

Cefoperazone (T-1551) 의 약리학적 연구

서울대학교 의과대학 약리학교실, 미생물학교실*, 서울대학교 약학대학**

임정규 · 홍사악 · 박찬웅 · 김명석 · 서유현
신상구 · 김용식 · 김혜원 · 이정수 · 장기철
이상국 · 장우현* · 김익상* · 김낙두**

= Abstract =

Pharmacological Studies of Cefoperazone(T-1551)

J.K. Lim, S.A. Hong, C.W. Park, M.S. Kim, Y.H. Suh, S.G. Shin, Y.S. Kim, H.W. Kim,
J.S. Lee, K.C. Chang, S.K. Lee, W.H. Chang*, I.S. Kim* and N.D. Kim**

Departments of Pharmacology and Microbiology, College of Medicine, Seoul National University
and College of Pharmacy, Seoul National University***

The pharmacological and microbiological studies of Cefoperazone(T-1551, Toyama Chemical Co., Japan) were conducted in vitro and in vivo. The studies included stability and physico-chemical characteristics, antimicrobial activity, animal and human pharmacokinetics, animal pharmacodynamics and safety evaluation of Cefoperazone sodium for injection.

1) Stability and physicochemical characteristics.

Sodium salt of cefoperazone for injection had a general appearance of white crystalline powder which contained 0.5% water, and of which melting point was 187.2°C.

The pH's of 10% and 25% aqueous solutions were 5.03 and 5.16 at 25°C. The preparations of cefoperazone did not contain any pyrogenic substances and did not liberate histamine in cats. The drug was highly compatible with common infusion solutions including 5% Dextrose solution and no significant potency decrease was observed in 5 hours after mixing.

Powdered cefoperazone sodium contained in hermetically sealed and light-shielded container was highly stable at 4°C~37°C for 12 weeks. When stored at 4°C the potency was retained almost completely for up to one year.

2) Antimicrobial activity against clinical isolates.

Among the 230 clinical isolates included, *Salmonella typhi* was the most susceptible to cefoperazone, with 100% inhibition at MIC of $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$. Cefoperazone was also highly active against *Streptococcus pyogenes*(group A), *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Shigella flexneri*, with 100% inhibition at 16 $\mu\text{g/ml}$ or less. More than 80% of *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* and *Salmonella paratyphi* was inhibited at $\leq 16 \mu\text{g/ml}$, while *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aerogenosa* were somewhat less sensitive to cefoperazone, with inhibitions of 60%, 55% and 35% respectively at the same MIC.

3) Animal pharmacokinetics

Serum concentration, organ distribution and excretion of cefoperazone in rats were observed after single intramuscular injections at doses of 20 mg/kg and 50 mg/kg. The extent of protein binding to human plasma protein was also measured *in vitro* by equilibrium dialysis method.

The mean peak serum concentrations of 7.4 $\mu\text{g/ml}$ and 16.4 $\mu\text{g/ml}$ were obtained at 30 min. after administration of cefoperazone at doses of 20 mg/kg and 50 mg/kg respectively. The tissue concentrations of cefoperazone measured at 30 and 60 min. were highest in kidney. And the concentrations of the drug in kidney, liver and small intestine were much higher than in blood. Urinary and fecal excretion over 24 hours after injection ranged from 12.5% to 15.0% in urine and from 19.6% to 25.0% in feces, indicating that the gastrointestinal system is more important than renal system for the excretion of cefoperazone. The extent of binding to human plasma protein measured by equilibrium dialysis was 76.3%~76.9%, which was somewhat lower than the others utilizing centrifugal ultrafiltration method.

4) Animal pharmacodynamics

Central nervous system: Effects of cefoperazone on the spontaneous movement and general behavioral patterns of rats, the pentobarbital sleeping time in mice and the body temperature in rabbits were observed. Single intraperitoneal injections at doses of 500~2,000 mg/kg in rats did not affect the spontaneous movement and the general behavioral patterns of the animal. Doses of 125~500 mg/kg of cefoperazone injected intraperitoneally in mice neither increased nor decreased the pentobarbital-induced sleeping time. In rabbits the normal body temperature was maintained following the single intravenous injections of 125~2,000 mg/kg dose.

Respiratory and circulatory system: Respiration rate, blood pressure, heart rate and ECG of anesthetized rabbits were monitored for 3 hours following single intravenous injections of cefoperazone at doses of 125~2,000 mg/kg. The respiration rate decreased by 3~17% at all the doses of cefoperazone administered. Blood pressure did not show any changes but slight decrease from 130/113 to 125/107 by the highest dose (2,000 mg/kg) injected in this experiment. The dosages of 1,000 and 2,000 mg/kg seemed to slightly decrease the heart rate, but it was not significantly different from the normal control. All the doses of cefoperazone injected were not associated with any abnormal changes in ECG findings throughout the monitoring period.

Autonomic nervous system and smooth muscle: Effects of cefoperazone on the automatic movement of rabbit isolated small intestine, large intestine, stomach and uterus were observed *in vitro*. The autonomic movement and tonus of intestinal smooth muscle increased at dose of 40 $\mu\text{g/ml}$ in small intestine and at 0.4 mg/ml in large intestine. However, in stomach and uterine smooth muscle the autonomic movement was slightly increased by the much higher doses of 5-10 mg/ml.

Blood: *In vitro* osmotic fragility of rabbit RBC suspension was not affected by cefoperazone of 1~10 mg/ml. Doses of 7.5 and 10 mg/ml were associated with 11.8% and 15.3% prolongation of whole blood coagulation time.

Liver and kidney function: When measured at 3 hours after single intravenous injections of cefoperazone in rabbits, the values of serum GOT, GPT, Bilirubin, TTT, BUN and creatine were not significantly different from the normal control.

5) Safety evaluation

Acute toxicity: The acute toxicity of cefoperazone was studied following intraperitoneal

and intravenous injections to mice(A strain, 4 week old) and rats(Sprague-Dawley, 6 week old). The LD₅₀'s of intraperitoneally injected cefoperazone were 9.7g/kg in male mice, 9.6 g/kg in female mice and over 15g/kg in both male and female rats. And when administered intravenously in rats, LD₅₀'s were 5.1g/kg in male and 5.0g/kg in female. Administrations of the high doses of the drug were associated with slight inhibition of spontaneous movement and convulsion. Abdominal transudate and intestinal hyperemia were observed in animals administered intraperitoneally. In rats receiving high doses of the drug intravenously rhinorrhea and pulmonary congestion and edema were also observed. Renal proximal tubular epithelial degeneration was found in animals dosing in high concentrations of cefoperazone.

Subacute toxicity: Rats(Sprague-Dawley, 6 week old) dosing 0.5, 1.0 and 2.0 g/kg/day of cefoperazone intraperitoneally were observed for one month and sacrificed at 24 hours after the last dose. In animals with a high dose, slight inhibition of spontaneous movement was observed during the experimental period. Soft stool or diarrhea appeared at first or second week of the administration in rats receiving 2.0g/kg. Daily food consumption and weekly weight gain were similar to control during the administration. Urinalysis, blood chemistry and hematology after one month administration were not different from control either. Cecal enlargement, which is an expected effect of broad spectrum antibiotic altering the normal intestinal microbial flora, was observed. Intestinal or peritoneal congestion and peritonitis were found. These findings seemed to be attributed to the local irritation following prolonged intraperitoneal injections of hypertonic and acidic cefoperazone solution. Among the histopathologic findings renal proximal tubular epithelial degeneration was characteristic in rats receiving 1 and 2 g/kg/day, which were 10 and 20 times higher than the maximal clinical dose(100 mg/kg) of the drug.

6) Human pharmacokinetics

Serum concentrations and urinary excretion were determined following a single intravenous injection of 1g cefoperazone in eight healthy, male volunteers. Mean serum concentrations of 89.3, 61.3, 26.6, 12.3, 2.3, and 1.8 μg/ml occurred at 1, 2, 4, 6, 8 and 12 hours after injection respectively, and the biological half-life was 108 minutes. Urinary excretion over 24 hours after injection was up to 43.5% of administered dose.

서 론

Cefoperazone(T-1551, Toyama Chemical CO., Japan)은 새로이 개발된 cephalosporin 유도체의 항생약물로 7-aminocephalosporanic acid의 7번 amino 기에 α-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)-α-(4-hydroxyphenyl) acetic acid와 3번 위치에 methyl-thiotetrazol을 치환시킨 합성물이다.

Cefoperazone은 그람양성 및 음성균, 특히 pseudomonas, enterobacter 등을 포함하여 광범위한 살균능력을 갖는다고 알려져 있으며 (1) 새로운 주사용 항생약물로서 임상영역에서의 이용에 관심을 끌고있다.

본 연구에서는 광범위한 임상적응을 앞선 기초로

서 cefoperazone의 물리화학적 성상 및 안정성, 병원성 세균에 대한 항균능력, 그리고 동물과 한정된 지원자에서 생체 및 시험관내의 약력학 및 약리학적작용과 생체의 약물에 대한 안정성을 검토하였다.

실 험 방 법

1) 물리화학적 성상 및 안정성

시험재료로는 주사용 cefoperazone sodium(Toyama Chemical CO.) Lot No. 1116, 1118, 1119, 1791, 1801, 1821을 사용하였다.

(1) 물리화학적성상 : 육안적인 관정으로 일반형태를 관찰하고, 수분함량, 용점 및 용액의 수소이온 농도를

측정하였다. 수소이온농도는 주사용증류수에 용해한 10% 용액과 25% 용액의 pH를 실온에서 Beckman pH meter로 측정하였으며, 수분함량은 Karl Fischer 방법에 의한 적정방법(2)으로 정량하였다. 그리고 용전은 대한약전 일반시험법의 용전측정방법(2)에 따라 측정하였다.

(2) 발열성물질시험: 대한약전 일반시험법중 발열성물질시험법(2)에 따라 실험실조건에서 1주일동안 사육한 전강토끼(체중 1.6~2.5 kg)를 사용하였으며 cefoperazone은 주사용증류수에 50 mg/ml로 용해한 용액을 1.0 ml/kg 용량으로 이각정맥을 통하여 주사하였으며 주사후 1시간 간격으로 Telethermometer(Yellow Spring, Model 46 TUC)를 사용 직장온도를 측정하여 체온상승 여부를 관찰하였다.

(3) 히스타민유리시험: 국립보건연구원 항생물질약품기준(3)에 따라 phenobarbital(150 mg/kg, I.P.)로 마취한 숫고양이의 혈압강화작용을 표준히스타민과 비교 판정하였다. 이때 표준히스타민은 주사용 생리식염수에 Histamine base 1 µg/ml로 용해한 용액을 사용하였으며 cefoperazone은 10 mg/ml 용액을 체중 kg 당 1ml 투여하였다.

(4) 용매적합성시험(Compatibility test): Cefoperazone 시료 1g을 20ml 석의 주사용증류수, 5% 포도당액, 생리식염수, 그리고 5% 포도당과 생리식염수 혼합액에 용해시켜 실온(23°C)에 방치후 2.5 및 5시간 경과시 각용액중의 cefoperazone의 항균역가를 측정하고 동시에 혼탁도 등 일반형태의 변화 유무를 관찰하였다. Cefoperazone의 역가측정은 High Pressure Liquid Chromatograph(HPLC, Waters)를 사용하여 253 mµ에서 압력 600 psi 하에 0.8 ml/min 유속으로 U-Bondapac CN Column을 이용하였고 용매는 Acetonitrile:H₂O:Acetic Acid:Triethylamine=220:774:2:4를 썼다.

(5) 경시변화시험(Stability test): 4°C, 30°C, 37°C 및 50°C의 일정온도로 유지한 차광된 용기 내에 cefoperazone 시료를 3주, 6주 및 12주 보관후 경시적인 일반형태의 변화를 육안으로 관찰하고, 각 시료의 활성도를 HPLC와 생물학적방법으로 측정하였다.

HPLC 조건은 용매적합성 시험에서와 같았으며 생물학적 방법에 의한 역가측정은 cup-plate 법으로 *Sarcina lutea* ATCC 9341을 시험균주로 하여 측정하였다.

또 한편 장기간에 걸친 경시변화시험을 위해 3개의 시료를 4°C에서 1년간 보관후 역시 일반형태 변화의 관찰 및 역가를 HPLC로 측정하였다.

2) 병원성세균에 대한 항균작용

1980년 1~10월 사이에 서울대학교 병원에서 얻은 각종 임상검체에서 분리한 *Staphylococcus aureus* 30주, *Streptococcus pyogenes*(group A) 10주, *Escherichia coli* 50주, *Klebsiella pneumoniae* 10주, *Salmonella typhi* 20주, *Salmonella paratyphi* 20주, *Shigella flexneri* 20주, *Serratia marcescens* 20주, *Pseudomonas aeruginosa* 20주, *Enterobacter aerogenes* 20주, *Enterobacter cloacea* 10주 등 총 230주의 병원성세균에 대한 cefoperazone의 최저발육저지농도(MIC)를 측정하였다. MIC측정은 Dilution Test Procedure(4)에 의거 Müller-Hinton 배지(Difco)를 사용한 한천병 판희석법으로 실시하였다. Cefoperazone의 농도는 128 µg/ml부터 2배 단계희석으로 0.125 µg/ml까지 희석하여 사용하였다. 세균들의 cefoperazone에 대한 감수성판정은 미국 FDA의 추천에 따라 MIC 32 µg/ml 이상을 내성, 10 µg/ml 이하를 감수성, 10~16 µg/ml를 중등도 감수성으로 정하였다.

3) 동물 약력학

(1) 혈중농도: 39마리의 흰쥐(Sprague-Dawley, 6 wk)를 3군으로 나누고 각군에 주사용생리식염수에 1~2%로 용해한 cefoperazone을 20 mg/kg, 50 mg/kg, 그리고 대조로 생리식염수를 단회 근육주사하였으며, 주사후 30분, 60분, 2시간, 4시간 및 6시간에 체혈하여 혈청을 분리한 후 농도를 측정하였다.

혈청농도는 disk-plate 법에 의한 생물학적 방법으로 측정하였으며 이때 시험균주는 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619를 사용하였으나 혈청농도가 10 µg/ml 이하일 때는 *Sarcina lutea* ATCC 9341을 시험균주로 썼다(5).

(2) 장기분포: 15마리의 흰쥐를 혈중농도 측정에서와 같이 cefoperazone 20 mg/kg, 50 mg/kg, 그리고 생리식염수투여 대조군의 3군으로 나누고 단회근육주사후 30분 및 60분에 단두치사 시킨후 즉시 간장, 신장, 폐장, 심장 및 소장등을 적출하였다. 장기 1g당 3배 용량의 phosphate buffer(pH 7.0)을 가하여 Waring blender로 균질화시키고 냉동 원질한후 상청액을 분리하여 disk-plate 법으로 *Sarcina lutea* ATCC 9341을 시험균주로하여 장기내 농도를 측정하였다.

(3) 배설: Cefoperazone 20 mg/kg, 50 mg/kg 투여군 및 생리식염수투여 대조군의 3군으로 나누는 9마리의 흰쥐를 물과 사료를 충분히 공급해준 대사용 사육상자

에 넣고 각군의 동물에 해당용량의 cefoperazone 또는 생리식염수를 단회근육주사하였다. 주사후 0~2시간, 2~6시간 및 6~24시간 사이에 배설되는 대변 및 소변을 각각 분리 채취하여 cefoperazone 농도를 측정하였으며 이때 대변은 조직장기 농도측정시와 같은 방법으로 1g 당 pH 7.0 phosphate buffer를 3배 용량으로 넣고 균질화 한후 원침시켜 그 상등액에서 *Sarcina lutea* ATCC 9341를 시험균주로 사용한 disk-plate 방법으로 생물학적 측정을 하였다.

(4) 혈장단백흡착율 : 사람혈장을 사용하여 equilibrium dialysis 방법으로 in vitro 에서 측정하였다. 이때 혈장은 최소한 채혈 일주일 이내에 어떠한 항생물질도 투여받지 않은 건강성인에서 채혈한 혈액에서 분리하여 사용하였고 총단백량은 6.6 g/100ml 이었다. Equilibrium dialysis는 Visking regenerated cellulose membrane을 사이에 두고 양쪽에 Teflon half-cell로 되어있는 dialysis apparatus를 사용하였으며, 한쪽 half-cell에는 4 ml의 혈장, 그리고 반대쪽에는 5% PVP를 함유한 pH 7.4 phosphate buffer를 동량 넣고 buffer 측에 50 µg/ml의 cefoperazone을 첨가한 후 6시간동안 계속 진탕하면서 1시간 간격으로 양쪽 half-cell 내의 유리 cefoperazone 농도를 측정하였다.

4) 동물 약리학

(1) 중추신경계 : 일반행동 및 자발운동성—6~8주된 150 g 내외의 거의 일정한 체중을 갖는 숫쥐 (*Sprague-Dawley*) 5마리를 한군으로 하여 생리식염수투여 대조군, Cefoperazone 500 mg/kg, 1,000 mg/kg 및 2,000 mg/kg 복강주사군등 4군으로 나누어 일반행동 관찰실험을 하였다. 관찰방법은 흥등(6)의 방법에 의하였고 주사후 30분 경과시부터 시작하여 매동물당 70번의 행동을 관찰 분석하였다. 동물의 행동내용은 잠자기, 앉아있기, 뒷발로서기, 걷기, 먹이 및 물마시기, 몸치장하기등 6가지로 나누어 기록하였다.

Pentobarbital 수면시간—숫생쥐 (A strain) 6마리를 한군으로하여 대조군, cefoperazone 125, 250, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg 투여군의 6군으로 나누어 실험하였다. Cefoperazone은 각군의 동물에 주사량을 같게하여 복강주사하였으며 주사후 30분 경과시 Pentobarbital Na 50 mg/kg를 역시 복강주사하여 수면을 유도시켰다. Pentobarbital 주사후 정향반사가 소실된때부터 시작하여 반사가 다시 돌아온 때까지를 수면 지속시간으로 하였다.

체온—10마리의 숫가토를 2마리씩 대조, cefoperazone

250, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg 정맥주사군으로 나누고 주사후 30분부터 30분 간격으로 3시간동안 직장온도를 Telethermometer (Yellowsprings, Model 46 TUC)로 측정하였다.

(2) 호흡 및 순환계; Pentobarbital Na (30 mg/kg, I.V.)로 마취한 체중 2 kg 내외의 숫가토 (New Zealand White)에서 호흡수, 혈압, 심박동수 및 심전도를 cefoperazone 125, 250, 500, 1,000 및 2,000 mg/kg 단회정맥주사후 3시간에 걸쳐 연속기록 관찰하였다. 호흡은 impedance pneumograph를 통하여 E & M physiograph (DMP-4B, Narco-Bio)에 기록하였고, 혈압은 Devices MX-6 physiograph에 연결한 pressure transducer (Type 4-422, Bell & Howell)에 의하여 경동맥에서 측정하였다. 심전도 역시 Devices MX-6 physiograph로 관찰하였고 여기에 Ratemeter (4522, Electromed)를 연결하여 심박동수를 연속 기록하였다. Cefoperazone 투여는 경정맥에 삽입한 카닐라를 통하여 주입하였다.

(3) 자율신경계 및 평활근 : 가토 (New Zealand White, 2kg 내외)에서 적출한 소장, 대장, 위장 및 자궁근편의 자율운동에 대한 cefoperazone의 영향을 in vitro 에서 관찰 기록하였다.

적출평활근편은 95% O₂-5% CO₂가 연속주입되는 37°C로 항온을 유지한 Krebs 용액 (20 ml)이 들어 있는 muscle chamber에 현수한 후 Force transducer (Devices)에 연결 Devices MX-6 physiograph 상에 자율운동의 진폭 및 긴장도를 연속기록 하였다.

(4) 혈액 : 가토혈액에서 cefoperazone의 적혈구 용혈작용 및 혈액응고에 대한 영향을 in vitro 에서 검토하였다. 용혈작용은 Sanford 방법 (7)에 의한 적혈구의 Osmotic fragility test로 검토하였고 혈액응고는 Lee-White 전혈응고시간 (7)을 측정하였다.

(5) 간 및 신기능 : 체중 2 kg 내외의 숫가토에 cefoperazone 125~2,000 mg/kg 단회정맥주사 후 3시간 경과시 채혈하여 혈청중 GOT, GPT, Bilirubin, TTT, BUN 및 Creatine을 Autoanalyzer (MT-2, Technicon)를 사용하여 측정하였고 단 TTT는 Shank-Hoglund 법 (7)으로 측정하였다.

5) 약안전성 검토

(1) 급성독성실험

생쥐, 복강주사 : 20 g 내외의 거의 일정한 체중을 갖는 4주된 생쥐 (A strain) 144마리 (♂72, ♀72)를 사용하였으며 동물들은 실험전 1주일동안 실험실조건에

적용 사육하였다. 암 수 각 12마리씩을 한군으로하여 cefoperazone 6.5 g/kg~12.5 g/kg를 단회복강주사하는 6군씩으로 나누었다. Cefoperazone의 주사용량은 예비실험에서 얻은 결과를 기초로 하였고 주사량은 모든 동물에서 일정하게 하였다. 주사후 1주일동안 동일 조건에서 먹이와 물을 제한없이 공급하면서 일반상태와 나타나는 증상을 관찰하였으며 죽는에는 즉시 부검을 시행하여 육안적소견을 관찰 기록하고 각종 장기는 현미경조직검사를 위하여 formalin 고정을 하였다. 살아남은 동물은 주사 1주일후에 전부 치사시켜 육안소견 관찰 및 장기조직의 현미경검사를 실시하였고 LD₅₀는 암, 수 각각에서 Litchfield-Wilcoxon 법(8)으로 산출하였다.

원취, 정맥 및 복강주사: 원취는 체중 150 kg 내외, 연령 6주의 Sprague-Dawley 계 240마리를 실험실조건에서 1주일동안 적응시킨 후 사용하였다. 실험군은 정맥주사군과 복강주사군을 나누고 암, 수를 구별하여 각 10마리씩을 한군으로 하는 6군씩으로 나누었다. 주사용량은 예비실험에서 얻은 결과를 기초로 하여 정하였으 며 정맥주사군에서는 3.5 g/kg~6.5 g/kg, 복강주사군에서는 10g/kg~15g/kg 사이로 하여 일정양씩 단회 투여하였고, 정맥주사는 꼬리정맥을 통하여 하였다. 생쥐의 경우에서와 같이 주사후 1주일동안 동일 실험실 조건에서 사육하면서 증상을 관찰하고 죽는에는 즉시 부검을 실시하여 육안적소견 및 장기조직의 현미경검사를 하였고 살아남은 예를 일주일째날에 치사시켜 부검을 시행하였다. LD₅₀는 역시 Litchfield-Wilcoxon 법으로 정맥 및 복강주사군에서 암, 수 각각 산출하였다.

(2) 아급성독성실험

실험실에서 1주일간 적응시킨 Sprague-Dawley 계 원취(150 g, 6주) 80마리(♂40, ♀40)를 사용하였다. 암 수 구별하여 각 10마리씩을 한군으로 하였고 생리식염수투여 대조군, cefoperazone 500, 1,000 및 2,000 mg/kg/day 투여군의 4군으로 나누었다. 약물투여는

매일 오전중 같은 시간에 1개월동안 계속하여 복강주사하였다. 1개월의 주사기간동안 일반상태 및 나타나는 증상, 먹이소모량 등을 매일 관찰하고 일주일 마다 체중증가를 측정하였다. 실험기간중 사망에는 즉시 부검하여 육안소견 및 조직의 현미경검사를 시행하였고 살아남은 동물은 마지막 주사후 24시간에 소변 및 혈액검사를 위한 가검물을 채취하고 즉시 치사시켜 부검을 실시하였다.

6) 인체 약력학

연령 21~25세, 체중 60~70 kg 인 건강, 성인 한국 남자중 자필서명으로 서면동의한 8명의 지원자에 의하여 이루어졌다. 지원자들은 투약전 신체검사서에서 정상 건강임을 확인하였고, Cephalosporin 계 항생약물에 대하여 과민반응을 보이지 않으며 최소한 2주일 이내에 어떠한 종류의 항생약물도 투약받지 않았음을 확인하였다.

지원자들은 투약일 아침 07:00시 공복시에 cefoperazone 1 g을 20 ml 주사용 생리식염수에 용해하여 상완정맥에 단회정맥주사하였다. 투약후 1, 2, 4, 6, 8, 12시간에 무균조작으로 10 ml의 혈액을 주사 반대측 상완정맥에서 채혈하여 혈청을 분리한 후 농도측정에 공여하였고, 동시에 주사 1, 2, 3, 6, 12, 24시간에 소변을 채뇨하여 소변중 배설농도를 측정하였다. 상기한 실험은 1주일후 반복하였으며, 혈청 및 소변중 cefoperazone 농도는 Pseudomonas aeruginosa ATCC 25619를 시험균주로하는 cylinder-plate 법을 이용하여 생물학적 방법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

1) 물리화학적 성상 및 안정성

(1) 물리화학적성상: Cefoperazone sodium의 육안적인 일반형태는 백색결정성분말이며, 수분함량은 0.5

Table 1. Pyrogen test of cefoperazone in rabbit

Rabbit No.	Body Wt. (kg)	Dose (ml)*	Body Temperature(°C)						
			Before injection			After injection			
			1 hr.	2 hr.	3 hr.	1 hr.	2 hr.	3 hr.	
1	2.5	2.5	39.3	39.4	39.4	39.5	39.5	39.4	0.1
2	2.5	2.5	39.6	39.6	39.5	39.6	39.5	39.5	0.1
3	1.6	1.6	39.2	39.3	39.2	39.3	39.0	39.1	0.1
Total Increase									0.3

* : 1 ml of aqueous solution contains 50mg cefoperazone.

Table 2. Histamine liberation of cefoperazone in cat

	Dose(ml/kg)	Blood pressure(mmHg)		Decrease of B.P. (mmHg)	
		Upper	lower	Standard	Test
Histamine standard	0.1*	88	70	36	
Histamine standard	0.1	87	68	38	
Histamine standard	0.1	87	69	36	
Histamine standard	0.1	90	70	40	
Cefoperazone	1.0**	89	81		16
Cefoperazone	1.0	91	85		12
Average 37.5					14

*: Concentration of standard histamine is 1g Histamine base/ml of saline.
 **: 1 ml contains 10 mg cefoperazone sodium.

Table 3. Compatibility of cefoperazone with infusion solution

Infusion	Potency(%)			Appearance
	Initial	2.5hrs.	5hrs.	
Water for Injection	100*	98.8	98.2	—
Normal Saline	100	99.0	99.2	—
5% Dextrose	100	97.8	97.2	—
5% Dextrose/saline	100	97.9	97.4	—

* : The potency of cefoperazone immediately after dissolved is taken as 100%.

%, 응점은 187.2°C이었다. 주사용증류수에 용해한 10%용액의 실온(25°C)에서의 pH는 5.03이고 25%용액은 5.16이었다.

(2) 발열성 물질 : Table 1에서와 같이 주사전 대조 체온에 비해 cefoperazone 50 mg/kg 주사후 체온이 3마리의 실험가토에서 다같이 0.1°C의 상승을 보이고 전동물의 체온상승 합계가 0.3°C이나 이러한 결과는 대한약전의 발열성물질 양성판정기준(대동물의 체온상승 -0.6°C 이상, 전동물(3마리)의 체온상승합계 -1.4°C 이상)을 넘지않는 것이었으므로 cefoperazone 주사용제제의 발열성물질은 음성으로 판단되었다.

(3) 히스타민유리 : Table 2에서와 같이 phenobarbital 마취 숫고양이에서 cefoperazone 10 mg/kg에 의한 혈압강하가 평균 14 mmHg였으나 이는 표준히스타민 0.1 μg/kg에 의한 평균강압 37.5 mmHg에 비해 훨씬 적은 혈압변동을 보였기 때문에 항생물질 약품판정기준(3)에 의해 cefoperazone의 생체내에서의 히스타민 유리작용은 인정할 수 없었다.

(4) 용매적합성 : Cefoperazone의 용매적합성을 검토하기 위하여 Table 3에서와 같이 일반적으로 많이 사용되는 각종 주사용제제의 용매에 5% 용액을 만들어

실온(23°C)에 방치하였을 경우 5시간 경과후에도 모든 시험용액에 있어서 용해적후역가의 97%이상을 그대로 유지하였으며, 혼탁도등 용액의 육안적형태에 있어서도 아무런 이상을 보이지 않았기 때문에 cefoperazone의 상용 주사용매에 대한 적합성은 아주 좋은 것으로 판단하였다.

(4) 경시변화 : Cefoperazone 분말을 4°C~50°C의 일정온도로 조절된 차광용기에서 3~12주 보관후 역가변동을 생물학적방법과 HPLC법으로 검토한 결과 Table 4에서와 같이 50°C에서 6주이상 12주 보관한 경우에 한하여 20% 내외의 역가감소를 보였을 뿐 모든 경우에 있어서는 보관전 역가의 90%이상을 그대로 유지하였으며, 특히 4°C에서 1년간 장기보관한 경우에 있어서도(Table 5) 98%의 역가를 그대로 유지하여 cefoperazone은 4°C가 가장 좋은 저장조건이라 인정되었고 밀폐된 차광용기내에서 cefoperazone 분말은 대단히 안정한 것으로 사료되었다.

2) 병원성세균에 대한 항균작용

임상검체에서 신선분리한 230주의 병원성 세균을 대상으로한 cefoperazone에 대한 감수성 검사를 실시하

Table 4. Stability of cefoperazone bulk powder at various temperature

Lot No.	Storage period (week)	Potency			
		50°C	37°C	30°C	4°C
1791	3	90.5*			
	6	85.3(87.6)	94.1(94.4)	96.7(96.8)	98.6(99.0)
	12	80.5(74.5)	93.2(93.0)	94.8(94.5)	97.7(97.0)
1801	3	91.0			
	6	83.0(87.6)	95.6(95.0)	98.3(97.2)	99.2(98.9)
	12	75.9(74.5)	92.4(89.1)	96.1(94.7)	98.5(97.6)
1821	3	92.3			
	6	82.6(88.1)	96.7(94.2)	100.5(98.0)	100.7(98.9)
	12	77.2(75.4)	96.1(91.0)	98.1(95.3)	99.5(98.2)

* : Percentage of original activity recovered. Determined by bioassay method.
 () : Activity determined by HPLC method.

Table 5. Stability of Cefoperazone powder stored at 4°C for one year

Lot No.	Storage period	Storage temperature	% of initial activity recovered*
1116	1 year	4°C	98.5
1118	1 year	4°C	98.4
1119	1 year	4°C	98.0

* : Determined by HPLC method

Table 6. Susceptibility patterns of clinical isolates to cefoperazone sodium

Bacteria	No. of strain	Minimum Inhibitory Concentration (MIC, µg/ml)											Sensitive strain (%)	Resistant strain (%)
		≥128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	≤0.12		
E. coli	50	1 (100)*	2 (98)	6 (94)	— (82)	4	3 (74)	11 (68)	7 (46)	5 (32)	7 (22)	4 (8)	82	18
Enterobacter aerogenes	20		1 (100)	3 (95)	3 (80)	1 (65)	1 (60)	3 (55)	3 (40)	3 (25)		2 (10)	80	20
Enterobacter cloacae	10	2 (100)		1 (70)		2 (60)	1 (40)		1 (30)	2 (20)			60	40
Salmonella paratyphi	20			2 (100)	2 (90)	4 (80)	1 (60)		6 (55)	4 (25)	1 (5)		90	10
Salmonella typhi	20									9 (100)	11 (55)		100	0
Shigella flexneri	20					2 (100)	3 (90)		5 (75)	10 (50)			100	0
K. pneumoniae	10					1 (100)	1 (90)		1 (80)	2 (70)	4 (50)	1 (10)	100	0
P. aeruginosa	20	1 (100)	5 (95)	7 (70)	1 (35)	5 (30)	1 (5)						35	65
Serratia marcescens	20	5 (100)	1 (75)	3 (70)	2 (55)	2 (45)	3 (35)	2 (20)	1 (10)	1 (5)			55	45
Staphylococcus aureus	30				1 (100)		6 (96)	17 (76)	6 (20)				100	0
Streptococcus pyogenes	10						5 (100)	1 (50)	2 (40)	1 (20)	1 (10)		100	0

* () cummulative % of strains inhibited

였다. Table 6에서와 같이 검사대상균주중 Salmonella typhi(20주)가 가장 감수성이 높아 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 이하에서 모든 균주의 발육이 억제되었으며 Streptococcus pyogenes(group A)(10주)는 4 $\mu\text{g/ml}$, Shigella flexneri(20주) 및 Klebsiella pneumoniae(10주)는 8 $\mu\text{g/ml}$, 그리고 Staphylococcus aureus(30주)는 16 $\mu\text{g/ml}$ 이

하에서 모든 균주의 발육이 저지되는 상당히 높은 감수성을 보였다. 한편 E. coli는 50주중 41주(82%), Enterobacter aerogenes 20주중 16주(80%), Salmonella paratyphi 20주중 18주(90%)가 16 $\mu\text{g/ml}$ 이하에서 억제되어 비교적 높은 감수성을 나타내었으나, Enterobacter cloacae, Serratia macescense 및 Pseudomonas aeruginosa는 같은 농도에서 각각 60%, 55% 및 35%의 억제를 보여 약간 감수성이 낮은 결과를 나타내었다.

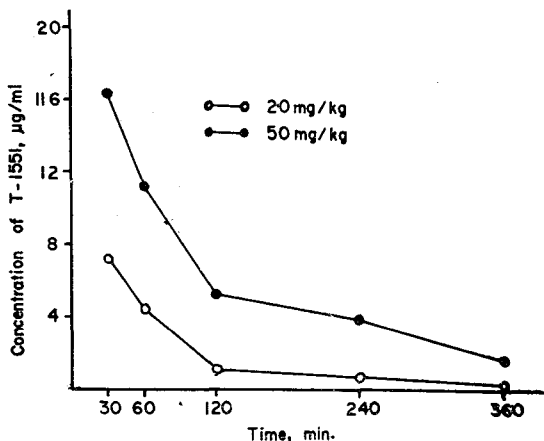


Fig. 1. Serum concentrations of Cefoperazone in rat after single intramuscular injection.

3) 동물 약리학

(1) 혈중농도 : 흰쥐에 cefoperazone 단위 근육주사 후 30분 부터 시작하여 3시간에 걸쳐 일정시간에 혈청 농도를 측정하였다. Fig. 1에서와 같이 20 mg/kg 및 50 mg/kg 주사에서 다같이 최초의 채혈시간인 30분에 가장 최고의 혈중 농도를 보여 각각 7.4 $\mu\text{g/ml}$ 와 16.4 $\mu\text{g/ml}$ 를 나타내었고 그 이후시간 경과에 따라 혈중 농도는 감소하여 6시간에는 20 mg/kg 군에서는 거의 측정이 안되었고 50 mg/kg 주사시 1.75 $\mu\text{g/ml}$ 의 낮은치를 보였다. 이로 부터 cefoperazone은 근육주사 경우 상당히 빠른 속도로 흡수가 일어나 최소한 30분 이내에 최고 혈중치를 이룰것으로 여겨졌으며 또한 투여

Table 7. Organ distribution of cefoperazone in rat after single intramuscular injection ($\mu\text{g/ml}$ serum or $\mu\text{g/g}$ tissue)

Tissue	20mg/kg		50mg/kg	
	30min.	60min.	30min.	60min.
Serum	7.4	4.4	16.4	11.2
Liver	24.8	13.2	44.0	36.8
Kidney	36.4	27.2	76.0	43.2
Heart	0.4	0.4	2.8	0.4
Lung	6.4	0.8	15.2	3.6
Intestine	22.8	34.8	57.6	65.6

Table 8. Urinary and fecal excretion of cefoperazone in rat after single intramuscular injection (% Recovered)

Time, Hrs.	20mg/kg		5mg/kg	
	Urine	Feces	Urine	Feces
2	11.86	—	9.86	—
6	1.64	5.19	1.05	3.34
24	1.46	19.72	1.63	16.22
Subtotal	14.96	24.01	12.54	19.56
Total	39.87		32.10	

Table 9. General behavior patterns of rat after intraperitoneal injection of cefoperazone

Cefoperazone (mg/kg)	Sleeping	Lying	Rearing	Walking	Eating Drinking	Grooming
Control	30.8±10.3	20.0±4.9	5.0±1.4	4.0±1.4	7.6±3.6	2.6±0.9
500	22.0±3.4	28.0±8.8	8.0±2.2	2.2±0.8	7.6±2.1	2.2±1.1
1000	26.6±6.6	25.2±6.0	5.0±2.3	3.8±1.6	7.8±3.0	1.6±1.2
2000	24.6±6.7	26.8±10.7	5.0±3.0	3.6±1.7	8.0±3.9	2.0±1.7

용량의 증가에 따라 거의 비례적으로 흡수양도 증가하는 결과를 보였다.

(2) 장기분포 : 단회 근육주사후 cefoperazone의 흰쥐 장기 조직내 분포양상은 Table 7에서와 같이 투여량에 관계없이 20 mg/kg 및 50 mg/kg 투여 동물에서 다같은 양상을 보여 신장에서 가장 높은 농도를 나타내었고 간장, 소장, 폐장순으로 분포되었다. 한편, 특히 신장, 간장 및 소장내의 분포농도는 모든경우에 동일시간의 혈중농도를 상회하였으며 이러한 현상은 cefoperazone의 조직침투력이 상당히 양호할 것임을 보여주는 결과라 사료되었으며 주사후 30분과 60분에서의 분포 농도를 비교할 때는 혈중농도(Fig. 1)가 시간 경과에 따라 감소하는 정도에 비례하여 감소함을 보였다.

(3) 배설 : 단회 근육 주사후 24시간에 걸친 흰쥐 소변 및 대변으로의 cefoperazone 배설은 Table 8에서와 같다. 주사후 24시간동안 소변과 대변을 통한 총 배설량은 20 mg/kg 주사군에서 투여량의 39.9%, 50 mg/kg 주사군에서는 32.1%로 주사량에 관계없이 거의 비슷한 배설을 보이고 있다. 그러나 소변과 대변으로의 배설을 비교할 때는 소변의 경우 주사후 처음 2시간에 투여량의 9.9~11.9%로 상당량이 배설되나 그 이후 2~6시간 및 6~24시간 사이에는 1.0~1.6% 정도만이 배설되어 24시간 동안의 소변만으로의 배설은 총 투여량의 12.5~15.0%였다. 그러나 대변에서는 처음 6시간 동안에는 20 mg/kg 및 50 mg/kg 투여군에서 총주사량의 3.3~5.2%가 배설되나 그 이후 6~24시간 사이에는 16.2~19.7%에 이르러 24시간 동안 총 대변으로의 배설은 투여량의 19.6~25.0%가 되어 대변으로의 배설이 소변보다 높은 정도로 일어나고 있음을 보였는데 이러한 결과는 cefoperazone의 담즙을 통한 소장으로의 배설이 아주 현저하다는 보고(9,10) 및 Table 7의 장기분포 양상에서 간장 및 소장내 높은 농도로 분포되는 것과 일치되는 결과라 여겼다.

4) 혈장단백흡착 : Equilibrium dialysis 법으로 신선 채혈한 사람 혈장단백(총단백 6.6 gm%)의 흡착물을 검

Table 10. Pentobarbital-induced sleeping time in mouse following single intraperitoneal injection of cefoperazone

Cefoperazone, mg/kg	Sleeping Time, hrs.
Control	5.29±1.49
125	5.27±1.24
250	5.46±0.62
500	5.34±1.44
1000	5.77±1.09
2000	5.99±1.50

토하였다. 5% PVP를 함유한 phosphate buffer 속에 50 µg/ml의 cefoperazone을 첨가했을 때 유리 cefoperazone의 혈장측과의 평형은 5~6시간에 이루어졌으며 이때 혈장단백흡착율은 76.3~76.9%였다. 그러나 한편 Watanabe 등(11)은 centrifugal ultrafiltration 법으로 측정된 cefoperazone의 사람 혈장 알부민 흡착율을 90.4%로 보고하고 있는바 이처럼 본 연구에서의 흡착율이 낮은 것은 equilibrium dialysis를 했을 경우 cefoperazone의 단백흡착이 가역적이라는 보고(12)를 감안할 때 방법상의 차이 때문이라고 사료되었다.

4) 동물 약리학

(1) 중추신경계 : 중추신경계에 대한 cefoperazone의 영향을 검토하기 위하여 흰쥐에서의 자발운동 및 일반행동 분석과 생쥐에서의 Pentobarbital-수면시간, 그리고 가토의 체온에 대한 영향을 검토하였다.

흰쥐의 자발운동성 및 일반행동 양상은 cefoperazone 500 mg/kg~2,000 mg/kg 단회 복강 주사시 Table 9에서와 같이 관찰한 6가지의 모든 행동에 있어서 대조군과 사이에 차이를 보이지 않았으며 특히 중추신경의 억제제를 추측할 수 있는 “잡자기”와 “앉아있기” 행동 또는 중추신경흥분을 추정할 수 있는 “걸기” “뒷발로 서기” 등의 행동에도 차이를 나타내지 않았다.

한편 생쥐에서의 Pentobarbital 유도 수면시간에 있

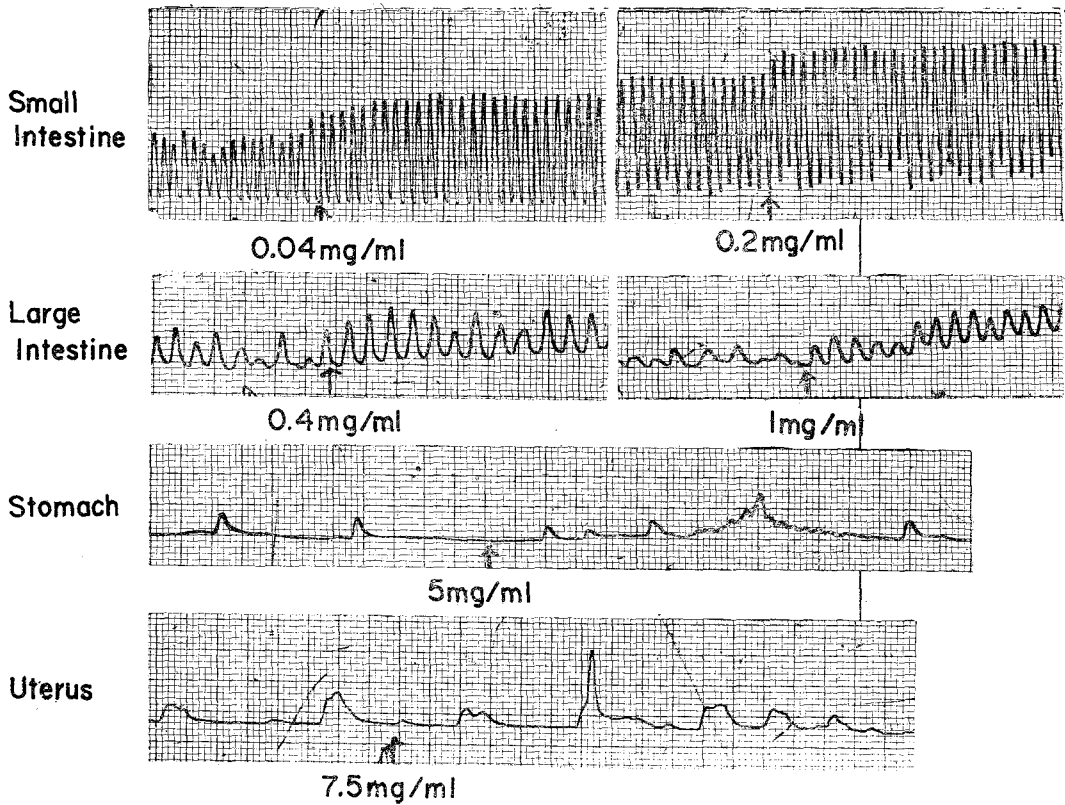


Fig. 2. Effect of Cefoperazone on the autonomic movement of isolated smooth muscle preparations.

어서도 Table 10에서와 같이 대조군의 5.29시간에 비하여 cefoperazone 125~500 mg/kg 단회 복강주사는 수면시간의 유의한 증가나 감소를 보이지 않았으며 1,000 및 2,000 mg/kg의 높은 용량 투여동물에서 수면시간이 약간 증가된 양상을 보였으나 전혀 통계적 유의성은 없었다.

가토에서의 cefoperazone 단회 정맥주사(250~2,000 mg/kg)로 대조군은 39~40°C와 비교하여 유의한 변화를 보이지 못하였다.

이상에서와 같이 단회 복강 또는 정맥주사한 cefoperazone(125~2,000 mg/kg)은 흰쥐, 생쥐 및 가토에서 중추신경계의 기능에 대하여 흥분 또는 억제적으로 작용하지는 않을 것으로 사료하였다.

(2) 호흡 및 순환계 : 가토에 125~2,000 mg/kg를 단회 정맥 주사한 후 3시간에 걸쳐 호흡수, 혈압, 심박동수 및 심전도를 관찰하였다.

Table 11에서처럼 호흡수는 모든 투여 용량에서 주사전에 비해 3~17%정도 증가하는 양상을 보이고 있다. 그러나 이때의 증가는 크게 유의할 정도도 못 될

뿐만아니라 투여 용량에 비례하지도 않는 점으로 볼 때 cefoperazone의 특이적인 효과라기 보다는 약간 hypertonic하고 acidic한 cefoperazone 용액의 주사 자체에 의한 비특이적인 자극 때문인 것으로 사료하였다.

한편 혈압의 경우도 낮은 농도에서는 주사전후에 차이를 보이지 않으며 단 2,000 mg/kg 투여시 주사전 130/113 mmHg에서 125/107 mmHg로 약간 저하된 결과를 보였다.

심박동수에 있어서도 1,000 mg/kg 및 2,000 mg/kg의 높은 용량 투여시 주사전에 비해 약간의 감소 경향을 보이기는 하나 전체적으로는 유의한 차이라 인정할 수 없었으며 심전도 또한 모든 투여 용량에서 의미있는 변화라 할 수 있는 소견은 보이지 않았다.

(3) 자율신경 및 평활근 : 가토의 적출 소장, 대장, 위장 및 자궁편의 자율운동에 대한 cefoperazone의 영향을 in vitro에서 관찰하였다.

Fig. 2에서와 같이 소장의 경우에는 40 µg/ml의 농도에서도 어느정도 자율운동의 증가를 관찰할 수 있었으며 0.2 mg/ml 이상 농도에서는 자율운동 및 평활근

Table 11. Respiration rate, blood pressure and heart rate of rabbit after single in travenous injection of cefoperazone (Mean of 3 Exp.)

Cefoperazone (mg/kg)	Respiration Rate (per min.)				Blood Pressure(syst./diast. mmHg)				Heart Rate(per min.)			
	Before	1hr.	2hr.	3hr.	Before	1hr.	2hr.	3hr.	Before	1hr.	2hr.	3hr
Control	36	36	36	37	132/115	133/115	132/113	132/113	232	233	232	232
125	36	37	38	39	143/130	145/132	145/132	144/131	240	240	242	242
250	30	34	33	33	135/118	135/117	133/115	133/115	226	226	227	227
500	35	39	37	39	137/122	137/122	138/124	137/123	240	238	238	240
1000	23	25	24	27	139/125	138/122	138/122	138/122	214	213	213	210
2000	38	40	42	39	130/113	128/110	128/110	125/107	240	236	234	234

의 긴장도도 증가하였다.

대장편에 있어서는 0.4 mg/ml에서 부터 자율운동의 진폭 및 긴장도의 증가를 보였으며 1 mg/ml 이상에서는 비교적 현저한 증가를 나타내었다.

한편 위장근편에 있어서는 장관 평활근에서 보이는 바와 같은 비교적 낮은 농도에서는 운동성의 증가를 보이지 않았으나 5 mg/ml 이상에서는 자율운동이 약간 촉진되었고 자궁근에 있어서는 7.5 mg/ml의 고농도에서만 약간의 운동성의 증가가 있었다.

(4) 혈액 : 가토 적혈구 suspension의 용혈 및 전혈 응고에 대한 cefoperazone의 영향을 in vitro에서 관찰한 결과 Table 12에서와 같이 cefoperazone 1 mg/ml ~ 10 mg/ml의 농도는 가토 적혈구의 osmotic fragility에 대하여 전혀 영향을 미치지 않았다. 그러나 혈액응고에 있어서는 1~5 mg/ml 농도에서는 큰 영향을 미치지 않았으나 7.5 mg/ml 및 10 mg/ml에서는 각각 11.8%, 15.3% 전혈응고 시간을 연장시켰다.

(5) 간 및 신기능 : Cefoperazone 단회 정맥 주사후 3시간째에 가토 혈청 GOT, GPT, Bilirubin, TTT 및 BUN, Creatine 치를 측정하였던 바, Table 13에서처럼 전 측정 항목에서 cefoperazone 125~2,000 mg/kg 주사는 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다.

5) 약 안전성 검토

(1) 급성 독성 : 생쥐 (A strain, 4주) 단회 복강주사와 흰쥐 (Sprague-Dawley, 6주) 단회정맥 및 복강주사에 의한 급성독성을 주사후 1주일동안 관찰하면서 병가 분석하였다.

LD₅₀는 Table 14와 같이 생쥐 복강주사시 암 : 9.6 g/kg, 수 9.7 g/kg 이었고 흰쥐 정맥주사시 암 : 5.0 g/kg, 수 : 5.1 g/kg 였다. 그리고 흰쥐 복강주사 경우에는 암, 수에서 전부 15 g/kg 이상이였다.

주사 직후 특히 높은 용량을 투여한 경우 거의 대부분의 동물들에서 약간 고장성이고 산성인 cefoperazone의 주사 자체에 의한 자극 때문이라 여겨지는 자극증상을 보였으며 약 50%의 동물에서 경미한 자발운동성의 저하 또는 전신 경련을 보였고 2~3시간 후에는 다시 정상의 운동성을 보였다.

작은 동물의 약 80%가 주사후 12시간내에 죽었고, 죽기직전 모든 동물은 심한 호흡곤란 증상을 보였고 몇 마리에서는 심한 전신경련을 보였다. 흰쥐 정맥주사에 의한 사망동물에서는 rhinorrhea를 보인 예(2마리)도 있었다.

부검시 육안적 소견으로는 abdominal transudate intestinal hyperemia 및 정상보다는 딱딱한 느낌을 주는 장관을 보였고 특히 흰쥐 정맥주사 동물들에서는 비교적 심한 pulmonary congestion 및 edema 소견을 보였다. 조직의 현미경검사 소견으로는 전반적인 intestinal mucosal hyperplasia를 보이고 특히 임상적인 최대 투여용량(100 mg/kg)의 50~100배인 고농도의 약물 투여동물의 경우 약 10%에서 신장의 proximal tubular epithelial degeneration이 있었으며 투여용량에 관계없이 4마리에서 국소적인 liver 및 bile duct proliferation을 보였다.

주사후 24시간이 경과후에도 죽지 않은 동물은 관찰 일주일 동안 정상 상태를 유지하였으며 치사시켜 부검시 육안 및 현미경적으로 이상소견을 볼 수 없었다.

(2) 아급성 독성 : 흰쥐 암, 수, 각각에서 10마리씩을 한군으로 하여 생리식염수와 cefoperazone 0.5 gm/kg/day, 1.0 g/kg/day 및 2.0 g/kg/day 복강주사군의 4군으로 나누어 한달동안 매일 투여하면서 관찰하였다.

Cefoperazone을 투여 받은 동물은 전반적으로 운동성이 약간 저하되어 있고 2 g/kg/day 투여 동물군에서

Table 12. Effects of cefoperazone on the osmotic fragility and blood coagulation

Cefoperazone (mg/ml)	Osmotic Fragility(% of saline)		Coagulation Time*, min.
	Begin	Complete	
Control	0.46±0.01	0.36±0.01	8.5
1.0	0.45±0.02	0.34±0.02	8.7
2.5	0.47±0.02	0.35±0.01	8.6
5.0	0.44±0.02	0.35±0.03	8.9
7.5	0.45±0.03	0.36±0.01	9.5
10.0	0.45±0.03	0.36±0.02	9.8

* : Lee-White whole blood clotting time.

Table 13. Blood chemistry of rabbit following single intravenous injection of cefoperazone

Cefoperazone (mg/ml)	GOT unit*	GPT unit*	Bilirubin mg/dl	TTT unit	BUN mg/dl	Creatine mg/dl
Control	26.4	42.1	0.16	0.54	25.4	0.94
125	27.0	34.0	0.15	0.40	28.0	0.80
250	23.2	40.5	0.17	0.47	28.0	1.00
500	25.0	37.0	0.20	0.50	26.1	0.80
1000	24.1	39.7	0.18	0.48	25.5	0.95
2000	25.4	45.0	0.19	0.52	30.0	0.95

* : Sigma-Frankel unit.

Table 14. LD₅₀ of cefoperazone following single dose injection to mouse and rat

Animal	Route of Administration	Sex	LD ₅₀ g/kg	95% confidence limit
Mouse A strain 4 weeks old	Intraperitoneal	Male	9.7	10.75-8.75
		Female	9.6	10.88-8.47
Rat Sprague-Dawley 6 weeks old	Intravenous	Male	5.1	5.61-4.64
		Female	5.0	5.45-4.58
	Intraperitoneal	Male & Female	over 15	

Table 15. Serum and urinary concentration of cefoperazone in human volunteer after single intravenous injection of 1g dose

Serum		Urine	
Time, hr.	Concentration, µg/ml	Time, hr.	Concentration, µg/ml
1	89.3±15.8	1	1558.8±395.3
2	61.3±9.8	2	1296.3±478.3
4	26.6±12.1	3	968.8±250.3
6	12.3±7.4	6	482.3±175.2
8	2.3±0.7	12	47.8±32.9
12	1.8±1.3	24	9.9±6.9

주사 1~2주부터 soft stool 또는 설사를 보이는 예가 있었으며 2마리의 동물(암 0.5 g/kg 군, 수 1.0g/kg 군)이 각각 주사 1주 및 2주에 죽었을 뿐 그 외의 동물들에서는 별다른 이상 증상을 보이지는 않았다. 2g/kg/day의 고농도 투여동물에서 soft stool 또는 설사를 보이는 것은 cefoperazone의 특이적인 증상이라기 보다는 일반적으로 광범위 항생제의 장기 투여시 볼 수 있는 장관의 정상 microbial flora의 억제로 인한 결과로 인정 하였으며, 두마리의 죽은에는 즉시 부검한 결과 심한 복강출혈과 peritonitis의 육안 소견을 보인 점으로 볼 때 복강투여시의 주사에 의한 사고 때문일 것으로 판단하였다.

일일 먹이소모량 및 일주일 간격의 체중증가는 대조군에 비해 차이를 보이지 않았다. 먹이는 암, 수 공허 한마리당 하루 평균 20g 내외가 소모되었고 체중은 한 달후에 대조 및 cefoperazone 투여군에서 다같이 숫동물에서 평균 60%, 암동물에서 평균 45%의 증가를 보였다. 마지막 주사 24시간 후에 채취한 소변의 Urinalysis(Ames maltistix 사용)결과는 pH(6~7), Occult blood(-), Ketone body(-), Glucose(-), Protein(±) Bilirubin(-), Urobilinogen(±)로 암, 수 전부에서 대조 및 cefoperazone 간에 차이를 보이지 않았으며 혈액화학검사 및 hematology에 있어서도 GOT. 48.2 ± 10.5 Unit(Sigma-Frankel), GPT. 40.5 ± 8.9 Unit(Sigma-Frankel), Alkaline phosphatase 20.3 ± 4.2 Unit(King-Armstrong), Bilirubin 0.2 ± 0.03 mg%, BUN 21.4 ± 5.2 mg%, Creatine 0.9 ± 0.1 mg%, RBC 820만/mm³, WBC 8,500/mm³, Hb 15g%, Hct 48%, 감별계수: Staff 0.5%, Seg 17.5%, Eosino 2.3%, Baso 0, Lymph 79.1%, Mono 0.6%로 cefoperazone 및 대조 전부에서 정상치를 보였다.

부검시 육안소견으로는 1gm/kg 및 2gm/kg 투여 동물군에서 중등도의 대장확장 및 복막출혈을 보였다. 대장확장은 광범위 항생제 투여시 장관내 정상 microbial flora의 억제에 의한 일반적 소견으로 인정하였으며 복막출혈 증상은 고장성이고 약산성인 cefoperazone 용액의 장기간 복막 주사로 인한 자극증상의 소견인 것으로 보였다. 현미경 조직검사에서는 급성독성실험에서 보였던 바와 같이 신장의 proximal tubular epithelial degeneration이 있었는데 1g/kg 군에서 암수 각각에서 10마리중 2마리 및 9마리중 2마리, 그리고 2g/kg 군에서 10마리중 3마리씩에서 보였고 그외에 암수 각 2g/kg 투여동물중 1예씩 간장의 focal necrosis를 보였으며 기타 공통적으로 보이는 특이한 소견

은 없었다. 이상의 아급성독성 실험결과중 비교적 특이한 소견은 신장의 proximal tubular epithelial degeneration이었으나 이러한 소견을 보인 동물은 최대임상투여용량인 100 mg/kg/day 보다 10~20배의 높은 용량을 투여받았던 동물로서 실제적인 임상응용에 있어서는 문제가 될 수 있는 소견은 아닐 것으로 사료하였다.

한편 역시 흰쥐에서 복강주사에 의한 독성시험을 3개월 및 6개월동안 장기간 실시한 실험결과(13)에 있어서도 2g/kg/day 이상의 높은 용량을 투여한 동물의 경우에 한하여 임상적인 소견으로 주사지후 비특이적으로 보이는 운동성의 저하, 고농도 약물의 복강주사

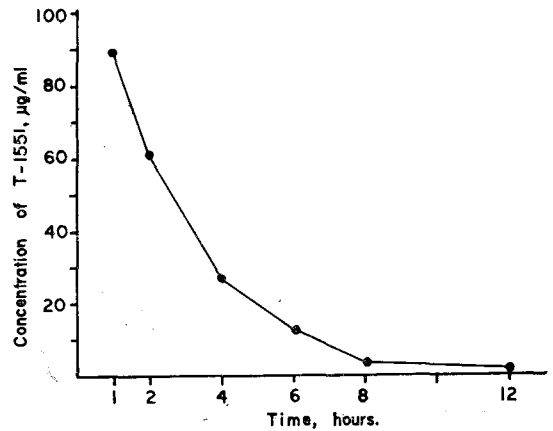


Fig. 3. Serum concentration of Cefoperazone in human volunteer following single intravenous injection of 1g dose.

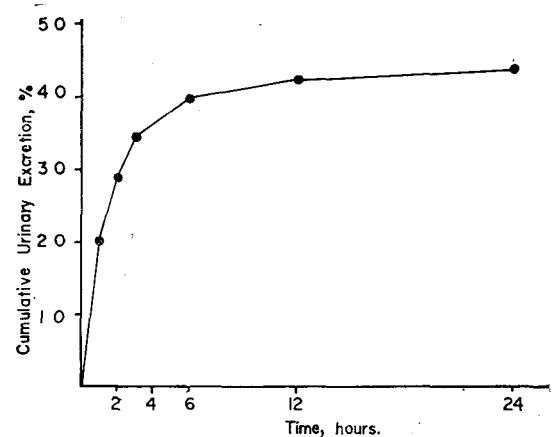


Fig. 4. Cumulative urinary excretion of Cefoperazone in human volunteer after single intravenous injection of 1g dose.

로 인한 부막자극증상, 광범위 항생약물 장기투여시의 공통적 소견인 soft stool, 설사 또는 대장확대 및 약간의 체중증가 감소를 보이는 이외에 특별한 독작용을 보이지 않았으며 또 소변검사, 혈액학 및 혈액화학 검사에서도 이상 소견을 보이지 않았다.

병리조직학적인 검사소견으로도 1개월 독성실험에서와 마찬가지로 최대임상투여용량의 20배 이상인 2g/kg/day 이상 투여 동물에서 proximal tubular epithelium의 hyaline droplet degeneration의 소견 이외에는 cefoperazone에 기인한 특별한 독작용은 보이지 않는다고 하여 임상적으로 사용하는 용량범위에서는 cefoperazone이 안전한 약물임을 시사하는 것으로 보였다.

6) 인체 약력학

8명의 건강, 성인남자 지원자를 대상으로한 일주일 간격의 cross-over study에서 cefoperazone 1g 단회 정맥주사시 혈청농도 및 배설율은 Fig. 3 과 4 및 Table 15에서와 같다. 혈청농도는 1시간째에 89.3 µg/ml에서 12시간후에도 1.8 µg/ml를 유지하였으며 생물학적 반감기($T_{1/2}$)는 108분으로 비교적 길었다. 한편 소변중의 평균 배설농도는 주사후 처음 1시간에 1558.75 µg/ml로 투여량의 20.25%가 배설되었고 24시간 동안에는 투여량의 43.05%가 배설되었다. 투약중이나, 투약후에도 지원자들 가운데 cefoperazone 주사로 인한 특이한 임상증상은 보이지 않았으며 지원자들의 cefoperazone 정맥주사에 대한 내약성은 좋았다.

결론 및 요약

Cephalosporin계 광범위 항생약물로 최근에 합성된 Cefoperazone(T-1551, Toyama Chemical Co., Japan)의 물리화학적 성상 및 안정성, 항균작용 그리고 동물 및 한정된 지원자에 대한 약력학 및 약리작용과 약물 안전성을 검토하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. Cefoperazone sodium은 수분함량 0.5%, 융점 187.2°C의 백색결정성 분말이며 10~25%수용액의 pH는 5.03~5.16이었다. 발열성물질의 존재 및 동물생체 내에서의 히스타민유리 작용은 없었고, 상용 주사용매에 쉽게 용해되며 시간경과에 따른 용액중 약물의 역가 및 형태적인 변동은 없었다. 분말상태의 Cefoperazone은 차광 밀폐용기에서 4°C로 보관시 가장 안정하고 1년 후에도 역가의 감소가 없었다.

2. 총 230주의 신선 분리한 병원성세균중 *Salmonella typhi*(MIC: $\leq 0.5 \mu\text{g/ml}$), *Streptococcus pyogenes* ($\leq 4 \mu\text{g/ml}$), *Shigella flexneri* 및 *Klebsiella pneumoniae*($\leq 8 \mu\text{g/ml}$), *Staphylococcus aureus*($\leq 16 \mu\text{g/ml}$)는 100%의 감수성을 보였고 *E. coli*(82%), *Enterobacter aerogenes*(80%), *Salmonella paratyphi*(90%)도 비교적 높은 감수성을 나타내었으며 *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* 및 *Pseudomonas aeruginosa*는 각각 60%, 55%, 및 35%의 감수성을 보였다.

3. 흰쥐에 20 mg/kg 및 50 mg/kg 단회 근육주사시 30분에 각각 7.4 µg/ml, 16.4 µg/ml의 최고 혈중농도를 나타내어 빠른 흡수속도를 보였고 투여량에 비례하여 혈중농도도 높았다. 장기분포는 신장에 가장 높은 농도를 이루고 간장, 소장, 폐장순으로 분포되었으며 신장, 간장 및 소장의 분포 농도는 같은 시간의 혈중농도를 상회하여 높은 조직 침투력을 보였다.

4. 흰쥐에 있어서 24시간동안 배설량은 소변으로 12.5~15%, 대변으로 19.6~25.0%로서 총배설량은 투여량의 31.1~40.0%에 달했으며 주배설통로는 소변보다는 대변을 통한 것이었다.

5. Equilibrium dialysis법으로 in vitro에서 측정 한 사람 혈장담백흡착율은 76.3~76.9%이었다.

6. 흰쥐, 생쥐 및 가토의 중추신경계에 대하여 별다른 이상을 초래하지 않았다.

7. 가토에 있어서 1,000~2,000 mg/kg의 고용량 투여시 약간의 호흡증가와 혈압 및 심박동수의 감소를 보였으나 유의하지는 않았으며 실전도는 이상소견을 보이지 않았다.

8. 가토의 적출 소장 및 대장근의 자율운동을 약간 증가시켰고 위장 및 자궁근에서는 낮은 농도에서는 유의한 자율운동의 변화를 보이지 않았다.

9. 가토의 적혈구 용혈작용 및 혈액화학검사 소견은 대조와 차이를 보이지 않았으며 in vitro 전혈용고 시간을 고농도(7.5~15 mg/ml)에서 약간 연장시켰다.

10. LD₅₀는 생쥐(A strain, 4주) 복강주사시 암 9.6 g/kg, 수, 9.7 g/kg, 흰쥐(Sprague-Dawley, 6주) 정맥주사시 암 5.0 g/kg, 수 5.1 g/kg이었으며 복강주사시 암, 수 다같이 15g/kg 이상이였다.

11. 흰쥐(Sprague-Dawley, 6주)에 0.5~2.0 g/kg/day 한달동안 복강주사시 2 g/kg/day의 고용량 투여 동물에 한하여 높은 약물 농도로 인한 비특이적인 자극 증상을 보였고, 일반적으로 광범위항생약물에서 공통적으로 나타나는 soft stool, 또는 설사 및 대장확장

의 소견을 보였다. 역시 2g/kg/day의 고용량투여동물에서 신장의 proximal tubular epithelial degeneration을 보였으나 이용량은 최대임상용량의 20배에 해당되므로 임상적 이용에 있어서는 문제되는 소견은 아닐 것으로 인정하였다. 먹이소모량, 체중증가, 소변검사, 혈액화학 및 혈액학적 소견은 정상과 차이를 보이지 않았다.

12. 건강성인 남자 지원자에서 1g 단회정맥주사시 1시간후의 혈중농도는 89.3 µg/ml 이었고, 12시간후에는 1.8 µg/ml 이었으며 $T_{1/2}$ 는 108분이었다. 24시간중 소변으로의 배설은 총 투여량의 43.05%이었다.

참 고 문 헌

- 1) New Drug Symposium, T-1551(Cefoperazone), *The 27th General Congress of Japan Society of Chemotherapy, Fukuoka, Japan, June 1979*
- 2) 대한약전, 제3개정. 제1.2부. 보건사회부 1976.
- 3) 항생물질약품기준, 보건사회부고시 12호 1978
- 4) Lennette, E.H., Spaulding, E.H., Traunt, J.P.: *Maunal of Clinical Microbiology, 2nd Ed., American Society for Microbiology, 1974*
- 5) John A. Washington II: *Laboratory procedure in clinical microbiology, 1st Ed., Little, Brown & Co., 1974*
- 6) 홍사악, 박찬웅, 김재훈, 홍순근, 장현갑, 김명석 : 인삼사포닌의 동물 행동에 대한 작용. 대한약리학잡지, 10.1.1974
- 7) Frankel, S., Reitman, S., Sonnenwirth, A.C.: *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Vol 1, 17th Ed., C.V. Mosby*
- 8) Litchfield, J.T., Wilcoxon, F.W.: *A simplified method of evaluating dose-effects experiments. J. Pharmacol. Exp. Therap., 96, 99, 1949*
- 9) Shimizu, K.: *Absorption, Excretion, Distribution and Metabolism of Cefoperazone. 1st International Symposium on Cefoperazone sodium(T-1551), Boston, U.S.A., 1979*
- 10) Sekine, O., Usuda, Y., Shimizu, T., Aoki, N., Hirasawa, Y., Aoki, T.: *Serum, Urine and Bile levels of Cefoperazone. 11th International Congress of Chemotherapy and 19th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy., Boston, U.S.A., 1979*
- 11) Watanabe, Y., Takashita, H., Hayashi, T., Yasuda, T., Saikawa, I., Shimizu, K.: *Studies on protein binding of Cefoperazone(T-1551). 11th International Congress of Chemotherapy and 19th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Boston, U.S.A., 1979*
- 12) Pfizer International Inc., *T-1551, Investigator Reference Manual, 1979*