

랫드에서의 UTI의 약물동태학 및 조직 분포

정요찬¹ · 윤효인² · 조명행^{1*} · 박병권² · 박일현³ · 김복환⁴ · 송동호⁵

¹서울대 수의과대학, ²충남대 수의과대학, ³충남대 자연대, ⁴한국방송대학, ⁵(주)녹십자

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of UTI in the Rat

Yo-Chan JEONG¹, Hyo-In YUN², Myung-Haing CHO^{1*}, Byung-Kweon PARK²,
Il-Hyun PARK³, Bok-Hwan KIM⁴ and Dong-Ho SONG⁵

¹College of Veterinary Medicine, Seoul National University

²College of Veterinary Medicine,

³College of Natural Science, Chungnam National University

⁴Korea National Open University, ⁵Korea Green Cross Pharmaceutical Co.

(Received July 5, 1996; accepted September 20, 1996)

Abstract – The purpose of this study was to determine pharmacokinetic parameters and tissue distribution pattern of urinary trypsin inhibitor(UTI) in Sprague-Dawley rats. Na¹²⁵I was conjugated to UTI to make ¹²⁵I-UTI and the concentrations were determined by γ -counter. With the aid of nonlinear least-square regression analysis for i.v. bolus injection of 1,000 unit UTI including ¹²⁵I-UTI, the temporal concentration curves were best fitted by 2-compartment open model. The distribution phase half-life was 0.39 ± 0.02 hours whereas the elimination half-life was 12.99 ± 1.05 hours in male rats. The volume of distribution and total body clearance in male rats were 0.28 ± 0.01 l/kg and 83.16 ± 1.15 ml/kg/h, respectively. We could not find any difference of pharmacokinetic parameters of UTI between male and female rats. UTI were distributed widely in rat organs. In both male and female rats, the kidney was the highest distributed organ. Amount of UTI in 24 hour cumulative urine in male rats was $36.22 \pm 8.74\%$ and that in 48 hours was $43.32 \pm 10.55\%$. Excretion via feces was very scanty, with the 24 hours cumulative amount being only $2.76 \pm 0.97\%$. This data suggest the main excretion route of UTI is urine.

Keywords □ UTI, pharmacokinetics, tissue distribution, rats, urine, feces.

UTI(urinary trypsin inhibitor)는 요중으로 분비되는 물질로서 trypsin을 포함한 단백분해효소의 작용을 억제하는 물질이다(Hirano 등, 1993; Paskhina 등, 1988). 이 물질은 임신부 요에 다량으로 배설되기 때문에 정상 생체조건에서 일탈된 경우에 있어 생체 방어 기전을 높여주는 것으로 생각되고 있다(Astrup과 Nissen, 1964). UTI는 요독증, 감염성 질환 또는 악성종양과 병태생리 상태에 있어서도 다량으로 분비되므로 이들 질환과 깊은 상관성이 시사되어 왔는데(Halina 등, 1988; Lehtovirta 등, 1990), Okumuchi 등(1984)은 UTI가 악성종양 주위의 결합조직에서 높은 면역반응성을 나타내어 숙주방어기전을 상승시킨다고 보고하였으며, 그밖에 내피세포의 성장인자(McKeehan 등, 1986) 또는 급성 발열시 방어인자(Odum 등, 1987; Sailer, 1983)의

역할을 수행하고 있음이 밝혀진 바 있다. 특히 최근 췌장염의 발병 원인이 trypsin의 kinin system 활성화로 촉발되는 각종 췌장 효소의 기능 항진에 의해 일어날 수 있다는 사실이 보고된 이래(Blackberg 등, 1994; Uehara 등, 1989), UTI의 췌장염에 대한 치료약물로서의 기대가 매우 높아지고 있다.

UTI는 정상적으로 생체에서 분비되는 분자량 67,000의 당단백으로서(須見洋行 등, 1988) 외부에서 투여된 UTI를 생체시료로부터의 정량분석은 생체 분비 UTI 및 분자량이 유사한 albumin 등과 같은 물질로 말미암아 HPLC 등과 같은 기기분석은 한계를 가질 수밖에 없다. 단백질 의약품의 분석을 위해 SRID(Maehara 등, 1985), RIA(Usui 등, 1984), ELISA(Yoshida 등, 1987) 등을 이용할 수 있으나 정량에는 표준화되어야 할 점이 많고 분석한계치도 높아 약물동태학 분석 및 경시적 조직 농도 측정에는 적합하지 않다고 생각

* To whom correspondence should be addressed.

된다. Radiotracing에 의한 UTI의 분석은 방사선 동위원소 사용상의 문제점은 있으나 특이성이 높고 매우 낮은 농도에서 검출이 가능하기 때문에 이러한 용도의 연구에 매우 적합한 기법이다(Crooke 등, 1994; Doebler 등, 1995). 한편 단백질의 ^{125}I 표지를 위해 비공극성 polystyrene beads에 chloramine-T 분자를 비동화시킨 Iodo-beads^(R)는 항혈청(Markwell, 1982), 신장아세포(Kornecki 등, 1984), 콜레라균 표면세포(Richardson과 Parker, 1985) 등에 있는 단백질을 변성시키지 않으면서 효율 높게 표지화할 수 있다고 보고되어 있어 UTI의 표지화에도 응용될 수 있을 것으로 생각된다.

Jonsson-Bering과 Ohlsson(1991)은 방사선 동위원소가 표지된 UTI를 정맥 투여하였을 때 사람의 혈액에서는 5분째의 방사능을 기준하여 7시간후의 것은 1%에 상당하였고, 랫드의 혈액에서는 투여 1시간의 성적이 1분후 값의 15%에 해당되었다고 하였다. 그러나 그 밖의 연구자에 의해 UTI의 약물동태학적 연구는 보고되지 않고 있어 이들의 성적을 비교 분석할 수 없다.

본 연구에서는 국내 연구진이 개발한 UTI를 solid phase의 chloramine-T를 이용하여 ^{125}I 표지화시켜 랫드에 투여함으로써 약물동태학 및 조직 분포 특성을 연구하였다.

실험방법

공시약품 및 재료

주식회사 녹십자로부터 공급받은 UTI로서 분자량 67,000의 당단백질을 이용하였으며 기타 실험에 사용된 약물은 시약급 이상의 약물을 사용하였다. UTI의 방사선 동위원소 접합에 사용한 I^{125} 는 NaI^{125} 로서 Amersham(U.K.)으로부터 구입하였으며, 접합 UTI의 정량은 감마 카운터(Packard, U.S.A.)를 이용하여 분석하였다. 접합 UTI의 분획회수는 PD-10(Pharmacia, Sweden) 칼럼을 이용하였다.

실험동물

서울대학교 실험동물사육장에서 사육중인 Sprague-Dawley 랫드 숫컷 18마리(157.6 ± 10.2 g), 암컷 20마리(180.8 ± 13.5 g)를 분양받아 본 실험에 사용하였다. 이들 동물은 항온(온도: 21 ± 2 °C), 항습(55 ± 3 %) 그리고 무진, 무균의 청정 조건하에서 사육하였으며 충분한 순화기간을 거친 것만을 본 시험에 이용하였다. 사육기간 및 시험기간에 음수 및 실험동물용 고형사료(천하제일)를 자유급식시켰다.

I^{125} -UTI의 조제 및 분획의 수거

비공극성 polystyrene bead에 N-chloro-benzenesulfonamide가 유도체화된 Iodobead^(R)(Pierce사, U.S.A.) 2 개를 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5)로 세척한 후 여지상에서 건

조시켰다. 따로 준비된 $500 \mu\text{Ci NaI}^{125}$ (Amersham, U.K.)가 함유된 0.1 M phosphate buffer $500 \mu\text{l}$ 에 상기 bead를 넣어 5 분 동안 반응시켜 여기에 단백질 1 mg에 해당되는 UTI를 첨가하여 6-8분간 반응하여 UTI에 ^{125}I 를 접합시켰다. ^{125}I -UTI 분획을 수거하기 위하여 Sephadex G-25로 충전된 PD-10 칼럼(Pharmacia, Sweden)을 이용하여 13방울씩 분획을 모으고 각 분획마다 γ -counter(Packard, U.S.A.)를 이용하여 방사능을 측정하고, 따로 Bradford 법(1976)에 의해 단백질을 정량하여 가장 적합한 분획을 모아 시험에 사용하였다.

UTI 투여 및 혈액 및 조직의 채취

UTI를 동물에 투여하기 위하여 먼저 I^{125} -UTI를 방사선 비표지 UTI와 혼합하여 총 1,000 unit(단백질 $306.5 \mu\text{g}$ 상당) 투여용액을 만들어 사용하였다. 조제된 약물을 Sprague Dawley 랫드의 미정맥에 체중 1 kg당 1,000 단위를 투여하였다. UTI의 약물동태학 분석은 3마리의 웅성과 5마리의 자성에서 시행하였으며 가검혈액은 약물 투여전(0시간)과 투여후 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48시간에 안와정맥 총에서 0.5 ml을 각각 채취하였다. 이들 혈액을 실온에 방치한 후 다시 원심분리(3,500 rpm, 15분)하여 혈청을 얻었으며 방사능 측정전까지 -80 °C에 보관하였다. 한편 조직 채취는 암수 30마리(웅성 15마리, 자성 15마리)에서 시행하였는데 UTI 투여후 1, 6, 12, 24, 48시간에 동물을 순차적으로 6마리(웅성 3마리, 자성 3마리)씩 도살시켜 폐, 골수, 심장, 간장, 비장, 췌장, 신장, 부신, 위, 소장, 대장, 근육 그리고 고환(웅성) 또는 난소(자성)를 각각 채취하였다. 한편 UTI의 요중 및 분변 배설을 측정하기 위하여 위 약물동태학 시험시에 사용하고 있는 시험동물(웅성 3마리와 자성 5마리)을 1마리씩 동물용 대사케이시(Nalgen, U.S.A.)에 넣고 24시간 및 48시간까지의 요와 분변을 채취하였다.

약물동태학

UTI의 약물동태는 PCNONLIN(SCI, USA)으로 분석하였다. Two-compartment open model에서의 주요 동태학적 파라미터는 A, B, α , β , AUC, $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$, Vd, Vss, Cmax 등이었으며 모델 비의존 동태학적 파라미터로 MRT, AUMC 및 Cl_B 를 구하였다.

실험결과

^{125}I -UTI 접합

시험에 제공된 UTI는 분자량 67,000의 생체 분비 당단백으로서 이 물질을 외부에서 투여하였을 때 생체 유래 UTI 및 비슷한 분자량의 단백질에 의한 방해로 생체성분에서의 정량분석이 어렵기 때문에 UTI에 ^{125}I 접합을 시도하였다. 단백질량으로 환산할 때 1 mg에 해당되는 UTI에 $500 \mu\text{Ci NaI}^{125}$ 를 Iodobead(Pierce사)를 이용하여 접합시킨 후 PD-10

칼럼상에서 분획당 13 방울로 하여 총 32 개의 분획을 수거한 결과, 분획 3, 4, 5, 6에서 높은 방사능을 가지고 있음을 확인하였다. 이들 4개 분획의 방사능은 분획 3이 95,078, 300, 분획 4가 229,455,600, 분획 5가 64,653,200 그리고 분획 6이 33,383,000 cpm으로서 투입 방사능 총량의 약 38.0%에 해당되었다. 한편 이들 분획을 모아 단백질량을 계산한 결과 총 투입 단백질량의 25.4%에 해당되는 단백질 함량이 측정됨으로써 I^{125} -UTI가 작제되었음을 확인하였다.

UTI와 I^{125} -UTI의 혼합

UTI의 추천 투여용량인 1,000 단위/kg를 랫드에 투여하여 생체 각 조직에서의 UTI 농도를 측정하기 위해 상기 작제된 I^{125} -UTI와 UTI의 혼합을 시도하였다. UTI 1,000 단위당 I^{125} -UTI가 방사능으로서 3, 4.5, 6, 9 Ci에 해당되는 양을 혼합하여 동물에 투여하여 24 시간 이후에 생체조직에서 6 및 9 μ Ci에서 측정이 가능함을 확인함에 따라 본 시험에서는 동물 1 kg 용량인 UTI 1,000 단위에 6.8 μ Ci에 해당되는 I^{125} -UTI를 혼합시켜 이후 생체 실험을 진행하였다.

혈청에서의 UTI의 경시적 변화

Sprague-Dawley 랫드의 미정맥에 상기 혼합 UTI 1,000 unit/kg를 투여하여 최초로 채혈한 15분째 혈청 방사능을 100으로 하였을 때 나타나는 경시변화를 Fig. 1에 나타내었다. 3마리의 웅성과 5마리의 자성 랫드에서의 평균값으로 표시되는 UTI의 혈청에서의 거동은 초기의 신속한 분포상과 이에 연이은 보다 완만한 소실상으로 이루어진 2개의 체액분구로 설명이 가능한 양상을 띄고 있었다. 각 동물에서의 혈청 농도 값을 가지고 상용 약물동태학 분석 프로그램인 PCNONLIN에서 two-compartment 모형으로 분석한 결과 전 동물에서 AIC가 최소 13에서 최고 35의 범위를 나타냄으로써 상기 설명을 뒷받침할 수 있었다. UTI의 혈청에서의 반감기는 분포상에 있어서 웅성의 경우 0.39 ± 0.02 시간 그리고 자성의 경우 0.34 ± 0.11 시간이었으며, 소실상

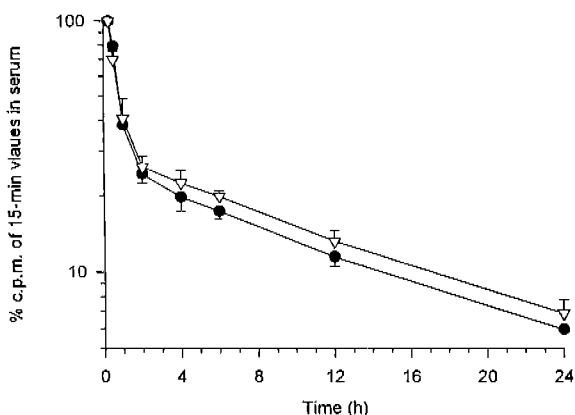


Fig. 1. Mean serum % c.p.m against the value at 15 minutes after intravenous administration of 1,000 unit/kg of I^{125} -UTI in 3 male (●) and 5 female (▽) rats.

의 반감기는 웅성은 12.99 ± 1.05 시간 그리고 자성은 12.65 ± 2.49 시간을 나타내었는데 암수간의 차이는 인정되지 않았다. 분포용적은 웅성은 0.28 ± 0.01 l/kg 그리고 자성은 0.29 ± 0.05 l/kg이었다. 한편 0시간때의 추정 최고 혈중농도는 웅성이 3.56 ± 0.14 unit/ml 그리고 자성이 3.47 ± 0.48 unit/ml로서 역시 성차에 따른 차이를 나타내지 않았다. 한편 모델 비의존성 파라미터인 전신클리어스는 웅성은 83.16 ± 1.15 ml/kg/h, 그리고 자성은 81.77 ± 4.05 mg/kg/h이었으며, AUMC는 웅성 194.57 ± 17.52 unit · h²/ml, 자성 200.74 ± 45.47 unit · h²/ml이었으며 MRT는 암수 모두 16시간 이상이었다. 그 밖의 UTI 약물동태학적 파라미터는 Table I에 요약되어 있다.

조직 중 UTI의 경시적 변화

UTI의 Sprague Dawley 랫드에서의 조직분포를 알아보기 위해 방사능 표지가 된 UTI가 혼합된 UTI 용액을 체중 kg당 1,000 단위의 비율로 미정맥에 투여한 후 1, 6, 12, 24, 48 시간째에 암수 각 3 마리를 도살시켜 폐, 골수, 심장, 간

Table I. Pharmacokinetic parameters of UTI in rats after intravenous administration of I^{125} of 1,000 unit/kg

Parameters	male (n=3)	Female (n=5)
A (unit/ml)	3.01 ± 0.10	2.86 ± 0.21
B (unit/ml)	0.55 ± 0.02	0.62 ± 0.06
α (h ⁻¹)	1.77 ± 0.04	2.18 ± 0.28
β (h ⁻¹)	0.23 ± 0.18	0.06 ± 0.01
AUC (unit · h/ml)	12.03 ± 0.17	12.25 ± 0.60
$t_{1/2\alpha}$ (h)	0.39 ± 0.02	0.30 ± 0.11
$t_{1/2\beta}$ (h)	12.99 ± 1.05	12.65 ± 2.49
K_{10} (h ⁻¹)	0.30 ± 0.01	0.28 ± 0.05
K_{12} (h ⁻¹)	1.21 ± 0.07	1.52 ± 0.44
K_{20} (h ⁻¹)	0.32 ± 0.03	0.43 ± 0.11
V_d (l/kg)	0.28 ± 0.01	0.29 ± 0.05
C_{max} (unit/ml)	3.56 ± 0.14	3.47 ± 0.48
Cl_B (ml/kg/h)	83.16 ± 1.15	81.77 ± 4.05
AUMC (unit · h ² /ml)	194.57 ± 17.52	200.74 ± 45.47
MRT (h)	16.17 ± 1.26	16.29 ± 3.15

Abbreviation of Pharmacokinetic Parameters;

- A (Extrapolated zero-time serum concentration of the α phase)
- B (Extrapolated zero-time serum concentration of the β phase)
- α (Slope of the distribution phase of serum drug concentration)
- β (Slope of the distribution phase of serum drug concentration)
- AUC (Area Under the Curve)
- $t_{1/2\alpha}$ (Half-life of the α phase of drug disposition)
- $t_{1/2\beta}$ (Half-life of the β phase of drug disposition)
- V_d (Apparent volume of distribution)
- V_{ss} (Volume of distribution at steady state)
- C_{max} (Maximal serum concentration)
- MRT (Mean residence time)
- AUMC (Area under the first moment curve)
- Cl_B (Total body clearance)

Table II. Tissue distribution of UTI in rats after intravenous injection of I^{125} -UTI

Tissue	Male (n=15)					Female (n=15)				
	1 hr	6 hr	12 hr	24 hr	48 hr	1 hr	6 hr	12 hr	24 hr	48 hr
Lung	0.98±0.20	0.35±0.07	0.14±0.01	0.07±0.01	0.02±0.01	0.47±0.07	0.34±0.09	0.27±0.05	0.03±0.00	0.02±0.00
Bone marrow	0.48±0.26	0.18±0.05	0.07±0.00	0.05±0.01	0.07±0.01	0.32±0.05	0.21±0.05	0.17±0.06	0.02±0.00	0.01±0.01
Heart	0.44±0.05	0.18±0.02	0.09±0.00	0.03±0.01	0.01±0.00	0.20±0.04	0.15±0.04	0.11±0.02	0.02±0.00	0.01±0.00
Liver	0.72±0.03	0.42±0.01	0.16±0.01	0.07±0.02	0.05±0.00	0.65±0.13	0.41±0.13	0.39±0.03	0.17±0.01	0.11±0.02
Spleen	0.62±0.03	0.39±0.14	0.16±0.04	0.06±0.02	0.02±0.00	0.66±0.17	0.35±0.15	0.28±0.09	0.21±0.04	0.08±0.02
Pancreas	1.83±0.42	0.75±0.16	0.20±0.07	0.06±0.01	0.09±0.01	0.32±0.07	0.19±0.05	0.18±0.03	0.03±0.00	0.01±0.01
Kidney	5.51±1.51	1.72±0.13	0.92±0.02	0.49±0.04	0.18±0.01	3.33±0.44	1.58±0.23	0.85±0.09	0.43±0.00	0.20±0.01
Adrenal gland	1.01±0.05	0.53±0.12	0.18±0.07	0.11±0.01	0.04±0.02	0.37±0.07	0.15±0.03	0.23±0.10	0.14±0.11	0.01±0.01
Stomach	1.82±0.15	0.78±0.17	0.36±0.04	0.13±0.05	0.02±0.00	2.13±0.44	1.25±0.25	0.63±0.30	0.10±0.01	0.03±0.00
Small intestine	1.00±0.11	0.37±0.05	0.14±0.02	0.10±0.06	0.02±0.00	0.46±0.07	0.29±0.09	0.28±0.05	0.03±0.00	0.02±0.01
Large intestine	2.69±1.93	0.50±0.18	0.81±0.61	0.08±0.03	0.03±0.00	0.31±0.09	0.26±0.06	0.30±0.08	0.02±0.01	0.01±0.00
Testis	0.34±0.03	0.24±0.08	0.11±0.02	0.03±0.01	0.01±0.00	-	-	-	-	-
Ovary	-	-	-	-	-	0.47±0.11	0.33±0.08	0.26±0.07	0.04±0.0	0.05±0.01
Muscle	0.87±0.28	0.47±0.28	0.14±0.01	0.13±0.00	0.08±0.01	0.21±0.04	0.08±0.01	0.07±0.01	0.01±0.00	0.00±0.00

*Three rats in each group, data are the mean (unit)±S.E.

Table III. Cumulative excretion of UTI in rat urine and feces after intravenous administration of I^{125} -UTI

		Cumulative excretion (%)	
		Male (n=3)	Female (n=5)
Urine	Up to 24 hr	36.22± 8.74	28.66± 8.95
	Up to 48 hr	42.32±10.55	43.25±12.56
Feces	Up to 24 hr	2.76± 0.97	3.07± 1.57
	Up to 48 hr	3.41± 0.51	4.40± 1.59

장, 비장, 췌장, 신장, 부신, 위, 소장, 대장, 근육과 고환(웅성) 또는 난소(자성)를 채취하여 방사능을 측정 한 후 UTI 단위로 환산한 결과를 Table II에 요약하였다. 투여 후 1시간째에 도달한 웅성 랫드에서 UTI가 가장 높게 분포한 장기는 신장으로서 5.51±1.51 unit/g이었으며 대장, 췌장, 위, 부신, 소장, 폐, 근육, 간, 비장, 골수, 심장, 고환순으로 높은 농도를 나타내었다. 투여 후 1시간째에 도달한 자성 랫드 장기의 경우도 신장이 가장 높아 3.33±0.44 unit/g이었으며 비장, 간, 난소, 폐, 소장, 부신, 췌장, 골수, 대장, 근육, 심장의 차례로 농도가 높았다. 투여 후 6시간째에 도달한 웅성 랫드에서 가장 높은 분포를 보였던 장기도 역시 신장이었으며 이러한 경향은 도달 48시간째까지 나타났으며, 자성의 경우도 동일하였다.

UTI의 분변 및 요중 배설

약물동태학 시험시에 사용하고 있는 랫드(웅성 3마리 및 자성 5마리)를 동물용 대사 케이지에 각각 1마리씩 분리하여 넣은 후 24 시간 및 48 시간 동안에 분변 및 요중으로 배설되는 UTI의 양을 측정하였다(Table III). UTI는 주로 요로 배설되고 있었으며 24시간의 웅성 랫드 요에서의 누적 배설량은 투여총량의 36.22±8.74% 그리고 48 시간의 그것은 42.32±8.74%이었으며, 자성 랫드의 경우도 이와

유사한 성적을 얻었다. 분변중으로 배설되는 UTI의 양은 매우 근소하여 웅성 랫드의 경우 24시간에 2.76±0.97% 그리고 48시간에는 3.41±0.51%에 불과하였으며 자성 랫드의 경우도 이와 유사한 경향을 나타내었다.

고 찰

약물을 임상적으로 이용하기 위해 체내동태와 조직 분포적 특성을 아는 것이 매우 중요하며 이를 위하여 생체 조직 중의 약물 분석기법 확립이 선행되어야 한다. 그러나 UTI는 고분자 생체물질(M.W. 67,000)일 뿐 아니라 정상 생체 내에도 존재하고 있어 GC, HPLC, 분광광도기 등 일반적인 분석기법으로 분석하기가 용이하지 않다. 일반적으로 단백질 분석을 위해서는 효소면역법이 많이 이용되고 있으나 UTI의 경우 내인성 UTI에 의해 방해가 될 수 있어 본 시험에서는 특이성이 높고 분석감도가 높은 방사선 표지법을 선택하였다. 일반적으로 단백질의 방사선 표지는 I^{125} 를 이용하는데 기존의 방법은 용액 상태에서 산화제인 chlroamine-T를 이용함에 따라 반응 종결 후 환원제로 중화시키는 번거로움이 있었고 무엇보다도 단백질 변성이 주요 문제점으로 대두되고 있었다(Richardson 등, 1985). 따라서 본 시험에서는 고체 matrix에 상기 산화제가 입혀져 있는 시판 Iodobead를 이용하여 위에 열거한 단점을 보완하고자 하였다(Markwell, 1982; Korenecki 등, 1984). Sephadex G-25 칼럼을 이용하여 I^{125} -UTI 분획을 모아 방사선을 측정 한 결과 총 32 개의 분획 중 3, 4, 5, 6에서 높게 검출됨과 동시에 단백질량도 높아 초기에 용리되는 분획들의 단백질이 방사선이 표지됨을 확인하였는데 이러한 사실은 UTI의 분자량을 고려해 볼 때 당연한 결과라고 사료된다. 생체 실험을 수행

하기 위해 방사선 표지 및 비표지 UTI를 혼합비율을 결정하기 위해 여러 시험조건하에서 실시한 결과 UTI 1,000 unit에 6.8 μ Ci에 해당되는 ^{125}I -UTI를 혼합시킨 것이 적합한 것으로 사료되었으며 일본에서 제제화된 UTI의 용량을 참고하여 체중 1 kg당 위의 표지 UTI를 포함하여 총 1,000 unit를 투여하였는 바 가검 혈청 및 조직에서 시험 전 기간에 걸쳐 측정이 가능하였다.

Sprague-Dawley 랫드에 있어서 UTI는 투여후 15분째 혈청의 방사능을 기준으로 하여 계산할 때 웅성에서 30분째는 $79.26 \pm 2.79\%$ 이었고 1시간에는 $38.12\% \pm 0.42\%$ 로서 거의 2/3가 그리고 자성에서 같은 조건으로 해석할 30분에는 $69.89 \pm 5.33\%$ 와 1시간에는 $45.68\% \pm 14.00\%$ 로 1/2 이상이 혈장으로부터 각각 소실됨으로써 신속하게 배설 또는 체내 분포를 보이고 있음을 알 수 있었다. 사람에게 있어서 UTI의 약물동태학을 연구한 다른 보고(Jonsson-Berling과 Ohlsson, 1991)에서도 투여후 1분째의 방사능을 기준으로 할 때 7시간에는 측정이 가능하지 않을 정도로 신속하게 소실되고 있는 사실과 관련시켜 볼 때 UTI의 순환혈액으로부터의 소실은 매우 신속하다고 결론지을 수 있겠다. 본 시험에서는 1시간 이후에 채혈한 가검혈청에서는 보다 완만하게 소실되어 웅성의 경우 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간에는 15분의 그것을 기준으로 하여 각각 $24.40 \pm 1.99\%$, $19.74 \pm 2.28\%$, $17.40 \pm 1.28\%$, $11.47 \pm 0.94\%$, $5.92 \pm 0.16\%$ 이었으며 48시간의 가검혈청에서는 측정이 되지 않았다. 한편 자성의 경우도 비슷한 양상을 나타내어 위의 시간순으로 $32.66 \pm 14.90\%$, $28.12 \pm 12.90\%$, $25.97 \pm 13.80\%$, $17.20 \pm 9.01\%$, $7.16 \pm 1.11\%$ 이었으나 웅성과는 달리 48시간에도 $4.50 \pm 1.73\%$ 이 잔존하고 있었다. 이와 관련하여 Jonsson-Berling과 Ohlsson (1991)이 보고한 논문이 제시한 사람에서의 표지 UTI의 경시적 그래프를 자세히 검토하였는 바, 위에서 7시간째에 측정이 가능하지 않다고 보고한 내용은 가검혈청의 방사능을 측정하고 난 후 다시 이를 겔침투 칼럼을 통과하여 유리 ^{125}I 분획의 방사능의 값을 공제한 결과에 의해 해석한 것으로서 가검혈청의 방사능으로만 표시할 때 우리의 결과와 유사하였다. 본 시험에서의 UTI의 혈액중 경시적 변화를 PCNONLIN에 의해 분석한 결과 시험 전 동물에서 2-compartment 모형으로 curve fitting이 잘 수행이 되었으며 이때의 AIC는 13-35의 높은 값을 취하고 있어 랫드에서의 UTI의 혈중 약물동태학 모형은 2-compartment에 의해 설명이 가능하다고 해석하였다(Akaike, 1978). 본 시험에서는 랫드의 성차가 UTI의 약물동태학적 파라미터에 미치는 영향도 아울러 관찰하였는데 분포상의 반감기는 웅성에서 0.39 ± 0.02 시간 그리고 자성에서 경우 0.34 ± 0.11 시간이었으며, 소실상의 반감기는 웅성은 12.99 ± 1.05 시간 그리고 자성은 12.65 ± 2.49 시간으로 암수간의 차이를 인정할 수 없었다. 랫드에 있어서 일반적인 약물동태학적 특성

은 웅성은 빠른 짧은 반감기를 나타내고 있는데(Quin 등, 1958; 윤 등, 1995) 반하여 UTI는 성차에 따른 유의한 차이를 나타내지 않음을 알 수 있었다. 분포용적은 웅성은 0.28 ± 0.01 l/kg 그리고 자성은 0.29 ± 0.05 l/kg으로서 세포 침투력은 거의 없을 것으로 추정이 되었으며, 전신클리어스는 웅성은 83.16 ± 1.15 ml/kg/h 그리고 자성은 81.77 ± 4.05 mg/kg/h으로서 UTI는 신속하게 배설되고 있다고 사료된다.

UTI를 투여한 후 1시간에 도살한 웅성 랫드에서는 신장, 대장, 췌장, 위, 부신, 소장, 폐, 근육, 간, 비장, 골수, 심장, 고환순으로 높게 측정되었으며 검사 전 장기에 걸쳐 넓게 분포하고 있음을 확인하였다. 가장 높게 분포된 신장의 농도는 5.51 ± 1.51 unit/g으로서 가장 낮은 고환의 그것인 0.34 ± 0.03 unit/g보다 12.5 배가 높았다. 간의 경우 검사 장기 가운데 중증도의 분포를 나타내었는데 이러한 사실은 UTI가 간에서 크게 대사되지 않는 것과 상관성을 가지고 있을 것으로 생각되었다. 같은 시간에 도살한 자성 랫드에서도 검사 전 장기에 분포를 나타내었는데 신장, 비장, 간, 난소, 폐, 소장, 부신, 췌장, 골수, 대장, 근육, 심장순이었다. 웅성 및 자성 랫드에서 6시간, 12시간, 24시간에 도살한 장기에서도 거의 비슷한 경향을 나타내고 있다(Table 2). 특히 언급할 만한 점은 도살 전 시간에서 걸쳐 모든 가검장기 중 신장이 가장 높은 농도를 나타내었으며 다른 장기는 시간이 경과함에 따라 급격하게 감소되는데 비해 신장의 경우 시간이 경과함에도 불구하고 상대적으로 높은 농도를 나타낸 결과는 UTI가 주로 신장에서 배설되고 또 재흡수된다는 보고 (Jonsson-Berling과 Ohlsson, 1991)를 참조하면 설명이 가능할 것으로 생각된다. 이러한 사실은 본 연구의 UTI의 요 및 분변배설 시험에서도 확인되었는데 대사케이지를 이용하여 24시간 동안 수거한 요에서 $36.22 \pm 8.74\%$ (웅성), $28.66 \pm 8.95\%$ (자성)가 회수되었고 48시간 동안 누적 계산한 한 요에서는 $42.32 \pm 10.55\%$ (웅성), $43.25 \pm 12.56\%$ (자성)이 검출되었는데 생체 배설 시험에 사용한 동물은 실험방법에서 언급한 바와 같이 약물동태학 시험과 동시에 진행되었기 때문에 채혈과정에서 유실되는 양을 고려해 볼 때 높은 용량이 요중으로 배설됨을 알 수 있었다. 특히 같은 시험에서 분변중으로 배설되는 양이 24시간에 $2.76 \pm 0.97\%$ (웅성), $3.07 \pm 1.57\%$ (자성) 그리고 48시간 누적계산량이 $3.41 \pm 0.51\%$ (웅성), $4.40 \pm 1.59\%$ (자성)을 비교해 볼 때 UTI는 주로 요를 통하여 배설된다고 사료되었다.

이상의 실험결과를 요약하면 외부에서 투여한 UTI는 ^{125}I 표지법에 의해 측정할 수 있었으며, 랫드 kg당 1000 unit를 정맥주사하였을 때의 약물동태학적 특성은 2-compartment로 설명이 가능하였고 체외로 빠르게 소실됨을 확인할 수 있었다. 한편 UTI는 생체내 각종 조직에도 넓게 분포하고 있음을 확인할 수 있었으며 그 중에서도 신장에 가장 높게 분포하고 있었으며 주로 요를 통하여 배설되고 있었다.

감사의 글

본 연구는 서울대학교 수의과대학 부설 수의과학연구소의 연구비 지원에 의하여 이루어 졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Akaike, A. (1978). Posterior probabilities for choosing a regression model. *Anal. of Institute of Mathematical Statistics* **30A**, 9-14.
- Astrup, T. and Nissen, U. (1964). Urinary trypsin inhibitor (mingin): transformation into a new trypsin inhibitor by acid hydrolysis or by sialidase. *Nature* **203**, 255-257.
- Blackberg, M. and Ohlsson, K. (1994). Studies on the release of tissue kallikrein in experimental pancreatitis in the pig. *Eur. Surg. Res.* **26**, 116-124.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Crooke, S.T., Grillone, L.R., Tendolkar, A., Garrett, A., Fratkin, M.J., Leeds, J. and Barr, W.H. (1994). A pharmacokinetic evaluation of ¹⁴C-labelled afovirsen sodium in patients with genital warts. *Clin. Pharmacol. Ther.* **56**, 641-646.
- Doebler, J.A., Wiltshire, N.D., Mayer, T.W., Estep, J.E., Moeller, R.B., Traub, R.K., Broomfield, C.A., Calamaio, C. A., Thompson, W.L. and Pitt, M.L. (1995). The distribution of [¹²⁵I]ricin in mice following aerosol inhalation exposure. *Toxicol.* **98**, 137-149.
- Halina, H., Lehtovirta, P. and Stenman U.H. (1988). Tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) in ovarian cancer. *Br. J. Cancer.* **57**, 304-307.
- Hirano, T., Manabe, T. and Tobe, T. (1993). Effect of urinary trypsin inhibitor on pancreatic cellular and lysosomal fragility in cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Dig. Dis. Sci.* **38**, 660-664.
- Jonsson-Berling, B.M. and Ohlsson, K. (1991). Tissue distribution and elimination of intravenously injected urinary trypsin inhibitor. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* **51**, 549-557.
- Korenecki, E., Davis, T.B. and Ehrlich, Y.H. (1984). Iodination of membrane surface proteins of neuroblastoma glioma cells. Abstract presented at the American Society of Neurochemistry. 15th Annual Meeting, March 12-16.
- Lehtovirta, P., Turpeinen, U. and Stenman, U.H. (1990). Effect of intracavitary radiotherapy on tumor-associated trypsin inhibitor (TATI) in patients with cervical and endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* **38**, 110-113.
- Maehara, S., Kawashita, E., Himeno, Y., Ishibe, T., Toki, N., Sumi, H., Tanaka, Y. and Sasaki, K. (1985). Immunochemical determination of the serum protein reacting with antibody against human urinary trypsin inhibitor by single radial immunodiffusion: use of polyethylene glycol. *J. Immunol. Methods.* **80**, 117-123.
- Markwell, M.A.K. (1982). A new solid-state reagent to iodinate proteins: conditions for the efficient labelling of antiserum. *Anal. Biochem.* **125**, 427-432.
- McKeehan, W., Sakagami, Y., Hoshi, H. and McKeehan, K. (1986). Two apparent human endothelial cell growth factor from human hepatoma cells are tumour-associated proteinase inhibitors. *J. Biol. Chem.* **261**, 5378-5383.
- Odum, L., Hansen-Nord, G. and Byrjalsen, I. (1987). Human inter- α -trypsin inhibitor and immunologically related inhibitors investigated by quantitative immunoelectrophoresis. *Clin. Chim. Acta.* **162**, 189-198.
- Okumuchi, T., Nishiki, M., Takasugi, S., Toki, N. and Ezaki, H. (1984). Isolation of urinary trypsin inhibitor-like inhibitor from human lung cancer tissue. *Cancer Res.* **44**, 2011-2015.
- Paskhina, T.S., Platonova L.V. and Poliantseva, L.R. (1988). Trypsin inhibitor in the urine of patients with glomerulonephritis. *Vopr. Med. Khim.* **34**, 89-94.
- Quin, G.P. and Aselrod, J. (1958). Species, strains and sex difference in metabolism of hexobarbitone, amiodopyrin, antipyrine and aniline. *Biochem. Pharmacol.* **1**, 152-159.
- Richardson, K. and Parker, C. D. (1985). Identification and characterization of Vibrio cholerae surface proteins by radioiodination. *Infect. Immun.* **48**, 87-93.
- Sailer, J.P., Sesboue R., Verraigne, D., Bourguignon, J. and Martin, J.P. (1983). Inter- α -trypsin inhibitor (ITI): use of new antisera for quantitative studies and discrete quantitation of ITI and its derivatives. *Anal. Biochem.* **133**, 336-343.
- 須見洋行, 浜田博喜, 吉田悦男, 美原恒. (1988). 酸安定化トリプシンインヒビタ-關聯物質の構造, 機能および生体内分布. *Blood Vessel*, **19**, 545-557.
- Uehara, S., Honjyo, K., Furukawa, S., Hirayama, A. and Sakamoto, W. (1989). Role of the kallikrein-kinin system in human pancreatitis. *Adv. Exp. Med. Biol.* **247B**, 643-648.
- Usui, T., Maehara, S., Kawashita, E., Ishibe, T. and Sumi, H. (1984). Radioimmunological quantitation of urinary trypsin inhibitor. *Enzyme* **31**, 11-16.
- Yoshida, E., Sumi, H., Matuyama, M., Mihara, H. and Sasaki, R. (1987). Development and application of an enzyme-linked immunosorbent assay for acid stable trypsin inhibitor (ASTI) in human plasma. *Clin. Chim. Acta.* **167**, 155-164.
- 윤효인, 박승춘, 박종명, 조준형, 이문환. (1995). Rat에서 설파메타진의 대사 및 약물동태학. 대한 수의학회지. **35**, 691-698.