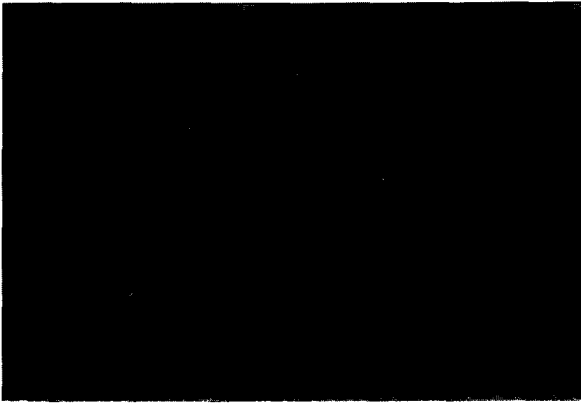


Fig. 8. Asymmetric and bicentric sternbrae in a fetus of the PYM II group.

출현했고, 변이는 요늑(lumbar ribs, Fig.7), 아령형 흉추추체(vertebrae thor. ventr.: o.c. dumbbell) 및 비대칭 또는 이분 흉골분절(asymmetric or bicentric sternbrae, Fig.8) 등이 높은 빈도로 관찰되었다. PYM I 및 PYM II+FNA군의 변이발현율은 대조군의 경우보다 다소 높게 나타났으나 통계학적인 유의성은 인정되지 않았다. 또한 PYM II군에서는 천미추(sacral

and caudal vertebrae)의 골화지연(retarded ossification)도 관찰되었다.

IV. 고 찰

Kudo 등(1994)은 마우스에 FA와 기형유발농도의 PYM을 임신 9일부터 15일까지 동시에 강제경구투여함으로써 FA에 의한 PYM의 배아 및 태자독성의 상승효과를 관찰하였다. 본 연구에서도 FA와 기형유발농도의 PYM을 임신 6일부터 12일까지 동시에 사료내 혼합투여함으로써 상기의 독성상승작용을 확인할 수 있었다. 즉, 마우스에 두 물질을 혼합투여하였을 때에 투여기간이 다소 차이가 있었음에도 불구하고 투여경로에 관계없이 모든 모동물에서 전배아의 흡수가 나타났는데, 이는 기형유발농도에서 발현되는 최기형효과가 독성상승작용에 의하여 배아 및 태자에 심한 기능장애를 일으켜서 사망을 초래한 것으로서 배아 및 태자의 치사효과(embryo-/fetoletality)로 전이했기 때문이다.

PYM 150 ppm의 용량에서 관찰된 대표적인 기형으로는 곡미, 개안, 만곡족, 구개열, 폐엽의 결손 또는 형성부전, 횡격막탈장, 흉골분절유착, 경추 및 흉추추궁 유착 등을 들 수 있다. 이 중 폐중간엽 결손, 횡격막탈장, 흉골분절유착, 경추 및 흉추추궁 유착 등은 랫트 PYM 최기형시험(Sullivan과 Takacs, 1971; Chung 등, 1993)에서는 전혀 관찰되지 않았던 소견들로서 종간에 걸쳐 독성효과의 차이가 있음을 알 수 있다.

생체이물(xenobiotics)에 대한 독성은 비교적 혼합사료 투여시보다 강제경구 투여시에 강하게 나타난다고 한다(Batra와 Yacobi, 1989). 마우스를 이용한 FA와 PYM의 혼용시험의 경우 본 연구의 결과와 Kudo 등(1994)의 보고를 살펴 볼 때에 투여경로에 관계없이 공히 높은 배아치사효과(embryocidal effect)가 나타나 독성상승작용에 있어서 정도의 차이를 비교하기는 어려웠다. 그러나 이와는 달리 Chung 등(1993)이 랫트에

장애 경구투여함으로써 나타난 FA에 의한 PYM의 독성상승효과는 Kudo 등(1988)이 보고한 사료내 혼합투여시의 경우보다 높지 않았다. 이러한 불일치의 원인으로서는 랫트의 계통, 투여경로, 용량 또는 투여기간의 차이 등을 고려할 수 있으나 이 중 투여경로의 차이가 가장 중요한 요인인 것으로 사료된다.

Tsunematsu 등(1990)은 랫트에 있어서 PYM의 기형유발성은 FA와 사료에 혼합하여 투여할 경우 증가하며, 태자의 기형발현율은 5-methyltetrahydrofolic acid (5-MF)의 혈중농도 감소와 상관한다는 사실을 보고하였고, Kudo 등(1994)의 보고에 의하면 마우스를 이용한 PYM과 FA의 혼용시험에서 역시 상기의 사실이 관찰되었다고 한다. Selhub 등(1984)의 보고에 의하면 장관내의 FA는 5-MF의 장내흡수를 경쟁적으로 억제하며 장내흡수된 FA는 PYM의 효소억제작용으로 조직에서 5-MF로 전환될 수 없다고 한다. 본 연구에서 나타난 FA에 의한 PYM의 배아 및 태자독성상승효과는 5-MF의 감소에 기인한 것으로 추정되며 추후 FA에 의한 5-MF의 감소에 관한 기전을 규명하기 위하여 후속연구가 필요할 것으로 사료된다.

FA는 설치류의 경우 상기한 바와 같이 PYM의 배아 및 태자독성을 상승시킬 수 있지만 돼지에 있어서는 독성을 차단한다는 보고가 있다(Satoh 등). 이러한 종간의 독성반응의 차이는 아마도 엽산의 생체항상성(folate homeostasis) 유지 및 엽산대사능력의 차이 등에 의한 것으로 사료된다.

본 연구에서 나타난 바로는 FA 자체는 마우스에 있어서 350 ppm의 용량에서도 기형을 유발시키지 않았는데 이는 Mercier-Parot 등(1974)의 보고와 일치한다.

Folinic acid는 엽산의 환원활성형 유도체의 하나로서 투여시 체내에서 급속히 5-MF로 전환되어 혈중농도를 증가시킨다고 한다(Nixon과 Bertino, 1972). 본 연구를 통해 FNA는 마우스에 있어서 PYM의 배아 및 태자독성을 억제시킴을 확인할 수 있었는데, 이는 Sullivan과 Takacs(1971) 및 Kudo 등(1994)의 보고와 일치하며 5-MF의 결핍이 PYM의 독성상승작용과 관계있음을 시사하고 있다. 한편 PYM과 마찬가지로 디하이드로폴레이트 환원효소억제제로 작용하는 methotrexate와 trimethoprim의 경우 이들 약제에 의해 유발되는 배아 및 태자독성은 역시 FNA에 의해 감소한다는 보고가 있다(Bushby와 Hitching, 1968).

결론적으로 말해서 비록 랫트에서 얻은 시험결과를 인체상황에 직접 적용하기에는 한계성이 있지만 PYM을 임산부에게 적용할 때에 그에 따른 빈혈 등의 부작용을 치료할 목적으로 엽산유도체를 병용시에는 FA는

독성상승효과를 유발하여 높은 태아독성의 위험을 초래할 수도 있으므로 FNA를 병용함으로써 그 위험을 감소시키는 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- Batra, V.K. and Yacobi, A. (1989): An overview of toxicokinetics in *Toxicokinetics and new drug development*(Yacobi, A. et al. eds.), (Pergamon Press, New York), p. 1-20.
- Bushby, S.R.M. and Hitching, G.H. (1968): Trimethoprim, a sulfonamide potentiator. *Br. J. Pharmacol.*, **33**, 72-90.
- Chung, M.K., Han, S.S. and Roh, J.K. (1993): Synergistic embryotoxicity of combination pyrimethamine and folic acid in rats. *J. Reprod. Toxicol.*, **7**, 463-468.
- Dawson, A.B. (1926): A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain. Technol.*, **1**, 123.
- Dunnett, C.W. (1970): Multiple comparison tests. *Biometrics*, **26**, 139-141.
- Harpey, J.P., Darbois, Y. and Lefebure, G. (1983): Teratogenicity of pyrimethamine. *Lancet*, **2**, 399.
- Hayama, T. and Kokue, E. (1985): Use of the Goettingen miniature pig for studying pyrimethamine teratogenesis. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **14**, 403-421.
- Izumi, H., Kokue, E. and Hayama, T. (1984): The critical period of pyrimethamine teratogenesis in the rat. *Japan. J. Vet. Sci.*, **46**, 217-218.
- Kudo, G., Kokue, E. and Hayama, T. (1988): Effects of folic acid and folinic acid on pyrimethamine teratogenesis in rats. *Cong. Anom.*, **28**, 303-306.
- Kudo, G., Tahara, A., Shin, H. C. and Kokue, E. (1994): Potentiated embryotoxicity of pyrimethamine by folic acid in mice. *Cong. Anom.*, **34**, 139-146.
- Main, E.K., Main, D.M. and Krogstad, D.J. (1983): Treatment of chloroquineresistant malaria during pregnancy. *J. Am. Med. Assoc.*, **249**, 3207-3208.
- Mercier-Parot, L. and Tuchmann-Duplessis, H. (1974): The dysmorphogenic potential of phenytoin: Experimental observations. *Drugs*, **8**, 340-353.
- Miller, P.N., Pratten, M.K. and Beck, F. (1989): Growth of 9.5-day rat embryos in folic acid-deficient serum. *Teratology*, **39**, 375-385.
- Misawa, J., Kanda, S. and Kokue, E. (1982): Teratogenic activity of pyrimethamine in Goettingen mini pig. *Toxicol. Lett.*, **10**, 51-54.
- Nishimura, K. (1974): A microdissection method for

- detecting thoracic visceral malformations in mouse and rat fetuses. *Cong. Anom.*, **14**, 23-40.
- Nixon, P.F. and Bertino, J.R. (1972): Effective absorption and utilization of oral formyltetrahydrofolate in man. *N. Engl. J. Med.*, **286**, 175-179.
- Raynaud, F. and Horvath, C. (1994): Folate deficiency and congenital malformations induced by pyrimethamine in the rat. *Reprod. Nutr. Dev.*, **34**, 461-471.
- Satoh, K., Furuno, Y., Kojima, N., Kokue, E. and Hayama, T. (1988): Inhibition of pyrimethamine on teratogenesis by folic acid. *Cong. Anom.*, **28**, 213. (Abstract)
- Scheffe, H. (1953): A method of judging all contrasts in the analysis of variance. *Biometrika*, **40**, 87-104.
- Selhub, J., Powell, G.M. and Rosenberg, I.H. (1984): Intestinal transport of 5-methyltetrahydrofolate. *Am. J. Physiol.*, **246**, G515-G520.
- Smithells, R.W. and Sheppard, S. (1983): Teratogenicity of debendox and pyrimethamine. *Lancet*, **10**, 623-624.
- Sullivan, G.E. and Takacs, E. (1971): Comparative teratogenicity of pyrimethamine in rats and hamsters. *Teratology*, **4**, 205-210.
- Thiersch, J.B. (1964): The effect of substituted 2,4-diaminopyrimidines on the rat fetus in utero. *Proc. Int. Cong. Chemother.*, **3**, 367-372.
- Tsunematsu, K., Kudo, G., Shimodo, M., Kokue E. and Hayama, T. (1990): Effects of pyrimethamine and folic acid on plasma level of 5-methyltetrahydrofolic acid in rats. *Cong Anom.*, **30**, 113-120.
- Webster, L.T. (1985): Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections: Malaria in *The Pharmacological Basis of Therapeutics*(Gillman et al. eds.), (Macmillian, New York), p. 1029-1048.
- Wilson, J.G. (1965): Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals in *Teratology: Principles and Techniques*(Wilson J.G. and Warkany, J., ed.), (University of Chicago Press, Chicago and London). p. 262-277.
- Yamamoto, Y., Ohnishi, M. and Kokue, E. (1984): Pyrimethamine teratogenesis by short term administration in Goettingen miniature pig. *Cong. Anom.*, **24**, 83-87.