

새로운 세파로스포린 항생제 DA-074의 *in vitro* 항균력과 감염치료효과

최성학 · 이태호 · 김계원 · 김원배 · 이재걸[#]

동아제약(주) 연구소

(Received June 19, 2000)

In vitro Activities and *in vivo* Efficacies of DA-074 a New Cephalosporin

Seonghak Choi, Taeho Lee, Gyewon Kim, Wonbae Kim and Jaekoel Rhee[#]

Dong-A Pharm. Co., Ltd. Research Labs, Yongin 449-900, Korea

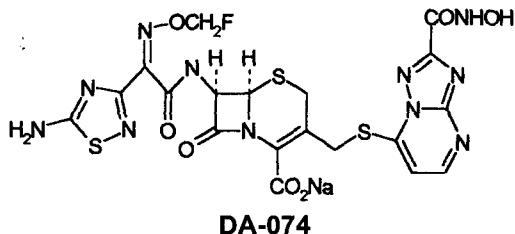
Abstract — The *in vitro* activities of DA-074, a new cephalosporin against 34 various standard strains and its *in vivo* efficacies against 6 important strains were obtained. DA-074 showed two fold enhanced *in vitro* antibacterial activity against some *Pseudomonas aeruginosa* compared to Ceftazidime and more than 2 fold *in vivo* efficacy against *Staphylococcus aureus* Smith, *Klebsiella pneumoniae* 1 and *Escherichia coli* KC-14, compared to Cefpirome. DA-074 might be a good candidate for further evaluations.

Keywords □ DA-074, *P. aeruginosa*, cephalosporin.

1928년 Alexander Fleming이 penicillin을 처음 발견한 이 후, 항균제는 감염증의 주요 치료 수단으로 이용되어 왔다. 그러나 항균제의 사용에 따라 이에 대한 방어 수단을 지닌 내성세균이 출현하였고, 이를 내성세균의 치료를 위해 새로운 항균제의 개발연구가 계속되고 있다.

세계 의약품 시장 중 30조원에 이르는 항생제 시장의 반 이상은 β -lactam계열의 항생제가 차지하고 있다. Cephalosporin은 penicillin보다 β -lactamase에 안정하고 더 넓은 범위의 항균력을 지니고 있으므로 성인과 소아의 세균감염증에 가장 널리 사용되는 항생제중 하나이다.¹⁾ Cephalosporin의 핵의 3번과 7번 위치에 부착되는 측쇄에 따라서 항균력 및 약동학적 성질이 달라진다.²⁻⁵⁾ 많은 Cephalosporin 항생제가 사용되고 있지만 소위 3세대 주사제인 Ceftazidime은 뛰어난 anti-Pseudomonal activity를 가지고 있으나 *Staphylo-*

*coccus*를 비롯한 Gram(+)균에서는 약한 항균력을 보이며, 소위 4세대 주사제인 Cefpirome은 Gram(+)에서는 뛰어난 항균력을 가지고 있으나 *P. aeruginosa*를 비롯한 Gram(-)균에서는 약한 항균력을 보이는 것이 단점이다.⁶⁾ 본 연구소에서는 Ceftazidime과 동등한 anti-Pseudomonal activity를 가지고 동시에 Cefpirome보다는 Gram(+)에 뛰어난 후보 물질을 도출하기 위한 노력의 일환으로 초기 연구결과와 함께 DA-074가 위의 항균특성을 가지고 있다는 것을 발표한 적이 있다.⁶⁾



본 연구에서는 DA-074에 대한 후속 평가로 MIC측정을 다양한 균으로 확장하여 항균력을 조사하였으며

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 031-280-1401 (팩스) 031-282-8564

아울러 몇가지 중요한 감염균을 사용하여 mouse감염 모델에서의 *in vivo*효과를 평가하였다.

실험방법

시약 및 군주

DA-074는 동아제약에서 합성한 것을 사용하였으며, 대조 항균제로는 Cefpirome(Hoechst사)과 Ceftazidime(Glaxo사)을 사용하였다. MIC 측정군주로는 *Staphylococcus aureus* 5종, *Escherichia coli* 5종, *Pseudomonas aeruginosa* 6종, *Klebsiella pneumoniae* 4종, *Proteus mirabilis* 4종, *Proteus vulgaris* 3종, *Enterobacter Cloacae* 4종 및 *Serratia marcescens* 4종을 사용하였다. 복강내 감염 치료효과의 시험군은 *S. aureus* Smith, *K. pneumoniae* 1, *E. cloacae* 417, *E. coli* KC-14, *E. coli* EBS23을 사용하였으며, 시험동물은 체중 18~21 g인 4주령의 수컷 ICR계의 생쥐(대한실험동물센터)를 사용하였다.

MIC 측정

MIC(Minimum Inhibitory Concentration)는 일본화학요법학회 표준법에 따라 Mueller Hinton agar(Difco)를 사용하여 한천희석법으로 측정하였다.

ED₅₀ 측정

*S. aureus*는 Brain Heart Infusion agar(Difco)에, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* 및 *E. coli*는 Tryptic Soy agar(Difco)에 접종하여 37°C에서 18시간 배양 후 생리식염수에 부유하고 LD₁₀₀(lethal dose)의 2~20배가 되도록 5%(w/v) mucin(Difco)에 혼탁 하였다. 1군당 8마리의 생쥐 복강에 균 부유액 0.5 ml를 주사하고 균 접종 1시간 후 멀균 주사용 증류수에 용해한 항균제를 피하주사로 투여하였다. 균 접종 7일 후 생존률을 조사하여 Probit 분석법(Bliss, 1985)으로 50% 유효량(ED₅₀)을 구하였다.

실험 결과 및 고찰

각종 균에 대한 DA-074의 MIC는 Table I에 나타내었다. *P. aeruginosa*에 대한 DA-074의 항균력은 6군주 모두에서 Cefpirome보다 2~4배 우수했으며, Ceftazidime보다는 3개군에서 2배이상의 항균력을 보

Table I - DA-074 의 *in vitro* 항균력 (MIL, µg/ml)

Strain	DA-074	Cefpirome	Ceftazi-dime
<i>S. aureus</i> SG 511	0.78	0.78	6.25
<i>S. aureus</i> 209 P	1.56	1.56	25
<i>S. aureus</i> 285	1.56	1.56	12.5
<i>S. aureus</i> 503	0.78	0.39	6.25
<i>S. aureus</i> Smith	1.56	1.56	25
<i>E. coli</i> TEM	≤0.025	≤0.025	0.1
<i>E. coli</i> DC 0	≤0.025	≤0.025	0.05
<i>E. coli</i> DC 2	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>E. coli</i> 29	≤0.025	≤0.025	0.1
<i>E. coli</i> 011	≤0.025	≤0.025	0.1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC9027	3.13	6.26	6.26
<i>P. aeruginosa</i> 1592 E	1.56	3.13	1.56
<i>P. aeruginosa</i> 1771	0.78	3.13	3.13
<i>P. aeruginosa</i> 177M	0.2	0.78	0.78
<i>P. aeruginosa</i> 93	0.78	3.13	3.13
<i>P. aeruginosa</i> PAO 1	3.13	6.25	3.13
<i>K. pneumoniae</i> ATCC10031	≤0.025	≤0.025	0.1
<i>K. pneumoniae</i> A9977	≤0.025	≤0.025	0.1
<i>K. pneumoniae</i> 477	≤0.025	≤0.025	0.01
<i>K. pneumoniae</i> 01	≤0.025	≤0.025	0.1
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14273	0.05	0.1	0.05
<i>P. mirabilis</i> 112/3	0.1	0.2	0.1
<i>P. mirabilis</i> 174/3	0.05	0.05	≤0.025
<i>P. mirabilis</i> 4	0.05	0.05	0.05
<i>P. vulgaris</i> 867	0.05	0.05	0.05
<i>P. vulgaris</i> 868	≤0.025	0.05	0.05
<i>P. vulgaris</i> 5	≤0.025	0.1	≤0.025
<i>E. cloacae</i> 417	≤0.025	0.05	0.2
<i>E. cloacae</i> P99	50	0.05	0.05
<i>E. cloacae</i> 1321 E	≤0.025	≤0.025	≤0.025
<i>S. marcescens</i> 370	0.2	0.05	0.2
<i>S. marcescens</i> A 20017	0.39	0.1	0.2
<i>S. marcescens</i> A200161	0.2	0.05	0.2
<i>S. marcescens</i> A200181	0.1	0.05	0.2

이고 있다. *P. aeruginosa* 1771M에서의 MIC(0.2)가 *P. aeruginosa* 1771(0.78)보다 낮은 것은 permeability mutant인 *P. aeruginosa* 1771M에서는 outer membrane통과 장벽이 없기 때문인 것으로 해석할 수 있다. *S. aureus*에서는 전체적으로 Cefpirome과 유사하였으나, Ceftazidime보다는 월등히 우수하였다(최고 25 µg/ml vs 1.56 µg/ml). *K. pneumoniae*에서는 Ceftazidime보다 4배이상 우수하고, Cefpirome과는 거의 동등하였다. *E. coli*, *S. marcescens*, *P. vulgaris* 대해서는 두개의 비교 물질과 거의 동등하였다. 한편 전신감염치료효과(Table 2)의 경우, DA-074는 *S. aureus* Smith와 *K. pneumoniae* 1에 대해서 각각 Ceftazidime보다 20배, 6배 그리고 Cefpirome보다 모두 2배 이상 우수함을 보였다. 이 두 군주에 대해서 *in vitro* MIC 값은 동등함에도 *in vivo*에서 2배 이상의 우수함

Table II – DA-074의 감염치료 효과

Bacterial strain (CFU/mouse)	Test compound	ED ₅₀ (mg/kg)	MIC (ug/ml)
<i>S. aureus</i> Smith (1.8×10^7)	Ceftazidime	6.969	25
	Cefpirome	0.618	1.56
	DA-074	0.350	1.56
<i>K. pneumoniae</i> 1 (6.0×10^6)	Ceftazidime	0.385	0.1
	Cefpirome	0.164	≤ 0.025
	DA-074	0.060	≤ 0.025
<i>E. cloacae</i> 417 (9.5×10^6)	Ceftazidime	0.180	0.05
	Cefpirome	0.086	≤ 0.025
	DA-074	0.066	≤ 0.025
<i>E. coli</i> KC-14 (1.4×10^6)	Ceftazidime	0.038	≤ 0.025
	Cefpirome	0.229	≤ 0.025
	DA-074	0.049	≤ 0.025
<i>E. coli</i> EBS23 (1.3×10^6)	Ceftazidime	17.528	6.25
	Cefpirome	0.175	0.2
	DA-074	5.960	1.56

을 보이고 있는 것은 약물 고유의 물성 때문에 조직 분포, 대사등의 차이로 설명할 수 있을 것이다. *E. cloacae* 417에서는 Ceftazidime보다 3배 이상이나 Cefpirome과 동등하였고, *E. coli* KC-14에서는 Ceftazidime과 동등, Cefpirome보다는 3배 이상의 *in vivo* 효과를 보이고 있다. 한편 Extended Spectrum β -Lactamase(ESBL)생성 균주인 *E. coli* EBS23 경우 Cefpirome 보다는 열세이지만 Ceftazidime 보다는 3배 가량 우수하다. 요약하면 DA-074는 호흡기감염의 중요 원인균 중 하나인 *K. pneumoniae* 1과 *S. aureus*균에 대해서 Cefpirome보다 2배이상 우수하였다. 또한, ESBL 생성 균주인 *E. coli* EBS23에 대해 Ceftazidime보다 우수하였으므로 ESBL을 포함한 여러 종류의 β -Lactamase 생성하는 다른 균주로 확대하여 기존약물과 차별성을 확인할 필요성이 있겠다. 아울러 동물에서의 약동력학 실험을 진행할 예정이다.

감사의 말씀

본 연구는 1999년 과학기술부의 차세대 기술 개발

사업의 지원으로 수행된 것을 깊이 감사 드립니다.

문 헌

- 1) Uri, J. V and Actor, P : Therapeutic application of β -lactam antibiotics. In handbook of experimental Pharmacology. Antibiotics Containing the -lactam structure. Eds., Demain & Solomon, 67, 427-445, Springer-verlag, Berlin Heidelberg, 1983.
- 2) Takaya, T., Takasugi, H., Masugi, T., Kochi, H. and Nakano, H. : Studies on β -lactam antibiotics. IV. Structure-Activity relationships of 7-[(2) -2-alkylimino-2-(2-amino-4-thiazolyl)acetamido]-3-cephem-4-carboxylic acids. *J. Antibiotics* 34, 1357 (1981).
- 3) Adams, R. G., Brains, E. G., Branche, C. L., Guest, A. W., Harrington, E. P., Mizen, L., Neale, J. E., Pearson, M. J., Simson, I. N. and Zoymays, I. I. : Structure-activity relationships with a series of C(7)-substituted deoxyiminocephalosporins containing the C(3)-methyl aminopyridiniumethyl substituent. Synthesis and biological properties of BRL 57342 and some close analogues. *J. Antibiotics* 48, 417 (1995).
- 4) Ohki, H., Kawabata, K., Okuda, S., Kamimura, T. and Sakane, K. : Studies on 3'-quaternary ammonium cephaloporins II. Synthesis and antibacterial activity of β -[(2) -2-alkylimino-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido] cephalosporin derivatives bearing various quaternary ammonium methyl groups at the 3-position, *J. Antibiotics* 48, 1049 (1995).
- 5) Hanaki, H., Akagi, H., Yasui, M. and Otami, T. : Struture-activity relationships of 2-thiosocephem against methicillin resistant Staphylococcus aureus. *J. Antibiotics* 48, 1901 (1995).
- 6) 임중인, 신현태, 윤영구, 양재성 조종환, 윤석균, 김원배, 장민선, 최성학, 임원빈, 이재걸: 아졸을 포함하는 신규 세파로스포린 유도체의 합성 및 항균력, 약학회지 투고 제출중.