

퀴놀론 유도체인 Q-35의 랫드에서의 주산·수유기시험 연구

박귀례* · 한순영 · 김판기¹ · 신재호 · 조인구² · 장성재
식품의약품안전본부 독성연구소, (주)중외제약 종합연구소

Peri- and Postnatal Study of Q-35, a Quinolone Antibiotic, in Rats

Kui Lea PARK*, Soon-Young HAN, Pan Gyi KIM¹, Jae-Ho SHIN,
In Koo CHO² and Seung Jae JANG

National Institute of Toxicological Research, Korea FDA, Seoul 122-704, Korea,

²Choong Wae Research Laboratory, Choong Wae Pharma Corporation, Kyunggi-do 445-970, Korea

(Received February 2, 1998; accepted March 4, 1997)

Abstract – Pregnant Sprague-Dawley rats were administered with Q-35 at the dose levels of 0, 30, 100 and 300 mg/kg/day by oral gavage from gestation day 17 to lactation period. Effects of the test chemical on general findings, reproductive performance of dams and development of F1 generation were examined. There were no treatment related changes in physical signs, body weight, necropsy findings, organ weights, delivery and nursing behavior. In 100 and 300 mg/kg/day treated groups, the food consumption of dams was decreased significantly during gestational day 19~21. The gestation length of 300 mg/kg/day treated group was increased significantly compared to the control group (22.3 ± 0.48 vs 22.0 ± 0.39). Although the gestational length of all groups were in normal range of the rat, potential effect of the drug could not be ruled out. External anomaly of F1 fetus induced by Q-35 was not detected in any groups. There were no treatment related changes in physical development, reflex functions, sensory functions, locomotor activity and motor coordinating activity. Estrus cycle, fertility and reproductive performance of F1 were not changed in all treated groups. There was no external abnormality related to the drug administration on the examination of F2. These results suggest that Q-35 has no adverse effect on the peri- and postnatal period in rats except the reduction of food consumption at the beginning of drug administration and the potential effect on the elongation of gestation length.

Keywords □ Q-35, quinolone, peri- and postnatal study, rats, physical development, behavior

퀴놀론계 항생제는 1962년 nalidixic acid를 요도염에 사용한 것을 시초로 하여, 1970년대에 oxolinic acid 및 cinoxacin이 개발되었고, norfloxacin을 시작으로 6위치에 불소와 7위치에 피페라진 고리를 가지며, Gram 양성 및 음성균에 대해 강한 항균활성을 나타내는 퀴놀론계 항생제들이 연이어 개발되어 현재 널리 시판되고 있다(Norris 및 Mandell, 1988).

Q-35는 (±)-1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-8-methoxy-7-(3-methylaminopiperidin-1-yl)-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid dihydrate($C_{20}H_{24}FN_3O_4 \cdot 2H_2O$, 분자량 425.46)의 화학식을 가지는 일본 中外製藥에서 합성한 새로운 퀴놀론계 항균물질로서, *in vitro*에서 *Staphylococcus*속 균들에 대하여 기존의 퀴놀론항생제인 ofloxacin, ciprofloxacin 및 lomefloxacin 보다 4-16배 강한 항균활성을 나타내는 것이 알려

져 있으며 이는 퀴놀론기의 8위치에 methoxy기를 도입함으로써 기존의 퀴놀론항생제에 대한 내성균 및 Gram 양성균 등에 대하여 강한 항균작용을 나타내는 것으로 보고되었다(Ito 등, 1992, 1994 및 1995; Iwasaki 등, 1995).

본 연구는 Q-35에 대한 전임상시험의 안전성 평가의 일환으로서, Q-35를 랫드의 주산·수유기(임신 17일-분만후 21일)에 걸쳐 매일 반복투여할 때 모체의 임신기간, 분만, 포육, 차산자의 성장, 발육 및 기능발달 등에 미치는 영향을 의약품등의 독성시험기준(국립보건안전연구원, 1988) 및 독성시험표준작업지침서(국립보건안전연구원, 1993)에 따라 시험·평가하고자 하였다.

실험방법

실험동물 및 사육환경

실험동물은 국립보건안전연구원 실험동물관리실에서 사

* To whom correspondence should be addressed.

¹Present address: Department of Environmental Health, Yongin University, Kyunggi-do, 449-714, Korea

육한 특정병원체부재(SPF) 암수 Sprague-Dawley 랫드를 실험실에서 순화시켜 사용하였으며, 실험실은 온도 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $55\pm 5\%$, 환기회수 10-18회/hr, 조명시간 12시간, 조도 300-500 Lux로 조절되었다. 사료는 실험동물용 고품 사료(신혼사료)를 물은 수도물을 자유롭게 섭취토록 하였다. 순화기간 중에는 폴리카보네이트 랫드 사육상자에 3마리씩 임신기간 중에는 2-3마리씩 분만 2일전부터는 1마리씩 넣어 사육하였다.

교배 및 임신동물

각 군 24~25수의 암컷 랫드에 대하여 암수 각 2:1로 동거시킨 다음날 아침, 질전 또는 질도말에서 정충이 확인된 날을 임신 0일로 하였고, 자연분만에서는 태자의 출산 확인으로, 제왕절개에서는 착상흔적을 확인하여 임신을 최종 판정하였다. F1의 수능능검사에서는 각 군내에서 형매교배를 피해 암수 각 1:1로 교배시켰다.

시험물질 투여 및 시험군 구성

(주)중외제약에서 제공한 Q-35(Lot. No. RI Co 3)를 증류수에 균등히 현탁시켜 투여하였으며, 투여용량은 아급성독성시험 결과를 참조하여 예비실험을 실시하여 설정하였다. 즉, 100 mg/kg에서 체중의 증가, 억제 및 섭이량의 감소가 인정되지 않았으므로, 모동물에 대하여 27일 이상 투여가 가능한 300 mg/kg를 본 실험에서 최고용량으로 하고, 중간용량은 100 mg/kg으로, 아급성독성시험에서 무해용량인 30 mg/kg을 저용량으로 하여 임신 17일부터 이유기(분만후 21일)까지 매일 오전 9-11시 사이에 1일 1회 강제 경구투여하였다. 투여액량은 5 ml/kg으로서 임신 17일부터는 매일, 분만 후에는 4, 7, 14일에 측정된 체중을 기준으로 산출하였다.

모체에 대한 영향

일반증상, 체중 및 사료섭취량

투여기간을 제외한 시험기간 중에는 1일 1회, 투여기간 중에는 투여 전후 1일 2회 동물의 일반상태, 중독증상 및 사망유무를 관찰하였다. 또한, 분만 전후에는 1일 3회 이상 분만 중의 관찰 및 분만여부를 관찰하였다. 각 군의 모든 어미동물에 대하여 임신 0, 7, 14, 16-21일, 분만일, 분만 후 4, 7, 14, 21일에 각각 체중을 측정하였다. 임신 0, 7, 14, 17, 19, 21일과 분만 후 7, 14, 21일에 사료의 잔량 및 급여량을 측정하여 전회의 급여량에서 잔량을 빼어 사료섭취량을 산출하였으며 1일당 사료섭취량을 계산하였다.

분만일의 관찰

수유를 하여 유선이 수유흔적이 인정되면 분만완료로 판정하였다. 오후 5시까지 분만완료된 모체는 당일 분만으로 하였고, 이를 분만 0일로 하였다. 출산율은 다음과 같이 산출하였다. 출산율(%)=(생존자 출산 암컷 수/임신 암컷 수)×100

병리해부학적 검사(모체)

분만 후 21일에 경추탈구한 후 개복하여, 자궁의 착상흔

을 세고 각 장기를 육안으로 관찰하였다. 분만 후 21일 이전에 태자가 모두 사망한 임신모체와 임신 26일까지 분만하지 않은 모체도 부검하여 착상흔을 세고 태자의 이상 유무를 관찰하였다. 이상이 인정된 장기 및 태자는 필요한 경우 10% 중성 포르말린에 고정하여 병리조직학적 검사를 실시하였다.

출산자에 대한 영향

출산일에 출산자수를 세고, 생사여부, 성별, 체중 및 외형 이상의 유무를 관찰하였다. F1의 일반 상태는 1일 1회 이상, 주로 사육 관리 및 투여시 관찰하였다. 생후 4일까지의 생존율과 이유율은 다음과 같이 산출하였다. 생후 4일까지의 생존율(%)=(생후 4일의 생존자 수/생존 출산자 수)×100, 이유율(%)=(출산후 22일의 생존자 수/생후 4일 조정 직후 생존자 수)×100

체중측정

생후 0, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 및 70일에 체중을 측정하였다.

산자수의 조정

산자수의 조정은 생후 4일에 모체당 8수로 하였으며, 암수 동수로 무작위 선발을 원칙으로 하였다. 생후 21일 이유 시에는 모체당 암수 각 4수로 재조정하였다.

발육분화 및 반사기능 검사

생존 출산자 전부에 대하여 발육분화 및 반사기능검사를 시행하였다. 관찰항목 및 관찰기준일은 (주)중외제약의 실험프로토콜에 준하였다. 동공반사검사는 원칙적으로 모체당 암수 각 1수로 하였다. 이개개전은 출산자 생후 4일령에 양쪽 컷바퀴가 모두 측두피부로부터 떨어져 있으면 양성으로 하였다. 치아맹출은 생후 13일령에 육안으로 아랫니(절치)가 보이면 양성으로 하였다. 안검개열은 생후 18일령에 양쪽 눈을 떴으면 양성으로 하였다. 정소하강은 생후 28일령에 관찰하여 육안으로 정소가 하강되어 음낭이 형성되었는지를 확인하였다. 질개구는 생후 35일령에 관찰하여 질 부위가 열려 있는지 여부를 확인하였다. 정향반사는 생후 9일령에 실시하였으며 수평면에 신생자를 뒤집어 5초 이내에 바로 일어나면 양성으로 기록하였다. 5초 이내에 일어나지 않으면 바로 재실험 하였으며, 5초 이상인 경우는 2회 추가 실시하여 관찰시간을 기재하였다. 부주지성은 생후 14일령에 평가하였다. 경사각 15°의 판상에 출산자의 머리 부위를 아래쪽으로 향하도록 놓고 180°회전을 완료할 때까지의 시간을 측정하여 15초 이내에 회전하면 양성으로 하였다. 15초 이상 60초 이내는 시간을 기록하고, 60초 이내에 180°회전하지 못하면 60초 이상으로 기록하였다. 동공반사는 생후 35일령의 출산자를 암실에서 충분히 적응시킨 후, 양눈에 안과용 후레쉬를 각각 비추어 동공수축이 모두 확인되면 양성으로 하였다.

감각, 운동성 및 정동성검사

모체당 무작위 선발된 암수 각 1수를 대상으로 하여 감각, 운동성, 정동성검사를 실시하였다. 청각검사, 로타로드 검사는 생후 28일령에 평가하였다. 청각기능검사는 청각기능 측정기(Startle responder, Columbus Instrument)를 이용하여 주파수 20 KHz, 음압 100 dB의 순음에 폭로시켰을 때 이개반사가 인정된 것을 양성으로 하였다. 로타로드 검사는 로타로드검사기(Rotarod treadmill for rats, KARL KOLB Scientific Technical Supplies)를 사용하여 실시하였으며, 회전하는(6회/분) 붐에 동물을 적응시킨 후 낙하할 때까지의 시간을 측정하였다. 최장 관찰시간은 1분으로 하고 3회 시행하여 3회째의 성적을 기록하였으며 5초 이상이면 양성으로 하였다. 자발운동량검사는 생후 35일령에 간접조명하에서 자발운동량 측정기(Opto-Varimex animal activity meter, Columbus Instrument)로 총 이동거리를 측정하였다. 핫플레이트검사는 42일령에 평가하였다. 플레이트 바닥온도를 55℃가 되도록 유지하고 플레이트 바닥에 랫드 발바닥이 모두 닿았을 때를 시점으로 하여, 200 mm 높이의 벽위로 완전히 올라가는데 소요된 시간을 측정하였고 30초 이내일 경우 양성으로 하였다.

생식기능검사 (F1)

검사 대상은 모체당 암수 각 1수로 하였다. 암컷의 성주기검사는 63-70일령에, 수태능검사, 임신유지기능검사 및 수컷의 수정능검사는 70일령 이후 시행하였다. 암컷과의 교배에 사용된 수컷은 교미가 끝난 후, 경추탈구시켜 병리해부학적검사를 시행하였다. 교배율 및 임신율을 다음과 같이 구하였다. 교배율(%)=(교배성립 동물수/교배에 사용된 동물수)×100, 임신율(%)=(임신성립 암컷 수/교배성립 암컷 수)×100

임신 중인 F1은 임신 0, 12, 21일에 체중을 측정하였고, 임신 20일에 경추탈구시킨 후 회복하여 태자를 적출 관찰하였다. 총 자궁무게를 달고(황체수, 착상수, 사망태자수, 착상흔, 흡수수, 생존태자수, 성별, 생존태자의 체중 등)을 관찰하고 외형이상유무를 관찰하였다. 또한 F1 모체의 주요장기의 이상유무를 기록하였다.

병리해부학적 관찰 (F1)

4일령 도태산자는 에테르로 안락사시킨 후 부잉액에 고정 보존하였다. 이유후 도태산자, 청각검사, 로타로드검사, 동공반사, 오픈필드검사, 핫플레이트검사 후의 F1을 태자를 경추탈구하여 도태하여, 각 장기의 육안적 이상 유무를 관찰하였다. 수정능검사에 사용된 수컷은 부검시에 부고환미부의 정자를 채취하여, 정자의 운동성 유무를 광학현미경 하에서 검사하였다. 이상이 인정된 장기는 필요한 경우 10% 중성 포르말린액에 고정하여 조직학적검사를 하였다. 청각검사 및 로타로드검사에 사용된 동물은 부검시 대퇴부로부터 슬관절을 채취하여 탈회 후 조직 표본을 제작하여 관찰하였다(Culling 등, 1985).

통계처리

대조군과 각 투여군 간의 차이를 다음의 방법으로 유의수준 5%에서 비교하였다. The t-test with F-test for homogeneity of variance: 체중, 사료섭취량, 황체수, 착상수, 생존태자수, 출생자수, 로타로드 검사치, 자발운동량 검사치 및 핫플레이트 검사치, Fisher-Irwin test: 성주기, 교미율, 수태율 및 발육분화의 각 시험항목, Pitman test using exact generalization of the Fisher Irwin test for z x k table: 착상율, 태자사망율, 외형이상 발현율, 출산율, 출생율, 사산자율, 4일 생존율 및 이유율, The t-test with analysis of variance for nested design: 태자체중 및 출산자체중.

실험결과

모체에 대한 영향

일반증상, 체중 및 사료섭취량

Q-35를 30 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg의 용량으로 임신 17일부터 분만 후 21일까지 투여하는 동안 약물에 의한 특별한 임상증상은 관찰되지 않았다. 다만 저용량 투여군 중 2마리가 투여 2일째, 4일째에 실사하였으나 곧 멈췄다. 100 mg/kg 투여군에서 모체 1수가 약물투여 이전인 임신 14일에 질 출혈이 나타났고, 그 다음날(임신15일) 사망하여 부검한 결과 자궁 내 출혈이 심하였다. 복부, 좌우앞발 혹은 눈 주위에 탈모 증상이 대조군 2수, 저용량투여군 1수, 중용량투여군 2수에서 보이다가 며칠 후 증상이 개선되거나 지속되었는데 그 원인은 찾지 못하였고 또한 저용량투여군에서 1수가 왼쪽 눈에 염증 증세를 보이다가 없어졌으나 눈이 위축되었다. 임신 기간으로 부터 분만 후 이유기까지의 체중변화는 Fig. 1과 같다. 약물에 의한 체중변화는 전 실험기간에 걸쳐서 인정되지 않았다. 중용량투여군에서 임신 19-21일 사이에 사료섭취량의 유의성있는 감소 및 분만 후 7-14일 사이에 유의성있는 증가가 관찰되었으며, 고용

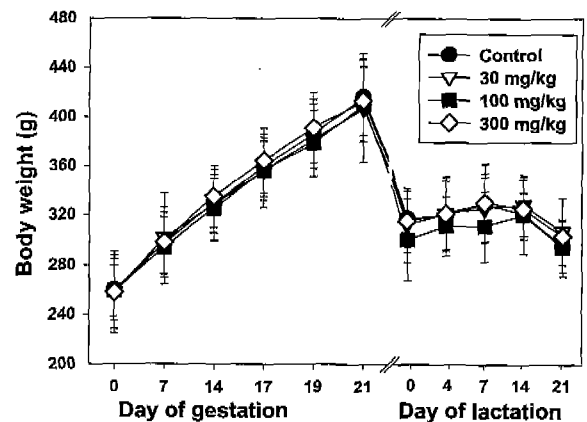


Fig. 1. Body weight of dams (F0) administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period.

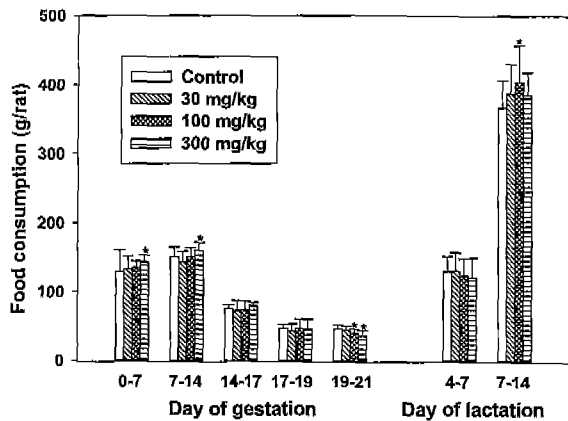


Fig. 2. Food consumption of dams (F0) administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period.

량투여군에서도 임신 19-21일 사이에 유의성 있는 감소가 관찰되었다(Fig. 2).

분만일의 관찰

임신기간 및 출산율은 Table I과 같다. 임신 모체는 대조군 20수, 저용량투여군 21수, 중용량투여군 16수 및 고용량투여군 20수였다. 모든 모체가 정상분만 예정일인 21-23일에 분만을 하였으나 중용량투여군과 고용량투여군에서 임신기간이 23일인 모체가 늘어 고용량투여군에서는 통계적 유의성이 인정되었다. 또한, 분만 태자를 잡아먹은 모체가 중용량투여군과 고용량투여군에서 각 1수씩 관찰되었다. 대조군의 4수가 비임신이었으며, 저용량투여군의 3수, 중용량투여군의 7수와 고용량투여군의 5수가 각각 비임신으로 판정되었다.

병리해부학적 검사

이유 후 모체 부검(분만이상 및 비임신 모체포함)

임신 모체 저용량투여군 1수에서 가벼운 정도의 맹장팽대가 관찰되었고, 비임신 모체의 고용량투여군 4수, 중용량투여군 6수에서 맹장팽대가 관찰되었다. 이유 후 부검 모체의 장기 중량을 측정된 결과는 Table II와 같다. 간장과 좌우 신장의 중량을 대조군과 비교할 때 변화는 인정되지 않았다.

출산자에 대한 영향

F1 출생일의 관찰

대부분의 임신 모체에서는 정상적인 분만이 이루어졌으며, 정상 분만한 출산자의 외형이상 관찰 결과 이상이 인정된 개체는 없었다. 중용량투여군 및 고용량투여군 각 1수가 전날 오후 5시경에 분만증상을 확인하였으나 다음날 오전 새끼가 보이지 않는 것이 확인되었다.

F1의 일반상태 관찰

대부분의 F1에서 별다른 이상이 관찰되지 않았으나, 중용량투여군의 한배 새끼가 분만 후 7일 전후에 모체와 더불어 체중이 저하되었으나 그 뒤 점차로 회복되었고, 고용량투여군의 한배 새끼가 분만 4-7일을 전후하여 모체와 더불어 체중이 저하되다가 회복되었다. 대조군의 한배 새끼는 분만 이후 계속적인 체중저하 상태를 보였고 털에도 윤기가 없었다.

출산자의 체중 변화

출산자의 암컷 및 수컷의 체중변화를 Table III에 나타내었다. 분만일의 암수 출산자의 체중을 비롯하여 전반적인 체중변화 추세는 대조군과 비교할 때 큰 차이가 없었다. 다만 고용량투여군에서 암수 모두 생후 4일에 체중이 유의성 있게 감소하였고, 수컷의 경우 고용량 투여군에서 생후 7일에 일시 회복한 후 생후 14일에 다시 유의한 감소가 있었으

Table I. Effects of Q-35 on gestation length and parturition incidence of dams (F0) administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	No. of animals	No. of pregnant animals	Gestation length (days)				No. of live litters born	Parturition incidence (%) ^a
			21	22	23	Mean ± S.D.		
Control	24	20	2	17	1	22.0 ± 0.39	20	100.0
Q-35 30 mg/kg	24	21	1	19	1	22.0 ± 0.31	21	100.0
Q-35 100 mg/kg	24 ^b	16 ^c	1	11	3	22.1 ± 0.52	15	93.8
Q-35 300 mg/kg	25	20 ^c	0	13	6	22.3 ± 0.48*	19	95.0

^a(Number of live litters born/number of pregnant animals) × 100. ^bOne dam died at gestational day 15 due to intrauterine bleeding.

^cOne dam exhibited cannibalism by consuming its offspring. *Statistically different from control group (p < 0.05).

Table II. Organ weight of dams (F0) sacrificed after weaning

	Control	Q-35 30 mg/kg	Q-35 100 mg/kg	Q-35 300 mg/kg
Liver	11.37 ± 2.64	11.62 ± 2.33	10.92 ± 2.13	10.84 ± 2.18
Kidney right	1.14 ± 0.13	1.20 ± 0.21	1.09 ± 0.08	1.14 ± 0.14
left	1.13 ± 0.14	1.19 ± 0.14	1.12 ± 0.09	1.17 ± 0.12

Values are mean(g) ± S.D.

Table III. Body weight of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Day of post partum					
	Male					
	0	4	7	14	21	28
Control	6.8±0.59	11.5±1.43	18.7±2.35	40.4±7.48	62.6±6.09	103.5±8.81
Q-35 30 mg/kg	6.9±0.45	11.7±1.22	19.2±1.80	39.9±2.43	63.0±3.92	95.3±15.66
Q-35 100 mg/kg	6.7±0.54	11.3±1.38	17.9±2.71	38.2±3.70	62.2±5.30	100.3±24.02
Q-35 300 mg/kg	6.6±0.53	10.3±1.96*	17.7±2.25	37.3±2.92*	61.6±3.85	100.3±7.47
	35	42	49	56	63	70
Control	151.1±39.27	227.5±16.45	298.6±18.48	358.4±23.30	402.8±25.81	449.3±24.21
Q-35 30 mg/kg	145.9±28.75	205.9±31.46*	286.0±30.63	340.4±34.90	391.6±32.48	430.8±34.21
Q-35 100 mg/kg	152.0±19.06	216.2±21.53	283.6±25.26	324.7±41.80*	379.2±40.63*	425.1±25.27*
Q-35 300 mg/kg	158.4±15.55	221.6±17.76	288.6±30.35	346.6±30.18	389.1±32.94	427.5±40.75
	Female					
	0	4	7	14	21	28
Control	6.4±0.61	11.0±1.28	18.0±2.33	36.8±3.85	58.6±8.22	93.2±6.44
Q-35 30 mg/kg	6.4±0.37	10.9±1.02	17.9±2.57	38.4±2.34	60.1±3.60	85.6±14.16
Q-35 100 mg/kg	6.4±0.56	10.7±1.37	17.0±2.93	36.9±4.59	59.3±5.19	85.5±14.08*
Q-35 300 mg/kg	6.3±0.42	10.1±1.25*	1.67±21.17	36.0±2.08	58.3±3.87	92.5±6.56
	35	42	49	56	63	70
Control	138.8±8.01	177.4±9.04	203.4±13.79	228.7±17.19	246.6±16.6	264.3±16.31
Q-35 30 mg/kg	129.4±16.31*	171.6±11.06	204.0±15.07	231.9±16.68	248.7±17.80	264.1±23.45
Q-35 100 mg/kg	137.6±15.13	171.4±10.90	199.2±12.91	218.3±11.73	239.2±13.50	256.4±15.27
Q-35 300 mg/kg	137.0±7.90	173.4±8.986	210.3±20.09	233.1±12.58	253.6±14.10	272.9±19.09

Values are mean (g)±S.D. *Statistically different from control group (p<0.05).

Table IV. Number of offspring at birth, postpartal day 4, after culling and weaning

	Control	Q-35 30 mg/kg	Q-35 100 mg/kg	Q-35 300 mg/kg
No. of offspring				
at birth	13.0±2.6	12.6±2.9	12.4±2.9	13.1±1.8
at postpartal day 4	12.9±2.5	12.1±3.1	12.1±4.2	13.1±1.8
Survival rate (%)	99.2	96.0	97.6	100.0
after culling	8.0±0.0	7.8±0.7	8.0±0.0	8.0±0.2
after weaning	7.9±0.4	7.7±0.7	8.0±0.0	7.9±0.3
Weaning rate (%)	98.8	98.7	100.0	98.8

나 이후에는 체중의 변화가 없었다. 그러나 중용량투여군에서는 생후 56일 이후에 유의한 체중감소를 보였다. 암컷의 경우 생후 28일의 중용량 투여군 및 생후 35일의 저용량투여군이 대조군에 비해 유의한 감소가 있었을 뿐 그 이외에는 각 군 모두 통계적 유의성이 인정되지 않았다.

생존율 및 이유율

분만 직후의 출산자수, 생후 4일 생존율, 산자수 조정, 이유 후 출산자수 조정, 이유율은 Table IV과 같다. 분만 후 4일의 생존율은 대조군에서 99.2%, 투여군에서 96.0-100.0%로서 약물투여에 의한 유의한 변화는 인정되지 않았으며, 이유율은 대조군에서 98.8%, 투여군에서는 98.7-100.0%로서 각 군간에 유의한 변화는 인정되지 않았다.

발육분화에 관한 검사

생존태자에 대해 발육분화 검사를 실시하여 얻은 결과, 약물투여가 이개개전, 치아맹출, 안검개열, 정소하강, 질개구등 발육분화에 미치는 영향은 인정되지 않았다(Table V).

반사기능검사

F1 암수 각 1수에 대한 반사기능검사의 결과는 Table VI 및 Table VII과 같다. 대조군과 비교할 때 정향반사, 부주지성에 유의한 차이가 없었으며, 동공반사등 반사기능에 미치는 약물의 영향은 없는 것으로 생각되었다.

감각, 운동성 및 정동성검사

청각기능검사에서 이상이 인정된 개체는 없었다(Table VII). 로타로드검사 결과를 Table VIII에 나타내었다. 6회/

Table V. Effects of Q-35 on physical development of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Ear opening	Incisor eruption	Eye opening	Vagina opening	Testes descending
Control	160/160 ^a	158/158	158/158	64/64	72/72
Q-35 30 mg/kg	156/156	156/156	148/148	54/54	82/82
Q-35 100 mg/kg	120/120	120/120	120/120	45/45	60/60
Q-35 300 mg/kg	159/159	159/159	157/157	60/60	80/80

^aNo. of animals showing positive response/No. of animals examined.

Table VI. Results of surface righting reflex and negative geotaxis of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Surface righting reflex			Negative geotaxis		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
Control	71/72 ^a	79/80	150/152	63/73	71/85	134/158
Q-35 30 mg/kg	73/81	62/71	135/152	66/82	60/73	126/155
Q-35 100 mg/kg	57/60	57/60	114/120	49/60	53/60	102/120
Q-35 300 mg/kg	75/76	74/75	149/151	62/76	59/75	123/151

^aNo. of animals showing positive response/No. of animals examined.

Table VII. Results of acoustic reflex and iris reflex of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Acoustic reflex	Iris reflex
Control	39/39	39/39
Q-35 30 mg/kg	40/40	40/40
Q-35 100 mg/kg	30/30	30/30
Q-35 300 mg/kg	40/40	40/40

^aNo. of animals showing positive response/No. of animals tested.

분 회전하는 봉 위에서 낙하할 때 까지의 시간을 측정하여 5초 이상을 양성으로 할 때 대조군에서 71.1%, 저용량투여군은 64.1%, 중용량투여군은 75.9%, 고용량투여군은 86.8%의 양성율을 보였다. 대조군에 비해 저용량투여군을 제외한 투여군에서는 약간씩 높은 양성율을 나타냈으나, 통계적으로 유의한 결과는 아니었다. 핫플레이트시험 결과는 Table VIII과 같다. 핫플레이트시험 결과, 대조군에서 암컷 4수, 저용량투여군에서 총 3수(수컷 1수, 암컷 2수), 중용량투여군에서 총 2수(수컷 1수, 암컷 2수), 고용량투여군에서

Table VIII. Results of rota rod and hot plate test of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Rota rod test			Hot plate test		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total
Control	11/18 ^a	16/20	27/38	19/19	15/19	34/38
Q-35 30 mg/kg	12/20	13/19	25/39	19/20	16/18	35/38
Q-35 100 mg/kg	10/14	12/15	22/29	13/14	13/15	26/29
Q-35 300 mg/kg	16/19	17/19	33/38	16/19	16/19	32/38

^aNo. of animals showing positive response/No. of animals tested.

Table IX. Total traveled distance of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Male	Female	Total
Control	923.8±303.7	1048.5±278.0	986.1±290.9
Q-35 30 mg/kg	1006.3±348.6	1001.2±319.9	1003.8±334.3
Q-35 100 mg/kg	917.7±375.7	1013.1±300.9	965.4±338.3
Q-35 300 mg/kg	899.2±236.9	993.1±248.8	946.2±242.8

Values are mean (inch)±S.D.

Table X. Effects of Q-35 on the mating performance and fertility of rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	No. of male rats		Mating rate (%)	No. of female rats				Conception rate (%)
	Paired	Mated		Paired	Mated	Pregnant	Non-pregnant	
Control	19	19	100.0	19	19	15	4 ^a	78.9
Q-35 30 mg/kg	19	19	100.0	19	19	19	0	100.0
Q-35 100 mg/kg	15	15	100.0	15	15	14	1 ^b	93.3
Q-35 300 mg/kg	19	19	100.0	19	19	18	1 ^b	94.7

^aTwo of the animal showed abnormal estrus cycle. ^bThe rat showed normal estrus cycle.

Table XI. Effects of Q-35 on findings at caesarean section in dams (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Control	Q-35 30 mg/kg	Q-35 100 mg/kg	Q-35 300 mg/kg
No. of corpora lutea	19.4±4.40	20.1±3.61	19.5±4.18	20.2±4.51
No. of implantation	14.9±2.29	15.2±3.67	15.4±3.08	15.8±2.75
% to corpora lutea	76.8	75.6	79.0	78.2
No. of live fetus	14.6±2.56	14.7±3.46	15.4±3.08	15.5±2.85
% to implantation	97.8	96.7	100.0	98.1
Fetal weight(g)	3.55±0.51	3.58±0.293	3.65±0.49	3.60±0.18
Placental weight (g)	0.52±0.06	0.51±0.04	0.53±0.06	0.51±0.06

Values are mean ± S.D.

총 6수(수컷 3수, 암컷 3수)에서 양성 판정시간인 30초를 넘긴 기록을 보였으나 대조군에 비해 유의한 결과는 아니었다. 자발운동량검사 결과 각 암수 동물의 총 이동거리는 각 투약군과 대조군을 비교할 때 유의한 차이를 보이지 않았다(Table IX).

생식기능검사

성주기검사, 수정능검사, 수태능검사, 임신 유지기능검사 결과 약물투여에 의한 영향은 인정되지 않았다(Table X). 생후 63일령 이후 8일 동안 시행한 발정주기검사에서 대조군에서 2수의 발정주기가 불규칙함을 보였고, 그 이외의 투약군에서는 발정주기 이상이 관찰되지 않았다. 생후 70일령 이후 암수 모두 교배율은 대조군을 포함한 모든 군에서 100.0%를 기록하여, 약물이 교배에 미치는 영향은 인정되지 않았다. F1 암컷을 임신 20일령에 부검한 결과, 대조군에서 4수, 중용량 투약군 1수, 고용량 투약군 1수가 비임신으로 판단되었으나 약물에 의한 영향은 인정되지 않았다. 임신유지 기능에 관한 결과는 Table XI과 같았다. 황체수, 착상수, 생존태자수등에 있어서도 대조군과 비교할 때 유의한 차이는 없었다. 따라서 F1의 임신유지 기능에 대한 약물의 영향은 인정되지 않았다.

임신중 F1에 관한 검사

F1 임신모체의 체중, 장기 중량, F2 태자의 체중 및 외형 관찰에서 약물에 의한 영향은 인정되지 않았다. 임신 0일과 12일, 20일의 체중은 대조군과 각 투약군에서 모두 유의한 변화가 없었다(Fig. 3). F1을 임신 20일에 부검할 때 간장,

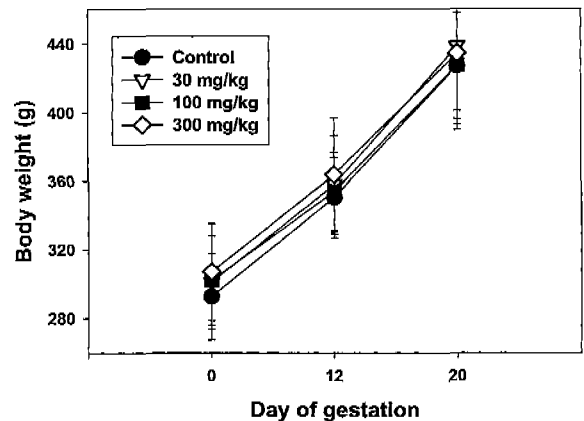


Fig. 3. Body weight of pregnant rats (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period.

신장 중량과 F2의 체중 및 태반 중량은 대조군에 비해 각 용량군에서 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table XI 및 Table XII). F2 태자의 외형이상을 관찰한 결과 태반융합이 나타난 예가 대조군, 저용량 투약군, 고용량 투약군에 각 1예씩 있었고, 왜소태자가 저용량 투약군에서 6예, 중용량 투약군에서 1예, 고용량 투약군에서 2예가 있었다. 외뇌 및 거설이 동시에 나타나는 예가 저용량군에서 1수가 있었다(Table XIII). 외형이상의 발현에 있어서 대조군과 비교할 때 유의성있는 차이가 없었으므로 약물투여가 F2 태자의 외형이상에 미치는 영향은 인정되지 않았다.

Table XII. Organ weight of dams (F1) whose dams were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Control	Q-35 30 mg/kg	Q-35 100 mg/kg	Q-35 300 mg/kg
Liver	15.81±1.45	15.60±1.88	15.84±2.52	16.23±2.25
Kidney right	1.22±0.14	1.20±0.18	1.22±0.18	1.20±0.15
left	1.19±0.11	1.24±0.22	1.19±0.19	1.19±0.15

Values are mean (g)±S.D.

Table XIII. External examination of fetuses (F2) from dams (F1) whose dams (F0) were administered orally with Q-35 during pre- and postnatal period

	Control (n=210) ^a	Q-35 30mg/kg (n=274)	Q-35 100 mg/kg (n=215)	Q-35 300 mg/kg (n=272)
Fused placenta	1	1	0	1
Dwarf	0	6	1	2
Exencephaly	0	1	0	0
Brachygnathia	0	1	0	0

^aNumber of F2 rats.

병리해부학적 관찰

28일령에 청각검사 및 로타로드검사, 35일령에 자발운동량검사, F1 42일령에 핫 플레이트검사 후의 F1 태자 및 교배 후 수컷 부검 결과, 대조군과 비교할 때 약물에 의한 영향은 인정되지 않았다. 로타로드검사 후의 F1 태자의 슬관절을 채취하여, 병리조직학적검사를 한 결과 슬관절면(articular surface)의 수포(blister)나 균열(cleft) 등의 육안적 이상소견은 보이지 않았고, 슬관절의 연골세포의 피사나 연골기질의 용해등의 조직학적 이상도 일반 염색 하에서 관찰되지 않았으며, 대조군과 투약군과의 사이의 유의적인 다른 이상소견은 관찰되지 않았다. 고용량 투여군 수컷 1수에서 성장판(epiphyseal plate), 성장연골영역(zone of proliferating cartilage)에 국소적으로 소강(lacuna)내의 연골세포의 소실이 관찰되었지만, 연골기질의 용해등의 동반되는 소견이 보이지 않는 등 전형적인 연골의 피사소견은 관찰할 수 없었다. 자발운동량검사 후 부검한 대조군에서 수신증이 2수, 비장종대 1수, 저용량투여군에서 수신증 1수, 왜신증 1수, 중용량투여군에서 수신증 3수, 고용량투여군에서 수신증 2수가 발견되었으나 대조군과 비교할 때 유의한 차이는 없었다. 핫플레이트검사 후 부검소견은 대조군 1수에서 비장종대가 관찰되었고, 저용량투여군 1수에서 복수가 차 있었으며 수신증이 1수, 후지마비가 1수 관찰되었고, 중용량투여군에서 수신증 3수, 고용량투여군에서 수신증 1수가 발견되었으나, 각 군간 유의한 변화는 인정되지 않았으므로 약물에 의한 영향으로는 생각되지 않았다. 교배 후 수컷 부검에서는 부고환 미부로 부터 정액을 채취하여 정자운동성 및 형태를 관찰한 결과 정자의 운동성 및 형태에 이상이 인정된 경우는 없었고 저용량투여군 및 고용량투여

군에서 수신증이 각각 1, 2예가 관찰되었다.

고 찰

Q-35를 0, 30, 100 및 300 mg/kg/day의 용량으로 Sprague-Dawley계 랫드 임신모체에 임신 17일부터 출산 후 21일까지의 수유기간 동안 연속 투여하여 모체의 임신기간, 분만, 포육과 차산자의 성장, 발육, 기능발달 등 모체 및 그 차세대에 대한 영향을 검토하였다.

모체동물의 일반 증상, 체중, 사료섭취량, 부검소견, 장기중량에 있어서 시험물질 투여에 기인한 것으로 생각되는 변화는 관찰되지 않았다. 약물에 의한 체중변화는 인정되지 않았으며, 사료 섭취량에서는 중, 고용량투여군에서 투약 시작 후 사료 섭취량의 일시적인 감소 이외에는 다른 일정한 경향은 관찰되지 않았다. 일반증상의 경우 저용량투여군에서 약물투여 2일째와 4일째에 모체 2수에서 설사증상이 나타났다가 곧 치유되었는데, 이는 저용량투여군으로서 약물에 의한 영향으로 생각되지는 않았다. 100 mg/kg 투여군에서 모체 1수가 약물투여 전인 임신 14일에 질 출혈이 나타났고, 그 다음날(임신 15일) 사망하여 부검한 결과, 자궁 내 출혈이 심하게 나타나 있었으나, 그 원인은 찾지 못하였다. 복부, 좌우앞발 혹은 눈 주위에 탈모 증상이 대조군 2수, 저용량투여군 1수, 중용량투여군 2수에서 보이다가 며칠 후 증상이 개선되거나 지속되었는데 역시 그 원인은 찾지 못하였고 또한 저용량투여군에서 1수가 왼쪽 눈에 염증 증세를 보이다가 없어졌으나 눈이 위축되었다. 이러한 증상들은 약물투여 이전에 발생하거나 또는 약물투여 이후에 발생하더라도 용량의존성이 관찰되지 않아 약물투여에 의한 것으로는 판단되지 않았다. 약물 투여용량이 증가함에 따라 임신기간이 23일인 모체가 늘어나는 경향이 관찰되었으며, 고용량투여군의 경우 통계적인 유의성을 보였는데, 임신기간 23일이 랫드의 평균 정상 임신기간(21-23일)에 포함되므로 Q-35의 투여가 임신기간을 연장시킨다고 단정하기는 어려우나, 약물에 의한 분만지연이나 분만 이상의 가능성을 전혀 배제할 수는 없었다. 또한 중, 고용량투여군에서 분만이상으로 분만태자를 잡아먹는 예가 각 1수씩 있었다. 또한 대조군 4수, 저용량투여군 3수, 중용량투여군 7수, 고용량투여군 5수가 비임신이었으나 부검결과 장기의 이상은 관찰되지 않았고 이는 약물투여에 의한 것

은 아니므로 큰 의미는 없었다. 이유 후 모체를 부검한 결과 관찰된 맹장팽대는 장내세균 감소에 의한 몰과 전해질의 축적에 의한 것으로 이러한 소견은 다른 항균제투여에서도 관찰되는 소견이다.

F1 동물의 각 검사항목(발육, 분화, 반사기능, 감각기능, 운동성, 정동성, 생식기능)에 있어서 시험물질 투여로 인한 소견은 발견되지 않았다. 대부분의 F1에서 별다른 일반 증상과 외형이상은 관찰되지 않았으나 중용량투여군 모체 1수에서 한배 새끼의 체중이 분만 7일 후 모체와 같이 감소하다가 점차 회복되었고, 고용량군 모체 1수도 분만후 4-7일을 전후에서 새끼와 함께 체중이 저하되다가 회복되었는데, 음용수 공급에 문제가 있었던 것으로 생각된다. 대조군의 1수는 분만 이후 체중의 저하가 지속되었으며, 털에 윤기도 없었는데 그 원인은 명확치 않았다. 출산자의 체중은 생후 4일의 고용량투여군 암수 모두에서의 체중감소를 제외하면, 전반적으로 체중이 약물투여의 영향을 받아 감소하거나 증가하였다고 보기는 어려웠다. 각 검사항목을 끝낸 F1을 부검한 결과, 35일령 및 42일령의 병리조직학적검사에서 각 군마다 신장에 수신증이 1-3예가 나타났으나, 각 군간의 유의한 차이는 없었다. 수컷의 교배 후 부검시, 저용량과 고용량군에서 각각 1예의 수신증이 나타났다. 한편, 퀴놀론계 항생제가 어린 동물의 관절연골에 독성이 있는 것으로 보고된 바 있어(Ingham 등, 1977; Stahlmann, 1991), 출생전 및 출생후 수유를 통한 Q-35의 섭취가 F1의 골관절에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 본연구에서도 F1 슬관절의 병리조직검사를 실시하였다. 검사결과 고용량 수컷 1예에서 성장판(epiphyseal plate), 성장연골 영역(zone of proliferating cartilage)에 국소적으로 소강(lacuna)내의 연골세포의 소실이 관찰되었지만, 연골기질의 용해등의 동반된 소견이 보이지 않는 등 전형적인 연골의 괴사 소견은 관찰되지 않았다. 성주기 검사 결과, 대조군의 2수에서 발정주기가 불규칙함을 보였으나, 약물투여군에서는 발정주기의 이상이 관찰되지 않았다. 수태능검사에서 대조군의 2수는 발정주기 이상에 기인하는 비임신이었으며 중, 고용량의 2수의 경우는 위임신으로 인한 비임신으로 추정되었다. 따라서, 약물투여는 성주기, 수정능 및 임신지수에 영향을 미치지 않는 것으로 생각되었다.

임신 20일째 F2태자를 관찰한 결과, 태반융합 및 왜소태

자가 전군에서 소수 발견되었으며, 외뇌 및 거설이 동시에 나타난 태자가 저용량군에서 1수 있었으나 약물에 의한 영향으로는 생각되지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 Q-35를 0, 30, 100, 300 mg/kg/day의 용량으로 랫드의 주산·수유기 동안에 경구투여 하였을 때, 투약 초기에 증용량 및 고용량투여군 모체의 사료섭취량이 일시적으로 감소하는 것 이외에 모체와 차세대에 대한 뚜렷한 영향은 없는 것으로 나타났으나 Q-35의 투여에 의한 분만지연의 가능성을 전혀 배제할 수는 없었다.

참고문헌

- 국립보건안전연구원(1988). 의약품등의 독성시험기준.
국립보건안전연구원(1993). 독성시험 표준작업지침서.
Chevais, M., Reinert, P., Rondeau, M. C., Tobelem, R., Albengres, E., Riant, P. and Tillement, J. P. (1987). Critical risk/benefit analysis of pefloxacin use in children under 15 years- The problem of arthralgias. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutic Toxicology*, **25**, 306-309.
Culling, C. F. A., Allison, R. T., Barr, W. T. (1985). Cellular pathology technique. 4th Ed., pp. 408-425, Butterworths, London.
Ingham, B., Brentnall, D. W., Dale, E. A. and McFadzzean, J. A. (1977). Arthropathy induced by antibacterial fused N-alkyl-4-pyridone-3-carboxylic acid. *Toxicol. Lett.*, **1**, 21-26.
Ito, T., Otsuki, M. and Nishino, T. (1992). *In vitro* antibactericidal activity of Q-35, a new fluoroquinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **36**(8), 1708-1714.
Ito, T., Kojima, K., Koizumi, K., Nagano, H. and Nishino, T. (1994). Inhibitory activity on DNA gyrase and intracellular accumulation of quinolones: structure-activity relationship of Q-35 analogs. *Biol. Pharm. Bull.*, **17**(7), 927-930.
Ito, T., Matsumoto, M. and Nishino, T. (1995). Improved bactericidal activity of Q-35 against quinolone-resistant staphylococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**(7), 1522-1525.
Iwasaki, H., Miyazaki, S., Tsuji, A., Yamaguchi, K. and Goto, S. (1995). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of Q-35, a novel fluoroquinolone. *Chemotherapy*, **41**(2), 100-112.
Norris, S. and Mandell, G. L. (1988). The quinolones: History and overview. In *The Quinolones* (V. T. Androle, Ed.), pp. 1-3, Academic Press, New York.
Stahlmann, R. (1991). Cartilage-damaging effect of quinolones. *Infection*, **19**, S38-S46.