

## Recombinant human erythropoietin (DA-3285)의 실험동물에서의 약동력학 및 조직분포

심현주 · 이응두 · 이종진 · 김흥재 · 이상득 · 이성희 · 김원배\* · 양중익  
동아제약(주) 연구소

### Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Recombinant Human Erythropoietin (DA-3285) in the Laboratory Animals.

Hyun Joo SHIM, Eung Doo LEE, Jong Jin LEE, Heung Jae KIM, Sang Deuk LEE,  
Sung Hee LEE, Won Bae KIM\* and Junnick YANG

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

(Received February 26, 1996; accepted March 6, 1996)

**Abstract** – The pharmacokinetics and tissue distribution of DA-3285 (recombinant human erythropoietin, recently manufactured by Research Laboratories of Dong-A Pharmaceutical Company) were studied in the laboratory animals. The plasma, urine, and tissue concentration of DA-3285 were measured by a double-antibody sandwich enzyme immunoassay. After intravenous administration of DA-3285, 20, 100, 500 and 2500 units/kg to rats, the plasma concentrations declined polyexponentially with the terminal half-lives of 2.15, 2.10, 2.31, and 2.35 hr, respectively. Total body clearance (20.7~26.6 ml/hr/kg) and apparent volume of distribution at steady state (57.2~70.1 ml/kg) were independent of the dose and AUC increased proportionally with the dose. The renal clearance was much lower than total body clearance, suggesting that extrarenal clearance, presumably metabolism, plays a significant role in elimination of DA-3285. In all rat tissues, the tissue to plasma ratios were smaller than unity, indicating less affinity of DA-3285 to rat tissues and was proved by considerably less value of Vdss. After 3 times a week for consecutive 3 weeks i.v. administration of DA-3285, 100 units/kg to rats, the plasma concentrations and pharmacokinetic parameters of DA-3285 were not significantly different from those in a single administration. After s.c. administration to the rat, plasma concentrations of DA-3285 peaked at 6 hr and the extent of bioavailability was 26.7%. In mice, rabbits and dogs, at DA-3285 dose of 100 units/kg, the mean terminal half-lives were 2.78, 3.05, and 4.01 hr, respectively. Compared with reported data in the literatures, DA-3285 has similar properties to rh-EPO manufactured by other companies in view of pharmacokinetics.

**Keywords** □ DA-3285, recombinant human erythropoietin, pharmacokinetics, tissue distribution.

Erythropoietin (EPO)는 165개의 아미노산과 3부위의 N-당쇄, 1부위의 O-당쇄가 결합된 분자량 약 30,400달톤의 당단백질로 적혈구의 생성을 촉진하는 hormone의 일종이며, 태아의 경우는 주로 간에서 생성되지만, 성장하면 80~90%가 신장에서 생성된다. 신동맥내의 산소포화도 저하, 신장으로의 산소 운반량 저하, 신장이외의 신체 다른 부위의 빈혈상태등에 의해 생성이 촉진되며, norepinephrine, epinephrine 및 prostaglandine 등에 의해서도 생성이 증가한다 (Guyton, 1991). 최근 유전자재조합기술의 발달로 인하여 EPO의 재조합이 가능하게 되었으며 대량생산이 가능해

져 만성빈혈, 신성 빈혈, ESRD (end stage renal disease), 화학요법에 의한 빈혈, 재생불량성 빈혈, 자가수혈 등에 사용되고 있다 (Jacobs 등, 1985; Fisher, 1993).

본 연구에서는 동아제약(주) 연구소에서 자체개발한 유전자 재조합 CHO cell을 무혈청 배양하고 고순도로 정제하여 얻은 재조합 사람 erythropoietin인 DA-3285에 대하여 용량의존성과 조직분포, 단회 및 반복간의 약동력학, 투여 경로별 약동력학의 차이를 rats에서 평가하였고, mice, dogs 및 rabbits에서의 약물속도 정수를 비교하여 DA-3285의 실험동물에서의 약동력학적 특성을 알아보았다.

\* To whom correspondence should be addressed.

## 동물

웅성 Sprague-Dawley rats (사용시 250~300 g, 8 주령) 및 웅성 ICR mice (사용시 28~32 g, 7주령)는 Charles River Co. (Atsugi, Japan)에서, 웅성 Beagle dogs (사용시 10 kg)은 Hazleton (MI, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 웅성 Newzeland White rabbits (사용시 2.3~2.9 kg)는 연암 축산 (천안, 충청남도)에서 구입하여 실험전 1주일동안 순화 사육하였다. 사육 환경은 온도  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 10\%$ , 조명시간 12시간을 유지하였으며, 사료와 물은 자유로이 섭취하게 하였다.

## 시약 및 재료

동아제약(주) 연구소에서 생산한 DA-3285 (2000 units/ml)를  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였으며, 사용직전에 녹여서 '희석용 용매'로 희석하여 사용하였다. 희석용 용매의 조성은 증류수 1 ml당 D-mannitol 30 mg, sodium chloride 2 mg, sodium phosphate (monobasic) 1.5 mg, human serum albumin (HSA) 1 mg이었다. DA-3285 정량에 사용한 ELISA kit (Quantine™ IVDTM)는 R&D system (Mckinley Place N.E. Minncapolis, MI, U.S.A.)으로부터 구입하였다.

## 용량 의존성

Rats를 ether로 가법계 마취한 후 대퇴정맥 및 동맥에 polyethylene tube (PE-45, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA)를 삽입하고 rats가 마취에서 완전히 회복한 후 실험을 시작하였다. 약물투여 전에 대퇴 동맥에서 control로 혈액을 소량취하고, 대퇴정맥으로 DA-3285를 각각 20, 100, 500 및 2500 units/kg을 1 ml/kg 용량으로 투입하고 10 units/ml의 heparin 용액(생리식염수로 희석)으로 tube에 남아있는 약물을 완전히 rat의 정맥속으로 주입하였다. 투여 후 1, 5, 15, 30 분 및 1, 2, 4, 6, 및 8시간에 혈액 250  $\mu\text{l}$ 씩을 채혈하였다. 채취한 혈액은 즉시 10000 rpm에서 1분간 원심분리한 후 혈장 120  $\mu\text{l}$ 를 취하여 정량시까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 또한 투여 후 24시간까지의 뇨를 채취하여 정확한 부피를 측정하고 정량시까지 냉동보관하였다.

## 조직분포

Rat에 DA-3285, 100 units/kg을 대퇴정맥을 통하여 주사한 후 30분, 2시간 및 8시간에 각각 5마리씩 복대동맥을 통하여 혈액을 취하고 실험치사시켰다. Liver, heart, lung, kidney, spleen 및 bone marrow를 적출하여 각각 4배량의 '희석용 용매'를 가한 후 homogenize (Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel, IKA Labortechnik, Staufen, Germany)하고 homogenize한 액을 10000 rpm에서 1분간 원심분리하여 얻은 상층액을 정량전까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다.

## 반복 투여시 약동력학

5주령의 웅성 rats에 DA-3285 100 units/kg을 1주에 3번, 연속 3주간 (1, 3, 5, 8, 10, 12, 15, 17, 19일) 꼬리 정맥으로

투여한 후 마지막 날에 대퇴정맥 및 동맥을 cannulation하여 약물 투여 전 및 투여 후 1, 5, 15, 30분, 1, 2, 4, 6, 및 8시간에 250  $\mu\text{l}$ 혈액을 취하여 즉시 10000 rpm에서 1분간 원심분리한 혈장 120  $\mu\text{l}$ 을 정량시까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 또한 투여 후 24시간까지의 뇨를 채취하여 정확한 부피를 측정하고 정량시까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다.

## 피하 투여시 약동력학

대퇴 동맥을 cannulation한 8주령의 웅성 rats에 DA-3285 100 units/kg을 피하에 투여하기전 및 투여한 후 5, 15, 30분, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 및 24 시간에 250  $\mu\text{l}$ 의 혈액을 취하였다. 취한 혈액을 즉시 10000 rpm에서 1분간 원심분리하여 혈장 120  $\mu\text{l}$ 을 정량시까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 또한 투여 후 24 시간까지의 뇨를 채취하여 정확한 부피를 측정하고 정량시까지 냉동보관하였다.

## 종차에 따른 약동력학

Mouse에 DA-3285, 100 units/kg 꼬리정맥으로 투여한 후 안저(orbital plexus)로 부터 투여 5, 15, 30분, 1, 2, 4, 6 및 8시간에 각 시간 당 5마리씩 채혈하였다. 채혈 후 즉시 원심분리하였으며 얻은 혈장을 정량전까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 투여 후 24 시간까지의 뇨를 metabolic cage 하에서 채취하여 정확한 부피를 측정하고 정량시까지 냉동보관하였다.

DA-3285, 100 units/kg을 개의 왼쪽 상완정맥을 통해 투여하고 오른쪽 상완정맥에서 투여 5, 15, 30분, 1, 2, 4, 6 및 8시간에 채혈하여 즉시 원심분리한 후 얻은 혈장을 정량전까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 또한 urinary catheter를 삽입하여 투여 8시간까지의 뇨를 채취하여 정확한 부피를 측정하고 일정량을 냉동보관하였다.

Pentobarbital sodium 20 mg/kg을 토끼 이정맥으로 투여하여 마취시킨 후 경정맥과 경동맥을 Silastic tube (Silastic Medical Grade Tubing, Dow Corning, Midland, MI, USA)로 cannulation하고 Forley catheter를 뇨관에 삽입시켰다. 마취에서 완전히 깨어난 후 DA-3285, 100 units/kg을 경정맥으로 투여하고 투여 후 5, 15, 30분, 1, 2, 4, 6 및 8시간에 채혈하여 얻은 혈장을 정량전까지  $-20^\circ\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 투여 24시간까지의 뇨를 채취하여 정확한 부피를 측정하고 일정량을 냉동보관하였다.

## 정량법

Quantine kit에 포함된 microtiter plate wells에 assay diluent 100  $\mu\text{l}$ 를 넣은 다음 sample (혈장, 뇨 및 tissue homogenate 상층액)을 100  $\mu\text{l}$  넣고 2시간 동안 실온 ( $20 \sim 25^\circ\text{C}$ )에서 방치하였다. 방치 후 액을 wells에서 완전히 제거하고 conjugate를 200  $\mu\text{l}$ 씩 넣은 다음 다시 실온 ( $20 \sim 25^\circ\text{C}$ )에서 2 시간 방치하였다. 방치 후 wash buffer로 4번 세척하고 용시조제한 substrate 1 및 substrate 2 혼합액 (1 : 1) 200  $\mu\text{l}$ 를 넣고 20분 방치 후 stop solution 100  $\mu\text{l}$ 를 넣고 450 nm에서

optical density를 측정하였다. 이 정량법의 정량한계는 0.6 mU/ml이었으며, coefficients of variation (CV)는 평균 5% 내외였다.

### 약동력학적 해석

시간 0에서 시간 무한대까지 DA-3285의 혈장중 농도-시간곡선하 면적 (AUC)은 trapezoidal rule- extrapolation method에 의해 구하였다. 이 방법은 혈장중 농도가 감소하는 동안에는 logarithmic trapezoidal rule을, 증가하는 동안에는 linear trapezoidal rule을 사용한다. 마지막 혈액채취시간부터 무한대까지의 면적은 마지막 측정된 혈장중 농도를 마지막 phase의 속도상수로 나누어 계산하였다. 약물주사 후 the time-averaged total body clearance (CL), renal clearance (CLR), area under the first moment of the plasma concentration-time curve (AUMC), mean residence time (MRT), apparent volume of distribution at steady state (V<sub>ss</sub>) 및 extent of bioavailability (F)는 다음식에 의하여 구하였다 (Gibaldi and Perrier, 1982).

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

$$CL_R = \frac{X_U}{\text{AUC}} \quad (2)$$

$$\text{AUMC} = \int_0^{\infty} C_p \times t \, dt \quad (3)$$

$$\text{MRT} = \frac{\text{AUMC}}{\text{AUC}} \quad (4)$$

$$V_{d_{ss}} = CL \times \text{MRT} \quad (5)$$

$$F = \frac{\text{AUC}_{sc}}{\text{AUC}_{iv}} \quad (6)$$

반감기, CL, 및 V<sub>d<sub>ss</sub></sub>의 평균은 조화평균방법으로 산출하였다 (Chiou, 1979).

### 통계분석

Unpaired data의 평균간에 t-test를 사용하여 통계처리하였으며, 유의수준은 p<0.05으로 판단하였다.

### 실험결과 및 고찰

DA-3285를 rats에 20, 100, 500, 및 2500 units/kg 정맥 투여한 후 평균 혈장 농도-시간 추이는 Fig. 1에 있고 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table I에 있다. 정맥 투여후 동맥 혈장농도는 각 농도에서 모두 polyexponential 하게 감소하였으며, 혈장 반감기는 각각 2.15, 2.10, 2.31 및 2.35 시간으로 투여량에 상관없이 일정하였으며, MRT (2.41, 2.83, 3.00 및 2.77시간), CL (26.6, 24.3, 23.5 및 20.7 ml/hr/kg), CLR (0.0834, 0.0800, 0.0573 및 0.229 ml/hr/kg) 및 V<sub>d<sub>ss</sub></sub> (63.4, 69.2, 70.1 및 57.2 ml/kg)도 투여량에 관계없이 일정한 값을 나타내었다. 이러한 결과는 Kinoshita 등(1992)이 발표한, 일본 Chugai 제약회사에서 만든 EPO의 rats에서의 반감기인 1.98~2.7시간, V<sub>d<sub>ss</sub></sub> 65~79 ml/kg와도 유사하였다. AUC는 Fig. 2에서 나타내었듯이 투여량에 비례하여 증가하였다. 이는 DA-3285가 dose-independent한 linear kinetics를 나타냄을 보여준다. 뇨중으로의 DA-3285 원체배설은

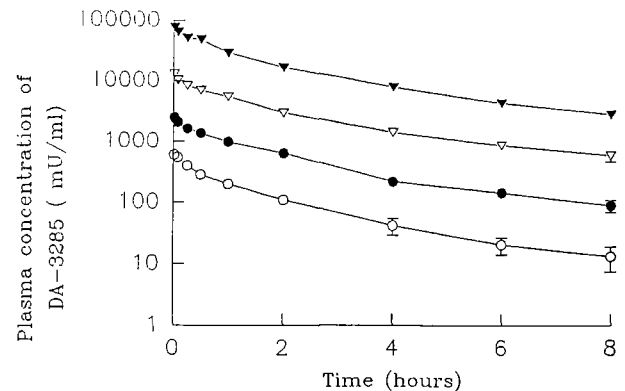


Fig. 1. Mean arterial plasma concentration - time profiles of DA-3285 after intravenous administration of the drug, 20 (○), 100 (●), 500 (▽) and 2500 (▼) units/kg to rats (n=5, each). Bars represent standard deviation.

Table I. Mean ( $\pm$  standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3285 after intravenous administration of the drug, 20, 100, 500, and 2500 units/kg to rats. (n=5)

pharmacokinetic parameters	Dose (units/kg)			
	20	100	500	2500
t <sub>1/2</sub> (hr)	2.15 $\pm$ 0.837	2.10 $\pm$ 0.230	2.31 $\pm$ 0.315	2.35 $\pm$ 0.123
AUC (mU hr/ml)	750 $\pm$ 86.6	3834 $\pm$ 384	21269 $\pm$ 1639	120725 $\pm$ 8038
AUMC(mU hr <sup>2</sup> /ml)	1865 $\pm$ 426	10227 $\pm$ 1217	64090 $\pm$ 9604	334217 $\pm$ 23765
MRT (hr)	2.41 $\pm$ 0.406	2.83 $\pm$ 0.174	3.00 $\pm$ 0.335	2.77 $\pm$ 0.137
CL (ml/hr/kg)	26.6 $\pm$ 3.09	24.3 $\pm$ 4.43	23.5 $\pm$ 1.75	20.7 $\pm$ 1.31
CLR (ml/hr/kg)	0.0834 $\pm$ 0.0750	0.0800 $\pm$ 0.0558	0.0573 $\pm$ 0.0343	0.229 $\pm$ 0.180
V <sub>d<sub>ss</sub></sub> (ml/kg)	63.4 $\pm$ 8.70	69.2 $\pm$ 10.3	70.1 $\pm$ 9.02	57.2 $\pm$ 5.29

t<sub>1/2</sub>, MRT, CL, CL<sub>R</sub> and V<sub>d<sub>ss</sub></sub> were not significantly different (p<0.05).

24시간까지 투여량의 1% 이하로 극히 소량이었는데, 이는 DA-3285가 주로 대사되어 배설되었기 때문으로 생각된다.

DA-3285, 100 units/kg을 rats에 정맥투여하였을 때의 조직분포를 Fig. 3에 나타내었으며, 각 조직에서의 농도와 tissue to plasma ratio (T/P ratio)는 Table II에 나타내었다. 투여후 30분에 모든 조직에서 농도가 제일 높게 나타났으며, 그 이후는 모든 조직에서 감소하였고, T/P ratio는 채취한

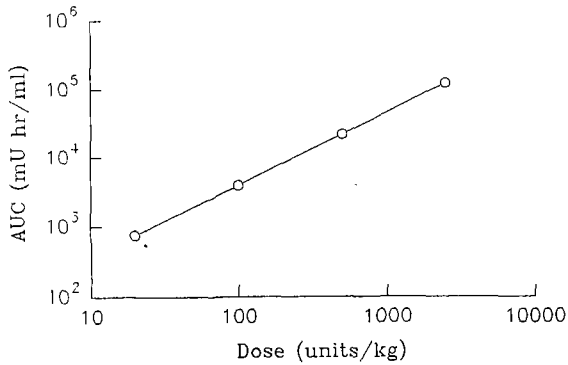


Fig. 2. Relationship between dose and AUC of DA-3285.

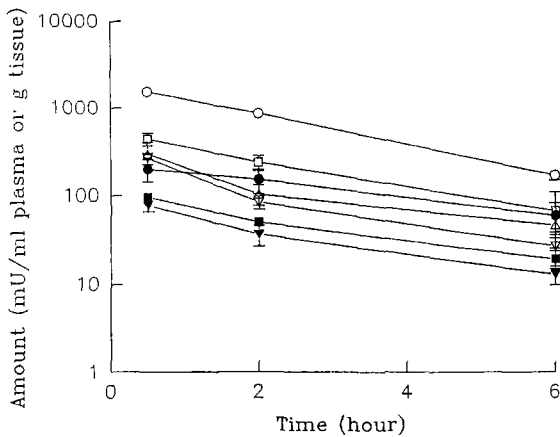


Fig. 3. Mean amount (mU/ml plasma or g tissue) of DA-3285 remaining in each tissue after i.v. administration of the drug, 100 units/kg to rats (n=5, each). Bars represent standard deviation. (○; plasma, ●; lung, ▽; kidney, ▼; liver, □; spleen, ■; heart, and △; bone marrow)

모든 시간에서 1.0 이하로 나타났다. 이러한 결과는 DA-3285의 조직과의 친화력이 약하다는 것을 나타내는데, 이는  $V_{d_{ss}}$ 값 (57.2~70.1 ml/kg)이 적게 나타난 결과 (Table II)와 일치한다. 비장과 골수, 폐중의 DA-3285 농도가 높았으며, 간에서의 농도는 가장 낮았다. 투여량이 적을수록 골수 및 비장의 T/P ratio는 증가한다고한다 (Kinoshita 등, 1991).

DA-3285, 100 units/kg을 단회 및 1주에 3번, 연속 3주간 반복 정맥 투여시의 평균혈장농도-시간 추이를 Fig. 4에 나타내었고 그에 해당하는 약물속도 정수를 Table III에 나타내었다. 단회투여시와 반복투여시 혈장농도 및 약물속도 정수는 통계적으로 유의차는 없었으나, 반감기가 반복투여군이 단회투여군보다 빠른 경향을 나타내었다. 이는 다른 문헌(Kinoshita 등, 1992)과 일치하는 결과로서 반복투여에 의해 EPO 대사에 관계하는 효소가 소량 증가하기 때문으로 생각된다.

DA-3285, 100 units/kg을 rat에 정맥 및 피하주사시 평균 혈장농도-시간 추이는 Fig. 5에 나타내었고 그에 해당하는 약물속도 정수를 Table IV에 나타내었다. 피하 투여시 혈장

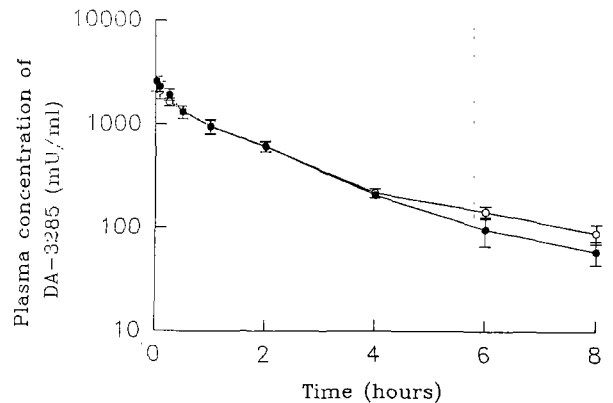


Fig. 4. Mean arterial plasma concentration-time profiles of DA-3285 after single (○, n=5) and multiple (●, n=4) intravenous administrations of the drug at a daily dose of 100 units/kg to rats.

Table II. Mean ( $\pm$  standard deviation) amount (mU/ml plasma or g tissue) of DA-3285 remaining in each tissue after intravenous administration of the drug, 100 units/kg to rats (n=5, each). The numbers in parenthesis represent tissue to plasma ratio.

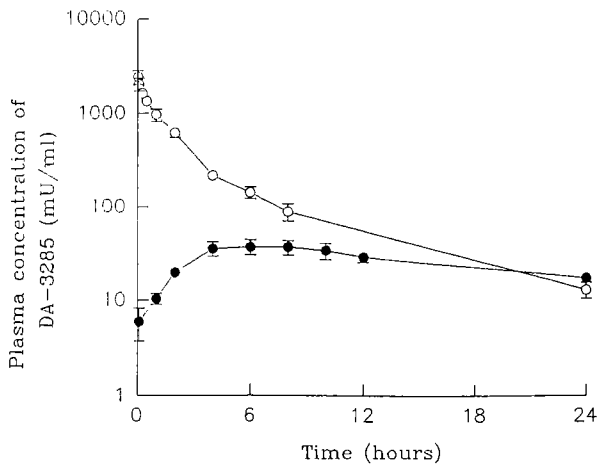
Tissue	Amount (mU/ml plasma or g tissue)		
	30 min	2 hr	6 hr
Plasma	1538 $\pm$ 78.2 (1.0)	858 $\pm$ 76.6 (1.0)	170 $\pm$ 20.6 (1.0)
Lung	199 $\pm$ 55.0 (0.128 $\pm$ 0.0315)	151 $\pm$ 46.1 (0.174 $\pm$ 0.0382)	59.5 $\pm$ 23.1 (0.350 $\pm$ 0.120)
Kidney	262 $\pm$ 39.6 (0.170 $\pm$ 0.0262)	83.8 $\pm$ 14.5 (0.0981 $\pm$ 0.0182)	27.1 $\pm$ 12.3 (0.158 $\pm$ 0.0631)
Liver	76.9 $\pm$ 11.6 (0.0499 $\pm$ 0.00808)	36.3 $\pm$ 9.62 (0.0422 $\pm$ 0.0104)	12.9 $\pm$ 3.09 (0.0783 $\pm$ 0.0271)
Spleen	441 $\pm$ 75.9 (0.285 $\pm$ 0.0434)	234 $\pm$ 44.8 (0.276 $\pm$ 0.0691)	67.5 $\pm$ 42.6 (0.429 $\pm$ 0.341)
Heart	95.9 $\pm$ 8.17 (0.0623 $\pm$ 0.00727)	49.5 $\pm$ 3.99 (0.0578 $\pm$ 0.00304)	19.4 $\pm$ 4.56 (0.114 $\pm$ 0.0213)
Bone marrow	296 $\pm$ 107 (0.191 $\pm$ 0.0717)	103 $\pm$ 27.5 (0.121 $\pm$ 0.0351)	46.1 $\pm$ 13.1 (0.277 $\pm$ 0.0857)

농도는 신속히 증가하다가 투여 후 6시간에 최대치를 나타내었으며, 그이후에는 혈장농도가 매우 천천히 감소하였는데, 이는 DA-3285가 신속히 흡수되는 것과 동시에 지속적으로 흡수되었기 때문으로 생각되며, 피하투여시 DA-3285의  $t_{1/2}$  및 MRT가 현저히 긴 것으로 증명된다. 피하 주

**Table III.** Mean ( $\pm$  standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3285 after single (n=5) and multiple (n=4) intravenous administration of the drug, 100 units/kg to rats.

pharmacokinetic parameters	Single administration	Multiple administration
$t_{1/2}$ (hr)	2.10 $\pm$ 0.230	1.87 $\pm$ 0.644
AUC (mU hr/ml)	3834 $\pm$ 384	3636 $\pm$ 344
AUMC (mU hr <sup>2</sup> /ml)	10227 $\pm$ 1217	8279 $\pm$ 1760
MRT (hr)	2.83 $\pm$ 0.174	2.27 $\pm$ 0.407
CL (ml/hr/kg)	24.3 $\pm$ 4.43	27.5 $\pm$ 2.86
CL <sub>R</sub> (ml/hr/kg)	0.0800 $\pm$ 0.0558	1.11 $\pm$ 0.682
Vd <sub>ss</sub> (ml/kg)	69.2 $\pm$ 10.3	61.1 $\pm$ 12.5

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



**Fig. 5.** Mean arterial plasma concentration-time profiles of DA-3285 after intravenous ( $\circ$ , n=5) and subcutaneous ( $\bullet$ , n=4) administrations of the drug, 100 units/kg to rats.

**Table V.** Mean ( $\pm$  standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3285 after intravenous administration of the drug, 100 units/kg to rats (n=5), mice (n=5, each), dogs (n=3) and rabbits (n=5).

pharmacokinetic parameters	rats	mice <sup>a</sup>	dogs	rabbits
$t_{1/2}$ (hr)	2.10 $\pm$ 0.230	2.78	4.01 $\pm$ 0.215***	3.05 $\pm$ 0.728*
AUC (mU hr/ml)	3834 $\pm$ 384	2708	7964 $\pm$ 196***	4036 $\pm$ 434
AUMC (mU hr <sup>2</sup> /ml)	10227 $\pm$ 1217	9206	44656 $\pm$ 3719*	16389 $\pm$ 4408*
MRT (hr)	2.83 $\pm$ 0.174	3.40	5.60 $\pm$ 0.344**	4.02 $\pm$ 0.739*
CL (ml/hr/kg)	24.3 $\pm$ 4.43	36.9	12.5 $\pm$ 0.321**	24.8 $\pm$ 2.74
CL <sub>R</sub> (ml/hr/kg)	0.0800 $\pm$ 0.0558	0.0190	0.0660 $\pm$ 0.0191	1.76 $\pm$ 0.496**
Vd <sub>ss</sub> (ml/kg)	69.2 $\pm$ 10.3	125	70.2 $\pm$ 2.80	97.6 $\pm$ 13.9*

<sup>a</sup>5 mice were sacrificed at each blood sampling time. Only mean values are listed. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ; Significantly different from the pharmacokinetic parameters of rats.

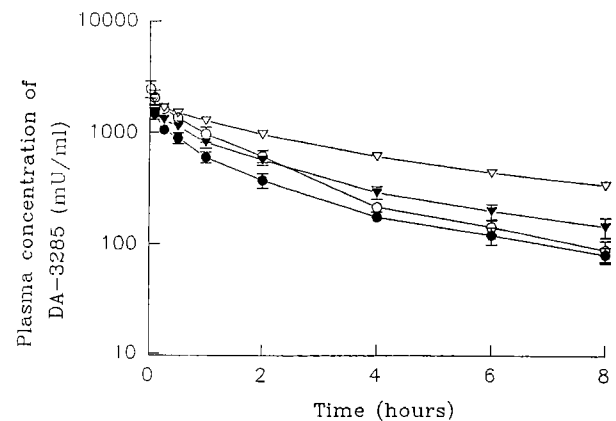
사시 생체내 이용율은 26.7%이었다.

DA-3285, 100 units/kg을 mice, rats, dogs, 및 rabbits에 정맥투여하였을 경우 평균혈장농도-시간추이를 Fig. 6에 나타내었고 그에 해당하는 약물속도정수는 Table V에 나타내었

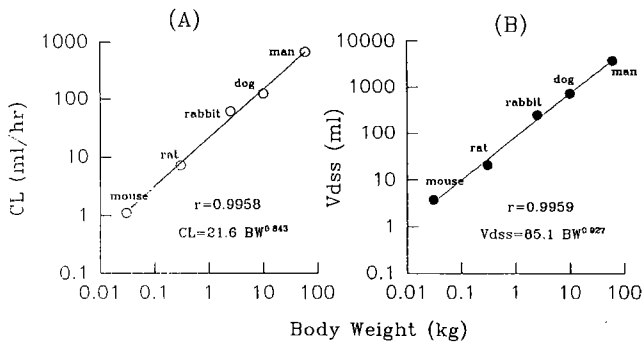
**Table IV.** Mean ( $\pm$  standard deviation) pharmacokinetic parameters of DA-3285 after intravenous (n=5) and subcutaneous (n=4) administration of the drug, 100 units/kg to rats.

pharmacokinetic parameters	Intravenous administration	Subcutaneous administration
$t_{1/2}$ (hr)	2.10 $\pm$ 0.230	14.9 $\pm$ 4.20**
AUC (mU hr/ml)	3834 $\pm$ 384	1025 $\pm$ 101***
AUMC (mU hr <sup>2</sup> /ml)	10227 $\pm$ 1217	26148 $\pm$ 8422*
MRT (hr)	2.83 $\pm$ 0.174	25.2 $\pm$ 5.90**
CL (ml/hr/kg)	24.3 $\pm$ 4.43	97.6 $\pm$ 9.89***
CL <sub>R</sub> (ml/hr/kg)	0.0800 $\pm$ 0.0558	1.15 $\pm$ 0.467*
Vd <sub>ss</sub> (ml/kg)	69.2 $\pm$ 10.3	2384 $\pm$ 404**

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ; Significantly different from the i.v. administration group.



**Fig. 6.** Mean arterial plasma concentration-time profiles of DA-3285 after intravenous administration of the drug, 100 units/kg to rats ( $\circ$ , n=5), mice ( $\bullet$ , n=5, each), dogs ( $\nabla$ , n=3) and rabbits ( $\blacktriangledown$ , n=5). Bars represent standard deviation.



**Fig. 7.** Interspecies correlation of DA-3285 between total body clearance and body weight (A), between volume of distribution and body weight (B). Linear regression was performed on logarithmically transformed data. Intercept and slope values were used to calculate coefficient and exponent, respectively.

다. 정맥주사후 모든 동물에서 혈장농도는 polyexponential 하게 감소하였으며 terminal phase에서의 반감기는 mice, rats, rabbits 및 dogs에서 각각 2.78, 2.10, 3.05 및 4.01 시간이었다. AUC는 mice, rats, rabbits 및 dogs에서 각각 2708, 3834, 4036 및 7964 mU hr/ml로 대동물로 갈수록 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 소동물로 갈수록 전체체중에 대한 간부계의 증가로 total body clearance가 증가한다는 것과 일치한다. Animal scale-up 하여 60 kg의 사람에서 DA-3285의 CL 및 Vdss를 구하였을 때 (Fig. 7) (Boxenbaum, 1982; Dedrick, 1973), 각각 11.4 ml/hr/kg 및 63.1 ml/kg이었다. 이는 Salmoson 등(1990)이 6명의 건강한 사람을 대상으로 임상실험한 논문에서의 결과인 CL (11.9±3.1 ml/kg/hr), Vdss (76.0±33.1 ml/kg) 값과도 일치하였다. 이상의 결과를 보면 동아제약(주) 연구소에서 자체개발한 유전자 재조합 CHO cell을 이용하여 생산한 재조합 사람 erythropoietin, DA-3285는 기존의 EPO와 유사한 약동력학적 특성을 갖는다고 생각되었다.

**감사의 말씀**

본 연구를 수행하고 결과를 해석하는데 많은 도움을 주신 서울대학교 이명걸 교수님께 감사의 뜻을 포함합니다.

**참고문헌**

Boxenbaum, H. (1982). Interspecies scaling, allometry, physiological time and the ground plan of pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **10**, 201-227.  
 Chiou, W. L. (1979). New calculation method for mean apparent drug volume of distribution and application to rational resimen. *J. Pharm. Sci.* **68**, 1067-1069.  
 Dedrick, R. L. (1973). Animal scale-up. *J. Pharmacokin.*

*Biopharm.* **1**, 435-461.  
 Fisher, J. W. (1993). Recent advances in erythropoietin research. *Prog. Drug. Res.*, **41**, 293-411.  
 Fu J. S., Lertora J. J., Brookins J., Rice J. C. and Fisher J. W., (1988), Pharmacokinetics of erythropoietin in intact and anephric dogs, *J. Lab. Clin. Med.*, **111**, 669-676.  
 Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982). *Pharmacokinetics, 2nd Edn.*, Marcel-Dekker., New York.  
 Guyton, A. C. (1991). Textbook of medical physiology (8th ed.). pp 344-364.  
 Jacobs, K., Shoemaker, C., Runderdorf, R., Neil, S. D., Kaufman, R. J., Mufson, A., Seehra, J., Jones, S. S., Hewick, R., Fritisch, E. F., Kawakita, M., Simizu, T., and Miyake, T. (1985). Isolation & characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin, *Nature.* **313**, 806  
 Kinoshita, H., Ohishi, N. and Okazaki, A. (1991). Preparation of iodine labeled recombinant human erythropoietin. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **41(I) Nr. 5**, 568-570.  
 Kinoshita, H., Ohishi, N., Kato, M., Tokura, S. and Okazaki, A. (1991). Comparative pharmacokinetics and distribution of human urinary erythropoietin and recombinant human erythropoietin in rats. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **41(II) Nr. 9**, 1004-1007.  
 Kinoshita, H., Ohishi, N., Kato, M., Tokura, S., and Okazaki, A. (1992). Pharmacokinetics and distribution of recombinant erythropoietin in rats. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **42(I) Nr.2**, 174-178.  
 Kinoshita, H., Ohishi, N. Kato, M., Tokura, S. and Okazaki, A. (1992). Distribution of recombinant human erythropoietin following multiple intravenous administration and effects of age on the distribution in rats. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **42(I) Nr. 4**, 579-584.  
 Lee, E. D., Shim, H. J., Lee, J. J., Lee, S. D., Kang, S. H., Kim, W. B. and Yang, J., (1994). Pharmacokinetics and tissue distribution of DA-3030 (recombinant human granulocyte colony-stimulating factor) after intravenous, intramuscular or subcutaneous administrations to the laboratory animals. *J. Appl. Pharmacol.*, **2**, 310-315.  
 McMahon, F. G., Vargas, R. Ryan, M. Jain, A. K., Abels, R. I., Perry, B., and Smith, I. L. (1990). Pharmacokinetics and effects of recombinant human erythropoietin after intravenous and subcutaneous injections in healthy volunteers. *Blood* **76**, 1718-1722.  
 Salmonson, T. Danielson, B. G. and Wikstrom, B. (1990). The pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin after intravenous and subcutaneous administration to healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmac.* **29**, 709-713.  
 Steinberg, S. E., Garcia, J. F., Matzke, G. R. and Mladenovic, J. (1986). Erythropoietin kinetics in rats: generation and clearance. *Blood* **67**, 646-649.  
 Weintrub, A. H., Gordon, A. S., Becker, E. L., Camiscoli, J. F. and Contrera, J. F. (1964). Plasma and renal clearance of exogenous erythropoietin in the dog. *Am. J. Physiol.*, **207**, 523-529.  
 Zhou, X. J. and Vaziri, N. D. (1992). Erythropoietin metabolism and pharmacokinetics in experimental nephrosis. *Am. J. Physiol.* **263**, F812-F815.