

재조합 인간 상피세포성장인자(DWP401)의 흰쥐에서의 약물동태

정주영[#] · 고여옥 · 남권호 · 조재열 · 박승국 · 유영호 · 김재환 · 한 건* · 박명환 · 심창구**
(주) 대웅제약 중앙연구소, *충북대학교 약학대학, **서울대학교 약학대학

(Received March 14, 1997)

Pharmacokinetics Of Recombinant Human Epidermal Growth Factor (DWP401) in Rats

Joo Young Chung[#], Yeo Wook Koh, Kwon Ho Nam, Jae Youl Cho,
Seung Kook Park, Young Hyo Yu, Jae Hwan Kim,
Kun Han*, Myung Hwan Park and Chang Koo Shim**

R & D Center, Daewoong Pharmaceutical Co., Sunnam, Kyunggi-Do 462-120, Korea

*College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

**College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—Pharmacokinetics of DWP401, a recombinant human epidermal growth factor (rhEGF), was studied using radioimmunoassay (RIA) and ¹²⁵I-DWP401 in rats. When DWP401 was administered *i.v.* at doses of 50 and 500 µg/kg, the plasma DWP401 disappeared biexponentially with terminal half life of 4.7 and 92.8 min. The C_{max} and T_{max} after *s.c.* administration of it at doses of 50 and 500 µg/kg were determined to be 23.6 and 17.5 ng/ml at 50 µg/kg, and 261.4 ng/ml and 36.9 min, respectively. Both the total urinary and biliary recoveries of intact DWP401 were very low (<0.4%), probably due to its extensive degradation in the body. The concentration ratio of DWP401 between the organ and plasma decreased especially in the liver and kidney as the dose and time after the dose increased. For example, the liver/plasma and kidney/plasma concentration ratio of DWP401 at 2.5 min after *i.v.* doses of 50 µg/kg were comparable and much larger than unity. But, the ratio at 2.5 min after *i.v.* dose of 500 µg/kg was much larger in the kidney than in the liver. These results suggest that the systemic administration of DWP401 might be subject to rapid and extensive clearance from circulation within several hours after main distribution to liver and kidney.

Keywords □ DWP401, recombinant human epidermal growth factor, pharmacokinetics, rat

인간 상피세포성장인자 (human epidermal growth factor, hEGF)는 53개의 아미노산으로 구성된 분자량 6,000의 단백질^{1, 3)}로서 상피세포 뿐 아니라 각종 섬유아세포 각막내피세포 등의 성장과 증식을 촉진하고 피부레이, 화상, 각막손상등의 각종 상처, 위산분비 억제, 케양조직의 재생에도 효과가 있다고⁴⁻⁸⁾ 알려져 있다. 현재까지 hEGF의 약물동태에 대한 연구는 hEGF를 흰쥐에 정맥주사했을 때 100 µg/kg용량이상

에서는 체내동태에 포화현상이 일어나고 혈중 농도의 반감기는 수분이내로 매우 짧으며⁹⁻¹⁰⁾ 주요 분포기관은 간과 신장¹¹⁾이고 이러한 기관에서 총 클리어런스의 각각 70% 와 20%를 담당하고 있는 것¹²⁾으로 보고되고 있다. 또한, hEGF의 대사체도 요 및 담즙을 통하여 배설된다고¹³⁾ 한다. 그러나, 피하주사후의 약물동태에 관한 연구는 생체이용률을 증대시키는 목적으로 주로 전신흡수적인 측면에서 보고된 것⁹⁾이 있을 뿐, 분포 배설에 대한 보고는 없다. 또한, hEGF의 종래의 정량방법인 enzyme immunoassay (EIA)는 RIA보다 감도와 선택성이 낮아 50 µg/kg등과 같은 저용량을 투여할때

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0342-41-7700 (팩스) 0342-731-7554

의 혈중 농도인 pg/ml수준의 EGF양을 정량하기가 어려워 정확한 약물동태학 성질을 파악하는데 어려움이 있었다. 한편, DWP401은 (주)대웅제약 중앙연구소에서 제조한 재조합 인간상피세포 성장인자로서 국소 상처치료제로 개발 중인 물질인데 유전자 재조합으로 제조된 단백질의약품의 경우 그 물리화학적 성질은 같더라도 생물학적 활성, 생체내에서의 체내동태는 서로 다를 수 있으므로 DWP401에 대한 안전성 및 유효성에 대한 주요인자로서 피하주사 및 정맥주사 후의 체내동태를 연구하고자 하였다. 즉, 본 연구에서 흰쥐에 DWP401을 정맥 및 피하로 주사한 후 DWP401의 체내동태특성과 혈장단백질결합, 혈구분배등을 ¹²⁵I-DWP401를 이용하여 방사면역측정법 (Radioimmunoassay, RIA) 으로 측정하고 기보고된 hEGF 문헌들과 비교하였다.

실험방법

시약 및 기기 - DWP401은 대웅제약에서 제조한 대장균으로부터 생산되어 정제된 재조합 인간 상피세포 성장인자로서 순도 99% (HPLC)이상의 것을 사용하였고, 방사성동위원소 표지키트, RIA에 사용되는 ¹²⁵I-DWP401은 Amersham에서, CNBr activated Sepharose는 Pharmacia, RIA에 사용되는 시약들은 Sigma에서 구입하였고 기타 시약은 특급(GR grade)을 사용하였다. 방사선 측정장치인 감마카운터 (γ-counter)는 Packard Cobra II (Packard, UK)를 사용하였으며 원심분리기는 Beckman microfuge 11을 사용하였다.

실험동물 및 사육조건 - DWP401의 약물동태학연구에 사용한 실험동물로서는 6-8주령의 Sprague Dawley (SD) 수흰쥐를 한국실험동물원에서 분양받아 사용하였다. 흰쥐는 실험전 약 1주일간 순화시켰으며 건강한 동물만을 실험에 사용하였다. 시험기간 중 사육환경은 통상적인 조건 (온도 23±2°C, 습도 60±10%)을 유지하였고, 사료와 물을 자유롭게 섭취시켰다.

약물투여 및 검체 채취

혈장중 동태 연구 - 약 200 g되는 SD계 수흰쥐를 군당 3 내지 5마리씩 에텔로 마취시킨 뒤 각각에 대하여 대퇴정맥 및 동맥에 폴리에틸렌관(PE-50, Intramedic, Clay Adams Co.)을 삽관하고 마취가 완전히 회

복된 후에 DWP401을 생리식염수에 용해하여 50 또는 500 µg/ml로 제조하고 정맥 또는 피하로 50 µg/kg 및 500 µg/kg의 용량으로 투여하였다. 50 µg/kg 용량에서는 주사 후 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30 분에 500 µg/kg 용량에서는 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240분에 약 200 µl씩 채혈한 후 100 unit 헤파린함유 생리식염수 200 µl를 즉시 보충해주고 혈액은 즉시 원심분리 (13,000 rpm, 2 min)하여 혈장을 분리한 후 정량시까지 -20°C에서 보관하였다.

요중 배설연구 - 혈장중 동태연구와 동일한 투여경로, 투여용량으로 약물을 투여한 후 metabolic cage에 넣어 24시간 동안 요를 수집하고 부피를 측정한 후 정량시까지 -20°C에서 보관하였다. 요의 부피는 요의 비중을 1.0으로 하여 중량으로부터 환산하였다. 요중배설률은 투여한 DWP401의 양에 대한 배설된 DWP401의 양의 비로부터 계산하였다.

담즙중 배설연구 - 흰쥐를 에텔로 가볍게 마취시키고 복부 정중선을 2~3 cm 정도 절개하여 총담관을 분리해 낸 다음, 간에 가까운 부위 약 0.5~1 cm사이에서 폴리에틸렌관(PE-10, Intramedic, Clay Adams Co.)을 삽관하여 담즙을 채취하였다. 약물은 DWP401을 생리식염수에 용해하여 50 또는 500 µg/ml로 조제하여 정맥 또는 피하로 50 µg/kg 및 500 µg/kg의 용량으로 투여하였다. 담즙은 24시간까지 채취하였고 정량시까지 -20°C에서 냉동 보관하였다. 담즙의 부피는 비중을 1로 보고 무게를 측정하여 이로부터 구하였다. 담즙중 배설률은 투여한 DWP401의 양에 대한 배설된 DWP401의 양의 비로부터 계산하였다.

RIA에 의한 혈장 및 요중의 DWP401 농도분석 - DWP401의 정량은 Gregory등¹⁴⁾이 개발한 RIA방법을 감도가 높게 변형하여 사용하였다. 혈장 및 요의 시료를 RIA 검량선에 들도록 적절히 희석하고 200 µl를 취하여 100,000:1로 희석한 anti-DWP401 polyclonal antiserum 100 µl와 혼합한 후 2시간 동안 반응시킨 다음 100 µl의 ¹²⁵I-hEGF (Amersham Co., 10,000 cpm)과 잘 섞어 4°C에서 18시간동안 반응시켰다. 형성된 항체와 항원(DWP401)복합체를 항원과 분리시키기 위해서 PEG 침전법을 변형하여 사용하였다. 즉, 시료에 100 µl의 normal rabbit serum (20:1희석), 200 µl의 anti-rabbit immunoglobulin goat IgG (100:1희석), 500 µl의 6% (w/v) 폴리에틸렌글리콜을 순차적으로 넣어준 다음 vortex mixer로 잘 섞어 주고 실온

에서 30분간 방치하였다. 시료를 원심분리 (13,000 rpm, 10분)한 후 그 침전물의 방사능을 Packard γ -counter를 이용하여 측정한다. 다음 RIAsmart 프로그램을 이용하여 자동적으로 시료중의 DWP401양을 계산하였고 체내동태와 관련된 각종파라미터는 R-strip 프로그램을 이용하여 계산하였다. DWP401의 정량은 대용제약에서 제조한 표준물질로 만든 검량선과 비교하여 결정되었으며 표준물질은 2회, 시료는 3회반복하여 정량하였다. 본시험에 사용한 polyclonal 항체는 흰쥐 혈장단백질 및 흰쥐 EGF와 교차반응을 일으키지 않는 것으로 나타났지만 혈장시료는 최소 2:1, 요시료는 최소 10:1이상 희석하여 사용하였다.

^{125}I -DWP401의 제조 - 분포, 혈장단백결합 및 혈구분배 측정시험에 사용한 시험물질은 DWP401에 방사성 동위원소인 ^{125}I 를 표지시킨 ^{125}I -DWP401과 DWP401을 투여용량에 맞게 배합하여 사용하였다. ^{125}I -DWP401은 (주)대용제약 연구소에서 순도 99%이상으로 정제 제조한 DWP401에 방사성 동위원소 sodium iodide 125 (^{125}I -Na, Amersham Co.)를 표지시켜 제조하였다. 방사선 표지는 Pierce 사의 N-chloro-benzulfonamide sodium salt 를 이용한 iodination 방법을 이용하였다. DWP401에 결합되지 않은 ^{125}I -Na는 Sephadex G-25 칼럼으로 제거하였고, ^{125}I -DWP401은 void volume에서 용출되었다. ^{125}I -DWP401은 비활성도 7~10 $\mu\text{Ci}/\text{nmol}$, 겔 여과 칼럼으로 순도 96% 이상 그리고 15% trichloroacetic acid에 의한 침전시험 결과 순도 95% 이상임을 확인한 후 사용하였다.

^{125}I -DWP401의 조직분포 - 약 200 μg 되는 SD계 숫 흰쥐를 군당 3 내지 5마리씩 에텔로 마취시킨 뒤 각각에 대하여 ^{125}I -DWP401 과 DWP401을 생리식염수에 용해하여 10⁷ cpm/50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 10⁸ cpm/500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 제조한 후 정맥 또는 피하로 투여하였다. 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량에서는 정맥주사 후에 2.5분, 60분에, 피하주사 후에는 15분, 60분에 1 ml를 채혈하고 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량에서는 정맥주사에 2.5분, 180분 피하주사에 45분 180분에 1 ml를 채혈한 후 원심분리하여 혈장을 얻고 즉시 perfusion하여 간장, 신장, 소장, 위, 안구, 소량의 피부를 도려낸 후, 각 장기의 무게를 측정하고 각 장기를 가위로 잘게 자른 후 장기무게의 3배에 해당하는 50 mM 아세트산 (pH 3.1)을 넣고 Polytron으로 완전히 파쇄시킨 후 그 중 1 ml (안구는 0.5 ml)를 취하여 γ -counter (Packard, cobra II)로 방사능을 측정하

였다.

데이터의 분석은 투여된 ^{125}I -DWP401방사능에 대한 각 장기의 방사능의 비율 및 혈장에 대한 장기중의 농도 비율을 각각 (1) 및 (2)식으로 부터 계산하였다.

$$\text{비율} = \frac{^{125}\text{I-DWP401 방사능에 대한 각 장기의 방사능의}}{\text{투여된 방사능 (cpm)}} = \frac{\text{측정 cpm/ml} \times (\text{vol}) \times \text{장기무게 (g)}}{\text{투여된 방사능 (cpm)}} \quad (1)$$

$$\text{혈장에 장기중의 } ^{125}\text{I-DWP401 농도비율} = \frac{\text{전체장기의 cpm} \div \text{장기무게 (g)}}{\text{혈장중농도 (cpm/ml)}} \quad (2)$$

단, 혈장의 경우는 측정 cpm/ml \times (3.5 ml/100 g) \times 동물무게¹⁵⁾를 전체장기의 ^{125}I -DWP401양으로 보았다.

실험결과

DWP401의 RIA분석방법 - 단백질의약품은 양이 소량이라도 그 효력이 강하게 나타나고 약물동태실험에서 소량이 검출되므로 μg 단위의 측정한계를 갖는 HPLC로는 정확한 양을 정량할 수 없다. 따라서, pg level에서 측정이 가능한 RIA방법을 사용하였다. RIA방법에 의한 DWP401의 전형적인 검량선을 Fig.

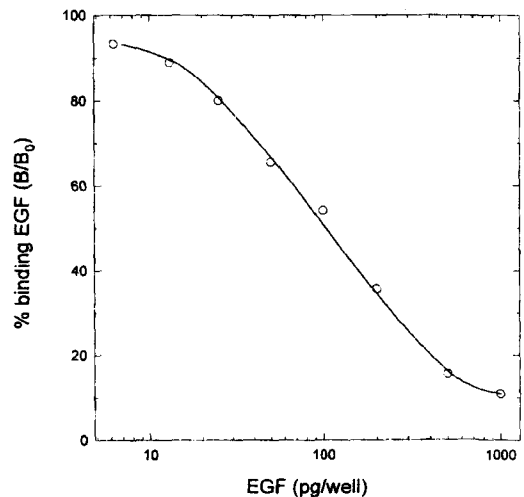


Fig. 1— Calibration curve of standard DWP401 by radioimmunoassay. The curve shows the amount (%) of radioactive bound DWP401 for various dose of DWP401 (B) expressed as a ratio of that bound with DWP401 alone (B₀). Each point represents the mean of at least 3 trials.

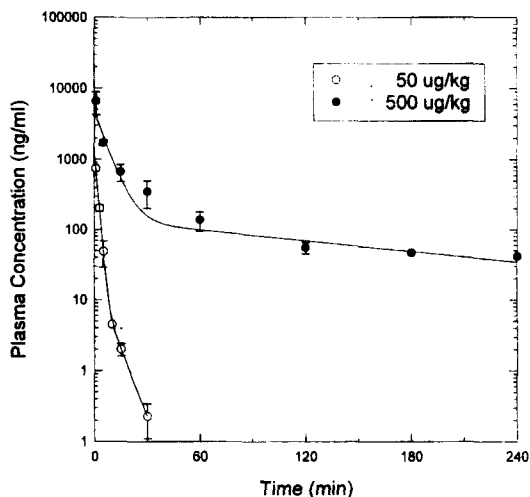


Fig. 2 — Plasma concentration of DWP401 after i.v. administration in rats, determined by RIA. ○ : 50 μg/kg. ● : 500 μg/kg.

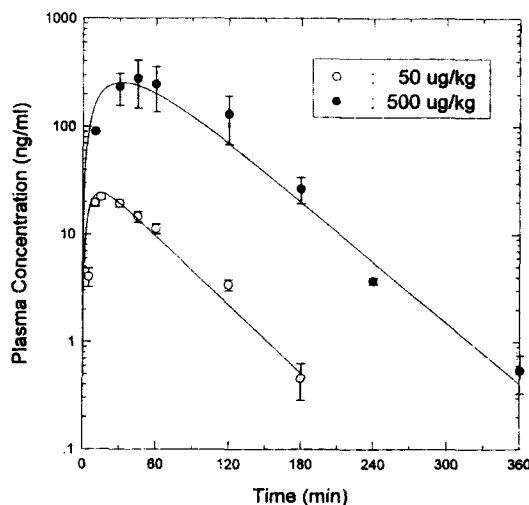


Fig. 3 — Plasma concentration of DWP401 after s.c. administration in rats, determined by RIA. ○ : 50 μg/kg. ● : 500 μg/kg.

Table I — Pharmacokinetic parameters of DWP401 in rats

	i.v.		s.c.	
	50 μg/kg	500 μg/kg	50 μg/kg	500 μg/kg
$t_{1/2}(\alpha)$ (min)	0.8±0.1	5.7±1.9	-	-
$t_{1/2}(\beta)$ (min)	4.7±0.9	92.8±13.9	31.4±2.2	28.4±3.0
AUC (μg·min/ml)	2.3±0.1	52.8±3.5	1.4±0.1	23.8±8.5
T_{max} (min)	-	-	17.5±2.2	36.9±0.8
C_{max} (ng/ml)	-	-	23.6±0.8	261.4±116.5
Cl_t (ml/min·kg)	22.1±0.7	9.6±0.6	-	-
Bioavailability (%)	-	-	63.1±1.8	45.1±16.1

Each value represents the mean±S.E. of 5 determinations.

1에 나타내었다. Fig. 1에서 보듯이 정량범위는 20 내지 500 pg/tube이고 상관계수는 0.995이상이었으며 상관계수의 변동은 10% 이내였다. 본 분석방법에 쓰인 항체는 RIA방법에서 100,000:1로 희석되어 있고 흰쥐 혈장단백질과 교차반응을 일으키지 않는 것으로 나타났으며 본 시험의 최소검출농도는 6 pg/tube였다.

흰쥐 혈장중 DWP401의 농도추이 - DWP401을 50 μg/kg 과 500 μg/kg의 용량으로 대퇴정맥으로 투여한 후 시간별로 혈장중의 농도를 RIA방법으로 측정

한 것을 Fig. 2에 나타내었다. 혈중농도 추이는 두용량 모두에서 biphasic 지수곡선을 보였다. R strip 프로그램으로 2-컴파트먼트 모델에 의해 fitting하여 구한 속도론적 파라미터를 Table I에 표시하였다. 분포후상(β상)에서의 소실반감기는 50 μg/kg일 때 4.7분, 500 μg/kg일 때 92.8분으로 혈중에서 빠르게 소실되는 것으로 나타났으며 고용량에서 증가하는 경향을 보였고 전신클리어런스는 고용량에서 감소하는 현상이 나타났다. 50 μg/kg, 500 μg/kg의 용량으로 피하로 투여한 후 시간별로 혈장중의 농도를 RIA방법으로 측정한 것을 Fig. 3에 나타내었다. AUC값은 각각 1.43, 23.85 μg·min/ml로써 고용량에서 증가했으며 생체이용률은 각각 63.5, 45.1%로 용량에 따라 약간 차이를 보였으나 유의성을 나타내지 않았다. Fig. 2 와 Table I에서 보듯, 투여용량이 증가함에 따라 $t_{1/2}(\alpha)$, $t_{1/2}(\beta)$ 가 증가하는 사실로부터 대퇴정맥투여후의 DWP401의 체내동태는 비선형성을 보임을 알 수 있었다. 따라서, 엄밀한 의미에서 Fig. 2의 데이터를 선형 2-컴파트먼트 모델에 따라 해석할 수는 없다. 그러므로, Table I에서는 편의를 위하여 $t_{1/2}(\alpha)$, $t_{1/2}(\beta)$ 를 제외하고는 모델비의존성 파라미터만을 택하여 비교하였다.

요중 및 담즙중 DWP401회수율 - DWP401을 50 μg/kg, 500 μg/kg의 용량으로 대퇴정맥 및 피하로 투여한 후 24시간까지의 누적요중 및 담즙중의 농도를

Table II—Urinary and biliary recovery of DWP401 for 24 hr after i.v. or s.c. administration in rats

Dose (μg/kg)	Injection route	Urinary Recovery (%)	Biliary Recovery (%)
50	i.v.	0.10±0.02	0.36±0.19
	s.c.	0.17±0.04	0.27±0.05
500	i.v.	0.26±0.10	0.34±0.11
	s.c.	0.16±0.07	0.28±0.06

Each value represents the mean±S.E. of 5 determinations.

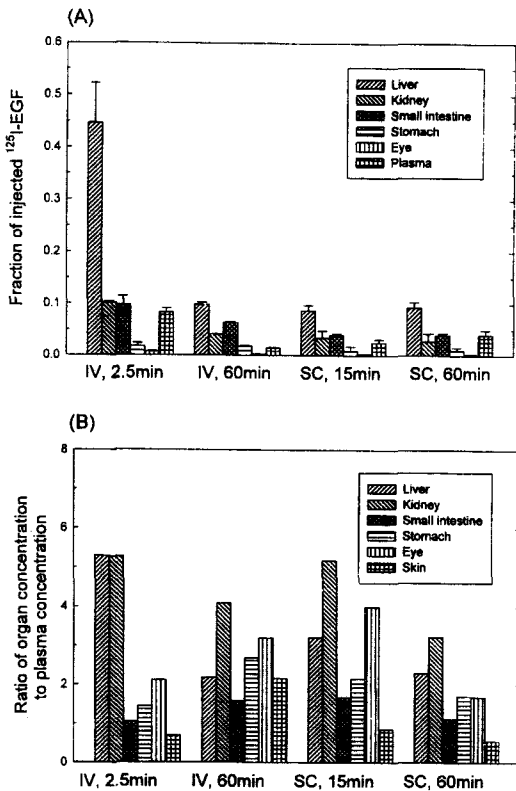


Fig. 4—Tissue distribution of DWP401 after i.v. or s.c. administration of 50 μg/kg ¹²⁵I-DWP401 in rats. (A): fraction of injected radioactivity in the entire organ. (B): Ratio of tissue concentration to plasma concentration (cpm/ml) of ¹²⁵I-DWP401.

RIA방법으로 측정한 것을 Table II에 나타내었다. 요 중 및 담즙중 회수율은 0.4%로 이하로 투여용량, 투여 경로에 관계없이 극히 적게 관찰되었다.

생체조직중 분포 - ¹²⁵I-DWP401을 10,000,000 cpm/50 μg/kg, 100,000,000 cpm/50 μg/kg의 용량으로 대퇴정맥 및 피하로 투여한 후의 투여방사능에 대한 각 장기중 잔존 방사능의 비율을 Fig. 4 및 Fig. 5에

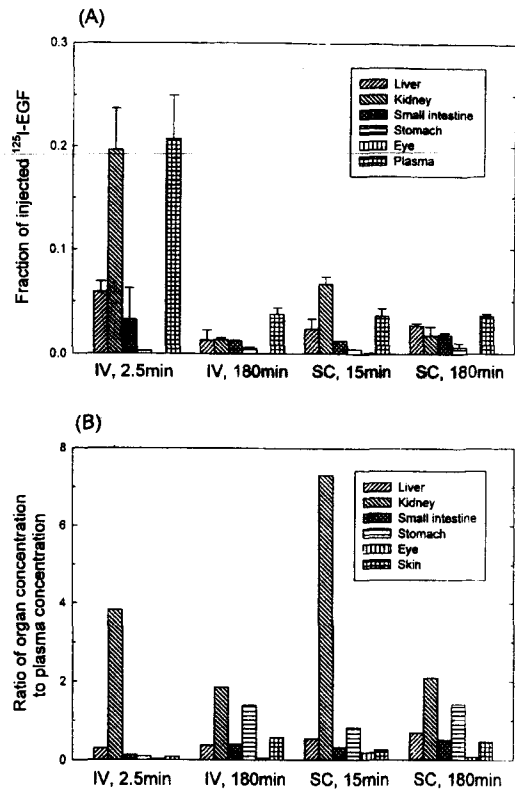


Fig. 5—Tissue distribution of DWP401 after i.v. or s.c. injection of 500 μg/kg ¹²⁵I-DWP401 in rats. (A): fraction of injected radioactivity in the entire organ. (B): Ratio of tissue concentration to plasma concentration (cpm/ml) of ¹²⁵I-DWP401.

나타내었다. Fig. 4 (A)에서 보듯 50 μg/kg용량의 DWP401을 정맥투여한 2.5분 후에 총투여량의 43%가 간장에, 11%가 신장에 분포하고 나머지가 소장, 혈장, 위 에 분포하는 것으로 나타났다. 그러나, 한시간이 경과 한 후에는 간장에 10% 정도만 분포할 정도로 급속히 감소하였으나, 신장과 소장에서는 약간의 감소가 보였고 위, 안구에서는 큰 변화가 없었다. 이를 Fig. 4(B)에서 처럼 조직 g당 방사능의 양을 살펴보면 신장과 간장에서 동일 비율로 가장 잘 분포하는 것으로 나타났고 DWP401수용체가 존재하는 피부의 분포는 혈장과 비슷하였으나, 60분 후에 약간 증가함을 보였다. Fig. 4 (A)에서 보듯 피하로 투여한 경우에도 신장과 간장이 주요분포기관이라는 것은 관찰되었으나, 정맥주사때 만큼 뚜렷한 경향은 보이지 않았고 전체방사능 분포양도 정맥주사시 보다 적게 나타났다. Fig. 5(A)에서 보듯 500 μg/kg의 ¹²⁵I-DWP401을 투여했을 때에도 주요

분포기관은 간장과 신장으로 나타났으며 특히 투여초기(2.5분)에는 신장과 혈장 (21%)에 압도적으로 많이 분포하였다. 또한, 정맥투여의 경우 저용량에서 ^{125}I -DWP401의 조직으로의 이행성(장기농도/혈장 중 농도)은 간과 신장, 소장에서 1보다 커서 이행성이 매우 좋음을 알 수 있었다. 그러나, Fig. 5(B)에서 보듯 투여 180분 후에는 이들 장기에서의 이행성이 급격히 낮아지는 사실로부터 이들 장기에서 DWP401의 소실(대사)이 현저함을 추정할 수 있었다.

고 찰

DWP401의 안전성과 유효성을 결정하는데 중요한 인자가 되는 흰쥐에서의 체내 동태를 RIA법을 이용하여 연구하였다. DWP401을 정맥투여하였을 때의 속도론적 파라미터를 enzyme immunoassay(EIA)로 분석한 보고⁹⁾와 비교해보면 DWP401을 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 용량으로 정맥 주사하였을 경우 소실상반감기는 4.7분으로 문헌치(3.85분)와 대체로 일치하는 경향을 보였다. 문헌⁹⁾의 경우 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 용량에서는 1-컴파트먼트 모델로 설명하였는데 EIA보다 감도가 10배정도 뛰어난 RIA방법으로 측정된 우리의 측정결과는 분명히 두개의 지수곡선으로 설명될 수 있었다. 이러한 사실은 TCA침전법으로 분석한 혈장중 hEGF농도가 두개의 지수곡선을 보인 보고¹⁰⁾가 뒷받침해준다. DWP401을 피하주사하였을 경우의 생체 이용률이 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 63.1%, $500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 에서는 45.1%로 관찰되어 문헌치⁹⁾ (70.7%)보다는 약간 낮은 것으로 나타났는데 이는 사용제제 즉, 본 실험에서는 생리식염수를 사용하였고 문헌에는 Tris를 사용한 점, 측정방법의 차이 등이 원인일 수 있다. Kim 등¹¹⁾의 보고에 의하면 전신클리어런스는 간장에서 70% 신장에서 20%가 이루어진다고 하였는데 본 분포실험과 요중배설률 측정실험을 종합해볼 때 DWP401의 급속한 체내 소실은 DWP401이 간장과 신장에 급속히 분포하여 대사되며 대사된 후에 신속히 요중으로 배설되기 때문이라고 판단할 수 있다.

DWP401의 요중 회수율은 RIA방법으로 측정했을 때 0.1 내지 0.3%로 극히 낮았는데 이는 0.8%의 요중회수율을 보인 보고¹³⁾와 거의 일치한다. $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 용량으로 정맥투여 후 24시간동안 ^{125}I -DWP401의 요중배설률이 대사물질까지 포함하여 40%를 넘는다는 사실 (미발표 데이터)과 3H-EGF를 양(羊)에 투여한 후 요중 방사능

을 측정하고 또 요중 미대사체를 RIA로도 측정했을 때 요로 배설되는 것은 대부분 대사체라는 보고¹⁶⁾를 종합해보면 DWP401은 체내에서 대부분 대사되어 요중으로 배설된다고 생각된다.

흰쥐에 ^{125}I -DWP401을 정맥 또는 피하로 주사한 후 장기로의 이행성을 보면 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 용량에서는 투여직 후(2.5분)에 간장 또는 신장에 고농도로 존재하다가 시간(60분)이 흐르면서 그 농도가 급속히 감소하였다. $500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 용량에서는 간장보다 신장에 고농도로 존재하였다가 역시 시간(180분)이 경과함에 따라 급속히 감소하였다. 시간이 경과함에 따라 농도가 급속히 감소하는 것은 이들 장기에서의 대사를 반영하는 것으로 생각된다. 이러한 실험 결과는 흰쥐에서 EGF로 실험한 보고¹⁷⁾와 잘 일치한다. 저용량에서 고용량으로 갈수록 간에서의 초기분포비율이 현저히 감소하는 것은 특히 간에서의 DWP401 결합의 포화가 가장 두드러진 때문으로 생각된다. $500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 용량에서 각 조직이 포화되다는 사실은 용량이 증가할 수록 전신클리어런스가 감소한다는 실험결과와 일치한다. 실제로 Kim 등¹¹⁾의 의하면 hEGF는 간 및 신장에서 EGF 수용체의 존재때문에 포화되고 ^{125}I -hEGF에 hEGF를 넣으면 ^{125}I -hEGF단독 처리했을 때보다 반감기가 증가하고 각 장기의 분포가 약간 저해된다고 한다.

이상의 결과를 종합해 보면 DWP401은 hEGF와 기본적으로 유사한 체내동태를 보이는 것으로 판단되며 투여량 $500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 에서 포화현상이 나타내나 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 저용량에서는 DWP401이 체내로 흡수되었을 때 수분내로 간장과 신장으로 주로 분포한 후 대사되어 대부분 요중으로 배설된다고 사료된다.

문 헌

- 1) Cohen, S. : Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J. Biol. Chem.* **237**, 1555-1562 (1962).
- 2) Savage, CR. Jr., Hash, J. H., and Cohen, S. : Epidermal growth factor location of disulfide bond. *J. Biol. Chem.* **248**, 7669-7672 (1973).
- 3) Savage, C. R., Inagami, T., and Cohen, S. : The primary structure of epidermal growth factor. *J. Biol. Chem.* **247**, 7612-7621 (1972).
- 4) Cohen, S., and Elliot, G. A. : The stimulation of

- epidermal keratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. *J. Invest. Dermatol.* **40**, 1-5 (1963).
- 5) Niall, M., Ryan, G. B., and O'Brien, B. M. : The effect of epidermal growth factor on wound healing in mice. *J. Sug. Res.* **33**, 164 (1982).
 - 6) Rown, G. L., Nanney, L. B., and Griffen, J. : Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *N. Engl. J. Med.* **321**, 76-79 (1989).
 - 7) Brown, G. L. Curtsinger, J. III., and Brightwell, J. R. : Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic epidermal growth factor. *J. Exp. Med.* **163**, 1319-1324 (1986).
 - 8) Itoh, M., Joh, T., Imai, S., Miyamoto, T., Matsusako, K., Iwai, A., Katsumi, K., Endo, K., and Takeuchi, T. : Experimental and Clinical studies on epidermal growth factor for gastric mucosal protection and healing of gastric ulcers. *J. Clin. Gastroenterol.* **10** (suppl.1), S7-S12 (1988).
 - 9) Murakami, T., Kawakita, H., Kishimoto, M., Higashi, Y., Amagase, H., Hayashi, T., Nojima, N., Fuwa, T., and Yata, N. : Intravenous and subcutaneous pharmacokinetics and rectal bioavailability of human epidermal growth factor in the presence of absorption promoter in rats. *Int. J. Pharm.* **46**, 9-17 (1988).
 - 10) Hayashi, T., Hashimoto, K. and Sakamoto, S. : A sensitive enzymeimmunoassay for human epidermal growth factor. Determination of hEGF in human serum and urine and pharmacokinetics in mouse. *J. Pharmacobio-Dyn.* **12**, 410-415 (1989).
 - 11) Kim, D. C., Sugiyama, Y., Satoh, H., Fuwa, T., Iga, T. and Hanano, M. : Kinetic analysis of in vivo receptor-dependent binding of human epidermal growth factor by rat tissue. *J. Pharm. Sci.* **77**, 3, 200-207 (1988).
 - 12) Kim, D. C., Sugiyama, Y., Fuwa, T., Sakamoto, S., Iga, T., Hanano, M. : Kinetic analysis of the elimination process of human epidermal growth factor (hEGF) in rats. *Biochemical Pharm.* **38**, 12, 241-249 (1989).
 - 13) Murakami, T., Kishimoto, M., Higashi, Y., Amagase, H., Hayashi, T., Fuwa, T. and Yata, N. : Biliary and urinary excretion of immunoreactive human epidermal growth factor after intravenous administration in rats. *Int. J. Pharm.* **49**, 173-178 (1989).
 - 14) Gregory, H., Holmes, J. E. and Willshire, I. R. : Urogastrone levels in the urine of normal adult humans. *JCE & M* **45**, 4, 668-672 (1977).
 - 15) Waynfath, H. B. : Experimental and surgical technique in the rat. Academic press, London, p 240.
 - 16) O'keefe, J. H., Sharry, L. F., and Panaretto, B. A. : The fate of tritiated re-epidermal growth factor in the sheep : Validation of the labelling procedure and rate of tissue clearance. *Aust. J. Biol. Sci.* **41**, 539-552 (1988).
 - 17) Jorgensen, P. E., Poulsen, S. S., and Nexø, E. : Distribution of *i.v.* administered epidermal growth factor in the rat. *Regulatory Peptide* **23**, 161-169 (1988).