

## 가토에서 생체리듬이 겐타마이신의 약물동태에 미치는 영향

고재원 · 백채선 · 최준식  
조선대학교 약학대학

### The Effect of Circadian Rhythm on the Gentamicin Pharmacokinetics in Rabbits

Jae Won Ko, Chae Sun Baek and Jun Shik Choi

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

The effect of circadian rhythm on gentamicin pharmacokinetics was studied in rabbits who took a single intravenous 2 mg/kg dose of gentamicin at 09:00 in the morning (a.m.) and 22:00 in the evening (p.m.). A significant circadian rhythm of pharmacokinetic parameters as a function of time of day was noted in rabbits, showing lower total body clearance  $CL_t$  and higher serum area under the curve (AUC) when given in the evening. The half-life  $t_{1/2}$  was shorter in the morning ( $3.88 \pm 0.62$  h) when compared to the evening ( $4.76 \pm 0.75$  h). The AUC was greater in the evening ( $25.92 \pm 3.49$   $\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$ ) than that in the morning ( $22.42 \pm 3.42$   $\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$ ), most likely because the  $CL_t$  was significantly higher when gentamicin was given in the morning ( $0.18 \pm 0.28$  ml/hr) versus in the evening ( $0.15 \pm 0.26$  ml/hr). The  $t_{1/2}$  of gentamicin in the evening was increased significantly ( $p < 0.05$ ) compared to those of gentamicin in the morning. It is reasonable to consider individual circadian rhythm for effective dosage regimen of gentamicin in clinical chronotherapeutics.

□ Keywords – Pharmacokinetics, Circadian rhythm, Gentamicin, Dosage regimen, Rabbits

질병의 효율적인 치료를 위해서, 약물의 적절한 투여시간과 투여용량이 필요하며, 약물효과에 대한 투여시간 의존성은 개인의 일주기 리듬 (circadian rhythm)에 의한 개체차가 많다.<sup>1)</sup> 일주기 생체리듬에 의해 혈압, 여러 생리적 반응, 혈액 성분 및 요량의 변화 등이 일어나며, 이러한 변화는 약물의 흡수, 분포, 대사 및 배설에 영향을 준다.<sup>2,3)</sup> 일주기 리듬에 의한 시간 약물동태학에 대한 주 관심은 약물의 흡수, 대사와 신 배설에 따른 변화이며, 이는 일주기 리듬에 따라 간약물대사효소, 신혈류량, 사구체여과율, 뇨량 및 체액, pH 및 이온상태 등이 변화하기 때문이다.<sup>4)</sup>

일주기 리듬의 영향에 관한 Radzialowski 등<sup>5)</sup>의 쥐에서 간약물대사의 일주기 변화의 보고 이래, 프로프라놀롤,<sup>6)</sup> 아스피린,<sup>7)</sup> 에리스로마이신,<sup>8)</sup> 미다졸람,<sup>9)</sup> 노르트리프티린<sup>10)</sup>, 반코마이신<sup>11)</sup>은 오전 투여가 저녁 투여보다 최고혈청농도와 혈청농도곡선하면적이 증가하였

고, 크롤라제페이트,<sup>12)</sup> 테오필린,<sup>13)</sup> 발프로산<sup>14)</sup>은 오전 투여 때 최고혈청농도 도달시간과 반감기가 짧아졌으며, 시스플라스틴,<sup>15)</sup> 아세트아미노펜<sup>16)</sup>은 오전에 요중 배설이 더 증가하였다고 보고하였다. 국내에서는 최 등의 반코마이신의 시간약물동태학<sup>16)</sup>과 계절리듬이 겐타마이신의 약물동태<sup>17)</sup>에 미치는 영향 등이 보고되고 있다.

일반적으로 약물 투여시간과 투여용량은 개인의 생체리듬을 무시하고 관습적으로 처방되고 있으나, 안전역이 좁은 약물의 경우 생체리듬의 영향을 고려함으로써 보다 안전하고 효율적인 치료를 할 수 있다.

겐타마이신은 아미노배당체계 항생제로 호기성 그람 음성균 감염의 치료에 사용되며 *E. coli*, *Proteus*속, *Providencia*속, *Klebsiella*속, *Actinobacter*속, *Pseudomonas*속, *Serratia*속 등에 유효하다.<sup>18,19)</sup> 치료혈청농도는 peak 농도가 5-10  $\mu\text{g/ml}$ , trough 농도가  $< 2.0$   $\mu\text{g/ml}$ 이고, peak 농도가 12  $\mu\text{g/ml}$  이상 또는 trough 농도가 2  $\mu\text{g/ml}$  이상일 때 약물이 조직에 축적되어 신독성과 이독성을 유발하게 된다.<sup>20,21)</sup> 겐타마이신은 신기능이 정상일 경우에 반감기가 보통 0.7-4시간으로 약물투여 후 이틀 후면 항정상태(steady-state)에 도달하

교신저자: 최준식

광주광역시 광역구 동구 서석동 375

조선대학교 약학대학

TEL: 062-230-9214, FAX: 062-222-5414

게 되므로<sup>22)</sup> 이때 peak와 trough 농도를 측정하여 용량을 결정하는 것이 안전하다. 또한 겐타마이신은 대부분 신장으로 배설되기 때문에 신기능이 저하된 환자인 경우에는 주의 깊은 혈중농도 검사가 필요하고, 투석을 받고 있는 경우라면 투석막에서의 약물소실도 고려하여 투여계획을 세워야 한다.<sup>23)</sup>

이와같이 겐타마이신은 안전역이 좁고 개인에 따라 약물동태학적 특성이 다양하기 때문에 부작용을 최소화하고 치료효과를 높이기 위해, 오전과 저녁에 각각 투여한 후 생체 리듬의 영향을 검토하여, 임상에서 효율적이고 합리적인 투여계획을 위한 기초자료로 삼고자 한다.

## 실험방법

### 시약 및 기기

겐타마이신은 유한양행(주) 80 mg 바이알을, 생리식염수는 중외제약(주) 100 ml pack을 사용하였으며, 시약은 TDx-FLX wedge 겐타마이신시약, 겐타마이신 calibrator, 겐타마이신 control 및 X-systems dilution buffer용액은 Abbott Lab.을 사용하였다. 기기로는 TDx-FLX 분석기 (Abbott Lab., TM, USA), 등속주입펌프 (Abbott Lab., Plum XL, USA), 원심분리기 (X-system 226658, Abbott Lab.) 등을 사용하였다.

### 실험동물

체중  $2.2 \pm 0.2$  kg 전후의 흰색 토끼를 암수 구별없이, 실험전 약 1주일 동안 일정한 사료와 수돗물을 자유로이 마실 수 있게 하면서 사육하였다. 실험동물은 오전 9시 투여군(a.m.)과 저녁 10시 투여군(p.m.) 각각 8마리로 하여, 실험전 24시간 절식시켜 사용하였으며 절식 기간 동안에는 수돗물을 자유로이 마시게 하였다.

### 약물투여 및 채혈

가토를 25% 우레탄, 4 ml/kg을 피하주사하여 마취시켜(오전과 저녁 같은조건) 고정대에 고정시킨 다음, 겐타마이신 80 mg/2 ml를 20 mg/20 ml의 농도로 Saline으로 희석하여 2 mg/kg의 양으로 귀정맥에 투여하였다. 우측 대퇴동맥에 폴리에틸렌관 (22 Ga)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 헤파린 (75 U/ml)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량 만큼의 생리 식염수를 등속주입 펌프(Sage Instruments사의 Model 341B)를 통하여 보충해 주었다. 요는 양측 요관에 폴리에틸관(21 Ga)을 삽입하여 요를 채취하였다.

혈액은 투여후 7분, 15분, 30분, 1, 2, 4, 6, 8, 10 및 12시간에 1 ml를 채혈하여 13,000 rpm에서 10분간

원심분리하여 혈청을 취해 분석시까지  $-30^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관하였다. 요는 0-4, 4-8, 8-12, 및 12-24시간에 각각 배설된 총량을 기재하고 원심분리 후 상등액 0.1 ml를 취해 증류수 1 ml를 넣어 희석한 후 그 중에서 0.2 ml를 취하여 분석 시까지  $-30^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다.

### 혈청중 겐타마이신농도 분석

혈청중 겐타마이신농도는 Jolley의 방법<sup>24)</sup>인 fluorescence polarization immunoassay법으로 TDx-FLX 분석기를 이용하여 분석하였다. 검체 carousel을 선택하여 검체 cartridge와 cuvet을 준비한 후, 환자의 혈청을 각각 200  $\mu\text{l}$ 씩 거품이 생기지 않도록 cartridge에 넣었다. 여기에 TDx-FLX wedge시약인 겐타마이신 항혈청, 겐타마이신 fluorescence tracer, 단백질 안정화 및 유화제를 넣어 fluorescence polarization을 측정하였다. 검량곡선은 0, 0.5, 1.5, 3.0, 6.0 및, 10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 해당하는 농도를 위의 방법과 동일하게 미리 반복 측정하였다. 측정 할 수 있는 한계농도는 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다.

### 약물동태학 분석

약물동태학 파라메타는 겐타마이신의 혈중농도 추이는 2-컴파트먼트 모델을 나타내었으며 비선형 최소자승회귀법 (nonlinear least square regression)으로 분석하였다. 이때 분석은 MULTI program을 이용하여, simple method로 fitting하여 AIC (Akaike's information criterion)값이 낮을 때의 파라메타값을 출력하였다. 겐타마이신의 약물동태학 파라메타는 다음식으로 구하였다.

$$\begin{aligned} t_{1/2} &= 0.693/\beta \\ CL_t &= D/AUC \\ V_d &= CL_t/k=D/Co \end{aligned}$$

$$F(\%) = \frac{AUC_{pm}}{AUC_{am}} \times 100 \quad (\text{pm: evening, am: morning})$$

AUC = Trapezoidal rule을 적용하였다

$t_{1/2}$  : half-life (hr)

$CL_t$  : total body clearance (ml/min)

D : dose (mg)

AUC : area under the serum level-time curve ( $\mu\text{g}/\text{ml} \cdot \text{hr}$ )

$V_{dss}$  : volume of distribution at steady-state (L)

F : ratio of AUC in a.m. per p.m. (%)

### 통계처리

겐타마이신의 약물동태학 파라메타들에 대한 유의성

검정은 paired Student's t-test를 사용하였고 p 값이 0.05보다 작을 때 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

### 실험결과

#### 겐타마이신 혈청농도

오전과 저녁에 겐타마이신 2 mg/kg을 정맥투여한후 (20초간), 가토의 평균혈청농도와 그리고 평균 혈청 농도-시간곡선은 Fig. 1에 나타내었다. 오전과 저녁에 투여시 혈청농도에 차이를 나타내고 있으며, 평균 혈청농도는 오전 투여에 비해서 저녁 투여시 6-12 h에서 유의성있게 증가되었다(p=0.046).

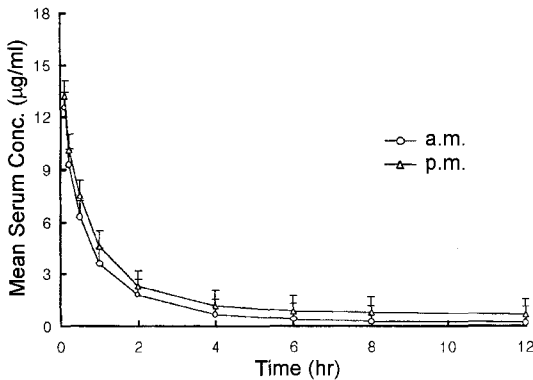


Fig. 1. Mean arterial serum concentration-time profiles of gentamicin after intravenous administration of the drug, 2 mg/kg, to rabbits in p.m. (△) and a.m. (○). Bars represent standard deviation

Table 1. Mean pharmacokinetic parameters of gentamicin after a single dose of gentamicin

Parameters	2.52 ± 0.36	#2.35 ± 0.31
β (hr <sup>-1</sup> )	0.18 ± 0.04	0.14 ± 0.03
t <sub>1/2</sub> (hr)	3.88 ± 0.62*	4.76 ± 0.75
V <sub>dss</sub> (L)	0.79 ± 0.22	0.80 ± 0.19
CL <sub>t</sub> (ml/hr)	0.18 ± 0.28*	0.15 ± 0.26
AUC (µg/ml · hr)	22.42 ± 3.42	25.92 ± 3.49
F (%)	100	115.6

#: mean value ± SD

\*: p<0.05

α: distribution rate constant, β: elimination rate constant, k<sub>12</sub>: distribution rate constant for transfer of drug from central to peripheral compartment, k<sub>21</sub>: distribution rate constant for transfer of drug from peripheral to central compartment, k<sub>10</sub>: elimination rate constant from central compartment, V<sub>dss</sub>: volume of distribution at steady state, CL<sub>t</sub>: total body clearance, AUC: area under the curve, Bio: comparative bioavailability

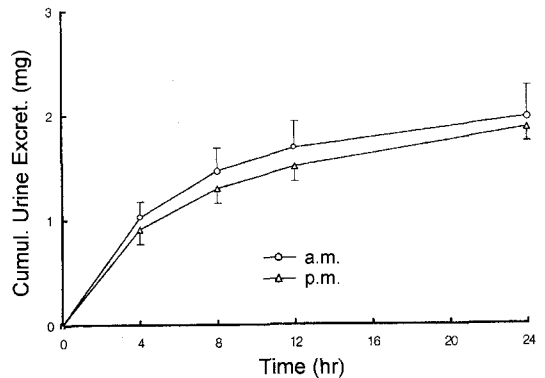


Fig. 2. Mean cumulative urinary excretion (mg) of gentamicin after intravenous administration of the drug to rabbits in a.m. (○) and p.m. (△). Bars represent standard deviation

#### 약물동태학 파라메타

오전과 저녁에 겐타마이신 2 mg/kg을 가토에 정맥 투여한 후, 약물동태학 파라메타를 Table 1에 나타내었다. 약물동태학 파라메타는 생체리듬에 따라 차이를 보여주었다. 평균 반감기는 저녁 투여시 4.76±0.75 hr으로 오전 투여시 3.88±0.62 hr보다 연장되었으며, 평균 혈중농도곡선하면적값은 오전 투여시 22.42±3.42 µg/ml · hr에서 저녁 투여시 25.92±3.49 µg/ml · hr으로 증가되었으나 유의성은 없었다(p=0.068). 평균 전신 클리어런스는 오전 투여시 0.18±0.26 ml/hr에서 저녁 투여시는 0.15±0.24 ml/hr로 유의성있게 감소되었다 (P=0.042).

#### 겐타마이신의 뇨중배설

오전과 저녁에 각각 투여된 가토에서 겐타마이신의 뇨중 누적배설량은 Fig. 2와 같았다. 오전에 투여된 군에서 12시간까지 배설된 평균 누적량은 1.97±0.35 mg이었으며, 저녁에 투여된 군에서는 1.81±0.31 mg으로 유의성은 없었다(p=0.068).

### 고찰

임상에서 안전역이 좁은 약물의 투여에 있어 약물 효과에 대한 생체리듬에 대한 개체차이를 고려해 볼 수 있다. 이 개체차는 유전적인 것과<sup>25)</sup> 나이와 성별, 식 사<sup>26)</sup>, 흡연<sup>27)</sup> 각종 질병, 병용약물<sup>28)</sup> 약물 투여시간과 투여경로<sup>15)</sup> 계절, 여성의 성주기 및 생체리듬<sup>29)</sup> 등에 영향이 있다. 이 생체 일주기 리듬이 약물의 흡수<sup>13),30)</sup> 분포<sup>31)</sup> 대사<sup>32)</sup> 및 배설<sup>33)</sup>에 영향을 주어 약물효과에 변화를 가져올 수 있다. 특히 간 마이크로솜효소의 활성 증가는 일주기 리듬에 영향을 주어 간대사효소에

영향을 받는 약물의 경우, 클리어란스가 증가하고 반감기가 짧아진다.<sup>5),34),35)</sup>

시간 약물동태학은 약물효과의 시간에 따른 변화, 생체 일주기 리듬과 나이 등의 생리적 변화에 의한 약물의 효과를 연구하여 질병의 치료와 예방에 응용한다. 천식, 암환자 및 정신분열증 환자의 생체리듬은 질병 치료에 큰 영향을 주는 것으로 보고되고 있다.

젠타마이신을 가토에 오전과 저녁에 각각 정맥투여한 후 약물동태학 파라메타들을 비교한 결과, 평균 혈청농도는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시 6-12시간에서 유의성있게 증가되었다( $p < 0.05$ ). 평균 혈중농도곡선하면적값(AUC)은 오전 투여시보다 저녁 투여시 증가하였으며, 뇨중배설은 오전투여시 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었다. 평균 전신클리어런스는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시에 유의성있게( $p < 0.05$ ) 감소되어 생물학적 반감기가 유의성있게 연장되었다. 이상의 연구결과는 저녁 투여 때 크롤라제페이트,<sup>13)</sup> 테오필린,<sup>14)</sup> 발프로산<sup>15)</sup> 등의 반감기가 연장되었다는 보고와 일치하였으며, 프로프롤롤,<sup>6)</sup> 아스피린,<sup>7)</sup> 에리스로마이신,<sup>8)</sup> 미다졸람,<sup>9)</sup> 노르트립티린<sup>10)</sup> 등의 오전 투여가 저녁 투여보다 혈중농도곡선하면적이 증가하였다는 보고와 그리고 시스플라틴,<sup>15)</sup> 아세트아미노펜<sup>16)</sup> 등의 보고와는 상반되었다.

이상의 결과로부터 젠타마이신의 오전과 저녁 투여시 평균 혈청농도, 평균 전신클리어런스와 생물학적 반감기는 생체리듬에 따라 유의성있는 차이 ( $p < 0.05$ )를 나타내었다. 정상상태보다는 특히 질병상태에서는 환자에 따라 더 큰 차이가 있을 것으로 사료되며 젠타마이신은 안전역이 좁고 개인에 따라 약물동태학적 특성이 다양하기 때문에 생체리듬의 영향을 검토하여 임상에서 안전하고 합리적인 치료를 위해서는 개체에 따라 약물 투여시간과 투여용량 등을 고려해보는 것도 바람직하다고 사료된다.

## 결 론

젠타마이신(2 mg/ml)을 가토에 오전(09:00시)과 저녁(22:00시)에 정맥투여한 후 비선형 최소자승회귀분석에 의한 약물동태학 파라메타들을 비교한 결과는 다음과 같다.

1. 젠타마이신의 평균 혈청농도는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시 6-12시간에서 유의성있게 증가되었다 ( $p < 0.05$ ).
2. 평균 혈청농도곡선하면적(AUC)은 저녁 투여시에 증가하였으며( $p < 0.05$ ), 뇨중 배설은 오전투여시 증가하는 경향이 있으나 각각 유의성은 없었다.
3. 젠타마이신의 평균 전신클리어런스는 오전 투여

시에 비해서 저녁 투여시에 유의성있게 ( $p < 0.05$ ) 감소 되었으므로 생물학적 반감기는 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 연장되었다.

## 문 헌

1. Halberg F. and Halberg E. Chronopharmacology and further steps toward chronotherapy. Pharmacokinetic basis for drug treatment. edited by Benet. L.Z. Raven press., 1984; 225-248
2. Halberg F. Chronobiology. Ann Rev Physiol 1969; 31: 675-725
3. Vukelich M., Hrushesky W., Halberg F., et al. Elevated circadian mesor of pulse in recumbency predicts doxorubin-induced congestive heart failure. Int J Chronobiol 1981; 7: 344-349
4. Beckett A.H., Rowland M. Rhythmic urinary excretion of amphetamine in man. Nature 1964; 293: 203-208
5. Radzialowski F. Bousquet W. Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in rat and mouse. J Pharmacol Exp Ther 1968; 163: 229-238
6. Markiewicz A., Semenowicz K., Korczynska J., et al. In recent advances in the chronobiology of allergy and immunology, edited by Smolensky, M.H., Pergamon press, Oxford 1980; 185-193
7. Markiewicz A., Semenowicz K. Time dependent changes in the pharmacokinetics of aspirin. J Clin Pharmacol Biopharm 1982; 32: 330-339
8. Disanto A., Chodos D., Halberg F. Chronobioavailability of three erythromycin test preparations assessed by each of 4 indices, time to peak, peak, nadir, area. Chronobiol 1975; 2(Suppl. 1): 17-24
9. Klotz U., Ziegler G. Physiologic and temporal variation in hepatic elimination of midazolam. Clin Pharmacol Ther 1982; 32: 107-112
10. Nakano S., Hollister I.E. No circadian effect on nortriptyline kinetics in man. Clin Pharmacol Ther 1978; 23: 199-203
11. Choi J.S., You J.S., Choi B.C. Chronopharmacokinetics of vancomycin in normal volunteers. Kor J Clin Pharm 1996; 2
12. Hrushesky W., Levi F., Kennedy B.J. Cis-diamine-dichloro platinum toxicity to human kidney reduced by circadian timing. Clin Oncol 1980; 21: 45-52
13. Kyle G.M., Smolensky K., Korczynska J., et al. In recent advances in the chronobiology of allergy and immunology, edited by Smolensky, M.H., Pergamon press, Oxford 1980; 123-128
14. Loiseau P., Cenraud B., Levy R.H., et al. Diurnal variations in steady-state plasma concentration of valproic acid in epileptic patients. Clin Pharmacokint 1982; 7: 544-552
15. Hrushesky W.J.M., Borch R., et al. Circadian time dependence in cisplatin urinary kinetics. Clin Pharmacol Ther 1982; 32: 330-339
16. Mattok G.L., Mcgilveray J. The effect of food intake and sleep on absorption of acetaminophen. Rev Can

- Biol 1973; 32(Suppl.): 77-84
17. M.J. Perez de la Cruz R. Cadorniga M.C Ochoa I. Albarran chronopharmacokinetics and calcium in the prevention of gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits. *Biopharm Drug Dispos* 1998; 19: 407-412
  18. Garrison M.W., Zaske D.E., Rotschafer J.C. Aminoglycosides: another perspective, *DICP Ann Pharmacother* 1990; 24: 267-272
  19. Bisno A.L., Dismukes W.E., Durack D.T. Antimicrobial treatment of infective endocarditis due to viridans streptococci, and staphylococci. *JAMA*, 1989; 261: 1471-1477
  20. Moore R.D., Smith C.R., Lietman P.S. The association of aminoglycoside plasma levels with mortality in patients with gram negative bacteremia. *J Infect Dis* 1984; 149: 43-48
  21. Powell S.H., Thompson W.L., Luthie M.A. Once daily versus continuous aminoglycoside dosing. Efficacy and toxicity in animal and clinical studies of gentamicin, netilmicin, and tobramycin. *J Infect Dis* 1983; 147: 918-932
  22. Sawchuk R.J., Zaske D.W. Kinetic model patient parameters. *Clin Pharm Ther* 1976; 21(3): 362
  23. 이민화. Gentamicin 및 tobramycin의 투약계획 설정을 위한 guideline. *J Kor Soc Hosp Pharm* 1985; 2: 1
  24. Jolley M.E. Fluorescence polarization immunoassay. Monitoring aminoglycoside antibiotics in serum and plasma. *Clin Chem* 1981; 27: 1190-1197
  25. Elin R.J., Vessel E.S., Wolff S.J. Effects of etiocholanolone-induced fever on plasma antipyrine half-life and metabolic clearance. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 17: 447-457
  26. Kappas A., Anderson K.E., Conney A.H. Influence of dietary protein and carbohydrate of antipyrine and tolbutamide metabolism in man. *Clin Pharmacol Ther* 1976; 20: 643-653
  27. Hart P., Farrel G.C., Cooksley W.G.E. Enhanced drug metabolism in cigarette smokers. *Br Med J* 1976; 2: 147-149
  28. Conney A.H. Pharmacological implication of microsomal enzyme induction. *Pharmacol Rev* 1967; 19: 317-366
  29. Reinberg A., Halberg F. Circadian chronopharmacology. *Ann Rev Pharmacol* 1971; 11: 455-492
  30. Clench J., Reinberg A., Dziewanowska Z. Circadian changes in the bioavailability and effect of indomethacin in healthy subject. *Eur J Clin Pharmacol* 1981; 20: 359-369
  31. Aymard N., Soulaire A. Chronobiological changes in pharmacokinetics of clorazepate, a benzodiazepine. edited by Reinberg, A., Pergamon press, New York. 1979; 111-116
  32. Vessel E.S., Shively C.A., Passananti G.T. Temporal variation of antipyrine half-life in man. *Clin Pharmacol Ther* 1977; 22: 843-852
  33. Shively C.A., Vessel E.S. Temporal variation of acetaminophen and phenacetin half-life in man. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 18: 413-424
  34. Holcslaw T.L., Miya T.S., Bousquet W.S. Circadian rhythm in drug action and drug metabolism in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 1975; 195: 320-332
  35. Jori A., Salle D., Santini V. Daily rhythmic variation of liver drug metabolism in rats. *Biochem Pharmacol* 1971; 20: 2965-2969