

한국재래산양에서 Enrofloxacin의 혈청내 항균효과와 체내동태

윤효인 · 김무열* · 박승춘

충남대학교 수의과대학 약리독성학교실
(주)대성미생물부설연구소*
(1997년 3월 11일 접수)

Serum bactericidal activity and disposition kinetics of enrofloxacin in Korean native goats

Hyo-in Yun · Moo-youil Kim* · Seung-chun Park*

*Department of Veterinary Pharmacology & Toxicology, College of Veterinary Medicine,
Chungnam National University
Research Lab, Dae Sung Microbiologicals, Co., Ltd.*
(Received Mar 11, 1997)*

Abstract : Enrofloxacin is one of the second-generation quinolones which have been widely used to treat bacterial infections in various species including chicken, pig, horse and cattle. The objective of the present study was to describe the serum bactericidal activity(SBA) of enrofloxacin, its pharmacokinetic behaviors after intramuscular or intravenous administration to Korean native goats in the dose rate of 5 mg/kg b.w. The results obtained through this study were as follows:

1. Sera collected from both sexes of Korean native goats administered 5mg/kg i.v. or i.m. showed potent antibacterial activities up to the 12 hours by way of the serum bactericidal activity.

2. Concentrations of enrofloxacin in the biological samples were measured by high-performance liquid chromatography(HPLC) so as to study pharmacokinetic characteristics. For detection of enrofloxacin, 10% TCA was optimal for protein precipitation and the mobile phase was 0.01M citric acid/methanol/acetonitrile(7/2/1, pH 3.5) with solid phase being the C₁₈ reverse-phase column and detection wavelength being 278nm. The limit of detection of enrofloxacin on HPLC was 0.05 µg/ml.

3. Pharmacokinetic profile of enrofloxacin administered 5mg/kg i.v. in Korean native goats was best described by two-compartment open model and that administered i.m. the same rate by one-compartment model. There were no sex differences in pharmacokinetic parameters.

In conclusion, enrofloxacin showed potent *in vivo* antibacterial activity and excellent pharmacokinetic properties in Korean native goats, hence it may be used as a potential antibacterial in the veterinary clinical settings.

Key words : enrofloxacin, Korean native goat, pharmacokinetics, serum bactericidal activity.

서 론

약물요법의 궁극적인 목적은 환축의 임상적인 치료 효과를 획득하는 것으로 약물투여 후 체내 약물 작용지점에서 해당 약물의 농도가 효과를 발휘할 수 있는 유효농도로 충분한 시간동안 유지되어야 한다¹. 약물 작용지점에서의 약물의 농도는 동물의 종차에 따라 약물의 흡수, 분포, 대사 및 배설에 대한 약물동태학의 차이로 인하여²⁻⁵ 크게 달라진다. 약물의 흡수와 분포는 약물작용지점 부위의 농도에 직접적인 영향을 주며, 대사 및 배설은 체내 약물농도를 저하시켜 지속시간을 단축시킨다⁶. 그러나 대부분의 약물이 동물종에 따라 생체내 운명이 다름에도 불구하고 그 약리작용을 나타내는 약물농도는 거의 일정하다. 특히 항균물질은 일정농도(minimal inhibitory concentration; MIC) 이상에서 항균력을 나타내기 때문에⁷ 항균요법의 성공을 위해서는 생체내에서 일정수준 이상의 농도가 적절한 시간동안 유지되어야 한다. 그러므로 치료대상이 되는 축종에서 항균물질의 약물동태학적 지식이 필요한 이유는 여기에 있다고 생각된다. 수의요법의 대상이 되는 동물은 크게 보아 초식성 또는 잡식성 가축으로서 섭취하는 사료에 따라 약물의 생체내에서의 지속정도는 현저한 차이를 나타내며, 종차에 따라 약물용법 용량은 다르게 설정되어야 한다⁸. 한국재래산양은 우리나라 토양에서 서식되어온 초식동물로서 최근 그 사육두수가 증대되고 있다⁹. 이에 따라 세균성 질환에 대한 대책 또한 한국재래산양 사육에 주요한 문제로 대두되고 있다.

Enrofloxacin은 세균 DNA의 supercoiling을 조절하는 DNA-gyrase를 억제함으로써 살균작용을 나타내는 동물전용 퀴놀론계 합성항균물질이다^{10,11}. 이 항균물질은 그람양성균, 그람음성균 및 마이코플라스마속 등 동물감염 원인균에 대한 광범위한 항균효과를 가지고 있으면서도 높은 항균력을 나타내고 있는 것으로 알려져 있어¹²⁻¹⁶ 한국재래산양의 항감염요법으로 적합하다고 사료된다. 그러나 이 동물에 대한 enrofloxacin의 체내동태학에 관한 연구는 전무한 실정이며, 항생요법에 대한 기초자료 또한 확립되어 있지 않다.

본 실험에서는 enrofloxacin를 한국재래산양에 정맥 또는 근육주사하였을 때의 혈중농도의 항균력을 경시적으로 비교 평가함과 아울러 성차가 미치는 약물동태학

을 구명함으로써 임상적 응용의 기초자료를 획득하고자 하였다.

재료 및 방법

공시약제 : Enrofloxacin 주사제는 (주)대성미생물연구소로부터 제공받아 사용하였으며 그 함량은 100mg/ml이었다.

공시동물 : 대전 인근농가에서 사육하고 있는 한국재래산양을 구입하여 충남대학교 수의과대학 부속동물병원 사육장에서 기르면서 실험하였다. 임상적으로 건강한 12개월령의 수컷(체중: 23.43±3.59kg) 4마리와 암컷(체중: 14.75±1.53kg) 4마리를 사용하였으며 사료와 물은 충분한 양을 자유급여시켰다.

약물투여 : 경구, 정맥 혹은 근육의 3가지 경로를 통하여 체중 kg당 5mg을 투여하였다. 정맥 및 근육 주사는 disposable syringe를 사용하였고 경구투여는 경구투여용 카테타를 멸균하여 사용하였다. 각각의 실험 후 1주일의 휴약기간을 가졌으며 개체간 차이를 없애기 위하여 cross-over법을 이용하였다. 약물투약 전에 채혈(0시간)을 실시하였고, 투약 후 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24시간에 각각 2ml씩 정맥으로부터 채혈하여 응고시킨 뒤 3000rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 얻어 분석전까지 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

혈청 enrofloxacin의 항균효과(SBA) : 혈청중에 존재하는 enrofloxacin acetate의 항균력은 Reller와 Stratton이 제시한 serum bactericidal activity(SBA) 방법¹⁶에 의해 평가하였다. 한국재래산양에 enrofloxacin를 5mg/kg로 정맥 또는 근육주사한 후 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24시간에 채혈한 혈액을 순차적으로 2단계 희석하여 가면서 항균력이 소실되는 희석배수를 측정하였다. 본 실험에서는 항균물질 고감수성 균주인 *Escherichia coli* BE1186을 검정 세균으로 이용하였으며 각 시간별로 채혈하여 얻은 혈청의 2단계 희석용액은 공시약제를 투여하지 않은 숫양의 혈청을 56℃로 30분간 가온하여 비동화시킨 것을 사용하였다. 즉, 96-well plate(Corning, U.S.A.)에 단계희석된 혈청 100μl를 넣은 후 tryptic soy broth(TSB; Difco, U.S.A.) 배지(4X) 50μl를 가하고 여기에 준비된 세균액(3×10⁶ CFU/ml) 50μl를 첨가한 후 37℃에서 18시간 배양한 다음 항균효과를 측정하였다.

혈청에서 enrofloxacin 분석 : 약물분석을 위한 시료

전처리를 위하여 -20℃ 냉동고에 보관된 시료를 해동시키고 여기에 시료와 동량의 trichloroacetic acid(TCA)를 첨가하여 1분간 진탕한 후 12,000rpm으로 5분동안 원심분리하여 상층액 540μl를 얻고 이를 진공 고속 원심분리기로 건조시킨 다음 이동상 540μl를 가하여 녹인 후 syringe filter (0.2 μm, Whatman, U.K.)를 이용하여 여과시킨 여액을 1ml disposable syringe 또는 25μl microliter syringe(Hamilton, U.S.A.)를 이용하여 HPLC에 주입하였다. HPLC system의 구성으로 검출기는 DEI 332 UV visible (Kontron), 펌프는 IRIS 322(Kontron), 기록적분기는 SLC 2000(삼성)이었으며, 고정상으로 C₁₈ 역상분배 컬럼인 UG 120 Å(Shiseido, 5μm size 4.6mm φ × 250mm)을 사용하였다. 분석조건으로 흡광도는 퀴놀론계 항균물질의 최대 흡수파장대인 278nm 그리고 이동상 유속이 1ml/min의 조건에서 역상 크로마토그래피를 실시하였다. 한편 한국재산양 혈청에서의 enrofloxacin의 최적 분석조건을 찾기 위하여 3종의 혈장단백 침전성 유기용매와 조성이 상이한 3종의 이동상을 이용하여 그 결과를 비교평가하고자 하였으며 그 조성을 아래에 나타내었다. 여기에 사용한 분석시료는 숫산양에 공시약제를 5mg/kg로 정맥주사한 후 0.25시간과 2시간에 각각 채혈하여 얻은 것으로서 여러 조건의 조합이 미치는 영향을 관찰하였다.

Organic solvent: Dichloromethane, acetone, 10% TCA in MeOH

이동상 1: 18mM KH₂PO₄ with 0.13mM heptane sulfonate/CH₃OH/phosphoric acid(85%, v/v) (700/300/1, pH 3.0)

이동상 2: CH₃CN/CH₃OH/H₂O(17/3/80, pH 3.0) containing 0.4% phosphoric acid(85%, v/v) and 0.4% triethylamine

이동상 3: 0.01M citric acid/CH₃OH/CH₃CN(7/2/1, pH 3.5)

약물동태학의 분석 : 혈청에서 enrofloxacin의 약물동태분석은 PCNONLIN computer program(SCI사, U.S.A.)을 이용하여 one-compartment open model 및 two-compartment open model로 분석하였다. 암수에 대한 enrofloxacin 투여후 체내동태의 차이는 Student's *t*-test를 이용하여 유의성 있는 차이를 검정하였으며 p<0.05인 경우 유의한 차이가 있음을 인정하였다.

결 과

정맥주사시 경시적 혈청 enrofloxacin의 항균효과 : 한국재산양을 암수별로 각각 enrofloxacin를 5mg/kg로 정맥주사한 후 시간별로 채혈하여 혈청중에 존재하는 enrofloxacin의 항균효과를 조사함으로써 성차가 미치는 영향을 알아보았으며 그 결과를 Fig 1에 나타내었다.

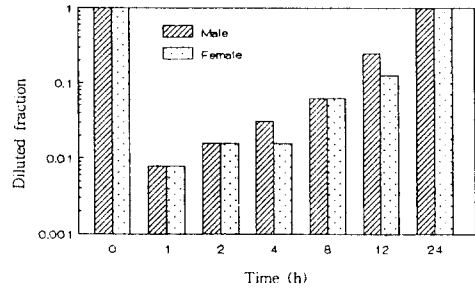


Fig 1. Serum bactericidal activity of enrofloxacin after i.v. administration of 5mg/kg in Korean native goats.

Fig 1의 횡축은 시간별로 채혈한 혈액을 가리키고 있으며 종축은 희석배수를 대수척도로 나타내었는데 막대 그래프는 해당시간의 해당 희석배수에서 검정세균이 증식한 것을 가리키고 있다. 수컷의 경우 시간이 경과하면서 가검혈액의 희석배수가 낮은 조건(또는 희석이 적은 조건)에서 항균효과를 나타내었다.

근육주사시 경시적 혈청 enrofloxacin의 항균효과 : 한국재산양에 암수별로 각각 enrofloxacin를 5mg/kg로 근육주사하여 시간별로 채혈한 혈액에 존재하는 enrofloxacin의 항균효과를 조사함으로써 성차가 미치는 영향을 알아보았으며 그 결과를 Fig 2에 나타내었다. 근육

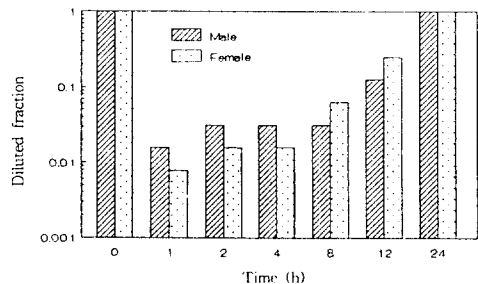


Fig 2. Serum bactericidal activity of enrofloxacin after i.m. administration of 5mg/kg in Korean native goats.

주사의 경우도 정맥주사와 비슷하게 시간이 경과함에 따라 항균력이 감소함을 알 수 있었다.

혈중 enrofloxacin의 분석 : 많은 유기용매가 혈장단백을 침전시킴에 의해 분석시 유리 혈중농도 측정의 진단계로 분석법에 많이 응용되고 있다. Fig 3은 동일시료를 유기용매를 변화시키면서 HPLC로 분석하였을 때의 결과이다. 약물투여 후 0.25시간에 채혈하여 준비한 시료를 HPLC로 분석하였을 때의 면적은 acetone을 사용하였을 때가 173110, DCM을 사용하였을 경우가 274120이었고, TCA를 사용하였을 경우가 280250으로 확인되어 DCM과 TCA를 사용하였을 때 분석효과가 우수한 것으로 평가되었다.

HPLC에 의한 분석의 3대축은 검출기, 고정상, 이동상으로 알려져 있으며 본 실험에서는 검출기와 고정상은 동일하기 때문에 이동상의 조건을 변화시키면서 최상의

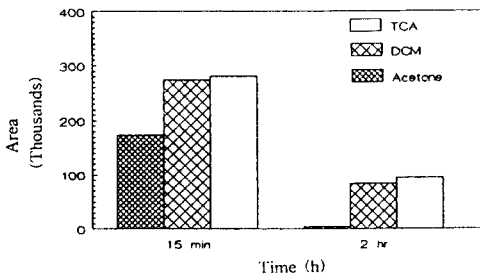


Fig 3. Influence of organic solvents on the analysis of serum enrofloxacin by HPLC. DCM: dichloromethane, TCA: 10% Trichloroacetic acid in methanol.

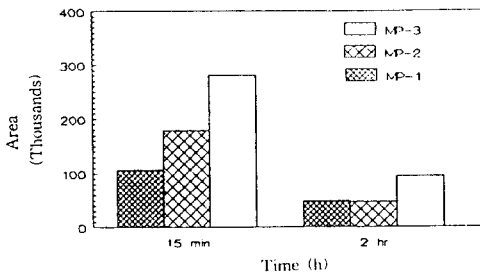


Fig 4. Influence of various mobile phases on the measurement of serum enrofloxacin by HPLC. MP-1: 18mM KH_2PO_4 with 0.13mM heptane sulfonate/MeOH/phosphoric acid(85%, v/v) (700/300/1, pH 3.0), MP-2: CH_3CN /MeOH/water containing 0.4% phosphoric acid(85%, v/v) and 0.4% triethylamine(17/3/80, pH 3.0), MP-3: 0.01M citric acid/MeOH/ CH_3CN (7/2/1, pH 3.5).

분석조건을 탐색하고자 하였다. 본 실험에서 비교 관찰한 이동상은 3종류이었고, 위의 조건에서 확립된 유기용매인 10% TCA를 사용하여 나타난 결과를 비교 평가하여 Fig 4에 나타내었다.

이상의 결과에 의해 이동상은 0.01M citric acid와 methanol과 acetonitrile이 7/2/1의 비율로 혼합되어 있고 그 pH를 3.5로 조정된 용액이 적절한 것으로 사료되었다. 한국재래산양에 enrofloxacin acetate를 5mg/kg 정맥주

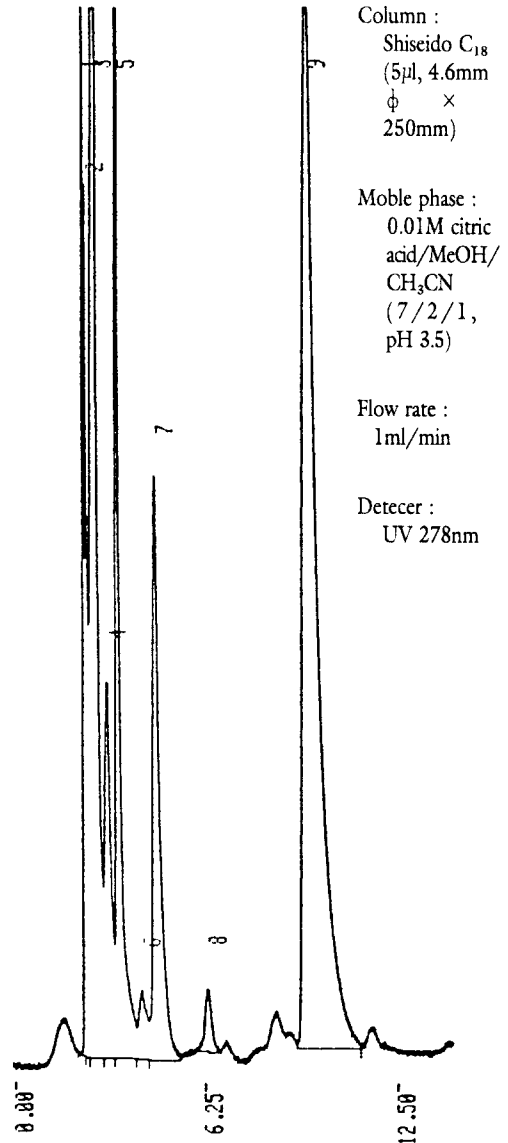


Fig 5. The chromatogram of enrofloxacin in Korean native goat serum.

사한 후 1시간에 채혈한 혈액에서 위에서 구한 HPLC 조건을 이용하여 측정된 전형적인 chromatogram을 Fig 5에 나타내었다.

정맥주사시 enrofloxacin의 동태학 : Enrofloxacin를 암수 각 4마리의 한국재래산양에 5mg/kg의 용량으로 정맥주사한 후 나타난 혈중농도의 경시적 변화는 Fig 6과 같다. 투여후 초기에 급속한 분포기를 거치고 난 뒤 이어

서 완만한 소실기를 나타내는 전형적인 2-compartment model의 양상을 나타내었다. PCNONLIN에 의한 약물동태학적 parameter는 Table 1(수컷)과 Table 2(암컷)에 요약하였으며 2-compartment model의 지표를 얻을 수 있었다. 한국 재래산양에서의 enrofloxacin의 분포기 반감기는 수컷이 0.9 ± 0.2 시간이었고 암컷이 0.6 ± 0.2 시간으로 암수 간에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 소실기 반감

Table 1. Pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in four male Korean native goats after a single i.v. dose of 5mg per kg of body weight

Parameters	Units	Animal number				Mean	S.D.
		1	2	3	4		
A	µg/ml	9.34	6.95	6.54	7.35	7.55	1.08
B	µg/ml	0.15	2.45	0.95	2.88	1.60	1.10
α	h ⁻¹	0.56	0.85	0.84	1.01	0.81	0.16
β	h ⁻¹	0.05	0.23	0.17	0.30	0.18	0.09
$t_{1/2\alpha}$	h	1.23	0.81	0.84	0.68	0.89	0.20
$t_{1/2\beta}$	h	12.48	2.97	3.94	2.24	5.40	4.12
K_{10}	h ⁻¹	0.48	0.50	0.57	0.61	0.54	0.05
K_{12}	h ⁻¹	0.06	0.18	0.17	0.19	0.15	0.05
K_{21}	H ⁻¹	0.06	0.39	0.25	0.50	0.30	0.16
V_{ss}	l/kg	1.06	0.78	1.14	0.68	0.92	0.19
C_{max}	µg/ml	9.50	9.40	7.34	10.23	9.14	1.02
AUC	µg · h/ml	19.45	18.69	13.04	16.58	16.94	2.48
Cl	ml/kg/h	0.25	0.26	0.38	0.30	0.29	0.05
AUMC	µg · h ² /ml	80.20	54.76	38.71	37.35	52.75	17.26
MRT	h	4.12	2.92	2.97	2.25	3.06	0.67

A: extrapolated zero-time serum drug concentration of the distribution phase, B: extrapolated zero-time serum drug concentration of the elimination phase, α : slope of the distribution phase, β : slope of the elimination phase, $t_{1/2\alpha}$: half-life of distribution, $t_{1/2\beta}$: half-life of elimination, K_{10} : first order elimination rate constant from central compartment, K_{12} : first order distribution rate constant between the central and peripheral compartment, K_{21} : first order distribution rate constant between the peripheral and central compartment, V_{ss} : volume of distribution at steady state, C_{max} : maximum concentration, AUC: area under the curve, Cl: clearance, AUMC: area under the moment curve, MRT: mean residence time.

Table 2. Pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in four female Korean native goats after a single i.v. dose of 5mg per kg of body weight

Parameters	Units	Animal number				Mean	S.D.
		1	2	3	4		
A	µg/ml	5.49	7.32	7.12	6.92	6.69	0.71
B	µg/ml	2.87	0.77	3.13	0.79	1.89	1.11
α	h ⁻¹	0.98	0.68	1.87	1.18	1.17	0.43
β	h ⁻¹	0.21	0.04	0.28	1.11	0.41	0.41
$t_{1/2\alpha}$	h	0.70	1.01	0.36	0.58	0.66	0.23
$t_{1/2\beta}$	h	3.20	17.17	2.41	5.79	7.14	5.92
K_{10}	h ⁻¹	0.44	0.27	0.69	0.61	0.50	0.16
K_{12}	h ⁻¹	0.27	0.34	0.69	0.45	0.43	0.15
K_{21}	h ⁻¹	0.48	0.10	0.77	0.22	0.39	0.25
V_{ss}	l/kg	0.94	2.74	0.93	1.95	1.46	0.76
C_{max}	µg/ml	8.36	8.08	10.24	7.69	8.50	0.98
AUC	µg · h/ml	18.88	29.85	14.71	12.44	18.90	6.69
Cl	ml/kg/h	0.26	0.16	0.33	0.40	0.28	0.08
AUMC	µg · h ² /ml	67.16	89.26	40.08	60.39	164.22	187.92
MRT	h	3.50	16.38	2.72	4.85	6.86	5.54

Abbreviation are same as in Table 1.

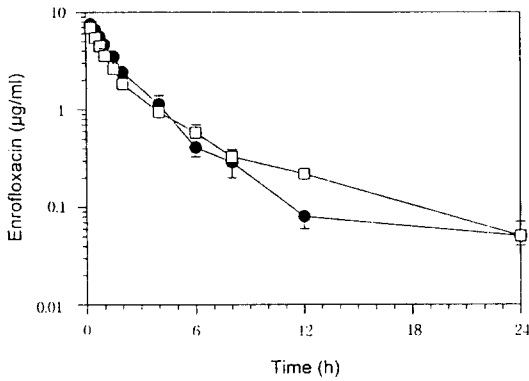


Fig 6. Mean serum concentration curves of enrofloxacin in male (●) and female(□) Korean native goats after i.v. administration of 5mg per kg of body weight.

기는 수컷에서 5.4 ± 4.12 시간이었고 암컷에서 7.1 ± 5.9 시간으로 암컷이 수컷보다 약간 길게 나타나는 경향을 보였으나, 통계학적 유의성은 SD의 값이 크므로 유의성은 인정할 수 없었다.

근육주사시 Enrofloxacin의 동태학 : Enrofloxacin을 5mg/kg로 암수 각 4마리의 한국 재래산양에 근육주사한 후 혈중농도의 경시적 변화는 Fig 7과 같다. 약물동태학

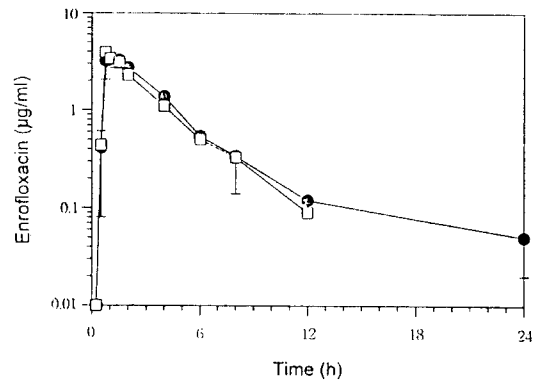


Fig 7. Mean serum concentration curves of enrofloxacin in male (●) and female(□) Korean native goats after i.m. administration of 5mg per kg of body weight.

parameter는 Table 3(수컷)와 Table 4(암컷)에 나타내었다. 근육주사시의 약물동태는 흡수과정과 소실과정이 뚜렷이 나타났다. 흡수기의 반감기는 수컷이 0.77 ± 0.36 시간 이었고 암컷은 0.89 ± 0.28 시간으로 암컷이 약간 느린 흡수형태를 보였으나 통계학적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 소실기의 반감기는 수컷이 2.18 ± 0.25 시간 이었고, 암컷이 2.01 ± 0.12 시간으로 거의 차이를 나타내지

Tabl 3. Pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in four male Korean native goats after a single i.m. dose of 5mg per kg of body weight

Parameters	Units	Animal number				Mean	S.D.
		1	2	3	4		
K_a	h^{-1}	1.04	0.48	1.27	1.37	1.04	0.34
K_e	h^{-1}	0.26	0.32	0.31	0.37	0.31	0.02
$t_{1/2\alpha}$	h	0.66	1.41	0.54	0.50	0.78	0.36
$t_{1/2\beta}$	h	2.58	2.12	2.18	1.86	2.18	0.25
AUC	$\mu g \cdot h/ml$	12.04	10.83	12.56	13.87	12.32	1.09
Vd	l/kg	1.55	1.41	1.25	0.96	1.29	0.21
Cl	ml/kg/h	0.41	0.46	0.39	0.36	0.40	0.03

K_a : absorption of constant, K_e : elimination of constant, $t_{1/2\alpha}$: half-life of elimination phase, AUC : area under the curve, Vd : apparent volume of distribution. Cl : clearance.

Tabl 4. Pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in four female Korean native goats after a single i.m. dose of 5mg per kg of body weight

Parameters	Units	Animal number				Mean	S.D.
		1	2	3	4		
K_a	h^{-1}	0.93	0.50	0.86	1.04	0.83	0.20
K_e	h^{-1}	0.37	0.35	0.32	0.32	0.34	0.02
$t_{1/2\alpha}$	h	0.74	1.37	0.79	0.66	0.89	0.28
$t_{1/2\beta}$	h	1.85	1.94	2.15	2.11	2.01	0.12
AUC	$\mu g \cdot h/ml$	9.80	11.42	12.65	11.49	11.34	1.01
Vd	l/kg	1.36	1.22	1.22	1.32	1.28	0.06
Cl	ml/kg/h	0.50	0.43	0.39	0.43	0.43	0.03

Abbreviation are same as in table 3.

않았다. 수컷의 곡선하 면적, 분포용적, 청소율은 각각 $12.32 \pm 1.09 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, $1.29 \pm 0.211/\text{kg}$, $0.40 \pm 0.03\text{ml/kg/h}$ 이었다. 이에 비하여 암컷의 그것들은 각각 $11.34 \pm 1.01 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, $1.28 \pm 0.061/\text{kg}$, $0.43 \pm 0.03\text{ml/kg/h}$ 으로 모두 통계학적 유의성이 인정되지 않았다.

고 찰

Enrofloxacin은 제2세대 quinolone 항균물질로서 수의 임상용으로 만들어진 최초의 불소를 함유하는 광범위 합성항균물질이다^{1,2}. Enrofloxacin은 기존의 quinolone 제제인 nalidixic acid, oxolinic acid, pipemidic acid, flumequine 등에 비해 체내에서 생체이용율이 높으며 또한 혈장단백결합이 낮아 임상적인 관점에서 유리하다^{9,10}. 항균물질의 항균효과의 지표로서 검정세균을 배양하여 여기에 항균물질을 첨가하여 그 효과를 측정하는 MIC 법이 일반적이나 실제 생체에 존재하는 항균물질의 항균력을 그대로 대변한다고 볼 수 없다. 왜냐하면 혈중의 여러 matrix에 의해 항균물질의 효과가 크게 영향을 받을 수 있기 때문이다⁷. 본 실험에서는 이러한 점을 고려하여 한국 재래산양에 enrofloxacin를 체중 kg당 5mg을 정맥 및 근육주사한 후 혈중에 존재하는 약물이 검정세균인 *E. coli*에 직접적으로 항균력이 있는지를 알아보기 위하여 혈청내 항균효과 시험을 실시하였다. Boeckh *et al*¹⁶ enrofloxacin과 같은 quinolone 계통의 항균제인 ciprofloxacin과 ofloxacin에서의 혈청내 항균효과를 보고하였다. 그들의 보고에 의하면 공시균주로 *E. coli*를 사용하였을 경우 ciprofloxacin에서는 30.9배, ofloxacin에서는 18.5배 희석에서 혈청내 항균효과가 있다고 보고하였다. 정맥주사 후 혈청내 항균효과는 Fig 1에서 알 수 있는 것처럼 시간이 경과함에 따라 항균효과가 소실이 되고 있으며, 이러한 항균력의 감소는 약물이 혈중에서 소실되는 것을 의미한다. 혈청내 항균효과를 암수 비교시 암컷이 전시간대에서 수컷보다 같거나 낮은 희석 농도에서 항균작용을 나타내었다. Enrofloxacin을 근육주사한 후 시간별로 채혈한 혈액에서 혈청내 항균효과를 Fig 2에 나타내었다. 근육주사의 경우도 정맥 주사와 비슷하게 시간이 경과함에 따라 항균력이 감소함을 알 수 있었으며 24시간 이후 채혈한 혈액은 항균효과를 보이지 않았다. 약물투여 후 4시간까지에서는 수컷보다 암컷이 낮은 희석농도에서 혈청내 항균효과를 나타내었고, 그 이후는

수컷이 낮은 희석농도에서 혈청내 항균효과를 나타냈다. 이 실험의 결과로 보았을 때 약물의 소실상에 있어서 전기에는 수컷이 암컷보다 빠른 배설과정을 거치고, 후기에는 암컷이 빠른 배설과정을 갖는다는 것을 가리키지만 이에 대하여서는 좀 더 정교한 실험이 뒤따라야 한다고 생각한다.

본 실험에서는 사용 유기용매의 차이가 분석에 미치는 영향을 알아보고자, 일반적으로 많이 사용되고 있는 유기용매인 acetone, dichloromethan(DCM), 10% trichloroacetic acid in methanol (TCA)17-19을 가검혈청에 전처리함으로써 앞으로 분석할 enrofloxacin의 HPLC 분석조건을 찾으려고 하였다. 객관적으로 분석하기 위하여 유기용매를 제외한 모든 HPLC 조건은 동일하게 유지하였다. Fig 3는 동일시료를 유기용매를 변화시키면서 HPLC로 분석하였을 때의 결과이다. 약물투여 후 0.25 시간에 채혈하여 준비한 시료를 HPLC로 분석하였을 때의 피이크의 면적은 acetone을 사용하였을 때가 173110, DCM을 사용하였을 경우가 274120이었고, TCA를 사용하였을 경우가 280250으로 확인되어 TCA를 사용하였을 때의 분석효과가 가장 우수한 것으로 평가되었다. 한편 이들 3가지 다른 유기용매를 사용한 어떤 경우에서도 retention time은 8분으로 동일하게 나타나 이 peak가 enrofloxacin임을 확인할 수 있었다. 한편 박¹⁹이 norfloxacin의 분석 전처리과정에 사용한 20% trichloroacetic acid가 포함된 methanol과 유사하여, 본 실험에 사용한 유기용매가 quinolone계 항균제의 분석 전처리 유기용매로서 유용함을 알 수 있었다. HPLC에 의한 분석의 3대축은 검출기, 고정상, 이동상으로 알려져 있으며 본 실험에서는 검출기와 고정상은 동일하기 때문에 이동상의 조건을 변화시키면서 최상의 분석조건을 탐색하고자 하였다. 본 실험에서 비교 관찰한 이동상은 3종류이었고, 위의 조건에서 확립된 유기용매인 10% TCA를 사용하여 나타난 결과를 비교 평가하여 Fig 3에 나타내었다. 이동상 1(MP-1)²⁰에서 약물투여 후 0.25시간에서의 피이크의 면적은 106521이었고, 2시간 후의 피이크의 면적은 48395이었다. 이동상 2(MP-2)²¹의 결과는 0.25시간 후의 피이크의 면적이 178568이었고, 2시간 후의 피이크의 면적은 47025이었다. 분석이 가장 잘 이루어진 이동상은 MP-3로서 0.25시간 후의 피이크의 면적이 280250이었고, 2시간 후의 피이크의 면적은 94102이었다. 이상의 결과에 의해 이동상은 0.01M citric acid와 methanol과 acetonitrile이 7/2/1의 비

울로 혼합되어 있고 그 pH를 3.5로 조정된 용액이 적절한 것으로 사료되었다(Fig 4).

Enrofloxacin를 암수 각 4마리의 한국재래산양에 5mg/kg의 용량으로 정맥 주사한 후 초기에 급속한 분포기를 거치고 난뒤 이어서 완만한 소실기를 나타내는 전형적인 2-compartment model의 양상을 나타내었다. PCNONLIN에 의한 약물동태학적 parameter는 Table 1(수컷)와 Table 2(암컷)에 요약하였으며 2-compartment model의 지표를 얻을 수 있었다. 다른 연구자들^{4,21}에 의한 다른 동물종에 있어서 enrofloxacin의 체내동태도 2-compartment model로 보고된 것과 비교할 때 본 실험에 사용한 한국재래산양에서도 같은 경향을 나타냄에 따라 enrofloxacin은 동물종에 관계없이 비슷한 양상을 나타냄을 알 수 있었다. 한편 한국재래산양에서의 enrofloxacin의 분포기 반감기는 수컷이 0.9 ± 0.2 시간이었고 암컷이 0.6 ± 0.2 시간으로 암수간에는 큰 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$). 그러나 소실기 반감기는 수컷에서 5.4 ± 0.05 시간이었고 암컷에서 7.1 ± 5.9 시간으로 암컷이 수컷보다 약간 길게 나타나는 경향을 보였다. 암컷에서 enrofloxacin의 소실기 반감기가 길게 나타난 이유는 암컷 2번 동물(Table 3)에 의한 것으로 생각되는데 이 동물로 말미암아 Fig 6의 12시간에 암컷의 혈중농도가 특히 높게 나타난 것에 기인한 것으로 판단되었다. 다른 약물동태학적 부변수는 암수간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 한편 다른 연구자들^{11,22}이 조사한 enrofloxacin의 소실기 반감기는 닭, 칠면조, 송아지, 개, 말에서 각각 7.3, 1.4, 1.2, 2.1, 3.3시간으로서 닭을 제외한 다른 동물 종에서의 enrofloxacin의 소실기 반감기는 한국재래산양의 그것보다 짧았다.

Enrofloxacin을 5mg/kg로 암수 각 4마리의 한국재래산양에 근육주사한 후 혈중농도의 경시적 변화는 Fig 7과 같다. 약물동태학 parameter는 Table 3(수컷)과 Table 4(암컷)에 나타내었다. 근육주사시의 약물동태는 흡수과정과 소실과정이 뚜렷이 나타났다. 흡수기의 반감기는 수컷이 0.77 ± 0.36 시간이었고 암컷은 0.89 ± 0.28 시간으로 암컷이 약간 느린 흡수형태를 보였으나 통계학적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 소실기의 반감기는 수컷이 2.18 ± 0.25 시간이었고, 암컷이 2.01 ± 0.12 시간으로 거의 차이를 나타내지 않았다. 수컷의 곡선하 면적, 분포용적, 청소율은 각각 $12.32 \pm 1.09 \mu\text{g h/ml}$, $1.29 \pm 0.21 \text{ l/kg}$, $0.40 \pm 0.03 \text{ ml/kg/h}$ 이었다. 이에 비하여 암컷의 그것들은 각각 $11.34 \pm 1.01 \mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$, $1.28 \pm 0.06 \text{ l/kg}$, $0.43 \pm 0.03 \text{ ml/kg/}$

h으로 모두 통계학적 유의성이 인정되지 않았다. 이상의 결과를 요약하여 볼 때 enrofloxacin을 한국재래산양에 근육주사할 경우에도 정맥주사와 마찬가지로 암수의 성에 따른 차이는 나타나지 않는 것을 확인할 수 있었다. 본 실험에서는 enrofloxacin에 대한 한국재래산양에서의 일반적인 동태학 실험과 혈청내 항균실험을 수행하였으나, 암수간에 성차가 없는 것으로 밝혀졌다. 그러나 이러한 성차에 대한 실험은 앞으로 대사적인 관점에서 확인할 필요가 있으며 이러한 대사실험의 결과는 항균물질의 잔류 또는 독성적인 관점에서 매우 중요하므로 이에 대한 연구가 뒤따라야 할 것으로 사료되었다.

결론

Enrofloxacin은 제2세대 quinolone 항균물질로 소, 돼지, 닭 그리고 말 등에서 세균성 감염증 치료를 위하여 많이 사용하는 동물전용 항균물질이며 항균범위가 매우 넓어 동물의 항균요법에 널리 사용되어 왔다. 본 연구의 목적은 enrofloxacin을 한국재래산양에게 정맥 또는 근육주사 후 경시적으로 채혈한 혈액을 이용하여 혈청내 항균효과를 검토함과 아울러 성차에 의한 체내동태를 구명함으로써 본 제제의 임상응용에 대한 기초자료를 구하고자 하였다.

1. Enrofloxacin을 체중 kg당 5mg의 용량으로 한국재래산양 암수별로 각각 정맥 및 근육주사한 후 경시적으로 채혈하여 serum bactericidal activity를 조사하였는 바, 투여 후 12시간까지 혈청내 항균효과를 나타내었다.

2. 생체 중에 존재하는 enrofloxacin을 분석하기 위하여 HPLC를 이용하였다. 생체시료 전처리 단계에 있어서 단백침전제로 10% TCA, 이동상은 0.01M citric acid/methanol/acetonitrile(7/2/1, pH 3.5), 고정상은 C_{18} 역상컬럼을 이용하여 278nm에서 우수하게 측정이 가능하였다.

3. 한국재래산양에 enrofloxacin acetate를 5mg/kg 용량을 정맥주사하였을 때의 약물동태학적 특성은 two-compartment model에 의해 그리고 근육주사하였을 때는 one-compartment model에 적절하게 설명할 수 있었으며 암수간의 약물동태학적 차이를 나타내지 않았다. 이상의 결과를 요약하면 enrofloxacin을 한국재래산양에 정맥 혹은 근육투여시 혈중 항균력이 매우 우수한 것으로 나타났으며, 약물동태학적인 관점에서도 뛰어난 특성을 가지고 있어 한국재래산양의 세균감염증 치료에 유용한 것

으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Baggot JD. General principles governing translocation of drugs. In Baggot JD, ed, *Principles of Drug Disposition in Domestic Animals*. 2nd ed, WB. Saunders Co., Philadelphia:1-21, 1977.
2. Walker RD, Stein GE, Hauptman JG, et al. Pharmacokinetic evaluation of enrofloxacin administered orally to healthy dogs, *Am J Vet Res*, 53:2315-2319, 1992
3. Broome RL, Brooks DL, Babish JG, et al. Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *Am J Vet Res*, 52:1835-1841, 1991.
4. Anadon A, Martinez-Larranaga MR, Diaz MJ, et al. Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am J Vet Res*, 56:501-506, 1995.
5. Lavy E, Ziv G, Glickman A. Intravenous disposition kinetics, oral and intramuscular bioavailability and urinary excretion of norfloxacin nicotinate in donkeys. *J Vet Pharmacol Ther*, 18:101-107, 1995.
6. Benet LZ, Kroetz DL, Sheiner LB. Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution, and elimination. In Hardman JG, ed *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed., McGraw Hill, New York, 3-27, 1996.
7. 홍사석. 항균성 화학요법의 기본개념. 이우주의 약리학 강의, 3판. 의학문화사, 서울, 545-552, 1993.
8. 수의약리학 및 독성학 교수 협의회. 최신 수의약리학, 경북대학교 출판부, 대구, 5-36, 1994.
9. 장인호, 탁연빈, 문무홍. 한국재래산양의 세균성 및 기생충성 질병에 관한 연구. 농촌진흥청, 수원, 1995.
10. Hooper DC, Wolfson JS. Mechanism of quinolone action and bacterial killing. In Hooper DC, ed. *Quinolone Antimicrobial Agents*. 2nd ed., American Society for Microbiology, Washington:3, 53-76, 1993.
11. Vancutsem PM, Babish JG, Schwark WS. The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, Pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet*. 80:173-186, 1989.
12. Hannan PCT, O'Hanlon PJ, Rogers NH. *In vitro* evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens. *Res Vet Sci*. 46:202-212, 1989.
13. Line AS, Paul-Murphy J, Aucoine DP, et al. Enrofloxacin Treatment of Long-tailed Macaques with Acute Bacillary Dysentery Due to Multiresistant *Shigella flexneri* IV. *Am Asso Lab Ani Sci*. 42:240-244, 1992.
14. Smith IM, Mackie A, Lida J. Effect of giving enrofloxacin in the diet to pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet Record*. 13:25-29, 1991.
15. Broome RL, Brooks DL. Efficacy of enrofloxacin in the treatment of respiratory pasteurellosis in rabbits. *Am Asso Lab Ani Sci*. 41:72-576, 1991.
16. Boeckh M, Lode H, Deppermann KM, et al. Pharmacokinetics and Serum Bactericidal Activities of Quinolones in Combination with Clindamycin, Metronidazole, and Ornidazole. *Antimicro Agent Chemothera*. 34:2407-2414, 1990.
17. Ahmad AH, Bahga HS, Sharma LD. Pharmacokinetics of gentamycin following single dose intravenous administration in normal and febrile goats. *J Vet Pharma Thera*. 17:369-373, 1994.
18. Groenveld AJN, Brouwers JRBJ. Quantitative determination of ofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and pefloxacin in serum by high pressure liquid chromatography. *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*. 8:79-84, 1986.
19. 박승춘. Comparative pharmacokinetic profiles of a newly formulated norfloxacin glycine acetate in various animal species. 충남대학교 대학원, 박사학위논문, 1996.
20. Griggs DJ, Wise R. A simple isocratic high-pressure liquid chromatographic assay of quinolones in serum. *J Antimicro Chemothera*. 24:437-445, 1989.
21. Kung K, Riond JL, Wanner M. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs. *J Vet Pharma Therap*. 16:462-468, 1993.

22. Babish J, Wilder J, Davidson J. The comparative of a new quinolone, enrofloxacin in dogs, horses, calves, chickens, and turkeys. *J Vet Pharma Therap*, 13:190-197, 1990.
-