



## CJ-11555의 유전독성에 관한 연구

박지은<sup>1</sup> · 이성학<sup>1</sup> · 최재목<sup>1</sup> · 김일환<sup>1</sup> · 김덕열<sup>1</sup> · 노현정<sup>1</sup> · 김택로<sup>1</sup> · 김영훈<sup>1</sup> · 임지웅<sup>1</sup> · 김진완<sup>1</sup> · 장준환<sup>1</sup>  
Hemalatha Murli<sup>2</sup> · Gregory L. Erexson<sup>2</sup> · Leon F. Stankowski, Jr.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CJ 제약연구소, <sup>2</sup>Covance Laboratories Inc., <sup>3</sup>Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development

## Genotoxicity Study of CJ-11555

Jie-Eun Park<sup>1</sup>, Sung-Hak Lee<sup>1</sup>, Jae-Mook Choi<sup>1</sup>, Il-Hwan Kim<sup>1</sup>, Deog-Yeor Kim<sup>1</sup>, Hyun-Jung Noh<sup>1</sup>,  
Taekrho Kim<sup>1</sup>, Young-Hoon Kim<sup>1</sup>, Lim Jee Woong<sup>1</sup>, Jin-Wan Kim<sup>1</sup>, Jun-Hwan Chang<sup>1</sup>,  
Hemalatha Murli<sup>2</sup>, Gregory L. Erexson<sup>2</sup> and Leon F. Stankowski, Jr.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>R&D Center of Pharmaceuticals, CJ Corp., Kyonggi-Do 467-812, Korea  
<sup>2</sup>Covance Laboratories Inc., 9200 Leesburg Pike Vienna, Virginia 22182-1699  
<sup>3</sup>Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development,  
Welsch & McKean Roads, P.O. Box 776, Spring House, PA 9477-0776, USA

Received March 8, 2004; Accepted May 24, 2004

**ABSTRACT.** To evaluate the genotoxicity of CJ-11555, an anti-cirrhotic agent, the reverse mutation test, chromosomal aberration test and *in vivo* micronucleus test in rats were performed. In the reverse mutation test, the treatment of CJ-11555 at doses of 33.3, 100, 333, 1000, 3330 and 5000 µg/plate with and without S9 did not induce mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *Escherichia coli* (*E. coli*) WP2uvrA. In chromosomal aberration test, CJ-11555 did not induce structural a chromosomal aberration in Chinese hamster ovary (CHO) cells with and without metabolic activation at all doses. In micronucleus test, CJ-11555 did not induce any statistically significant increases in micronucleated polychromatic erythrocyte (MNPCE) at doses of 500, 1000, and 2000 mg/kg. These results suggest that CJ-11555 might not have a mutagenic potential under the conditions in this study.

**Keywords:** Genotoxicity, CJ-11555, Anti-cirrhotic agent, Reverse mutation, Chromosomal aberration, Micronucleus.

## 서 론

간경변증은 간의 지속적인 손상으로 간실질 세포가 파괴되어 재생되지 않고 섬유화가 진행되어 굳어지며 간기능이 저하되는 질병으로 식도 정맥류 출혈, 복수, 간성혼수 및 간부전증 등이 복합적으로 발생하는 치사율이 높은 만성질환이다. 이러한 간경변이 발생하는 원인은 바이러스에 의한 만성 감염, 과음, 면역계의 이상, 담도폐쇄, 혈행 장애, 만성 간염, 약물복용 등에 의해 발생한다(Beer

and Berkow, 1997).

CJ-11555는 oltipraz로 [5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione] 1980년대 초반에 이미 주혈흡충증(schistosomiasis) 치료제로서 개발된 물질이다(Ansher, 1985). 이후 마우스에서 benzo[a]pyrene(B[a]P)에 의해 유발되는 위와 폐 종양의 발생을 억제하는 경향을 나타내며(Wattenberg and Bueding, 1986) 랫드에서 폐, 기관지, 소장, 유방, 피부, 간, 방광, 위암의 발생을 억제하는 등(Kensler and Helzlsouer, 1995) 발암 예방제(chemopreventive agent)로서 실험동물 및 임상에서 효력 및 부작용이 평가되어(Kensler *et al.*, 2002) 사람에서의 안전성이 어느 정도 입증되어 있다. 최근에 간 성상세포를 이용한 시험 및 dimethylnitrosamine으로 유도된 간경화

Jie-Eun Park, R&D Center of Pharmaceuticals, CJ Corporation., 522-1, Dokpyong-Ri, Majang-Myon, Ichon-Si, Kyonggi-Do 467-812, Korea  
E-mail: jelph@cj.net

랫드 모델 실험에서 transforming growth factor- $\beta$ 1과 tumor necrosis factor- $\alpha$ 의 발현 억제, ECM(extracellular matrix, i.e., collagen)생성 억제, hepatocyte growth factor/c-Met 반응성 증강, 전사인자 CCAAT/enhancer binding protein 활성화를 통하여 간경화와 간 세포의 손상을 억제하고 간세포를 재생시킨다는 새로운 약리 작용에 관한 연구결과가 발표되었다(Kang *et al.*, 2002). 이러한 결과를 바탕으로 CJ(주) 제약연구소에서는 CJ-11555를 간경변증 치료제로 개발하기 위하여 본 시험에서 유전 독성을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 시험물질

CJ(주) 제약연구소에서 생산된 붉은색의 분말형 CJ-11555(Lot No. CJ0121A, 순도 100.97%)을 차광 상태로 냉장보관 하였다.

### 복귀돌연변이시험

#### 시험 균주.

*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537과 *Escherichia coli* WP2uvrA를 California 대학의 Bruce Ames 박사와 영국의 The National Collection of Industrial Bacteria에서 각각 제공 받아 사용하였다.

### 시험물질 및 대조물질

CJ(주) 제약연구소에서 제조한 CJ-11555를 dimethylsulfoxide(DMSO)에 녹여 사용하였다. 양성 대조물질은 S9 첨가군에서 TA98 균주에 B[a]P(Sigma, 미국) 2.5  $\mu$ g/plate, TA100, TA1535 및 TA1537 균주에 2-aminoanthracene(2-AA, Sigma, 미국) 2.5  $\mu$ g/plate 그리고 WP2uvrA 균주에 2-AA 25  $\mu$ g/plate를 사용하였다. S9 무첨가군은 TA98 균주에 2-nitrofluorene(2-NF, Aldrich, 미국) 1.0  $\mu$ g/plate, TA100과 TA1535 균주에 sodium azide(Sigma, 미국) 2.0  $\mu$ g/plate, TA1537 균주에 ICR-191(Sigma, 미국) 2.0  $\mu$ g/plate 그리고 WPuvrA 균주에 4-nitroquinoline-N-oxide(4NQO, Sigma, 미국) 1.0  $\mu$ g/plate를 사용하였다. 양성 대조물질은 sodium azide만 증류수에 녹여 사용하였고 다른 물질들은 DMSO에 녹여 사용하였다.

### 시험방법

Ames *et al.*(1975)과 Green and Muriel (1976)의 보고와 OECD Guideline 471(1997)에 의거하여 실험하였다. 시험의 정확성을 높이기 위해 1차 시험과 확인시험을

실시하였다. 냉동 보관 균주에서 얻은 master plate에서 콜로니를 채취하여 2.5% Oxoid Nutrient Broth No. 2를 첨가한 Vogel-Bonner salt solution에서 배양하여 실험에 사용하였다. S9 무첨가군은 시험 균주 100  $\mu$ l와 시험물질 200  $\mu$ l를 top agar 2.5 ml에 혼합하였고 S9 첨가군은 시험 균주 100  $\mu$ l, 시험물질 200  $\mu$ l 그리고 S9 mix 500  $\mu$ l를 top agar 2 ml에 혼합하여 minimal bottom agar plate(1.5%의 agar와 0.2% glucose를 포함한 Vogel-Bonner minimal medium E)에 부어 37  $\pm$  2°C의 배양기에서 52  $\pm$  4시간 동안 배양 하였다. 배양 후 콜로니 수를 측정하여 TA98, TA100, WP2uvrA 균주는 대조군 보다 2배 이상, TA1535, TA1537 균주는 3배 이상 증가하였을 때 양성으로 간주하였다.

### 염색체 이상시험

#### 세포 및 배양 조건.

Chinese hamster ovary(CHO) cell은 California 대학의 S. Wolff 박사로부터 분양 받아 사용하였다. CHO cell은 McCoy's 5a culture medium에 10% fetal bovine serum(FBS), 2 mM L-glutamine, 100 units/ml penicillin G, 100  $\mu$ g/ml streptomycin를 첨가하여 배양 하였다.

### 시험물질 및 대조물질

CJ-11555는 DMSO에 녹여 배양액에 1%의 비율로 첨가하여 실험하였다. Mytomycin C(MMC, Sigma, 미국)는 S9 무첨가군에서, Cyclophosphamide(CP, Sigma, 미국)는 S9 첨가군에서 양성 대조물질로 사용하였으며 MMC와 CP는 모두 증류수에 녹여 사용하였다. MMC는 S9 1차 시험에서 0.75  $\mu$ g/ml, 확인 시험에서 0.2  $\mu$ g/ml의 농도로 처리하였다. CP는 1차 및 확인 시험에서 모두 7.5  $\mu$ g/ml의 농도로 처리하여 사용하였다.

### 시험방법

본 시험은 OECD guideline 473(1997)에 의거하여 실험하였다. 시험의 정확성을 높이기 위하여 1차 시험과 확인시험을 실시하였다. 모든 시험은 75 cm<sup>2</sup> 플라스크 당 0.9 $\times$ 10<sup>6</sup>개의 cell을 이용하여 duplicate로 실시하였다. 1차 시험에서는 S9 무첨가군과 첨가군 모두 1일간 배양한 플라스크에 물질을 3시간 동안 처리 한 후 20.5시간 뒤에 수거하였으며 확인 시험에서 S9 무첨가군은 17.75시간, S9 첨가군은 3시간 동안 시험 물질을 처리하고 20.5시간 뒤에 수거하여 실험에 사용하였다. 모든 시험에서 수거 전 2  $\pm$  0.5시간 동안 0.1  $\mu$ g/ml의 Colcemid<sup>®</sup>를 첨가하여 배양한 후 수거한 다음 75 mM의 KCl을 이용하

여 세포를 팽창시킨 후 methanol : glacial acetic acid (3 : 1)의 고정액을 이용하여 고정하였다. 세포 부유액을 깨끗한 슬라이드에 떨어뜨려 건조한 후 Giemsa 염색을 하여 슬라이드를 관찰하였다. 결과의 판정은 100개의 중기 분열상을 관찰한 후 염색체 이상을 가진 세포의 출현율을 계산하여 대조군에 비해 유의성 있게 증가한 경우를 양성으로 판정하였으며,  $P \leq 0.01$ 의 유의수준에서 Cochran-Armitage test for linear trend와 Fisher's Exact test(Thakur *et al.*, 1985)를 이용하여 통계처리 하였다.

### 소핵시험

#### 실험동물 및 사육환경.

8주령의 수컷 Crl : CD<sup>®</sup>(SD) IGS BR 랫드를 Charles River Laboratories, (Raleigh, NC, 미국)에서 구입하여 5일간 순화하여 본 시험에 사용하였다. 동물은 스테인레스 스틸 재질의 케이지를 이용하여 온도 19~26°C, 습도 30~70%, 형광등 명암 12시간의 환경에서 사육하였다.

### 시험물질 및 대조물질

시험물질은 0.5% carboxymethylcellulose(CMC, Sigma, 미국) 수용액에 현탁하여 경구 투여하였으며 양성대조 물질인 CP는 6 mg/ml의 농도로 증류수에 희석하여 10 ml/kg의 액량으로 경구 투여하였다.

### 시험방법

본 시험은 OECD Guideline 474(1997)에 의거하여 실험하였다. 시험물질을 투여 후 음성 대조군과 CJ-11555 2000 mg/kg 투여군은 24시간과 48시간째에, 그 외의 시험군에서는 24시간째에 골수를 채취하여 슬라이드에 도말한 후 건조시켜 acridine orange로 염색한 후 관찰하였다. 2000개의 다염성 적혈구(polychromatic erythrocyte, PCE)를 관찰하여 소핵 다염성 적혈구(micronucleated polychromatic erythrocyte, MNPCE)의 출현 빈도를 관찰하였다. 동시에 골수세포의 증식 억제지표로 500개의 적혈구를 관찰하여 다염성 적혈구에 대한 정염성 적혈구(normochromatic erythrocytes, NCE)의 출현빈도를 구하였다. 양성의 판정은  $P \leq 0.01$  수준에서 Dunnett's t-test로 검정하여 대조군에 비하여 유의적으로 소핵이 증가한 것을 양성으로 판단하였다.

### 결론 및 고찰

#### 복귀돌연변이시험

예비시험에서 6.67부터 5000 µg/plate까지의 농도 중 10개의 농도를 설정해서 용량 결정시험을 실시하였다. 그 결과, 모든 시험계에서 균주의 성장을 저해하지 않았다. 1차 시험에서 S9 첨가군과 무첨가군 모두 33.3, 100,

Table 1. Initial mutagenicity test results of CJ-11555

Compound	Dose (µg/plate)	S9 mix	Mean revertants per plate with standard deviation				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
Vehicle control	0	+	29 ± 4	75 ± 10	12 ± 3	11 ± 2	18 ± 3
CJ-11555	33.3	+	33 ± 9	97 ± 4	16 ± 4	14 ± 2	19 ± 1
	100	+	27 ± 7	112 ± 16	22 ± 2	11 ± 2	14 ± 6
	333	+	22 ± 4	110 ± 28	24 ± 5	10 ± 3	22 ± 5
	1000	+	22 ± 5	96 ± 6	19 ± 4	9 ± 2	23 ± 2
	3330	+	21 ± 5	103 ± 21	25 ± 3	8 ± 1	17 ± 8
	5000	+	15 ± 5	94 ± 14	15 ± 3	6 ± 3	20 ± 3
B[a]P	2.5	+	301 ± 14				
2-AA	2.5	+		807 ± 70	247 ± 18	161 ± 13	665 ± 86 <sup>a)</sup>
Vehicle control	0	-	16 ± 2	74 ± 19	13 ± 3	10 ± 1	18 ± 3
CJ-11555	33.3	-	12 ± 3	59 ± 6	14 ± 4	8 ± 4	16 ± 5
	100	-	12 ± 3	58 ± 9	15 ± 3	9 ± 3	14 ± 2
	333	-	11 ± 2	56 ± 7	13 ± 2	7 ± 4	17 ± 1
	1000	-	9 ± 1	59 ± 10	15 ± 1	5 ± 1	12 ± 4
	3330	-	10 ± 5	43 ± 13	18 ± 6	6 ± 3	9 ± 2
	5000	-	11 ± 2	49 ± 7	16 ± 3	5 ± 2	11 ± 3
2-NF	1.0	-	265 ± 11				
Sodium azide	2.0	-		1407 ± 229	1038 ± 150		
ICR-191	2.0	-				1618 ± 344	
4NQO	1.0	-					292 ± 24

Each value represents mean ± S.D.

2-AA, 2-Aminoanthracene; 2-NF, 2-Nitrofluorene; ICR-191, 2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine HCl; 4NQO, 4-nitroquinoline-N-oxide.

<sup>a)</sup>The concentration of 2-AA at the WP2uvrA strain: 25.0 µg/ml

333, 1000, 3330 및 5000 µg/plate의 농도에서 실험을 실시하였다. 시험물질을 처리한 모든 균에서 성장저해가 관찰되지 않았으며 음성 대조군과 비교하여 시험물질 처리균의 콜로니 수의 증가 및 시험물질에 의한 농도 의존적인 콜로니 수의 증가가 관찰되지 않았다. S9 첨가균의 TA1535 균주에서 333 및 3330 µg/plate 처리균에서 대조군에 비해 콜로니 수가 2.0와 2.1배를 각각 나타내었으나 농도의존성을 보이지 않았으며 TA1535 균주의 경우 콜로니 수가 3배 이상 증가하였을 때 양성으로 판단하는 바 이는 음성의 범주에 속하는 변화로 생각되었다 (Table 1).

1차 시험을 확인 하기 위해 같은 조건으로 확인시험을 한 결과 1차 시험과 마찬가지로 모든 균에서 콜로니 수가 음성 대조군에 비해 유의성 있게 증가하지 않았다. S9 첨가균 TA1535 균주의 3330 µg/plate 처리균과 S9 무첨가균 TA1537 균주의 33.3 µg/plate 처리균에서 음성 대조군에 비해 콜로니 수가 각각 2배 및 2.7배 증가하였으나 이는 농도의존성을 보이지 않았으며 TA1535 및 TA1537 균주의 경우 콜로니 수가 3배 이상 증가하였을 때 양성으로 판단하는 바 이는 음성 대조군의 범주에 포함되는 콜로니 수의 변화로 생각되었다(Table 2). 따라서 1차 시험의 TA1535 균주와 확인시험의 TA1535 및 TA1537 균주에서 약간의 콜로니 수의 증가는 자연발생적으로 일어난

복귀에 의해 발생된 것으로 생각되었다. 두 시험에서 양성, 음성 대조군의 콜로니 수는 정상 범위에 있어 시험의 신뢰성을 확인 할 수 있었다.

결론적으로 CJ-11555는 *Salmonella typhimurium*과 *Escherichia coli*을 이용한 복귀돌연변이 시험에서 유전 독성을 평가한 결과 변이원성이 없는 것으로 생각된다.

### 염색체 이상시험

3.39에서 500 µg/ml까지 15개의 농도에서 용량 결정 시험을 실시하여 S9 무첨가균과 S9 첨가균에서 각각 세포 분열을 50% 억제하는 농도를 최고 농도로 설정하여 실험을 실시하였다. 1차 시험에서 S9 무첨가균은 9.89, 14.1, 20.2 및 28.8 µg/ml의 농도에서, S9 첨가균은 6.92, 9.89, 14.1 및 28.8 µg/ml의 농도에서 염색체 이상시험을 실시한 결과 통계적으로 유의한 염색체의 구조적 이상 및 수적 이상(polyploidy와 endoreduplication)이 관찰되지 않았다(Table 3).

1차 시험을 확인하기 위해서 S9 무첨가균은 0.625에서 30 µg/ml의 농도까지 10개의 농도에서, S9 첨가균은 5.0에서 30.0 µg/ml의 농도까지 5개의 농도에서 용량 결정 시험을 실시하여 각각 세포분열을 50% 억제하는 농도를 최고 농도로 설정하여 실험을 실시하였다. S9 무첨가 균은 7.5, 10.0, 15.0 및 22.5 µg/ml에서, S9 첨가균은

**Table 2.** Confirmatory mutagenicity test results of CJ-11555

Compound	Dose (µg/plate)	S9 mix	Mean revertants per plate with standard deviation				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 <sub>uvrA</sub>
Vehicle control	0	+	21 ± 9	73 ± 9	14 ± 5	6 ± 3	20 ± 5
CJ-11555	33.3	+	28 ± 4	94 ± 9	21 ± 4	7 ± 3	21 ± 6
	100	+	26 ± 8	114 ± 3	19 ± 8	9 ± 2	22 ± 6
	333	+	19 ± 4	103 ± 10	26 ± 7	7 ± 0	17 ± 7
	1000	+	16 ± 4	97 ± 8	27 ± 6	7 ± 2	13 ± 1
	3330	+	18 ± 2	86 ± 5	28 ± 4	6 ± 1	11 ± 1
	5000	+	10 ± 2	89 ± 16	20 ± 4	4 ± 1	4 ± 0
B[a]P	2.5	+	469 ± 44				
2-AA	2.5	+		411 ± 64	112 ± 8	76 ± 24	788 ± 71 <sup>a)</sup>
Vehicle control	0	-	12 ± 5	67 ± 5	11 ± 5	8 ± 3	10 ± 3
CJ-11555	33.3	-	7 ± 5	64 ± 5	13 ± 2	23 ± 8	17 ± 8
	100	-	13 ± 1	64 ± 12	15 ± 8	8 ± 3	12 ± 6
	333	-	8 ± 1	60 ± 9	15 ± 3	11 ± 4	16 ± 3
	1000	-	5 ± 3	53 ± 9	13 ± 2	9 ± 6	8 ± 2
	3330	-	5 ± 2	41 ± 3	16 ± 9	6 ± 2	6 ± 1
	5000	-	5 ± 2	43 ± 2	11 ± 4	3 ± 2	4 ± 0
2-NF	1.0	-	267 ± 21				
Sodium azide	2.0	-		978 ± 46	597 ± 86		
ICR-191	2.0	-				1488 ± 199	
4NQO	1.0	-					230 ± 16

Each value represents mean ± S.D.

2-AA, 2-Aminoanthracene; 2-NF, 2-Nitrofluorene; ICR-191, 2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine · HCl; 4NQO, 4-nitroquinoline-N-oxide.

<sup>a)</sup>The concentration of 2-AA at the WP2<sub>uvrA</sub> strain: 25.0 µg/ml.

**Table 3.** Initial chromosome aberrations test results of CJ-11555

Compound	Dose (µg/ml)	S9 mix	Time (hr) <sup>1)</sup>	Endoreduplicated cells	Polyploid cells	No. of structural aberration <sup>2)</sup>					Aberrated cells (%) <sup>3)</sup>	
						Gaps	Simple breaks	chte	chre	mab	TA (-g)	TA (+g)
Vehicle control	0	+		0.0	0.0	0.5					0.0	0.5
CJ-11555	6.92	+	3	0.5	0.0	2.0					0.0	2.0
	9.89	+		1.0	0.0	1.0	0.5				0.5	1.5
	14.1	+		0.0	0.0	4.0	1.0				1.0	5.0
	28.8	+		0.0	0.0	1.0					0.0	1.0
	CP	7.5		+	0.5	0.0	3.0	30.0	12.0	4.0		42.0*
Vehicle control		-		0.0	0.0	1.0					0.0	1.0
CJ-11555	9.89	-	3	0.0	0.0	1.0			0.5		0.5	1.0
	14.1	-		0.0	2.0	1.0					0.0	1.0
	20.2	-		0.5	0.0	2.0					0.0	2.0
	28.8	-		0.0	0.0	1.0					0.0	1.0
MMC	0.750	-		0.0	0.5	3.0	34.0	20.0	3.0	7.0	53.0*	55.0*

100 metaphases were analyzed for each dose.

MMC, Mytomycin C; CP, Cyclophosphamide.

<sup>1)</sup>Treatment time.

<sup>2)</sup>chte: chromatid exchange, chre: chromosome exchange, mab: multiple aberrations, greater than 4 aberrations.

<sup>3)</sup>-g, number or % of cells with chromosome aberrations; +g, number or % of cells with chromosome aberrations + number or % of cells with gaps.

\*Significantly greater than the corresponding vehicle control,  $p \leq 0.01$ .

**Table 4.** Confirmatory chromosome aberrations test results of CJ-11555

Compound	Dose (µg/ml)	S9 mix	Time (hr) <sup>1)</sup>	Endoreduplicated cells	Polyploid cells	No. of structural aberration <sup>2)</sup>					Aberrated cells (%) <sup>3)</sup>	
						Gaps	Simple breaks	chte	chre	mab	TA (-g)	TA (+g)
Vehicle control		+		0.5	3.0		1.0		0.5		1.5	1.5
CJ-11555	5.00	+	3	0.0	2.0	0.5	1.0				1.0	1.5
	10.0	+		0.5	3.0	1.5					0.0	1.5
	15.0	+		0.0	3.0	1.5	1.5		0.5		2.0	3.5
CP	7.5	+		0.5	2.0	5.0	38.0	41.0	4.0	2.0	62.0*	63.0*
Vehicle control		-		0.5	3.5						0.0	0.0
CJ-11555	7.5	-	17.75	0.0	1.5						0.0	0.0
	10.0	-		0.0	1.5	0.5					0.0	0.5
	15.0	-		0.5	2.0	1.5	1.0				1.0	2.5
	22.5	-		0.0	2.0	1.0			0.5	0.5	1.0	2.0
MMC	0.20	-		0.0	3.0	6.0	34.0	34.0	2.0		55.0*	60.0*

100 metaphases were analyzed for each dose.

MMC, Mytomycin C; CP, Cyclophosphamide.

<sup>1)</sup>Treatment time.

<sup>2)</sup>chte: chromatid exchange, chre: chromosome exchange, mab: multiple aberrations, greater than 4 aberrations.

<sup>3)</sup>-g, number or % of cells with chromosome aberrations; +g, number or % of cells with chromosome aberrations + number or % of cells with gaps.

\*Significantly greater than the corresponding vehicle control,  $p \leq 0.01$ .

5.00, 10.0 및 15.0 µg/ml의 농도에서 확인 시험을 실시한 결과 모든 투여군에서 통계적으로 유의한 염색체의 구조적 이상 및 수적 이상(polyploid와 endoreduplication)이 관찰되지 않았다(Table 4).

결론적으로 CJ-11555는 CHO cell을 이용한 염색체 이상 시험에서 염색체 이상을 유발하지 않음을 알 수 있었다.

#### 소핵시험

용량 결정 시험에서 2000 mg/kg을 최고 용량으로 설정하여 시험한 결과 사망 개체가 나타나지 않아 본 시험은 500, 1000 및 2000 mg/kg의 용량에서 시험을 실시하였다. CJ-11555는 모든 투여군에서 유의성 있는 소핵 유발이 관찰되지 않았으며 골수중식억제를 일으키는 등의 세포독성을 일으키지 않았다(Table 5).

**Table 5.** *In vivo* rat micronucleus test results of CJ-11555

Compound	Dose (mg/kg)	Harvest time (hr)	MNPCE	PCE/(PCE + NCE)	
			Mean ± S.E. (%)	Mean ± S.E.	
Vehicle	CMC	24	0.08 ± 0.04	1.00 ± 0.08	
		48	0.05 ± 0.02	0.94 ± 0.12	
CP	60	24	4.49 ± 0.33*	1.03 ± 0.13	
CJ-11555	500	24	0.07 ± 0.03	0.99 ± 0.07	
		1000	24	0.05 ± 0.02	0.80 ± 0.11
		2000	24	0.05 ± 0.03	0.92 ± 0.20
		48	0.03 ± 0.02	0.98 ± 0.10	

CP, cyclophosphamide; CMC, 0.5% aqueous carboxymethyl-cellulose; PCE, polychromatic erythrocyte; NCE, normochromatic erythrocyte.

\*Significantly greater than the corresponding vehicle control,  $p \leq 0.01$ .

결론적으로 CJ-11555는 본 시험계에서 소핵을 유발하지 않았다.

### 감사의 글

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

### 참고문헌

- Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, **31**, 347-364.
- Ansher, S. (1985): The chemotherapy of schistosomiasis. *Ann. Rev. Pharmacol.*, **25**, 485-508.
- Beers, M.H. and Berkow, R. (1999): The Merck manual of

- diagnosis and therapy, 17th edition. (Accessed on-line).
- Green, M.H.L. and Muriel, W.J. (1976): Mutagen testing using *trp*<sup>+</sup> reversion in *Escherichia coli*. *Mutation Research*, **38**, 3-32.
- Kang, K.W., Kim, Y.G., Cho, M.K., Bae, S.K., Kim, C.W., Lee, M.G. and Kim, S.G. (2002): Oltipraz regenerates cirrhotic liver through CCAAT/enhancer binding protein-mediated stellate cell inactivation. *The FASEB Journal*, **16**, 1988-1990.
- Klensler, T.W. and Helzlsouer, K.J. (1995): Oltipraz : clinical opportunities for cancer chemoprevention. *J. Cell Biochem Suppl. P.* **22**, 101-107.
- 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.
- OECD (1997): OECD guideline for the testing of chemicals, Documents 471, Genetic Toxicology: Bacterial Reverse Mutation Test, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- OECD (1997): OECD guideline for the testing of chemicals, Documents 473, Genetic Toxicology: *In vitro* Mammalian Chromosomal Aberration Test, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- OECD (1997): OECD guideline for the testing of chemicals, Documents 474, Genetic Toxicology: Mammalian Erythrocyte Micronucleus test, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, France.
- Thakur, A.J., Bery, K.J. and Mielke, P.W., Jr. (1985): A FORTRAN program for testing trend and homogeneity in proportions. *Computer Programs in Biomedicine*, **19**, 229-233.
- Wattenberg, L.W. (1985): Chemoprevention of cancer. *Cancer Res.*, **45**, 1-8.
- Wattenberg, L.W. and Bueding, E. (1986): Inhibitory effects of 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione (Oltipraz) on carcinogenesis induced by benzo[a]pyren, diethylnitrosamine and uracil mustard. *Carcinogenesis*, **7**, 1379-1381.