

DA-3030(recombinant human granulocyte colony-stimulating factor)의 정맥, 근육 또는 피하주사시 실험동물에서의 약물동력학 및 조직 분포

이응두* · 심현주 · 이종진 · 이상득 · 강수형 · 김원배 · 양중익
동아제약(주) 연구소

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of DA-3030 (recombinant human granulocyte colony-stimulating factor) after Intravenous, Intramuscular or Subcutaneous Administrations to the Laboratory Animals.

Eung Doo LEE*, Hyun Joo SHIM, Jong Jin LEE, Sang Deuk LEE
Soo Hyung KANG, Won Bae KIM and Junnick YANG

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co. Ltd.,
47-5, Sanggal-li, Kiheung-Up, Yongin-Gun, Kyunggi-Do, 449-900, Korea

(Received October 21, 1994; accepted November 30, 1994)

Abstract—The pharmacokinetics and tissue distribution of DA-3030 (recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, rhG-CSF, recently manufactured by Dong-A research laboratory of Dong-A Pharmaceutical Company) were compared with reported data in the literature. After intravenous(i.v.) administration of DA-3030, at dose of 5, 10 and 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to rats, some pharmacokinetic parameters, such as terminal half-lives(1.05, 1.19 and 1.83 hr, respectively) and clearance (84.0, 54.8 and 45.5 ml/hr/kg, respectively), were dose-dependent. This could be due to the saturable metabolism of DA-3030 in rats. Similar results were also reported. After subcutaneous(s.c.) and intramuscular(i.m.) administrations of DA-3030, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to rats, the extent of bioavailability(absolute bioavailability) were incomplete; the values were 23.3 and 18.2% after s.c. and i.m. injections, respectively, due to the degradation of DA-3030 by protease. After 7-consecutive day i.v. administrations of DA-3030, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$, to rats, the plasma concentrations and pharmacokinetic parameters of DA-3030 were not significantly different from those in single administration. In mice and dogs at DA-3030 dose of 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the plasma concentrations of DA-3030 were also declined rapidly with terminal half-lives of 1.31 and 1.15 hr, respectively. DA-3030 was highly concentrated in the kidney after i.v. administration of DA-3030, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, to rats, and the results were similar to those obtained using radiolabelled rhG-CSF in the literature. Above data indicate that DA-3030 has similar properties to rhG-CSF manufactured by other companies in view of pharmacokinetics.

Keywords □ DA-3030, recombinant human granulocyte colony-stimulating factor, pharmacokinetics, tissue distribution.

DA-3030은 최근 동아제약(주) 연구소에서 대장균 발현계를 이용하여 생산한 유전자 재조합 인과립구 콜로니 자극인자(recombinant human granulocyte colony stimulating factor, rhG-CSF)이다. 콜로니 자극인자(CSF)는

산성의 당단백으로서 hematopoietic progenitor cell의 생존, 분열 및 분화에 필수적인 요소이다(Burgess and Metcalf, 1980; Metcalf, 1984; Begley 등, 1985; Metcalf, 1986). G-CSF는 bone marrow precursor cell의 granulocyte colony로의 분열 및 분화를 촉진시키는 인자로 확인되었다(Nicola 등, 1986).

* To whom correspondence should be addressed.

hG-CSF는 human bladder carcinoma cell line 5637로부터 처음으로 분리되었고 hG-CSF를 발현하는 유전자의 complementary DNA를 동물 세포, 효모 세포 및 박테리아 세포에서 발현시켜 rhG-CSF를 얻을 수 있다 (Souza 등, 1986). 이때 발현시킨 세포의 종류에 따라 단백질의 glycosylation이 일어나는 정도가 다른데, 대장균과 같은 박테리아 세포에서는 단백질의 glycosylation이 되지 않으므로 발현시킨 rhG-CSF는 당이 없는 단백질이며 (Petros, 1992), 화학요법이나 방사선 조사에 의한 과립구 감소증의 예방 및 치료를 목적으로 사용되고 있다. DA-3030은 일본 Kirin사의 대장균 발현계와 같은 방법으로 제조하였으나 숙주-벡터계가 다른 재조합 발현 방법으로 생산되었다.

본 연구에서는 기존의 rhG-CSF와는 다른 숙주-벡터계를 사용한 유전자 재조합 방법으로 제조한 DA-3030에 대하여 rat, mouse 및 dog에서의 약물속도 정수를 기존의 rhG-CSF에 대한 정수와 비교하였다. 또한 rat에서의 용량 의존성과 투여 경로별 약물동력학 그리고 단회 및 반복간 약물동력학의 차이를 평가하고 조직 분포를 측정하였다.

실험방법

동물

용성 Sprague-Dawley rat 및 ICR mouse는 Charles River Co.(Atsugi, Japan)에서 구입하였고, Beagle dog은 유한양행(주) 중앙연구소에서 분양받아 사용하였으며, 실험전 1주일동안 물과 사료를 자유롭게 섭취하게 하였다. Rat는 체중 240~280 g의 7~8주령을, mouse는 체중 18~22 g의 6주령을, 그리고 Beagle dog은 13~15 kg의 2년령을 사용하였다.

시약 및 재료

동아제약(주) 연구소에서 생산한 DA-3030(1.5 mg/ml)을 5% mannitol 및 0.004% Tween 80을 함유하는 10 mM sodium acetate buffer(pH 4.0)에 희석하여 사용하였다. 다른 모든 시약은 특급 시약을 사용하였다. rhG-CSF의 정량에 사용한 ELISA kit(Quntikine™)는 R&D system(Mckinley Place N.E. Minneapolis, MI. U.S.A.)으로부터, rat실험에 사용한 polyethylene tubing(PE-45)은 Clay Adams(Parsippany, NY, U.S.A.)로부터 구입하여 사용하였다.

Rat, mouse 및 dog에서의 혈장 농도

Rat에서 투여 경로별 혈장 농도의 차이를 살펴보기 위하여 DA-3030, 10 µg/kg을 각각 i.v., i.m. 및 s.c. 투여군으로 나누어 투여하였고, 투여 용량 의존성을 관찰하기 위하여 따로 DA-3030, 5 및 100 µg/kg을 정맥을 통하여 투여하였다. 정맥 투여시는 rat를 ether로 가볍게 마취한 후 대퇴 정맥에 polyethylene tube를 삽입하고, rat가 마취에서 완전히 회복된 후 tube를 통하여 약물을

투입하고 10 units/ml의 heparin(in saline) 용액으로 tube에 남아있는 약물을 완전히 rat의 정맥속으로 주입하였다. 근육 및 피하 주사시는 대퇴 근육 및 피하에 직접 주사하였다. Rat의 대퇴 동맥에 미리 삽입한 cannula로부터 약물 투여전 및 투여후 5, 15, 30분 및 1, 2, 4, 6 및 8 시간에 혈액 250 µl씩을 채혈하였다. 반복 투여 실험에서는 rat의 꼬리 정맥을 통하여 6 일간 DA-3030, 10 µg/kg씩을 투여하고, 7일째에 rat의 단회 투여시와 동일한 방법으로 약물을 투여한 후 혈액을 채취하였다. Mouse 실험에서는 DA-3030, 10 µg/kg을 꼬리 정맥내에 투여한 후 안저(orbital plexus)로부터 채혈하였으며, dog실험에서는 DA-3030, 10 µg/kg을 왼쪽 상완 정맥을 통해 투여하고 오른쪽 상완 정맥에서 채혈하였다. Mouse 및 dog 실험에서의 채혈시간 및 채혈량은 rat 실험에서와 같게 하였고, 채취한 혈액은 즉시 10,000 g에서 2분간 원심분리한 후 혈장 100 µl를 취하여 정량시까지 -20 °C에 냉동보관하였으며, 혈장중 DA-3030의 농도는 Quntikine kit 정량법에 따라 정량하였다.

Rat에서의 조직 분포

Rat에 DA-3030, 10 µg/kg을 꼬리 정맥을 통하여 주사한 다음 0.5, 2, 8 및 24 시간에 각각 실험치사시켰다. Liver, lung, kidney, spleen, heart 및 muscle을 적출하여 적출한 조직 무게의 4배에 해당하는 phosphate buffer (pH 7.4)를 가한후 homogenize하였다. Homogenize한 액을 10,000 g에서 2분간 원심 분리한 후 얻은 상층액을 정량전까지 -20°C에 냉동 보관하였다. 정량 방법은 혈장 시료와 동일한 방법을 사용하였다.

정량법

Quntikine kit에 포함된 microtiter plate에 혈장 또는 tissue homogenate 상층액 100 µl 및 RD1A assay diluent 100 µl를 넣은 다음 2시간 동안 방치하였다. 방치후 microtiter plate내를 wash buffer로 세척하고 200 µl의 G-CSF conjugate를 넣은 다음 2시간 방치하였다. 다시 microtiter plate내를 세척하고 용시 조절한 color A 및 color B 혼합액(1:1) 200 µl를 넣고 20분 방치후 stop solution 50 µl를 넣고 450 nm에서 optical density를 측정하였다. 본 정량법의 정량한계는 0.02 ng/ml이었고, CV (%)는 평균 5% 내외였다.

약물동력학적 해석

시간 0에서 무한대까지 DA-3030의 혈장중 농도-시간 곡선하 면적(AUC) 및 area under the first moment of the plasma concentration-time curve(AUMC)는 trapezoidal rule-extrapolation method에 의해 구하였다. 이 방법은 혈장중 농도가 감소하는 동안에는 logarithmic trapezoidal rule을, 증가하는 동안에는 linear trapezoidal rule을 사용한다. 마지막 혈액 채취시간부터 무한대까지의 면적은 상법에 의하여 계산하였다. 정맥 주사후 time-averaged total body clearance(CL), mean residence time(MRT), apparent volume of distribution at steady

state(V_{ss}) 및 extent of bioavailability(F)는 다음식에 의하여 구하였다(Gibaldi and Perrier, 1982; Yoon 등, 1992).

$$CL = \frac{\text{Dose}}{\text{AUC}} \quad (1)$$

$$\text{AUMC} = \int_0^{\infty} C_p \times t \, dt \quad (2)$$

$$\text{MRT} = \frac{\text{AUMC}}{\text{AUC}} \quad (3)$$

$$V_{ss} = CL \times \text{MRT} \quad (4)$$

$$F = \frac{\text{AUC}_{i.m. \text{ or } s.c.} \times \text{CL}_{i.m. \text{ or } s.c.}}{\text{AUC}_{i.v.} \times \text{CL}_{i.v.}}$$

($CL = k_{last} \cdot V_{d\beta}$, if $V_{d\beta}$ is constant between studies,

$$k_{last} = \frac{0.693}{t_{1/2}})$$

$$= \frac{\text{AUC}_{i.m. \text{ or } s.c.} \times t_{1/2 \text{ i.v.}}}{\text{AUC}_{i.v.} \times t_{1/2 \text{ s.c. or i.m.}}} \quad (5)$$

여기서 C_p 는 시간 t 에서의 DA-3030의 혈장 농도, k_{last} 는 terminal phase의 rate constant, $V_{d\beta}$ 는 volume of distribution by area, 그리고 $t_{1/2}$ 은 terminal phase의 half-life이다. $t_{1/2}$ 과 CL , V_{ss} 의 평균은 조화 평균 방법으로 산출하였다(Chiou, 1979).

통계분석

Unpaired data의 평균간에 t-test를 사용하여 통계 처리하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 으로 판단하였다.

실험결과 및 고찰

DA-3030, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 mouse, rat 및 dog에 정맥 투여하였을 경우 평균 혈장 농도-시간 추이는 Fig. 1에 있고 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table I에 있다. 정맥 주사후 mouse와 rat에서의 혈장 농도는 polyexponential하게 감소하였으나, dog에서는 monoexponential하게

감소하였다(Fig. 1). Mouse와 rat에서의 DA-3030의 약물속도 정수 즉, AUC(186 vs $182 \pm 58.2 \text{ ng hr/ml}$), AUMC(224 vs $181 \pm 78.2 \text{ ng hr}^2/\text{ml}$), MRT(1.21 vs $0.968 \pm 0.127 \text{ hr}$), CL(53.9 vs $54.8 \pm 23.4 \text{ ml/hr/kg}$), V_{ss} (65.0 vs $53.6 \pm 17.8 \text{ ml/kg}$) 및 terminal $t_{1/2}$ (1.31 vs $1.19 \pm 0.186 \text{ hr}$)는 유사하게 나타났으나, dog에서의 약물속도 정수중 AUC($322 \pm 42.0 \text{ ng hr/ml}$)는 rat에 비해 유의적 차이가 나타났으며 CL ($31.0 \pm 4.16 \text{ ml/hr/kg}$)와 V_{ss} ($45.8 \pm 0.854 \text{ ml/kg}$)도 유의적 차이는 없었으나 감소하는 경향을 나타내었다. CL와 V_{ss} 에서 유의적 차이가 나타나지 않은 것은 사용한 동물의 수가 적었기 때문이라 생각된다. 뇨중으로 배설된 DA-3030의 양은 실험한 모든 동물에서 ELISA assay의 검출 한계 이하로 나타났다. Interferon, human growth hormon, GM-CSF, G-CSF 및 CSF와 같은 분자량이 작은 단백질은 거의 모두가 glomerulus를 통해 여과되고, renal tubule에서 재흡수되며, 재흡수 과정중에 대사되고 나머지 일부는 간에서도 대사된다고 알려져 있다(Maack 등, 1979). 본 실험에서 rat는 동맥 혈장 농도, mouse 및 dog에서는 정맥 혈장 농도를 측정하였다. 따라서 DA-3030의 동맥 및 정맥 혈장 농도

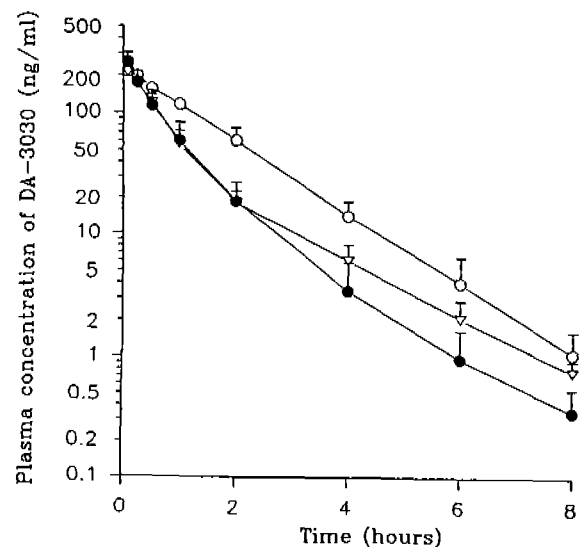


Fig. 1. Mean plasma concentration-time profiles of DA-3030 after intravenous administration of 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to rats(●, n=5) mice(▽, n=5, each) and dogs (○, n=3)

Table I. Mean (\pm standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3030 after intravenous administration of 10 mg/kg to mice (n=5), rats (n=5) and dogs (n=3).

Animal	AUC (ng hr/ml)	AUMC (ng hr ² /ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V_{ss} (ml/kg)	terminal $t_{1/2}$ (hr)
mice ^a	186	224	1.21	53.9	65.0	1.31
rats	182 ± 58.2	181 ± 78.2	0.968 ± 0.127	54.8 ± 23.4	53.6 ± 17.8	1.19 ± 0.186
dogs	$322 \pm 42.0^*$	483 ± 132	1.48 ± 0.217	31.0 ± 4.16	45.8 ± 0.854	1.15 ± 0.0954

^a5 mice were sacrificed at each blood sampling time. Only mean values are listed. *The mean AUC in dog was significantly different ($p < 0.05$) from that in rats.

차이는 거의 없다고 가정하였다(Chiou, 1989).

DA-3030, 5, 10 및 100 µg/kg을 rat에 정맥 투여하였을 때의 평균 동맥 혈장 농도-시간 추이는 Fig. 2에 있고 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table II에 있다. 정맥 투여후 동맥 혈장 농도는 모든 투여 용량에서 polyexponential하게 감소하였다. 100 µg/kg에서 terminal phase에서의 t_{1/2}는 5 및 10 µg/kg에 비해서(1.05±0.109, 1.19±0.186 vs 1.83±0.0965 hr) 통계적으로 유의성 있게 증가하였으며, 그 결과 100 µg/kg에서 CL(84.0, 54.8 vs 45.5 ml/hr/kg)는 5 및 10 µg/kg에 비해서 통계적으로 유의성 있게 감소하였다. 이러한 현상은 투여 용량의 증가에 따른 대사 포화 현상에 기인한 것으로 생각된다. 전술한 바와 같이 DA-3030의 CL는 nonrenal CL, 즉 metabolic CL와 거의 같기 때문에 투여 용량을 증가시킴에 따라 대사포화현상에 의해 CL가 감소하는 것으로 생각된다. 투여 용량의 증가에 따라 t_{1/2}가 증가하는 현상을 나타내었기 때문에 MRT(0.820, 0.968 vs 1.15 hr)도 투여 용량이 증가함에 따라 증가하였다. 그러나 V_{ss}는 투여 용량 의존성이 없는 것으로 나타났다. 따라서 100 µg/kg에서 CL의 유의성 있는 감소는 t_{1/2}의 유의성 있는 증가 때문

이라 생각된다. 왜냐하면 V_{ss}가 용량에 관계없이 일정하기 때문이다. rhG-CSF, 1, 5, 10 및 100 µg/kg을 rat에 정맥 투여하였을 때 t_{1/2}는 용량 의존성을 V_{ss}는 비용량 의존성을 나타낸다고 보고된 바가 있다(Tanaka and Tokiwa, 1990). 따라서 동아제약에서 제조한 DA-3030의 약물속도 정수들은 이미 발표된(Tanaka and Tokiwa, 1990) rhG-CSF의 약물속도 정수와 비슷하다고 생각된다.

DA-3030, 10 µg/kg을 rat에 정맥, 피하 및 근육 주사시 평균 혈장 농도-시간 추이는 Fig. 3에 있고 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table III에 있다. 피하 및 근육 주사시 혈장 농도는 신속히 증가하다가 투여후 2시간에 최대치를 나타내었으며, 이후 정맥 투여에 비해 서서히 감소하였다. 이러한 결과는 DA-3030이 신속히 흡수됨과 동시에 지속적으로 흡수되기 때문인 것으로 생각되며 피하(2.86 hr) 및 근육(3.16 hr) 투여시 t_{1/2}가 정맥(1.19 hr) 투여시보다 통계적으로 유의성 있게 증가한 것은 피하 또는 근육 투여된 DA-3030이 최고 혈중 농도를 나타낸 2시간 이후에도 계속 흡수되기 때문이라 생각된다. 전술한 정맥 투여 실험에서(Table II) DA-3030의 약물속도 정

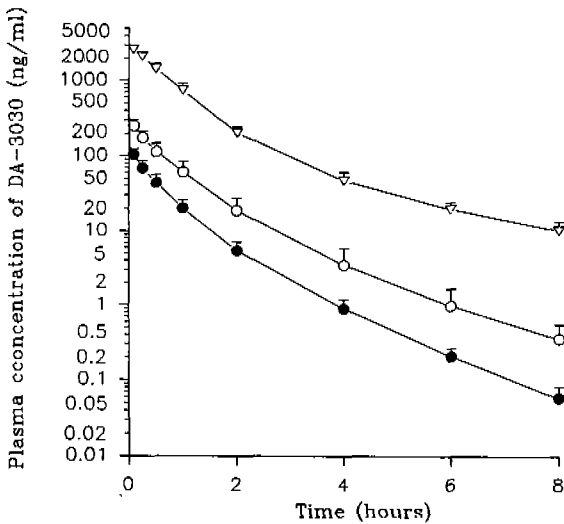


Fig. 2. Mean arterial plasma concentration-time profiles of DA-3030 after intravenous administration of 5(●), 10(○) and 100 µg/kg(▽) to rats(n=5, each).

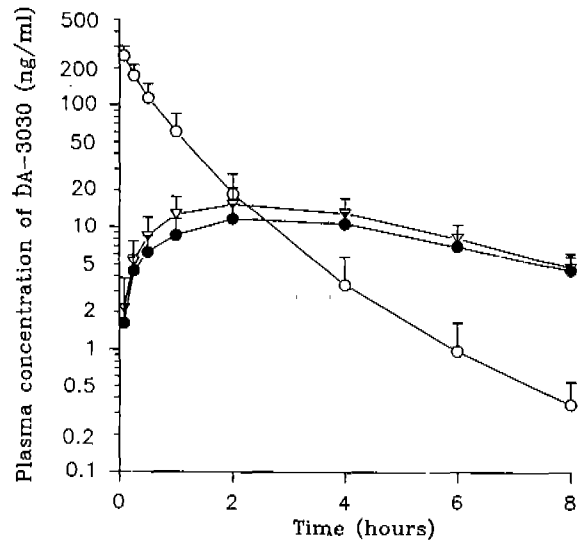


Fig. 3. Mean arterial plasma concentration-time profiles of DA-3030 after intravenous(○, n=5), subcutaneous(▽, n=5) and intramuscular(●, n=4) administration of 10 µg/kg to rats.

Table II. Mean (± standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3030 after intravenous administration of 5, 10 and 100 µg/kg to rats. (n=5)

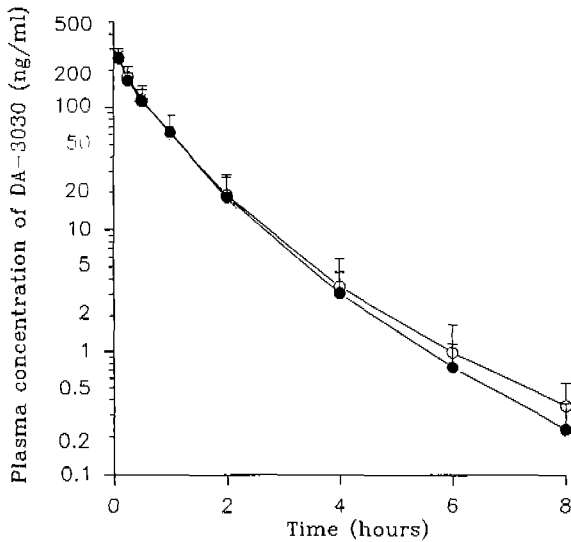
Dose (µg/kg)	AUC (ng hr/ml)	AUMC (ng hr ² /ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V _{ss} (ml/kg)	Terminal t _{1/2} (hr)
5	59.5±18.2	49.0±16.8	0.820±0.0528	84.0±20.1	69.1±16.0	1.05±0.109
10	182±58.2	181±78.2	0.968±0.127	54.8±23.4	53.6±17.8	1.19±0.186
100	2200±331	2530±538	1.15±0.0829**	45.5±7.13*	52.2±6.19	1.83±0.0965***

*The mean CL at 100 µg/kg was significantly different (p<0.05) compared with 5 µg/kg. **The mean MRT at 100 µg/kg was significantly different (p<0.01) compared with 5 and 10 µg/kg. ***The mean t_{1/2} at 100 µg/kg was significantly different (p<0.001) compared with 5 and 10 µg/kg.

Table III. Mean (\pm standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3030 after intravenous ($n=5$), subcutaneous ($n=5$) and intramuscular ($n=4$) administration of $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ to rats.

Route	AUC (ng hr/ml)	AUMC (ng hr ² /ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V _{ss} (ml/kg)	Terminal t _{1/2} (hr)
i.v.	182 \pm 58.2	181 \pm 78.2	0.968 \pm 0.127	54.8 \pm 23.4	53.6 \pm 17.8	1.19 \pm 0.186
s.c.	102 \pm 27.9	549 \pm 162	5.45 \pm 1.10	97.8 \pm 28.9	508 \pm 239	2.86 \pm 0.902*
i.m.	88.1 \pm 18.1	529 \pm 205	5.91 \pm 1.36	114 \pm 27.4	656 \pm 145	3.16 \pm 0.690*

*The mean t_{1/2} after i.v. administration was significantly smaller ($p<0.05$) than those after s.c. and i.m. administrations.

**Fig. 4.** Mean arterial plasma concentration-time profiles of DA-3030 after single (○, $n=5$) and 7-consecutive day (●, $n=5$) i.v. administrations at a daily dose of $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ to rats.

수는 용량 의존성을 나타내었으므로 피하 및 근육 주사시의 생체내 이용율(extent of bioavailability)은 식(5)를 이용하여 계산하였으며, 그 값은 각각 23.3 및 18.2%로 나타났다. 본 실험에서 rhG-CSF의 용량 의존성을 고려하지 않은 경우의 피하 및 근육 주사시 생체내 이용율은 각각 56.0 및 48.4%로 기보고된 결과 즉 50.9~70.4% 및 67.4%(Tanaka 등, 1989; Tanaka and Tokiwa, 1990; Tanaka and Kaneko, 1991a and 1991b; Tanaka and Kaneko, 1992a and 1992b)와 유사하였으나 rhG-CSF의 CL는 용량 의존성을 나타내었으므로 생체내 이용율의 계산에는 반드시 용량 의존성을 고려하여야만 한다. 피하 및 근육 주사시 생체내 이용율이 적게 나타난 까닭은 DA-3030이 근육 및 피하 주사 부위의 protease에 의해

분해되기 때문이라 생각되며, 이는 이미 보고된 바 있다 (Petros, 1992).

DA-3030, $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 을 단회 및 7일간 반복 투여시의 평균 동맥 혈장 농도-시간 추이는 Fig. 4에 있고 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table IV에 있다. 단회 투여시와 반복 투여시 혈장 농도 및 약물속도 정수는 통계적으로 유의차가 없었다. 이러한 결과는 rhG-CSF, $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 을 rat에 정맥투여시 AUC 및 CL가 단회 및 반복 투여군간에 통계적으로 유의성 있는 차이(118 ± 13 vs 97.6 ± 9.2 g hr/ml and 42.7 ± 4.9 vs 51.6 ± 5.2 ml/hr/kg)를 나타낸다는 보고 (Tanaka and Kaneko, 1991a)와는 다른 것으로서 그 이유는 명확하지 않으나, 보고에서도 그 차이는 적었고 Table II에서와 같이 DA-3030의 약물속도 정수가 용량 의존성을 나타내었으므로 두 실험간의 다른 결과는 투여용량의 차이(5 and $10 \mu\text{g}/\text{kg}$)등에 기인한 것으로 생각된다.

DA-3030, $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 을 정맥 투여하였을 때의 조직 분포 결과는 Table V에 있다. DA-3030의 조직중 농도는 투여후 30분에 2시간 및 8시간에 비해 실험한 모든 조직에서 최고치를 나타내었으며, 이후 신속히 감소하였다. 신장을 제외한 모든 조직에서의 T/P ratio는 1보다 작게 나타났으며, 이는 DA-3030의 조직과의 친화력이 약하다는 것을 나타낸다. 이는 DA-3030의 V_{ss} 값($52.2 \sim 69.1$ ml/kg)이 적게 나타난 결과 (Table II)와 일치한다. 투여후 30분에서의 신장에서의 T/P ratio는 1.30으로 모든 조직중에서 가장 큰 값을 나타내었으며, 이는 DA-3030이 신장의 glomerulus에서 여과되고 renal tubule에서 재흡수되는 사실(Maack 등, 1979)로 예측할 수 있다. ¹²⁵I-rhG-CSF, $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 을 rat에 투여한 후, 0.5 및 2시간에 갑상선 및 신장에서의 농도가 혈청보다 높다는 보고 (Kinoshita 등, 1990)가 있었는데, 신장에서 높은 농도가 관찰된 것은 본 실험과 일치하였고 다만 본 실험에서

Table IV. Mean (\pm standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3030 after single and 7-consecutive day i.v. administrations at a daily dose of $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ to rats/ ($n=5$, each)

Route	AUC (ng hr/ml)	AUMC (ng hr ² /ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V _{ss} (ml/kg)	Terminal t _{1/2} (hr)
single	182 \pm 58.2	181 \pm 78.2	0.968 \pm 0.127	54.8 \pm 23.4	53.6 \pm 17.8	1.19 \pm 0.186
repeated	184 \pm 42.7	181 \pm 58.8	0.971 \pm 0.0832	54.3 \pm 11.2	53.1 \pm 7.88	1.08 \pm 0.0332

They were not significantly different ($p<0.05$).

Table V. Mean(\pm standard deviation) amount(ng/g tissue) of DA-3030 remaining in each tissue after i.v. administration of 10 μ g/kg to rats(n=5). The numbers in parenthesis represent tissue to plasma ratio.

Tissue	30 min	2 hr	8 hr
Liver	8.90 \pm 1.24 (0.0912 \pm 0.0234)	2.22 \pm 0.703 (0.118 \pm 0.0235)	0.391 \pm 0.0935 (0.864 \pm 0.354)
Lung	33.1 \pm 3.00 (0.337 \pm 0.0630)	9.95 \pm 2.03 (0.549 \pm 0.128)	0.764 \pm 0.132 (1.61 \pm 0.182)
Heart	25.1 \pm 2.83 (0.225 \pm 0.0475)	7.19 \pm 1.41 (0.396 \pm 0.0853)	0.131 \pm 0.106 (0.304 \pm 0.274)
Kidney	129 \pm 36.8 (1.30 \pm 0.356)	32.5 \pm 13.3 (1.78 \pm 0.727)	0.810 \pm 0.370 (1.76 \pm 0.989)
Spleen	9.70 \pm 1.94 (0.0970 \pm 0.0145)	1.02 \pm 0.617 (0.0519 \pm 0.0180)	0.378 \pm 0.431 (0.798 \pm 0.902)
Muscle	5.38 \pm 1.94 (0.0559 \pm 0.0252)	2.98 \pm 1.09 (0.169 \pm 0.0801)	0.288 \pm 0.0576 (0.630 \pm 0.201)
Serum	99.8 \pm 11.8	18.6 \pm 4.79	0.477 \pm 0.0815

취하지 않은 갑상선에서의 농도가 높게 나타난 것은 방사성 요오드로 표지된 rhG-CSF를 투여하였기 때문이라 생각된다.

참고문헌

- Burgess, A. W. and Metcalf, D. (1980). The nature and action of granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Blood*. **56**, 947-958.
- Begley, C. G., Metcalf, D., Lopez, A. F. and Nicola, N. A. (1985). Fractionate populations of normal human marrow cells respond to both human colony-stimulating factors with granulocyte-macrophage activity. *Exp. Hematol.* **13**, 956-962.
- Chiou, W. L. (1979). New calculation method for mean apparent drug volume of distribution and application to rational regimen. *J. Pharm. Sci.* **68**, 1067-1069.
- Chiou, W. L. (1989). The phenomenon and rationale of marked dependence of drug concentration on blood sampling site: Implication in pharmacokinetics, pharmacodynamics, toxicology and therapeutics(part I and II). *Clin. Pharmacokinetics*. **17**, 175-199 and 275-290.
- Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982). *Pharmacokinetics*, 2nd Edn., Marcel-Dekker, New York.
- Kinoshita, H., Ichihara, T., Amano, J., Oh-ishi, N. and Okazaki A. (1990). Metabolic fate of rG-CSF(3): Tissue distribution of ¹²⁵I-rG-CSF in rats. *Jpn. Pharmacol. Ther.* 18/suppl. 9, 459-469.
- Maack, T., Johnson, V., Kau, S. T., Figueiredo, J. and Sigulem, D. (1979). Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular weight proteins: A review. *Kidney Int.* **16**, 251-270.
- Metcalf, D. (1984). *The hemopoietic colony stimulating factors*. Elsevier., Amsterdam.
- Metcalf, D. (1986). The molecular biology and function of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood*. **67**, 257-267.
- Nicola, N. A., Metcalf, D., Matsumoto, M. and Johnson, G. R. (1983) Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells: Identification as a granulocyte colony-stimulating factors(G-CSF). *J. Biol. Chem.* **258**, 9017-9023.
- Petros, W. P. (1992). Pharmacokinetics and administration of colony-stimulating factors. *Pharmacotherapy*. **12**, 33S-38S.
- Souza, L. M., Boone, T. C., Gabrilove, J., Lai, P. H., Zsebo, K. M., Murdock, D. C., Chazin, V. R., Bruszewski, J., Lu, H., Chen, K. K., Barendt, J., Platzer, E., Moore, M. A. S., Mertelsmann, R. and Welte, K. (1986). Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: Effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science*. **232**, 61-65.
- Tanaka, H., Okada, Y., Kawagishi, M. and Tokiwa, T. (1989). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human granulocyte-colony stimulating factor after intravenous and subcutaneous administration in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **251**, 1199-1203.
- Tanaka, H. and Kaneko, T. (1991a). Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in the rat: Single and multiple dosing studies. *Drug Metab. Dispos.* **19**, 200-204.
- Tanaka, H. and Kaneko, T. (1991b). Sex differences in the pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in the rat. *Drug Metab. Dispos.* **19**, 1034-1039.
- Tanaka, H. and Kaneko, H. (1992a). Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparisons between human granulocyte colony-stimulating factor purified from human bladder carcinoma cell line 5637 culture medium and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor produced in *Escherichia coli*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **262**, 439-444.
- Tanaka, H. and Kaneko, H. (1992b). Development of a competitive radioimmunoassay and a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Application to a pharmacokinetic study in rats. *J. Pharmacobio-Dyn.* **15**, 359-366.
- Tanaka, H. and Tokiwa, T. (1990). Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor studied in the rat by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **255**, 724-729.
- Yoon, E. J., Jang, H. W., Lee, M. G., Lee, H.-j., Park, M. K. and Kim, C.-K. (1992). Pharmacokinetics of methotrexate-rabbit serum albumin conjugate to rabbits. *Int. J. Pharm.* **67**, 174-184.