

CJ-50001 (rG-CSF)의 일반약리작용

정성목 · 김영훈* · 신재규 · 최재묵 · 고희곤 · 김제학 · 김현수
제일제당 (주) 종합연구소

General pharmacology of CJ-50001 (rG-CSF)

Seong Mok JEONG, Young Hoon KIM*, Jae Kyu SHIN, Jae Mook CHOI,
Hyung Kon KO, Je Hak KIM and Hyun Su KIM

R&D Center, Cheil Jedang Corp., 522-1, Dokpyong-Ri, Majang-Myon, Ichon-Si,
Kyonggi-Do 467-810, Korea

(Received June 24, 1997; accepted August 8, 1997)

Abstract – CJ-50001 is a recombinant granulocyte-colony stimulating factor (rG-CSF) synthesized by recombinant DNA technology using *E. coli* as an expression system. The general pharmacological properties of CJ-50001 were evaluated in mice, rats, dogs and isolated guinea pig ileum. The doses are 100, 300 and 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v. for mice and rats, 1, 10 and 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v. for dogs and 1 and 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for isolated guinea pig ileum. Intravenous administration of CJ-50001 at this dose range did not affect general behavior, central nervous system, smooth muscles, gastrointestinal system, cardiovascular and respiratory system and water and electrolytes excretion. In summary, CJ-50001 had no harmful pharmacological effect in these studies even up to the 200-fold expected clinical dose, 250 $\mu\text{g}/\text{man}$.

Keywords □ CJ-50001, recombinant granulocyte-colony stimulating factor (rG-CSF), general pharmacology

Granulocyte-colony stimulating factor(G-CSF)는 monocyte, macrophage, fibroblast, astrocyte 및 endothelial cell에서 생산되어 골수내에서의 호중구 생산과 호중구 전구세포의 증식, 분화, 그리고 마지막 단계에서의 활성화(탐식능 향상, antibody-dependent killing 등)를 특이적으로 조절하는 조절 인자의 일종이다(Nagata, 1994). G-CSF는 post-mitotic granulopoietic cell들의 혈류로의 이동을 촉진하며 mitosis가 일어나도록 하여 혈중의 호중구 수준을 일정하게 유지시키며, 순환 호중구의 demargination도 일으킨다. 또한 여러 병원체에 대항하여 호중구의 chemotaxis와 탐식작용 및 항균·항진균능을 향상시키며 apoptosis를 늦추는 작용이 있는 것으로 알려졌다. 최근에는 G-CSF를 유전자 재조합기술을 이용하여 대장균이나 동물 세포를 사용하여 대량 발현시킬 수 있게 되었고, 이에 의해 임상 적용이 실용화됨에 따라 여러 종류의 암에 대한 항암 화학요법시 항암제와 같이 사용함으로써 백혈구 감소증에 의한 감염의 기회를 저하시킬 수 있음이 보고되고 있다(Morstyn 등, 1988). 현재 G-CSF는 자가골수이식 환자들에서 myeloid recovery의 촉진, myelosuppressive 항암제치료를 받는 환자들의 감염 기회의

감소, 재생불량성 빈혈 환자에서 호중구 기능의 향상, 그리고 약물에 의해 야기되는 호중구 감소증(neutropenia)의 치료 등에 사용되고 있다. 특히 G-CSF는 neutrophilic granulocytes의 회복을 촉진하여 neutropenia 기간을 상당히 감소시키며, 화학요법 이후에 나타날 수 있는 중증의 세균/진균 감염증을 막을 수 있다.

CJ-50001은 제일제당(주) 종합연구소에서 유전자 재조합 기술을 이용해 대장균을 발현계로 사용하여 생산한 recombinant granulocyte-colony stimulating factor(rG-CSF)로서, 이에 대한 안전성을 확인하기 위하여 중추신경계, 호흡·순환기계, 평활근, 소화기계, 수분 및 전해질 배설 등에 대한 약리작용을 각종 실험동물과 *in vitro* 시험계에서 검토하였다.

실험재료 및 방법

시험물질

유전자 재조합법에 의해 제일제당(주) 종합연구소에서 생산된 rG-CSF인 CJ-50001(Lot No. CS4, CS961025)을 vehicle(10 mM acetic acid, 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Tween 80, 5% Mannitol, pH 4.0)에 희석하여 사용하였다. 마우스를 실험동물

* To whom correspondence should be addressed.

로 사용하는 실험에서는 Lot No. CS4(196 µg/ml)를 사용하였으며, 랫드와 개를 실험동물로 사용하는 실험 및 적출회장 실험에서는 Lot No. CS961025(0.88, 8.048 mg/ml)를 사용하였다.

시험물질의 투여용량은 사람에서의 예상투여용량(250 µg/man)을 감안할 때, 개를 이용한 시험에서는 예상임상투여용량의 약 20배(100 µg/kg)를 최대용량으로 하였으며, 마우스와 랫드를 이용한 시험에서는 예상임상투여용량의 약 200배(1,000 µg/kg)를 최대용량으로 하였다.

양성대조물질로 사용한 atropine sulfate(Sigma, St. Louis, USA)와 chlorpromazine · HCl(Sigma)은 주사용 증류수에 녹여서 사용하였으며, indomethacin(Sigma)은 0.5 M NaHCO₃에 녹였고, pentobarbital sodium(한림제약, 한국)과 furosemide(한독약품, 한국)는 용액상태의 제품을 주사용 증류수로 희석하여 사용하였다.

시험물질의 투여시에는 마우스에는 10 ml/kg, 랫드에는 2 ml/kg 그리고 개에는 0.1 ml/kg을 30초에 걸쳐서 천천히 정맥내 투여하였다.

실험동물

실험동물의 사육조건은 온도 23±3°C, 습도 50±10%, 환기횟수 12~13회/h, 조도 150~300 Lux의 환경에서 사료와 음수는 자유급식시켰다. 시험에 사용한 ICR계 마우스는 CRJ(Charles River Japan, Atsugi, 일본)와 B&K(Fremont, CA, USA)에서 SPF(specific pathogen free) 동물을 구입하여 사용하였으며, Sprague Dawley(SD)계 랫드는 CRJ에서 SPF 동물을 구입하여 사용하였다. Hartley계 기니피그는 삼육 실험동물(한국)에서 구입하여 사용하였고, Beagle 견은 Hazleton(Rockville, Maryland, USA)에서 구입하여 사용하였다. 모든 실험동물은 검역과 순화기간을 거친 후에 정상인 동물만 사용하였다.

시험방법

일반행동에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 31~36 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300 및 1,000 µg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 0.25, 0.5, 1.5, 2.5, 5 및 24 시간 쯤에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법(Irwin, 1968)에 준하여 인지력, 기분, 운동성, 중추흥분, 운동협조성, 근육긴장도, 반사 및 자율신경성 징후등에 대하여 관찰하였다.

중추신경계에 대한 작용

Hexobarbital 수면에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 31~36 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 chlorpromazine · HCl 10 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투

여하고 15분 후에 hexobarbital(TCI, 동경, 일본) 70 mg/kg을 복강내 투여하여 수면을 유도하였다. 정향반사 소실을 지표로 하여 수면유도시간 및 수면시간을 측정하였다.

항경련작용

a. Pentetrazol 유발 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 32~39 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 pentobarbital sodium 10 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 15분 후에 pentetrazol(Sigma) 100 mg/kg을 복강내 주사하고 간대성 경련과 강직성 경련의 발현 및 사망 유무를 관찰하였다.

b. Strychnine 유발 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 30~37 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 pentobarbital sodium 10 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 15분 후에 strychnine(Sigma) 2 mg/kg을 복강내 주사하고 간대성 경련과 강직성 경련의 발현 및 사망 유무를 관찰하였다.

c. 전기자극(Maximal electric shock, MES)에 의한 경련에 미치는 영향

ICR계 마우스(웅성, 29~34 g)를 군당 8마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 pentobarbital sodium 10 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 경련의 발생유무를 관찰하였다. 시험약물투여 15분 후에 마우스의 양쪽 뒷다리에 전극을 장치하고 rodent shocker (Type 221, Hugo Sachs, March, Germany)를 이용하여 50 mA, 50 Hz, 0.4 msec의 조건으로 0.5 초간 전기자극을 하여 간대성 경련과 강직성 경련의 발현 및 사망 유무를 관찰하였다.

진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법)

ICR계 마우스(웅성, 30~37 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 indomethacin 20 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 15분 후에 0.6% acetic acid(Merck, Darmstadt, Germany)를 0.1 ml/10 g BW씩 복강내 주사하였다. Acetic acid 투여 10분 후부터 10분 동안 일어나는 writhing 횟수를 측정하였다.

체온에 미치는 영향

SD계 랫드(웅성, 170~200 g)를 군당 10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 chlorpromazine · HCl 10 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 30분, 1, 2 및 4 시간째에 digital pyrometer(PM20700, Thermolyne, Dubuque, Iowa, USA)를 사용하여 직장온도를 측정하였다.

운동협조성에 미치는 영향(Rota-rod test)

ICR계 마우스(웅성, 30~37 g)를 군당 7~8마리씩 사용하였다. Vehicle 및 CJ-50001 100, 300 및 1,000 µg/kg을 미

정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 15분, 30분, 1시간 및 2시간째에 분당 12 회전하는 rota-rod(7750, Ugo Basile, Comerio-Varase, Italy)에서 마우스가 1분 이내에 낙하하는 경우 운동실조로 판정하였다. 단 순화기간중 모든 마우스를 rota-rod에 적응할 수 있도록 훈련을 시켜서 적응이 된(1분 이내에 낙하하지 않는) 개체만을 실험에 사용하였다.

호흡·순환기계에 대한 작용

Beagle견(웅성, 9~10 kg) 3마리를 사용하였다. 마취는 요측피정맥으로 pentobarbital sodium(40 mg/kg)을 투여함으로써 유도하여 동일한 마취제(3 mg/kg/h)로 유지하였다. 혈압은 좌측 대퇴동맥에 catheter를 삽입하고 blood pressure transducer(P23XL, Grass, Quincy, Mass., USA)를 연결하여 측정하고, 심박수는 혈압의 맥파를 tachograph(7P44D, Grass)에 연결하여 측정하였다. 대퇴혈류량은 우측 대퇴동맥에 electro-magnetic blood flow transducer(MT4020, Micron Medical, Los Angeles, CA, USA)를 장치하고 전자혈류계(RC2000, Micron Medical)로 측정하였다. 심전도는 제 II 유도에 의해 기록하였다. 혈압, 심박수, 대퇴혈류량 및 심전도는 모두 polygraph(Polygraph 7H, Grass)를 이용하여 측정하였다. 호흡수는 흉강의 움직임은 육안으로 관찰하여 측정하였다. 시험약물의 투여는 좌측 대퇴정맥에 장치하여 놓은 catheter를 통하여 vehicle, CJ-50001 1, 10, 100 µg/kg을 30분 간격으로 30초에 걸쳐서 천천히 투여하였다. 각각의 약물들을 투여하고 1, 5, 10, 20 및 30분째에 위의 항목들을 측정하였다.

소화기계에 미치는 영향

장관수송능에 대한 작용

18시간 동안 절식시킨 ICR계 마우스(웅성, 26~31 g)를 군당 9~10마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 atropine sulfate 20 mg/kg을 미정맥을 통하여 정맥내로 투여하고 15분 뒤에 10% arabia gum에 현탁한 5% activated charcoal을 0.1 ml씩 경구투여하였다. Charcoal 투여 15분 후에 경구투여법으로 마우스를 희생시킨 후 장관을 적출하여 십이지장 기시부에서 회맹부까지의 길이와 charcoal이 이동한 거리를 측정하여 수송율(%)을 측정하였다.

수분 및 전해질 대사에 미치는 영향

뇨 및 전해질 배설에 대한 작용

SD계 랫드(웅성, 170~200 g)를 군당 8~10 마리씩 사용하였다. Vehicle, CJ-50001 100, 300, 1,000 µg/kg 및 furosemide 10 mg/kg을 정맥내로 투여한 직후에 생리식염수를 25 ml/kg씩 경구투여하였다. 동물을 한마리씩 대사케이지에 넣고 5시간 동안의 뇨를 채취한 후 뇨량을 측정하고, 뇨중 전해질(Na^+ , K^+ , Cl^-)은 전해질 분석기(644 Analyzer, Ciba Corning, Medfield, Ma., USA)를 이용하여 측정하였다.

평형근에 미치는 영향

Guinea pig의 적출회장 수축에 미치는 영향

체중 300~500 g의 웅성 Hartley계 guinea pig을 사용하였다. 24시간 절식 시킨 guinea pig을 방혈 희생 시킨 후 회장을 적출하여 organ bath(Tyrode액, 20 ml, 32°C, 95% O_2 and 5% CO_2 , 1 g 부하)에 현수하였다. 회장의 수축은 isotonic transducer(FT03, Grass)의 게재하에 polygraph(Polygraph 7H, Grass)를 이용하여 측정하였다. 회장이 현수된 organ bath 내에 수축유발물질인 acetylcholine(Sigma, 1×10^{-7} g/ml), histamine(Sigma, 1×10^{-6} g/ml) 및 BaCl_2 (Sigma, 1×10^{-4} g/ml)를 각각 적용하여 회장의 최대수축값을 구한 후, 군당 4~6 예씩 vehicle 및 CJ-50001 1 및 10 µg/ml을 5분간 적용한 다음 위의 수축유발물질을 다시 적용한 뒤 최대수축값에 대한 수축율을 구하여 적출회장의 수축에 미치는 영향을 검토하였다.

통계

모든 data는 mean \pm SD로 나타내었으며 대조군과 처치군을 ANOVA 및 Dunnett t-test로 검증하여 $p < 0.05$ 인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 경련에 대한 작용과 운동협조성에 대한 경우는 발생수/시험동물수로 표현하였으며 통계학적인 유의성은 Fisher's exact test에 의하여 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

시험결과

일반행동에 미치는 영향

CJ-50001 및 vehicle을 투여하고 0.25, 0.5, 1.5, 2.5, 5 및 24 시간째에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법에 준하여 인지력, 기분, 운동성, 중추흥분, 운동협조성, 근육긴장도, 반사 및 자율신경성 징후등에 대하여 관찰한 결과 특이한 행동 및 증상의 변화를 관찰할 수 없었다.

중추신경계에 대한 작용

Hexobarbital 수면에 미치는 영향

CJ-50001을 100, 300, 1,000 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 마우스에 있어서 hexobarbital에 의한 수면유도시간과 수면시간에 있어서 유의성 있는 차이를 보이지 않았으나 양성대조물질로 chlorpromazine·HCl(10 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게($p < 0.05$) 수면유도시간이 단축되었으며 수면시간이 연장되었다(Table I).

항경련작용

a. Pentetrazol 유발 경련에 미치는 영향

CJ-50001을 100, 300, 1,000 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 pentetrazol에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 pentobarbital sodium(10 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게($p < 0.05$) 항경련효과를 나타내었다(Table II).

Table I. Effect of CJ-50001 on hexobarbital-induced sleeping in ICR mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	Onset time ^a (sec)	Sleeping time (sec)
Vehicle	10 ml/kg	161.4 \pm 39.4	1189.9 \pm 128.1
CJ-50001	100	163.8 \pm 74.2	1438.5 \pm 255.1
	300	141.4 \pm 40.2	1286.1 \pm 247.6
	1,000	171.0 \pm 21.5	1120.9 \pm 223.1
Chlorpromazine · HCl	10 mg/kg	82.2 \pm 32.0*	5569.2 \pm 129.6*

Each value represents the mean \pm SD. *Significantly different from vehicle treated group ($p<0.05$). ^aSleeping is induced by hexobarbital (70 mg/kg, ip).

Table II. Effect of CJ-50001 on pentetrazol-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	No. of incidence ^a		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	10 ml/kg	10/10	10/10	10/10
CJ-50001	100	10/10	8/10	9/10
	300	10/10	9/10	9/10
	1,000	10/10	9/10	9/10
	10 mg/kg	10/10	6/10	3/10*

*Significantly different from vehicle treated group ($p<0.05$). ^aConvulsion is induced by pentetrazol (100 mg/kg, ip).

b. Strychnine 유발 경련에 미치는 영향

CJ-50001을 100, 300, 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 strychnine에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았다(Table III).

c. 전기자극(Maximal electric shock, MES)에 의한 경련에 미치는 영향

CJ-50001을 100, 300, 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 MES(maximal electric shock, 50 mA, 50 Hz, 0.4 msec, 0.5 sec)에 의해 유발된 경련에 대하여 유의성 있는 항경련효과를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 pentobarbital sodium(10 mg/kg)을 투여한 군은 간대성 및 강직성 경련의 발현에 있어서는 유의성 있

Table VI. Effect of CJ-50001 on rectal temperature in SD rats

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	Rectal temperature ($^{\circ}\text{C}$)				
		Time after administration (h)				
		pre	0.5	1	2	4
Vehicle	2 ml/kg	37.4 \pm 0.3	37.6 \pm 0.3	37.6 \pm 0.3	37.6 \pm 0.4	37.4 \pm 0.3
CJ-50001	100	37.5 \pm 0.3	37.7 \pm 0.3	37.7 \pm 0.5	37.6 \pm 0.3	37.6 \pm 0.3
	300	37.7 \pm 0.3	37.8 \pm 0.3	37.8 \pm 0.4	37.7 \pm 0.4	37.5 \pm 0.3
	1,000	37.5 \pm 0.3	37.5 \pm 0.4	37.6 \pm 0.4	37.5 \pm 0.3	37.7 \pm 0.4
	10 mg/kg	37.6 \pm 0.2	36.6 \pm 0.9	35.7 \pm 0.8*	35.3 \pm 1.0*	35.5 \pm 1.2*

Each value represents the mean \pm SD. *Significantly different from vehicle treated group ($p<0.05$).

Table III. Effect of CJ-50001 on strychnine-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	No. of incidence ^a		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	10 ml/kg	10/10	10/10	10/10
CJ-50001	100	10/10	10/10	10/10
	300	10/10	10/10	10/10
	1,000	10/10	10/10	10/10
Pentobarbital-Na	10 mg/kg	10/10	10/10	10/10

^aConvulsion is induced by strychnine (2 mg/kg, ip).

Table IV. Effect of CJ-50001 on MES-induced convulsion in ICR mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	No. of incidence ^a		
		Clonic seizure	Tonic seizure	Death
Vehicle	10 ml/kg	8/8	8/8	6/8
CJ-50001	100	8/8	8/8	5/8
	300	8/8	8/8	6/8
	1,000	8/8	8/8	6/8
Pentobarbital-Na	10 mg/kg	8/8	8/8	3/8*

*Significantly different from vehicle treated group ($p<0.05$).

^aConvulsion is induced by MES (Maximal electric shock, 50 mA, 50 Hz, 0.4 msec, 0.5 sec).

Table V. Effect of CJ-50001 on acetic acid-induced writhings in ICR mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	No. of writhings ^a (for 10 min)
Vehicle	10 ml/kg	13.8 \pm 8.8
CJ-50001	100	15.9 \pm 6.6
	300	14.7 \pm 4.3
	1,000	13.8 \pm 5.9
Indomethacin	20 mg/kg	2.3 \pm 2.8*

Each value represents the mean \pm SD. *Significantly different from vehicle treated group ($p<0.05$). ^aWrithing is induced by 0.6% acetic acid (0.1 ml/10 g BW, ip).

는 항경련효과를 나타내지 않았으나 경련으로 인하여 폐사한 마우스의 수는 유의성이 있게($p<0.05$) 적었다(Table IV).

Table VII. Effect of CJ-50001 on rota-rod test in ICR mice

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$, iv)	No. of fallen mice			
		Time after administration (min)			
		15	30	60	120
Vehicle	10 ml/kg	2/8	1/8	3/8	3/8
CJ-50001	100	0/7	2/7	3/7	3/7
	300	1/8	1/8	1/8	1/8
	1,000	2/8	0/8	1/8	1/8

진통작용에 미치는 영향(초산 Writhing 법)

CJ-50001을 100, 300, 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 0.6% acetic acid의 복강투여에 의한 writhing 횟수에 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 indomethacin(20 mg/kg)을 투여한 군에서는 유의성 있게($p < 0.05$) writhing 횟수가 감소하였다(Table V).

체온에 미치는 영향

CJ-50001을 100, 300, 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 유의성 있는 체온의 변화가 없었으며, 양성대조물질로 chlorpromazine · HCl(10 mg/kg)을 투여한 군에서는 투여 30분 후부터 체온이 떨어지기 시작하여 투여 60분 후부터는 유의성 있는($p < 0.05$) 체온의 저하가 관찰되었다(Table VI).

운동협조성에 미치는 영향(Rota-rod test)

CJ-50001을 100, 300, 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 rota-rod test에서 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table VII).

호흡·순환기계에 대한 작용

CJ-50001을 Beagle 견에 1, 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 정맥내 투여한 후의 혈압, 심박수, 대퇴혈류량, 심전도 및 호흡수는 vehicle을 투여하였을 때와 유의성 있는 차이를

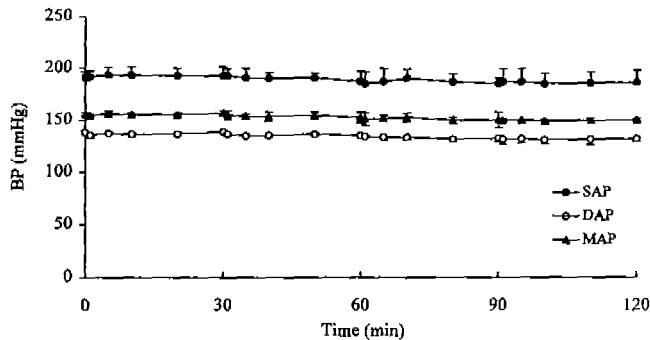


Fig. 1. Effect of CJ-50001 on blood pressure in anesthetized Beagle dogs.

0 min: Vehicle 0.1 ml/kg 30 min: CJ-50001 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 60 min: CJ-50001 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 90 min: CJ-50001 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 BP: Blood pressure, SAP: Systolic arterial pressure,
 MAP: Mean arterial pressure, DAP: Dyastolic arterial pressure.

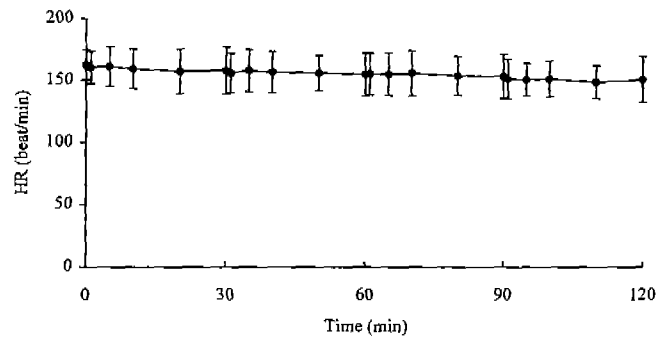


Fig. 2. Effect of CJ-50001 on heart rate in anesthetized Beagle dogs.

0 min: Vehicle 0.1 ml/kg 30 min: CJ-50001 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 60 min: CJ-50001 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 90 min: CJ-50001 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 HR: Heart rate.

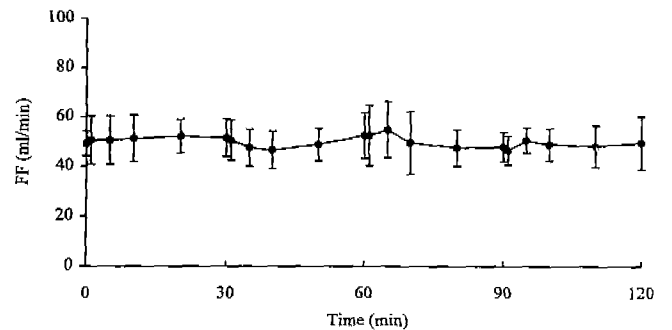


Fig. 3. Effect of CJ-50001 on femoral blood flow in anesthetized Beagle dogs.

0 min: Vehicle 0.1 ml/kg 30 min: CJ-50001 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 60 min: CJ-50001 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 90 min: CJ-50001 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 FF: Femoral blood flow.

보이지 않았다(Fig. 1, 2, 3, 4, 5)

소화기계에 미치는 영향

장관수송능에 대한 작용

CJ-50001을 100, 300, 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여한 군

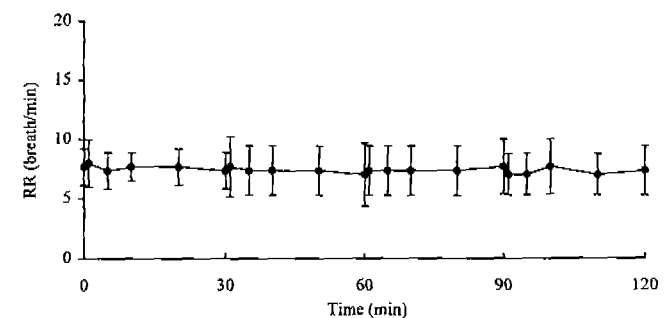


Fig. 4. Effect of CJ-50001 on respiratory rate in anesthetized Beagle dogs.

0 min: Vehicle 0.1 ml/kg 30 min: CJ-50001 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 60 min: CJ-50001 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 90 min: CJ-50001 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$
 RR: Respiratory rate.

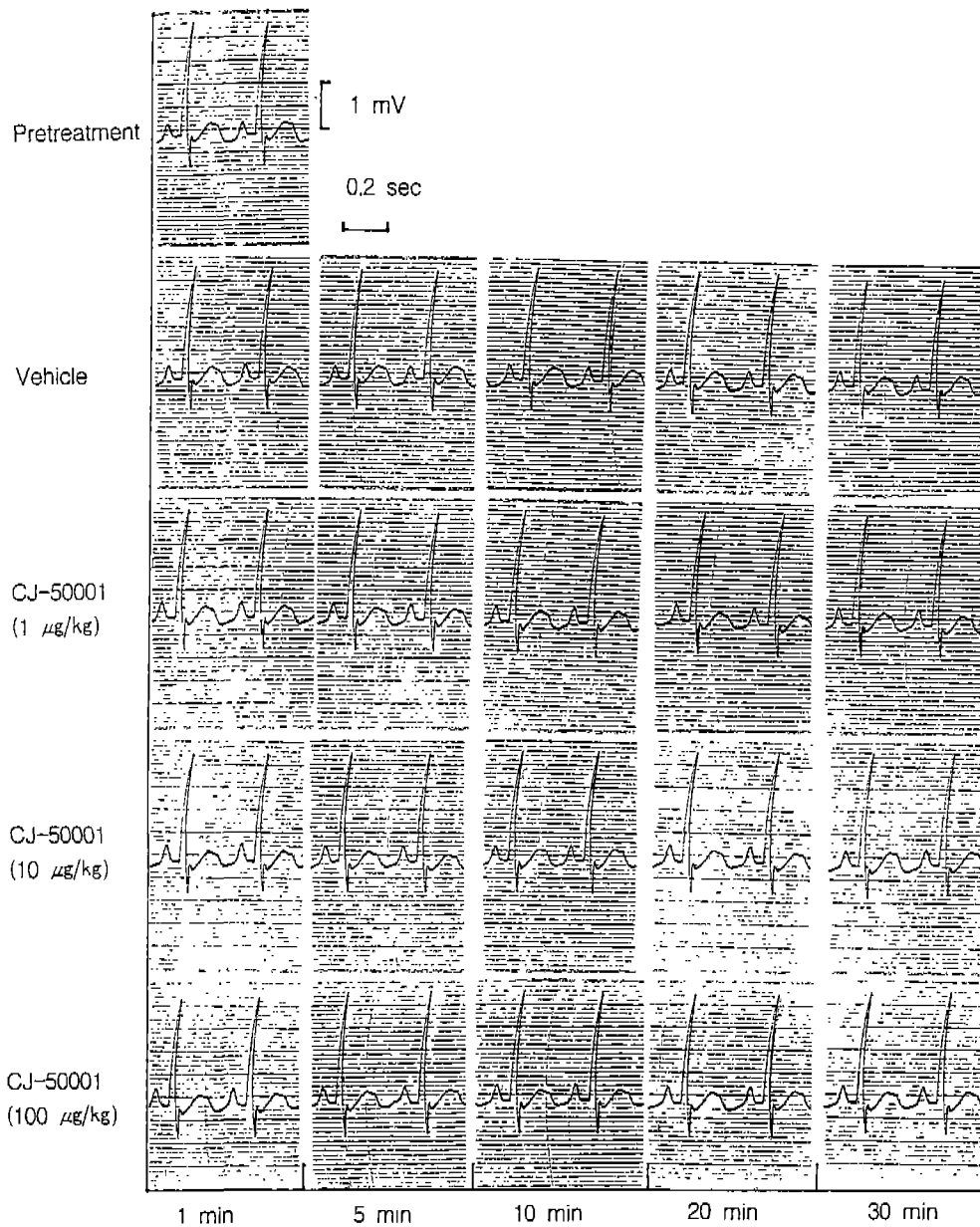


Fig. 5. Effect of CJ-50001 on electrocardiogram (lead II) in anesthetized Beagle dogs.

Table VIII. Effect of CJ-50001 on intestinal charcoal meal propulsion in ICR mice

Treatment	Dose (µg/kg, iv)	Passage rate ^a (%)
Vehicle	10 ml/kg	60.8 ± 8.0
CJ-50001	100	64.0 ± 10.5
	300	59.2 ± 10.8
	1,000	56.8 ± 9.5
Atropine sulfate	20 mg/kg	31.0 ± 11.1*

Each value represents the mean ± SD. *Significantly different from vehicle treated group (p < 0.05).

$$^a \text{Passage rate (\%)} = \frac{\text{Length of charcoal passage}}{\text{Length of small intestine}} \times 100$$

은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 charcoal의 이동률에 있어서 유의성 있는 차이를 보이지 않았으며, 양성대조물질로 atropine sulfate(20 mg/kg)를 투여한 군은 유의성 있게(p < 0.05) charcoal의 이동이 억제되었다(Table VIII).

수분 및 전해질 대사에 미치는 영향

뇨 및 전해질 배설에 대한 작용

CJ-50001을 100, 300, 1,000 µg/kg의 용량으로 투여한 군은 vehicle을 투여한 군과 비교하여 뇨량, Na⁺, K⁺ 및 Cl⁻의 배설량에 유의성 있는 변화가 없었으며, 양성대조물질로 furosemide(10 mg/kg)를 투여한 군에서는 K⁺을 제외한 모든 항목이 유의성 있게(p < 0.05) 증가하였다(Table IX).

Table IX. Effect of CJ-50001 on urinary volume and electrolytes secretion in SD rats

Treatment	Dose ($\mu\text{g/kg}$, iv)	Urinary volume (ml/5 h/100 g)	Na ⁺ (mEq/5 h/100 g)	K ⁺ (mEq/5 h/100 g)	Cl ⁻ (mEq/5 h/100 g)
Vehicle	2 ml/kg	1.4 \pm 0.6	0.123 \pm 0.044	0.139 \pm 0.053	0.189 \pm 0.060
CJ-50001	100	1.5 \pm 0.3	0.101 \pm 0.031	0.145 \pm 0.038	0.203 \pm 0.046
	300	1.6 \pm 0.6	0.169 \pm 0.064	0.144 \pm 0.049	0.212 \pm 0.054
	1,000	1.4 \pm 0.4	0.130 \pm 0.042	0.131 \pm 0.039	0.189 \pm 0.041
Furosemide	10 mg/kg	5.5 \pm 0.7*	0.491 \pm 0.092*	0.162 \pm 0.030	0.711 \pm 0.087*

Each value represents the mean \pm SD. *Significantly different from vehicle treated group ($p < 0.05$).

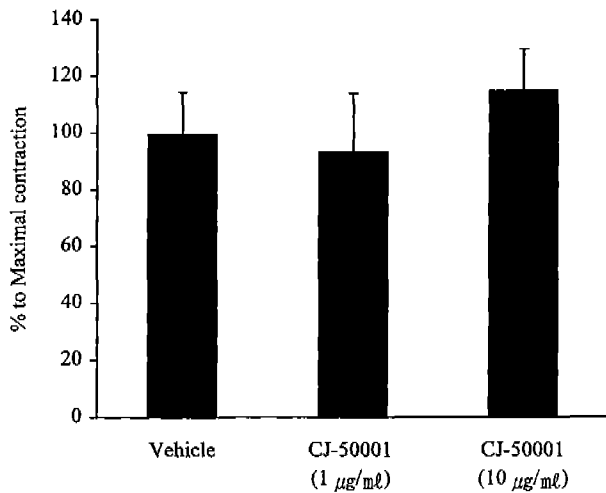


Fig. 6. Effect of CJ-50001 on acetylcholine (1×10^{-7} g/ml)-induced contraction in isolated guinea pig ileum.

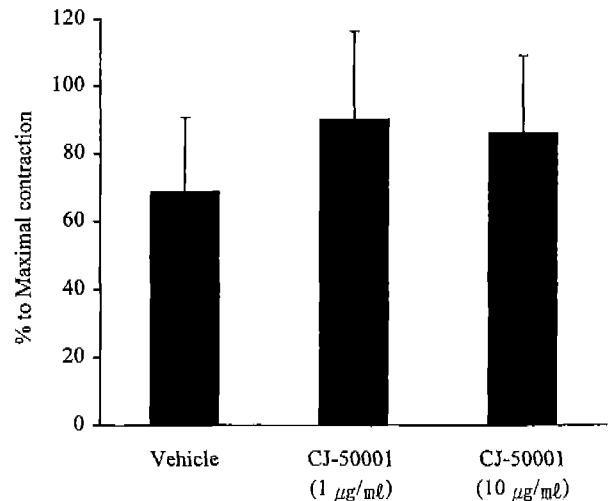


Fig. 8. Effect of CJ-50001 on BaCl₂ (1×10^{-4} g/ml)-induced contraction in isolated guinea pig ileum.

평활근에 미치는 영향

Guinea pig의 적출회장 수축에 미치는 영향

CJ-50001은 1 및 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 acetylcholine(1×10^{-7} g/ml), histamine(1×10^{-6} g/ml) 및 BaCl₂(1×10^{-4} g/ml)에

의한 기니픽 적출회장의 수축에 유의성 있는 영향을 주지 않았다(Fig. 6, 7, 8).

고찰

제일제당 (주) 종합연구소에서 유전자 재조합기술을 이용해 대장균(*E. coli*)을 발현계로 사용하여 생산한 rG-CSF 인 CJ-50001을 임상에 적용하기에 앞서 안전성을 확인하기 위하여 일반약리 시험을 수행하였다.

일반행동에 미치는 영향을 알아보기 위하여 CJ-50001을 투여한 뒤에 나타나는 증상을 Irwin 다차원 관찰법에 준하여 관찰한 결과 특이한 행동 및 증상의 변화를 관찰할 수 없었다. 중추신경계에 대한 작용을 알아보기 위하여 hexobarbital에 의한 수면에 미치는 영향, 진통작용에 미치는 영향(초산 writhing 법), 운동협조성에 미치는 영향(Rota-rod test), 체온에 미치는 영향 및 pentetrazol, strychnine 및 전기 자극(MES)에 의해 유발된 경련에 대한 항경련작용을 알아본 결과 CJ-50001은 영향을 미치지 않았으며, 그 외에도 호흡 및 순환기계에 대한 작용, 장관수송능에 대한 작용, 뇨 및 전해질 배설에 미치는 영향 및 적출회장 수축에 미치는

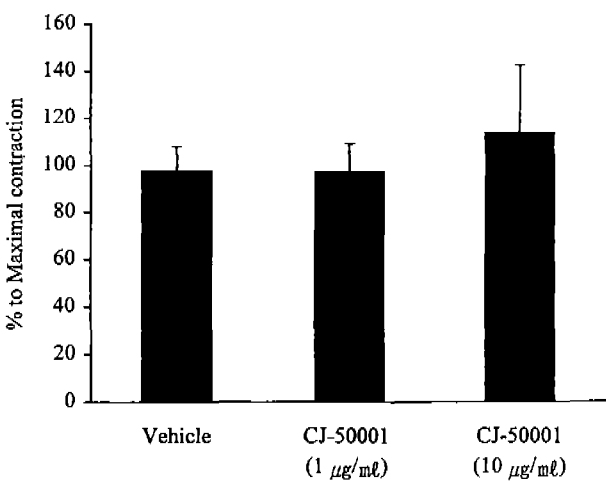


Fig. 7. Effect of CJ-50001 on histamine (1×10^{-6} g/ml)-induced contraction in isolated guinea pig ileum.

영향에 관한 실험을 수행한 결과 CJ-50001은 유의성 있는 영향을 미치지 않았다. 이러한 결과는 Morino 등 (1990)과 배 등 (1994)에 의하여 보고된 rG-CSF의 일반약리작용에서의 결과와도 일치한다.

본 실험을 수행하기 위하여 Beagle 견에서의 호흡 및 순환기계에 미치는 영향에 관한 실험에서는 CJ-50001을 1, 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 투여하였고 이를 제외한 모든 동물실험에 적용한 CJ-50001의 투여량은 100, 300 및 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 이는 사람에서의 예상투여량(250 $\mu\text{g}/\text{man}$)을 감안한다면 대단히 높은 양이고, 이러한 높은 용량에서도 영향을 미치지 않은 CJ-50001은 안전한 물질일 것으로 사료된다.

참고문헌

- Gary R. Bolton (1975). *Handbook of Canine Electrocardiography*, pp. 19-91. W. B. Saunders Co., Philadelphia.
- Irwin, S. (1968). Comprehensive observational assessment: A systemic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologica* **13**, 222-257.
- Morino, H., Nishimura, T., Kobayashi, F., Sskonjou, H., Kimura A., Hasegawa, K., Komatsu, M., Nozaki, O., Nakaide, H., Nakajima, S., Nishimori, T., Kataoka, S., Asano, T., Usami, M. and Takeda, K. (1990). General pharmacological studies on recombinant human G-CSF (rG-CSF). *Japan Pharmacol. Ther.* **18**, 413~443.
- Morstyn, G., Souza, L. M., Keech, J., Sheridan, W., Campbell, L., Alton, N. K., Green M. and Metcalf, D. (1988). Effect of granulocyte colony stimulating factor on neutropenia induced by cytotoxic chemotherapy. *Lancet* **1**, 667.
- Nagata, S. (1994). Granulocyte colony stimulating factor and its receptor. In *The Cytokine Handbook* (Thompson, A. Ed.), pp. 371-385. Academic Press, London.
- 배은주, 신명수, 김순희, 강수형, 김원배, 양중익 (1994). 유전자 재조합 인형 과립구 콜로니 자극인자 DA-3030의 일반약리작용. *응용약물학회지* **2**, 281-285.
- 白須 泰顔, 吐山 豊秋 編 (1988). *新毒性試験法 (方法と評價)*, pp. 420-440. Realize Inc.
- 日本製薬工業協會 醫藥品評價委員會 (1993). *一般藥理評價法*, pp. 1-36.