

## Recombinant Bovine Somatotropin의 피하주사 후 Male과 Female Rat에서 약물동태 및 조직분포

박병권, 박승춘<sup>1</sup>, 윤효인\*

충남대학교 수의과대학, <sup>1</sup>경북대학교 수의과대학  
(게재승인: 2003년 5월 28일)

## Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Recombinant Bovine Somatotropin after Subcutaneous Administration in Male and Female Rats

Byung-kwon Park, Seung-chun Park<sup>1</sup> and Hyo-in Yun\*

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University,

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

(Accepted: May 28, 2003)

**Abstract:** The purpose of this study is to investigate the pharmacokinetics and tissue distribution of recombinant bovine somatotropin (rBST) after subcutaneous administration of <sup>125</sup>I-rBST in male and female rats. A solid state conjugation (Iodo-bead<sup>®</sup>) method was confirmed useful for producing <sup>125</sup>I-rBST because the administration of the conjugated form enabled enough to determine time-concentration relationships of rBST in rats. Subcutaneous administrations showed sex differences that female ( $t_{1/2,ke}$ , 2.87 h) revealed rapid elimination as compared to male ( $t_{1/2,ke}$ , 4.81 h), with the absorption ( $t_{1/2,ka}$  in male being 0.3 h and that in female 0.75 h) in the reverse order. For subcutaneous administration of rBST in male rats, the liver was the highest in amount, followed by kidney, testes, muscle, and stomach, at the slaughtering time of 1, 6, 12 and 24 h. But the testes was the highest at the 48 h slaughtered animals, followed by liver, kidney, stomach, and muscle. In slaughtered females at 1, 6, and 12 h after the administration of rBST, the liver was the highest, followed by ovary, kidney, small intestine, and stomach. At 24 and 48 h slaughtered female rats, the ovary was the highest, the liver the second, and the kidney the third.

**Key words:** Recombinant bovine somatotropin, rats, pharmacokinetics, tissue distribution, conjugation

### 서 론

수의축산 분야에서 성장호르몬이 개발되어 실용화되고 있는데 이 호르몬은 정상적으로 동물의 뇌하수체전엽에서 분비되어 다양한 생리작용 [22, 34, 39]을 나타낼 수 있으며 특히 유·육, 난 생산 등 산업동물의 생산성을 현저하게 개선시키는 것으로 알려져 있다 [7, 17, 18, 30,

33, 35, 46]. 이 중 유전공학적인 기법에 의하여 생산되는 소 성장호르몬(recombinant bovine somatotropin: rBST)은 착유우와 비육우의 생산성을 향상시키는 것으로 알려져 있다 [2-4, 6, 8, 9, 19, 20]. 그러나 외부로부터 투여하는 rBST의 적정 용량을 산정하기 위해서는 생체에서 정확한 농도를 계량하는 측정법이 확립되어야만 경시적인 농도변화를 알 수가 있다.

\* Corresponding author: Hyo-in Yun

Division of Veterinary Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary Medicine, Chungnam National University, 220 Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea

Tel: +82-42-821-6759, Fax: +82-42-822-5780, E-mail: hiyun@cnu.ac.kr

혈중 및 조직에서 rBST를 포함한 외인성 단백질에 대한 약물동태를 수행하기 위해서는 외인성 단백질에 대한 정확한 분석이 이루어져야 하는데 HPLC (high performance liquid chromatography), GC (gas chromatography) 등으로는 기기 자체가 갖고있는 검출한계로 인하여 분석이 어렵다. 최근에는 이러한 단백질 분석을 위하여 항원-항체 반응을 이용한 ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) 기법 [15]이 응용되고 있으나 항체 생성에 많은 시간이 소요되며 또 정량적 관점에서 보완되어야 할 점이 많다고 생각된다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여 단백질에 방사성 동위원소 표지하여 단백질을 분석하는 기법이 많이 이용되고 있는데 [24, 25, 37, 38] 이 중에서 최근까지 가장 많이 사용되어 온 방법인 chloramine-T를 접합 산화제로 이용할 경우 단백질을 직접 변성시킬 수 있으며 반응 종결시에 환원제를 따로 사용하여야 하는 번거로움이 있으며 접합효율 또한 낮은 것으로 보고되어 있다 [43]. 또한 iodogen [21, 27]과 lactoperoxidase method [31]는 사용상 그 기법이 번거로워 이를 개선하기 위해 고체상 표지법인 iodo-bead method가 1982년에 개발되었으며, 이를 이용하여 *Vibrio cholerae* 표면 항원 [32], 신경배아세포종, 신경교세포종 단백 [29] 등에  $^{125}\text{I}$  표지가 보고되었다. 그러나 아직까지 고체상 접합법인 iodo-bead method를 이용하여 방사선이 표지된 성장호르몬을 radiotracing 방법에 의한 성장호르몬의 생체 내 거동을 밝히는 약물동태학적 연구는 이루어져 있지 않았다.

따라서 본 실험에서는 랫드를 이용하여 rBST의 생체 내 거동을 명확하게 하기 위하여 고체상 접합법인 iodo-bead method로 방사성 동위원소를 표지하여 랫드에게 1회 피하주사한 후 성차에 의한 혈액 및 각종 조직의 농도를 측정함으로써 약물동태학적 주요 변수 및 조직분포를 구명하여 향후 산업동물에서 약물동태 연구의 기초자료를 구하는 데 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

본 시험에 사용한 rBST은 LG화학이 제공한 것을 이용하였으며, 방사성 동위원소 표지를 위해  $^{125}\text{I-Na}$  (Amersham, U.K.)를 구입하여 사용하였다. rBST와  $^{125}\text{I}$ 를 접합시키기 위한 시약은 N-chloro-benzensulfonamide (sodium salt) derivatized non-porous polystyrene beads로 구성된 Iodo-beads<sup>®</sup> Iodination Reagent (Pierce, U.S.A.)를 사용하였다. 표지된  $^{125}\text{I-rBST}$ 는 column chromatography (PD-10 column, Pharmacia, Sweden)방법을 이용하여 분획을 확

득하였다. 방사성 동위원소의  $\gamma$ -ray activity는  $\gamma$ -ray counter (Cobra 5005, Packard, U.S.A)로 측정하였다. 노와 분은 metabolic cage (Nalgene, U.S.A)를 이용하여 분리·수거하였다.

### 실험동물

충남대학교 수의과대학 실험동물실에서 사육중인 Sprague-Dawley 랫드 수컷 21 마리 (148.1±4.5 g)와 암컷 21 마리 (140.5±7.8 g)를 실험에 공시하여 항온 (21±2°C), 항습 (55±3%) 그리고 무진, 무균의 청정 조건 하에서 충분한 순화기간을 거친 후 사육기간 및 시험기간에 이용하였다. 음수 및 실험동물용 고형사료 (천하제일)는 자유급식시켰다.

### $^{125}\text{I-rBST}$ 의 작제 및 분획의 수거

비공극성 polystyrene beads에 N-chloro-benzensulfonamide가 유도체화된 Iodo-beads<sup>®</sup> 2 개를 3 ml의 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5)로 세척한 후 여지상에서 건조시켰다 [37]. 별도로 준비된 250  $\mu\text{Ci}$   $^{125}\text{I-Na}$  (Amersham, U.K.)가 함유된 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 500  $\mu\text{l}$ 에 건조시킨 Iodo-beads<sup>®</sup>를 넣고 5 분 동안 vortex (Maxi Mix II, Thermolyne, U.S.A.)로 천천히 반응시켜 여기에 rBST 1.8 mg (500  $\mu\text{l}$ )를 첨가하여 10분 동안 반응하여 rBST와  $^{125}\text{I}$ 를 접합시켰다 [16, 26, 28, 39].  $^{125}\text{I-rBST}$  분획을 수거하기 위하여 column chromatography (column PD-10) 방법을 이용하여 1.5 ml microcentrifuge tube에 15 방울씩 32 개의 분획을  $\gamma$ -ray counter를 이용하여 측정하였으며 측정시간은 1 분에 2 회 반복 측정하였다.

### 단백질 정량

rBST의 단백질은 Bradford method [11]에 의해 측정하였으며 표준검량곡선은 BSA를 0.1 M phosphate buffer로 최종 농도는 2  $\mu\text{g/ml}$ 에서 8  $\mu\text{g/ml}$ 까지 희석하였다. Column chromatography (column PD-10) 방법을 이용하여  $^{125}\text{I-rBST}$ 로 예상되는 각 분획들은 10  $\mu\text{l}$ 씩 얻어 PBS 790  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후에 protein assay dye reagent (Bio-rad, U.S.A.) 200  $\mu\text{l}$ 를 섞어 가볍게 vortexing하고 실온에서 15 분간 반응한 후에 spectrophotometer (Milton Roy, U.S.A)로 595 nm에서 측정하였다.

### 피하주사시 약물동태학 및 조직 분포

$^{125}\text{I-rBST}$ 를 동물에 투여하기 위하여 ether로 마취시킨 후 랫드의 경배부에 rBST를 saline으로 희석하여 체중 100 g당 200  $\mu\text{l}$  (13.565  $\mu\text{g}$ )를 투여하였다 [11, 26].

rBST의 약물동태학 분석은 6 마리의 수컷과 6 마리의 암컷에서 시행하였으며 가검혈액은 약물 투여 전 (0 시간)과 투여 후 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48 시간에 안와정맥총에서 각각 500~650  $\mu$ l를 채취하여 EDTA bottle에 담았다. 이들 혈액을 실온에 30 분간 그리고 냉장에서 1 시간 동안 저장한 후 다시 원심분리 (2,200  $\times$  g, 15 분)하여 혈장을 얻었으며  $^{125}$ I-rBST를 피하주사 후 랫드의 혈장 100  $\mu$ l에 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 900  $\mu$ l로 희석하고 column chromatography (PD-10 column)로 30 개의 분획을 얻었다. Column을 통과한 분획은  $\gamma$ -ray counter를 이용하여 방사능을 측정하였다 [26, 43]. 방사능 측정 전까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하였다<sup>30</sup>. 조직 채취는 암·수 30 마리 (수컷 15 마리, 암컷 15 마리)를 시간에 따라 도살시켜 폐, 골수, 부신, 간장, 심장, 비장, 췌장, 신장, 고환 (또는 난소), 위, 소장, 대장, 근육을 채취하여 방사능 측정 전까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 다만 골수의 경우는 대퇴골을 마쇄하여 측정하였다 [1, 26].

**약물동태학 분석**

약물동태학적 분석은 그래프법에 의해 초기값을 구해 컴퓨터 데이터 프로그램 작성에 참고하였다. 그 후 비선형 최소자승법을 이용하는 PCNONLIN(SCI, USA)을 이용하여 1-compartment model 및 2-compartment model에 각각 simulation하여 AIC 값 [36]에 의해 최적모형을 선정하였다. 약물동태학적 부변수 (pharmacokinetic parameter)는  $C_p=A*[exp^{-k_{el}t} - exp^{-k_a t}]$ 를 이용하였으며, 여기에서  $C_p$ 는 시간에 따른 혈청내 약물농도, A는 t가 0 h 일 때의 농도,  $k_a$ 는 흡수속도상수, Vd는 분포용적 그리고  $k_{el}$ 는 소실속도상수이다. AUC는 곡선하면적으로 0 h에서 무한대 시간까지의 면적으로 trapezoidal 방법으로 구하였으며 마지막 시간에서 무한대까지의 곡선한 면적은 마지막 시간에 측정된 혈장농도를  $k_{el}$ 로 나누어서 구하였다.  $t_{1/2,k_{el}}$ 는  $0.693/k_{el}$ ,  $t_{1/2,k_a}$ 는  $0.693/k_a$  그리고  $Vd_{ss}$ 를 각각 구하였다. 암 수의 약물동태학적 부변수의 차이점을 비교하기 위하여 Student's t-test로 유의수준 0.05에서 검정하였다.

**결 과**

**$^{125}$ I-rBST의 접합**

랫드에 투여된 r-BST의 경시적 변화를 측정하기 위하여 고체상인 iodo-bead를 이용하여 방사성 동위원소 표지를 시도한 후 방사성 동위원소와 단백질이 접합 여부를 column chromatography (PD-10 column)로 평가하였다. 그 결과 첫번째 피크에 해당되는 분획 3에서 방사성

동위원소량은 36.41  $\mu$ Ci, 분획 4에서는 34.74  $\mu$ Ci, 분획 5에서는 4.74  $\mu$ Ci, 분획 6에서는 2.56  $\mu$ Ci 이었으며, 단백질량은 분획 3은 678.25  $\mu$ g, 분획 4는 641.25  $\mu$ g, 분획 5는 86.3  $\mu$ g, 분획 6은 49.35  $\mu$ g로서 접합이 이루어져 있었다 (Fig. 1). 이에 반해 두번째 피크에 해당되는 분획 8은 15.09  $\mu$ Ci, 분획 9는 30.59  $\mu$ Ci, 분획 10은 43.32  $\mu$ Ci, 분획 11은 28.36  $\mu$ Ci, 분획 12는 11.14  $\mu$ Ci 이었으나 단백질은 측정되지 않았다 (Fig. 1). 위의 결과로부터 두번째 피크는 방사성 동위원소가 단백질에 표지되지 않음을 알 수 있었으며 이 부위는 유리  $^{125}$ I로 나타났다. 방사성 동위원소가 표지된 분획 3, 4, 5, 6의 방사선량을 합산한 결과 78.45  $\mu$ Ci로서, 접합전 투입한 방사성 동위원소량인 250  $\mu$ Ci의 31.38%가 접합효율에 해당됨을 알 수 있었다.

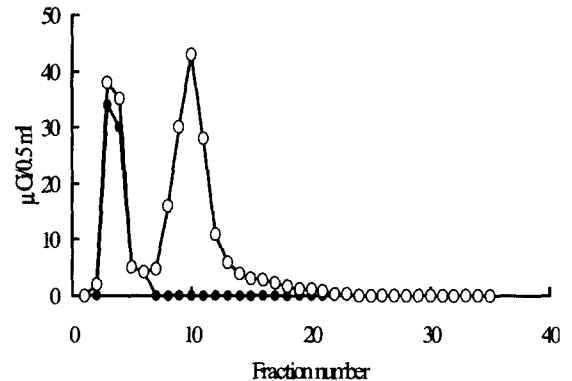


Fig. 1. Radioactivities(○) of  $^{125}$ I-rBST after gel filtration on PD-10 column and their corresponding quantity(●) of rBST as confirmed by protein determination.

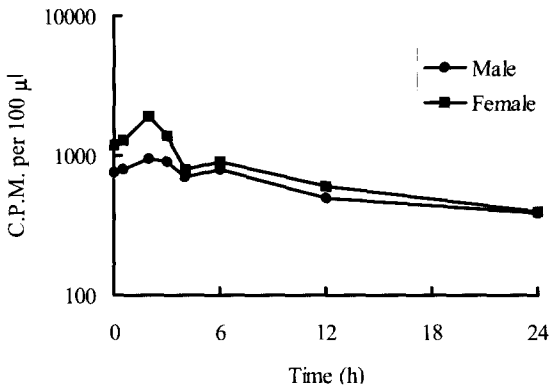
**성차가 피하주사시의 rBST 약물동태 변화에 미치는 영향**

랫드의 경배부에 체중 100 g당 200  $\mu$ l (13.565  $\mu$ g)를 피하주사 후 시간에 따라 혈액에서 rBST 경시적 변화를 측정하였다 (Fig. 2). 수컷에서 평균흡수기반감기( $t_{1/2,k_a}$ )는 0.30 h이었고 평균생물학적소실반감기( $t_{1/2,k_{el}}$ )는 4.81 h을 나타내었다. 겔보기분포용적(Vd)는 659.79 l/kg이었으며 모델 비의존성 parameter인 청소율( $Cl_B$ )은 94.90 l/kg/h이었다. 곡선하면적(AUC)는 1429.32 ng·h/ml 이었으며 그 밖의 rBST의 약물동태학적 parameter는 Table 1에 요약하였다. 암컷에서 rBST의  $t_{1/2,k_a}$ 은 0.75 h으로 수컷보다 약 2.5 배 느렸으며,  $t_{1/2,k_{el}}$ 은 2.87 h으로 수컷 (4.81 h)보다 1.7 배나 신속히 소실하였다. 그 밖의 rBST의 약물동태학적 parameter는 Table 1에 요약하였다.

**Table 1.** Mean pharmacokinetic parameters of rBST administered subcutaneously with <sup>125</sup>I-rBST at a dose rate of 135.65 µg/kg in male (n=6) and female (n=6) rats

Parameter	Unit	Male	Female
t <sub>1/2,β</sub>	h	4.81*	2.87*
t <sub>1/2,α</sub>	h	0.30*	0.75*
AUC	ng · h/ml	1429.32	1243.57
CLB	ℓ/kg/h	94.90	109.08
Vd <sub>ss</sub>	ℓ/kg	659.79	452.38
k <sub>e</sub>	h <sup>-1</sup>	0.14	0.24
k <sub>a</sub>	h <sup>-1</sup>	2.24	0.91

\*stands for significant differences (p<0.05).



**Fig. 2.** Mean c.p.m. values of <sup>125</sup>I-rBST in fractionated (PD-10 column) male and female plasma of rats (n=12)

administered subcutaneously with <sup>125</sup>I-rBST (135.65 µg/kg).

**피하주사시 rBST 조직 분포의 변화**

<sup>125</sup>I-rBST를 경두부에 피하주사 후 1시간째에 도달한 수컷 랫드에서 rBST가 가장 높게 분포한 장기는 부신으로서 164.46 ng/g이었으며 고환, 신장, 폐, 심장, 골수, 간장, 근육, 췌장, 비장, 소장, 위, 대장 등 순으로 높은 농도를 나타내었다. 투여 후 1시간째의 암컷 랫드에서는 가장 높게 분포한 장기는 난소로서 782.99 ng/g이었으며 부신, 심장, 간장, 신장, 골수, 폐, 위, 소장, 근육, 비장, 췌장, 대장 등 순으로 높은 농도를 나타내었다. 투여 후 6시간째 이후부터 수컷에서 주요 분포 장기는 심장, 부신, 신장, 고환, 폐이며 12시간째는 부신, 심장, 신장, 골수, 고환이며 24시간째는 부신, 고환, 심장, 신장, 골수이고 마지막 48시간째는 부신, 고환, 대장, 골수, 소장 순으로 나타났다. 투여 후 6시간째이후 암컷에서 주요 분포 장기는 6시간째는 폐, 심장, 췌장, 비장, 신장이며 12시간째는 난소, 부신, 간장, 신장, 심장이며 24시간째는 난소, 부신, 신장, 소장, 골수이고 마지막 48시간째는 난소, 부신, 위, 대장, 소장 순으로 나타났다 (Table 2, 3).

**고찰**

랫드에서 rBST를 피하주사한 후 약물동태 및 조직분포를 구명하고자 낮은 용량의 rBST를 측정하기 위하여 방사선 동위원소법을 실시하였다. RIA (radioimmunoassay) [1, 12, 36, 40, 45], RRA (radioreceptor assay) [10, 13, 23], Radiotracing [26] 방법인 방사선 동위원소 측정법은 동

**Table 2.** Tissue distribution of rBST after subcutaneous injection of <sup>125</sup>I-rBST at a dose rate of 135.65 µg/kg in male rats

Organs	1 h	6 h	12 h	24 h	48 h
Lung	89.43±19.2	33.40± 4.04	33.33± 1.88	6.32± 0.25	3.57±1.36
Heart	54.67± 2.63	156.86± 7.79	91.63±16.97	14.29± 2.05	2.55±0.41
Pancrease	20.75± 6.93	10.97± 0.57	20.01± 9.25	4.59± 0.20	2.36±0.66
Spleen	20.38± 6.93	8.37± 2.84	24.65± 9.07	4.34± 0.98	2.12±0.53
Kidney	99.41±15.5	63.48± 4.73	54.34± 4.55	9.04± 0.91	1.96±0.06
Adrenal	164.46±26.48	81.50±37.66	60.14±19.80	56.64±37.16	13.38±1.01
Liver	27.65±10.1	27.02± 4.04	14.24± 0.08	5.54± 0.44	1.39±0.14
Stomach	12.35± 1.78	19.07±11.02	19.38± 7.94	5.37± 0.22	3.29±0.33
S. intestine	14.07± 0.48	10.22± 3.38	11.60± 4.07	3.98± 0.47	3.60±0.78
L. intestine	10.12± 4.40	10.26± 3.83	7.73± 0.88	4.95± 0.34	4.58±1.10
Testis	131.0± 7.19	47.24± 9.84	41.70± 2.17	25.11± 3.74	7.42±0.68
Muscle	26.03± 7.75	14.35± 1.56	15.11± 6.92	3.38± 0.12	2.79±0.21
Bone marrow	40.10±10.8	21.23± 6.78	48.87± 3.71	6.80± 0.13	4.00±0.43

\* Three rats were slaughtered at each time.

**Table 3.** Tissue distribution of rBST after subcutaneous injection of  $^{125}\text{I}$ rest at a dose rate of 135.65  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in female rats

Organs	1 h	6 h	12 h	24 h	48 h
Lung	31.66± 12.2	14.05± 5.56	3.98± 0.51	4.41± 0.44	1.92±0.20
Heart	128.6 ± 40.1	16.23± 4.87	7.90± 0.13	3.08± 0.52	1.50±0.12
Pancrease	11.97± 5.33	8.76± 2.04	5.66± 3.20	5.16± 1.36	1.70±0.21
Spleen	16.22± 5.53	17.40± 5.62	5.32± 0.97	3.41± 0.64	1.81±0.38
Kidney	63.62± 4.50	27.38±11.02	10.76± 3.52	7.34± 1.39	1.65±0.07
Adrenal	148.36± 50.8	79.42±54.12	27.97± 5.01	35.17± 6.07	11.04±1.00
Liver	75.59± 8.37	9.87± 3.22	11.50± 3.98	1.78± 0.28	1.39±0.14
Stomach	22.24± 6.48	22.67±11.27	7.23± 1.33	3.59± 1.26	3.31±0.52
S. intestine	20.13± 3.09	23.45±11.85	7.30± 4.25	5.82± 0.73	2.64±0.28
L. intestine	7.27± 0.99	6.63± 0.52	4.59± 1.52	3.66± 0.45	2.71±0.53
Ovary	783.0 ±329.9	139.92±13.5	124.86±19.2	132.79±29.5	31.95±5.38
Muscle	19.77± 2.37	6.19± 0.43	3.40± 0.19	2.24± 0.12	0.97±0.04
Bone marrow	46.43± 10.89	21.00± 8.01	6.11± 0.23	5.26± 0.91	2.04±0.33

\* Three rats were slaughtered at each time.

위원소의 취급이 까다롭고 또 규제가 심하여 일반적으로 널리 사용되고 있지 않으나 단백질에 방사선 동위원소를 표지시켜 방출되는 방사성을 검출기로 측정할 경우 감도와 측정시간의 관점에서 매우 우수한 점을 갖고 있다. 따라서 본 연구에서 랫드에 투여된 r-BST의 경시적 변화를 측정하기 위하여 Richardson과 Parker [37]의 방법에 따라 고체상인 iodo-bead를 이용하여 방사성 동위원소와 단백질이 결합된 것으로 보이는 분획을 대상으로 방사성 동위원소 표지 여부를 평가하였다 [26, 39]. 본 실험에서는 정제  $^{125}\text{I}$ -rBST를 획득하기 위하여 column chromatography (PD-10 column)로 일정량 (15 방울)의 분획을 대상으로 방사성 동위원소량의 변화 추이를 관찰하였다. 그 결과 Fig. 1에 묘사된 것처럼 방사선이 측정되는 부위는 크게 두 개의 피크로 이루어져 있었는데 이들 peak 중에서 첫번째 피크에서 방사성 동위원소와 단백질이 모두 검출되어 방사성 동위원소-단백질 복합체로 이루어진 것으로 판단하였다 [26, 43]. 이 분획들에서 단백질 함량을 측정한 결과, 첫번째 피크에서는 방사성 동위원소와 단백질이 결합하고 있었으며 두번째 피크에서는 방사성 동위원소는 측정되었으나 단백질은 관찰되지 않았다. 그러므로 두번째 피크는 방사성 동위원소가 단백질에 표지 되지 않은 유리  $^{125}\text{I}$ 로 밝혀졌다 [26, 40]. 그러므로 본 실험에서는 첫번째 peak에서 모아진 방사성 동위원소-단백질 복합체를 이용하여 암컷과 수컷 rat에서 피하주사 후 약물의 경시적 변화와 조직분포의 차이점을 구명하고자 하였다.

랫드를 포함한 대부분의 동물에서 약물동태에 영향을 미치는 약물 대사에 대하여 많은 보고가 있었다 [14,

41, 42, 44]. Rat의 경우에는 간에서 수컷이 암컷보다 빠른 산화적대사 (oxydative metabolism)를 보이는 반면, 마우스는 반대의 경향을 보인다 [41]. 랫드에 있어서 암수에 차이점을 보이는 이유는 호르몬의 차이점에서 기인하는 것으로 알려져 있다 [41]. 본 실험에서 rBST를 피하주사 한 후 암·수 rat에서 혈장에 대한 시간·농도 곡선은 모두 1-compartment 모델을 나타냈으며, 이 모델에서 얻어진 rBST의 흡수기( $t_{1/2,k_a}$ )는 수컷 (0.30 h)이 암컷 (0.75 h)보다 약 2.5 배 빠른 흡수를 유의성 있게 보여주었다( $p<0.05$ ). 이와는 대조적으로 생물학적 반감기( $t_{1/2,k_e}$ )는 암컷 (2.87 h)이 수컷 (4.81 h)보다 1.7 배나 빠른 rBST의 소실을 보여주었다 ( $p<0.05$ ). 그 밖의 rBST의 약물동태학적 파라미터인 CLB (L/kg/h), AUC (ng·h/ml),  $V_{d_{ss}}$  (L/kg),  $k_e$ ,  $k_a$ 에서 암수간의 차이를 보여주지를 않았다.

$^{125}\text{I}$ -rBST의 시간에 따른 조직분포를 알아보고자 피하주사 후 각 가검 조직을 채취하여 방사능 측정하고 이를 ng/g로 환산하였다 [1, 5, 26]. 투여 후 1 시간째에 도살한 수컷 랫드에서 rBST가 가장 높게 분포한 장기는 부신 (164.46 ng/g)으로 대장의 그것(10.12 ng/g)과 비교시 16.25 배 높은 수준으로 분포하였으며 고환>신장>폐>심장>골수>간장>근육>췌장>비장>소장>위>대장 순으로 높은 농도를 나타내었으며 거의 모든 조직으로 분포가 이루어졌다. 이러한 결과는 약물동태에서 얻어진 분포용적의 0.66 L/kg과 일치하였다. 암컷 랫드에서는 rBST의 투여 후 가장 높게 분포한 장기는 난소로서 782.99 ng/g으로 대장의 그것과 비교시 107 배 높게 분포를 하였으며, 부신>심장>간장>신장>골수>폐>위>소장>근육>비장>췌장>대장 순으로 높은 농도를 나타내었다. rBST

투여 후 48시간째에 각 조직의 농도를 비교할 때 난소를 제외한 모든 조직에서 수컷보다는 암컷의 랫드에서 rBST의 농도가 낮게 나타났으며 이는 생물학적반감기 ( $T_{1/2kc}$ )의 차이로 인하여 일어나는 현상으로 사료되었다. 그러나 Toutain 등 [44]이 보고한 소에서 분포용적(Vd)는 0.1 L/kg로 조직분포는 거의 이루어지지 않는 것으로 rBST의 약물동태는 랫드와 소에서는 종차가 존재하는 것을 알 수가 있었다. 피하주사시도 장기 무게를 고려하면 rBST가 가장 많이 분포하는 장기는 수컷의 1시간, 6시간, 12시간, 24시간에서 간장, 신장 순으로 나타났고 48시간에는 고환이 간장보다 약간 높은 수치를 보였고 암컷의 경우는 1시간, 6시간, 12시간까지 간장, 난소, 신장, 위 순으로 분포하며 24시간, 48시간째는 난소가 간장보다 많이 분포하고 있었다. 특히, 생식기관인 난소와 고환에 rBST 분포가 증가함을 뚜렷하게 관찰할 수 있었고, 골수 또한 증가된 것을 알 수가 있었다. 이러한 결과가 rBST를 산업동물인 소에 투여시 같은 조직분포를 나타내는데 대해서는 보고된 결과가 없어 이에 대한 비교를 위한 연구가 필요하리라 사료된다.

## 결 론

랫드에서 rBST를 피하주사 후 약물동태 및 조직분포를 구명하고자 방사성 동위원소 표지된 rBST를 이용하였다. 고체상 접합법인 Iodo-bead<sup>®</sup>에 의해 접합된 <sup>125</sup>I-rBST의 분획을 수거하기 위하여 column chromatography (column PD-10)방법을 이용하여 <sup>125</sup>I와 접합된 단백질의 분획을 성공적으로 수거할 수 있었다. 결합율은 rBST 1 mg당 투입된 <sup>125</sup>I 총량의 31.38% (53.91  $\mu$ Ci)로 우수하게 결합하였다. <sup>125</sup>I로 표지된 rBST를 랫드 100 g당 13.565  $\mu$ g으로 암·수 랫드에 투여하였다. 피하주사 하였을 때 암·수 모두에서 one-compartment 모형으로 설명할 수 있었다. 흡수기에 있어서 반감기는 수컷의 경우 0.30 시간이었으며 암컷은 0.75 시간이었으며, 소실상의 반감기는 수컷은 4.81 시간 그리고 암컷은 2.87 시간을 나타낸 것으로 보아 흡수기와 소실상에서 암수간의 차이가 있었다. 랫드에 피하주사시 조직분포상에서 각 장기를 ng/g으로 환산했을 때 1시간째에 수컷 랫드에서 rBST가 가장 높게 분포한 장기는 부신으로서 164.46 $\pm$ 26.48 ng/g이었으며, 1시간째에 암컷 랫드에서는 가장 높게 분포한 장기는 난소로서 782.99 $\pm$  321.91 ng/g이었고 6시간째부터 48시간째까지 주요 분포장기는 성장에 따른 유의성 있는 차이를 볼 수 없었다. 실제 장기무게를 고려하면, 피하주사시 수컷에서는 1시간에서 24시간까지 간장, 신장, 고환, 근육, 위 순으로 나타나다가 48시간에서 고

환이 간장보다 약간 높게 분포하였고 암컷에서는 1시간에서 12시간까지 간장, 난소, 신장, 소장, 위 순으로 나타나다가 24시간과 48시간에는 난소가 간장보다 rBST가 많이 분포함을 알 수 있었다.

## 참고문헌

1. 송창우, 황화선, 한상섭. SD 랫드의 주령에 따른 기초연구: I. 체중변화, 혈액·혈액생화학적 변화 및 뇨분석. 한국실험동물학회지. 1990, 6, 33-43.
2. 신중서, 김종복, 성경일, 여인서, 김기은, 박연수, 홍병주. 고품질 쇠고기 생산을 위한 한우 사육기술. 1. 소 성장호르몬과 알코올 발효사료의 처리가 증체율, 사료효율, 혈액성상, 육조성 및 도체등급에 미치는 영향. 한영사지. 1994a, 18(5), 363.
3. 신중서, 김종복, 성경일, 여인서, 김기은, 홍병주. 고품질 쇠고기 생산을 위한 한우사육기술. 2. 소 성장호르몬과 알콜발효사료의 처리가 도체품질 및 조성에 미치는 영향. 한영사지. 1994b, 18(5), 373.
4. 심태수. 서방형 Recombinant Bovine Somatotropin 투여수준이 젖소의 산유량, 유성분, 혈액성분 및 수익성에 미치는 영향. 강원대학교 석사학위논문. 1995.
5. 이영순. 실험동물의학. 서울대학교 출판부. 1995, 408-420.
6. 홍병주, 정지원, 성경일, 여인서, 김종복, 이병건, 장병선. Recombinant Bovine Somatotropin 투여가 한우의 성장 및 도체품질에 미치는 영향. Kor. J. Anim. Sci. 1993, 35(2), 91.
7. Anthony, N. B., Vasilatos-Younken, R., Emmerson, D. A., Nestor K. E. and Bacon, W. L. Pattern of growth and plasma growth hormone secretion in turkeys selected for increased egg production. Poultry Sci. 1990, 69(12), 2057-2063.
8. Annexstad, R. J., Otterby, D. E., Linn, J. G., Hansen, W. P., Soderholm, C. G. and Wheaton, J. E. Somatotropin treatment for a second consecutive lactation. J. Dairy Sci. 1990, 73, 2423.
9. Baumann, D. E., Peel, C. J., Steinbour, W. D., Reynold, P. J., Tyrrell, H. F., Brown, A. C. G. and Haaland, G. L. Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cow: influence on ratio of irreversible loss and oxidation of glucose and nonesterified fatty acids. J. Nutr. 1988, 118(32), 1031.
10. Baxter, R. C. Measurement of growth hormone and prolactin receptor turnover in rat liver. Endocrinol.

- 1985, **117**, 650-655.
11. **Bradford, M. M.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976, **721**, 248-254.
  12. **Brown-Borg, H. M., Klemcke, H. G., Borg, K. E. and Klint, J.** Prolactin and growth hormone clearance in neonatal boars. *J. Anim. Sci.* 1993, **71**, 2055-2060.
  13. **Carr, D. and Friesen, H. G.** Growth hormone and insulin binding to human liver. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1976, **2**, 484-493.
  14. **Colby, H. D.** Regulation of hepatic drug and steroidal metabolism by androgens and estrogens. In *Advances in sex hormone research*. Vol. 4, eds Thomas, J.A. and Singhai, R.L. Urban and Schwarzenberg, Baltimore-Munich. 1980, 27-29.
  15. **Craig, M. Z., Holly, W. S. and Peter, H. B.** Rapid and sensitive ELISA method for the determination of bovine somatotropin in blood and milk. *J. Agric. Food Chem.* 1990, **38**, 1358-1362.
  16. **David, H.** N-Chloroacetyl-[<sup>125</sup>I]iodotyramine: An alkylating agent with high Specific Activity. *Analy Biochem.* 1981, **117**, 390-397.
  17. **Donoghue, D. J., Campbell, R. M. and Scanes, C. G.** Effect of biosynthetic chicken growth hormone on egg production in White Leghorn hens. *Poult. Sci.* 1990, **69**, 1818-1821.
  18. **Downer, J. V., Patterson, D. L. and Rock, D. W.** Dose titration of sustained-release recombinant bovine somatotropin in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1993, **76**, 1125-1136.
  19. **Early, R. J., McBride, B. W. and Ball, R. O.** Growth and metabolism in somatotropin-treated steer: 1. growth, serum chemistry and carcass weights. *J. Anim. Sci.* 1990a, **68**, 4134-4143.
  20. **Early, R. J., McBride, B. W. and Ball, R. O.** Growth and metabolism in somatotropin-treated steer: 2. Carcass and noncarcass tissue components and chemical composition. *J. Anim. Sci.* 1990b, **68**, 4144-4152.
  21. **George, P., Tuszynski, L. C., Knight, E. K. and Srivastava, S.** Labelling of platelet surface proteins with <sup>125</sup>I by the iodogen method. *Anal. Biochem.* 1983, **130**, 166-170.
  22. **Gilman, A. G., Rall, T. W., Nies, A. S. and Taylor, P.** (ed), *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th edition, Pergman, New York, 1995, 1364-1368.
  23. **Gluckman, P. D., Butler, J. H. and Elliott, T. B.** The ontogeny of somatotropic binding sites in ovine hepatic membranes. *Endocrinol.* 1983, **112**, 1607-1612.
  24. **Greenwood, F. C., Huner, W. M. and Glouer, J. S.** The preparation of <sup>131</sup>I-labeled human growth of high specific radioactivity. *Biochem. J.* 1962, **89**, 114.
  25. **Hunter, W. M. and Greenwood, F. C.** Radioimmuno-electrophoretic assay for human growth hormone. *Nature.* 1962, **194**, 495.
  26. **Johnson-Berling, B. M. and Ohlssen, K.** Distribution and elimination of intravenously injected urinary trypsin inhibitor. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1991, **51**, 549-557.
  27. **Kathleen, H. S. and Willinams, R. P.** Use of iodogen and <sup>125</sup>I to label the outer membrane proteins of whole cells of *Neisseria gonorrhoeae*. *Anal. Biochem.* 1982, **120**, 254-258.
  28. **Kimura, T., Matsueda, R., Nakagawa, Y. and Kaiser, E. T.** New reagents for the introduction of thiomethyl group at sulfhydryl residues of proteins with concomitant spectrophotometric titration of the sulfhydryls: methyl 3-nitro-2-pyridyl disulfide and methyl 2-pyridyl disulfide. *Anal. Biochem.* 1982, **122**, 274-282.
  29. **Kornecki, E., Davis, T. B. and Ehrlich, Y. H.** Iodination of membrane surface proteins of neuroblastoma x glioma cell. Abstract presented of the American Society of Neurochemistry, The 11th Annual Meeting, March. 12-16, 1984.
  30. **Lotan, E., Sturman, H. and Weller, J. I.** Effects of recombinant bovine somatotropin under conditions of high production and heat stress. *J. Dairy Sci.* 1993, **76**, 1394-1402.
  31. **Marchalonis, J. J.** Enzymic method for the trace iodination of immunoglobulins and other proteins. *Biochem. J.* 1969, **113**, 299.
  32. **Markwell, M. A. K.** A new solid-state reagent to iodinate proteins: conditions for the efficient labelling of antiserum. *Anal. Biochem.* 1982, **125**, 427-432.
  33. **McLaughlin, C. L., Byatt, J. C., Hedrick, H. B., Veenhuizen, J. J., Curran, D. F., Hintz, R. L., Hartnell, G. F., Kasser, T. R., Collier, R. J. and Baile, C. A.** Performance, clinical chemistry, and carcass responses of finishing lambs to recombinant bovine somatotropin and bovine placental and bovine placental lactogen. *J. Dairy Sci.* 1993, **71**, 3307-3318.

34. **Munson, P. L.** Principles of Pharmacology. Chapman & Hall Co., 1995, 897-905.
35. **Pell, A. N., Tsang, D. S., Howlett, B. A., Huyler, M. T., Meserole, V. K., Samuels, W. A., Hartnell, G. F. and Hintz, R. L.** Effects of a prolonged-release formulation of sometribove (n-methionyl bovine somatotropin) on Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 1992, **75**, 3416-3431.
36. **Purchas, R. W., Macmillan, K. L. and Hafs, H. D.** Pituitary and plasma growth hormone levels in bulls from birth to one year of age. *J. Anim. Sci.* 1970, **31**, 358-363.
37. **Richrdson, K. and Parker, C. D.** Identification and characterization of *Vibrio cholerae* surface proteins by radioiodination. *Infect. Imun.* 1985, **48**(1), 87-93.
38. **Salacinski, P. R., McLean, C., Sykes, J. E., Clement-Jones, V. V. and Lowry, P. J.** Iodination of proteins, glycoproteins, and peptides using a solid-phase oxidizing agents, 1,3,4,6- tetrachloro-3 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -diphenyl glycoluril (Iodogen). *Anal. Biochem.* 1991, **117**, 136-146.
39. **Shan, S. W.** Chemistry of Protein Conjugation and Cross-linking. CRC press, 1993, 49-70.
40. **Sinha, Y. N., Baxter, S. R. and Vanderlaan, W. P.** Metabolic clearance rate of growth hormone in mice during various physiological states. *Endocrinol.* 1979, **105**, 685-689.
41. **Skett, P.** Biochemical basis of sex differences in drug metabolism. *Pharmacology and Therapeutics.* 1988, **38**, 269-304.
42. **Stegman, J. J. and Chevion, M.** Sex differences in cytochrome P-450 and mixed function oxygenase activity in gonadally mature trout. *Biochem. Pharmacol.* 1980, **29**, 553-558.
43. **Thean, E. T.** Comparison of specific radioactivities of human  $\alpha$ -lactalbumin iodinated by three different methods. *Anal. Biochem.* 1990, **188**, 330-334.
44. **Toutain, P. L., Schams, D., Laurentie, M. P. and Thomson, T. D.** Pharmacokinetics of a recombinant bovine growth hormone and pituitary bovine growth hormone in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 1993, **71**, 1219-1225.
45. **Trenkle, A.** Growth hormone secretion rates in cattle. *J. Anim. Sci.* 1971, **32**, 115-118.
46. **Verson, R. D.** Relationship of milk yield, clinical mastitis and associated antibiotic use in control and sometribove-treated cows. *J. Dairy Sci.* 1993, **76**, 237.