



CJ-11555의 안전성 약리실험

최재묵 · 이성학 · 김일환 · 박지은 · 김덕열 · 노현정 · 김택로 · 최광도 · 김영훈 · 김진완
장준환 · Rowton S¹ · Esmail A¹ · Trepakova Elena S¹

CJ 제약연구소, ¹Covance Laboratories

Safety Pharmacology of CJ-11555

Jae-Mook Choi, Sung-Hak Lee, Il-Hwan Kim, Jie-Eun Park, Deog-Yeor Kim, Hyun-Jung Noh,
Taekrho Kim, Young-Hoon Kim, Jin-Wan Kim, Joon-Hwan Jang, Rowton S¹,
Esmail A¹ and Trepakova Elena S¹

R&D Center of Pharmaceuticals, CJ Corp., Kyonggi-Do 467-812, Korea

¹Covance Laboratories, Otley Road, Harrogate, North Yorkshire, HG3 1PY, England

Received March 8, 2004; Accepted May 24, 2004

ABSTRACT. Safety pharmacological properties of CJ-11555, an anti-cirrhotic agent, were investigated in experimental animals and *in vitro* test system. CJ-11555 had no effects on normal body temperature in rats, motor coordination, chemoshock induced by pentetrazol, electric shock induced by electric shocker and writhing syndromes in mice at dose levels of 100, 300 and 1,000 mg/kg. CJ-11555 inhibited intestinal activity and prolonged hexobarbital-induced sleeping time in mice at the dose level of 1,000 mg/kg. CJ-11555 affected on general activity and behaviour tests in SD rats, such as lacrimation, ptosis, piloerection, decreased body tone, abnormal dispersion within the cage, diarrhoea, red colored faeces, slight hypothermia and decreased grooming, at the dose level of 1,000 mg/kg in rats. CJ-11555 was effected on cardiovascular and respiratory system in anesthetized beagle dogs, such as tachycardia, increase of mean blood pressure and decrease of PR interval, decrease of respiratory rate and minute volume, at dose levels of 10 and 30 mg/kg. However, these effects were also observed in vehicle treated anesthetized beagle dogs. In *in vitro* experiments, CJ-11555 inhibited agonists (histamine, acetyl-choline or BaCl₂) induced contraction of isolated guinea-pig at the concentration of 30×10⁻⁶ M. CJ-11555 was weekly inhibited hERG channel current at concentrations of 10 and 30×10⁻⁶ M, and IC₅₀ was estimated to be higher than 30×10⁻⁶ M. Based on these results, it was concluded that CJ-11555 affected on cardiovascular and respiratory system, general activity and behaviour and hexobarbital-induced sleeping time at the dose level of 1,000 mg/kg and contraction of the smooth muscle and hERG channel current at the concentration of 30×10⁻⁶ M.

Keywords: CJ-11555, Anti-cirrhotic agent, Safety pharmacology.

서 론

간경변증은 간의 지속적인 손상으로 간실질 세포가 파괴되어 재생되지 않고, 섬유화가 진행되어 간기능이 저하되는 질환으로서, 식도 정맥류, 출혈, 복수, 간성혼수 및

간부전증 등이 복합적으로 발생하는 치사율이 높은 만성 질환이다. 그러나, 현재까지 간세포의 재생에 의하여 간경변을 치료하는 약물은 개발되지 않은 실정이다.

CJ-11555는 oltipraz[5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione]로 1980년대 초반에 이미 주혈흡충증(schistosomiasis) 치료제로서 개발되었고(Ansher, 1985), 이후 발암 예방제(chemopreventive agent)로서 실험동물 및 임상에서 효력 및 부작용이 평가되어(Kensler *et al.*, 2002) 사람에서의 안전성이 어느 정도 입증된 물질이다. 최근에

Correspondence to: Jae-Mook Choi, R&D Center of Pharmaceuticals, CJ Corporation., 522-1, Dokpyong-Ri, Majang-Myon, Ichon-Si, Kyonggi-Do 467-812, Korea
E-mail address : jaemook@cj.net

간 정상세포를 이용한 시험 및 dimethylnitrosamine (DMN)으로 유도된 간경변 랫드 모델 시험에서 transforming growth factor- β 1과 tumor necrosis factor- α 의 발현 억제(Kang *et al.*, 2002a), ECM(extracellular matrix, Collagen)생성 억제, hepatocyte growth factor/c-Met 반응성 증강, CCAAT/enhancer binding protein과 관련한 정상세포(stellate cell) 활성화를 통하여 간경변과 간세포의 손상을 억제하고 간세포를 재생시킨다는 새로운 약리 작용에 관한 연구결과가 발표되었다(Kang *et al.*, 2002b). 이러한 결과를 바탕으로 CJ 제약연구소에서는 oltipraz를 경구용 간경변증 치료제로 개발 중에 있다.

본 시험은 현재 간경변증 치료제로 개발중인 CJ-11555 안전성 평가의 일환으로 중추신경계, 자율신경계와 평활근, 소화기계, 호흡기계 및 순환기계에 미치는 영향 평가를 '의약품 등의 일반약리시험기준(식품의약품 안전청 고시 제 1998-62호)과 ICH 가이드라인 'S7A'에 준하여 Covance Laboratories Inc.와 함께 CJ 제약연구소에서 실시하였다.

재료 및 방법

시험물질

CJ 제약연구소에서 생산된 붉은색의 분말형 CJ-11555 (Lot No. CJ0121A, 순도 100.97%)를 차광 상태로 냉장 보관하며 사용하였다. 시험물질의 조제는 경구투여용의 경우 0.5% CMC에 현탁하였으며, infusion용의 경우 PEG400에 시험물질을 녹여 투여하였다. hERG(Human Ether-a-go-go-Related Gene) channel current 시험은 CJ-11555를 DMSO에 녹여 저장용액으로 만들어 -20°C에 보관하고, 매 시험시 HEPES-buffered physiological saline(HPBS)으로 희석하여 사용하였고, 기니픽 적출회장 시험의 경우 DMSO에 녹여 사용하였다. 대조물질로는 각 시험물질 조제에 사용한 부형제를 사용하였다.

실험동물 및 세포주

실험동물의 사육조건은 CJ 제약연구소는 온도 23 ± 3°C, 습도 50 ± 10% Covance는 16~24°C, 습도 30~80% 명암주기 12시간의 환경에서 사료와 음수는 자유급여시켰다. ICR계 마우스(샘타코, 한국), Sprague Dawley (SD)계 랫드(샘타코, 한국), Hartley계 기니픽(샘타코, 한국), 위스타(Wistar)계 랫드(Charles River Ltd., 영국) 및 비글견(Harlan, 영국)을 구입 후 1주일 또는 1개월간의 순화기간을 거친 다음 건강한 동물만 시험에 사용하였다.

hERG assay에 사용한 HEK293 세포주는 ATCC(Mannassas, VA)에서 구입하여 hERG cDNA와 G418 resis-

tance gene을 같이 transfection 시키고 10% FBS와 penicillin G sodium, streptomycin sulfate, G418이 들어있는 D-MEM/F-12에 배양하여 hERG cDNA가 안정적으로 transfection된 세포만 선별하여 사용하였다.

투여용량 설정

사람에서의 예상용량이 30~90 mg/kg 입을 고려하여, 실험동물에서는 예상임상용량의 중간값인 60 mg/man의 100, 300 및 1,000배(100, 300 및 1,000 mg/kg)를 투여하였고, In vitro 시험인 hERG assay에서는 1, 3, 10 및 30 × 10⁻⁶ M, 적출회장 시험에서는 0.3, 3 및 30 × 10⁻⁶ M으로 설정하였다. 단, 마취견을 이용한 시험에서는 시험물질의 낮은 용해도로 인하여 10 mg/ml의 농도로 조제 후 투여량 조절을 통하여 투여 용량을 맞추었다.

일반행동에 미치는 영향

위스타계 랫드(Wistar계, 수컷, 6주령, 209~248 g)를 군 당 6마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg를 경구투여하였고, 1, 2, 4, 8 및 24시간째에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법(Irwin, 1968)에 준하여 인지력, 기분, 운동성, 중추흥분, 운동협조성, 근육긴장도, 반사, 자율신경성 및 사망 징후등에 대하여 관찰하였다.

중추신경계에 대한 작용

헥소바비탈 유도 수면에 미치는 영향. ICR 마우스(수컷, 6주령, 26~31 g)를 군 당 8마리씩 사용하여 CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg를 경구투여하였고, 5시간 후에 헥소바비탈(TCI, 일본) 70 mg/kg를 복강투여하여 수면을 유도하였다. 단, 양성대조군인 크로로프로마진염산(Sigma, 미국)은 헥소바비탈 투여 15분 전에 경구투여하였다. 정향반사 소실을 수면의 지표로 하여 수면 유도시간, 수면시간을 관찰하였다.

항경련작용

펜테트라졸 유발 경련에 미치는 영향. ICR계 마우스(수컷, 6주령, 26~31 g)를 군 당 10마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg를 경구투여하였고, 5시간 후에 펜테트라졸(Sigma, 미국) 100 mg/kg를 복강투여하였다. 투여 후 30분 동안 간대성경련과 강직성 경련의 발현을 관찰하였다. 단, 펜토바비탈소듐(한림제약, 한국)은 100 mg/kg를 펜테트라졸 투여 15분 전에 경구투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다.

전기자극(Maximal electric shock, MES)에 의한 경련에 미치는 영향. ICR계 마우스(수컷, 6주령, 27~31 g)

를 군 당 10마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg을 경구투여하였다. 5시간 후에 마우스의 양쪽 뒷다리에 전극을 장치하고 rodent shocker(Type 221, Hugo Sachs, 독일)를 이용하여 50 mA, 60 Hz의 조건으로 0.7초간 전기자극을 가한 후 간대성 경련과 강직성 경련의 발현을 관찰하였다. 단, 페노바비탈소듐은 100 mg/kg을 경구투여하고 15분 후에 전기자극을 가하여 경련의 발생유무를 관찰하였다.

진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법). ICR계 마우스(수컷, 6주령, 30~34 g)를 군 당 10마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg을 경구투여하였고, 5시간 후에 0.6% 초산(Merck, 미국)을 0.1 ml/10 g씩 복강내 주사하였다. 초산투여 10분 후부터 10분 동안 일어나는 writhing 횟수를 측정하였다. 단, 인도메타신(Sigma, 미국)은 20 mg/kg을 통증을 유발 15분 전에 경구투여하였다.

체온에 미치는 영향. SD계 랫드(수컷, 6주령, 170~200 g)를 군 당 8마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300, 1,000 mg/kg 및 크로로프로마진염산(Sigma, 미국) 10 mg/kg을 경구투여하였고, 1, 2, 4 및 6시간째에 전자온도계(PM20700, Thermolyne, 미국)을 사용하여 직장 온도를 측정하였다.

운동협조성에 미치는 영향. ICR계 마우스(수컷, 6주령, 27~36 g)를 순화 기간 중 분 당 12회 회전하는 rota-rod(7750, Ugo Basile, 이태리)에 적응 훈련을 시켜 1분 이상 낙하하지 않는 동물만 선별하여 군 당 8마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg을 경구투여하였다. 투여 전, 투여 후 6 및 8시간째에 분 당 12회 회전하는 rota-rod에서 1분 이내에 낙하하는 경우 운동실조로 판정하였다.

호흡 · 순환기계에 대한 작용

마취견에서의 호흡 · 순환기(CVR)에 미치는 영향. 비글견(12~19 kg) 암컷 6마리와 수컷 4마리를 사용하였다. 프로포폴로 마취 유도(5~7.5 mg/kg) 및 유지(0.2~0.4 mg/kg/min)하였다. 좌측 대퇴동맥과 경동맥에 혈압트랜스듀서(Sensor Blood pressure transducer, 미국), 우측 대퇴동맥에 혈류트랜스듀서(Transonic Systems, 미국)를 삽입하였고, physio-graph(Po Ne Mah data acquisition system, 미국)와 전자혈류계(Transonic Systems, 미국)를 이용하여 혈압, 좌심실 내압, dP/dt 및 혈류량을 측정하였다. 심전도는 제 II 유도에 의해 physio-graph로 측정하였다. 목에 8~9 F 정도 크기의 기관내삽입튜브(Portex endotracheal tube, 영국)를 삽입하여 호흡량을 pneumotacho-graph(Fleisch pneumotacho-

graph, 미국)를 사용하여 측정하였다. 마취가 안정된 후 CJ-11555 0, 3, 10 및 30 mg/kg을 각각 30분 간격으로 연속하여 경정맥으로 15분간 투여하였고, 시험물질 투여 전, 투여 시작 5, 10분 후, 투여 종료 후 2분, 10분, 20분 및 30분째에 혈압, 혈류량, 심전도 및 호흡량을 측정하였다.

hERG channel에 미치는 영향. hERG cDNA가 발현된 HEK293 세포를 37°C, 95% O₂+5% CO₂, humidified 조건에서 HP-BS 배지에 배양하여 사용하였다. hERG가 안정하게 발현된 세포를 35 ± 2°C가 유지되는 recording chamber로 옮겨 whole-cell voltage clamp 방법(Hamill *et al.*, 1981)을 이용하여 단일 세포의 세포막을 통한 미세전류를 기록하였다. -80 mV를 유지 전압으로 맞춘 후 +20 mV로 0.5초간 탈분극시키고 -50 mV로 0.5초간 재분극시켰다. 10초 간격으로 연속적인 pulse를 주어 tail current는 발생시켰다. CJ-11555 0, 1, 3, 10 및 30×10⁻⁶ M, E-4031 30×10⁻⁹ M을 적용하였고, 시험물질 적용 전과 후의 hERG current를 농도별로 3개의 세포에서 각각 측정하였다. 시험물질 적용 전 current 대비 적용 후 current의 억제 정도를 백분율로 구하여 대조군과 변화 정도를 비교하였다.

소화기계에 미치는 영향

장관수송능에 대한 작용. 18시간 이상 절식시킨 ICR계 마우스(수컷, 6주령, 26~31 g)를 군 당 8마리씩 사용하였다. CJ-11555 0, 100, 300 및 1,000 mg/kg을 경구투여하였다. 아트로핀 설페이트(Sigma, 미국)는 20 mg/kg의 용량으로 activated charcoal(Sigma, 미국) 투여 15분 전에 경구투여하였다. 시험물질 투여 후 5시간째에 10% arabia gum에 현탁한 5% activated charcoal을 0.1 ml씩 경구투여하였다. Charcoal 투여 15분 후에 경추탈골법으로 마우스를 희생시킨 후 장관을 적출하여 charcoal이 이동한 거리를 측정하였다.

자율신경에 미치는 영향

기니픽의 적출회장 수축에 미치는 영향. 체중 300~350 g의 수컷 Hartley계 기니픽을 사용하였다. 24시간 절식시킨 기니픽을 후두부 타격법으로 희생시켜 회장을 적출하였고, 2~3 cm 정도의 크기로 잘라 organ bath(Tyrode액, 20 ml, 32°C, 95% O₂ and 5% CO₂, 1 g 부하)에 현수하였다. 회장의 수축은 polygraph(Polygraph 7H, Grass, 미국)의 isotonic transducer(FT03, Grass, 미국)에 연결하여 측정하였다. 군 당 8마리씩 CJ-11555 0, 0.3, 3 및 30×10⁻⁶ M을 5분간 적용하였다. 수축 유발 물질인 acetylcholine(Sigma, 미국, 1×10⁻⁷ M), histamine

(Sigma, 미국, 1×10^{-7} M) 및 BaCl₂(Sigma, 미국, 1×10^{-4} M)를 각각 적용하여 시험물질 적용 전 후의 회장의 최대 수축값을 구하였다.

통계

모든 결과는 평균 ± 표준편차 또는 발생 레수/전체 레수로 표시하였고, 대조군과 처치군 간의 차이는 Battlett 검정으로 균질성 검사를 실시하여 균질성이 있으면 Dunnett's t-test를 이용하여 음성대조군(부형제군) 간의 유의차를 조사하고, 균질성이 없을 경우 Kruskal-Wallis's H test를 실시하여 p<0.05인 경우 Dunnett's t-test를 실시하여 p<0.05인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

시험결과

일반행동에 미치는 영향

100 및 300 mg/kg 투여군은 대조군과 비교하여 유의성있는 행동이나 생리학적인 변화가 관찰되지 않았다. 단, 2시간째에 각 군 당 1레에서 유루가 관찰되었고, 24시간째에 300 mg/kg 군에서 옅은 붉은색의 변이 관찰되었다. CJ-11555 1,000 mg/kg 투여군에서는 투여 후 1시간째에 유루(3레), 설사(3레) 및 비정상적인 분산(2레)이 관찰되었고, 2시간째에 비정상적인 분산(4레), 유루(4레), 입모(3레), 약한 체온감소(1레), 설사(1레), 약한 body tone 감소(3레)와 안검하수(6레)가 관찰되었다. 4시간째에 안검하수(6레), 입모(3레), 약한 bodytone 감소(5레)가 관찰되었고, 8시간째에 약한 입모가 1레에서 관찰되었다. 24시간째에 미약하게 몸을 활거나 사지로 털을 정리하는 단장행동이 관찰되었다. 8시간 및 24시간째에 붉은 변과 오렌지색의 노가 관찰되었다(Table 1).

Table 1. The effect of CJ-11555 on general activity and behavior in rats

Sign	1 hr				2 hr				4 hr				8 hr				24 hr				
	V	L	M	H	V	L	M	H	V	L	M	H	V	L	M	H	V	L	M	H	
Dispersion	0	0	0	2	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Piloerection	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Body tone	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lacrimation	0	0	0	3	0	1	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Grooming	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Vocalisation	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Diarrhoea	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lethality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hypothermia	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ptosis	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Values are present No. of incidence in total animals (n = 6), V: vehicle group, L: low dose group (100 mg/kg), M: middle dose group (300 mg/kg), H: high dose group (1,000 mg/kg).

Table 2. The effect of CJ-11555 on hexobarbital-induced sleeping time in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Sleeping inducing time (sec)	Sleeping time (min)
Vehicle	-	2.2 ± 0.03	59.8 ± 3.68
CJ-11555	100	2.2 ± 0.03	67.0 ± 2.45
	300	2.2 ± 0.02	68.3 ± 3.15
	1000	2.2 ± 0.02	119.0 ± 10.0*
Chlorpromazine	10	1.1 ± 0.02	143.6 ± 11.17*

*p<0.01 treatment vs vehicle. Values are mean ± SEM, N = 8.

Table 3. The effect of CJ-11555 on pentylentetrazol-induced convulsion in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	No of incidence	
		Clonic convulsion	Tonic convulsion
Vehicle	-	10/10	6/10
CJ-11555	100	10/10	7/10
	300	9/10	7/10
	1000	10/10	9/10
Phenobarbital Na	100	0/10*	0/10*

*p<0.01 treatment vs vehicle, N = 10.

중추신경계에 대한 작용

헥소바비탈 유도 수면에 미치는 영향. 100 및 300 mg/kg의 용량으로 경구투여한 군은 대조군과 비교하여 마우스에 있어서 헥소바비탈에 의한 수면유도시간과 수면 시간에 있어서 유의성 있는 차이를 보이지 않았으나, 1,000 mg/kg의 용량으로 투여한 군은 수면유도시간을 유의성 있게(p<0.01) 연장시켰다(Table 2).

항경련작용

펜테트라졸 유발 경련에 미치는 영향. 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 펜테트라졸 유발 경련에 대하여 유

Table 4. The effect of CJ-11555 on maximal electric shock (MES) induced convulsion in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	No of incidence	
		Clonic convulsion	Tonic convulsion
Vehicle	-	10/10	10/10
CJ-11555	100	10/10	10/10
	300	10/10	10/10
	1000	10/10	10/10
	Phenobarbital Na	100	10/10

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle. Values are No. of fallen mice/total mice, N = 10.

Table 5. The effect of CJ-11555 on acetic acid-induced writhings in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of writhings
Vehicle	-	9.8 ± 2.25
CJ-11555	100	13.2 ± 0.99
	300	11.5 ± 3.34
	1000	8.8 ± 2.09
	Indomethacin	20

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle. Values are mean ± SEM, N = 10.

의성 있는 항경련효과를 보이지 않았다(Table 3).

전기자극(Maximal electric shock, MES)에 의한 경련에 미치는 영향. 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 MES(maximal electric shock, 50 mA, 60 Hz, 0.7 sec) 유발 경련에 대해 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았다(Table 4).

진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법). 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 0.6% 초산의 복강투여에 의한 writhing 횟수에 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 5).

체온에 미치는 영향. 모든 투여군에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 체온의 변화를 보이지 않았다(Table 6).

운동협조성에 미치는 영향. 모든 측정시간에 있어 투여군과 대조간에 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다(Table 7).

Table 6. The effect of CJ-11555 on rectal temperature in rats

Treatment	Dose (mg/kg)	Rectal temperature (°C) after administration (hr)				
		pre	1	2	4	6
Vehicle	-	37.0 ± 0.16	36.7 ± 0.10	36.7 ± 0.10	36.6 ± 0.11	36.5 ± 0.11
CJ-11555	100	36.9 ± 0.11	37.0 ± 0.19	36.7 ± 0.12	36.5 ± 0.05	36.5 ± 0.12
	300	37.0 ± 0.11	36.9 ± 0.12	36.8 ± 0.08	36.8 ± 0.10	36.6 ± 0.09
	1000	36.7 ± 0.07	36.5 ± 0.08	36.7 ± 0.10	36.7 ± 0.16	36.7 ± 0.11
	Chlorpromazine	10	37.1 ± 0.13	36.3 ± 0.09*	35.4 ± 0.15*	35.1 ± 0.10*

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle. Values are mean ± SEM, N = 8.

Table 7. The effect of CJ-11555 on motor coordination in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of fallen mice within 60 sec		
		pre	after 6 hrs	after 8 hrs
Vehicle	-	2/8	2/8	2/8
CJ-11555	100	1/8	2/8	1/8
	300	1/8	1/8	1/8
	1000	2/8	2/8	1/8

Values are No. of fallen mice/total mice, N = 8.

호흡 · 순환기계에 대한 작용

마취견에서의 CVR에 미치는 영향. 대조군과 비교하여 3 mg/kg 용량 투여군에서는 심혈관 파라미터에 미치는 영향이 관찰되지 않았다. 10 mg/kg 용량 투여시 유의성($p < 0.05$) 수축기 혈압의 증가가 관찰되었고, 30 mg/kg의 용량 투여시 유의성($p < 0.05$) 있는 수축기 혈압, 평균혈압 및 dP/dt_{max} 의 증가가 관찰되었다(Table 8).

호흡의 경우 대조군과 비교하여 3 mg/kg 용량 투여시 호흡 parameter에 미치는 영향이 관찰되지 않았다. 10 mg/kg 투여시 유의성($p < 0.05$) 있는 분당호기량(minute volume, MV)의 감소가 관찰되었고, 30 mg/kg 투여시 유의성($p < 0.05$) 있는 최대호기량(peak inspiratory flow, PIF)와 분당호기량의 감소가 관찰되었다(Table 9).

hERG channel에 미치는 영향. 1 및 3×10^{-6} M의 농도로 적용한 군에서는 대조군과 비슷한 hERG channel current의 억제(0.3~0.6%)가 관찰되었고, 10 및 30×10^{-6} M의 농도로 적용한 군에서는 hERG current가 3.0% 및 7.2% 억제되는 것이 관찰 되었다. IC_{50} 은 $> 30 \mu M$ 으로 계산되었다(Table 10).

소화기계에 미치는 영향

장관수송능에 대한 작용. 100, 300 mg/kg 군은 대조군과 비교하여 charcoal의 이동률에 있어서 유의성 있는 차이를 보이지 않았으나, 1,000 mg/kg 군은 장관수송능을 유의성($p < 0.01$) 있게 억제하였다(Table 11).

Table 8. The effect of CJ-11555 on blood pressure, heart rate and blood flow in anesthetized dogs

Group	Dose (mg/kg)	Time (min)	Systolic BP (mmHg)	Diastolic BP (mmHg)	Mean arterial BP (mmHg)	Heart rate (bpm)	Mean flow (ml/min)	dP/dt _{max} (mmHg/s)	RR inter. (ms)	
Vehicle	-	pre	158 ± 9	65 ± 3	92 ± 3	69 ± 4	136 ± 21	3191 ± 125	873 ± 50	
	0.3 (ml/kg)	S5	164 ± 11	68 ± 3	96 ± 4	67 ± 4	133 ± 27	3273 ± 159	903 ± 54	
		S10	167 ± 11	72 ± 3	100 ± 4	69 ± 4	134 ± 29	3374 ± 145	872 ± 49	
		2	166 ± 13	72 ± 4	99 ± 5	70 ± 5	137 ± 27	3346 ± 168	861 ± 61	
		10	171 ± 14	73 ± 5	101 ± 6	68 ± 4	135 ± 28	3660 ± 262	881 ± 53	
		20	173 ± 14	73 ± 5	102 ± 6	70 ± 5	138 ± 27	3393 ± 244	862 ± 58	
		30	178 ± 13	75 ± 5	105 ± 6	70 ± 5	139 ± 27	3538 ± 214	864 ± 57	
	1 (ml/kg)	S5	168 ± 13	73 ± 5	101 ± 6	69 ± 7	131 ± 34	3477 ± 207	900 ± 93	
		S10	167 ± 13	77 ± 4	104 ± 4	76 ± 7	132 ± 34	3407 ± 218	810 ± 73	
		2	160 ± 13	75 ± 4	101 ± 4	79 ± 8	131 ± 34	3280 ± 218	769 ± 69	
		10	161 ± 14	74 ± 3	100 ± 4	77 ± 7	126 ± 35	3418 ± 225	797 ± 69	
		20	166 ± 14	75 ± 3	102 ± 4	75 ± 7	126 ± 36	3945 ± 263	809 ± 69	
		30	170 ± 14	77 ± 4	104 ± 4	76 ± 8	129 ± 35	3646 ± 222	809 ± 77	
	3 (ml/kg)	S5	160 ± 11	75 ± 4	101 ± 2	86 ± 11	135 ± 40	3426 ± 217	721 ± 83	
		S10	154 ± 11	75 ± 4	100 ± 2	95 ± 12	130 ± 42	3275 ± 243	655 ± 74	
		2	145 ± 10	77 ± 3	99 ± 2	102 ± 11	132 ± 46	3087 ± 204	603 ± 63	
		10	139 ± 9	70 ± 3	92 ± 2	95 ± 10	120 ± 41	2993 ± 173	652 ± 70	
		20	139 ± 10	68 ± 3	91 ± 2	94 ± 10	112 ± 36	3942 ± 1054	652 ± 64	
		30	143 ± 8	72 ± 4	94 ± 2	95 ± 10	109 ± 33	4885 ± 1875	647 ± 62	
	CJ-11555	-	pre	138 ± 1	72 ± 2	93 ± 1	76 ± 4	118 ± 14	3056 ± 116	787 ± 38
		3	S5	143 ± 3	76 ± 1	97 ± 1	74 ± 4	119 ± 9	3045 ± 95	812 ± 40
S10			151 ± 2	82 ± 3	104 ± 2	74 ± 2	125 ± 10	3095 ± 146	803 ± 16	
2			148 ± 2	80 ± 3	102 ± 3	81 ± 10	132 ± 8	3033 ± 126	763 ± 98	
10			141 ± 6	80 ± 2	100 ± 3	79 ± 3	131 ± 10	2971 ± 134	757 ± 29	
20			145 ± 7	82 ± 2	103 ± 4	78 ± 3	132 ± 9	3005 ± 165	767 ± 28	
30			143 ± 11	84 ± 2	104 ± 4	79 ± 2	135 ± 8	2992 ± 157	759 ± 25	
10		S5	144 ± 9	84 ± 5	104 ± 6	81 ± 3	140 ± 10	2991 ± 141	738 ± 25	
		S10	143 ± 7	85 ± 4	105 ± 6	90 ± 3	144 ± 13	2930 ± 119	668 ± 26	
		2	143 ± 4	83 ± 4	103 ± 5	92 ± 6	138 ± 21	2903 ± 118	653 ± 39	
		10	142 ± 5	84 ± 5*	103 ± 6	90 ± 2	128 ± 18	2846 ± 103	665 ± 17	
		20	145 ± 4	90 ± 2*	108 ± 3	92 ± 5	133 ± 18	3032 ± 13	653 ± 34	
		30	149 ± 3	93 ± 4*	112 ± 3	94 ± 5	134 ± 22	3032 ± 13	641 ± 38	
30		S5	160 ± 6	94 ± 6*	115 ± 5	103 ± 6	147 ± 29*	3317 ± 177	586 ± 31*	
		S10	158 ± 4	83 ± 11	108 ± 9	110 ± 6	143 ± 24	3486 ± 134	544 ± 30*	
		2	166 ± 5	78 ± 11	107 ± 10	117 ± 6	129 ± 5	4798 ± 531*	511 ± 26*	
		10	146 ± 21	78 ± 14	101 ± 15	112 ± 10	110 ± 15	3581 ± 679	539 ± 45	
		20	148 ± 24	85 ± 13	106 ± 15	104 ± 8	91 ± 15	3481 ± 674	581 ± 44	
		30	144 ± 23	88 ± 9*	107 ± 13	97 ± 3	70 ± 25	3203 ± 426	618 ± 16	

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle Values are mean ± SEM (n = 4). S: Time after start of infusion.

자율신경계에 미치는 영향

기니픽의 적출회장 수축에 미치는 영향. 0.3×10^6 , 3×10^6 M의 농도에서 acetylcholine(1×10^{-7} M), histamine (1×10^{-7} M) 및 BaCl_2 (1×10^{-4} M)에 의해 유발된 기니픽 적출회장의 수축에 영향을 주지 않았으나, 30×10^6 M의 농도에서 유의성($p < 0.01$) 있는 기니픽 적출회장 수축 억제 효과가 관찰되었다(Table 12).

고 찰

CJ 제약연구소에서 간경변 치료제로 개발중인 CJ-

11555의 안전성을 평가하기 위하여 안전성 약리 시험을 수행하였다. CJ-11555의 투여는 마우스와 랫드의 경우, 임상투여경로인 경구로 하였으며, 호흡순환기에 미치는 영향을 관찰하기 위한 Beagle 견의 경우, 정맥투여로 실시하였다.

CJ-11555의 예상 임상용량(60 mg/man)의 300배 용량인 300 mg/kg까지 경구 투여시 중추신경계, 소화기계 및 일반행동에 미치는 영향 평가와 관련된 시험 항목에서 이상 증상이 관찰되지 않았다. 예상임상용량의 약 1,000배인 1,000 mg/kg 투여 군에서는 항경련작용, 항진통작용, 체온 및 운동협조성에 미치는 영향 평가에서는 유의성 있

Table 9. The effect of CJ-11555 on Respiratory functions in anesthetized dogs

Group	Dose (mg/kg)	Time (min)	PIF (ml/s)	PEF (ml/s)	TV (ml)	MV (ml)	Rate (bpm)	
Vehicle	-	pre	207 ± 15	289 ± 22	94 ± 7	1917 ± 103	21 ± 2	
		S 5	208 ± 18	292 ± 22	95 ± 7	1927 ± 92	21 ± 2	
	0.3 (ml/kg)	S10	223 ± 23	304 ± 20	105 ± 12	1988 ± 156	20 ± 4	
		2	211 ± 18	289 ± 21	97 ± 8	2125 ± 109	22 ± 2	
		10	222 ± 21	298 ± 26	100 ± 9	2069 ± 144	21 ± 3	
		20	223 ± 15	299 ± 24	99 ± 9	2056 ± 151	21 ± 3	
		30	220 ± 17	293 ± 25	97 ± 8	2087 ± 159	22 ± 3	
		S5	228 ± 6	310 ± 21	104 ± 4	2051 ± 133	20 ± 1	
	1 (ml/kg)	S10	226 ± 25	300 ± 45	106 ± 13	2374 ± 180	23 ± 4	
		2	237 ± 21	315 ± 36	109 ± 12	2584 ± 268	25 ± 4	
		10	234 ± 20	311 ± 31	103 ± 8	2652 ± 277	26 ± 3	
		20	228 ± 19	306 ± 31	100 ± 8	2455 ± 252	25 ± 3	
		30	224 ± 18	311 ± 28	101 ± 9	2274 ± 221	23 ± 3	
		S5	220 ± 15	316 ± 21	102 ± 7	2663 ± 286	26 ± 3	
	3 (ml/kg)	S10	222 ± 16	309 ± 34	104 ± 8	2763 ± 327	27 ± 3	
		2	217 ± 21	300 ± 38	104 ± 7	2927 ± 352	28 ± 3	
		10	232 ± 20	322 ± 27	111 ± 4	2669 ± 336	24 ± 3	
		20	214 ± 17	312 ± 33	107 ± 8	2458 ± 226	23 ± 3	
		30	209 ± 18	300 ± 36	106 ± 10	2558 ± 237	25 ± 3	
		Pre	229 ± 11	316 ± 10	95 ± 9	2142 ± 337	24 ± 6	
	CJ-11555	3	S5	228 ± 8	314 ± 18	100 ± 16	2010 ± 207	22 ± 6
			S10	229 ± 25	321 ± 35	110 ± 13	1742 ± 255	17 ± 4
			2	235 ± 43	303 ± 25	115 ± 30	1932 ± 265	20 ± 6
			10	210 ± 15	287 ± 47	104 ± 12	1811 ± 283	19 ± 5
20			199 ± 21	281 ± 20	96 ± 10	1776 ± 224	19 ± 4	
30			195 ± 22	273 ± 17	95 ± 10	1814 ± 189	20 ± 4	
10		S5	191 ± 23	282 ± 28	103 ± 11	1704 ± 221	17 ± 4	
		S10	197 ± 25	297 ± 39	110 ± 4	1781 ± 125	16 ± 2	
		2	199 ± 21	309 ± 34	108 ± 11	1946 ± 193	19 ± 4	
		10	189 ± 24	303 ± 20	114 ± 12	1650 ± 137*	15 ± 2	
		20	199 ± 26	326 ± 23	123 ± 15	1481 ± 107*	12 ± 1	
		30	203 ± 20	342 ± 12	136 ± 19	1465 ± 118*	11 ± 2	
30		S5	169 ± 15*	310 ± 11	117 ± 14	1578 ± 135*	14 ± 1	
		S10	184 ± 15	329 ± 5	125 ± 19	1420 ± 170*	12 ± 3	
		2	207 ± 36	352 ± 20	109 ± 8	1795 ± 82	17 ± 1	
		10	214 ± 28	328 ± 32	105 ± 1	1890 ± 190	18 ± 2	
		20	213 ± 41	315 ± 14	110 ± 3	1877 ± 150	17 ± 1	
		30	250 ± 34	427 ± 104	147 ± 20	1149 ± 719	9 ± 6	

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle. Values are mean ± SEM (n = 4). S: Time after start of infusion.

Table 10. The effect of CJ-11555 on hERG current

Group	Dose ($\times 10^{-6}$ M)	Mean (%)	SD (%)	SEM (%)	N
Vehicle	-	0.6	0.4	0.3	3
CJ-11555	1	0.3	0.6	0.3	3
	3	0.6	0.2	0.1	3
	10	3.0	0.1	0.1	3
	30	7.2	1.6	0.9	3
E-4031	0.03	75.7	N/A	N/A	2

Mean, Mean percentage of current inhibited by CJ-11555 or E-4031; SD, Standard deviation; SEM, Standard error of the mean; N, number of cells.

Table 11. The effect of CJ-11555 on intestinal charcoal meal propulsion in mice

Treatment	Dose (mg/kg)	Passage rate (%) ^{b)}
Vehicle	-	55.6 ± 2.63
CJ-11555	100	55.5 ± 1.70
	300	53.2 ± 2.51
	1000	45.6 ± 3.65*
Atropine sulfate ^{a)}	20	28.3 ± 3.74*

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle. Values are mean ± SEM, N = 8.

^{a)}10 ml/kg, i.p.

^{b)}Passage rate (%) = Length of charcoal passage/ Length of small intestine $\times 100$.

Table 12. The effect of CJ-11555 on acetylcholine, histamine, and BaCl₂ induced contraction of guinea-pig ileum

Treatment	Final concentration ($\times 10^{-6}$ M)	% change in amplitude of contraction induced by		
		acetylcholine	histamine	BaCl ₂
Vehicle	-	6.4 \pm 6.53	9.6 \pm 2.34	3.5 \pm 8.27
CJ-11555	0.3	16.8 \pm 5.80	9.7 \pm 3.03	-16.3 \pm 6.39
	3	20.6 \pm 6.08	-9.2 \pm 5.60	-17.3 \pm 4.981
	30	-27.6 \pm 5.05*	-51.6 \pm 3.66*	-45.3 \pm 8.24*

* $p < 0.01$ treatment vs vehicle. Values are mean \pm SEM, N = 8.

는 차이가 관찰되지 않았으나, 수면 및 장관수축능 시험에서 수면 연장($p < 0.05$)과 장관수축능 억제($p < 0.05$) 작용이 관찰되었다. 또한, acetylcholine, histamine 및 BaCl₂ 유발 적출회장 수축에서 모두 최고 용량인 30×10^{-6} M의 농도에서 유의성($p < 0.01$) 있는 감소를 보여 CJ-11555가 평활근의 수축운동을 저해하는 것으로 판단되었다. 일반행동에 미치는 영향평가 시험에서 관찰된 붉은 변은 시험물질의 배출과정 중에 시험물질 본래의 색인 붉은 색에 의해 나타난 현상으로 판단되었고, 유루, 안검하수, 입모, decreased body tone 및 비정상적인 분포와 같은 증상이 1,000 mg/kg 투여 군에서 관찰되어 고용량 투여시 일반행동에 영향을 주는 것으로 판단되었다. 비글견에서의 호흡 및 순환기계에 대한 영향을 관찰한 실험에는 빈맥, 혈류량 감소, 혈압 상승, 호흡률 감소 및 분당 호기량의 감소가 관찰되었으나, 이러한 현상은 투여군과 대조군 모두에서 나타나 마취상태가 오래 지속됨으로 인한 자연적인 생리활성의 저하와 용매에 의한 영향으로 판단되며, 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화는 수축기 혈압 상승, 평균혈압 상승, dP/dt_{max} 증가, 최대호기량 감소 및 분당호기량 감소가 10 및 30 mg/kg 용량 투여시 관찰되었다. QT interval 연장 유무를 알아보기 위한 hERG channel current 시험에서 최고 농도인 30×10^{-6} M에서 7.2%의 current 억제가 관찰되었으나 이 농도는 예상 임상용량의 10배 용량(10 mg/kg) 투여시 혈중 최고 농도(341 ng/ml)의 약 20배 정도의 매우 높은 농도이며, IC₅₀가 30×10^{-6} M 이상으로 억제 정도가 매우 미약하였다. 마취견을 이용한 ECG 측정결과에서도 QT interval의 연장이 관찰되지 않아 CJ-11555는 QT interval에 미치는 영향은 없는 것으로 예상된다.

이상의 결과를 통하여 임상투여 경로로 투여시 예상 임상용량과 비교하여 매우 높은 1,000 mg/kg(실험동물의 경우)이나 30×10^{-6} M(*in vitro*)에서만 혈압상승, 최대호기량 감소 및 분당호흡률 감소와 같은 심혈관 및 호흡기계, 수면 및 평활근의 운동에 영향을 주는 비교적 안전한 약물이라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로(과제고유번호: 02-PJ2-PG4-PT01-0027) 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 의약품 등의 일반약리시험 지침 (식품의약품 안전청 고시 제 1998-62호, 1998. 5. 29 개정).
- Ansher, S. (1985): The chemotherapy of schistosomiasis. *Ann Rev Pharmacol.*, **25**, 485-508.
- Crowell, J.A., Page, J.G., Rodman, L.E., Heath, J.E., Goldenthal, E.I., Hall, L.B. and Kelloff, G.J. (1997): Chronic toxicity studies of 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiole-3-thione, a potential chemopreventive agent. *Fund Appl. Toxicol.*, **35**, 9-21.
- Hamill, O.P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B. and Sigworth, F.J. (1981). Improve patch clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane-patches. *Pflgers Arch.*, **391**, 85-100.
- ICH Harmonized Tripartite guideline (S7A) (2001): Safety pharmacology study for human pharmaceuticals.
- Irwin, S. (1968): Comprehensive observational assessment: A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologica.*, **13**, 222-257.
- Kang, K.W., Choi, S.H., Ha, J.R., Kim, C.W. and Kim, S.G. (2002a): Inhibition of dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis by 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione (oltipraz) in rats: suppression of transforming growth factor-beta1 and tumor necrosis factor-alpha expression. *Chem. Biol. Interact.*, **139**, 61-67.
- Kang, K.W., Kim, Y.G., Cho, M.K., Bae, S.K., Kim, C.W., Lee, M.G. and Kim, S.G. (2002b): Oltipraz regenerates cirrhotic liver through CCAAT/enhancer binding protein-mediated stellate cell inactivation. *FASEB J.*, **16**, 1988-1990.
- Kensler, T.W., Egner, P.A., Wang, J.B., Zhu, Y.R., Zhang, B.C., Qian, G.S., Kuang, S.Y., Gange, S.J., Jacobson, L.P., Munoz, A. and Groopman, J.D. (2002): Strategies for chemoprevention of liver cancer. *Eur. J. Cancer. Prev.*, **2**, 58-64.