

인과립구 콜로니 자극인자 제제인 HM10411와 필그라스티ムの 정맥, 근육 및 피하 주사시 흰쥐와 마우스에서의 약물 동태

김인화 · 이상훈* · 김영민* · 정성엽* · 권세창* · 이관순* · 정석재 · 심창구†

서울대학교 약학대학 종합약학 연구소, *한미약품공업주식회사
(2001년 3월 27일 접수)

Pharmacokinetics of Recombinant Human Granulocyte Colony Stimulating Factor (rhG-CSF) Following Intravenous, Intramuscular and Subcutaneous Administration of HM10411 and Filgrastim to Rats and Mice

In Wha Kim, Sang Hoon Lee*, Young Min Kim*, Sung Youb Jung*, Se Chang Kwon*,
Suk Jae Chung and Chang-Koo Shim†

Research Institute of Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea,
*Central Research Institute, Hanmi Pharm. Co. Ltd., Sungnam, Kyonggi-do 463-400, Korea
(Received March 27, 2001)

ABSTRACT—The pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) following intravenous (i.v.), intramuscular (i.m.) and subcutaneous (s.c.) administration of HM10411-lyo and HM10411-liq (lyophilized and liquid formulations of rhG-CSF, recently under development by Hanmi Pharmaceutical Company) were studied in rats, and compared with that of Filgrastim (conventional formulation of rhG-CSF on market). The plasma concentration of rhG-CSF was quantified using a specific ELISA. The pharmacokinetic parameters of rhG-CSF, after i.v., i.m. and s.c. administration of Filgrastim, HM10411-lyo and HM10411-liq to rats at a rhG-CSF dose of 10 µg/kg, were almost identical among the three formulations. No dose-dependency was observed in the pharmacokinetic parameters of rhG-CSF following i.v. administration in the dose range of 5~ 100 µg/kg. rhG-CSF, after i.v. administration of the three preparations at a dose of 10 µg/kg to rats, was detected at low levels in all of the body tissues with highest tissue/plasma ratio of 0.46~0.51 for the kidney at 30 min after the administration. The pharmacokinetics of rhG-CSF, after i.v. administration to mice at a dose of 10 µg/kg, were comparable among the three formulations. In conclusion, HM10411-lyo and HM10411-liq exhibited similar pharmacokinetics for rhG-CSF with Filgrastim regardless of animal species. Considering the fact that HM10411 series, contrary to Filgrastim, are proteins lacking a methionine residue, the methionine moiety in rhG-CSF molecule does not appear to influence the pharmacokinetics of the protein significantly.

Keywords—HM10411, Filgrastim, Recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF), Pharmacokinetics, Administration routes, Dose-dependency, Species difference

HM10411은 최근 한미약품(주) 연구소에서 대장균 발현계를 이용하여 생산한 유전자 재조합 인과립구 콜로니 자극인자(recombinant human granulocyte colony stimulating, rhG-CSF)이다. 콜로니 자극인자(CSF)는 산성의 당단백으로서 분자량은 약 20,000 daltons으로 hematopoietic progenitor cell의 생존, 분열 및 분화에 필수적인 요소이다¹⁻⁴). G-CSF는 골수 전구체 세포의 과립구 콜로니로의 분열 및 분화를 촉진시키는 인자로 확인되었다⁵).

인과립구 콜로니 자극인자(hG-CSF)는 사람 방광의 carci-

noma cell line 5637로부터 처음으로 분리되었고 hG-CSF를 발현하는 유전자의 complementary DNA를 동물 세포, 효모 세포 및 박테리아 세포에서 발현시켜서 얻을 수 있다⁶). 이때 발현시킨 세포의 종류에 따라 단백질의 glycosylation이 일어나는 정도가 다른데, 대장균과 같은 박테리아 세포에서는 단백질의 glycosylation이 되지 않으므로, rhG-CSF에는 당이 없고 methionine잔기가 부가되어 있다⁷). rhG-CSF는 화학요법이나 방사선 조사에 의한 과립구 감소증의 예방 및 치료를 목적으로 사용되고 있다.

본 연구에서는 기존의 rhG-CSF와는 다른 숙주-벡터계를 이용한 유전자 재조합 방법으로 재조합으로써 methionine 잔기가 없는 rhG-CSF인 HM10411를 동결 건조한 제품(HM

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)880-7873, E-mail : shimck@plaza.snu.ac.kr

10411-lyo)과 액제(HM10411-liq)에 대하여 흰쥐와 마우스에서의 약물동태 파라미터를 측정하여 기존의 rhG-CSF인 Filgrastim(methionine잔기 함유)의 경우와 비교하였다.

약물동태로는 투여경로(정맥주사, 피하주사, 근육주사) 및 투여량에 대한 혈중 및 주요 조직 중 농도를 측정하여 3제제(HM10411-lyo, HM10411-liq, Filgrastim)간의 차이유무를 검토하였다.

실험방법

동물

웅성 Sprague-Dawley 흰쥐(240~300 g의 7~8주령) 및 ICR 마우스(체중 28~32 g의 6주령)는 대한실험동물센터(주)에서 분양 받아 사용하였으며, 실험 전 1주일 동안 서울대학교 약학대학 동물실험 연구동에서 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 5\%$ 로 09:00~21:00까지 조명시킨 상태에서 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 사육하였다. 사료는 autoclavable rodent laboratory chow 5010(Agibrands Puria Korea, Inc)를 사용하였다.

시약 및 재료

한미약품 연구소에서 생산한 HM10411 동결건조제(HM10411-lyo), 액제제품(HM10411-liq)과 Filgrastim(제일약품, Korea)을 주사용 증류수에 희석하여 사용하였다. rhG-CSF의 정량에 사용한 ELISA kit(Quantikine™)는 R&D System(Mckinley Place N.E. Minneapolis, MI, U.S.A.)으로부터, 흰쥐 실험에 사용한 polyethylene tube(PE-50)는 Clay Adams(Parsippany, NY, U.S.A.)로부터 구입하였다.

흰쥐 및 마우스에의 투여 및 혈액채취

투여경로별 혈장 중 rhG-CSF 농도의 차이를 살펴보기 위하여 3 제제를 각 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 각각 i.v., i.m. 및 s.c.로 흰쥐 6마리씩에게 투여하였다. 용량 의존성을 관찰하기 위하여서는 따로 3 제제를 5, $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 흰쥐 6마리에게 각각 정맥 투여하였다. 정맥투여 시는 흰쥐를 ketamine($50 \mu\text{g}/\text{kg}$)을 복강 주사하여 마취한 후 대퇴정맥에 polyethylene tube를 삽입하고, 흰쥐가 마취에서 완전히 회복된 후 튜브를 통하여 약물을 투입하고 생리식염수로 튜브에 남아있는 약물을 완전히 흰쥐의 정맥 속으로 주입하였다. 정맥근육 및 피하 주사시는 흰쥐의 대퇴근육 및 피하에 직접 주사하였다. 흰쥐의 대퇴 동맥에 미리 삽입한 cannula로부터 약물 투여 전 및 투여 후 5, 15, 30분 및 1, 2, 4, 6 및 8시간에 혈액 $250 \mu\text{l}$ 씩을 채혈하였고 혈액응고를 막기 위하여 20 units/ml의 heparin(생리식염수액) 용액으로 튜브에 남

아있는 혈액을 완전히 동맥 속으로 주입하였다. 마우스 실험에서는 3 제제를 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 꼬리 정맥 내에 투여한 후 안저(orbital plexus)로부터 채혈하였다. 마우스 실험에서의 채혈시간 및 채혈량은 흰쥐실험에서와 같게 하였고, 채취한 혈액은 즉시 $10,000 \text{g}$ 에서 5분간 원심분리한 후 혈장 $100 \mu\text{l}$ 를 취하여 정량시까지 -20°C 에 냉동 보관하였으며, 혈장 중 rhG-CSF의 농도는 Quantikine kit™를 사용하여 정량하였다.

흰쥐에서의 조직분포

흰쥐에 3 제제를 각 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 의 용량으로 카테터를 통하여 대퇴정맥에 주사한 다음 0.5, 2, 8시간에 각각 실험 치사시켰다. 간, 폐, 신장, 비장, 심장 및 근육을 적출하여 적출한 조직무게의 4배에 해당하는 인산염 완충액(pH 7.4)을 가한 후 homegenizer(Ultra-Turrax T75, Janke & Kunkel, Germany)로 13,500 rpm 이상으로 homogenize하였다. Homogenize한 액을 $10,000 \text{g}$ 에서 2분간 원심 분리한 후 얻은 상층액을 정량 전까지 -20°C 에 냉동 보관하였다. 정량방법은 혈장시료와 동일한 방법을 사용하였다.

정량법

혈장 중 rhG-CSF의 농도는 Quantikine kit™에 포함되어 있는 매뉴얼 방법에 따라 정량하였다. 즉, Quantikine kit에 포함된 microtiter plate에 시료 즉, 혈장 상층액 또는 조직 호모지네이트상층액 $100 \mu\text{l}$ 및 RD1A assay diluent $100 \mu\text{l}$ 를 넣은 다음 2시간 동안 방치하였다. 방치후 microtiter plate내를 세척용 완충액으로 세척하고 $200 \mu\text{l}$ 의 rhG-CSF conjugate액을 넣은 다음 2시간동안 방치하였다. 다시 microtiter plate내를 세척용 완충액으로 세척하고 용시 조제한 color A 및 color B 혼합액(1:1) $200 \mu\text{l}$ 를 넣고 20분 방치 후 stop solution $50 \mu\text{l}$ 를 넣고 450nm 에서 흡광도를 측정하였다. 본 정량법의 한계는 $0.02 \text{ ng}/\text{ml}$ 이었고, CV(%)는 평균 10%내외였다.

약물동태의 속도론적 해석

rhG-CSF의 체내동태 파라미터는 WinNonlin® 프로그램(version 1.1 Scientific Consulting Inc., Apex, NC, U.S.A.)을 사용하여 구하였다. 소실속도정수(β)는 log 혈장농도-시간 곡선의 직선부분을 직선 회귀하여 구하였고, 시간 0에서 무한대까지 rhG-CSF의 혈장 중 농도-시간 곡선하면적(AUC) 및 혈장 중 약물농도 모멘트-시간 곡선(AUMC)는 사다리꼴 공식에 의해 구하였다. 정맥주사 후 전신 클리어런스(CL), 평균 체류시간(MRT), 정상상태에서의 겉보기 분포용적(V_{ss})

및 생체이용률(F)는 다음 식에 의하여 구하였다^{8,9}.

$$T_{1/2\beta} = \frac{0.639}{\beta} \quad (1)$$

$$CL = \frac{\text{Dose}}{\text{AUC}} \quad (2)$$

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

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

$$F = \frac{\text{AUC}_{i.m.or.s.c.}}{\text{AUC}_{i.v.}} \times 100 \quad (5)$$

여기에서 C_p 는 시간 t에서의 rhG-CSF의 혈장 농도이다.

통계분석

3제제로부터 얻은 체내동태 파라미터와 조직에 분포된 양은 SPSS프로그램(version 9.0, SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.)을 사용하여 ANOVA로 통계처리하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 로 판단하였다.

결과 및 고찰

3 제제를 흰쥐에 정맥, 피하 및 근육 주사시 평균 혈장 농도-시간 추이는 Figure 1, 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table I과 같았다. 3 제제는 비슷한 혈장농도-시간 추이를 보였으며, 따라서 약물동태 파라미터도 비슷하였다. 피하 및 근육 주사시 혈장농도는 신속히 증가하여 2시간에 최고혈장농도에 도달하였고, 이후 정맥 투여에 비해 서서히 감소하였다. Filgrastim, HM10411-lyo와 HM10411-liq의 생체이용률은 피하 주사시 각각 31.1, 29.7, 32.6%이었고, 근육 주사시 각각 18.6, 23.0, 21.1%로 이것은 Filgrastim에 대하여 이미

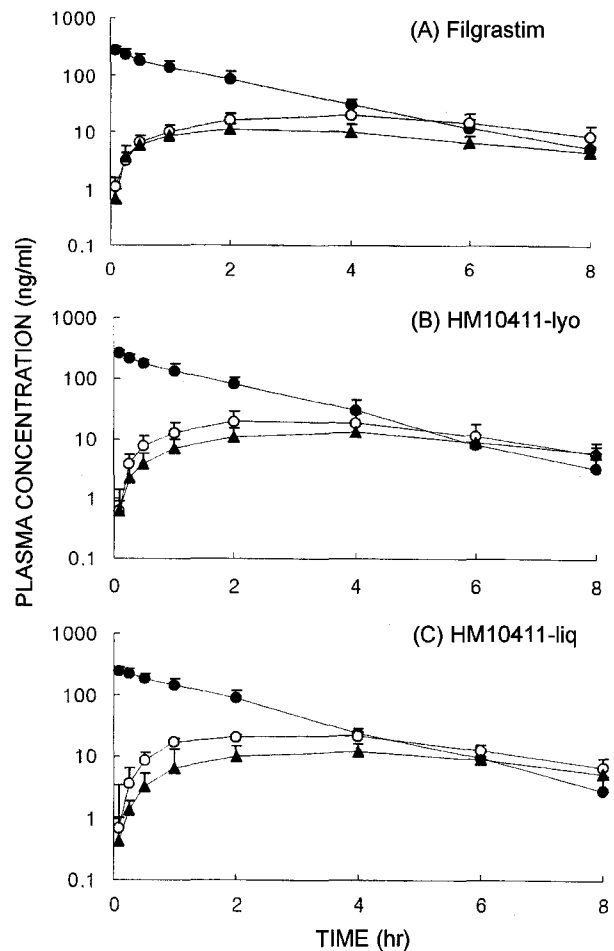


Figure 1—Mean (\pm standard deviation, $n = 6$) arterial plasma concentration of rhG-CSF from Filgrastim (A), HM10411-lyo (B) and HM10411-liq (C) after intravenous (\bullet), subcutaneous (\circ) and intramuscular (\blacktriangle) administration of 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to rats.

보고된 결과 즉, 27.4%, 50.9~70.4%와 유사하였다¹⁰⁻¹⁶). 제제의 종류에 관계없이 피하 및 근육 주사시의 생체이용률이 적게 나타난 이유는 rhG-CSF가 근육 또는, 피하 주사 부위

Table I—Mean (\pm standard deviation, $n=6$) Pharmacokinetic Parameters of rhG-CSF from Filgrastim, HM10411-lyo and HM10411-liq after Intravenous, Subcutaneous and iNtramascular Administration of at a rhG-CSF Dose of 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to Rats

Route		AUC (ng-hr/ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V_{ss} (ml/kg)	Terminal $t_{1/2}$
i.v.	Filgrastim	485 \pm 126	2.10 \pm 0.393	22.7 \pm 6.70	45.2 \pm 18.3	1.59 \pm 0.466
	HM10411-lyo	465 \pm 112	1.75 \pm 0.306	22.7 \pm 6.03	38.6 \pm 5.56	1.39 \pm 0.452
	HM10411-liq	473 \pm 103	1.79 \pm 0.329	24.8 \pm 9.70	40.8 \pm 17.6	1.37 \pm 0.655
s.c.	Filgrastim	151 \pm 62.7	6.15 \pm 0.95	-	-	2.98 \pm 0.64
	HM10411-lyo	138 \pm 38.5	5.74 \pm 2.51	-	-	2.97 \pm 1.71
	HM10411-liq	154 \pm 28.8	5.47 \pm 1.92	-	-	2.83 \pm 1.63
i.m.	Filgrastim	90.3 \pm 19.1	6.56 \pm 1.25	-	-	3.88 \pm 1.03
	HM10411-lyo	107 \pm 32.4	7.33 \pm 2.71	-	-	3.98 \pm 2.09
	HM10411-liq	100 \pm 22.5	7.33 \pm 2.31	-	-	3.82 \pm 1.64

No significant differences in pharmacokinetics parameters were found for each administration route among three rhG-CSF preparations ($p > 0.05$).

의 protease에 의해 분해되기 때문이라고 생각된다).

3 제제를 흰쥐에 5, 10, 100 µg/kg의 용량으로 정맥 투여하였을 때의 평균 혈장 농도-시간 추이를 Figure 2에 나타냈고, 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table II에 나타내었다. 3제제 간에 용량에 따른 약물동태 파라미터(AUC, MRT, CL, V_{ss}, Terminal t_{1/2})에는 유의적인 차이가 없었다. 문헌을 살펴보면, rhG-CSF 1, 5, 10 및 100 µg/kg을 흰쥐에 정맥 투여하였을 때 t_{1/2}는 용량의존성을, V_{ss}는 용량 비의존성을 나타낸다고 보고된 바도 있고¹²⁾, 모든 약물동태 파라미터가 용량 비의존적으로 나타난다고 보고된 바도 있다^{10,17)}. 본 연구에서는 3 제제의 체내동태는 5~100 µg/kg 용량범위에서 모두 용량 비의존적이었다.

3 제제를 흰쥐에 10 µg/kg의 용량으로 정맥 투여하였을 때 조직분포 결과는 Table III과 같다. 조직 중 농도는 실험한 모든 조직에서 3 제제 간의 차이 없이 투여 후 30분에서 2시간 및 8시간에 비해 최고치를 나타냈으며, 이후 신속히 감소하였다. 모든 조직에서 조직/혈장 중 농도(T/P)비는 1보다 작게 나타났는데, 이는 rhG-CSF의 조직친화력이 약하다는 것을 나타내며, 이는 Filgrastim과 HM10411의 V_{ss}값이 적게 나타난 결과 (Table II)와도 일치한다. Filgrastim, HM10411-lyo, HM10411-liq 투여 30분 후 신장에서의 T/P 비는 0.464, 0.499, 0.509으로 모든 조직 중 신장에서의 T/P 값이 가장 컸는데, 이는 rhG-CSF가 신장의 사구체에서 여과되고 신세뇨관에서 재흡수되는 사실로 미루어 타당하다고 생각된다¹⁸⁾. ¹²⁵I-rhG-CSF 10 µg/kg을 흰쥐에 투여한 후, 0.5 및 2시간에 갑상선 및 신장에서의 총 ¹²⁵I의 농도가 혈청보다 높다는 보고가 있었는데¹⁹⁾, 신장에서 높은 농도가 관찰된 것은 본 실험과 일치하였고, 다만 본 실험에서 취하지 않은 갑상선에서의 농도가 높게 나타난 것은 방사성 요오드로 표지된 rhG-CSF를 투여하였기 때문이라 생각된다.

3 제제를 마우스에 10 µg/kg의 용량으로 정맥 투여하였을 경우 평균 혈장 농도-시간 추이(A)를 흰쥐에 10 µg/kg 정맥 투여하였을 때의 평균 혈장 농도-시간 추이(B)와 함께

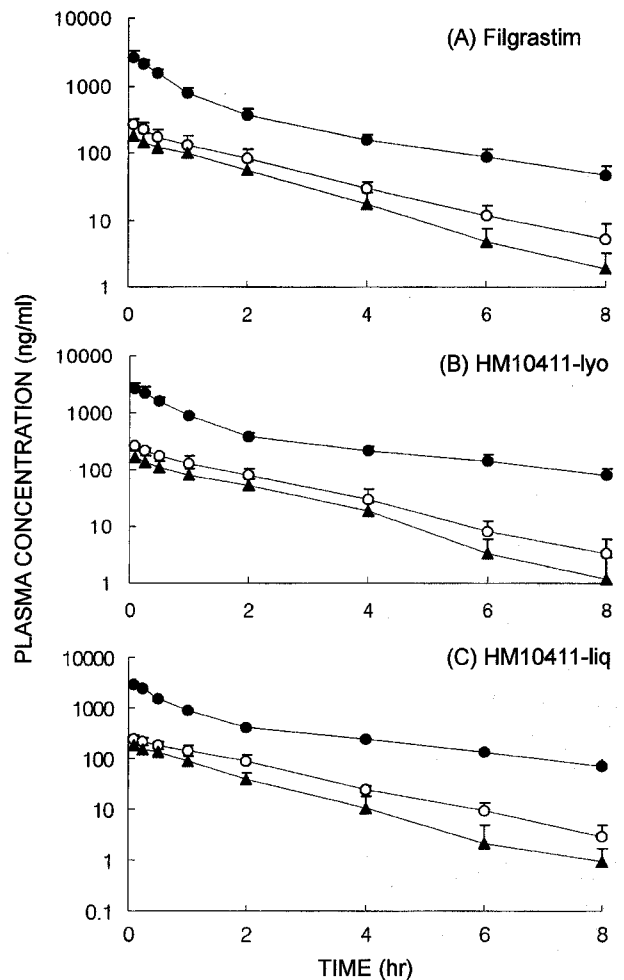


Figure 2—Mean (± standard deviation, n = 6) arterial plasma concentration of rhG-CSF from Filgrastim (A), HM10411-lyo (B) and HM10411-liq (C) after intravenous administration of 5 (▲), 10 (○) and 100 (▲) µg/kg to rats.

Figure 3에 나타내었고, 그에 해당하는 약물속도 정수는 Table IV에 나타내었다. 마우스에서도 흰쥐에서와 마찬가지로 3제제 간의 평균 혈장농도-시간추이는 비슷한 양상을 나타냈으며, 따라서 3제제 간의 약물동태 파라미터의 차이는

Table II—Mean (± standard deviation, n=6) Pharmacokinetic Parameters of rhG-CSF from Filgrastim, HM10411-lyo and HM10411-liq After Intravenous Administration to Rats at rhG-CSF Dose of 5 and 100 µg/kg

Dose (µg/kg)		AUC (ng·hr/ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V _{ss} (ml/kg)	Terminal t _{1/2}
5	Filgrastim	294 ± 110	1.77 ± 0.28	18.7 ± 5.70	33.1 ± 12.1	1.24 ± 0.203
	HM10411-lyo	257 ± 40.0	1.82 ± 0.716	19.8 ± 3.00	37.5 ± 20.9	1.31 ± 0.580
	HM10411-liq	252 ± 55.2	1.34 ± 0.326	20.7 ± 4.90	26.9 ± 4.10	0.986 ± 0.196
100	Filgrastim	3306 ± 386	2.23 ± 0.855	30.5 ± 3.09	68.3 ± 28.5	2.57 ± 1.28
	HM10411-lyo	3863 ± 382	3.13 ± 0.680	27.1 ± 2.00	76.0 ± 11.8	3.13 ± 0.680
	HM10411-liq	3746 ± 222	2.63 ± 0.546	26.8 ± 1.50	69.0 ± 9.90	2.64 ± 0.546

No significant differences in pharmacokinetic parameters were found among three rhG-CSF preparations at the given doses (p>0.05)

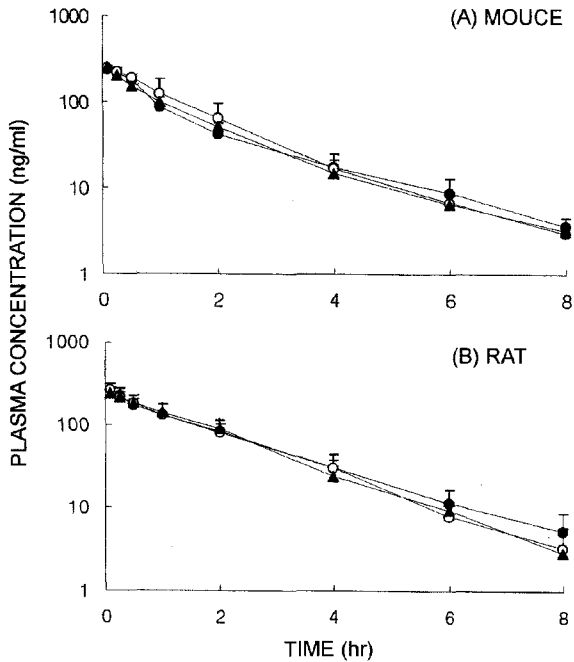


Figure 3—Mean (\pm standard deviation, $n = 6$) plasma concentration obtained from orbital plexus of rhG-CSF from Filgrastim (●), HM10411-lyo (○) and HM10411-liq (▲) after intravenous administration of 10 μ g/kg to mice (A) and rats (B).

없었다. 즉, 이 rhG-CSF는 흰쥐와 마우스간에 종차를 보이지 않았다.

결 론

한미약품에서 개발한 HM10411-lyo, HM10411-liq을 기존 제품인 Filgrastim과 약물동태를 비교하였을 때, 흰쥐에 10 μ g/kg을 정맥, 피하 및 근육 주사시 약물동태 파라미터와 생체이용률에 있어서 3제제 간에 차이는 없었고, 5, 10, 100 μ g/kg 정맥투여 시 용량의존성도 없었으며, 3제제 간 차이도 없었다. 그리고, 10 μ g/kg 정맥투여 시 조직분포도 3제제가 비슷한 양상을 보였으며, 신장에 제일 많이 분포하였다. 또한 3제제를 마우스에게 10 μ g/kg 정맥 투여하였을 때도 흰쥐에 투여하였을 때와 혈장농도-시간추이는 비슷하였으며, 3제제 간의 차이도 없었다. 따라서 한미약품(주) 연구소에서 제조한 HM10411-lyo와 HM10411-liq는 Filgrastim과 약물동태가 비슷하다고 결론 지을 수 있었다. Filgrastim과 달리 HM 10411-lyo와 HM10411-liq에는 methionine잔기가 없다는 점을 고려할 때 methionine잔기는 rhG-CSF의 체내동태에 영향을 미치지 않은 것으로 생각되었다.

Table III—Mean (\pm standard deviation, $n=5$) Amount (ng/g tissue) of rhG-CSF from Filgrastim, HM10411-lyo and HM10411-liq Remaining in Each Tissue After Intravenous Administration of 10 μ g/kg to Rats. The Numbers in Parenthesis Represent Tissue to Plasma Ratio.

Time	Tissue	Filgrastim	HM10411-lyo	HM10411-liq
30min	Liver	10.9 \pm 1.61 (0.08 \pm 0.01)	11.0 \pm 2.27 (0.07 \pm 0.02)	10.5 \pm 2.27 (0.06 \pm 0.01)
	Lung	24.6 \pm 5.83 (0.17 \pm 0.04)	23.2 \pm 3.19 (0.14 \pm 0.02)	25.5 \pm 5.21 (0.16 \pm 0.03)
	Heart	16.3 \pm 1.39 (0.11 \pm 0.01)	15.8 \pm 2.94 (0.09 \pm 0.02)	15.6 \pm 7.09 (0.09 \pm 0.04)
	Kidney	65.9 \pm 7.84 (0.46 \pm 0.05)	81.2 \pm 9.61 (0.49 \pm 0.06)	80.8 \pm 8.57 (0.50 \pm 0.00)
	Spleen	11.1 \pm 2.55 (0.07 \pm 0.02)	12.2 \pm 0.743 (0.07 \pm 0.00)	15.3 \pm 3.65 (0.09 \pm 0.02)
	Muscle	1.79 \pm 0.65 (0.01 \pm 0.00)	1.51 \pm 0.438 (0.01 \pm 0.00)	2.15 \pm 0.753 (0.01 \pm 0.00)
	Plasma	175 \pm 51.2	182 \pm 20.4	182 \pm 36.8
	2hr	Liver	4.45 \pm 2.09 (0.03 \pm 0.01)	2.88 \pm 0.98 (0.02 \pm 0.00)
Lung		10.3 \pm 2.38 (0.07 \pm 0.02)	10.2 \pm 3.04 (0.08 \pm 0.02)	5.71 \pm 1.37 (0.06 \pm 0.01)
Heart		7.38 \pm 2.74 (0.05 \pm 0.02)	5.64 \pm 1.39 (0.04 \pm 0.01)	3.45 \pm 1.37 (0.03 \pm 0.01)
Kidney		34.4 \pm 4.63 (0.23 \pm 0.03)	34.1 \pm 16.7 (0.27 \pm 0.13)	22.6 \pm 16.3 (0.25 \pm 0.11)
Spleen		2.35 \pm 0.244 (0.02 \pm 0.00)	2.14 \pm 0.61 (0.01 \pm 0.00)	1.75 \pm 0.89 (0.01 \pm 0.00)
Muscle		2.89 \pm 1.32 (0.02 \pm 0.01)	2.12 \pm 1.40 (0.01 \pm 0.01)	1.96 \pm 0.83 (0.02 \pm 0.00)
Plasma		84.3 \pm 31.2	80.4 \pm 24.1	89.2 \pm 28.9
8hr		Liver	1.47 \pm 0.45 (0.03 \pm 0.01)	1.06 \pm 0.474 (0.06 \pm 0.02)
	Lung	3.12 \pm 0.53 (0.07 \pm 0.13)	1.61 \pm 0.68 (0.09 \pm 0.04)	1.26 \pm 0.36 (0.11 \pm 0.03)
	Heart	6.98 \pm 1.36 (0.17 \pm 0.03)	6.27 \pm 2.18 (0.37 \pm 0.13)	4.63 \pm 1.88 (0.43 \pm 0.17)
	Kidney	4.98 \pm 2.10 (0.12 \pm 0.05)	3.40 \pm 1.25 (0.20 \pm 0.07)	2.11 \pm 0.90 (0.19 \pm 0.08)
	Spleen	1.64 \pm 0.50 (0.04 \pm 0.01)	1.28 \pm 0.28 (0.07 \pm 0.01)	0.76 \pm 0.35 (0.07 \pm 0.03)
	Muscle	1.40 \pm 0.60 (0.03 \pm 0.01)	0.83 \pm 0.45 (0.04 \pm 0.02)	0.59 \pm 0.25 (0.05 \pm 0.02)
	Plasma	5.3 \pm 3.4	3.2 \pm 2.5	2.8 \pm 1.9

No significant differences in tissue amount of rhG-CSF were found among three rhG-CSF preparations at the given time points ($p > 0.05$).

Table IV—Mean (\pm standard deviation, $n=6$) Pharmacokinetic Parameters of rhG-CSF from Filgrastim, HM10411-lyo and HM10411-liq After Intravenous Administration at a rhG-CSF Dose of 10 μ g/kg to Mice

Animal		AUC (ng·hr/ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr/kg)	V _{ss} (ml/kg)	Terminal t _{1/2}
Mice ^a	Filgrastim	341 \pm 68.9	1.91 \pm 0.33	30.3 \pm 5.50	57.8 \pm 13.5	2.14 \pm 0.61
	HM10411-lyo	381 \pm 89.7	1.78 \pm 0.31	27.9 \pm 8.64	51.9 \pm 26.7	2.67 \pm 1.55
	HM10411-liq	385 \pm 118	1.97 \pm 0.73	29.2 \pm 13.0	57.1 \pm 30.1	2.62 \pm 1.75

^aMice were sacrificed at each blood sampling time. No significant differences were found among three rhG-CSF preparations in mice

감사의 말씀

이 연구는 한미약품공업주식회사의 연구비 지원에 의하여 서울대학교 종합약학 연구소에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) A.W. Burgess, and D. Metcalf, The nature and action of granulocyte-macrophage colony stimulating factors, *Blood*, **56**, 947-958 (1980).
- 2) D. Metcalf, *The hematopoietic colony stimulating factors*, Elsevier., Amsterdam. The Netherlands, pp.1-10 (1984).
- 3) C.G. Begley, D. Metcalf, A.F. Lopez, and N.A. Nicola, Fractionate populations of normal human marrow cells respond to both human colony-stimulating factors with granulocyte-macrophage activity, *Exp. Hematol.*, **13**, 956-962 (1985).
- 4) D. Metcalf, The molecular biology and function of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors, *Blood*, **67**, 257-267 (1986).
- 5) N. A. Nicola, D. Metcalf, M. Matsumoto and G. R. John, Purification of factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells: identification as a granulocyte colony-stimulating factors (G-SCF), *J. Biol. Chem.*, **258**, 9017-9023 (1983).
- 6) L. M. Souza, T. C. Boone, J. Gabrilove, P. H. Lai, K. M. Zsebo, D. C. Murdock, V. R. Chazin, J. Bruszewski, H. Lu, K.K. K. Chen, J. Barendt, E. Platzer, M. A. S. Moore, R. Mertelsmann, and K. Welte, Recombinant human granulocyte colony stimulating factor after intravenous and subcutaneous administration in the rat, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **251**, 1199-1203 (1986).
- 7) W. P. Petros, Pharmacokinetics and administration of colony-stimulating factors, *Pharmacotherapy*, **12**, 33S-38S (1992).
- 8) M. Gibaldi, and D. Perrier, *Pharmacokinetics*, 2nd Edn., Marcel-Dekker., New York, U.S.A., pp.145-354 (1982).
- 9) E. J. Yoon, H. W. Jang, M. G. Lee, H. -J. Lee, M. K. Park, and C-K. Kim, Pharmacokinetics of methotrexate-rabbit serum albumin conjugate to rabbits, *Int. J. Pharm.*, **67**, 174-184 (1992).
- 10) M. Machida, K. Sano, M. Arakawa, M. Hayashi and S. Awazu, Absorption of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) from rat nasal mucosa, *Pharm. Res.*, **10**, 1372-1377 (1993).
- 11) H. Tanaka, Y. Okada, M. Kawagishi, and T. Tokiwa, 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 (1989).
- 12) H. Tanaka and T. Tokiwa, 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 (1990).
- 13) H. Tanaka, and T. Kaneko, Pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in the rat: Single and multiple dosing studies, *Drug. Metab. Dispos.*, **19**, 200-204 (1991).
- 14) H. Tanaka, and T. Kaneko, Sex differences in the pharmacokinetics of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in the rat, *Drug Metab. Dispos.*, **19**, 1034-1039 (1991).
- 15) H. Tanaka, and T. Kaneko, 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 *Escherchia coli*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **262**, 439-444 (1992).
- 16) H. Tanaka, and T. Kaneko, 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 (1992).
- 17) M. Machida, M. Hayashi and S. Awazu, Pulmonary absorption of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) after intratracheal administration to rats, *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 259-262 (1996).
- 18) T. Maack, V. Johnson, S. T. Kau, J. Figueiredo and D. Sigulem, Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular weight protein: A review, *Kidney Int.*, **16**, 251-270 (1979).
- 19) H. Kinoshita, T. Ichihara, J. Amano, N. Oh-ishi, and A. Okazaki, Metabolic fate of rG-CSF(3) : Tissue distribution of ¹²⁵I-rG-CSF in rats, *Jpn. Pharmacol. Ther.* **18**/suppl. 9, 459-469 (1990).