

새로운 백금착물 항암제 SKI 2053R의 토끼 초기형성시험

김종춘* · 김갑호 · 박종일 · 김형진 · 정문구
한국화학연구소 안전성연구센터

Teratogenicity Study of SKI 2053R, a New Platinum Anticancer Agent, in Rabbits

Jong-Choon KIM*, Kap-Ho KIM, Jong-Il PARK, Hyoung-Chin KIM, and Moon-Koo CHUNG

Reproductive Toxicology Division, Toxicology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yusong, Taejeon 305-600, Korea

(Received August 25, 1999; accepted September 21, 1999)

Abstract—SKI 2053R, *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II), is a newly developed antitumor platinum complex derived from cisplatin. Preclinical studies suggest that it may have greater antitumor activity and lower toxicity than cisplatin. Effects of test agent on general toxicity of does and embryonic development of F1 fetuses were investigated in rabbits. Sixty eight New Zealand white rabbits were distributed among three treated groups and a control group. SKI 2053R was administered intravenously to pregnant rabbits from days 6 to 18 of gestation at dose levels of 0, 0.67, 2.0, or 6.0 mg/kg/day. The pregnant does were subjected to the caesarean section on day 28 of gestation. No treatment-related changes in clinical signs, body weight, food consumption, and necropsy findings were observed in all groups. F1 fetuses showed no changes related to the treatment of SKI 2053R, except that an increase in the incidence of skeletal variations were observed at 6.0 mg/kg. There were no signs of maternal toxicity or embryotoxicity at 0.67 and 2.0 mg/kg. The results show that the administration of 6.0 mg/kg SKI 2053R induces skeletal variations in fetuses and that the no observed adverse effect levels(NOAEs) of SKI 2053R are considered to be over 6.0 mg/kg for does and 2.0 mg/kg for F1 fetuses in rabbits.

Keywords □ SKI 2053R, platinum anticancer agent, teratogenicity study, rabbits

현재 세계적으로 임상에서 널리 사용되고 있는 항암제 중에서 무기의약품이라고 할 수 있는 항암제로서는 유일하게 cisplatin계열의 백금착물항암제를 들 수 있다(Weiss와 Christian, 1993). 백금착물항암제는 항암효과면에서 우수할 뿐만 아니라 치료범위도 넓고 또한 다른 항암제와의 결합 요법(combination therapy)에서도 좋은 치료효과를 나타내기 때문에 그 사용량이 급격히 증가하고 있다(손, 1995; Rajkumar 등, 1997; Viale 등, 1998). Cisplatin[*cis*-dichlorodiammineplatinum(II)]은 제 1세대 백금착물항암제로서(Rosenberg 등, 1969) 비노기계 암 특히 정소, 난소, 방광암에 주된 항암작용을 가지고 있지만 신장독성과 위장관독성, 이독성(ototoxicity) 및 신경독성 등의 부작용이 심하고 유방암과 직장암 등의 일부 악성종양에는 낮은 활성을 가지고 있어서 그 사용이 제한되어 왔다(Talley 등, 1974; Fillastre와 Raguenez-Viotte, 1989). 이로 인하여 보다 우수한 항암효과와 저독성을 가진 백금착물항암제들이 개발되

게 되었으며, 제 2세대 백금착물항암제로 carboplatin[*cis*-diammine(1,1-cyclobutanedicarboxylato)platinum(II)]이 미국 FDA로부터 인가를 받았다. 그러나 carboplatin은 신장독성과 위장관독성을 개선하기는 하였으나 항암효과는 cisplatin보다 우수하지 못하였다고 한다(Harrap, 1985; Rose와 Schurig, 1985). 따라서 항암효과와 독성에 의한 부작용을 동시에 개선할 수 있는 제 3세대 항암제를 개발하기 위해 새로운 백금착물과 새로운 전구물질(prodrug)에 대한 연구가 계속되고 있다(Kelland, 1993).

SKI 2053R은 (주)선경인더스트리에서 개발한 새로운 백금착물 항암제로서 *cis*-malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II) 구조를 가지고 있다. 전임상연구결과에 따르면 SKI 2053R은 cisplatin에 비해 약효가 우수할 뿐만 아니라 부작용도 훨씬 적은 것으로 평가되었다(강 등, 1992; 김 등, 1992; 이 등, 1992; Hong 등, 1995; Kim 등, 1994a,b; Kim 등, 1995a,b; Kim 등, 1998).

*To whom correspondence should be addressed.

Cisplatin동족체(analogs)의 작용기전은 아직까지 명확하게 밝혀지지는 않았으나 양기능성 알킬화제제(bifunctional alkylating agents)와 유사한 것으로 인식되고 있으며, DNA 가닥간의 가교결합(cross-linking)을 통하여 DNA에 결합하고 adenine과 cytosine에 공유결합하기도 한다고 한다(Novakova 등, 1995; Lawley와 Phillips, 1996). 생식독성학적 측면에서 살펴볼 때 암화학요법에 사용되는 항암제들은 항암력의 기본이 되는 세포독성으로 인하여 세포분열이 활발한 태자(fetus)나 생식세포(germ cell) 등에 작용하여 태자 발생이나 생식기능에 부작용을 유발한다고 한다(Chung 등, 1995; Kim 등, 1999). 다른 계열의 항암제와 마찬가지로 cisplatin의 경우에도 실험동물에 배자독성(embryotoxicity)과 최기형성(teratogenicity)을 가지고 있으며(Lazar 등, 1978; Keller와 Aggarwal, 1983; Muranaka등, 1991), SKI 2053R 또한 랫드에서 배자독성을 유발하는 것이 보고되었다(Chung 등, 1998). 한편 Cho 등(1996)에 따르면 ¹⁴C-SKI 2053R(20 mg/kg, 100 μCi/kg)을 임신 17일령의 랫드에게 미정맥으로 단회 투여했을 때 SKI 2053R은 태반장벽(placental barrier)을 거의 통과하지 못한다고 한다.

본 연구는 새로운 항암제 SKI 2053R을 임신토끼에게 태자의 기관형성기 동안 반복투여 하여 모동물과 배자발생에 미치는 영향을 조사하고자 하였으며, 본 시험은 국립보건안전연구원의 의약품 등의 독성시험기준(1994)에 준하여 실시하였다.

실험방법

실험동물 및 사육환경

실험동물은 삼육실험동물연구센터(경기도 화성군 오산읍 서랑동 77-1번지)로부터 입수한 New Zealand White 토끼를 사용하였다. 4~6개월령으로서 체중 3.1~4.7 kg의 수컷 12마리와 암컷 72마리를 입수하여 2주일간 적응 및 순화를 거친 다음 건강하다고 판단된 68마리의 암컷을 선발하여 시험에 사용하였다. 본 시험은 온도 23±3°C, 상대습도 50 ± 10%, 환기횟수 13~18회/hr., 조명시간 12시간(오전 7시 ~ 오후 7시), 조도 200~300 Lux로 설정된 동물실에서 실시하였다. 시험기간중 사료는 실험동물용 고형사료[퓨리나 코리아(주)]를, 그리고 물은 상수도수를 자외선 유수살균기로 소독시킨 후 자유섭취시켰다.

임신동물의 작출

순화가 끝난 후 선발된 암컷동물은 김 등(1996)의 방법에 따라 인공수정을 실시하였다. 먼저 인공질을 이용하여 수컷토끼의 정액을 채집한 다음 생리식염수로 10배 희석하였다. 현미경적 검사를 통하여 정자의 활력을 검사한 다음 정액주입용 파이펫으로 0.5 ml의 희석정액을 자궁경부에 주입하였고 배란유도를 위해 25 I.U.의 사람용모성 성선자극

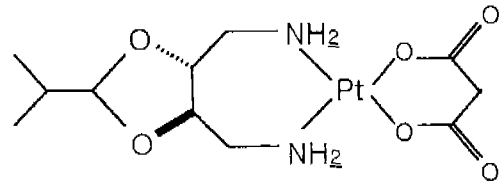


Fig. 1. Chemical structure of SKI 2053R

호르몬(human chorionic gonadotropin)을 주사하였다. 인공수정일을 임신 0일로 산정하였으며, 임신의 최종판정은 제왕절개시 자궁의 착상흔적에 따랐다.

시험물질

본 시험에는 (주)선경인더스트리의 중앙연구소에서 공급한 SKI 2053R(Lot No. 972002)을 사용하였으며, 화학구조식은 Fig. 1과 같다. 순도는 99.5% 이상이였으며, 투여 직전에 생리식염수에 녹여서 조제하였다.

투여량의 설정과 시험군의 구성

용량설정을 위한 예비시험에서 시험군당 5마리씩의 동물을 이용하여 0.25, 0.5, 0.75, 1.2, 3 및 12 mg/kg의 6개 용량으로 시험한 결과 3 mg/kg이하의 시험군에서는 모동물과 태자에 어떠한 영향도 나타나지 않았다. 반면 12 mg/kg 투여군에서는 모동물의 사망율이 매우 높게 나타났으며 현저한 체중의 감소와 사료섭취량의 감소가 관찰되었다. 이상의 결과를 참고로 하여 최고용량을 6 mg/kg으로 정하였고, 공비 3으로 하여 중간용량 및 저용량을 설정하였다. 그 외에 대조동물로서 생리식염수를 투여한 매체대조군을 두었고, 각 군당 17마리의 인공수정된 동물을 사용하였다. 시험군의 구성은 Table I과 같다.

투여방법 및 투여기간

투여경로는 임상적용경로인 정맥내로 하였고, 25계이지의 주사침을 이용하여 이계정맥에 임신 6일에서 임신 18일까지 1일 1회씩 반복투여하였다. 투여액은 1 ml/kg으로서 임신 6일, 10일 및 14일의 체중을 기준으로 산출하였다.

관찰 및 검사항목

일반증상관찰

시험기간중 1일 1회씩 동물의 일반증상, 중독증상, 유산, 조산 및 사망유무 등에 대해서 관찰하였고, 투여기간중에는 투여 전후 1일 2회씩 관찰하였다.

Table I. Experimental design for teratogenicity study of SKI 2053R in rabbits

Group	Dose (mg/kg/day)	Volume (ml/kg)	No. of animals
Vehicle control	0	1	17
SKI 2053R	0.67	1	17
	2.0	1	17
	6.0	1	17

체중 및 사료섭취량 측정

각 군의 전 어미동물에 대하여 임신 0, 6, 10, 14, 18, 23 및 28일째에 체중을 측정하였다. 사료섭취량은 모든 동물에 대하여 체중측정일에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다. 단, 임신 28일째에는 제왕절개로 인하여 임신 27일째에 사료를 급여한 후 익일 잔량을 측정하였다.

부검

각 군의 모든 임신동물들을 임신 28일째에 부검하여 체표, '체강, 흉강 및 복강의 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 이 때 간장, 신장, 비장, 심장, 흉선, 부신 및 난소의 습중량을 측정하였고, 부검일의 체중을 기초로 하여 상대장기중량을 계산하였다.

제왕절개

각 군의 모든 암컷동물들을 임신 28일째에 제왕절개하여 임신황체수, 착상수, 생존태자수, 흡수배자(태자)수, 사망태자수 및 생존태자의 개체별 체중 등을 조사하였다. 생존태자는 좌측자궁의 상단부에서부터 시작하여 우측자궁의 말단부까지 순서대로 번호를 부여한 다음 체중을 측정하였다.

태자의 외표검사

체중측정이 끝난 생존태자는 즉시 외표이상유무를 관찰하였고 pentotal sodium(중외제약, 경기도 화성군 태안읍 안녕리 146-141번지)으로 마취처사 시켰다.

내부장기검사

외표검사가 끝난 모든 생존태자를 Stuckhardt와 Poppe법(1984)에 따라서 내부장기 이상유무를 검사하였고, 이 때에 태자의 성별을 판정하였다.

골격검사

내부장기검사를 마친 태자를 95% 알콜에 고정된 다음 변형된 Dawson법(1926)에 따라 골격표본을 제작하여 골격 이상 유무 및 골화상태에 대하여 검사하였다. 태자의 외형과 내부장기 및 골격검사시 형태이상에 대한 용어는 David-Wise 등(1997)의 용어통일안을 기준으로 하여 표기하였다.

통계학적 분석

얻어진 시험자료에 대한 통계분석은 SAS 프로그램(1996)을 이용하였다. 체중, 사료섭취량 및 장기중량은 일원배치분산분석(one-way analysis of variance)과 Scheffe 또는 Dunnett 다중비교검정을, 빈도수를 나타내는 시험자료는 Kruskal-Wallis(H) 검정과 Scheffe 또는 Dunnett 다중비교검정법을, 그리고 태자의 성비는 χ^2 검정법을 이용하여 각각 대조군과 유의차검정을 실시하였다. 태자에 대한 시험자료는 성비를 제외하고 한배에서 나온 태자들의 평균 체중, 빈도수(황체수, 흡수배자수, 사망태자수)를 이용하여 통계분석 하였고, 출생자에 대한 시험자료는 모동물 단위로 정리하여 분석하였다. 전체적으로 검정의 유의수준은 1% 혹은 5%에서 검사하였다.

실험결과

모동물에 대한 영향

일반증상

모동물의 임신기간동안 매체대조군과 0.67 mg/kg 투여군에서는 어떠한 이상증상도 관찰되지 않았다. 반면 2.0 mg/kg 투여군에서는 1례에서 후구마비(paralysis)가 임신 23일에서 28일까지 관찰되었으며, 6.0 mg/kg 투여군에서는 1례에서 설사(diarrhea) 소견이 임신 3일에서 4일까지 관찰되었다.

체중

임신기간동안의 모동물 체중에 있어서는 각 투여군과 매체대조군간의 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 2).

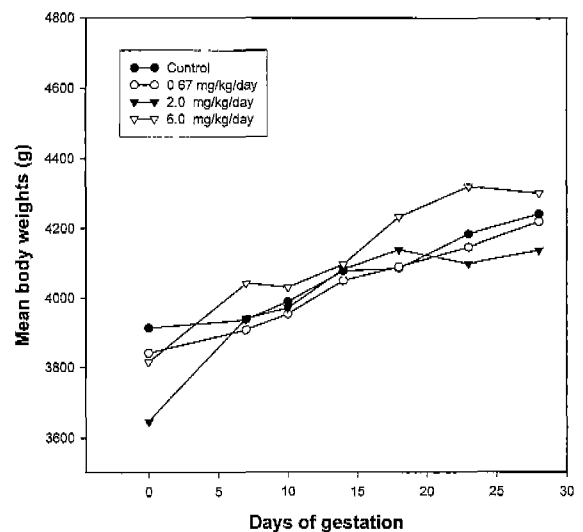


Fig. 2. Changes in body weights of does treated with SKI 2053R during the organogenetic period.

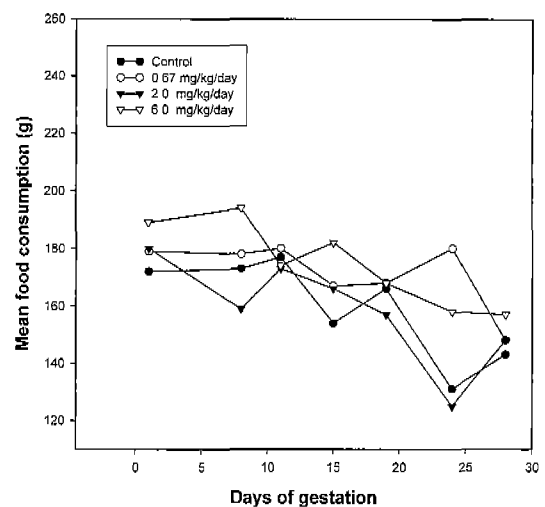


Fig. 3. Changes in food consumption of does treated with SKI 2053R during the organogenetic period.

사료섭취량

모동물의 임신기간 동안 모든 시험군에서 정상적인 사료 섭취가 관찰되었다(Fig. 3).

부검소견

모동물의 임신 28일째 부검시 매체대조군과 0.67 mg/kg 투여군의 경우 어떠한 이상소견도 관찰되지 않았다. 2.0 mg/kg 투여군에서는 자궁염증(metritis) 및 소장유착(adhesion of intestine)이 1례씩 그리고 간의 백색반점산재, 방광의 확장 및 질내 사망태자(dead fetus)가 각각 1례씩 관찰되었고, 6.0 mg/kg 투여군에서는 어떠한 이상소견도 인정

되지 않았다.

장기중량

부검시 측정된 주요장기의 중량에 있어서 모든 투여군의 절대중량 및 상대중량은 매체대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성있는 변화는 나타내지 않았다(Table II).

태자에 대한 영향

제왕절개성적

제왕절개시 조사된 황체수, 착상수, 사망태자수, 생존태자수, 생존태자의 체중과 성비는 모든 투여군에서 매체대조군과 비교하여 통계학적 유의성을 나타내지 않았다(Table III).

Table II. Absolute and relative organ weights of does treated with SKI 2053R during the organogenetic period

Weight parametes	SKI 2053R (mg/kg/day)			
	0	0.67	2.0	6.0
No. of does examined	16	16	12	12
Body weight (g)	4311.6 ± 413.0	4218.1 ± 461.3	4136.7 ± 317.1	4441.6 ± 327.4
Heart (g)	8.839 ± 1.110	8.968 ± 1.340	8.663 ± 1.259	8.954 ± 1.118
per B.W. (%)	0.205 ± 0.021	0.212 ± 0.020	0.209 ± 0.020	0.202 ± 0.029
Thymus (g)	3.199 ± 1.239	2.941 ± 1.079	2.670 ± 0.656	3.630 ± 1.726
per B.W. (%)	0.073 ± 0.023	0.070 ± 0.026	0.065 ± 0.018	0.082 ± 0.041
Spleen (g)	1.912 ± 0.969	1.845 ± 0.642	2.188 ± 1.267	1.943 ± 0.714
per B.W. (%)	0.044 ± 0.019	0.044 ± 0.014	0.052 ± 0.026	0.044 ± 0.016
Adrenal gland (g)	0.327 ± 0.086	0.354 ± 0.198	0.374 ± 0.126	0.309 ± 0.080
per B.W. (%)	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.005	0.009 ± 0.003	0.007 ± 0.002
Liver (g)	102.2 ± 13.98	105.1 ± 18.12	100.5 ± 13.66	117.6 ± 16.28
per B.W. (%)	2.379 ± 0.331	2.494 ± 0.360	2.428 ± 0.242	2.645 ± 0.294
Kidney (g)	17.99 ± 2.171	18.03 ± 2.048	18.28 ± 2.725	19.28 ± 1.990
per B.W. (%)	0.419 ± 0.048	0.431 ± 0.060	0.442 ± 0.053	0.436 ± 0.054
Ovary (g)	0.969 ± 0.341	0.816 ± 0.381	0.857 ± 0.347	1.095 ± 0.731
per B.W. (%)	0.022 ± 0.006	0.019 ± 0.007	0.020 ± 0.008	0.025 ± 0.017

Values are mean ± S.D.

Table III. Caesarean section data of does treated with SKI 2053R during the organogenetic period

Parameters	SKI 2053R (mg/kg/day)			
	0	0.67	2.0	6.
No. of does examined	16	16	12	12
Corpora lutea (Mean ± S.D.)	9.8 ± 1.83	9.8 ± 2.10	10.5 ± 2.07	10.0 ± 2.00
Implantations (Mean ± S.D.)	7.6 ± 2.36	7.2 ± 1.80	8.6 ± 2.19	8.0 ± 2.34
% to corpora lutea (Mean ± S.D.)	77.6 ± 19.99	73.5 ± 16.77	81.9 ± 15.36	80.0 ± 18.29
Fetal deaths	13	29	50**	19
Resorptions: Early	7	28	46**	18
Late	5	0	2	0
Dead fetuses	1	1	2	1
Live fetuses				
Male/Female	56/53	42/43	19/34	35/36
Litter size (Mean ± S.D.)	6.8 ± 3.37	5.3 ± 3.63	4.4 ± 3.68	5.9 ± 4.25
% to implantation (Mean ± S.D.)	89.5 ± 34.03	73.6 ± 43.91	51.2 ± 42.47	73.8 ± 44.54
Sex Ratio (Male/Female)	1.06	0.98	0.56	0.97
Body weight of live fetuses				
Male (Mean ± S.D.)	38.1 ± 5.79	38.3 ± 6.02	36.0 ± 4.12	38.0 ± 4.72
Female (Mean ± S.D.)	36.9 ± 4.03	37.9 ± 5.67	35.4 ± 3.41	35.3 ± 5.44
No. of fetuses with external anomalies (%)	1 (0.9) ^{a)}	1 (1.2) ^{b)}	0	0

^{a)}Umbilical hernia, ^{b)}Malrotated forelimbs, **indicates significant difference at P<0.01 level when compared with the control group.

반면 2.0 mg/kg 투여군에서의 태자사망수(fetal deaths)와 초기흡수수(early resorptions)는 매체대조군에 비해 통계학적으로 유의성있게 증가하였다.

태자의 외표소견

생존태자의 외표소견관찰시 매체대조군에서 제탈장(umbilical hernia)이 1례(0.9%) 관찰되었고, 0.67 mg/kg 투여군에서는 전지굴곡(malrotated forelimbs)이 1례(1.2%) 관찰되었다(Table III).

태자의 내부장기소견

임신 28일째에 적출한 태자의 내부장기검사시 매체대조군에서는 우심실비대(enlarged right ventricle)와 흉선형태이상(misshapen thymus)[변이]이 2례(1.8%) 관찰되었고, 0.67 mg/kg 투여군에서는 내부장기 기형 및 변이가 전혀 관찰되지 않았다(Table IV). 2.0 mg/kg 투여군에서는 좌총경동맥의 위치이상(malpositioned left carotid branch)[변이]이 1례(1.9%) 나타났다. 6.0 mg/kg 투여군에서는 우측난소의 형성부전(small right ovary)[기형]이 1례(1.4%) 발견되었고, 심장형태이상(misshapen heart), 흉선형태이상, 신우확장(dilated renal pelvis) 및 요관확장(dilated ureter) 등

의 변이가 5례(7.0%) 관찰되었다.

태자의 골격소견

임신 28일째에 적출한 태자의 골격검사시 매체대조군에서는 늑골불연속(discontinuous rib), 흉골분절유착(fused sternbra) 및 흉골분절의 위치이상(malpositioned sternbra)[기형]이 3례(2.8%), 장요늑(full supernumerary rib),

Table IV. Visceral findings in fetuses from does treated with SKI 2053R during the organogenetic period

Parameters	SKI 2053R (mg/kg/day)			
	0	0.67	2.0	6.0
No. of fetuses examined	109	85	53	71
No. of fetuses with malformations (%)	0	0	0	1(1.4)
Small right ovary	0	0	0	1
No. of fetuses with variations (%)	2(1.8)	0	1(1.9)	5(7.0)
Malpositioned left carotid branch	0	0	1	0
Misshapen heart	0	0	0	1
Enlarged right ventricle	1	0	0	0
Misshapen thymus	1	0	0	1
Dilatated renal pelvis	0	0	0	2
Dilatated ureter	0	0	0	1

Table V. Skeletal findings in fetuses from does treated with SKI 2053R during the organogenetic period

Parameters	SKI 2053R (mg/kg/day)			
	0	0.67	2.0	6.0
No. of fetuses examined	109	85	53	71
No. of fetuses with malformations (%)	3 (2.8)	1 (1.2)	1 (1.9)	3 (4.2)
Absent thoracic vertebra	0	1	0	0
Discontinuous rib	1	0	0	0
Fused rib	0	1	0	0
Fused sternbra	1	0	1	3
Malpositioned sternbra	1	0	0	0
Misaligned thoracic centrum	0	1	0	0
Branched rib	0	1	0	0
No. of fetuses with variations (%)	45 (41.3)	52 (61.2)	25 (47.2)	50 (70.4)**
Full supernumerary rib	25	29	16	37*
Hemicentric thoracic centrum	0	1	0	0
Misshapen sternbra	0	1	0	2
Short supernumerary rib	16	17	4	10
Supernumerary lumbar vertebra	18	26	17	31**
No. of fetuses with retardations (%)	3 (2.8)	0	0	0
Bipartite ossification of thoracic centrum	2	0	0	0
Enlarged fontanel	1	0	0	0
No. of ossification centers (Mean \pm S.D.)				
Sternebra	5.9 \pm 0.22	6.0 \pm 0.14	5.9 \pm 0.89	6.0 \pm 0.07
Metacarpals in both forelimbs	10.0 \pm 0.09	10.0 \pm 0.06	9.8 \pm 0.40	9.9 \pm 0.23
First & 2nd phalanges in both forelimbs	17.3 \pm 0.69	17.3 \pm 0.62	17.1 \pm 0.79	16.8 \pm 1.08
Third phalanges in both forelimbs	10.0 \pm 0.00	10.0 \pm 0.00	10.0 \pm 0.00	10.0 \pm 0.00
Metatarsals in both hindlimbs	8.0 \pm 0.00	8.0 \pm 0.00	8.0 \pm 0.00	8.0 \pm 0.00
First & 2nd phalanges in both hindlimbs	15.9 \pm 0.14	15.9 \pm 0.35	15.7 \pm 0.51	15.8 \pm 0.34
Third phalanges in both hindlimbs	8.0 \pm 0.00	8.3 \pm 0.78	8.0 \pm 0.00	8.0 \pm 0.00
Cervical vertebra	7.0 \pm 0.00	7.0 \pm 0.00	7.0 \pm 0.00	7.0 \pm 0.00
Sacral and caudal vertebra	19.4 \pm 0.31	19.5 \pm 0.51	19.5 \pm 0.28	19.0 \pm 0.27

* and ** indicate significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ levels, respectively, when compared with the control group.

merary lumbar vertebra)[변이]가 45례(41.3%), 그리고 이분흉추체(bipartite ossification of thoracic centrum) 및 천문확장(enlarged fontanel)[골화지연]이 3례(2.8%) 관찰되었다(Table V). 0.67 mg/kg 투여군에서는 흉추결손(absent thoracic vertebra), 늑골유착(fused rib), 흉추체의 배열이상(misaligned thoracic centrum) 및 늑골분지(branched rib) [기형]가 1례(1.2%) 관찰되었고, 장요늑과 단요늑, 편축성 흉추체(hemicentric thoracic centrum), 흉골분절의 형태이상(misshapen sternebra) 및 요추과다[변이]가 52례(61.2%) 발견되었다. 2.0 mg/kg 투여군에서는 흉골분절유착[기형]이 1례(1.9%), 그리고 장요늑과 단요늑 및 요추과다[변이]가 25례(47.2%) 관찰되었다. 6.0 mg/kg 투여군에서는 흉골분절유착[기형]이 3례(4.2%), 그리고 장요늑과 단요늑, 흉골분절의 형태이상, 요추과다[변이]가 50례(70.4%) 관찰되었다. 한편, 흉골, 중수골, 중족골, 기절골, 중절골, 말절골, 경추 및 천미추의 골화 진행도는 모든 투여군에서 매체대조군과 비교할 때에 통계학적 유의차를 나타내지 않았다.

고 찰

SKI 2053R은 (주)선경 인더스트리에서 개발한 새로운 백금착물항암제로서 기존의 cisplatin에 비해 약효가 우수할 뿐만 아니라 부작용도 훨씬 낮은 것으로 평가되었다. 이러한 SKI 2053R을 0, 0.67, 2.0 및 6.0 mg/kg의 용량으로 New Zealand White 계통의 토끼에 임신 6일부터 18일까지 정맥내로 반복투여하여 모동물의 일반상태와 태자의 발생에 미치는 영향을 조사하였다.

토끼에 있어서 후구마비는 척추골절에 의한 이차적인 소견으로서 채혈이나 시험물질 투여시 부적절한 보정에 의해서도 척추골절이 일어나기 쉽다고 한다(Bergdall과 Dysco, 1994; 박 등, 1996). 본 시험의 2.0 mg/kg 투여군에서 나타난 후구마비 역시 시험물질 투여시 불완전한 보정에 따른 척추골절이 주 원인인 것으로 생각되며 시험물질의 투여와는 관련이 없는 것으로 사료된다. 또한 6.0 mg/kg 투여군에서 나타난 설사소견 또한 시험물질을 투여하기 전에 나타난 소견으로서 개체차이에 기인된 우발적인 소견(accidental finding)으로 판단된다.

부검시 2.0 mg/kg 투여군에서 관찰된 자궁염증과 소장유착, 간의 백색반점산재, 방광의 확장 및 질내 사망태자의 존재 등의 이상소견은 그 발생빈도가 매우 낮고 또한 용량상관성도 인정되지 않아 시험물질과는 무관한 자연발생적 소견으로 사료된다.

모동물의 제왕절개시 2.0 mg/kg 투여군에서 관찰된 초기 흡수수의 증가와 이에 따른 태자사망수의 증가는 용량상관성이 인정되지 않았고, 특히 최고농도인 6.0 mg/kg 투여군에서의 결과는 매체대조군의 결과와 유사하였다. 따라서 상

기소견은 시험물질의 투여에 기인된 변화는 아닌 것으로 사료되며, 정확한 원인은 알 수 없으나 우발적인 소견으로 판단된다. 한편 본 시험의 용량을 설정하기 위한 예비시험 결과에 따르면 12 mg/kg의 투여는 태자사망을 야기하였고 모동물에서는 체중감소와 사망을 유발하였다. Cisplatin 계열의 백금착물항암제가 배자독성을 유발한다는 것은 여러 보고에 의해 잘 알려져 있으며(Lazar 등, 1978; Keller와 Aggarwal, 1983; Kopf-Maier 등, 1985; Muranaka 등, 1991), 특히 혈청내 prolactin, leutenizing hormone 및 progesterone의 농도저하가 임신초기의 배자를 치사시키는 일차적인 원인인 것으로 보고되었다(Bajt와 Aggarwal, 1985). SKI 2053R 역시 랫드에서 모동물에 경미한 독성을 유발하는 3.0 mg/kg의 용량에서 배자의 사망을 유발하는 것을 본 연구실에서 확인한 바 있으며(Chung 등, 1998), 본 시험의 예비시험 결과도 SKI 2053R이 토끼에서 배자사망을 유발한다는 것을 암시해 준다.

태자의 외표와 내부장기검사시 매체대조군 및 투여군에서 소수례씩 관찰된 제탈장, 전치골곡, 우심실비대, 흉선형태이상, 좌총경동맥의 위치이상, 우측난소의 형성부전, 심장형태이상, 신우확장 및 요관확장 등의 형태학적이상은 용량상관성이 인정되지 않았고 발생빈도도 낮아 자연발생적인 소견으로 인정된다(Stadler 등, 1983; Morita 등, 1987; Guittin 등, 1997).

토끼태자의 골격소견은 신체의 기능장애 유발여부, 골화정도 등에 따라서 기형(malformation), 변이(variation) 및 골화지연(retardation)으로 구분된다. 태자의 골격검사시 매체대조군 및 투여군에서 소수례로 관찰된 흉추결손, 늑골불연속, 늑골유착, 흉골분절유착, 흉골분절의 위치이상, 흉추체의 배열이상 및 늑골분지 등은 기형에 속하는 이상이지만 발생빈도가 매우 낮고 용량상관성이 인정되지 않아 시험물질에 의한 영향은 아닌 것으로 사료된다. 반면 6.0 mg/kg 투여군에서 관찰된 골격변이의 발현율 증가는 시험물질에 의한 영향으로 판단된다. 태자에 있어서 낮은 빈도의 변이는 보통 시험물질과 무관하게 자연발생적으로 나타날 수 있지만 그 발현율이 현저히 높거나 용량상관성있게 나타날 경우 시험물질에 기인한 발생독성의 한 지표로 간주된다고 한다(Chernoff 등, 1991; Igarashi 등, 1992). 본 시험의 경우 6.0 mg/kg 투여용량에서 장요늑과 요추과다 등의 골격변이가 높은 빈도로 나타난 것은 SKI 2053R이 변이유도물질임을 추정할 수 있는 증거로 생각된다. Anabuki 등(1982)의 보고에 의하면 임신토끼에게 0.125 mg/kg 이상의 cisplatin을 태자의 기관형성기 동안 반복투여하면 배자독성이 증가한다고 하였는데, 본 시험에서는 동일계 유도체인 SKI 2053R을 투여한 결과 최고용량인 6.0 mg/kg 용량에서 태자의 골격변이 발생빈도가 증가하여 경미한 태자독성(minimal fetotoxicity)이 인정되었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 임신토끼에 있어서 SKI 2053R의 투여는 6.0 mg/kg 용량에서 태자에 골격변이를 유발하는 것으로 나타났고, 무해용량(no observed adverse effect level)은 모동물의 경우 6.0 mg/kg 이상, 태자의 경우 2.0 mg/kg이라고 사료된다.

참고문헌

- 강경선, 신동진, 조재진, 김형욱, 김배환, 이영순. (1992). 랫드와 마우스에서 *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II)(SKI 2053R)의 급성독성에 관한 연구. 한국독성학회지 **8**, 205-216.
- 국립보건안전연구원 (1994). 의약품등의 독성시험기준. 국립보건안전연구원, 예규 제 94-3호.
- 김종춘, 정문구, 한상섭 (1996). 토끼 최기형성 시험의 임신 동물 작출을 위한 인공수정법. 한국실험동물학회지 **12**, 141-146.
- 김형욱, 강경선, 신동진, 조재진, 김배환, 서광원, 남기환, 이영순. (1992). 랫드에서 *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II) (SKI 2053R)의 아급성독성시험에 관한 연구. 한국독성학회지 **8**, 217-233.
- 박재학, 제정환, 이영순. (1996). 토끼의 요추 골절 1례. 한국실험동물학회지 **12**, 285-287.
- 이영순, 강경선, 신동진, 조재진, 김형욱, 김배환, 임윤규. (1992). Beagle dog에서 *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II) (SKI 2053R)의 아급성독성시험에 관한 연구. 한국독성학회지 **8**, 235-253.
- 손연수. (1995). 백금착물항암제. 생명공학동향 **3**, 126-132.
- Anabuki, K., Kitazima, S., Koda, S. and Takahashi, N. (1982). Reproductive studies on cisplatin. *Yakuri to Chiryō* **10**, 659-701.
- Bajt, M. L. and Aggarwal, S. K. (1985). An analysis of factors responsible for resorption of embryos in cisplatin-treated rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **80**, 97-107.
- Bergdall, V. K. and Dysco, R. C. (1994). Metabolic, traumatic, mycotic, and miscellaneous diseases. In *The Biology of the Laboratory Rabbit*. Second ed. (Manning, P. J. et al. eds), pp. 335-353, Academic Press, San Diego.
- Chernoff, N., Rogers, J. M., Turner, C. I. and Fracies, B. M. (1991). Significance of supernumerary ribs in rodent developmental toxicity studies: postnatal persistence in rats and mice. *Fund. Appl. Toxicol.* **17**, 448-453.
- Cho, Y. B., Kim, K. H., Kim, D. K. and Miyamoto, G. (1996). Mammary excretion and placental transfer of *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-Isopropyl-1,3-Dioxolane]Platinum(II) in rats. *Drug Research* **46**, 926-930.
- Chung, M. K., Kim, J. C. and Roh, J. K. (1995). Teratogenic effects of DA-125, a new anthracycline anticancer agent, in rats. *Repro. Toxicol.* **9**, 159-164.
- Chung, M. K., Kim, J. C. and Roh, J. K. (1998). Embryotoxic effects of SKI 2053R, a new potential anticancer agent, in rats. *Repro. Toxicol.* **12**, 375-381.
- David Wise, L., Beck, S. L., Belrame, D., Beyer, B. K., Chahoud, I., et al. (1997). Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (Version 1). *Teratology* **55**, 249-292.
- Dawson, A. B. (1926). A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. *Stain Technol.* **1**, 123-124.
- Fillastre, J. P. and Raguenez-Viotte, G. (1989). Cisplatin nephrotoxicity. *Toxicol. Lett.* **46**, 163-175.
- Guittin, P., Falda-Buscaiot, F., Simon, M., Barbellion, S. and Clark, R. L. (1997). Variations in the origin of the left carotid artery in rabbit fetuses. *Teratology* **55**, 63.
- Harrap, K. R. (1985). Preclinical studies identifying carboplatin as a visible cisplatin alternative. *Cancer Treat. Rev. [Suppl A]* **12**, 21-33.
- Hong, W. S., Kim, H. T., Kim, K. H. and Kim, D. K. (1995). *In vitro* antitumor activity of a new platinum complex, *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II) (SKI 2053R), against human lung and stomach cancer cell lines. *Anticancer Res.* **15**, 51-54.
- Igarashi, E., Kawamura, N., Okumura, H., Hotta, K., Okamoto, T., Inaoka, M., Takeshita, S. and Yasuda, M. (1992). Frequency of spontaneous axial skeletal variations detected by the double staining technique for ossified and cartilaginous skeleton in rat fetuses. *Cong. Anom.* **32**, 381-391.
- Kelland, L. R. (1993). New platinum antitumor complexes. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **15**, 191-219.
- Keller, K. A. and Aggarwal, S. K. (1983). Embryotoxicity of cisplatin in rats and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **69**, 245-256.
- Kim, D. K., Ahn, J. S., Ryu, K. H., Kim, C. W., Park, M. S., Kim, M. H., Chung, M. H., Shin, S. G., Suh, Y. H. and Kim, Y. S. (1994a). General pharmacology of *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II). *Drug Res.* **44**, 1080-1088.
- Kim, D. K., Kim, G., Gam, J., Cho, Y. B., Kim, H. T., Tai, J. H., Kim, K. H., Hong, W. S. and Park, J. G. (1994b). Synthesis and antitumor activity of a series of [2-substituted-4,5-bis(aminomethyl)-1,3-dioxolane]platinum(II) complexes. *J. Med. Chem.* **37**, 1471-1485.
- Kim, D. K., Kim, H. T., Cho, Y. B., Tai, J. H., Ahn, J. S., Kim, T. S., Kim, K. H. and Hong, W. S. (1995a). Antitumor activity of *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II), a new platinum analogue, as an anticancer agent. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **35**, 441-445.
- Kim, D. K., Kim, H. T., Tai, J. H., Cho, Y. B., Kim, T. S., Kim, K. H., Park, J. G. and Hong, W. S. (1995b). Pharmacokinetics and antitumor activity of a new platinum compound, *cis*-Malonato[(4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II), as determined by *in vivo* pharmacodynamics. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **37**, 1-6.
- Kim, H. T., Kim, D. K., Cho, Y. B., Kim, T. S., Jung, I., Kim, K. H., Heo, D. S., Bang, Y. J., Shin, S. G. and Kim, N. K. (1998). Influence of exposure and infusion times on the

- cytotoxicity and pharmacokinetics of *cis*-Malonato[(4R, 5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane]platinum(II). *Cancer Chemother. Pharmacol.* **41**, 109-116.
- Kim, J. C., Lim, K. H. and Chung, M. K. (1999). Testicular cytotoxicity of DA-125, a new anthracycline anticancer agent, in rats. *Repro. Toxicol.* **13**(5), in press.
- Kopf-Maier, P., Erkenwick, P., Merker, H. J. (1985). Lack of severe malformations versus occurrence of marked embryotoxic effects after treatment of pregnant mice with *cis*-platinum. *Toxicology* **34**, 321-331.
- Lawley, P. D. and Phillips, D. H. (1996). DNA adducts from chemotherapeutic agents. *Mut. Res.* **355**, 13-40.
- Lazar, R., Conran, P. C. and Damjanov, I. (1978). Embryotoxicity and teratogenicity of *cis*-diamminedichloroplatinum. *Experientia* **35**, 647-648.
- 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, rabbit and mice. *Cong. Anom.* **27**, 147-206.
- Muranaka, R., Fukiishi, Y., Tsuiki, Y. and Hasegawa, Y. (1991). Teratogenic characteristics by single dosing of antineoplastic platinum complexes in rats. *Teratology* **44**, 7B-8B.
- Novakova, O., Vrana, O., Kiseleva, V. I. and Brabec, V. (1995). DNA interactions of antitumor platinum(IV) complexes. *Eur. J. Biochem.* **228**, 616-624.
- Rajkumar, S. V., Frytak, S., Rubin, J., Camoriano, J. K. and Fitch, T. R. (1997). Combination chemotherapy with cisplatin, carboplatin, and etoposide in advanced malignancy: a phase I trial. *Am. J. Clin. Oncol.* **20**, 500-504.
- Rose, W. C. and Schurig, J. E. (1985). Preclinical antitumor and toxicologic profile of carboplatin. *Cancer Treat. Rev. [Suppl A]* **12**, 1-19.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Trasco, J. E. and Mansour, V. H. (1969). Platinum compounds: A new class of potent antitumor agents. *Nature* **222**, 385-386.
- SAS Institute, Inc. (1996). SAS/STAT User 's Guide Version 6.12 Edition. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
- Stadler, J., Kessedjian, M. J. and Perraud, J. (1983). Use of the New Zealand White rabbit in teratology: incidence of spontaneous and drug-induced malformations. *Fd. Chem. Toxic.* **21**, 631-636.
- Stukhardt, J. L. and Poppe, S. M. (1984). Fresh visceral examination of rat and rabbit fetuses used in teratogenicity testing. *Teratogen Carcinogen Mutagen* **4**, 181-188.
- Talley, R. W., O'Bryan, R. M., Gluterman, J., Brownlee, R. W. and McCredie, K. B. (1974). Clinical evaluation of toxic effects of *cis*-platinum(II) diamminedichloride. *Recent Results Cancer Res.* **48**, 160-166.
- Viale, M., Pastrone, I., Pellicchia, C., Vannozzi, M. O., Cafaggi, S. and Esposito, M. (1998). Combination of cisplatin-procaine complex DRP with anticancer drugs increases cytotoxicity against ovarian cancer cell lines. *Anticancer Drugs* **9**, 457-463.
- Weiss, R. B. and Christian, M. C. (1993). New cisplatin analogues in development. A review. *Drugs* **46**, 460-477.