

넙치, *Paralichthys olivaceus*에 nalidixic acid, piromidic acid, oxolinic acid의 경구투여 약물동태에 미치는 수온의 영향

정승희[†] · 김진우* · 서정수* · 최동림 · 지보영* · 박명애
국립수산과학원 전략양식연구소 병리연구과, *수산생물방역과

Effect of temperature on pharmacokinetics of nalidixic acid, piromidic acid and oxolinic acid in olive flounder *Paralichthys olivaceus* following oral administration

Sung Hee Jung[†], Jin Woo Kim*, Jung Soo Seo*, Dong Lim Choi*,
Bo-Young Jee* and Myoung Ae Park

Pathology Division, Aquaculture Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-705, Korea

*Aquatic Life Disease Control Division, NFRDI, Busan 619-705, Korea

Effects of temperature ($13 \pm 1.5^\circ\text{C}$, $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$) on the pharmacokinetic properties of nalidixic acid (NA), piromidic acid (PA) and oxolinic acid (OA) were studied after oral administration to cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Serum concentrations of these antimicrobials were determined after oral administration of a single dosage of 60 mg/kg body weight (average 700 g). At $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$, the peak serum concentrations of NA, PA and OA, which attained at 10 h, 24 h and 30 h post-dose, were 11.55, 3.79 and 1.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. At $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$, the peak serum concentrations of NA, PA and OA, which attained at 10 h, 15 h and 30 h post-dose, were 6.36, 1.4 and 1.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. Better absorption of NA and PA was noted at $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ compared to $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$. The elimination of NA from serum of olive flounder was considerably faster at $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ than at $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$. However, both absorption and elimination of OA were not affected significantly by temperature. The kinetic profile of absorption, distribution and elimination of these antimicrobials in serum were analyzed by fitting to a one- and two compartment model, with WinNonlin program. In the one compartment model for NA, AUC, T_{max} and C_{max} at $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ were 258.26 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 10.67 h and 8.91 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. The AUC, T_{max} and C_{max} at $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ were 341.45 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 7.72 h and 6.23 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. In the one compartment model for PA, AUC, T_{max} and C_{max} at $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ were 248.12 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 21.15 h and 3.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. The AUC, T_{max} and C_{max} at $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ were 103.89 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 12.89 h and 1.22 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. In the two compartment model for OA, AUC, T_{max} and C_{max} at $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ were 138.20 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 23.95 h and 1.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. The AUC, T_{max} and C_{max} at $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ were 159.10 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 28.03 h and 1.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively.

Key words : Oral, Pharmacokinetics, HPLC, Quinolones, Temperature, Olive Flounder

Nalidixic acid(NA), piromidic acid(PA), oxolinic acid(OA)는 퀴놀론계 항균제 중에서 1980년대 부터 수산용으로 사용되었으며 그람 음성균에

유효한 대표적 합성항균제이다. NA, PA, OA는 *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Edwardsiella tarda*, *Flexibacter columnaris*, *Pseudomonas flu-*

[†]Corresponding author : Sung Hee Jung, Tel : 051-720-2490,
Fax : 051-720-2498, E-mail : immu@nfrdi.go.kr

orescens, *P. anguilliseptica*, *Vibrio anguillarum* 등 에 대하여 뛰어난 항균력을 나타낸다(Katae *et al.*, 1979; 老田 等, 1982; Uno *et al.*, 1992; Samuelsen *et al.*, 2006a). 국내에서 품목허가를 받은 이들 제품의 부표에는 뱀장어, 송어, 잉어, 연어, 은어의 사육단계에서 발생하는 지느러미 및 아가미부식병, 에드워드병, 궤양병, 예로모나스병, 절창병, 비브리오병, 기적병, 솔방울병 등 주로 담수어류의 세균성 질병에 효능이 있는 것으로 표시되어 있었다(국립수산과학원, 2009). NA는 2개 제품, PA는 3개 제품, OA는 22개 제품이 품목허가를 받았으며, 이 가운데 해산어류에 사용할 수 있는 제품은 NA가 방어의 비브리오병, OA 및 PA는 방어의 유결절증, PA는 넙치의 활주세균성, 비브리오병 치료용으로 해당되었다. 사용법은 NA 및 PA가 경구투여의 방법으로 OA는 경구 및 약욕법으로 허가되었다.

NA는 아마고연어(Uno *et al.*, 1992), 무지개송어(Jarboe *et al.*, 1993), 방어(Uno *et al.*, 1996), PA는 뱀장어, 금붕어(Katae *et al.*, 1979), OA는 대서양 연어(Rogstad *et al.*, 1993; Samuelsen *et al.*, 2000; Coyne *et al.*, 2004), 무지개송어(Hustvedt and Salte, 1991), 대구(Samuelsen *et al.*, 2003; Samuelsen, 2006b), 대서양 halibut(Samuelsen and Ervik, 1999), 농어(Poher *et al.*, 1997; Rigos *et al.*, 2002a), 돔류(Rigos *et al.*, 2002b, 2004), corkwing wrasse (Samuelson and Ervik, 2001), 새우(Sangrungruang *et al.*, 2004; Uno, 2004, 2006), 대서양 halibut (Samuelsen and Ervik, 1999)에서 약리학적인 연구가 수행된 바 있다. 그러나 전반적으로 OA의 경구투여, 주사 및 약욕에 따른 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 체내 약물동태학적 특성(정 등, 2009)을 제외하면 퀴놀론계 항균제의 넙치에 대한 약리연구는 매우 부족하다. 본 연구는 NA, PA, OA를 수온별로 넙치에 경구투여하였을 때 나타나는 흡수, 분포 및 배설정도를 HPLC로써 분석하였고 이를 토대로 약물동태학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

시약 및 실험어류

본 연구에서 사용된 퀴놀론계 항균제의 표준품 nalidixic acid(NA), piromidic acid(PA), oxolinic acid(OA)는 Sigma사(USA)에서 구입하였으며, acetonitrile, water는 HPLC grade(Fisher, USA), acetic acid는 특급시약을 사용하였다. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 국립수산과학원 생물산업부 사육실에서 관리 중에 있던 항생제 투여치료를 받은 경력이 없는 건강개체(평균체중 700 ± 50 g)로 고르게 선별하여 $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 및 $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 로 조절된 사육수조에서 각 10마리씩 30일 이상 순치시켰으며 실험기간 동안 사육수온을 일정하게 유지시켰다.

약제 투여 및 시료 채취

실험어는 약제(NA, PA, OA)를 투여하기 하루 전부터 먹이를 공급하지 않았으며, 약제의 경구 투여농도를 정 등(2008)의 방법에 따라서 어체중 kg당 60 mg이 되도록 약제사료를 만들어서 투여하였다. 투약은 1회 실시하였으며 투여가 종료된 직후를 0시간으로 간주하여 시간별로 각 실험구에서 5~7마리씩 시료를 채취하였는데 이때 지느러미를 절단, 표식하는 방법으로 번갈아가면서 반복채혈을 실시하였다(정 등, 2008). 실험어는 마취시키지 않고 미부혈관으로부터 주사기로 혈액 0.8~1.0 ml를 채취, 상법에 따라서 혈청을 분리한 후 퀴놀론계 항균제 3종의 분석에 사용하였다. 단, 분리한 혈청은 분석할 때까지 -80°C 에 보관하였다.

약제의 추출 및 HPLC 분석

퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA)의 추출방법은 Fig. 1에 나타내었다. 즉, 넙치의 혈청 200 μl 에 동일한 양의 acetonitrile(200 μl)을 넣고 균질화하여 10분간 방치하고 나서, 10,000rpm, 20분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 필터(0.45

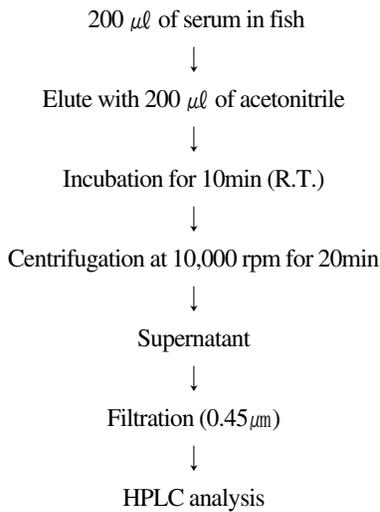


Fig. 1. Extraction procedure of quinolones from blood of olive flounder.

µm)로 여과시켜 HPLC에 주입해서 분석하였다.

HPLC는 HITACHI 6200LC 및 GILSON 712 system을 사용하였으며 기기분석 조건은 Table 1에 나타내었다. Stock solution은 각 약제 1 mg을 칭량하여 5 ml의 acetonitrile로 용해(200 ppm)하였으며 갈색시약병에 넣어 4°C에서 보관하여 사용하였다. 500 µl의 stock solution을 test tube에 취하고 acetonitrile 500 µl를 가하여 1 ml(100 ppm)로 맞춘 다음, 이 용액을 mobile phase로 희석하여 working solution으로 사용하였다. 이동상 용매로는 약제(NA, PA, OA)에다 water와 ace-

tomitrile 용액을 60:40(v/v)의 비율로 혼합하고 acetic acid 0.3%를 첨가하여 여과(Millipore, 0.45 µm)한 후 탈기하여 사용하였다.

표준곡선 작성 및 회수율

약제(NA, PA, OA)를 0.19, 0.39, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 ppm 농도로 이동상에 녹인 표준용액을 HPLC에 20 µl 주입하여 도출된 피크 면적에 의하여 표준곡선을 작성하였다. 회수율은 약제(NA, PA, OA)의 표준용액을 0.1, 1 및 10 ppm 농도로 넙치의 혈청에 첨가한 후, 각 농도에서 해당 약제를 추출하여 HPLC로 측정하였다.

약물동태학적 해석

퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA)을 투여한 넙치에서 약제의 혈중농도 측정결과를 바탕으로 one-compartment 또는 two-compartment model에 따라서 WinNonlin program(Pharsight Co., Inc., USA) 이용하여 흡수, 배설, 반감기 등 약물동태학적 매개변수를 구하였다.

결 과

표준곡선 및 회수율

퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA)의 표준곡선을 작성한 결과, 각 약제는 농도에 따라 peak 면적의 넓이가 비례하여 직선성이 양호한 검량선

Table 1. HPLC instruments and analysis conditions for quinolones

Instrument	HITACHI D-6200, GILSON 712 system
Column	4.6 × 150 mm (C18, 5 µm, COSMOSIL)
Mobile phase	Acetonitrile-Water-Acetic acid (60:40:0.3, v/v/v)
Column temperature	Room temperature
Flow rate	1 ml/min
Detector	Ultraviolet λ=260 nm
Injection volume	20 µl
Run time	15 min

Table 2. Recovery (%) of quinolones from serum of olive flounder

Quinolones	Fortified level (ppm)	Re ¹ /Co ² (Mean ± SD)	Recovery (%) (Mean ± SD)
Nalidixic acid	10	0.96 ± 0.02	86.56 ± 1.18
	1	0.98 ± 0.03	77.59 ± 2.04
	0.1	0.85 ± 0.06	77.47 ± 2.59
Oxolinic acid	10	0.86 ± 0.02	96.52 ± 1.18
	1	0.77 ± 0.03	98.37 ± 2.04
	0.1	0.77 ± 0.06	85.80 ± 2.59
Piromidic acid	10	0.96 ± 0.02	96.94 ± 1.18
	1	0.78 ± 0.03	78.48 ± 2.04
	0.1	0.63 ± 0.06	63.79 ± 2.59

¹Recovered peak area, ²Control peak area

이 구해졌다. 이들의 표준곡선식은 NA가 $Y=5326.5X+2876.8$ ($R^2=0.999$), PA가 $Y=6057.3X+1028.1$ ($R^2=0.992$), OA가 $Y=1623.5X+1681.6$ ($R^2=0.999$)으로 계산되었다. 이들 약제를 넘치 혈청에 0.1, 1, 10 ppm이 되게 첨가한 각 농도에서 분석한 평균 회수율은 NA가 77.47~86.56%, OA가 85.80~98.37%를 나타내었으며, PA는 63.79~96.94%로 NA 및 OA에 비하여 낮았다(Table 2).

퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA)의 혈중 경시적 농도

NA, PA, OA를 각각 60 mg/kg 농도로 넘치에 경구투여한 후 수온별(13 ± 1.5°C 및 23 ± 1.5°C), 혈청에서의 경시적 농도변화를 Fig. 2, 3 및 4에 나타내었다. 수온이 23 ± 1.5°C의 경우, 투여 후 최대혈중농도에 도달한 시간이 NA 10시간(11.55 µg/ml), PA 24시간(3.79 µg/ml), OA 30시간(1.12 µg/ml)이었다. NA는 24시간째(8.7 µg/ml) 이후에 가파르게 감소하였고, PA는 30시간째도 여전히 3.70 µg/ml로 높게 지속되었다가 48시간째(1.9 µg/ml), 72시간째(0.59 µg/ml) 이후부터 완만한 소실작용을 보였으며, OA는 144시간째(0.34 µg/ml), 264시간째(0.17 µg/ml)까지 감소하였다가 이후에 서서히 소실하였다. NA는 혈중에서 비교적 고농도로 흡수되었고 매우 빠르게 소

실되었으나, OA는 혈중에서 가장 낮은 농도로 흡수되었으며 느리게 배설되었다.

수온이 13 ± 1.5°C의 경우, 투여 후 최대혈중농도에 도달한 시간이 NA 10시간(6.36 µg/ml), PA 15시간(1.40 µg/ml), OA 30시간(1.01 µg/ml)으로 23 ± 1.5°C의 결과와 거의 비슷한 경향을 보였다. NA는 15시간째(6.32 µg/ml)에도 고농도였으며 54시간째(2.2 µg/ml)이후부터 서서히 감소하였다. PA는 24시간째(1.17 µg/ml), 30시간째(1.18 µg/ml) 높은 농도로 유지되었으며 54시간째(0.56 µg/ml)이후에 서서히 감소하였다. NA 및 PA의 최대혈중농도는 고수온에서보다 크게 감소하였으나 OA는 고수온에 비교하여 커다란 차이를 나타내지 않았다.

퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA)의 약물동태학적 검토

NA와 PA의 넘치 체내 약물동태학적 요인은 one-compartment 모델로 해석하여 Table 3 및 4에 나타내었다. 배설속도를 감안하여 혈중농도치가 완전히 0으로 되는 예상소실시간(Et)이 수온 23 ± 1.5°C에서는 NA 60시간, PA 350시간이었으나, 수온 13 ± 1.5°C에서는 NA 326시간, PA 417시간을 나타내었다. 넘치에 있어 저수온의 사육환경에서는 이들 약물이 매우 느리게 소실되

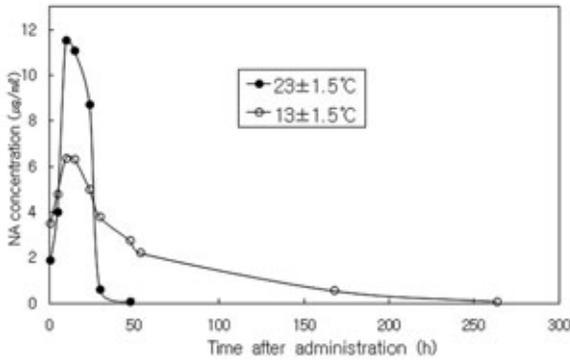


Fig. 2. Serum concentration of nalidixic acid (NA) in olive flounder after oral feeding of 60 mg/kg body weight at 23 ± 1.5°C and 13 ± 1.5°C.

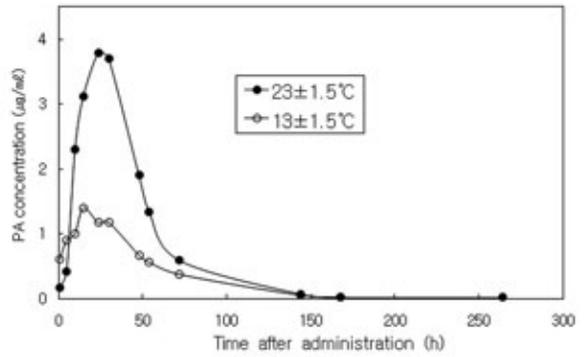


Fig. 3. Serum concentration of piromidic acid (PA) in olive flounder after oral feeding of 60 mg/kg body weight at 23±1.5°C and 13±1.5°C.

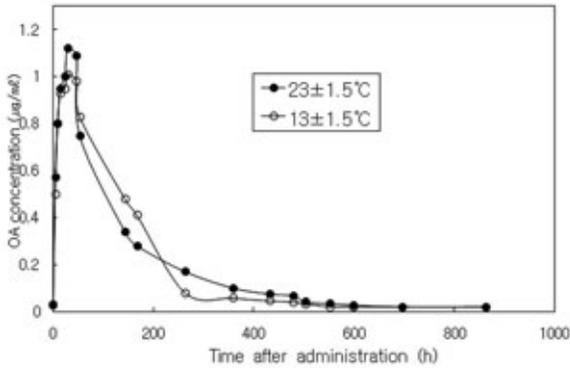


Fig. 4. Serum concentration of oxolinic acid (OA) in olive flounder after oral feeding of 60 mg/kg body weight at 23±1.5°C and 13±1.5°C.

는 것으로 추정되었다. 약물의 반감기($T_{1/2}$)도 수온 23 ± 1.5°C에서는 NA 0.09시간, PA 0.10시간을 나타내었으나, 수온 13 ± 1.5°C에서는 NA 0.40시간, PA 0.23시간으로 저수온의 사육환경에서 반감기의 시간이 길었다. 혈중최고농도(C_{max})는 수온 23 ± 1.5°C에서는 NA 8.91 µg/ml, PA 3.09 µg/ml이었으며, 수온 13 ± 1.5°C에서는 NA 6.23 µg/ml, PA 1.22 µg/ml를 나타내어 저수온의 사육환경에서 약물의 농도가 감소하였다.

OA의 넙치 체내 약물동태학적 요인은 two-compartment 모델로 해석하여 Table 5에 나타내었다. 배설속도를 감안하여 혈중농도치가 완전히 0으로 되는 예상소실시간(E_t)이 수온 23 ± 1.5°C에서는 936시간이었으나 수온 13 ± 1.5°C에

서는 1280시간을 나타내어 저수온의 사육환경에서 느리게 소실되는 것으로 추정되었다. 약물의 분포상인 α 상의 반감기($T_{1/2\alpha}$)와 혈중최고농도(C_{max})는 온도별로 커다란 차이가 없었으나, 신장으로 분포후상인 β 상의 반감기($T_{1/2\beta}$)는 저수온 영역에서 증가하였다.

고 찰

片江 等(1979)은 PA를 은어(*Plecoglossus altivelis*), 아마고연어(*Oncorhynchus rhodurus*), 뱀장어(*Anguilla japonica*)에 경구 투여하였더니 어체내 조직으로 재빨리 흡수되었으며, 안전성조사(LD_{50})에 의한 임상 및 조직조건에서 별다른 이상이 확인되지 않아 어류에 대한 독성이 약한 어병 치료용 항균제라고 보고하였다. 이들은 은어(30 g, 사육수온 19.6~22.4°C), 아마고연어(90~100 g, 사육수온 13~13.7°C)에 PA를 40 mg/kg의 농도로 1회 경구투여한 후 혈장내 약제의 분포를 thin-layer cup plate method로 분석하였다. 그 결과, 은어는 3시간째에 그리고 아마고연어는 24시간째 각각 최대혈중농도를 나타내었다. 老田 等(1982)은 bioassay법에 의한 PA의 검출한계(200 ppb)가 대단히 낮은 점을 개선하여 HPLC를 이용, 검출한계를 10배가량(20 ppb) 높

Table 3. Pharmacokinetic parameters for nalidixic acid of olive flounder following oral feeding with a dose of 60 mg/kg body weight at 23±1.5°C and 13±1.5°C.

Parameters (unit)	Water temperature	
	23±1.5°C	13±1.5°C
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{m}\ell$)	258.26	341.45
K ₀₁ (1/h)	7.47	32.19
K ₁₀ (1/h)	7.32	1.73
T _{1/2} (h)	0.09	0.40
T _{max} (h)	10.67	7.72
C _{max} ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	8.91	6.23
Et (h)	60	326

Abbreviations: AUC, area under the concentration-time curve; K₀₁ and K₁₀, distribution rate constants of central and peripheral compartments; T_{1/2}, half-life; T_{max}, time for maximum concentration; C_{max}, maximum concentration; Et, elimination time.

Table 4. Pharmacokinetic parameters for piromidic acid in serum of olive flounder following oral feeding with a dose of 60 mg/kg body weight at 23±1.5°C and 13±1.5°C.

Parameters (unit)	Water temperature	
	23±1.5°C	13±1.5°C
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{m}\ell$)	248.12	103.89
K ₀₁ (1/h)	37.67	49.17
K ₁₀ (1/h)	7.15	3.00
T _{1/2} (h)	0.10	0.23
T _{max} (h)	21.15	12.89
C _{max} ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	3.09	1.22
Et (h)	350	417

Abbreviations: AUC, area under the concentration-time curve; K₀₁ and K₁₀, distribution rate constants of central and peripheral compartments; T_{1/2}, half-life; T_{max}, time for maximum concentration; C_{max}, maximum concentration; Et, elimination time.

여서 뱀장어(240 g, 사육수온 25 ± 1°C)에 40 mg/kg으로 1회 경구투여한 후 혈장내 PA의 검출농도를 조사한 결과, 투여 3시간째 최고농도를 나타내었다. PA는 은어보다 약 3°C 가량 높은 수온에서 사육한 뱀장어에서도 최대혈중농도에 도달하는 양상은 비슷하였다. 본 연구에서 13 ± 1.5°C의 경우, 녀치에 경구 투여한 PA(60 mg/kg)가 투여 24~30시간째 최고농도에 도달하였는데, 이는 24시간째 최고농도를 보인 아마고연어와 비슷한 경향을 보였다. 한편, 23 ± 1.5°C와 유사한 수온영역에서 사육된 것으로 보이는 은어와 뱀장어에서 PA가 최고농도에 도달하는 시

간은 3시간으로 본 연구의 녀치보다 훨씬 빨랐다.

Uno *et al.*(1992)은 무지개송어(255 g)와 아마고연어(58 g)에 대하여 사육수온 15°C에서 NA를 40 mg/kg의 농도로 1회 경구투여하고 HPLC로 혈청의 잔류정도를 조사한 결과, 무지개송어에서는 12시간째에 그리고 아마고연어에서는 24시간째 각각 최고농도에 도달하였다. 그렇지만 은어, 아마고연어, 뱀장어, 무지개송어는 동일한 실험조건에서 비교하지 못하였기에 어종별, 수온별로 약제의 흡수정도 및 배설배턴의 유사성을 결론내리기는 어렵다고 보여진다. 또한 본 연구

Table 5. Pharmacokinetic parameters for oxolinic acid in serum of olive flounder following oral feeding with a dose of 60 mg/kg body weight at 23±1.5°C and 13±1.5°C.

Parameters (unit)	Water temperature	
	23±1.5°C	13±1.5°C
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$)	138.20	159.10
K ₀₁ (1/h)	3.99	4.59
K ₁₀ (1/h)	71.64	86.11
α (1/h)	3.91	3.93
β (1/h)	0.11	0.10
T _{1/2α} (h)	0.18	0.18
T _{1/2β} (h)	6.25	7.22
A ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0.95	0.95
B ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	3.63×10^2	4.17×10^2
T _{max} (h)	23.95	28.03
C _{max} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	1.06	1.02
Et (h)	936	1280

Abbreviations: AUC, area under the concentration-time curve; K₀₁ and K₁₀, distribution rate constants of central and peripheral compartments; α , β , distribution and elimination rate constants; T_{1/2 α} , distribution half-life of the drug; T_{1/2 β} , elimination half-life of the drug; A, B, zero time plasma drug concentration intercepts of biphasic disposition curve; T_{max}, time for maximum concentration; C_{max}, maximum concentration; Et, elimination time.

에서는 넙치(700 g, 23 ± 1.5°C)에 투여한 OA(60 mg/kg)가 경구투여 30시간째 혈중 최고농도에 도달하였으나, 정 등(2009)의 실험에서는 OA를 넙치(90 g, 23 ± 1.5°C)에 같은 조건으로 실험한 결과, 15시간째 혈중 최대농도에 도달하였다. 동일한 어종에서도 실험어의 크기가 약제의 흡수 정도에 미치는 영향도 충분히 고려해야 할 것으로 생각된다.

약제의 치료효과가 혈중농도와 반드시 직접적인 상관관계를 가지는 것은 아니지만 Rigos *et al.*(2004)에 의하면 대부분의 약물은 적어도 최소발육저지농도(MIC)의 1배~2배 이상의 농도로 혈중에서 일정 기간동안 유지해야 치료효과가 나타난다고 하였다. 즉, 투여한 치료약제의 투약량이 그람음성 및 양성세균을 살균시킬 수 있는 농도로 어류 조직내에 흡수, 분포하는지에 대해서는 MIC를 근거로 비교하면 유용할 것이다. Gold fish에서 분리된 *A. salmonicida* 및 *V. anguillarum*에 대한 PA의 MIC가 0.2~1.56 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Katae *et al.*, 1979)인 것을 감안하면, 은어 및 아

마고연어에 PA를 10 mg/kg의 경구투여에 의해서도 MIC를 상회하는 혈중농도가 9~24시간 지속된 사실을 알 수 있었다(片江 等, 1979). 무지개송어의 주요 질병인 부스럼병의 원인세균인 *A. salmonicida*, 비브리오행의 원인세균인 *V. anguillarum*에 대한 NA의 MIC는 각각 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하로 NA를 40 mg/kg의 농도로 1회 경구투여하면 이미 MIC를 훨씬 초과하였고 이에 상응하는 기간은 약 6.5~7.5일로 계산되었다(Uno *et al.*, 1992). 정과 김(2000)의 보고에서 넙치에서 분리한 *V. anguillarum*, *E. tarda* 및 *Staphylococcus epidermidis*에 대한 OA의 MIC가 각각 1.56, 6.25, 3.13 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 분석되었다. 본 실험에서는 넙치에 OA를 60 mg/kg으로 1회 경구투여하여 수온 23 ± 1.5°C의 사육환경에서 최대혈중농도가 1.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타나서 *V. anguillarum*을 제외하면 *E. tarda* 및 *S. epidermidis*의 MIC에는 크게 미달하였다. 다만, NA, PA, OA는 퀴놀론계 항균제의 선두그룹으로 오래전부터 어류질병 치료에 사용되어 왔기 때문에 이러한 사실을 고려하면 근래에

주요 어병세균에 대하여 MIC가 일부 변동하였을 것으로 예상되나, 이러한 연구는 거의 찾아볼 수 없어 직접적으로 비교할 수는 없었다.

어체내에서 약물동태는 약물의 투여량, 위 공복시간, 흡수, 약물의 생체내 대사 및 약물의 배설율과 같은 여러 인자에 의존하고(Treves-Brown, 2000), 무엇보다 사육수온에 따라 약물동태학적 측정값들이 크게 차이가 있으며 약물의 어체내 잔류기간은 저수온에 비해 고수온에서 현저히 짧아진다고 보고하였다(Björklund and Bylund, 1990; Zhang and Li, 2007). 본 연구에서 넙치에 경구투여된 OA는 저수온($13 \pm 1.5^\circ\text{C}$)에 비해 고수온($23 \pm 1.5^\circ\text{C}$)의 영역에서 분포상의 반감기($T_{1/2\alpha}$)는 무변화 상태였고, 분포후상의 반감기($T_{1/2\beta}$)와 최고농도 도달시간(T_{max})은 감소 경향을 나타내었으며, 혈중최고농도(C_{max})는 커다란 차이가 없었으나 예상소실시간(E_t)은 1280 시간에서 936시간으로 감소함을 알 수 있었다. OA의 예상소실시간의 감소는 최고농도 도달시간의 감소와 분포후상의 반감기의 감소 두 가지에 기인하는 것으로 추정되며, 저수온에 비해 고수온에서 어체내 약물의 배설이 빠르게 일어난다고 생각되었다. NA 및 PA는 저수온($13 \pm 1.5^\circ\text{C}$)에 비해 고수온($23 \pm 1.5^\circ\text{C}$)에서의 반감기($T_{1/2}$)가 뚜렷하게 감소추세를 나타내었고, 최고농도 도달시간(T_{max})과 최고혈중농도(C_{max})는 증가추세였으나 예상소실시간(E_t)은 현저히 감소함을 알 수 있었다. NA 및 PA의 예상소실시간의 감소는 반감기의 감소에만 기인하는 것으로 추정되었으며, OA와 마찬가지로 저수온에 비해 고수온에서 어체내 약물의 배설이 빠르게 일어난다고 해석되었다. Barron *et al.*(1990)은 수산동물에서 사용되는 약물동태학적 compartment 모델은 3가지의 일반적인 형태가 분석에 사용된다고 보고하였다. 본 연구에서 NA 및 PA는 약물이 어체내에서 모든 부분과 평형에 달하는 one-compartment 모델로 해석하였고, OA는 약물이 조직으로 분포되는 분포상과 간이나 신장을 통하여

소실되는 분포후상의 two-compartment 모델로 해석하였다. Uno *et al.*(1992)은 무지개송어와 아마고연어에 NA를 경구투여 하였을 시 one-compartment model로 해석하였으며, Uno *et al.*(1996)은 NA를 무지개송어에 정맥주사 하였을 때는 two-compartment model로 해석하였다. 다양한 투여경로에 따라서 어체내 약물의 분포상황을 어떻게 약물동태학적으로 적용할지는 연구자들마다 달라 본 연구결과에서 얻어진 매개변수의 값들과 동일하게 비교하기는 어려웠다. 투여경로에 따라 다르게 나타나는 이러한 분석법의 검증 매개변수들은 그 추천사항이라든지 기준이 마련되어 있지 않기 때문에 자의적으로 비교할 수밖에 없는 실정이라고 생각한다.

국내에서 품목허가된 퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA) 가운데 일부 OA의 제품을 제외하면 대부분 넙치가 사용대상 어종으로 포함되어 있지 못하다. 그렇지만 약사법 제85조(동물용의약품 등에 대한 특례) 제3항에 의하면 수의사 및 수산질병관리사의 진료 또는 처방에 따라 사용할 경우는 그 기준을 지키지 않아도 가능하도록 되어있다. 다만 동물용의약품의 안전사용기준(수의과학검역원 고시 제2007-25호) 제3조(사용자의 준수사항) 제2호에 의거해서 대상동물 이외의 동물에 사용하거나 용량을 증량하여 사용할 경우, 수의사 또는 수산질병관리사의 출하제한 지시서에 의한 출하제한기간을 준수하도록 되어 있다. 따라서 넙치에 퀴놀론계 항균제 3종(NA, PA, OA)을 사용할 경우는 반드시 위 범규사항을 근거로 하여 국가면허를 소지한 수산질병관리사 및 수의사의 진료 또는 처방을 받아야 할 것이며, 이러한 처방을 증명하는 것은 결국 출하제한 지시서를 발급받아 보관해야 할 것이다. 양식어업인들이 법규에 의거하여 사용대상 어종에 알맞은 치료약품을 사용하는 것이 원칙이지만, 양식어류가 최종 소비단계에서 식품으로 이용되기 때문에 식품위생법상(식품의약품안전청 고시 제2006-15호) OA의 잔류허용기준(0.1 mg/kg 이하)

의 준수여부가 가장 핵심적인 사안일 것이다. 그런데 NA 및 PA는 잔류허용기준치가 아직 설정되어 있지 않았는데, 식품의약품안전청 고시 제 2008-51호에 의하면 기준치가 미설정된 축·수산물, 벌꿀의 항생물질 및 합성항균제에 한하여 잔류기준을 2010년 1월1일부터 0.03 mg/kg으로 적용하고 있기 때문에 이 점을 반드시 유의하여야 하겠다. 본 연구결과는 이와 같이 사용대상 어종을 변경할 경우 투여농도 및 용법 등을 설정하는데 이용할 수 있으며, 나아가서 수온의 변화가 어체내에서 약물의 흡수와 배설에 미치는 영향에 대한 자료는 약물의 임상적용에도 주요한 정보를 제공할 뿐만 아니라, 양식어류의 체내 약제잔류를 방지하기 위한 휴약기간 설정 등의 기초 자료로서 유용하게 활용될 것이다.

요 약

퀴놀론계 항균제인 nalidixic acid(OA), piromidic acid(PA), oxolinic acid(OA)를 사육수온($13 \pm 1.5^\circ\text{C}$, $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$)에 따라서 넙치(평균체중 700 g)에 60 mg/kg의 농도로 1회 경구 투여한 다음, 경시적인 혈청내 잔류농도를 분석하였다. 수온이 $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 의 경우, 투여 후 NA는 10시간째 ($11.55 \mu\text{g/ml}$), PA는 24시간째($3.79 \mu\text{g/ml}$), OA는 30시간째($1.12 \mu\text{g/ml}$)에 각각 최대혈중농도에 도달하였다. 수온이 $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 의 경우, 투여 후 NA는 10시간째($6.36 \mu\text{g/ml}$), PA는 15시간째($1.4 \mu\text{g/ml}$), OA는 30시간째($1.01 \mu\text{g/ml}$)에 각각 최대혈중농도에 도달하였다. NA와 PA의 넙치 혈중내 흡수정도는 수온 $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 보다 수온 $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 에서 매우 높게 나타났으며, NA의 넙치 혈중내 소실정도는 수온 $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 보다 수온 $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 에서 두드러지게 빨랐다. 한편 OA의 넙치 혈중내 흡수 및 소실정도는 사육수온에 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타났다.

NA 및 PA는 one-compartment model, OA는 two-compartment model로 해석하여 WinNonlin program을 이용, 약물동태학적 매개변수(paramete-

ter)를 조사하였다. 수온이 $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 의 경우, 혈장농도-시간곡선하 면적(AUC)은 NA, PA, OA가 각각 258.26, 248.12 및 $138.20 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, 혈중최고농도의 도달시간(T_{max})은 10.67, 21.15 및 23.95 h, 혈중최고농도(C_{max})는 8.91, 3.09 및 $1.06 \mu\text{g/ml}$ 로 계산되었다. 수온이 $13 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 의 경우, AUC는 NA, PA, OA가 각각 341.45, 103.89 및 $159.10 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, 혈중최고농도의 도달시간은 7.72, 12.89 및 28.03 h, 혈중최고농도는 6.23, 1.22 및 $1.02 \mu\text{g/ml}$ 로 계산되었다.

감사의 글

이 연구는 국립수산과학원(양식생물 질병 방제연구, RP-2010-AQ-012)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참 고 문 헌

- Barron, M.G., Stehly, G.R. and Hayton, W.L.: Pharmacokinetic modeling in aquatic animals. I. Models and concepts. *Aquatic Toxicology*, 18:61-86, 1990.
- Björklund, H. and Bylund, G.: Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 84:363-372, 1990.
- Coyne, R., Bergh, Ø., Samuelsen, O., Andersen, K., Lunestad, B.T., Nilsen, H., Dalsgaard, I. and Smith, P.: Attempt to validate breakpoint MIC values estimated from pharmacokinetic data obtained during oxolinic acid therapy of winter ulcer disease in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 238:51-66, 2004.
- Hustvedt, S.O. and Salte, R.: Distribution and elimination of oxolinic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) after a single rapid intravascular injection. *Aquaculture*, 92:297-303, 1991.

- Jarboe, H., Toth, B.R., Shoemaker, K.E., Greenlees, K.J. and Kleinow, K.M: Pharmacokinetics, bioavailability, plasma protein binding and disposition of nalidixic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Xenobiotica*, 23:961-972, 1993.
- Katae, H., Kouno, K., Takase, Y., Miyazaki, H., Hashimoto, M. and Shimizu, M.: The evaluation of piromidic acid as an antibiotic in fish, an *in vitro* and *in vivo* study. *J. Fish Dis.*, 2:321-335, 1979.
- Poher, I., Blanc, G. and Loussouarn, S.: Pharmacokinetics of oxolinic acid in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758), after a single rapid intravascular injection. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 20:267-275, 1997.
- Rigos, G., Alexis, M., Andriopoulou, A. and Nengas, I.: Temperature-dependent pharmacokinetics and tissue distribution of oxolinic acid in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., after a single intravascular injection. *Aquacult. Res.*, 25:401-408, 2002a.
- Rigos, G., Alexis, M., Trypenou, A.E., Nengas, I., Piper, I. and Troisi, G.: Pharmacokinetics of oxolinic acid in gilthead sea bream, *Sparus aurata* L.. *J. Fish. Dis.*, 25:401-408, 2002b.
- Rigos, G., Trypenou, A.E., Nengas, I., Alexis, M., and Troisi, G.M.: The kinetic profile of oxolinic acid in sharpsnout sea bream, *Diplodus puntazzo* (Cetti 1777). *Aquacult. Res.*, 35:1299-1304, 2004.
- Rogstad, A., Ellingsen, O.F. and Syvertsen, C.: Pharmacokinetics and bioavailability of flumequine and oxolinic acid after various routes of administration to Atlantic salmon in seawater. *Aquaculture*, 110:207-220, 1993.
- Samuelson, O.B.: Pharmacokinetics of quinolones in fish: A review. *Aquaculture*, 255:55-75, 2006a.
- Samuelson, O.B.: Multiple dose pharmacokinetic study of oxolinic acid in cod, *Gadus morhua* L., *Aquacult. Int.*, 14:443-450, 2006b.
- Samuelson, O.B., Bergh, Ø. and Ervik, A.: A single-dose pharmacokinetic study of oxolinic acid ester, in cod, *Gadus morhua* L., held in sea water at 8°C and *in vitro* antibacterial activity of oxolinic acid against *Vibrio anguillarum* strains isolated from diseased cod. *J. Fish Dis.*, 26:339-347, 2003.
- Samuelson, O.B. and Ervik, A.: A single-dose pharmacokinetic study of oxolinic acid and vetoquinol, an oxolinic acid ester, in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., held in sea water at 9°C. *J. Fish Dis.*, 22:13-23, 1999.
- Samuelson, O.B. and Ervik, A.: Absorption, tissue distribution and excretion of flumequine and oxolinic acid in corkwing wrasse (*Symphodus melops*) following a single intraperitoneal injection or bath treatment. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 24:111-116, 2001.
- Samuelson, O.B., Ervik, A., Purse, L. and Smith, P.: Single-dose pharmacokinetic study of oxolinic acid and vetoquinol, an oxolinic acid ester, in atlantic salmon (*Salmo salar*) held in sea water and *in vitro* antibacterial activity of against *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 187:213-224, 2000.
- Sangrungruang, K., Endo, M. and Ueno, R.: Development of method for forced oral administration of xenobiotics in shrimp. *Fish. Sci.*, 70:463-466, 2004.
- Treves-Brown, K.M.: Tetracyclines. In *Applied Fish Pharmacology*. pp. 64-82. Kluwer Academic Publishers, Boston, London. 2000.
- Uno, K., Aoki, T., Ueno, R. and Maeda, I.: Pharmacokinetics of nalidixic acid and sodium nifurstyrenate in cultured fish following bolus

- intravascular administration. *Fish Pathology*, 31:191-196, 1996.
- Uno, K., Kato, M., Aoki, T., Kubota, S.S. and Ueno, R.: Pharmacokinetics of nalidixic acid in cultured rainbow trout and amago salmon. *Aquaculture*, 102:297-307, 1992.
- Zhang, Q. and Li, X.: Pharmacokinetics and residue elimination of oxytetracycline in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Aquaculture*, 272:140-145, 2007.
- 片江宏巳, 河野 薫, 森川 進, 田代文男, 高橋 誓, 松丸 豊, 牛山宗弘, 宮崎照雄, 窪田三朗: ピロミド酸に関する魚病化學療法的研究-I. 魚類における吸収, 分布, 残留性および安全性. *魚病研究*, 14:79-91, 1979.
- 老田哲也, 河野 薫, 片江宏巳, 中村信一, 關根 豊, 橋本昌久: ウナギにおけるピロミド酸および代謝物の組織内濃度. *日本水産學會誌* 599-1608, 1982.
- 국립수의과학검역원 고시 제2007-25호: 동물용의약품의 안전사용기준, 2008.
- 국립수산과학원 병리연구과: 수산용의약품 제품 요약 해설집 2009, 30-37, 52, 2009.
- 식품의약품안전청 고시 제2006-15호: 식품의 기준 및 규격 중 개정, 2006.
- 식품의약품안전청 고시 제2008-51호: 식품의 기준 및 규격 중 개정, 2008.
- 정승희, 김진우: 병용항균제의 어류질병 세균에 대한 시험관내 항균활성. *한국어병학회지*, 13: 45-51, 2000.
- 정승희, 최동립, 김진우, 조미라, 지보영, 서정수: Oxolinic acid의 경구투여, 주사 및 약욕에 따른 넙치, 체내 약물동태학적 특성. *한국어병학회지*, 22:125-135, 2009.

Manuscript Received : February 22, 2010

Revised : April 16, 2010

Accepted : April 23, 2010