

신규 세파로스포린계 항생물질 DWC-751의 회주 및 생쥐 체내동태

심창구 · 최은진 · 이성원¹ · 김동오¹ · 박남준¹ · 강영숙¹ · 유영호¹

서울특별시 관악구 신림동, 서울대학교 약학대학

¹경기도 성남시 중원구 상대원동 223-23, (주)대웅제약 중앙연구소

Pharmacokinetic Study on DWC-751, a New Cephalosporin, in Rats and Mice

Chang-Koo SHIM*, Eun-Jin CHOI, Sung-Won LEE¹, Dong-O KIM¹,
Nam-Joon PARK¹, Young-Sook KANG¹ and Young-Hyo YU¹

Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Seoul National
University, San 56-1, Shilim-Dong, Kwanak-Gu, Seoul 151-742, Korea,

¹Team of Biopharmacy, R & D Center, DaeWoong Pharmaceutical Co., Ltd.,
223-23, Sangdaewon-Dong, Sungnam, Kyonggi-Do, Korea

(Received March 15, 1993; accepted April 9, 1993)

Abstract—The distribution and excretion of DWC-751, a new cephalosporin, were examined in rats and mice following a single intravenous administration. DWC-751 in plasma and urine was determined by both HPLC and microbiological assay. The plasma concentration of the drug declined biexponentially. The initial and terminal half lives of the drug were 3.0 and 28.3 min, respectively. Binding of the drug to plasma proteins was 42.3%. The distribution volume at steady-state ($V_{d_{ss}}$) was only 0.341 l/kg, which is well correlated with the low n-octanol/water partition coefficient of the drug ($K_{ow} \cong 0$). Actually, the drug was distributed to liver, kidney and lung with very low organ/plasma concentration ratio. The drug, was excreted mainly via renal excretion, i.e., the total(CL_T) and apparent renal(CL_R) clearances of the drug were 10.8 and 7.5 ml/min/kg, respectively.

Keywords □ DWC-751, pharmacokinetics, distribution, excretion, HPLC, microbiological assay.

DWC-751은 항균력이 우수한 신규 cephalosporin계 항생물질이며, 화학명은 (6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[(1-methylbenzotriazol-3-ium)methyl]-ceph-3-em-4-carboxylate monosulfate이다(Moon 등, 1991). 구조식은 Fig. 1과 같다. DWC-751은 *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* 등의 균종에 대하여 ceftazidime, cefotaxime보다 강한 항균작용을 나타내었다. 또한, β -lactamase 생성균인 *S. aureus*에 대하여도 우수한 항균력을 보이고 있는 항생물질이다.

본 연구에서는 DWC-751의 유효성과 안전성에 대한 중요한 인자가 되는 흰쥐에서의 체내 동태 특성과 단백 결합, 유수분배계수 등을 bioassay와 HPLC의 정량법을

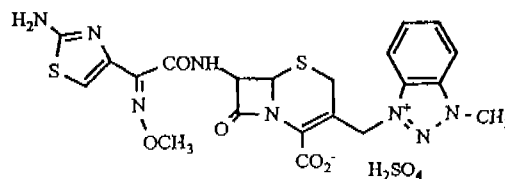


Fig. 1. Chemical structure of DWC-751.

이용하여 연구하였다. bioassay로는 혈장중 동태, 조직 분포와 혈청단백결합을, HPLC로는 혈장중 동태, 요중 배설 및 유수분배계수측정 실험을 하였다. 또 bioassay로 혈장중 동태를 연구할 때에는 기존의 시판 cephalosporin류와 체내동태 특성을 비교하기 위하여 ceftazidime (CAZ)과 cefotaxime(CTX)의 흰쥐에서의 혈중농도 추이도 함께 연구하였다.

* To whom correspondence should be addressed.

실험방법

Bioassay 법

사용약물

DWC-751(대웅제약), ceftazidime(CAZ, 한국 Glaxo), cefotaxime(CTX, 한미약품)

실험동물

생쥐는 ICR계 웅성, 3~4주령, 체중 25~30 g을, 흰쥐는 SD계 웅성, 7~8주령, 체중 200~250 g을 사용하였다.

약물 투여 및 검체 채취

혈장 중 동태연구 : 에텔 마취하에 흰쥐의 대퇴동맥 및 정맥에 폴리에틸렌 튜브(PE 50)를 삽입하였다. 마취가 완전히 회복된 후에 DWC-751 또는 CAZ나 CTX를 생리식염수에 용해하여 대퇴정맥내에 20 mg/2.5ml/kg을 투여하였다. 1군당 3~4마리를 사용하였다. 혈액은 약물 투여후 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120분에 약 200 μ l를 채혈하고, 100 unit/ml 헤파린 함유 생리식염수 200 μ l를 보충하였다. 채취한 혈액은 즉시 원심분리하여 혈장을 분리하였다.

조직 분포 연구 : DWC-751용액을 생쥐의 대퇴정맥 및 근육내에 20 mg/kg과 40 mg/kg의 두용량을 각각 투여하였다. 투여 용량은 2.5 ml/100 g으로 하였으며, 각 군당 6마리로 하였다. 약물 투여후 15분 및 2시간 후에 방혈치사시킨 생쥐로부터 혈액, 간, 신, 폐, 비장, 심장, 근육, 뇌를 채취하였다. 각 장기중량의 4배량의 0.1 M 인산완충액(pH 7.0)을 가하고 균질화시켜, 3000 rpm, 10분간 원심분리 후 상침액을 검체로 하였다.

약물의 혈장 및 장기 중 농도분석

혈장과 장기추출액중의 각 약물의 농도는 *E. coli* 055를 Fleisch extract broth 배지에서 하룻밤 배양한 균액을 1 : 10으로 희석하고, 희석한 균주액 2 ml를 90 ml의 배지에 식균하여 large-plate agar well diffusion technique로 측정하였다. 혈장중 약물의 농도는 동일 동물중의 혈장에 일정량 약물을 가하여 만든 검량선에 의해 정량하였고, 장기추출액중의 약물농도는 0.1 M 인산완충액(pH 7.0)에 일정량 약물을 가하여 만든 검량선을 이용하여 산출하였다.

혈청단백 결합률의 측정

DWC-751, CAZ, CTX의 사람 혈청 알부민에 대한 결합률을 한외 여과법을 이용하여 측정하였다. 0.1 M 생리식염수에 용해시킨 약물 1용량에 혈청 9용량을 가해, 37°C 에서 5분간 인큐베이션한 후 한외 여과기 Centrefree(Amicon)에 넣어 1000×g, 30분 원심분리하였다. 얻어진 여액을 앞에 서술한 bioassay법에 의해 정량하고 약물량을 산출하여 다음 식에 따라서 결합률을 구하였다.

$$\text{결합률(\%)} = \frac{C_b}{C_b + C_f} \times 100 \quad (1)$$

C_b : 결합약물의 농도

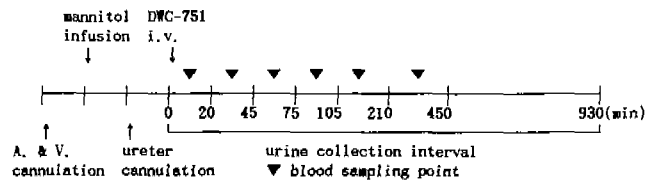


Fig. 2. Protocol for the plasma sampling and urine collection in the study of urinary excretion.

C_f : 비결합약물의 농도

HPLC법

실험동물

Wistar계 웅성 흰쥐(체중 220~270 g, 7~8주령)를 사용하였다.

약물 투여 및 검체 채취

혈장 중 동태연구 : 에텔 마취하에 흰쥐의 대퇴동맥 및 정맥에 폴리에틸렌 튜브(PE 50)를 삽입하였다. 마취가 완전히 회복된 후에, DWC-751을 생리식염수에 용해하여 대퇴정맥으로 20 mg/2.5 ml/kg을 투여하였다. 혈액은 약물 투여후 1, 5, 10, 30, 60, 90, 120, 180분에 각각 0.25 ml씩 채취하고, 100 unit/ml 헤파린 함유 생리식염수를 흰쥐에 동량 보충하여 주었다. 채취한 혈액은 즉시 원심분리(10,000 rpm, 30초)하여 혈장을 분리하였다.

요중 배설연구 : 별도(Fig. 2)의 실험에서 흰쥐를 가볍게 마취시킨 후 좌측 대퇴부 동맥 및 정맥에 PE 튜브(PE 50)로 cannulation 한 후, 3% 만니톨 생리 식염액을 1 ml/hr의 속도로 등속 주입하였다. 약 한시간 동안 주입 후 다시 에텔로 가볍게 마취시키고 복부의 정중선을 따라서 방광의 상부로부터 간장하부의 중간까지 개방하여 링 핀셋으로 소장등의 내장을 한 쪽 옆으로 적출하여 두고 신장으로부터 약 2 cm가량 아래 쪽의 좌우측 수뇨관에 PE 10 카테터를 삽입하여 수술실로 묶어 고정하였다. 소장 등의 내장을 다시 제자리에 넣고 개방부를 봉합하였다. 수뇨관에 삽입한 카테터는 채뇨가 용이하게 될 수 있도록 충분히 긴 것(약 12 cm)을 사용하였다. 요(尿)가 양측 카테터로부터 잘 나오는 것과 마취가 완전히 깬 것을 확인한 후, 좌측 대퇴부 정맥을 통해 20 mg/2.5 ml/kg의 DWC-751을 투여하였다.

계속해서 3% 만니톨 생리 식염액을 등속 주입하면서 0~20, 20~45, 45~75, 75~105, 105~150, 150~210, 210~450, 450~930분의 시간별로 집뇨하였으며 그 중간 시점인 10, 30, 60, 90, 120, 180, 330분에 0.25 ml씩 채혈하였다. 이것을 Fig. 2에 나타내었다. 숫자(분)로 표시된 점이 요(尿) 채취시간이며, 세모로 표시된 점이 혈액채취시간이다. 혈액은 원심분리(10,000 rpm, 30초)하여 혈장을 분리하였고, 요(尿)는 중량을 측정하고 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 미지의 침전물을 제거하였다.

분리된 혈장과 요(尿)는 분석시까지 -20°C 냉동고에 각각 보관하였다. 요(尿)의 용량은 요(尿)의 비중을 1.0

Table I. HPLC condition for HPLC assay of DWC-751 in plasma and urine of rats

instrument	Shimadzu HPLC system
column	Shim-pack CLC-ODS (M), 4.6φ×250, room temp.
mobile phase	plasma: CH ₃ OH/3 mM KH ₂ PO ₄ in 0.5% CH ₃ COOH (18/82, v/v) urine: CH ₃ OH/20 mM H ₃ PO ₄ (18/82, v/v)
flow rate	plasma: 1.2 ml/min, urine: 1.0 ml/min
detector	UV detection at 254 nm
injection volume	20 μl

으로 하여 중량으로부터 환산하였다.

약물의 혈장 및 요중 농도 분석

혈장 중 약물의 정량: DWC-751을 탈이온수에 녹여 400 μg/ml의 고농도 용액을 만들었다. 이를 단계적으로 희석하여 1.5 ml PE tube에 25 μl씩 각각 넣어 200, 100, 50, 25, 10, 5, 1, 0.5 μg/ml의 검량선용 시료 및 blank 혈장시료를 제조하였다.

이것을 질소가스를 통하면서 용매를 날려보내고, 미리 냉동보관하였던 blank 혈장을 상온에서 완전히 녹여 각각 100 μl씩 넣은 후 잘 섞이도록 2분간 혼화하였다. 여기에 제단백시약으로서 acetonitrile 100 μl를 가하고 1분간 혼화한 다음 5분간 원심분리(10,000 rpm)한 후 상정액을 취하였다. 이 상정액 20 μl를 HPLC로 Table I의 조건 하에서 정량하여 검량선을 작성하였다.

다음, 이 약을 투여한 흰쥐로부터 각 시간별로 채취한 혈장 100 μl에 acetonitrile 100 μl를 가하고 1분간 vortexing한 다음 5분간 원심분리(10,000 rpm)한 후 상정액을 취하였다. 이 상정액 20 μl를 HPLC에 주입하였다. HPLC방법은 Takagishi등의 방법(1981)을 응용하였다.

요중 약물의 정량: DWC-751의 고농도 용액을 필요량만큼씩 마이크로시린지기로 취하여 PE-튜브(1.5 ml)에 넣고 질소가스를 이용하여 용매를 증발시키고 잔사를 남겼다. 여기에 탈이온수 200 μl를 넣고 vortexing하여 완전히 녹인 후, 미리 취해 냉동보관하였던 요(尿)를 상온에서 녹여 20 μl씩 분주하고 vortexing하여 고루 섞이게 하였다. 이 희석액 20 μl를 Table I과 같은 조건으로 HPLC로 정량하였다. 검량선의 농도 범위는 0.1~20 mg/ml로 하였다.

다음 이 약을 투여한 흰쥐로부터 미리 중량을 측정해 놓은 PE-튜브에 각 시간별로 채취한 요(尿)는 즉시 중량을 측정하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 침전물을 제거한 후, 상정액 중 20 μl를 마이크로시린지기로 취하여 PE-튜브(1.5 ml)에 넣고 탈이온수 200 μl를 가하여 10초간 vortexing하여 희석하였다. 이 중 20 μl를 HPLC에 주입하여 분석한 후 요(尿)검량선을 써서 요중 약물량을 정량하였다.

데이터의 해석: 혈장 중 DWC-751 농도-시간 데이터를

방법에 따라 $C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$ 에 fitting시킨 후, $t_{1/2,\alpha}$, $t_{1/2,\beta}$, AUC , CL_T , Vd_{ss} 등은 다음과 같이 계산하였다.

$$t_{1/2,\alpha} = 0.693/\alpha \quad (2)$$

$$t_{1/2,\beta} = 0.693/\beta \quad (3)$$

$$AUC(0 \rightarrow \infty) = AUC(0 \rightarrow t) = C_i/\beta \quad (4)$$

$$Vd_{ss} = X_0(A/\alpha^2 + B/\beta^2)/AUC^2 \quad (5)$$

$$CL_T = X_0/AUC \quad (6)$$

(4)식에서 C_i 는 t 시간에서의 혈중 농도, $AUC(0 \rightarrow t)$ 는 t 시간까지의 AUC 로 최종 샘플링시간까지의 실측데이터를 써서 trapezoidal rule로 계산하였다.

한편, DWC-751의 걸보기 요배설 클리어런스(CL_R)는 2가지 방법으로 구하였다. 즉, 우선 분포후상의 혈장 중 농도와 배설 속도와와의 플롯을 직선화하였을 때의 기울기로부터 구하였다(기울기법). 그러나 혈장중 농도에 따른 CL_R 의 변화를 보고자 할 때는 다음 식에 따라 계산하였다.

$$CL_R = \frac{Ex. Rate}{Cp_{mid}} = \frac{\Delta Ex. / \Delta t}{Cp_{mid}} = \frac{U \cdot \Delta V}{Cp_{mid} \cdot \Delta t} \quad (7)$$

여기서, CL_R 은 신클리어런스, $Ex. Rate$ 는 요배설속도, Cp_{mid} 는 중간시점의 혈장중 약물농도, Δt 는 채뇨간격, $\Delta Ex.$ 는 Δt 시간 동안의 요중 배설량, U 는 요중 약물농도, 그리고 ΔV 는 Δt 동안의 요량을 의미한다.

유수분배계수의 측정

수상으로는 pH 4.0, 7.4, 9.0인 인산완충용액을 사용하였고, 유상으로는 n-octanol을 사용하였다. 유상과 수상은 동량 혼합하여 진탕시키고 하룻밤 방치하여 미리 포화시킨 후 각 상을 분리하였다. DWC-751을 유상으로 포화된 각각의 완충용액에 500 μg/ml의 농도로 용해한 후 수상으로 포화된 n-octanol과 동량 혼합하였다(완충액 : n-octanol = 10 : 10, v/v). 혼합 후 5분간 격렬히 혼화하고 25°C의 수욕상에서 2시간 동안 진탕시켰다. 이어 원심분리하여 두 상을 분리하고 수상의 약물농도를 HPLC로 정량하였다. HPLC에서 이동상으로는 20 mM H₃PO₄와 메탄올의 혼합용액(85 : 15, v/v)을 사용하였고, 유속은 1.2 ml/min, 주입량은 10 μl로 하였다. 각각의 완충용액에 대하여 DWC-751의 농도 10~500 μg/ml 범위에서 검량선을 작성하여 수상중의 약물농도를 환산하였다. 유수분배계수($K_{o/w}$)는 다음 식에 따라 계산하였다.

$$K_{o/w} = \frac{\text{초기 수층 농도} - \text{평형도달 후 수층 농도}}{\text{평형도달 후 수층 농도}} \quad (8)$$

실험결과

Bioassay법

흰쥐 혈장중 농도: 흰쥐의 정맥내에 DWC-751 또는

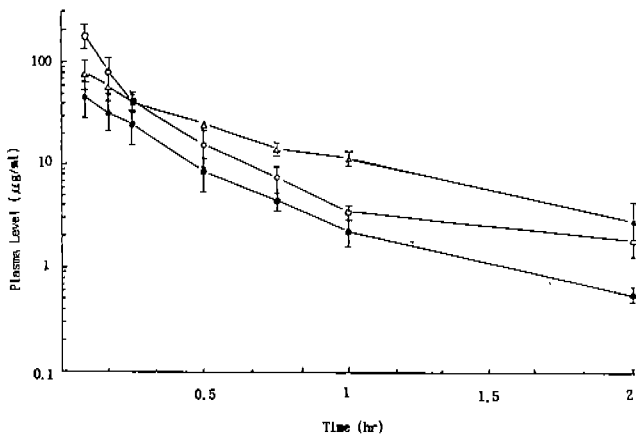


Fig. 3. Plasma level time curve of three cephalosporins after intravenous dosing of 20 mg/kg in rats, determined by microbiological assay. (n=3, mean±S.E.) ○: CAZ, ●: CTX, △: DWC-751.

Table II. Pharmacokinetic parameters of three cephalosporins after intravenous dosing of 20 mg/kg in rats, determined by microbiological assay

Pharmacokinetic parameter	Compound		
	CAZ	CTX	DWC-751
$T_{1/2,\alpha}$ (min)	7.3±0.1	10.9±1.9	19.0±9.4
$T_{1/2,\beta}$ (min)	45.8±6.1	47.5±12.6	35.0±9.7
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$)	2899±768	1122±322	2652±394
CL_T (ml/min/kg)	8.0±1.8	20.7±4.8	7.9±1.3
Vd_{ss} (l/kg)	0.7±0.2	1.3±0.2	0.4±0.1

Data represents the mean ± S.E. of three determinations.

Table III. Tissue distribution of DWC-751 after 15 min and 2 hr following intravenous doses of 20 and 40 mg/kg in mice (n=6)

Tissue	Tissue conc. of DWC-751 ($\mu\text{g}/\text{g}$)			
	20mg/kg		40mg/kg	
	after 15min	after 2hr	after 15min	after 2hr
liver	10.24±1.95	N.D. ^a	29.86±7.07	0.72±0.27
lung	4.22±1.15	N.D.	11.20±2.43	N.D.
kidney	25.68±7.76	0.54±0.101	49.52±8.39	0.48±0.07
spleen	1.27±1.08	N.D.	3.21±0.89	0.38±0.02
brain	N.D.	N.D.	0.36±0.05	N.D.

Each data represents the mean ± S.E.

^a N.D.: not detected.

CAZ나 CTX를 20 mg/kg투여한 후의 혈중 농도추이와 속도론 파라미터를 Fig. 3 과 Table II에 나타내었다. 이 약의 혈장중 동태는 2-컴파르트먼트 모델로 설명할 수 있었다. DWC-751의 Vd_{ss} 와 CL_T 는 CAZ와 비슷하였으나 CTX보다는 훨씬 작았다. $T_{1/2,\alpha}$ 및 $T_{1/2,\beta}$ 에서는 검토된 세 약물에 유의성 있는 차이가 없었다.

생쥐 조직중 분포 : 생쥐에서의 DWC-751의 각 장기중

Table IV. Tissue distribution of DWC-751 after 15 min and 2 hr following intramuscular dose of 20 and 40 mg/kg in mice (n=6)

Tissue	Tissue conc. of DWC-751 ($\mu\text{g}/\text{g}$)			
	20mg/kg		40mg/kg	
	after 15min	after 2hr	after 15min	after 2hr
liver	8.14±3.13	N.D. ^a	14.31±5.25	0.74±0.37
lung	5.06±1.73	N.D.	9.22±3.86	N.D.
kidney	19.61±7.10	0.49±0.10	57.75±14.99	1.23±1.14
spleen	0.78±0.20	N.D.	0.83±0.29	N.D.
brain	N.D.	N.D.	0.30±0.05	N.D.

Each data represents the mean ± S.E.

^a N.D.: not detected.

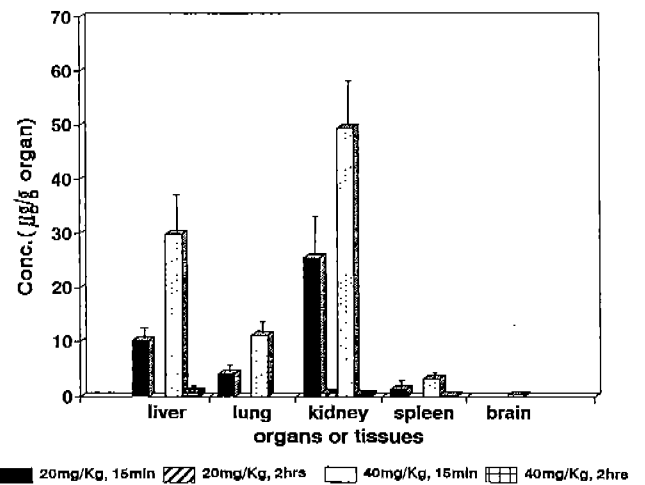


Fig. 4. Tissue distribution of DWC-751 after intravenous dosing of 20, 40 mg/kg in mice (n=6, mean±S.E.).

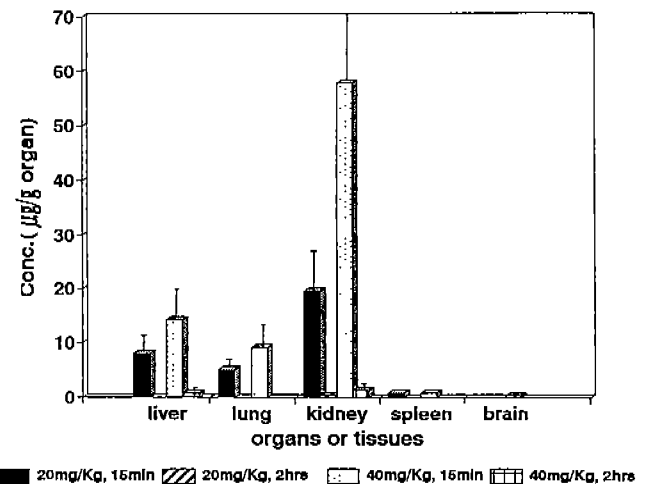


Fig. 5. Tissue distribution of DWC-751 after intramuscular dosing of 20, 40 mg/kg in mice (n=6, mean±S.E.).

농도를 Table III, IV와 Fig. 4, 5에 나타내었다. 정맥내로 20 mg/kg투여 15분 후의 장기중의 농도는 신장>간장>

Table V. Binding ratio (% , mean \pm S.E.) of DWC-751, CAZ and CTX to human serum albumin

Compound	binding ratio (%)
ceftazidime	21.54 \pm 1.58
cefotaxime	34.18 \pm 2.72
DWC-751	42.33 \pm 0.76

The concentrations of compounds were the same at 31.25 M. Each data represents the mean S.E. of 3-4 determinations.

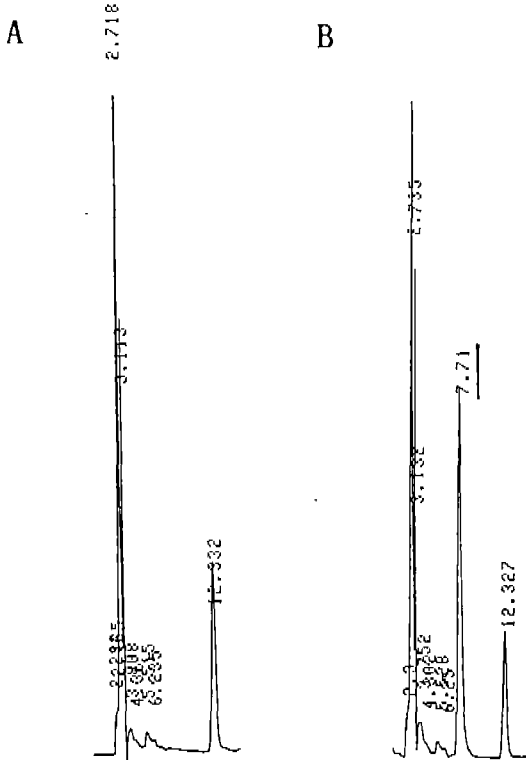


Fig. 6. HPLC chromatograms of DWC-751 in rat plasma. A: blank plasma, B: DWC-751 in plasma.

폐>비장의 순으로 높았고, 40 mg/kg투여 15분 후의 결과도 용량에 비례하면서 같은 결과를 나타내었다. 또한 근육내 투여에 있어서도 정맥투여와 같은 결과를 나타내었다. 그러나, 정맥주사 또는 근육주사한 후 2시간 경과한 시점에서는 용량이 20이건 40 mg/kg이건간에 이들 조직중 농도가 매우 낮아졌다(1 μ g/ml이하). 조직중 농도 (Fig. 4)를 그때의 혈장중 농도(Fig. 3)와 비교해 보면 DWC-751의 조직/혈장 분포비가 간장이나 신장에 있어서도 1보다 훨씬 낮았다.

혈청 단백질과의 결합성 : DWC-751, CAZ 및 CTX의 사람 혈청 알부민에 대한 결합률을 Table V에 나타내었다. 각각의 약물농도가 31.3 μ M일 때 DWC-751의 결합률은 42.33 \pm 0.8%이고, CAZ, CTX는 각각 21.5 \pm 1.6, 34.2 \pm 2.7%를 나타내었다.

HPLC법

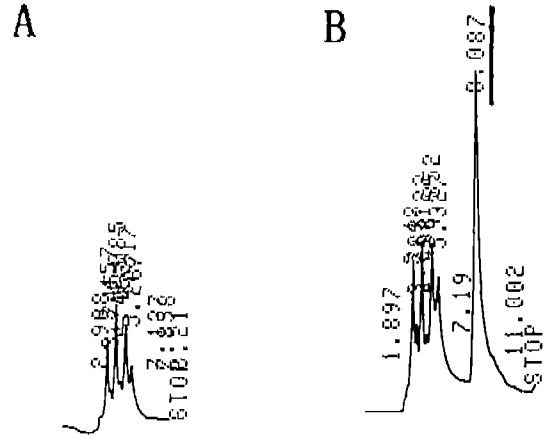


Fig. 7. HPLC chromatograms of DWC-751 in rat urine. A: blank urine, B: DWC-751 in urine.

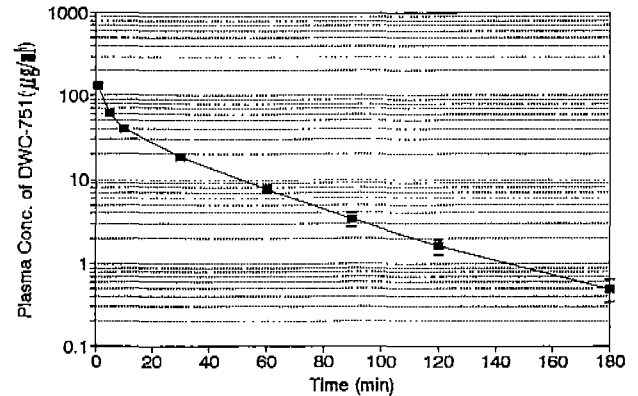


Fig. 8. Plasma level-time curve of DWC-751 after intravenous dosing of 20 mg/kg in rats, determined by HPLC (n=4, mean \pm S.E.).

Table VI. Pharmacokinetic parameters of DWC-751 after intravenous dosing of 20 mg/kg in rats (n=4, mean \pm S.E.)

$T_{1/2\alpha}$ (min)	$T_{1/2\beta}$ (min)	AUC (μ g·min/ml)	CL^r (ml/min/kg)	CL_{R^a} (ml/min/kg)	Vd_{ss} (l/kg)
3.0	28.3	1911.1	10.81	7.5	0.3
± 0.3	± 2.3	± 123.4	± 0.7	± 0.0	± 0.0

^a CL_R : means the linear regressed slope of the plot between plasma level and excretion rate in the post-distribution phase.

DWC-751의 HPLC 정량분석 방법 : DWC-751의 혈장 및 요중의 크로마토그램을 Fig. 6과 7에 나타내었다. 크로마토그램에서 보듯이 흰쥐의 혈장 및 요(尿)의 blank 피크와 비교하여 볼 때 DWC-751은 본 실험에서 사용한 HPLC 정량조건에서 미지의 피크들과 잘 분리되었고 유지시간은 7분이었다. 분리된 피크 높이간의 검량선은 혈장에서는 0.5~200 μ g/ml, 요(尿)는 0.1~20 mg/ml의 범위에서 높은 상관성을 보여 r값은 각각 0.9995와 0.9994이었다.

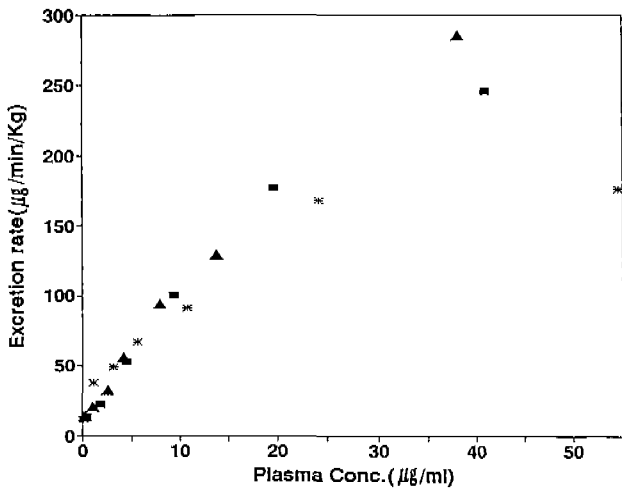


Fig. 9. The relation of excretion rate and plasma levels of DWC-751 after intravenous dosing of 20 mg/kg in rats. ■: rat I, ▲: rat II, *: rat III.

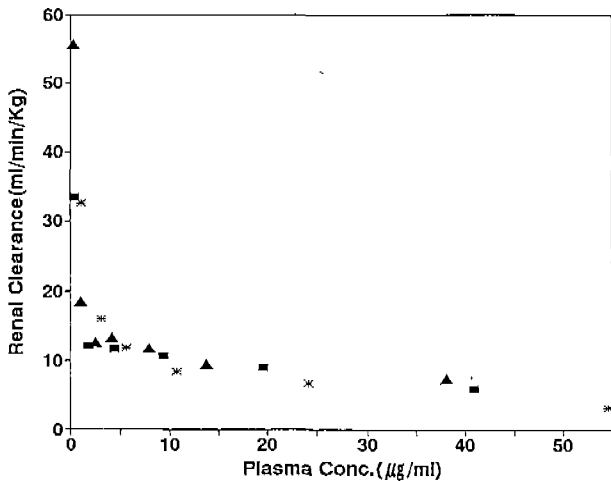


Fig. 10. The relation of renal clearance and plasma levels of DWC-751 after intravenous dosing of 20 mg/kg in rats. ■: rat I, ▲: rat II, *: rat III.

본 실험은 내부표준물질을 사용하지 않았으나, 내부 표준물질 없이도 좋은 직선성을 나타내므로 본 정량 방법이 충분한 정량성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

흰쥐 혈장중 약물농도 추이 : 흰쥐의 정맥내에 DWC-751 20 mg/kg 투여 후의 혈중농도-시간 곡선과 속도론 파라미터를 Fig. 8 과 Table VI.에 나타내었다. DWC-751 은 2-컴파트먼트 모델로 해석할 수 있었으며, 그 소실상의 반감기는 28.3분, 전신클리어런스(CL_T)는 10.57 ml/min/kg, Vd_{ss} 는 0.31/kg으로 Table II의 bioassay로 구한 각 파라미터와 유의성 있는 차이를 보이지 않고 대체로 일치하는 결과를 보였다. HPLC로 구한 AUC값이 bioassay로 구한 AUC보다 낮게 계산되었으나, 통계적으로 유의성이 있는 것은 아니었다.

흰쥐 요중 약물배설 추이 : 세마리의 흰쥐에 DWC-751 을 정맥 투여한 후의 혈장 중 농도에 대한 요(尿)로의 배설속도 및 신 클리어런스(CL_R)를 plot하여 Fig. 9과 10 에 나타내었다. Fig. 10에서 혈장 중 농도가 증가함에 따라 신 클리어런스는 감소하는 경향을 뚜렷이 볼 수 있었다. 또 Fig. 9에서 전체 데이터를 직선회귀하여 기울기로부터 구한 각 흰쥐의 신 클리어런스는 각각 8.638, 8.867, 5.803 ml/min/kg이었다.

유수분배 계수 : pH 4.0, 7.4, 9.0의 각 완충 용액에 대한 DWC-751의 검량선은 10~500 µg/ml의 농도 범위에서 좋은 직선성을 보였다. 이로부터 각 pH에서 구한 이 약의 분배계수값은 각각 0.0(±0.0, n=4), 0.1(±0.0, n=4) 및 0.2(±0.0, n=4)로 pH에 관계없이 매우 낮음을 나타내었다.

고 찰

DWC-751의 체내동태를 bioassay법과 HPLC법으로 정량하였다. DWC-751을 흰쥐에 정맥투여하였을 때 혈장중 반감기는 분포상에 있어서는 평균 19분(bioassay), 3분(HPLC)이었고 소실상의 반감기는 CTX가 47분, CAZ가 46분, 이 약이 35분(bioassay), 28분(HPLC) 순으로 작았다. 흰쥐에 있어서의 CAZ와 CTX의 다른 문헌에 의한 혈장중 반감기를 살펴보면, Chamberlain 등(1985)이 흰쥐에 CTX 10 mg/kg 투여하여 전혈을 HPLC로 정량하였을 때 반감기는 40분이었고, Omosu 등(1980)의 보고에는 CTX 20 mg/kg 정맥내 투여후의 소실상 반감기가 15분임을 보고하였다. 또한, CAZ의 흰쥐의 혈장중 반감기(Okumura 등, 1983)는 18분(HPLC법), 20분(bioassay법)이 보고되었다. DWC-751의 분포용적(Vd_{ss})은 평균 0.4(bioassay)와 0.34(HPLC) l/kg으로 나타났다. 한편 CAZ는 0.56, CTX는 1.3 l/kg으로 DWC-751보다 큰 분포용적을 나타냈다. DWC-751의 전신 클리어런스(CL_T)는 CAZ와 비슷한 값을 가져서 8(bioassay)과 10.7(HPLC)이었고, CAZ가 8 ml/min/kg이었다. CTX는 20.6 ml/min/kg으로 훨씬 컸다. AUC에 있어서는 DWC-751이 2652 µg·min/ml(bioassay)와 1911 µg·min/ml(HPLC)이었고 CAZ는 2899 µg·min/ml, CTX는 1122 µg·min/ml이었다.

혈장 중 DWC-751의 농도가 증가함에 따라 요중 배설속도는 증가하고 이를 CL_R 로 나타내면 혈중 농도 증가에 따라 감소하는 경향이 보였다(Fig. 10). 또 DWC-751의 겉보기 CL_R 은 7.48 ml/min/kg으로 GFR의 문헌치(약 5 ml/min/kg)(Shim 등, 1984) 보다 컸다. 따라서 DWC-751의 신 배설과정에 신 분비가 관여함을 추측할 수 있었다. 이로부터 CL_R 을 선형 속도론에 따라 계산하는 것은 정확하지 않다고 생각되었다. Table VI.의 CL_R 은 다만 데이터의 비교를 위해 배설속도와 혈장중 농도 플롯을 직선 회귀하였을 때의 기울기로부터 간이적으로

구한 것이다. 사람에게 있어서 세파로스포린계 항생제를 500 mg 또는 1 g 정맥투여하였을 때의 CL_R 을 문헌(Nightingale 등, 1981)에서 살펴 보면, cephalothin이 7.293, cephalirin이 9.102~9.582, cefotaxim이 2.688~4.365, cephradine이 9.768 ml/min/kg으로 대부분 GFR보다 큰 값을 보이고 있다. 따라서 이들과 DWC-751은 모두 신장에서 분비된다고 생각된다. 또한, 대부분의 cepha계 항생제들과 마찬가지로 DWC-751의 CL_R 은 CL_T 의 약 2/3을 차지하므로, 약물소실에 있어서 신장의 기여도가 큼을 알 수 있었다.

DWC-751의 혈장단백 결합률은 42.3%로 CAZ(21.5%)나 CTX(34.2%)보다 큰 값을 나타내고 있고, 문헌치에 의하면(Okumura 등, 1983) CAZ의 사람 혈청 알부민에 대한 결합률은 20.9%로 본 시험의 실험치와 매우 유사한 값을 나타내고 있다.

한편, 생쥐에 DWC-751을 정맥투여한 후 장기에의 이행성에 대한 bioassay결과를 보면 신장>간장>폐순으로 이행성이 높으나 그 어느 조직에서도 조직/혈장 분배율은 1보다 훨씬 낮았다. 즉, 이 약물의 조직분포성은 매우 낮았다. DWC-751의 분포용적이 1l/kg이하인 것은 이 약의 혈장/조직간 분배율이 간이나 신에서도 1보다 훨씬 작은 사실에 기인한다고 생각된다. CAZ, CTX(Okumura 등, 1983) 등은 다른 장기에 비해 폐이행성이 높은 것으로 지적되어 있는데, DWC-751의 폐이행성도 이들 약제와 공통의 성상을 갖는 것으로 생각된다.

DWC-751의 유수분배계수 실험으로부터, DWC-751은 극성이 매우 높음을 알 수 있고 이 때문에 조직분포성이 낮은 것으로 생각되었다.

이와 같은 결과를 종합하여 보면 DWC-751은 ceftazidime 등과 유사한 체내동태를 보이고 있는 것으로 생각되나 다회 투여시의 체내동태와 용량의존적 체내동태 등에 관해 더 많은 연구가 추가되어야 하리라고 생각된다.

참고문헌

- Chamberlain, J., Coombes, J.D., Dell, D.J., Fromson, M., Ings, R.J., Macdonald C. M. and McEwen, J. (1985). Metabolism of cefotaxime in animals and man. *J. Antimicrob. Chemother.* **15**, 97-103.
- Moon, C.J. *et al.* (1991). Novel cephalosporins and process for preparation thereof. *WO* 92-21681.
- Nightingale, C.H., French, M.A. and Quintiliani, R. (1981). Cephalosporin pharmacokinetics. In *Beta-lactam Antibiotics* (S. Mitsuhashi, Ed.), pp. 259-295, Japan Scientific Societies Press.
- Omosu, M., Togashi, O. and Fujimoto, K. (1980). Pharmacokinetics study of cefotaxime in rats. *Chemotherapy* **28**, 1184-1193.
- Okumura, K., Tsuji, H., Takeda, K., Fukuda, I., Nagaki, T., Takano, M., Higo K. and Kinami, J. (1983). Absorption, distribution, metabolism and excretion of ceftazidime in mice, rats and rabbits. *Chemotherapy* **31**, 188-198.
- Shim, C. K., Sawada, Y., Iga, T. and Hanano, M. (1984). Estimation of renal secretory function for organic cations by endogenous N¹-methylnicotinamide in rats with experimental renal failure. *J. Pharmacokinetic. Biopharm.* **12**, 23-42.
- Takagishi, Y., Iwamoto, K., Nagata, M. and Gato, H. (1981). High performance liquid chromatographic assay of cephalixin in biological fluid. *Yakugaku Zasshi* **101**, 843.