

새로운 경구용 세팔로스포린류의 물리화학적 성질 및 분해특성

나성범[#] · 김완주* · 지웅길

충남대학교 약학대학, *한국화학연구소

(Received January 27, 1994)

Physicochemical Properties and Degradation of New Oral Cephalosporins

Sung Bum La[#], Wan Joo Kim* and Ung Kil Jee

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon 305-606, Korea

Abstract—Physicochemical properties and hydrolysis kinetics of new some oral cephalosporins were examined in buffered solution and human plasma or rat liver homogenate. The test cephalosporins were 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN1), 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid (CEN2), pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (CEN1P), and pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate (CEN2P). The partition coefficient(Ko/w) of CEN1P, CEN2P were higher than those of CEN1, CEN2. The calculated pKa values of CEN1, CEN2, CEN1P, and CEN2P were 7.09, 7.75, 4.92, and 5.39, respectively. The hydrolysis of CEN1P and CEN2P were not depend on the composition of pH of the test medium except weak alkaline buffered solution (pH 8.00). CEN1 and CEN2 were very stable in pH 6.80 and 8.00 buffer solutions. CEN1P and CEN2P were rapidly deesterified to CEN1 and CEN2 in human plasma and in rat liver homogenate. Half-lives($t_{1/2}$) of CEN1 and CEN2 were 3.49 and 4.93 hr in human plasma, 1.47 and 1.26 hr in rat liver homogenate, respectively.

Keywords □ Oral cephalosporins, Ko/w, pKa, Hydrolysis, Artificial gastric juice, Artificial intestinal juice, Human plasma, Rat liver homogenate.

세팔로스포린의 항균작용이 발견된 이후 보다 광범위한 항균 스펙트럼과 항균력을 향상시키기 위한 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있는데¹⁻⁷⁾ 최근 세팔로스포린계 항생제의 연구관점은 첫째, 경구용으로 투여되어 위장관내에서 흡수될 수 있도록 하거나 둘째, 그람양성균 및 그람음성균을 포함한 광범위한 스펙트럼을 갖는 제 4세대 이상의 주사제이거나 셋째,

약효가 장시간 지속되는 지속형 항생제로 개발하기 위한 것으로 요약할 수 있다. 위의 조건들 중에서 경구용항생제의 개발이 가장 비중이 큰 조건인데 이는 주사제 세팔로스포린의 연구개발은 정점에 달하여 진일보된 연구에는 난제들이 많은데 비해 경구용 세팔로스포린은 주사제의 제 1세대 혹은 제 2세대 정도의 수준이어서 개발여건이 많고 복용의 편리성 등으로 전망이 매우 밝은 상태이다. 따라서 새로운 경구용 세팔로스포린을 개발하기 위한 목적으로 CEN1, CEN2 및 이들의 피발로일옥시메칠 에스텔 화합물들인

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

^{*} 현주소 : 한국과학기술연구원 의과학연구소

CEN1P와 CEN2P(Fig. 1)를 합성하였으며 CEN1과 CEN2에 대한 *in vitro*에서 6종의 그람양성균 및 14종의 그람음성균에 대한 최소발육저지농도를 측정할 결과 CEN1과 CEN2의 항균력이 세파클러보다 좋게 나타났고 세포탁심보다는 약간 낮은 항균력을 나타냈으며 CEN2가 CEN1보다 동등 이상의 항균력을 나타내는 등 그람양성균과 그람음성균 모두에 대한 넓은 항균 스펙트럼과 좋은 항균력을 나타냈음을 보고하였다.⁸⁾ 베타락탐 항생제의 경우 신약 후보물질은 신약으로 개발하기 위해서는 물리화학적 성질, *in vitro*에서의 항균력, 작용양식, *in vivo*에서의 항균력, 체내약물동태 및 독성학적 성질 등 많은 항목들을 검토해야 한다.⁹⁾

이에 저자 등은 각 항목의 대표적인 것들을 검토하였는데 목적화합물을 합성하는 과정에서 순수한 목적물을 얻어 순도를 고려했다. 또한 베타락탐 항생제를 경구로 투여하게 되면 산성의 위액, 알칼리성의 췌장액에 접하게 되고 흡착, 음식물이나 관강(lumen) 내용물과의 결합, 장점막벽의 구조에 의한 흡수의 장애와 구토, 설사, 여러원인에 의한 흡수불량 등의 난제와 접하게 된다. 따라서 베타락탐 항생제의 위장관에서의 흡수는 산에 대한 안정성이 가장 중요한 요소이며 분자크기, 치환기의 구조, 약제학적 제형이 중요하기 때문에 화합물의 물리화학적 성질을 측정하고자 세포탁심(Fig. 2)을 비교물질로 하여 합성한 4종의 새로운 세팔로스포린에 대한 pKa값과 약물의 생체흡수에 지표가 되는 유수분배계수를 측정하였으며 인공위액, 인공장액 및 pH 8.00 인산염 완충액에서의 안정성을 측정하고 사람의 혈장과 흰쥐의 간 호모지네이트에서의 가수분해 정도를 HPLC분석법으로 정량하여 생체내 흡수 후의 안정성을 *in vitro*상의 실험을 통해 검토하였다.

실험방법

시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약으로 세포탁심은 Hoechst AG사(Postfach, Frankfurt/M.)제품을 사용하였고 메탄올과 아세트니트릴은 Merck사(D-6100 Darmstadt, FRG)의 HPLC분석용 제품, 사람혈장(AB형)은 적십자 혈액원(Korea)으로부터 공급받아 사용하였으며 기타

시약은 특급 혹은 1급을 사용하였다.

기기는 UV/Visible 분광광도계(PU8800, Pye Unicam Ltd., York Street, Cambridge), 고속액체크로마토그래프는 Waters Associates 모델(펄프모델 510, U6 K 인젝터, 흡광감지기 모델 441, 데이터 모듈모델 730, Milford, MA)을 사용하였으며 칼럼은 라디알 팍 카트리지 C₁₈(내경: 8 mm, 길이: 10 cm, 입자크기: 5 μm, Milford, MA)을 사용하여 UV_{λ254 nm}에서 측정하였다. 또한 초음파조작균질기(Ultrasonic Processor, W-380, Heat system-Ultrasonics Inc., Farming Dale, NY), 냉동원심분리기(J2-21 M/E, Beckman Instruments Inc., Palo Alto, CA) 등을 사용하였다.

유수분배계수

유상과 수상의 제조는 유상으로 n-옥탄올 및 사염화탄소를 실험 전 수상으로 사용할 0.2 M 염산 완충액(pH 1.20)과 0.2 M 인산염 완충액(pH 6.50)으로 각각 포화시켰고 수상은 n-옥탄올과 사염화탄소로 미리 포화시켜 사용하였다. 시료의 제조는 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P 화합물 각각 일정량을 디메틸설폭사이드(DMSO) 2.0 ml를 가해 용해시키고 유상으로 포화시킨 0.2 M 염산 완충액과 0.2 M 인산염 완충액을 가해 250 ml로 하여 각각의 약물의 농도를 1.00×10^{-4} M이 되도록 조절하였다. 실험은 각 화합물 용액을 마개가 달린 시험관(부피: 15 ml)에 수상으로 5.0 ml씩 가하고 수상으로 포화시킨 n-옥탄올과 사염화탄소를 유상으로 각각 5.0 ml씩 가한 다음 차광하 37 ± 0.5°C에서 1시간 동안 진탕하고 24시간 정치한 후 수상을 분취하여 수상에 잔존된 각각의 화합물을 최대흡수파장(세포탁심: 259.9 nm, CEN1: 245.6 nm, CEN2: 243.2 nm, CEN1P: 248.6 nm, CEN2P: 243.0 nm)에서 흡광도를 측정하여 농도를 계산하였다.

pKa측정

시료는 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P와 CEN2P 화합물 일정량을 DMSO 2.0 ml를 가해 용해시키고 0.1 N 염산 및 0.2 M 인산염 완충액(pH 6.50)을 가해 250 ml로 하여 각각의 약물농도를 1.00×10^{-4} M이 되도록 제조하였으며 각 화합물 용액을 마개달린 시험관에 수상으로 5.0 ml씩 가하고 유상으로 n-옥탄올과 사염화탄소를 5.0 ml씩 가한 다음 37 ± 0.5°C에서 1시간 동안 진탕하고 24시간 정치한 후 수상을 분취

하여 수상의 pH를 즉시 측정하고 각각의 화합물에 대한 최대흡수파장에서 흡광도를 측정하여 농도를 계산하였다.

이때 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P 화합물은 모두 약산성이므로 pKa값은 0.2 M 염산 완충액(pH 1.20)을 수상으로 사용한 것으로부터 진분배계수(Pm) 값을 얻고 0.2 M 인산염 완충액(pH 6.50)을 수상으로 사용한 것으로부터 겔보기분배계수(Papp) 값을 얻은 것으로부터 (식 1)에 따라 pKa값을 산출하였다.

$$pKa + pH + \log \frac{Papp}{Pm - Papp} \quad (\text{식 1})$$

pH의 변화에 따른 가수분해

시료로 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P와 CEN2P 각각의 화합물을 DMSO 1.0 ml를 가해 용해시키고 메탄올 9.0 ml를 가해 1.57×10^{-2} M 농도로 된 원액을 사용하였다. 마개가 달린 시험관에 인공위액(제 1액, pH 1.20), 인공장액(제 2액, pH 6.80) 및 0.2 M 인산염 완충액(pH 8.00) 10.0 ml를 취하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지시키고 각 약물의 원액 100 μl 를 가하여 1.57×10^{-4} M의 농도로 반응시키면서 일정시간마다 반응용액 20 μl 씩을 취하여 직접 HPLC에 주입하여 측정하였다. 또한 피크의 높이를 동일한 조건으로 측정된 표준품과 비교하여 가수분해되지 않은 약물의 잔존량을 구하였으며 이때 사용된 HPLC조건¹⁰⁻¹²⁾은 다음과 같다. 세포탁심, CEN1과 CEN2는 이동상으로 (트리에칠아민 : 빙초산 : 물 = 14 : 5.7 : 80.3 v/v%의 혼합용액) : 1N 초산 : 아세토니트릴 : 물 = 1.2 : 2.8 : 130 : 866(v/v%)을 사용하였고 유속은 2.0 ml/min, 검출은 UV 254 nm(0.05AUFs)에서 행하였으며 각 화합물의 유지시간(tr)은 세포탁심이 4.80분, CEN1이 5.64분, CEN2가 5.76분 이었다. CEN1P 및 CEN2P는 이동상으로 메탄올 : 물 = 75 : 25(v/v%)을 사용하였으며 이때 각 화합물의 유지시간은 CEN1P가 6.24분, CEN2P가 6.38분을 기록하였다.

사람혈액에서의 가수분해

0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)을 사용하여 사람혈장(AB형)를 80%로 희석한 용액 및 0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)에서의 약물의 가수분해를 다음과 같

이 측정하여 서로 비교하였다. 본 실험은 3회 실시하였으며 각 약물에 대한 분석은 HPLC로 분석하였고 겔보기 1차분해 속도 정수는 약물의 잔존량을 편대수 그래프에 플롯하여 그 기울기로부터 구하였다.

0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)에서의 약물의 가수분해—0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40) 10.0 ml를 마개가 달린 시험관에 취하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지시키고 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P 각각의 원액 50 μl 를 가하여 7.85×10^{-5} M의 농도로 반응시키면서 일정시간마다 반응액 20 μl 를 취하여 직접 HPLC에 주입하여 측정하였다. 또한 피크 높이를 동일한 조건으로 측정된 표준품과 비교하여 가수분해되지 않은 약물의 잔존량을 구하였다.

80% 사람혈액에서의 가수분해—80% 사람혈장 용액 10.0 ml를 마개가 달린 시험관에 취하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지시키고 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P의 원액 900 μl 를 가하여 1.41×10^{-3} M의 농도로 하였다. 일정시간마다 이 용액 200 μl 를 취하여 원심분리관에 넣고 에탄올 1.0 ml를 가하여 제단백하고 볼텍스 믹서로 서로 혼합하고 4500 rpm으로 2분 동안 원심분리한 다음 0.45 μm 필터로 여과한 용액 20 μl 를 취해 직접 HPLC에 주입하여 측정하였다.

흰쥐 간 호모지네이트에서의 가수분해

실험동물은 Sprague-Dawley 흰쥐 체중 200 g(± 10 %)것을 사용하였으며 간 호모지네이트의 제조는 흰쥐를 기절시키고 개복하여 간을 분리한 다음 차가운 생리식염수로 세척하고 종이 수건으로 건조시켜 칭량하였다. 이를 가위로 세절하고 0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)으로 20 w/v%가 되도록 제조한 후 초음파 조직 균질기(out put: 100w)로 30분 동안 균질화시킨 다음 4°C 에서 9000 rpm으로 60분간 원심분리하여 상침액을 얻어 4°C 에서 보관하며 가수분해 시료원액으로 사용하였다. 가수분해 실험은 제조한 간 호모지네이트의 상침액 10.0 ml를 마개가 달린 시험관에 취하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지시키고 세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P의 원액 900 μl 를 가하여 1.41×10^{-3} M의 농도로 하여 상기와 동일한 HPLC 법으로 실험하여 가수분해되지 않은 약물의 잔존량을 구하였다.

결과 및 고찰

유수분배계수—Table I에 나타난 바와 같이 세포탁심, CEN1 및 CEN2의 분배계수를 비교해 보면 유상이 n-옥탄올일 때 수상의 pH가 1.20에서는 세포탁심이 CEN1 및 CEN2보다 분배계수가 컸으며 이는 유상이 사염화탄소일 때도 비슷하였다. 그러나 n-옥탄올상에서 수상의 pH가 6.50에서는 세포탁심에 비해 CEN1 및 CEN2의 분배계수가 현저히 컸다. 이는 세포탁심의 C3위치의 아세톡시메틸기 보다 피리딜피페라진기와 피리미딜피페라진기가 용해된 후의 지용성이 더 크기 때문인 것으로 추정된다. 또한 피리딜피페라진기와 피리미딜피페라진기의 변화에 따른 분배계수의 차이는 없었다. CEN1, CEN2 및 CEN1P, CEN2P를 비교해 보면 n-옥탄올과 사염화탄소 모두에서 수상의 pH가 6.50일 때 분배계수가 월등히 컸다. 따라서 CEN1, CEN2의 피발로일옥시메칠에스텔 화합물인 CEN1P, CEN2P가 용액상태로 일단 용해된 후 CEN1 및 CEN2보다 친유성이 좋음을 알 수 있고 약물의 흡수도가 CEN1, CEN2보다 높을 것으로 추측된다.

pKa값 비교—세포탁심은 두 종류의 유상에서 pKa 7.50을 나타냈고 CEN1과 CEN2의 pKa값은 각각 7.09와 7.75를 나타냈으나 CEN1P 및 CEN2P의 pKa값은 각각 4.92와 5.39로 낮게 나타났다. 이는 pH 1.20을 수상으로 사용한 Pm값이 작고 pH 6.50을 수상으로 사용한 Papp값이 친유성이 높기 때문에 유상에서의 이행이 많이된 것에 기인한 것으로 분배계수와 잘 일치하고 있다.

pH의 변화에 따른 가수분해—세포탁심, CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P는 pH 1.20, pH 6.80과 pH 8.00에서 시간이 경과함에 따라 분해되었으며 잔존율의 로그값을 취해 시간에 따라 플롯트해 본 결과 각 화합물의 가수분해는 1차속도식에 따르는 것으로 나타났다. pH 1.20에서의 가수분해 속도는 세포탁심 >>CEN2>CEN1>CEN2P>CEN1P의 순으로 가수분해가 진행되었다(Fig. 3 및 Table II). pH 6.80에서는 실험에 사용된 5가지 화합물 모두에서 매우 안정하게 나타났으며(Fig. 4 및 Table II), pH 8.00에서는 CEN1P=CEN2P>세포탁심>CEN1>CEN2의 순으로 가수분해가 진행되었다(Fig. 5 및 Table II). 이는 세포탁심은 인공위액과 같은 강산성 용액에서 아세톡시메

Table I—Lipid-water partition coefficient of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P

Compound	n-Octanol		CCl ₄	
	pH 1.20	pH 6.50	pH 1.20	pH 6.50
Cefotaxime	0.09* ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.05 ± 0.02
CEN1	0.04 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.03
CEN1P	0.04 ± 0.02	38.01 ± 1.63	0.02 ± 0.01	10.67 ± 1.23
CEN2	0.02 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.00
CEN2P	0.53 ± 0.02	26.09 ± 2.63	0.27 ± 0.03	6.63 ± 0.34

*: Values are Mean ± S.D. (n=5)

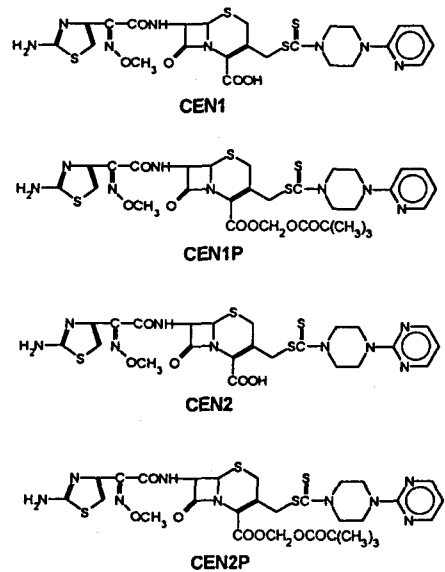


Fig. 1—The chemical structure of 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(CEN1), 7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylic acid(CEN2), pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyridyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(CEN1P), and pivaloyloxymethyl-7-[(Z)-2-(2-aminothiazole-4-yl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[4-(2-pyrimidyl)piperazinyl]thiocarbonylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate(CEN2P).

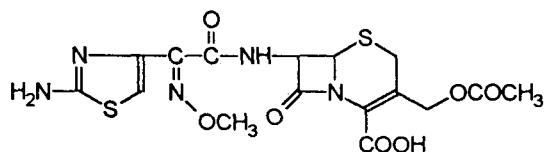


Fig. 2—The chemical structure of cefotaxime, [6R-[6 α , 7 β (Z)]]-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[[(2-amino-4-thiazolyl)methoxyimino]acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid.

Table II—Apparent first-order rate constant (K) and half-life($t_{1/2}$) for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN2, CEN1P, and CEN2P in aqueous buffered solutions at 37°C

Compound	Buffer solution	K* (x10 ⁻⁴ min)	t _{1/2} (h)
Cefotaxime	pH 1.20	21.26 ± 2.20	5.43 ± 0.33
	pH 6.80	2.42 ± 0.77	47.76 ± 4.92
	pH 8.00	3.61 ± 0.55	32.01 ± 2.89
CEN1	pH 1.20	5.30 ± 0.74	21.81 ± 1.80
	pH 6.80	1.57 ± 0.23	73.75 ± 6.38
	pH 8.00	3.38 ± 0.28	34.19 ± 1.65
CEN2	pH 1.20	9.06 ± 0.73	12.75 ± 0.60
	pH 6.80	1.47 ± 0.31	78.77 ± 10.09
	pH 8.00	2.61 ± 0.31	44.25 ± 3.09
CEN1P	pH 1.20	1.93 ± 0.33	59.70 ± 6.12
	pH 6.80	2.25 ± 0.66	51.35 ± 9.65
	pH 8.00	8.83 ± 1.24	13.08 ± 1.09
CEN2P	pH 1.20	2.05 ± 0.25	56.35 ± 4.04
	pH 6.80	2.80 ± 0.57	41.22 ± 5.09
	pH 8.00	8.83 ± 0.68	13.08 ± 0.59

*: Values are Mean ± S.E. (n=3)

철기의 불안정성⁸⁾에 기인하여 가수분해되기 때문에 경구투여가 제한되었다. 또한 세포탁심의 C4위치의 카르복실산기에 대한 프로드럭화도 역시 실패했는데 이는 소장내에서 효소에 의한 가수분해로 C3위치의 아세톡시메틸기가 화학적으로 쉽게 변하기 때문이라고 보고하였다.¹³⁾ 따라서 세팔로스포린의 C3위치의 치환기가 흡수, 대사를 결정짓는 중요부위로 작용하기 때문에¹⁴⁾ 새로운 경구용 세팔로스포린의 C3위치의 피리딜피페라진 디치오카르바메이트 형태나 피리미딜피페라진 디치오카르바메이트기가 세포탁심의 아세톡시메틸기보다 구조적으로 안정한 것으로 사료된다. 약알칼리성 용액(pH 8.00)에서 세포탁심 및 CEN1

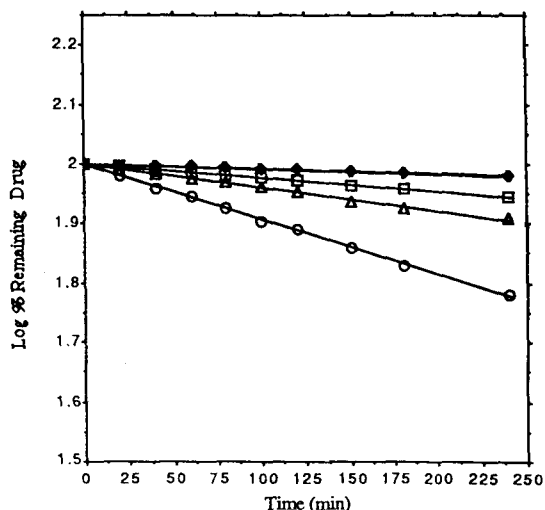


Fig. 3—First-order plot for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P in pH 1.20 buffer solution at 37°C.
 ○ Cefotaxime, □ CEN1, △ CEN2,
 ◇ CEN1P, + CEN2P

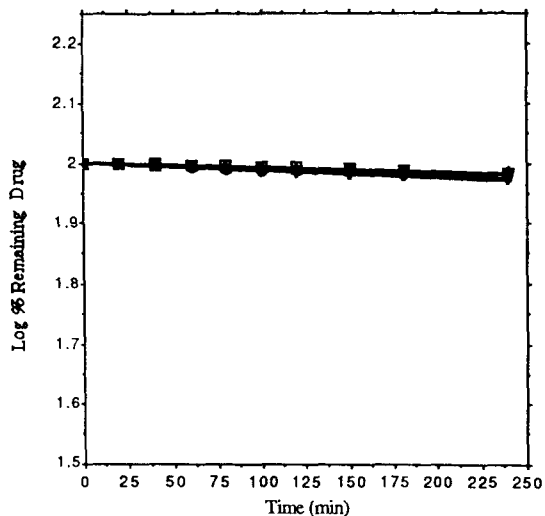


Fig. 4—First-order plot for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P in pH 6.80 buffer solution at 37°C.
 ○ Cefotaxime, □ CEN1, △ CEN2,
 ◇ CEN1P, + CEN2P

과 CEN2는 4시간 경과 후에도 90% 이상 잔존하였으나 각각의 피발로일옥시메틸 에스테르 화합물들은 다소 빨리 가수분해가 진행되어 4시간 경과시에도 19%가

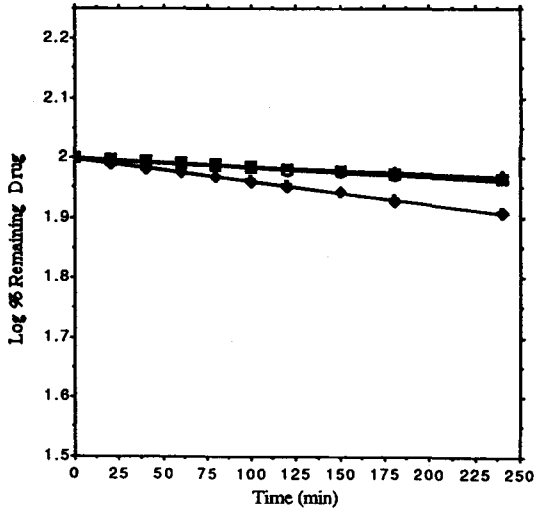


Fig. 5—First-order plot for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P in 0.2 M phosphate buffer solution (pH 8.00) at 37°C.
 ○ Cefotaxime, □ CEN1, △ CEN2,
 ◇ CEN1P, + CEN2P

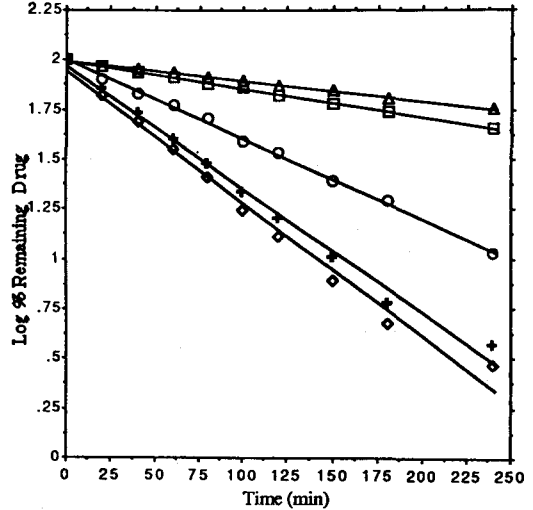


Fig. 7—First-order plot for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P in 80% human plasma at 37°C.
 ○ Cefotaxime, □ CEN1, △ CEN2,
 ◇ CEN1P, + CEN2P

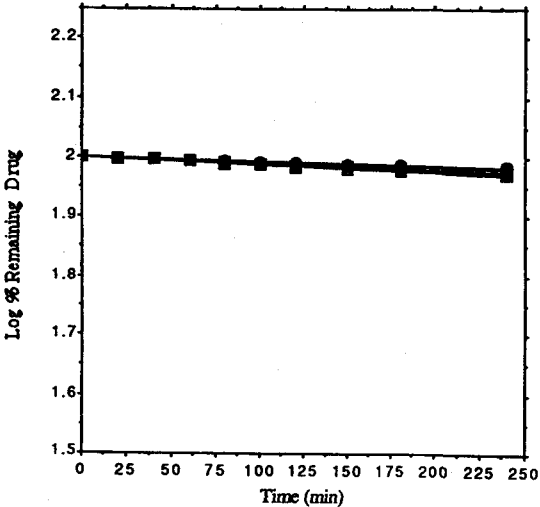


Fig. 6—First-order plot for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P in 0.05 M phosphate buffer solution (pH 7.40) at 37°C.
 ○ Cefotaxime, □ CEN1, △ CEN2,
 ◇ CEN1P, + CEN2P

가수분해 되었다.

사람혈장에서의 가수분해—실험에 사용된 사람혈장은 0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)으로 희석하여

사용하였으며 0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)내에서의 가수분해를 측정된 결과 각 화합물은 매우 안정하게 존재하여 0.05 M 인산염 완충액(pH 7.40)에 큰 영향을 받지 않음을 알 수 있었다(Fig. 6). 한편 사람혈장 중에서의 각 화합물들의 경시 잔존율을 HPLC로 정량하여 시간에 따라 플롯트 해본 결과 Fig. 7에 나타난 바와 같이 5가지 화합물 모두가 1차속도식에 따라 신속히 가수분해 됨을 알 수 있었으며 CEN1P와 CEN2P가 다른 화합물보다 가수분해가 빠르게 진행되었고 세포타심, CEN1, CEN2의 순으로 가수분해되었다(Table III). 여기서 CEN1P와 CEN2P 화합물은 가수분해가 진행되어 CEN1과 CEN2가 생성되었으며 반감기는 각각 0.69 및 0.76 hr를 나타냈는데 프로드럭에 대한 생체내 대사물에 관한 보고¹⁵⁾에 의하면 S-1108(S-1006의 피발로일옥시메칠 에스테르) 화합물이 생체내에 존재하는 esterase에 의해 S-1006, 피발린산과 포름알데히드로 분해됨을 보고하였다. 따라서 CEN1P 및 CEN2P 화합물의 구조가 CEN1 및 CEN2의 C4위치에 피발로일옥시메칠기가 에스테르 결합으로 된 것으로 혈장중에 존재하는 많은 비특이성 효소들에 의해 빠르게 가수분해되어 에스테르 결합이 끊어져 CEN1 및 CEN2 화합물이 되는 것으로 추정되었으며 이와 같이 혈장중에서 신속히 가수분해되는 것은 pH

Table III—Apparent first-order rate constant (K) and half-life($t_{1/2}$) for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN2, CEN1P, and CEN2P in 0.05 M phosphate buffer solution (PBS, pH 7.40), in 80% human plasma and in 20 w/v% rat liver homogenate at 37°C

Compound	Medium	K* ($\times 10^{-3}$ min)	$t_{1/2}$ (h)
Cefotaxime	PBS(pH 7.40)	0.14 ± 0.02	82.67 ± 6.97
	plasma	8.79 ± 1.47	1.31 ± 0.13
	homogenate	111.60 ± 3.55	0.10 ± 0.03
CEN1	PBS(pH 7.40)	0.22 ± 0.02	53.54 ± 0.28
	plasma	3.31 ± 0.55	3.49 ± 0.35
	homogenate	7.85 ± 1.03	1.47 ± 0.11
CEN2	PBS(pH 7.40)	0.28 ± 0.07	41.22 ± 0.60
	plasma	2.34 ± 0.28	4.93 ± 0.35
	homogenate	9.14 ± 1.81	1.26 ± 0.15
CEN1P	PBS(pH 7.40)	0.18 ± 0.01	63.48 ± 0.21
	plasma	16.77 ± 2.66	0.69 ± 0.06
	homogenate	43.90 ± 1.45	0.26 ± 0.01
CEN2P	PBS(pH 7.40)	0.24 ± 0.01	48.38 ± 0.12
	plasma	15.25 ± 2.29	0.76 ± 0.07
	homogenate	35.45 ± 2.21	0.33 ± 0.01

*: Values are Mean \pm S.E. (n=3)

7.40에서의 안정성이 매우 큰 사실로부터 혈장을 80%가 되도록 희석한 0.05 M 인산염 완충액에 기인하는 것이 아니라 혈장중에 이들 화합물을 가수분해 시키는 효소가 존재하기 때문으로 사료된다.

흰쥐 간 호모지네이트에서의 가수분해—Fig. 8에 나타난 바와 같이 세포탁심이 가장 신속하게 진행되었고 반감기는 0.10시간을 기록하였으며 CEN1P 및 CEN2P도 혈장에서의 가수분해 진행과정보다 훨씬 빠르게 진행되어 각각의 반감기는 0.26 및 0.33 hr를 나타냈고 CEN1과 CEN2의 반감기도 각각 1.47 및 1.26 hr를 나타냈다(Table III). 따라서 *in vitro*상에서의 위 결과들을 토대로 생각할 때 CEN1, CEN2, CEN1P 및 CEN2P 화합물은 pH의 변화에는 큰 영향을 받지 않고 안정성을 유지하나 혈장내에서는 생체내에 존재하는 효소들에 의해 CEN1, CEN2 보다 이들의 에스테르 화합물인 CEN1P, CEN2P의 가수분해가 빠르게 진행되며 위장관에서 흡수되어 간을 통과할 때에는 더욱 빠르게 가수분해될 것으로 사료된다.

결 론

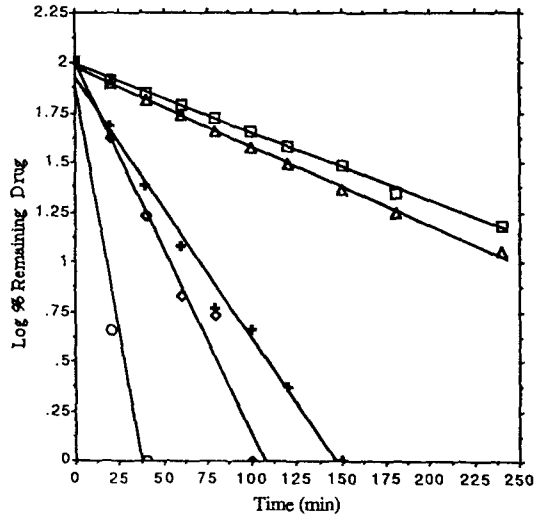


Fig. 8—First-order plot for the hydrolysis of cefotaxime, CEN1, CEN1P, CEN2, and CEN2P in 20w/v% rat liver homogenate at 37°C.
 ○ Cefotaxime, □ CEN1, △ CEN2,
 ◇ CEN1P, ● CEN2P

새로운 경구용 세팔로스포린계 항생제인 CEN1 및 CEN2와 각각의 피발로일옥시메틸 에스테르인 CEN1P 및 CEN2P를 합성하고 세포탁심을 비교물질로 하여 4종의 화합물에 대한 물리화학적 성질로 유수분배계수와 pKa를 측정하고 안정성 시험으로 pH의 변화에 따른 가수분해, 사람혈장 및 흰쥐 간 호모지네이트에서의 가수분해 결과 다음과 같은 결론에 도달하였다.

CEN1P 및 CEN2P의 유수분배계수는 CEN1 및 CEN2의 그것보다 컸다. pH의 변화에 따른 가수분해는 1차 속도식에 따라 각 화합물이 서로 다른 속도로 인공위액에서 세포탁심에 비해 4종의 신규 세팔로스포린류가 보다 안정하였으며 혈장 및 간 호모지네이트에서는 CEN1P 및 CEN2P가 빠르게 가수분해되었다. 따라서 CEN1 및 CEN2는 세포탁심의 경구투여시에 나타나는 산에 의한 가수분해의 문제점이 보완되었으며 CEN1P 및 CEN2P가 체내에 흡수되어 곧 CEN1 및 CEN2로 대사되어 원래의 항균작용을 나타낼 것으로 예측할 수 있었다.

문 헌

1) Demain, A. L. and Solomon, N. A.: Antibiotics, Co-

- ntaining the Beta-Lactam Structure, Part I, II, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (1983).
- 2) Elks, J.: Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics, special publication no. 28, The Chemical Society, London (1977).
 - 3) Gregory, G. I.: Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics, special publication no. 38, The Royal Society of Chemistry, London (1981).
 - 4) Brown, A. G. and Robert, S. M.: Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics, special publication no. 52, The Royal Society of Chemistry, London (1977).
 - 5) Bentley, P. H. and Southgate, R.: Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics, special publication no. 70, The Royal Society of Chemistry, London (1989).
 - 6) Morin, R. B. and Gorman, M.: Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics, Vol. 1-3, Academic Press, NY (1982).
 - 7) Dürckheimer, W., Adam, F., Fisher, G., and Kirrstetter, R.: Recent Developments in the Field of Cephem Antibiotics, in "Advances in Drug Research", Vol. 17, Academic Press (1988).
 - 8) La, S. B., Jung, M. H., Kim, W. J., and Jee, U. K.: Synthesis and Antibacterial Activities of New Oral Cephalosporins, *YAKHAK HOEJI*, **37**, 295 (1993).
 - 9) Mitsuhashi, S.: Beta-Lactam Antibiotics, Japan Sci. Soc. Press (1981).
 - 10) La, S. B., Kong, J. Y., Kim, W. J., and Jee, U. K.: Physicochemical Properties, Stabilities and Pharmacokinetics of Cephalosporin 3'-Quinolone Dithiocarbamate, *YAKHAK HOEJI*, **37**, 638 (1993).
 - 11) Tsuji, A., Miyamoto, E., Hashimoto, N., and Yamana, T.: GI Absorption of β -Lactam Antibiotics II: Deviation from pH-Partition Hypothesis in Penicillin Absorption through *In situ* and *In vitro* Lipoidal Barriers, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1705 (1978).
 - 12) Tsuji, A., Miyamoto, E., Kubo, O., and Yamana, T.: GI Absorption of β -Lactam Antibiotics III: Kinetic Evidence for *In situ* Absorption of Ionized Species of Monobasic Penicillins and Cefazolin from the Rat Small Intestine and Structure Absorption Rate Relationships, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 812 (1979).
 - 13) Adam, F., Blumbach, J., Dürckheimer, W., Fischler, G., Isert, D., Mencke, B., and Wollmann, T.: HR916 B, a New Oral Cephalosporin: I. Synthesis and Structure-Activity Relations, *31st Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy*, Chicago, Illinois, Abstract No. **835** (1991).
 - 14) Dürckheimer, W., Blumbath, R., Lattrell, R., and Scheunemann, K. H.: Recent Developments in the Field of β -Lactam Antibiotics, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **24**, 180 (1985).
 - 15) Totsuka, K., Shimizu, K., Konish, M., and Yamamoto, S.: Metabolic study of S-1108, a new oral cephemantibiotic, *30th Interscience conference on antimicrobial agents and chemotherapy*, Atlanta, Georgia, Abstract No. **658** (1990).