

## 기니픽과 마우스에서 신규 퀴놀론 항균제 DW-116의 항원성 시험

권현진 · 한형미<sup>1</sup> · 김필선<sup>1</sup> · 이흥숙<sup>2</sup> · 정용호 · 윤성준 · 이문선 · 이덕근\*

동화약품공업(주) 중앙연구소, <sup>1</sup>식품의약품안전본부 독성부,  
<sup>2</sup>서울산업대학교 식품공학과

### Antigenicity of DW-116, a New Quinolone Antibiotic, in Guinea Pigs and Mice

Hyun Jin KWON, Hyung-Mee HAN<sup>1</sup>, Pil Sun KIM<sup>1</sup>, Heum Sook LEE<sup>2</sup>,  
Yong Ho CHUNG, Sung June YOON, MoonSun LEE and Dug Keun LEE\*

Research Laboratories of Dong-Wha Pharm. Ind. Co. Ltd., 189, Anyang-dong, Anyang City,  
Kyunggi-do 430-010, Korea

<sup>1</sup>Department of Toxicology, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and  
Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eunpyung-Ku, Seoul 122-020, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Technology, Seoul National Polytechnic University, 172,  
Gongreung-Dong, Nowon-Gu, Seoul 139-743, Korea

(Received October 21, 1997; accepted March 23, 1998)

**Abstract**—Antigenic potential of DW-116, a newly synthesized fluoroquinolone, was examined by conducting active systemic anaphylaxis (ASA), passive cutaneous anaphylaxis (PCA) and passive hemagglutination (PHA) tests. In ASA test, mild to moderate signs of anaphylactic responses were observed in the groups sensitized with low (2 mg/body) and high (10 mg/body) doses of DW-116 alone and the group sensitized with DW-116 plus adjuvant. Some moderate to severe anaphylactic reactions were observed in the group sensitized with a DW-116-bovine serum albumin (BSA) conjugate plus adjuvant when challenged with a DW-116-guinea pig serum albumin (GSA) conjugate. However these reactions were considered to be a cross-reaction between BSA and GSA since similar reactions were induced when challenged by GSA alone. In heterologous PCA test using mice and rats, positive responses were not detected in any of the experimental groups. In PHA test, positive responses were observed in the groups sensitized with low and high doses of DW-116 alone and the group sensitized with DW-116 plus adjuvant. However, these responses were not considered to be drug-specific because some positive responses were also seen in the negative control group. From these results, it was concluded that DW-116 is not likely to have specific antigenic potential in clinical use.

**Keywords** □ DW-116, fluoroquinolone, antigenicity, ASA, PCA, PHA

Fluoroquinolone은 경구용 제제로 널리 사용되고 있는 항균제로서 체내에서의 흡수가 뛰어나고 그람 음성균 및 그람 양성균에 대해 광범위한 항균활성을 나타낸다. 따라서 임상에서 여러 감염증 치료에 많이 사용되고 있으며 그 약효를 인정받고 있다. 그러나 기존의 퀴놀론계 항균제는 그람 양성균에 대해 약효가 떨어지고 광독성 및 중추신경계에 미치는 부작용 등의 문제점을 가지고 있어(Halkin, 1988) 이에 대한 개선이 요구되고 있다.

DW-116(Dong-Wha-116)은 동화약품공업(주) 중앙연구소

에서 개발한 새로운 퀴놀론계 항균제로서(Yoon 등, 1997), 구조는 Fig. 1에 나타난 바와 같고, 그 화학명은 [1-(5-fluoro-2-pyridyl)-6-fluoro-7-(4-methyl-1-piperazinyl)-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid, hydrochloride]이다. DW-116은 in vitro 시험에서는 다른 퀴놀론 항균제에 비해 다소 효과가 떨어지나 in vivo 약효는 대등하거나 우수한 것으로 보여지며(Han 등, 1995), 이는 약물의 체내 흡수율이 우수하고 반감기가 긴 약동력학적 특성에 의한 것으로 판단된다(Lee, 1995). 본 실험에서는 이러한 DW-116의 전임상 단계의 안전성 평가의 일환으로 능동 전신성 아나필락시스 반응시험(active systemic anaphylaxis test, ASA test), 수동

\* To whom correspondence should be addressed.

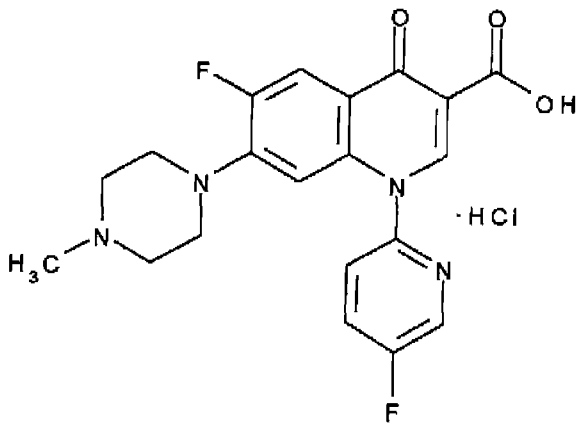


Fig. 1. Structure of DW-116.

피부 아나필락시스 반응시험(passive cutaneous anaphylaxis test, PCA test) 및 간접 적혈구 응집 반응시험(passive hemagglutination test, PHA test)을 실시하여 항원성 유무를 검색하고자 하였다.

### 실험 방법

#### 실험 재료

시험물질은 동화약품(주) 중앙연구소에서 제조한 DW-116(Lot No.: 9302)을 멸균생리식염수에 용해하여 사용하였으며 양성대조물질로서는 ovalbumin(OVA, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.)을 사용하였다. 면역보조제로는 기니픽에서는 Freund's complete adjuvant(FCA, Sigma Chemical Co.) 및 Freund's incomplete adjuvant(FIA Sigma Chemical Co.)를 사용하였고 마우스에서는 alum gel(aluminum hydroxide)을 사용하였다. Alum gel의 제조에 사용한  $AlNH_4(SO_4)_2$ 는 Aldrich Chemical Co.(WI, U.S.A.)로부터 구입하였다. DW-116과 단백질과의 결합체를 만드는데 사용한 bovine serum albumin(BSA), guinea pig serum albumin(GSA), glutaraldehyde, glycine 등은 Sigma Chemical Co.로부터 구입하였으며, 단백질과 결합된 DW-116을 결합되지 않은 DW-116으로부터 분리하기 위하여 사용한 centrprep-30은 Amicon Co.(MA, U.S.A.)으로부터 구입하였다. 그 외 다른 시약들은 표준 시약 제조 회사로부터 reagent grade급의 시약을 구입하여 사용하였다.

실험 동물로는 200-350 g의 Hartley계 수컷 기니픽, 20-30 g의 C57BL/6계 수컷 마우스, 그리고 150-350 g의 Sprague-Dawley계 수컷 랫드를 사용하였다. 기니픽은 온도  $22 \pm 2^\circ C$ , 습도  $55 \pm 5\%$ , 배기 10-12회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 150-300 Lux의 환경에서 사육하였으며, 마우스와 랫드는 온도  $23 \pm 1^\circ C$ , 습도  $55 \pm 5\%$ , 배기 10-18회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300-500 Lux의 환경에서 폴리카보네이트 사육

상자에 넣어 사육하였다. 사료는 신촌사료(주)에서 구입하여 수돗물과 함께 자유로이 공급하였다. 모든 동물은 1주일간 순화시킨 후 실험에 사용하였으며 감작용 동물은 체중을 지표로 한 무작위 추출법에 의해 각 군으로 나누었다.

#### DW-116과 거대분자와의 결합방법

능동 전신성 아나필락시스 반응시험, 수동 피부 아나필락시스 반응시험 및 간접 적혈구 응집 반응시험에 있어서 실험동물에 감작시키기 위하여 사용하는 DW-116과 거대분자와의 결합체는 다음과 같은 방법에 의하여 조제하였다. 0.4 M 인산완충액 5 ml(pH 7.5)에 DW-116 22 mg을 용해시킨 다음 0.4 M 인산완충액 5 ml에 BSA 100 mg을 용해시킨 용액에 가하였다. 이 혼합용액을 서서히 교반하면서 20 mM glutaraldehyde 5 ml을 1방울씩 점적하여 coupling을 유도하였다. 미반응의 glutaraldehyde를 제거하기 위해서 1 M glycine 1.5 ml을 가한다음 centrprep-30을 사용하여 1,500 g,  $25^\circ C$ 에서 15분간 원심 분리함으로써 반응액을 농축시켰다. 이렇게 농축된 시료는 단백질 농도를 결정된 후 멸균생리식염수에 적당한 농도로 희석하여 시험에 사용하였다. 야기시는 DW-116을 BSA 대신 GSA에 결합시켰으며, GSA 단독으로 투여할 경우에는 DW-116을 가하지 않고 위와 같은 조작을 실시하였다.

#### Alum gel의 제조

수동 피부 아나필락시스 반응시험 및 간접 적혈구 응집 반응시험에 있어서 실험동물을 감작시키기 위하여 면역보조제로 사용하는 alum gel은 다음과 같은 방법에 의하여 조제하였다(Baek 등, 1994).  $AlNH_4(SO_4)_2$  15 g을 증류수 180 ml에 녹인 후, 1 N NaOH 75 ml을 조금씩 가하면서 섞어 주었다. 침전물을 증류수로 8회 씻어 준 후 건조시킨 다음, 멸균 증류수에 40 mg/ml 용액으로 만들었다. 이러한 면역보조제는 사용 직전에 시험 물질과 동량 혼화하여 투여하였다.

#### 능동 전신성 아나필락시스 반응시험

각 군별 기니픽에대한 감작량 및 감작횟수, 감작경로는 Table I과 같다. DW-116 및 OVA는 모두 멸균생리식염수에 녹여 사용하였고 음성대조군으로 용매를 사용하였다. 단독투여군에는 1주일에 3회, 총 7회 복강내 주사하였다. 면역보조제 혼합투여군의 경우 1회 감작시에는 FCA와 시험물질을 1:1(v/v)로 동량혼화한 혼합액을, 그리고 2, 3회에는 FIA와 동량혼화한 혼합액을 1주일에 1회씩 총 3회 복강내 주사하였다. 최종 감작 2주후에 각 군에 대한 야기항원을 정맥내에 투여하였다. 이때 1군(DW-116, 2 mg/body), 2군(DW-116, 10 mg/body), 3군(DW-116+FCA, 10 mg/body), 6군(saline, 1 ml/body)에는 2 mg/body의 DW-116을, 5군(OVA+FCA, 2 mg/body)에는 2 mg/body OVA를 각각 투여하였다. 또한 4군(DW-116-BSA+FCA, 1 mg/body)은 2 mg/body의 DW-116-GSA 및 2 mg/body의 GSA로 나누어 투여하여 BSA와 GSA사이의 교차반응(cross-reactivity) 여부를

**Table I.** Sensitization schedule of guinea pigs in the active systemic anaphylaxis test

Group	Substance	Dose	Times	No. of animals	Route
1	DW-116	2 mg/body	7 <sup>a</sup>	12	i.p.
2	DW-116	10 mg/body	7 <sup>a</sup>	14	i.p.
3	DW-116+FCA	10 mg/body	3 <sup>b</sup>	12	i.p.
4	DW-116-BSA+FCA	1 mg/body	3 <sup>b</sup>	27	i.p.
5	OVA+FCA	2 mg/body	3 <sup>b</sup>	15	i.p.
6	Saline	1 ml/body	7 <sup>a</sup>	12	i.p.

<sup>a</sup>3 times per week; <sup>b</sup>once per week.

**Table II.** Active systemic anaphylactic reactions

1. 불안 (Restlessness)	
2. 기모(Piloerection)	
3. 진전(Tremor)	
4. 코를 문지르거나 핥음(Rubbing or licking nose)	
5. 재채기(Sneezing)	
6. 기침(Coughing)	
7. 호흡축진(Hyperpnea)	
8. 배뇨(Urination)	
9. 배변(Evacuation)	
10. 유루(Lacrimation)	
11. 호흡곤란(Dyspnea)	
12. 짹짹거리는 소리(Rhonchus)	
13. 청색증(Cyanosis)	
14. 보행불안(Staggering gait)	
15. 도약(Jumping)	
16. 헐떡거리고 몸부림치기 (Gasping and writhing)	
17. 경련(Convulsion)	
18. 횡와(Side position)	
19. Cheyne-Stokes 호흡 (Cheyne-Stokes respiration)	
20. 사망(Death)	
<hr/>	
[-] Asymptomatic	: 무증상
[±] Mild	: 1~4의 증상
[+] Moderate	: 1~10의 증상
[++] Severe	: 1~19의 증상
[+++] Death	: 사망

확인하였다. 투여 후 30분 동안 전신의 증상을 관찰하여 Table II의 기준에 따라 아나필락시스 증상을 판정하였다.

#### 마우스-랫드 수동 피부 아나필락시스 반응시험

각 군별 마우스에 대한 감작량 및 감작횟수, 감작경로는 Table III와 같다. DW-116 단독투여군에는 1주일에 3회, 총 7회 복강내 주사하였다. 면역보조제 혼합투여군의 경우 1회째 감작에는 시험물질, inactivated Pertussis( $1 \times 10^9$  cells/ml), 40 mg/ml alum의 혼합액을, 그리고 2, 3회에는 시험물질, 40 mg/ml alum의 혼합액을 1주일에 1회씩 총 3회 복강내 주사하였다. 최종감작 2주 후에 심장채혈하여 각 개체별로 혈청을 분리하여 -20 °C에 보관하였고 이를 PCA 반응에 사용하였다. PCA시험 야기에 있어서는 멸균생리식염수로

**Table III.** Sensitization schedule of mice in the passive cutaneous anaphylaxis test and the passive hemagglutination test

Group	Substance	Dose	Times	No. of animals	Route
1	DW-116	0.2 mg/body	7 <sup>a</sup>	8	i.p.
2	DW-116	1 mg/body	7 <sup>a</sup>	10	i.p.
3	DW-116+Alum	1 mg/body	3 <sup>b</sup>	7	i.p.
4	DW-116-BSA+Alum	0.1 mg/body	3 <sup>b</sup>	8	i.p.
5	OVA+Alum	0.2 mg/body	3 <sup>b</sup>	9	i.p.
6	Saline	0.2 ml/body	7 <sup>a</sup>	7	i.p.

<sup>a</sup>3 times per week; <sup>b</sup>once per week.

2배씩 6단계(8배-256배) 희석한 마우스 항혈청 50  $\mu$ 씩을 각각 2마리의 랫드의 등부위에 피내주사하고 주사 24시간 후에 감작량의 수배 항원과 1% Evans blue와 동량혼화한 혼합액 0.5 ml을 랫트의 미정맥에 주사하였다. 30분 후 랫드를 방혈치사시키고 항혈청 주사부위에 나타나는 청색반점을 피부내부에서 관찰하였다. 청색반점의 직경이 5 mm 이상인 것을 양성으로 하고, 양성을 나타내는 항혈청의 최대 희석배율을 그 항혈청의 항체가로 결정하였다.

#### 간접 적혈구 응집 반응시험

Alserver용액에 저장(4 °C, 1:1 비율)되어 있는 면양 적혈구 6 ml을 원심분리(500 g, 5 min)하여 상층액을 버리고 생리식염수로 부유액을 만든 다음 원심분리에 의한 세척과정을 3회 반복하였다. 마지막 원심분리시 침전된 적혈구 1 ml에 인산완충생리식염액(pH 7.2)을 가한 다음 동량의 0.005% tannic acid를 가하여 37 °C에서 15분간 혼화하였다. 500 g에서 1분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고 인산완충생리식염액으로 부유시키는 과정을 반복하였다. 위의 액에 동량의 항원(0.5 mg/ml)을 가하여서 37 °C에서 30분간 혼화한 후 500 g에서 5분간 원심분리를 실시하여 상층액을 제거하고 희석제(2 mg/ml gelatin in saline)에 부유시킨 다음 원심분리를 실시하여 최종적으로 1%가 되도록 희석제에 부유시켰다. 수동 피부 아나필락시스 반응시험의 경우와 똑 같은 schedule(Table III)에 의하여 마우스를 감작하여 얻어진 항혈청을 희석제로 8배부터 8192배까지 96 well microplate에서 연속 배수 희석하였다. 항원 처리된 1% 적혈구 부유액 50  $\mu$ 에 희석된 항혈청 50  $\mu$ 를 혼합하여 상온에서 12시간 이상 방치한 후, 적혈구의 응집유무를 육안으로 관찰하였다. 항혈청의 음성대조물질로는 희석제를 사용하였으며 응집의 판정은 완전 응집(+), 부분응집(±), 응집이 일어나지 않음(-)으로 구분하였으며, 응집이 관찰된 항혈청의 최고 희석 배율을 그 항혈청의 응집가로 결정하였다.

## 실험 결과

### 능동 전신성 아나필락시스 반응시험

**Table IV.** Result of the active systemic anaphylaxis test in guinea pigs

Group	Sensitization	Challenge	Symptoms of anaphylaxis					Positive ratio
			-	±	+	++	+++	
1	DW-116 (2 mg/body)	DW-116 (2 mg/body)	11		1			1/12
2	DW-116 (10 mg/body)	DW-116 (2 mg/body)	13		1			1/14
3	DW-116+FCA (10 mg/body)	DW-116 (2 mg/body)	11		1			1/12
4	DW-116-BSA+FCA (1 mg/body)	DW-116-GSA (2 mg/body)	5	3	4	1		8/13
		GSA (2 mg/body)	9	1	3	1		5/14
5	OVA+FCA (2 mg/body)	OVA (2 mg/body)					15	15/15
6	Saline (1 ml/body)	DW-116 (2 mg/body)	12					0/12

기니픽에 대한 능동 전신성 아나필락시스 반응시험의 결과는 Table IV에 제시하였다. DW-116 2 mg/body으로 감작한 군에서 12마리중 1마리가 배뇨증상을 나타냈고 DW-116 10 mg/body으로 감작한 군에서 14마리중 1마리에서 배뇨 및 배변등의 증상을 나타내어 약한 아나필락시스 반응을 보였다. DW-116 10 mg/body와 FCA를 혼합하여 감작한 군에서도 12마리중 1마리에서 배뇨가 관찰되었다. DW-116-BSA conjugate와 FCA를 혼합하여 감작한 군에서는 DW-116-GSA로 야기시켰을 경우 13마리중 3마리에서 코를 문지르거나 핏을 반응을 나타내었고 4마리에서 체척기, 기침, 배뇨 및 배변의 반응을 나타내었으며 1마리에서 호흡곤란 반응을 나타내었다. 또한 GSA단독으로 야기시켰을 경우에도 코를 문지르거나 핏을(1 마리), 체척기, 기침(3마리), 보행불안, 경련, 도약등의 반응(1 마리)을 나타내었다. 양성대조물질인 OVA로 감작 및 야기시킨 군에서는 모

든 동물이 심한 아나필락시스반응을 나타낸 후 사망하였다.

#### 마우스-랫드 수동 피부 아나필락시스 반응시험

각 군 감작 마우스 혈청에 대해 랫드를 이용한 수동 피부 아나필락시스 반응 시험 결과를 Table V에 나타내었다. 저용량투여군, 고용량투여군, 고용량 혼합투여군, 단백질합 혼합투여군에서 채혈한 항혈청을 랫드의 배부피부에 피내주사한 결과 모두 음성의 결과를 나타내었다. 또한 양성대조군인 OVA혼합투여군은 전부 양성반응을 나타내었으며 PCA항체는 16배(1 마리), 32배(3 마리), 64배(2 마리), 128배(2 마리) 및 256배이상(1 마리)으로 나타났다. 생리식염수를 투여한 음성대조군에서는 양성반응이 나타나지 않았다.

#### 간접 적혈구 응집 반응시험

마우스 항혈청에 대한 간접 적혈구 응집 반응시험 결과를 Table VI에 나타내었다. 단백질합혼합투여군의 항혈청에서는 응집반응이 나타나지 않았으며, 저용량투여군의 항

**Table V.** Results of the 24 hr heterologous passive cutaneous anaphylaxis test

Group	Sensitization	Challenge	PCA titer	Positive ratio
1	DW-116 (0.2 mg/body)	DW-116 (10 mg/body)	-	0/8
2	DW-116 (1 mg/body)	DW-116 (10 mg/body)	-	0/10
3	DW-116+Alum (1 mg/body)	DW-116 (10 mg/body)	-	0/7
4	DW-116-BSA+Alum (0.1 mg/body)	DW-116-GSA (5 mg/body)	-	0/8
		GSA (5 mg/body)	-	0/8
5	OVA (0.2 mg/body)	OVA (10 mg/body)	16~>256	9/9
6	Saline (0.2 ml/body)	DW-116 (10 mg/body)	-	0/7

**Table VI.** Results of the passive hemagglutination test

Group	Sensitization	Coated antigen	PHA titer (No. of mice)	Positive ratio
1	DW-116 (0.2 mg/body)	DW-116	8(2), 16(1)	3/8
2	DW-116 (1 mg/body)	DW-116	16(1), 32(1)	2/10
3	DW-116+Alum (1 mg/body)	DW-116	64(1)	1/7
4	DW-116-BSA+Alum (0.1 mg/body)	DW-116-GSA	-	0/6
		GSA	-	0/6
5	OVA+Alum (0.2 mg/body)	OVA	256(1), 512(1), 1024(1), 2048(3), 4096(1), 8192(1)	9/9
6	Saline (0.2 ml/body)	DW-116	128(1)	1/7

혈청은 8배(2 마리), 16배(1 마리) 희석혈청에서 응집반응이 관찰되었고, 고용량투여군의 항혈청은 16배(1 마리), 32배(1 마리) 희석혈청에서 응집반응이 관찰되었다. 고용량 혼합투여군에서는 64배(1 마리) 희석혈청에서 응집반응이 관찰되었으며, 양성대조군인 OVA 혼합투여군에서는 256배(1 마리), 512배(1 마리), 1024배(1 마리), 2048배(3 마리), 4096배(2 마리) 및 8192배(1 마리)의 희석혈청에서 각각 혈구응집반응이 관찰되었다. 또한 음성대조군에서도 128배(1 마리)의 희석혈청에서 혈구응집반응이 관찰되었다.

## 고 찰

퀴놀론계 항생제는 1962년 nalidixic acid가 처음 개발된 이후 항균력의 증강, 스펙트럼의 확대, 독성감소 등의 문제점들을 해결하기 위하여 많은 연구가 수행되어 왔으며, 1978년 fluoroquinolone인 norfloxacin이 개발되면서 이러한 문제점들은 상당히 개선되었고 이 분야의 새로운 항생제로서 많은 주목을 받게 되었다(Ito 등, 1980). 이후 1983년 ofloxacin과 ciprofloxacin이 개발되었으며(Sato 등, 1982; Wise 등, 1983), 퀴놀론계 항생제는  $\beta$ -lactam계 항생제와 비교하여 합성이 용이하여 값이 싸고, 세균에 대한 내성 발현이 적고 약물의 오랜 지속성으로 난치성 감염증에 뛰어난 임상효과를 갖는 등 독특한 약리작용으로 그 시장성은 매년 크게 증가하고 있다. 그러나 퀴놀론계 약물의 문제점으로 지적되고 있는 난용성, 낮은 흡수율, 중추신경계 부작용, 광독성, 과민성 등의 부작용이 상당히 많으므로 아직도 개선해야 할 점이 많은 약물로 평가되고 있다(Christ 등, 1988). 따라서 퀴놀론계 신약 개발은 약효도 매우 중요하지만 부작용이 얼마나 적은 약물을 개발하느냐에 따라 성패가 좌우된다고 사료된다.

이러한 측면을 고려할 때 DW-116은 개발 가능성이 매우 높은 우수한 후보 약물이라고 생각된다. 이러한 몇 가지 증거로서 DW-116은 체외 항균력은 ciprofloxacin에 비해 다소 떨어지나 체내 항균력은 대등하거나 우수한 것으로 나타나고 있다(Hwang 등, 1997; Choi 등, 1997). 또한 체내동태에서는 ciprofloxacin은 물론 ofloxacin보다도 월등히 우수하여, 흡수율이 높고 반감기가 길어 1일 1회 투여가 가능할 것으로 예상되며, 특히 폐, 신장 등의 조직장기에 고농도로 분포하여(Lee 등, 1995) 이 분야의 감염 치료제로서 개발 가능성이 매우 클 것으로 기대된다.

본 연구에서는 이러한 DW-116을 신약으로 개발하기 위하여 수행하는 전임상시험의 하나인 항원성 시험을 수행하였다. DW-116의 항원성여부를 평가하기 위하여 제 1형 과민반응의 일종인 능동 전신성 아나필락시스 반응시험과 조직친화성의 IgE type 항체의 생성유무를 확인하기 위한 시험인 수동 피부 아나필락시스 반응시험 및 시험 물질에 대

한 항체생성여부를 시험하는 간접 적혈구 응집반응을 실시하였다. 각 동물에 대한 감작량은 DW-116의 추정 임상용량인 400 mg/60 kg을 기준으로 하여 이와 동량인 2 mg/body(300 g, guinea pig), 0.2 mg/body(30 g, mouse)와 이의 5배인 10 mg/body, 1 mg/body를 각각 저용량군과 고용량군으로 설정하였다. 또한 항원 감작의 효율을 증가시키기 위해 면역보조제를 혼합투여한 군과 DW-116을 거대분자인 BSA와 결합시킨 단백결합투여군 및 OVA를 사용한 양성대조군으로 시험군을 설정하였다.

ASA시험결과 DW-116의 저용량군, 고용량군 및 면역보조제 혼합투여군에서 각각 1마리에서 약한 아나필락시스 반응을 나타내었다. 단백결합 혼합투여군은 DW-116-GSA로 야기시켰을 때 13 마리중 8 마리에서 아나필락시스반응이 나타났으나 GSA단독으로 야기시킨 경우에도 14 마리중 5 마리에서 반응이 관찰된 것으로 볼 때 단백결합 혼합투여군에서의 양성반응은 주로 BSA와 GSA의 교차반응(cross-reactivity)에 의한 것으로 보여진다. 조직친화성 항체 IgE의 생성 유무를 확인하는 시험계로 널리 이용되고있는 마우스-랫드 이중 PCA반응(Ovary 등, 1975)에서도 DW-116은 단백결합 및 면역보조제 사용 여부에 관계없이 임상용량의 5배까지 투여한 경우에도 PCA항체를 확인할 수 없었다. 반면 양성대조물질인 OVA투여군에서는 PCA titer 16~256배의 항체를 나타내었다. 따라서 DW-116은 조직친화성항체 생성능력이 거의 없는 것으로 사료된다.

한편 간접 적혈구 응집 반응시험 결과 단백결합 혼합투여군에서는 음성의 반응을 나타내었고, 저용량투여군에서는 8~16배, 고용량투여군에서 16~32배의 응집가를 나타내었다. 또한 면역보조제를 사용한 고용량 혼합투여군에서는 64배의 응집가를 보였으나 음성대조군에서도 128배에서 양성반응을 나타낸 것으로 미루어 약물투여군에서의 일부 양성반응이 약물특이적 반응은 아닌것으로 사료된다.

이상의 실험결과를 종합하면 퀴놀론 항균제 DW-116은 능동 전신성 아나필락시스 반응시험에서 아주 미약한 아나필락시스 반응을 유발시킬 가능성은 있으나 수동 피부 아나필락시스 반응시험 및 간접적혈구 응집 반응시험 결과로 볼 때 임상에서 항원성으로 인한 부작용을 일으킬 가능성은 희박할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- Baek, N. J., Kim, D. H., Lee, D. E., Sunwoo, Y., Han, H. M., Chung, S. T., Kim, P. S. and Kim, H. S. (1994). Antigenicity of CFC-101(*Pseudomonas* vaccine) in guinea pigs and mice. *J. Appl. Pharmacol.*, **2**, 331-335.
- Christ, W., T. Lerhner and B. Ulbrich. (1988). Specific toxicologic aspects of the quinolones. *Rev. Infect. Dis.*, **10** (Suppl. 1), S141-S146.

- Choi, K. H., Hong, J. S., Kim, S. K., Lee, D. K., Yoon, S. J. and Choi, E. C. (1997). In vitro and in vivo activities of DW-116, a new fluoroquinolone. *J. Antimicrob. Chemother.*, **39**, 509-514.
- Halkin, H. (1988). Adverse effects of the fluoroquinolones. *Rev. Infect. Dis.*, **10(Suppl. 1)**, S258-S261.
- Han, K. O., Hwang, Y. H., Lee, W. Y., Chung, Y. H., Yoon, S. J. and Lee, D. K. (1995). Efficacy of DW-116, a novel synthesized quinolone, for treatment of respiratory tract infection (RTI) and urinary tract infection (UTI). 35th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17-20, San Francisco) Abst. **F194**.
- Hwang, Y. H., Han, K. O., Lee, J., Yang, H. B., Chung, Y. H., Yoon, S. J. and Lee, D. K. (1997). In vitro and in vivo antibacterial activity of DW-116, a new quinolone antibiotic. *J. Appl. Pharmacol.*, **5**, 187-193.
- Ito, A., K. Hirai, M. Inoue, H. Koga, S. Suzue, T. Irikura and S. Mitsuhashi. (1980). In vitro antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **17**, 103-108.
- Lee, D. K. (1995) Pharmacokinetic study of a new quinolone, DW-116. *Drugs*, **49(suppl. 2)**, 323-325.
- Lee, W. Y., Hwang, Y. H., Sung, S. K., Moon, E. Y., Chung, Y. H., Yoon, S. J. and Lee, D. K. (1995). The pharmacokinetic studies of DW-116. 35th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17-20, San Francisco) Abst. **F196**.
- Ovary, Z., Caiazza, S. S. and Kojima, S. (1975). PCA reactions with mouse antibodies in mice and rats. *Inter Archs Allergy Appl. Immun.*, **48**, 16-21.
- Sato, K., Y. Matsuura, M. Inoue, T. Une, Y. Osada, H. Ogawa and S. Mitsuhashi. (1982). In vitro and in vivo activity of DL-8280, a new oxazine derivative. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **22**, 548-553.
- Wise, R., J. M. Andrews and L. J. Edwards. (1983). In vitro activity of Bay 09867, a new quinolone derivative, compared with those of other antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **23**, 559-564.
- Yoon, S. J., Chung, Y. H., Lee, C. W., Oh, Y. S., Choi, D. R., Kim, N. D., Lim, J. K., Jin, Y. H., Lee, D. K. and Lee, W. Y. (1997). Synthesis, pharmacokinetics and biological activity of a series of new pyridonecarboxylic acid antibacterial agents bearing a 5-fluoro-2-pyridyl group or a 3-fluoro-4-pyridyl group at N-1, *J. Heterocyclic Chem.*, **34**, 1021-1027.