

신규 플르오로퀴놀론계 항생물질인 DWP20373의 흰쥐 및 개에서의 체내동태와 조직분포

조재열* · 한승희 · 김병오 · 남권호 · 김지연 · 유은숙 · 심점순
정대영¹ · 공재양¹ · 유영호 · 이재욱 · 박명환 · 김재환
(주)대웅제약 중앙연구소, ¹한국화학연구소

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of DWP20373, a Novel Fluoroquinolone, in Rats and Beagle Dogs

Jae Youl CHO*, Seung Hee HAN, Byoung O KIM, Kweon Ho NAM, Ji Yeon KIM,
Eun Sook YOO, Jeom Soon SHIM, Dae Young JEONG¹, Jae Yang KONG¹,
Young Hyo YU, Jae Wook LEE, Myung Hwan PARK and Jae Hwan KIM

R & D center, Daewoong Pharmaceutical Co., Ltd. 223-23, Sangdaewon-Dong,
Sungnam, Kyunggi-Do 462-120, Korea

¹Pharmaceutical Screening Center, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P.O. Box 9, Yu-Sung, Taejeon 305-606, Korea

(Received April 3, 1997; accepted June 1, 1997)

Abstract – The pharmacokinetics and tissue distribution of DWP20373, a novel fluoroquinolone, were examined in rats and beagle dogs after a single intravenous and oral administration. Analysis of DWP20373 in plasma, tissue, and urine was performed by both HPLC and microbiological assay. The plasma drug concentration declined biexponentially both rats and beagle dogs. In the rats, the terminal drug elimination half-life ($t_{1/2\beta}$) was 64 min (IV) and 57 min (PO) by bioassay, and 76 min (IV) and 77 min (PO) by HPLC. Whereas, in beagle dogs, $t_{1/2\beta}$ was 196 min (IV) and 350 min (PO). The volume of distribution at steady-state ($V_{d_{ss}}$) was 811 ml/kg (bioassay) and 2061 ml/kg (HPLC) in rats, and 2738 ml/kg (bioassay) in beagle dogs. The total body clearance (Cl) of DWP20373 was 10 ml/min/kg (bioassay) and 7 ml/min/kg (HPLC) in rats, and 11 ml/min/kg (bioassay) in beagle dogs. The extent of bioavailability after oral administration was 49% (bioassay) and 67% (HPLC) in rats, and 84% (bioassay) in beagle dogs. The 24-h urinary recovery, measured by bioassay, was 2.7% after oral dosing and 5.5% after intravenous dosing in rats. Serum protein binding ratio determined at 2 μ g/ml was 78%. This drug was also distributed in tissues in the decreasing order of liver, kidney, spleen, lung, heart, and muscle determined at 30 min after oral administration.

Keywords □ DWP20373, pharmacokinetics, bioavailability, tissue distribution, urinary recovery, protein binding, rats, beagle dogs

Enoxacin, norfloxacin, perfloxacin, ciprofloxacin(CPFX) 및 sparfloxacin(SPFX)등과 같은 카르복실산계 퀴놀론 항생 물질들은 우수한 항균력과 다양한 항균범위 외에도 생체이용율(extent of bioavailability after oral)과 요배설이 높은 약 동학적 특징을 가지고 있어 전신 및 요로감염증 치료에 매우 뛰어난 효과를 보이고 있다. 그러나 이들 항생물질들은 그람음성균에는 강한 활성을 나타내고 있는 반면에 그람양성균에 대해서는 상대적으로 약한 활성을 갖고 있어, 그람

양성균에 대한 항균활성의 증가가 요구되었다(Caekenberghe 과 Pattyn, 1984; Campoli-Richards 등, 1988; Chin 등, 1991; Ito 등, 1980).

이런 문제점을 개선하고자 본 연구소에서는 모핵의 7위 치에 치환체로써 메칠치오메칠피롤리딘 및 3-아미노-4-메 칠치오메칠피로리디닐기를 도입하여 그람음성균뿐만 아니라 그람양성균에도 뛰어난 항균활성을 갖도록 하였다. 또한 임상분리균주 및 임상에서 치료에 어려움이 많은 *Bacteriodes fragilis*, *Clostridium spp.*, 및 *Fusobacterium spp.*에 속하는 여러 균종에 대한 우수한 항균력을 바탕으로 높은

* To whom correspondence should be addressed.

혈중농도 및 폐조직 분포 등의 우수성이 인정되어 이들 구조에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(Cho 등, 1995; Kim 등, 1995; Lee 등, 1994a; Lee 등, 1994b; Yu 등, 1994).

한편 저자 등은 퀴놀론의 입체효과와 전자효과 및 약제의 물리화학적 특성을 결정하는 모핵내 7번 위치에 2,7-디아자비시클로[3,3,0]옥트-4-엔-7-일기를 8번 위치에 메톡시기를 도입하여 광선조사에 대한 안정성을 증가시킨 DWP 20373(Fig. 1)을 합성하였으며, 이에 대한 *in vitro* 항균활성을 조사해 본 결과, 메칠치오메칠피롤리딘 및 3-아미노-4-메칠치오메칠피로리디닐기가 도입된 신규 항생물질들(DWQ-013, DWP20349 및 DWP20351 등)이나 CFX 및 SPFX 등과 같은 대조약물들과 비교시 동등하거나 우수한 약효를 나타냄(Kim 등, 1996)에 따라, 약동학적으로도 각 구조를 가지는 약물들간에 차이점에 대한 연구 필요성이 제기되어 이에 본 실험을 실시하였다.

실험방법

사용약물

실험에 사용한 DWP20373과 CFX는 대응제약 중앙연구소 합성연구실에서 합성된 것을 사용하였으며 순도는 99.5% 이상이었다. DWP20373은 Fig. 1에서처럼 C7위치에 2,7-디아자비시클로[3,3,0] 옥트-4-엔-7-일기를, C8위치에

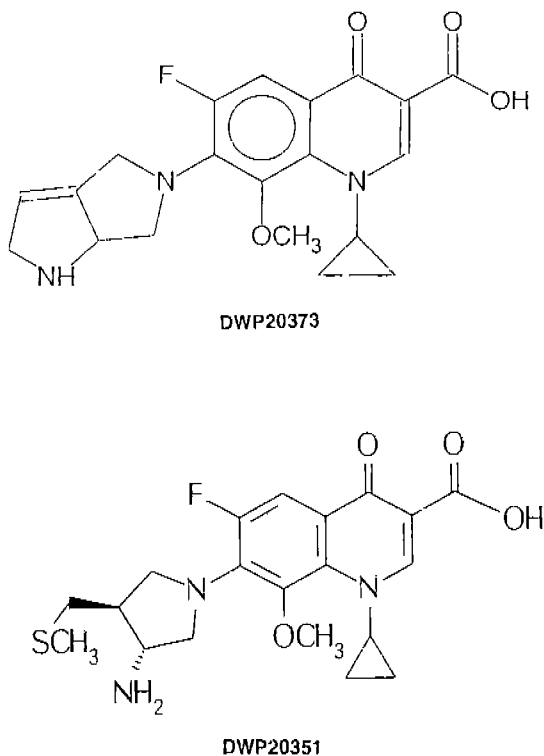


Fig. 1. Chemical structures of DWP20373 and DWP20351 (the internal standard of HPLC assay).

메톡시기를 도입한 신규 플르오로퀴놀론계 항생물질이다. 또한 HPLC 분석시 내부 표준물질로 사용된 DWP20351은 DWP20373과 달리 C7위치에 3-아미노-4-메칠치오메칠피로리디닐기가 치환된 플르오로퀴놀론계 항생물질로서 대응 제약 중앙연구소에서 합성한 것을 사용하였으며, HPLC로 분석시 순도는 99.9% 이상이었다.

실험동물

Sprague-Dawley(SD)계 5~6주령 수컷 흰쥐를 Charles River Co.(Atsugi, Japan)에서 구입하여 1주 이상 순화시켜 200~250 g(7~8주령)된 것을 사용하였다. 또한 Beagle dogs(사용시 11~13 kg)는 Hazleton(MI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 사육환경은 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 10\%$, 및 조명시간 12 시간을 유지하였으며, 사료와 물은 자유로이 섭취하도록 하였다.

약물투여 및 검체 채취

흰쥐 및 개에서의 체내 동태 연구

흰쥐에서의 체내동태 연구시 약물투여 및 채혈을 용이하게 하기 위해 에텔 마취하에 흰쥐의 대퇴동맥 및 대퇴정맥에 폴리에틸렌 튜브(PE 50, Clay Adams, Parisippany, NJ, USA)를 삽입하였다. 시험물질은 각 약물 60 mg을 정확히 취해서 5 ml의 증류수와 0.165 ml의 0.1-M NaOH용액을 넣어 완전히 용해시킨 후, 다시 최종 부피가 6 ml 되도록 조제한 약물(약 pH 9.10)을, 흰쥐가 마취에서 완전히 회복된 것을 확인하고 경구 및 정맥내에 20 mg/2 ml/kg로 각각 투여하였다. 혈액 채취는 경구투여 후 0, 5, 15, 20 및 40 분과 1, 1.5, 2, 3, 5 및 7 시간에 채혈하였으며, 정맥투여시에는 0, 1, 3, 5, 10, 15 및 30 분과 1, 2, 3, 5 및 7 시간에 약 0.2 ml씩 실시하고 100 unit/ml의 heparin을 동량 보충해 주었다. 채취한 혈액은 즉시 원심분리(12,000 rpm, 2 분)하여 혈장을 분리하고, HPLC 및 bioassay로 정량할 때까지 냉동 보관하였다.

개에서의 체내동태 연구는 동일 방법으로 조제한 약물을 10 mg/kg로 경구투여와 왼쪽 상완정맥을 이용한 정맥주사 후 실시하였다. 각 경로에 대한 채혈은 오른쪽 상완정맥에서 투여 0, 5, 15, 및 30분과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 및 24 시간에 실시하였으며 즉시 원심분리(12,000 rpm, 5 분)후 bioassay로 정량전까지 -20°C 에서 냉동 보관하였다.

요중배설연구

요중 배설 연구는 약물을 흰쥐에 20 mg/kg의 용량으로 정맥주사(경정맥에서)와 경구 투여후 대사케이지에서 실시하였다. 요는 24 시간까지 채취하여 실험에 이용하였다.

조직 분포 연구

DWP20373용액을 흰쥐에 20 mg/kg로 경구투여한 다음, 약물 투여 30 분까지 대사케이지에서 방치시킨 후 에텔 마취하에 개복하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하고 간문맥을 통해 차가운 생리 식염수를 충분히 관류시켜 조직내

혈액을 제거하였다. 계속해서 폐, 간장, 비장, 신장, 심장, 및 뇌 등의 장기를 적출하였다. 각 장기내 약물은 중량 4 배량의 0.1-M 인산완충액(pH 7.8)을 가하여 조직분쇄기 (Ultra-Turrax T25, Jankel & Kunkel, IKA Labortechnik, Stauffer, Germany)로 균질화시켜, 3000 rpm에서 10 분간 원심분리 후, 상정액을 검체로 하여 bioassay법으로 정량하였다.

혈청 단백질과의 결합성

DWP20373과 CPFX 및 SPFX에 대한 사람과 흰쥐 혈청 단백질과의 결합률을 한의 여과법을 이용하여 측정하였다 (Cho 등, 1995). 동일한 방법으로 조제된 각 약물을 PBS를 이용하여 최종 2 µg/ml의 농도(pH 7.8~8.2)로 희석하여 이 들로부터 0.1 ml를 사람 및 흰쥐 혈청 0.9 ml와 섞은 후, 천 천히 흔들어 주면서 37°C에서 1 시간 동안 배양시켰다. 다음 이틀 시료를 한의 여과기(Amicon Div., MA., USA)에 넣어 800×g로 10 분간 원심분리 하였다. 여액의 부피가 가한 혈장 총액의 20% 미만인 되도록하여 얻어진 여액을 bioassay법에 의하여 정량하고 약물량을 산출하여 다음 식에 따라서 결합률을 구하였다. 또한 각 약물은 여과기에 흡착되지 않는 것으로 확인되었다(adsorption factor=0).

$$\text{결합률}(\%) = (C - C_0) / C \times 100$$

C: 약물의 농도

C₀: 비결합 약물의 농도

약물의 농도 분석

Bioassay법에 의한 약물의 농도 분석

일부 항생물질들에서 관찰되듯, DWP20373도 그 자체 뿐 아니라 간 초회 통과 후 생성된 혈장 대사체들이 일부 항균활성을 나타낼 수 있으므로, 항생물질의 체내동태는 HPLC법 뿐 아니라 bioassay법에 의한 약물동태 평가가 병행되어야 한다. DWP20373의 혈장 중 동태 역시, 보다 정확한 평가를 위해 두 방법을 비교하여 진행하였으며 일차적으로 bioassay법을 이용하여 정량하였다. 또한 흰쥐에서 두 정량법 간에 약동학적 변수들의 큰 차이가 없는 것으로 확인하고 개에서의 체내동태 연구는 비교적 정량이 쉬운 bioassay법을 이용하여 평가하였다. 또한 흰쥐 조직에서의 약물농도 측정 한계와 조직, 혈장, 및 뇨중 약물 분포에 관한 상대적 비교를 위해 bioassay(microbiological assay)법을 실시하여 정량하였다. 각 시료내 약물의 농도는 *K. oxytoca* 01082E 를 Fleisch extract broth 배지에서 하룻밤 배양한 균액을 1:10으로 희석하고, 희석한 균주액 2 ml를 100 ml의 배지(Muller Hinton broth 2.1%, agar 1.7%)에 식균하여 large-plate agar well diffusion technique.으로 측정하였다. 검체중 약물의 농도는 동일 동물의 blank 시료에 일정량 약물을 가하여 만든 검량선에 의해 계산하였고, 장기 추출액 중의 약물농도는 0.1-M 인산완충액(pH 7.8)에 일정량 약물을 가하여 만든 검량선을 이용하여 구하였다(Cho 등,

Table I. HPLC condition of DWP20373 in plasma of rats.

Instrument	Waters HPLC system (Waters, MA, USA) Detector: Waters 484 Pump: Waters 510 Integrator: Waters 746
Column	µ-Bondapak phenyl (3.9×300 mm, 10 µm, Waters)
Mobile phase	Acetonitrile/100 mM KH ₂ PO ₄ (24/76, V/V), pH 3.0
Flow rate	1.0 ml/ min
Detector	UV detection at 290 nm
Injection volume	20 µl
Internal standard	DWP20351

1995).

HPLC법에 의한 혈장 중 약물의 정량

제단백 과정은 혈장 중 약물의 농도가 희석되는 것을 줄이기 위해 Shim 등(1993)의 방법처럼 혈장과 acetonitrile을 1:1로 처리하여 원심분리(12,000 rpm, 5 분간)를 통해 실시하고 얻어진 상정액을 검체로 하였다. 혈장내 DWP 20373의 HPLC 분석은 Table I의 방법으로 실시하였다. 또한 정확한 정량성 확보를 위해 내부 표준물질(DWP20351)을 사용하였다. 즉, 혈장으로 희석한 DWP20351(10 µl, 최종농도: 15 µg/ml)과 약물 투여군의 혈장 90 µl를 충분히 혼합하고 acetonitrile을 첨가하여 제단백 후 정량하였으며, 각 피이크간의 면적비를 이용하여 DWP20373의 혈장 중 농도를 계산하였다. 검량선의 작성은 DWP20373 용액(20 mg/100 ml)을 단계적으로 희석하여 blank 혈장에 첨가후 이중 90 µl와 10 µl의 DWP20351(최종농도: 15 µg/ml)을 충분히 혼합후 시료조제 과정과 동일 조건에서 제단백 및 HPLC정량하였다. 이때 각 검량선의 농도는 25, 5, 2.5, 0.5, 및 0.25 µg/ml로 하였다(회수율=95% 이상).

데이터의 해석

혈장 중 DWP20373의 농도-시간 데이터를 regression 프로그램인 RSTRIP으로 fitting해서 약물속도정수(half-life at terminal elimination phase(t_{1/2β}), AUC, area under the first moment curve(AUMC), T_{max} 및 C_{max})를 구하였으며, 이들 결과를 바탕으로 volume of distribution at steady state(Vd_{ss}), mean residence time(MRT) 및 total clearance(Cl_t)를 아래식과 같이 계산하였다. 또한 CPFX를 포함한 대부분의 플로로퀴놀론계 약물들은 dose-independent한 linear kinetics를 보여줌에 따라 아래와 같은 계산식을 이용하여 생체이용율(BA)을 구하였다(Nix 등, 1992; Weidekamm 등, 1987).

$$Vd_{ss} = (D \times AUMC) / (AUC)^2 \quad (D: \text{투여량})$$

$$Cl_t = D / AUC \quad (D: \text{투여량})$$

$$MRT = (AUMC_{i.v.} / AUC_{i.v.})$$

$$BA(\%) = (AUC_{p.o.} / AUC_{i.v.}) \times 100$$

통계분석

모든 실험값은 평균±표준오차로 표시하였으며, 실험결과에는 Student's t-test를 이용하여 p<0.05인 것을 유의성있는 결과로 판정하였다.

결 과

Bioassay법

HPLC분석에 의한 조직내 약물정량은 조직내 방해피크로 인해 정확한 약물분석이 어려웠으며, 또한 일부장기에서는 약물의 정량 범위를 넘어섰기에 조직에서의 약물분석은 bioassay법을 이용하였다. 또한 HPLC에 의한 혈장내 동태와 비교하기 위해 동일 조건에서 bioassay 법을 동시 병행하여 그 결과를 비교하였다. 그러나 bioassay법에 의한 약물의 정량은 실제 존재할 수 있는 조직내 대사체에 의한 약효를 포함하므로 정확한 약물의 농도를 반영하는데 한계가 있다. 따라서 구하여진 약물의 농도는 equivalent한 *K. oxytoca*에 항균력을 가지는 물질의 농도로 나타났다. 한편 뇨 중 각 약물의 정량 역시 상대적인 분포비를 확인하기 위해 조직분포 실험과 동일하게 bioassay법으로 정량분석하였다. 조직, 요중 및 단백 결합물에 대한 DWP20373의 bioassay법에 의한 검량선은 각 표준 농도 범위(1~250 µg/ml)에서 높은 상관성을 보였으며 r²값은 각각 0.98이상이었다. Bioassay에서 일내 및 일간 변동계수는 다소 차이를 보였으나 10%를 넘기지 않았다.

HPLC법

혈장 DWP20373 농도분석에 대한 HPLC 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. 크로마토그램에서 보듯이 흰쥐 혈장시료에서의 DWP20373은 본 실험에서 사용한 HPLC 정량조건에서 혈장내 방해물질들과 DWP20351이 잘 분리되었고, 유지시간은 8.6 분이었다. 이와같은 결과는 0.1-N NaOH에서의 각 표준물질 및 blank혈장에 첨가한 시료의 정량 결과와 일치되는 것으로 보아 시료내 방해물질과의 상호작용은 없는 것으로 생각되며, 또한 단백질의 불충분한 제거시 나타날 수 있는 피크 유지시간의 변화는 관찰되지 않았다. 각 약물에 대해 분리된 피크 면적간의 검량선은 0.25 µg/ml에서 50 µg/ml의 범위에서 높은 상관성을 보여 r²값은 0.9995이었다. HPLC정량에 있어서 각 약물에 대한 일내 및 일간 변동계수는 3%를 넘기지 않았다.

흰쥐 혈장 중 약물농도 추이

Bioassay 및 HPLC 분석에 의한 흰쥐와 개에서의 정맥 및 경구투여(20 mg/kg)시 DWP20373의 혈장농도-시간 곡선과 속도론 파라미터를 Fig. 3, 4와 Table II, III 및 IV에 나타내었다. 각 결과는 약물동태 프로그램인 RSTRIP을 이용하여 biexponential elimination 모델로 fitting해서 여러 속도정수(AUC, AUMC, t_{1/2β}, C_{max} 및 T_{max})를 구하였으며, 이때 흰쥐에서의 r²값은 bioassay 결과가 0.96이상, HPLC정량 결과들이 0.98이상이었으며, 개에서의 값은 0.99이상이었다. 또한 이들 결과를 바탕으로 Vd_{ss}, Cl_t 및 BA를 계산하였다. 흰쥐에서 bioassay에 의해 구하여진 DWP20373의 겉보기 소실상의 반감기(t_{1/2β})는 정맥주사시 64±9분 과 경구투여시 57±8 분이었으며, HPLC에 의해서는 정맥주사시 69±16분

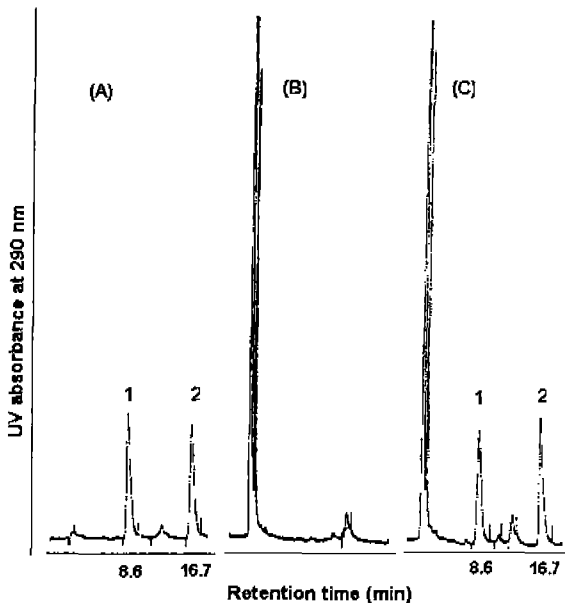


Fig. 2. HPLC chromatograms of DWP20373 in rat plasma. (A) DWP20373 in NaOH solution (B) Blank plasma (C) DWP20373 in plasma sample
1: DWP20373 2: DWP20351 (Internal standard)

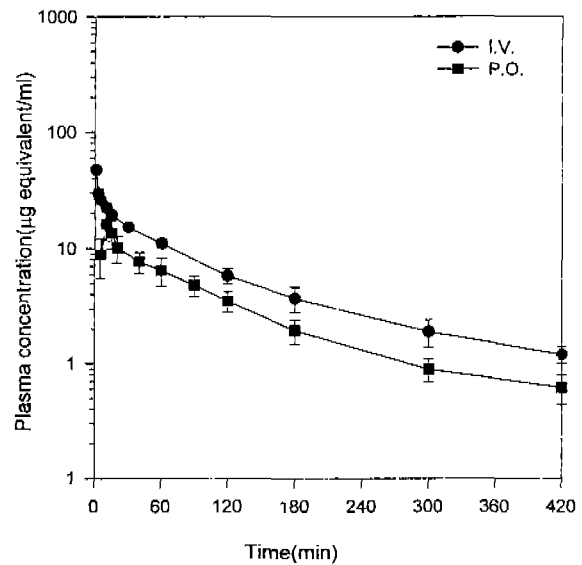


Fig. 3. Plasma concentration-time curves of DWP20373 in rats after oral and intravenous dosing of 20 mg/kg, determined by bioassay. Each data represents the mean±S.E. of 4 rats.

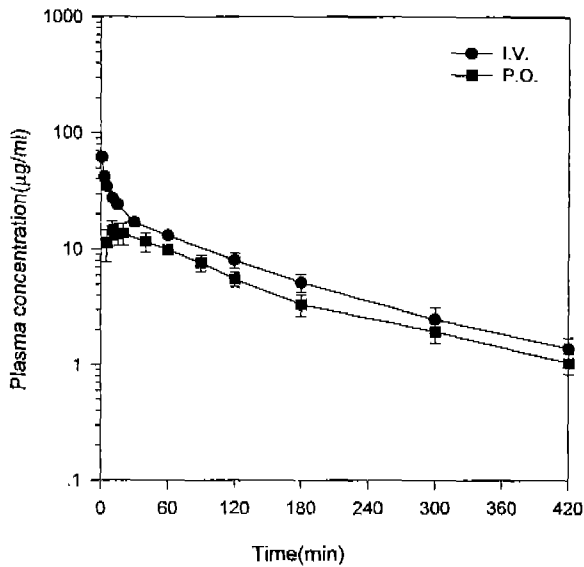


Fig. 4. Plasma concentration-time curves of DWP20373 in rats after oral and intravenous dosing of 20 mg/kg, determined by HPLC. Each data represents the mean \pm S.E. of 4 rats.

Table II. Pharmacokinetic parameters of DWP20373 after intravenous and oral dosing of 20 mg/kg in rats, determined by bioassay and HPLC

Parameters	Bioassay		HPLC	
	I.V.	P.O.	I.V.	P.O.
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$)	2159 \pm 269	1000 \pm 107	2895 \pm 423	1875 \pm 278* 77 \pm 27
$T_{1/2\beta}$ (min)	64 \pm 9	57 \pm 8	76 \pm 16	
MRT (min) ^a	88 \pm 13		103 \pm 23	16 \pm 3
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		16 \pm 2		28 \pm 11
T_{max} (min)		11 \pm 3		
$V_{d_{ss}}$ (ml/kg)	811 \pm 69		2061 \pm 154	
Cl_r (ml/min/kg)	10 \pm 1		7 \pm 1	67 \pm 11
BA (%) ^b		49 \pm 9		

Data represent the mean \pm S.E. of 4 rats. ^aMRT: Mean residence time. ^bBA: Extent of bioavailability. * $p < 0.05$ compared to bioassay.

과 77 \pm 27 분으로 서로 차이를 보이지 않았다. 한편 개에서의 경우 정맥주사는 196 \pm 6 분이었고 경구투여시에는 350 \pm 267 분으로 서로 유의적 차이는 없었으나 흰쥐와는 약 3배정도 길게 나타났다. 이와같은 차이는 평균잔류시간에서도 확인할 수 있었는데, 흰쥐에서 bioassay에 의한 경우 88 \pm 13 분과 HPLC법에서는 103 \pm 23 분으로 유의적인 차이가 없었으나 개에서는 251 \pm 8 분으로 약 2.5배에서 3배 가량 증가하였다. 흰쥐에서 경구투여시 혈중 최고농도 (C_{max})는 16 \pm 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (bioassay) 및 16 \pm 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (HPLC)이었으며, 개에서는 5 \pm 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. 흰쥐에서 DWP 20373의 혈장농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 bioassay의 경

Table III. Pharmacokinetic parameters of DWP20373 after intravenous and oral dosing of 10 mg/kg in beagle dogs, determined by bioassay

Parameters	DWP20373	
	I.V.	P.O.
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$)	1850 \pm 269	1537 \pm 20
$T_{1/2\beta}$ (min)	196 \pm 6	350 \pm 267
MRT (min) ^a	251 \pm 8	
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		5 \pm 1
T_{max} (min)		31 \pm 25
$V_{d_{ss}}$ (ml/kg)	2739 \pm 312	
Cl_r (ml/min/kg)	11 \pm 2	
BA (%) ^b		84 \pm 13

Data represent the mean \pm S.D. of 2 dogs. ^aMRT: Mean residence time. ^bBA: Extent of bioavailability.

Table IV. Urinary recovery (%) of DWP20373 and CPFX after intravenous and oral dosing of 20 mg/kg for 24 hours in rats, determined by bioassay

Compounds	Urinary recovery (%)	
	I.V.	P.O.
DWP20373	5.5 \pm 1.1*	2.7 \pm 2.8*
CPFX	25.6 \pm 8.8	18.1 \pm 6.4

Data represent the mean \pm S.E. of 3 rats. * $p < 0.05$ compared to the same route of CPFX.

우 2159 \pm 269 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$ (정맥주사)와 1000 \pm 107 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$ (경구투여)이었으며, HPLC법에서는 2895 \pm 423 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$ (정맥주사)와 1871 \pm 278 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$ (경구투여)이었다. 개에서의 AUC는 1850 \pm 296 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$ (정맥주사)와 1537 \pm 20 $\mu\text{g} \cdot \text{min}/\text{ml}$ (경구투여)이었다. 한편 이들 값을 토대로 계산된 생체이용률은 흰쥐에서 50%(bioassay) 및 67%(HPLC)로 서로 큰 차이를 보이지 않았으며, 개에서는 약 84%로 흰쥐보다 25%정도 높은 값이 얻어졌다. 두 약물의 전신클리어런스(Cl_r)는 흰쥐에서 bioassay와 HPLC가 거의 유사하여 10 ml/min/kg과 7 ml/min/kg이었으며 개에서도 11 \pm 2 ml/min/kg로 흰쥐와 큰 차이를 보이지 않았다. 흰쥐 정상상태에서의 분포용적($V_{d_{ss}}$)은 811 \pm 69 ml/kg(bioassay), 2061 \pm 154 ml/kg(HPLC)으로 나타났다. 또한 개에서의 분포용적은 흰쥐 HPLC결과와 유사하여 2739 \pm 312 ml/kg이었다.

흰쥐 요중회수율

Table IV에서 보여지 듯 bioassay에 의해 확인된 DWP 20373의 요중회수율은 정맥주사와 경구투여 모두에서 약 5%에서 2% 이하로서 CPFX보다 낮았으며 HPLC 분석시에도 거의 검출되지 않았다(데이터는 나타내지 않았음). 따라서 DWP20373의 요중배설은 그 자체로서는 이루어지지 않는 것으로 사료되며, 대부분 비항균활성 형태의 대사체로 배설되는 것으로 판단된다. 그러나 이들 대사체들 중 어떤 구조가 항균활성을 갖는지는 더욱 연구되어야 하겠다.

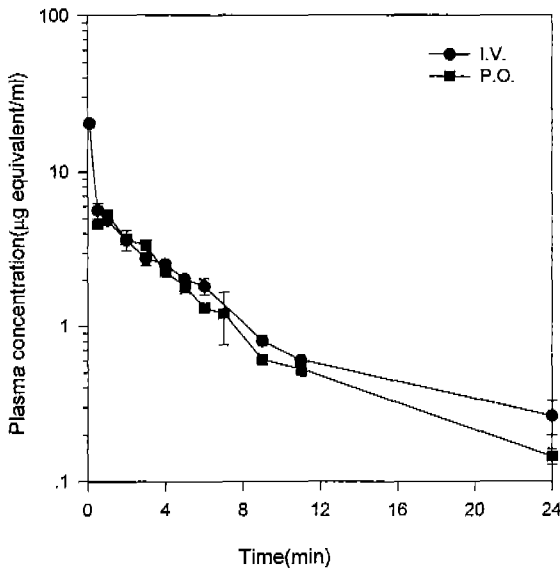


Fig. 5. Plasma concentration-time curves of DWP20373 in beagle dogs after oral and intravenous dosing of 20 mg/kg, determined by bioassay. Each data represents the mean \pm S.D. of 2 dogs.

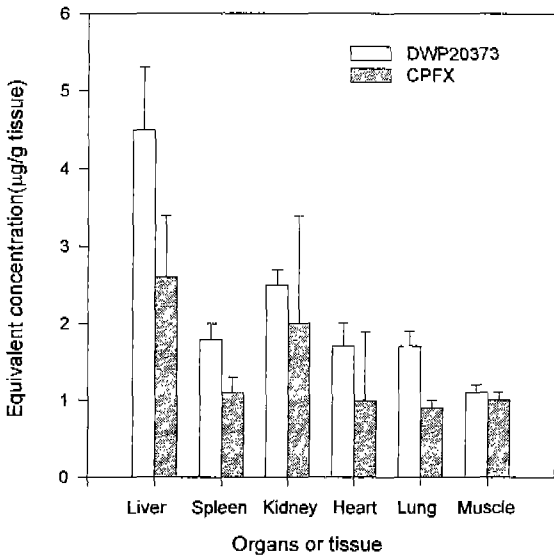


Fig. 6. Tissue concentration of CPFEX and DWP20373 in rats after 30 min following an oral dosing of 20 mg/kg, determined by bioassay. Each data represents the mean \pm S.E. of 3 rats. * $P < 0.05$ compared to CPFEX.

한편 이와같은 결과는 대부분 쿨론계 약물과 달리 본 약물은 요로감염증 치료제로서 큰 장점이 없을 것으로 보인다.

조직 중 분포

흰쥐에서 bioassay에 의해 정량된 DWP20373의 각 장기 중 분포를 Fig. 6에 나타내었다. 경구로 20 mg/kg투여 30분 후, 장기중의 농도분포는 DWP20373의 경우 간장(4.5 ± 0.8

Table V. Binding ratios (%) of DWP20373 and CPFEX to rats and human serum

Compounds	Protein binding (%)	
	Rat	Human
DWP20373	78.7 \pm 0.6	76.4 \pm 0.5
CPFEX	33.4 \pm 6.8	26.1 \pm 1.1

Data represent the mean \pm S.E. of 4 observations.

$\mu\text{g/g}$)>신장($2.4 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$)>비장($1.8 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$) 및 폐($1.8 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$)>심장($1.7 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$)>근육($1.1 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$) 순으로 높았으며 뇌에서는 검출되지 않았다.

혈청단백과의 결합성

사람 및 흰쥐 혈청단백에 대한 결합률을 Table V에 나타내었다. 2 $\mu\text{g/ml}$ 에서의 단백질결합률은 DWP20373이 약 78%로 거의 유사했으며, CPFEX는 33%와 26%로 다소 차이를 보였으나 유의적인 차이는 없었으며, SPFX는 24%에서 26%였다.

고 찰

DWP20373에 관한 흰쥐 및 개에서의 체내동태, 요중배설, 조직분포, 및 단백질결합률을 HPLC법 또는 bioassay법을 이용하여 비교 연구하였다.

흰쥐 혈장에서 bioassay법과 HPLC법으로 비교한 DWP20373의 약물동태는 통계적으로 볼 때 AUC_{iv} , $T_{1/2}$, MRT, C_{max} , Cl , 및 T_{max} 등의 약동학적 파라메타에서 거의 유사한 것으로 나타났으며 생체이용률에 있어서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 AUC_{po} 의 경우 두 정량법 간에 다소 유의적인 결과가 나타났는데, 이것은 두 방법간에 저농도에서의 정량한계 차이(약 4배 정도)에서 기인된 것으로 판단된다. 따라서 전체적인 결과로 볼 때 DWP20373의 혈장내 대사형은 체내 약효에는 큰 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 개에서의 DWP20373의 체내동태 역시 흰쥐와 큰 차이를 보이지 않았으나, $T_{1/2}$, MRT 및 V_{dss} 등은 다소 늘어나거나 증가되었다. 또한 흰쥐와 달리, 개에서의 경구투여시 혈장농도는 정맥주사시 혈장농도와 거의 비슷한 농도를 나타냈으며 이에 따른 생체이용률도 흰쥐에 비해 25%정도 증가된 것으로 나타났다. DWP20373의 개에서의 약동학적 특징들은 대부분의 약물들이 보이는 중동물에서의 약동학적 경향과 거의 일치하는 것으로 나타났으며, CPFEX를 정맥주사한 후 얻어진 $T_{1/2}$ 와 V_{dss} 등과도 거의 유사하였다(Abadia 등, 1994; Ontay 등, 1984)

DWP20373의 체내동태를 CPFEX와 비교해보면 AUC에서는 조 등(1995)이 보고한 경구투여시 CPFEX의 AUC에 비해 4배 정도 이상 높게 유지되었으며 또한 폐렴유발균과 여러 MRSA균주들에 대한 *in vitro* MIC값(0.025~0.049

µg/ml)보다 2 배에서 5 배 높은 농도인 0.2 µg/ml 이상의 농도가 420분 이상 지속되었다(Kim 등, 1996). C_{max} 도 여러 임상분리균주에 대한 MIC값보다 최고 100배 이상의 농도를 나타내었다(Kim 등, 1996). 이것은 *in vitro* MIC를 초과하는 혈중농도 유지시간과 *in vivo* 항균효과의 비례성(Choi, 1993)으로 볼 때, 이들 두 약물은 매우 긴시간까지 혈중 약효를 유지할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 C7위치에 메칠치오메칠피로리딘기가 도입된 DWQ-013(Cho 등, 1995)이나 DWP20349 및 DWP20351(Cho 등, 1996)보다는 다소 낮게 유지되는 것으로 보아 혈중약물농도 유지에 있어서는 C7위치의 diazabicyclo기는 CPFX 등이 가지는 피페라진기보다는 우수하나, 메칠치오메칠피로리딘기보다는 다소 떨어지는 것으로 판단된다.

요중회수율은 5% 이하로써 매우 낮았으나 DWP20349와 DWP20351보다는 다소 높은 것으로 나타났다. 그러나 이와같은 결과는 혈장대사형처럼 약물의 배설 형태는 항균활성이 적은 대사체 형태이거나 배설되지 않고 신장이나 타 장기 등에 축적될 가능성이 있는 것으로 생각할 수 있다. 더우기 이러한 결과는 낮은 클리어런스 값과도 일치되는 결과이다. 그러나 체내 축적 등의 여부는 24 시간이나 48 시간에서의 장기분포 및 연용투여 후의 조직내 분포특성을 확인해봄으로써 자세히 알 수 있을 것으로 판단된다.

30분에서의 조직내 약물의 분포는 CPFX와 비교시 큰 차이를 보이지 않았으며 DWP20373의 30분에서의 혈장농도(12 µg/ml)를 이용한 tissue to plasma ratio (T/P ratio)로 비교시에도, 대부분의 장기가 1 이하의 비율을 나타냈다. 그러나 시간이 경과되면서 비율은 달라질 수 있으며 따라서 약물의 조직친화력은 시간에 따른 장기 및 조직 분포연구를 통해 더욱 연구되어야 하겠다.

이와같은 결과를 종합하여 보면 DWP20373의 체내동태 및 조직분포는 전반적으로 CPFX보다는 우수하지만 DWP20349 및 DWP20351 등보다는 다소 떨어지는 것으로 나타났다. 그러나 DWP20373이 가지는 C7위치의 diazabicyclo기와 다른 항생물질이 가지는 피페라진기 및 메칠치오메칠피로리딘기 간의 약동학적 차이는 유사 구조를 가지는 몇몇 약물들에 대한 약물동태 연구가 추가되어야 확인될 수 있을 것으로 생각된다. 아울러 diazabicyclo기를 가지면서 모핵내 C7외의 탄소위치에 대한 functional group의 도입영향에 대한 연구도 함께 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- Abadia, A. R., Aramayona, J. J., Munoz, M. J., Pla Delfina, J. M., Saez, M. P. and Bregante, M. A. (1994). Disposition of ciprofloxacin following intravenous administration in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **17**, 385-388.
- Caekenberghe, D. L. and Pattyn, S. (1984). *In vitro* activity of ciprofloxacin compared with those of other new fluorinated piperazinyl-substituted quinolone derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 518-522.
- Campoli-Richards, D. M., Monk, J. P., Benfield, A. P. P., Todd, P. A. and Ward, A. (1988). Ciprofloxacin, a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* **35**, 373-379.
- Chin, N. and Neu, H. C. (1991). Ciprofloxacin, a quinolone carboxylic acid compound active against aerobic and anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 319-321.
- Cho, J. Y., Nam, K. H., Kim, D. O., Lee, J. W., Park, N. J., Kang, Y. S., Yu, Y. H. and Lee, J. W. (1995). Pharmacokinetic study on DWQ-013, a new quinolone, in rats and mice. *Yakhak Hoeji* **39**, 223-230.
- Cho, J. Y., Nam, K. H., Yoo, E. S., Yu, Y. H., Lee, J. W. and Park, M. H. (1996). Pharmacokinetics and tissue distribution of DWP20349 and DWP20351, New Quinolones having 3-amino-4-methylthiomethyl pyrrolidinyl group on C7, in rats. *Yakhak Hoeji* submitted.
- Choi, K. E. (1993). Pharmacokinetic parameters and their clinical significances in the new drug development. *Kor. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **1**, 212-216.
- Ito, A., Hirai, K., Inoue, M., Koga, H., Suzue, S., Irikura, T. and Misuhashi, S. (1980). *In vitro* antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob. Agents Chemother.* **77**, 103-107.
- Kim, B. O., Choi, M. J., Han, S. H., Kim, J. Y., Shim, J. S., Park, N. J., Son, H. J., Lee, J. W., Yu, Y. H. and Park, M. H. (1995). Evaluation of *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of DWQ-217, a fluorquinolone. *Yakhak Hoeji* **39**, 351-359.
- Kim, J. Y., Choi, M. J., Han, S. H., Kim, B. O., Shim, J. S., Jung, Y. E., Lee, J. W., Yu, Y. H. and Park, M. H. (1996). Evaluation of *in vitro* antibacterial activity of DWP20373, a novel fluoroquinolone. *Yakhak Hoeji* **40**, 357-368.
- Lee, J. W., Kang, T. C., Lee, K. S., Son, H. J., Yoon, G. J., Yu, Y. H. and Kim, D. Y. (1994a). Synthesis and antimicrobial activity of 7-[(3-methylthio or 3-methylthiomethyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic acid. *Yakhak Hoeji* **38**, 197-201.
- Lee, J. W., Son, H. J., Lee, K. S., Yu, Y. H. and Yoon, G. J. (1994b). Synthesis and antimicrobial activity of 7-[3-hydroxy-(4-methylthio or 3-methylthiomethyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic acid. *Yakhak Hoeji* **38**, 677-682.
- Nix, D. E., Spivey, J. M., Norman, A. and Schentag, J. J. (1992). Dose-ranging pharmacokinetic study of ciprofloxacin after 200-, 300-, and 400-mg intravenous doses. *Ann. Pharmacother.* **26**, 8-13.
- Ontay, G., Goueffon, Y. and Roquet, F. M. (1984). Absorption, distribution, metabolic fate, and elimination of pefloxacin mesylate in mice, rats, dogs, monkeys, and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 463-472.
- Shim, C. K., Choi, E. J., Lee, S. W., Kim, D. O., Park, N. J., Kang, Y. S. and Yu, Y. H. (1993). Pharmacokinetic study on DWQ-715, a new cephalosporin, in rats and mice. *J. Applied Pharmacol.* **2**, 204-210.

Weidekamm, E., Portmann, R., Suter, K., Partos, C., Dell, D. and Lucker, P. W. (1987). Single- and multiple-dose pharmacokinetics of fleroxacin, a trifluorinated quinolone, in humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* **3**, 1909-1913.

Yu, Y. H., Park, N. J., Kim, B. O., Choi, M. J., Shim, J. S., Kang, T. C., Lee, J. W. and Kim, D. Y. (1994). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of the new quinolone, DWQ-013. *Yakhak Hoeji* **38**, 265-273.