

## 세프테졸 부티로락톤 에스텔의 합성 및 생물약제학적 특성

이진환<sup>†</sup> · 박재영 · 최준식 · 고재원

조선대학교 약학대학  
(2001년 4월 18일 접수)

### Synthesis and Biopharmaceutical Properties of Ceftezole Butyrolactone Ester, a Novel Prodrug of Ceftezole

Jin Hwan Lee<sup>†</sup>, Jae young Park, Jun Shik Choi and Jae Won Ko

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea  
(Received April 18, 2001)

**ABSTRACT**—Butyrolactone ester of ceftazidime (CFZ-BL) was synthesized by esterification of ceftazidime (CFZ) with  $\alpha$ -bromo- $\gamma$ -butyrolactone. The synthesis was confirmed by spectroscopic analysis. CFZ-BL was more lipophilic than CFZ when the lipophilicity was assessed by partition coefficients between n-octanol and water at various pH. CFZ-BL itself did not show any microbiological activity *in vitro*, but serums taken after oral administration of CFZ-BL showed substantial microbiological activity indicating that CFZ-BL is converted to microbiologically active metabolite, probably CFZ, in the body. The conversion was confirmed by *in vitro* incubation study, in which CFZ-BL was incubated in some body tissues of rabbit. Liver homogenate showed fastest conversion of CFZ-BL among the tissues tested (blood and intestine). Thus, CFZ-BL appears to be rapidly metabolized in the liver to CFZ following oral administration. The metabolism process appears to be hydrolysis of the ester to CFZ, the parent drug of CFZ-BL. *In vivo* metabolism of CFZ-BL to CFZ was confirmed by analyzing CFZ by HPLC. CFZ concentration in the serum samples taken after oral administration of CFZ-BL were higher than those in the serum samples taken after oral administration of equivalent amount of CFZ. Oral bioavailability of CFZ-BL, a prodrug of CFZ, was 1.45-fold higher than that of CFZ in rabbits possibly due to enhanced lipophilicity and absorption of the prodrug.

**Keywords**—Ceftazidime butyrolactone ester, Ceftezole, Prodrug, Partition coefficient, Hydrolysis, Microbacterial activity, Pharmacokinetics.

Ceftazidime(CFZ)은 제 1세대 세팔로스포린계 항생제로 임상에서 폐혈증, 폐렴, 기관지염, 만성 호흡기 감염의 2차 감염, 신우신염 및 방광염에 사용되고 있다. 그러나 경구투여 시 위장관에서 흡수율이 낮기 때문에 임상에서는 근육 및 정맥주사로만 투여되고 있다. 또한 대부분의 세팔로스포린계 항생제도 경구투여시 위장관에서 거의 흡수가 되지 않기 때문에<sup>1-6)</sup> 이들 약물에 분자 수식, 즉 transport moiety를 도입한 prodrug을 만들어 위장관에서 흡수율을 증가시켜 경구투여가 가능하게 하고 또한 맛, 냄새, 용해도, 안정성 및 독성 등의 단점을 개선하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다.

$\beta$ -락탐계 항생제의 대표적인 prodrug으로는 암피실린을 대상으로 한 탈암피실린, 바캄피실린 및 피밤피실린 등이 있다.<sup>7,8)</sup> 탈암피실린은 암피실린에 phthalidyl를 결합시킨 것으

로 경구투여시 암피실린에 비해 생체이용률이 2.5-3배 증가하였으며,<sup>7,8)</sup> 바캄피실린은 ethoxycarbonyloxyethyl기를 결합시킨 것으로 위장관 흡수가 빨라져 생체이용률이 암피실린에 비해 1.3-1.4배 증가하였고, 항균력도 증가하였다.<sup>9)</sup> 또한 pivaloyloxymethyl기를 결합시킨 피밤피실린도 경구투여시 신속히 흡수되어 암피실린을 근육주사 했을 때와 거의 동일한 항균력을 보였다.<sup>10-12)</sup> 이러한 현상은 일반적으로 암피실린이 phthalidyl, ethoxycarbonyloxyethyl 및 pivaloyloxymethyl 기로 ester화하면 지용성이 증대되고, 또한 세포막에 잘 분배되어 이들 화합물의 위장관 흡수가 증가되기 때문이다.<sup>13-18)</sup> 그리고 piperacillin의 ethoxycarbonyloxyethyl ester도 암피실린의 prodrug의 경우와 마찬가지로 piperacillin보다 높은 흡수율을 보였다.<sup>19)</sup>

이와 같이 페니실린계 약물의 prodrug에 대해서는 그동안 많은 연구가 진행되어 왔으나,<sup>7-19)</sup> 아직도 세팔로스포린계의 prodrug에 있어서는 성공한 예가 많지 않다.<sup>20-23)</sup> Bin-

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 062)230-6364, E-mail : jhalee@chosun.ac.kr

derup 등<sup>21)</sup>은 cephaloglycin의 C<sub>4</sub>-acetoxymethyl 및 ethoxy-carbonyloxyethyl ester를 합성하여 사람에게 경구 투여했을 때 혈중농도가 cephaloglycin을 근육 주사했을 때보다도 높게 나타났다고 보고하였고, Wright<sup>22)</sup> 및 Wheeler 등<sup>23)</sup>도 유사한 결과를 보고하였다. 국내에서도 Chough 등<sup>24)</sup>이 합성한 cephalixin phthalidyl ester와 Kim 등<sup>25)</sup>이 합성한 cefoperazone phthalidyl ester, 또한 Lee 등<sup>26)</sup>이 합성한 cefazoline phthalidyl ester등은 모두 parent drug보다 위장관에서 흡수가 향상되었으며, Kang 등<sup>19)</sup>이 piperacillin에, Choi 등<sup>27)</sup>이 cefoperazone에, Ahn 등<sup>28)</sup>이 cefazoline에 pivaloyloxy methyl기를 붙여 합성한 이들 ester 화합물의 지용성이 크게 증대되었고, 가토에 경구 투여한 경우 생체이용률이 향상되었다.

이상의 보고된 연구 결과들로부터 세팔로스포린계 약물도 prodrug화 함으로서 경구투여가 가능할 것으로 사료되어 CFZ의 butyrolactone ester(CFZ-BL)를 합성하여 TLC, IR 및 NMR-스펙트럼에 의해 확인한 후, 이 합성품에 대해 유수 분배계수 실험 및 가토에서 흡수와 배설에 대한 약물동태학적 실험을 수행하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험 방법

### 시료, 시약 및 기기

CFZ-BL은 Ceftezole sodium(Sigma Chem. Co.)과  $\alpha$ -Bromo- $\gamma$ -butyrolactone(Aldrich Co.)를 사용하여 UV, IR, NMR로 순수하게 합성되었음을 확인하였고, 시약은 N,N-Dimethylformamide(DMF), diethylether, hexane, ammonium acetate, dimethylsulfoxide(DMSO), acetone, n-octanol, sodium iodide, sodium bicarbonate, ethylacetate, trichloroacetic acid(TCA), citric acid, sodium phosphate, potassium bromide, potassium chloride등 시판 특급품을 사용하였으며, 기기는 NMR(Varian, Unity plus 300 MHz, NMR Spectrometer), IR(Perkin-Elmer Model 783), HPLC 시스템은 Absorbance detector(SHIMADZU SPD-10A), Auto injector(SHIMADZU SIL-10A), Liquid chromatography(SHIMADZU LC-10AD)이었고, 등속주입 펌프(Sage Co. M210), UV 흡광측정기(Shimadzu, Model UV-240), Homogenizer(Janke & Kunkel GmbH Co. T25-SL)를 사용하였다.

### CFZ-BL 합성

Ceftezole sodium 4.62 g(0.01 mole)을 N,N-Dimethylformamide (DMF) 20 ml에 용해시키고  $\alpha$ -bromo- $\gamma$ -butyrolac-

tone 2.49 ml (0.01 mole)을 가하여 25°C에서 5시간 교반하여 반응시킨 후 반응액을 빙수(500 ml)에 교반하면서 점적하여 결정을 석출시켰다. 이 생성된 결정을 여과하여 건조시킨 후, ethylacetate 200 ml를 가하고 이 용액을 3% sodium bicarbonate 용액으로 3회 세척하였다. 분취한 ethylacetate 층에 무수 sodium sulfate를 소량 가하여 탈수시킨 후 여과하여 여액을 감압 농축 하였다. 이때 생성된 물질을 ethylacetate에 용해시킨 후 hexane(500 ml)에 교반하면서 점적시켜 생성되는 미세한 결정을 여과하여 수득을 32%의 CFZ-BL를 얻었다.

### 겉보기 유수 분배 실험

유수 분배 실험의 용매로 수상으로는 pH 1.2, 2.0 완충액은 0.2 M KCl 용액에 0.2 M HCl 용액을 적절히 가하여 pH를 조절하였으며, pH 3.0, 4.0 및 5.6 완충액은 0.1 M citric acid 용액과 0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 용액으로 조제하여 실험 하루전 n-octanol을 섞은 후 방치하여 상호 포화될 수 있도록 하였으며, 유상으로는 n-octanol을 사용하였다. 분배 실험으로는 우선 각 약물 CFZ 및 CFZ-BL을 DMSO 2 ml에 녹인 후 미리 n-octanol로 포화시킨 pH 완충액 48 ml를 가하고 충분히 교반하여 각 약물 농도가  $1 \times 10^{-3}$  M이 되도록 하였다. 그리고 이것을 rotating cell(12×13 cm)에 가하고 여기에 수상을 포화시킨 n-octanol 50 ml를 기벽을 따라 가한 후 이 rotating cell을 25°C와 36°C의 수욕 상에서 50 rpm으로 약 6시간 회전시키면서 10, 20, 30, 60, 90, 120분 및 6시간에서 n-octanol층을 각각 0.5 ml를 취하여 methanol 2 ml를 가한 후 CFZ는 272 nm에서, 그리고 CFZ-BL는 267 nm에서 각각 UV-spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량선에서 유상의 약물농도를 측정하여 분배계수를 산출하였다. 이때 평행에 도달한 시간은 12시간까지 각 시간에서 농도를 측정한 결과 6시간이내에서 충분히 평행에 도달됨을 알 수 있었다.

### 가수분해 실험

하룻밤 절식시킨 가토를 마취시킨 후 대퇴동맥에서 혈액을 채취하였으며, 간문맥을 따라 생리식염수를 관류시켜 혈액을 제거한 후 간을 절취하였고 또한 소장을 절취한 후 생리식염수로 세척하였다. 절취한 간과 소장 2.5 g에 1.15% KCl/0.01 M 인산 완충액(pH 7.6) 10 ml를 각각 넣어 빙냉 하에서 homogenizer를 이용하여 균질화한 다음, 4°C에서 12,000 rpm로 20분간 원심 분리하여 상정액을 얻었으며 혈액도 같은 조건으로 원심 분리하여 냉장 보관하였다. CFZ-BL 1.0 mg을 DMSO 0.5 ml에 용해하고 위의 상정액 5 ml

를 가한 후 37°C에서 incubation하였다. 간은 5, 10, 30, 60분에서, 혈액 및 소장은 10, 30, 60, 120, 180분에서 각각 0.2 ml의 검액을 취해 CFZ 농도를 HPLC로 측정 한 후, CFZ-BL 잔존백분율 = 100 - CFZ 가수분해율(%)로 산출하였다.

이때 HPLC 조건은 다음과 같았다. 컬럼은  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(4.6 mm×25 cm, 5  $\mu$ m particle size)를, 이동상은 0.03 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 4.8): 메탄올 혼합액(83:17, v/v)을 사용하였으며, 유속은 1.2 ml/min으로 그리고 검출은 272 nm에서 하였다.

### 항균력 실험

CFZ-BL의 항균력을 평가하기 위하여 균주는 시료에 감수성이 큰 것으로 알려진 그람 양성세균인 *Bacillus subtilis* ATCC 6633을 한국과학기술원 부설 유전자 은행에서 분양 받아 사용하였다. 시험균주의 균배양 및 검정 plate용으로 영양 한천배지(Nutrient agar: peptone 5 g, beef extract 3 g, distilled water 1 L)를 사용하였다. *Bacillus subtilis*를 영양 한천배지에 접종 도말한 후에 paper disk(8 mm 직경, Toyo Co.)에 시료 40  $\mu$ l씩을 적서 올려 놓고, 37 ± 1°C에서 24시간 배양한 후 균발육억제환의 크기를 측정하였다.

시료는 먼저 *in vitro*에서 CFZ-BL의 항균력을 측정하기 위하여, CFZ-BL 1.0 mg을 DMSO 0.5 ml에 용해하고 CFZ-BL가 50 mcg/ml가 되도록 생리식염액을 가하여 항균력 실험을 하였으며, *in vivo*에서 CFZ-BL의 항균력은 약물동태학 실험과 같이 CFZ-BL를 가토에 경구투여 후 0.5, 1, 2, 5, 9 및 12시간에서 혈청을 채취하여 위에서 설명한 한국 항생물질 의약품 기준에 준하여 disk 평판법에 따라 항균력 실험을 실시하였다.

### 약물동태학 실험

**실험 동물 및 처치** - 일정한 조건하에서 사육한 체중 2.0 kg 전후의 웅성 가토를 물은 자유로이 공급하면서 24 시간 절식시킨 후 체중당 4 ml의 25% 우레탄 용액을 피하 주사하여 마취시킨 후 고정대에 고정하여 우측 대퇴동맥에 폴리 에칠렌관(22gagc)을 삽입하여 혈액을 채취하였다. 그리고 채취한 혈액량 만큼의 생리식염수를 등속 주입 펌프를 통해 보충해 주었다.

**약물투여 및 혈액채취** - CFZ-BL의 약물동태학적 특성을 CFZ와 비교 평가를 하기 위해 가토에 경구 투여하였다. 투여량은 토끼 체중당 CFZ는 150 mg/kg을 그리고 CFZ-BL는 171 mg/kg(CFZ 150 mg/kg 해당하는 양)을 약 10 ml의 증류수에 잘 현탁시킨 후 카테터를 통해 주입하였다.

혈액 채취는 경구투여한 후 0.5, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 18 및 24시간에서 1 ml의 혈액을 채취하여 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리한 후 HPLC로 분석할 때까지 냉동고에 보관하였다.

**혈청, 간 및 소장 추출액 중 CFZ의 정량** - 혈청, 간 및 소장 추출액 중 CFZ 농도는 Martin등<sup>29)</sup>의 방법을 약간 수정한 HPLC 방법으로 정량하였다. 혈청, 간 및 소장 추출액을 각각 0.2 ml 취한 후 6% TCA용액 0.2 ml를 가하여 제단백하고, 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상정액을 얻은 후, 이것을 다시 0.45  $\mu$ m 멤브레인필터로 여과하여, 그 여과액 25  $\mu$ l를 HPLC에 주입하였다.

### 약물동태학적 분석

**가토에 CFZ 및 CFZ-BL를 각각 투여한 후 얻은 혈청농도** - 시간곡선으로 부터 1-compartment model에 fitting하여 약물동태학적 파라메터를 구하였다. 이때 분석은 MULTI program을 이용하여, Simplex method로 fitting하여 AIC가 가장 낮을 때의 값을 출력하였다. 두 약물간의 측정치에 대한 유의성 검정은 unpaired Student's *t*-test로 하였으며, *p* < 0.05인 경우를 유의성이 있는 것으로 하였다.

## 결 과

### CFZ-BL의 확인

**TLC** - CFZ로부터 CFZ-BL의 합성 과정 중 CFZ-BL 생성을 확인하기 위해 반응물을 모세관을 사용하여 silica gel 60F<sub>254</sub>에 spot한 후, benzene: tetrahydrofuran: methanol 혼합용매(4:2:1, v/v/v)로 전개하여 자외선 등을 조사하여 확인한 결과, 합성품의 R<sub>f</sub>값은 0.55이었다.

**IR-Spectrum** - IR-spectrum의 1782 cm<sup>-1</sup>에서  $\beta$ -lactam의 carbonyl기가, 1731 cm<sup>-1</sup>에서 ester의 carbonyl기가, 1701 cm<sup>-1</sup>에서 butyrolactone의 carbonyl기가 그리고 1626 cm<sup>-1</sup>에서 -NHCO-기가 나타났다.

**NMR Spectrum** - Butyrolactone ester의 lactone기의 proton이 2.23-2.39, 2.64-2.72, 4.29-4.45, 4.54-4.58 ppm에서 각각 나타났으며, -CH<sub>2</sub>S-의 proton은 3.40와 3.50 ppm에서, -CONH의 proton은 9.52 ppm, tetrazole-H의 proton은 9.55 ppm에서 나타났다. 따라서 목적 물질인 CFZ-BL가 합성되었음을 확인할 수 있었다.

### 물리화학적 실험

**겔보기 유수 분배 실험** - 유수계면에서의 약물 분자의 이행 현상은 다음과 같은 가역 과정으로 요약할 수 있다.



이때,  $K_f$ 는 정반응 속도상수이고  $K_b$ 는 역반응 속도상수이다. 여기서 수용액 층의 약물의 초농도를  $(C_w)_i$ , 임의의 시간  $t$ 에서의 *n*-octanol층의 약물농도를  $(C_o)_t$ , 계면 이행이 평형에 도달했을 때 *n*-octanol층의 약물 농도를  $(C_o)_{eq}$ 라고 하면, 다음과 같은 식이 얻어진다.<sup>30,31)</sup>

$$(C_o)_t = \frac{(C_w)_i \cdot K_f}{K_f + K_b} (1 - e^{-(K_f + K_b)t}) \quad (2)$$

$$\log[(C_o)_{eq} - (C_o)_t] = -\frac{(K_f + K_b)}{2.303} t + \log(C_o)_{eq}$$

또, 시간  $t$ 에 대해  $\log[(C_o)_{eq} - (C_o)_t]$ 를 plot하면 그 직선의 기울기로부터  $(K_f + K_b)$ 를 구할 수 있고, 이것을 다음 식에 대입하여  $K_f$  및  $K_b$ 를 구할 수 있다.

$$K_f = \frac{(C_o)_{eq} (K_f + K_b)}{(C_w)_i} \quad (4)$$

$$K_b = (K_f + K_b) - K_f \quad (5)$$

한편, 평형 상태에서의 분배계수 PC는 다음 식에서 구할 수 있다.

$$PC = \frac{K_f}{K_b} \quad (6)$$

CFZ는 pH 1.2-2.0 범위에서 분배계수가 높았으며, CFZ-BL는 pH 2.0-3.0에서 분배계수가 가장 높았다. CFZ-BL의 분배계수가 25°C 및 36°C에서 CFZ에 비해 5-30배 이상 높게 나타났다(Figure 1).

**가수분해**

간 추출물에서 5분에서 CFZ-BL의 잔존량이 56.2%로 43.8% 가수분해되었으며, 10분에서 65.5%, 30분에서 86.2%, 60분에서 98.0% 가수분해되었다. 혈액과 소장에서는 각각 1시간에서 39.9, 20.8%, 2시간에서 64.6, 23.8%, 3시간에서 75.5, 31.5% 가수분해되어 혈액 및 장관의 효소에 의해서도 일부 분해됨을 알 수 있었다.

시간의 경과에 따라 가수분해되고 남은 CFZ-BL의 잔존량을 로그값을 취해 시간에 따라 plot해 본 결과, 가수분해 과정은 겉보기 1차 분해과정에 따랐으며 그 분해속도상수는 간 추출물에서는  $0.0587 \text{ min}^{-1}$ (반감기 = 11.8 min)로 가장 빨랐으며, 혈액 및 장관 내에서 각각  $0.00768$ (반감기 = 90.2

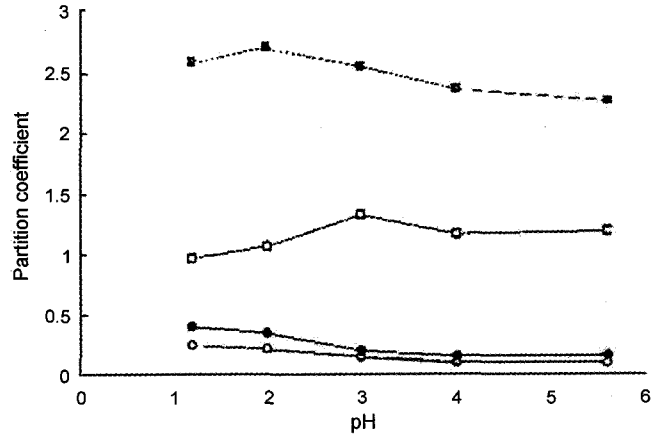


Figure 1-Apparant partition coefficients of ceftazole and ceftazole butyrolactone ester from each pH kye : □-; 25°C CFZ-BL, ■-; 36°C CFZ BL, ○-; 25°C CFZ, ●-; 36°C CFZ buffer solution to *n*-octanol at each temperature.

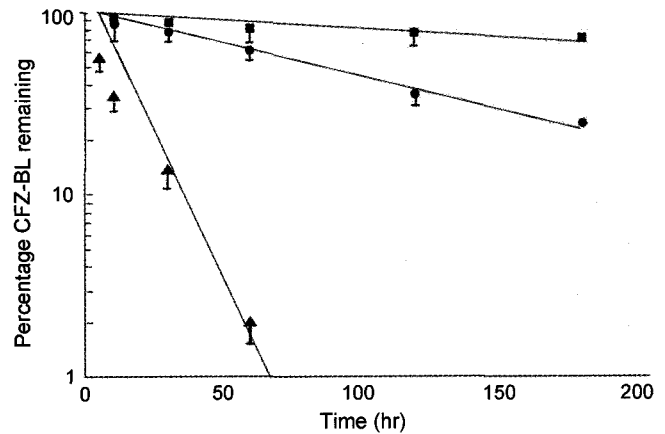
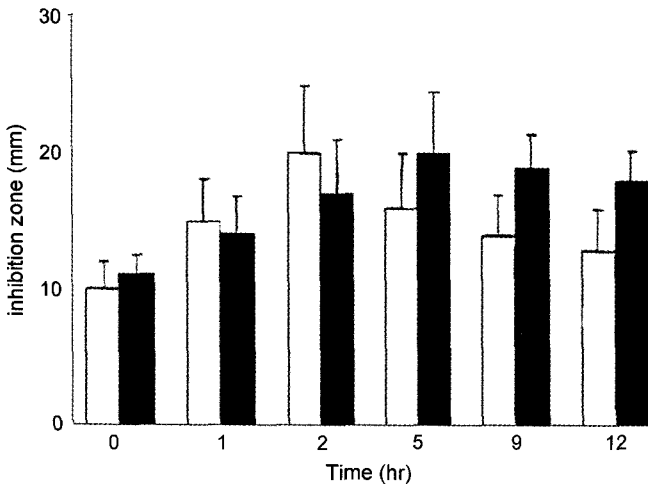


Figure 2-Apparant first-order degradation of ceftazole butyrolactone ester in rabbit's liver(▲), blood(●) and intestine(■) homogenates. Mean ± S.D.(n = 5).

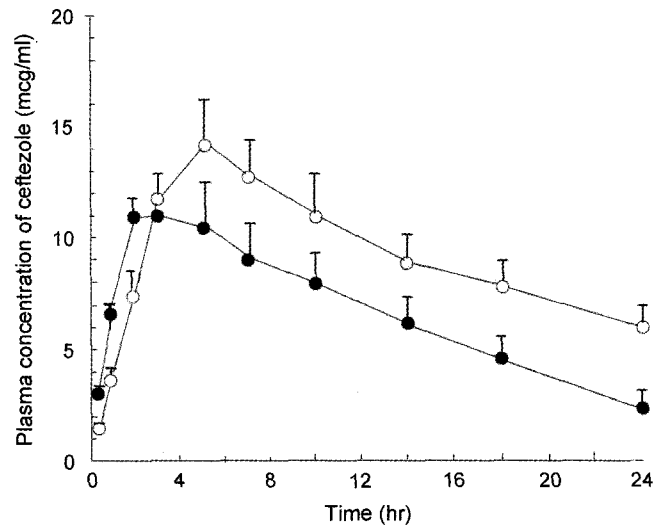
min),  $0.00158 \text{ min}^{-1}$ (반감기 = 438 min)이었다. 간에서의 가수분해속도가 혈액 및 소장 에 비해 각각 7.6, 37.2배나 빠름을 알 수 있었다. 이상에서 CFZ-BL는 생체 내에서 쉽게 가수분해하며 특히 간에서 가장 빠름을 알 수 있었다(Figure 2).

**CFZ-BL의 항균력**

CFZ-BL 항균력을 *in vitro*에서 *Bacillus subtilis* ATCC 6633균주를 이용하여 발육저지원 크기로 측정된 결과, pro-drug 자체는 항균력이 없었으나, CFZ-BL를 투여한 토끼의 혈청은 항균력을 나타내었다(Figure 3). 이로서 투여된 CFZ-BL가 체내에서 가수분해되어 CFZ를 유리하고, 이것이 항균력을 나타냄을 알 수 있었다.



**Figure 3**—Comparison of inhibition zone diameter of the serum taken after oral administration of ceftazidime(□) (150 mg/kg) and ceftazidime butyrolactone ester(■) (150 mg/kg as ceftazidime) in rabbits. Mean  $\pm$  S.D.(n = 5).



**Figure 4**—Serum concentration(mcg/ml) of ceftazidime after oral administration of ceftazidime(●) (150 mg/kg) and ceftazidime butyrolactone ester(○) (150 mg/kg as ceftazidime). Mean  $\pm$  S.D.(n = 5).

**약물동태학 분석**

가토에게 체중당 CFZ 150 mg/kg에 해당하는 CFZ 및 CFZ-BL를 경구투여 한 후 혈청농도-시간곡선을 나타내었다 (Figure 4). 이들로부터 구한 약물동태학적 파라메타는 Table I에 나타내었다. CFZ 및 CFZ-BL를 경구투여시 최고혈청농도(Cmax), 최고혈청농도 도달시간(Tmax) 및 혈청중농도곡선하면적(AUC)은 각각  $10.9 \pm 1.0$  및  $14.0 \pm 4.3$  mcg/ml ( $p < 0.05$ ),  $4.0 \pm 0.4$  및  $6.5 \pm 0.7$  hr, 그리고  $188.2 \pm 12.3$  및  $273.3 \pm 42.5$  hr  $\cdot$  mcg/ml로 나타났다. 흡수속도정수(Ka)와 소실속도 정수(Ke)는 각각  $0.518 \pm 0.069$  및  $0.312 \pm 0.042$  hr<sup>-1</sup>,  $0.0974 \pm 0.010$  및  $0.061 \pm 0.035$  hr이었다. CFZ-BL의 상대적 생체이용률은 CFZ의 약 1.45배 증가되었다.

**고 찰**

Cephalosporin은 penicillin보다 안정성이 좋으나 경구용 활성이 매우 낮은 특성을 가지고 있다. Cephalosporin의 경구흡수도는 C-3 위치의 변화에 커다란 영향을 받는데, 경구용 cephalosporin 항생제가 지닌 공통적 치환기들은 methyl,

methoxy, chloro, vinyl기 등 비교적 작은 치환기들을 가지며 대부분 지용성 성질을 갖고 있는데, C-3 위치의 methyl기를 극성인 chloro기나 methoxyl기로 치환시키면 경구흡수성이 유지되면서 항균력은 증가되어 나타난다.<sup>32-34</sup> 경구용 cephalosporin의 구조적 특징은 예외적으로 cephaloglycin이 C-3 위치에 acetoxymethyl기를 가지고 있지만,<sup>21)</sup> 대체로 C-3 위치에 leaving group이 없다는 점이다.

따라서 새로운 경구용 cephalosporin 유도체의 개발동향은 기존의 경구용 항생제에서 흔히 사용된 C-7 위치의 phenylglycyl기나 hydroxyphenylglycyl기 대신 항균력 및 세균에 대한 침투력이 강화된 aminothiazole과  $\beta$ -lactamase에 대한 저항성이 증가된 methoxyimino기로 치환되면서 C-3 위치는 다양하게 변화되어 bulky한 group으로 치환되고, C-3 위치의 산기를 ester화 시켜주면 염의 형태보다 훨씬 안정화되어 산에 의해 잘 분해되지 않으며 경구흡수도를 증가시킬 수 있는 사실을 기반으로 C-4 위치를 ester로 prodrug화 한 경구용 cephalosporin 항생제가 개발 중이므로 폭 넓은 항균 spectrum과 항균력 및  $\beta$ -lactamase에 대한 저항성을 향상시키고 있다.

**Table I**—Pharmacokinetic Parameters of Ceftazidime and Ceftazidime Butyrolactone Ester in Rabbit

Sample	Pharmacokinetic parameters					
	Cmax (mcg/ml)	Tmax (hr)	AUC (hr.mcg/ml)	Ka(hr <sup>-1</sup> )	Kel(hr <sup>-1</sup> )	F(%)
CFZ	$10.9 \pm 1.0$	$4.0 \pm 0.4$	$188.2 \pm 12.3$	$0.518 \pm 0.069$	$0.097 \pm 0.010$	100
CFZ-BL	$14.0 \pm 4.3^{**}$	$6.5 \pm 0.7^{**}$	$273.3 \pm 42.5^{++}$	$0.312 \pm 0.042$	$0.061 \pm 0.035$	145

Mean  $\pm$  S.E.(n = 5). Significantly different from the CFZ (\*\* $p < 0.01$ )  
F : Relative bioavailability to oral CFZ

경구용 탁탐계 항생물질의 경구흡수를 증가시키기 위한 방법으로 C-3 위치의 carboxyl기를 변화시켜 prodrug 형태로 전환시키는 방법이 있는데, 이때 얻어진 prodrug은 다음 조건이 충족되어야 한다. 첫째, 경구용으로 투여되어 위장관에서 흡수되어야 한다. 둘째, 혈중에서 본래의 parent drug으로 전환되어야 한다.

이러한 prodrug에 대한 연구를 종합하여 간추려 보면 1970년에는 Daehne 등<sup>35)</sup>이 ampicillin의 C-3 위치에 acyloxymethyl ester들을 합성하였는데 그 중 pivaloyloxymethyl ester 형태인 pivampicillin이 ampicillin 보다 훨씬 경구흡수도가 좋았으며, 흡수 후 빠르게 가수분해되어 parent drug로 전환되어 혈액 및 조직에서 높은 농도를 나타냈다고 보고하였다. 또한 ampicillin의 C-3 위치에 또 다른 형태의 prodrug으로서는 ethylisopropylcarbamate ester(bacampicillin),<sup>9)</sup> phthalidyl ester(talampicillin),<sup>8)</sup> (3-phthalidylidene) ethyl ester<sup>36)</sup>와 (5-substituted 2-oxo-1,3-dioxolentyl) methyl ester (KBT-1585)<sup>37)</sup>도 ampicillin의 경구 흡수보다 훨씬 증가되어 나타났다고 보고했다. 그리고 Clayton 등<sup>38)</sup>은 carbenicillin의  $\alpha$ -carboxy ester들을 제조하여 가수분해 및 경구흡수도를 조사하였는데 간에서 가수분해가 잘되고 혈중농도도 높게 나타났음을 보고했고, Tsuji 등<sup>39)</sup>은 carfecillin과 carindacillin에 대한 위장관 및 구조에 따른 흡수율을 측정하였는데 parent drug보다 장내흡수가 훨씬 증가되었으며, *in situ* 상태에서 rat의 장에서는 carindacillin이 carfecillin보다 흡수율이 증가되어 나타났다고 보고하였다.

Cephalosporin에 있어서의 prodrug 형태는 Chauvette 등<sup>40)</sup>이 cephalothin의 C-4 위치의 carboxyl기에 경구적으로 active한 유도체를 만들고자 amidation과 esterfication을 하였으며, Binderup 등<sup>21)</sup>은 cephaloglycin의 acetoxymethyl, butyrolactone ester를 mouse에 경구투여 했을 때 prodrug들이 parent drug보다 신속히 흡수되어 cephaloglycin보다  $C_{max}$ 가 3-6배 증가되었음을 보고하였고, Wheeler 등<sup>23)</sup>은 cephalixin에 acetoxymethyl, butyrolactone과 phthalidyl ester들을 합성하여 쥐에 경구투여하였을 때, 위장관에서 약물이 흡수되는 정도가 parent drug보다 3-4배가 되고, 혈중농도도 prodrug이 상승된 수치를 나타냈는데 그 중 pivaloyloxymethyl ester의 prodrug이 가장 높은 혈중농도를 나타냈다고 보고하였다.

이러한 현상은 일반적으로 parent drug이 phthalidyl, butyrolactone 및 pivaloyloxymethyl ester화됨으로서 지용성이 증대되고, 또한 세포막에 잘 분배됨으로 이들 화합물의 위장관 흡수가 증가되었기 때문으로 보고되고 있다.<sup>13-19)</sup>

대부분의 약물은 소화관내로 약물이 흡수되기 위해서는

먼저 소화관내에서 용해되어야 하며, 용해된 약물이 흡수부위의 pH에서 비해리형으로 존재하는 비율이 클수록 흡수되기 쉽다. 흡수부위에서 비해리형으로 존재하는 비율은 그 흡수부위의 pH와 pKa로 결정된다. 또한 pKa가 같은 정도의 약물의 경우에는 약물간의 흡수율의 차이는 용해된 약물의 지용성에 크게 의존하고 지용성이 큰 약물일수록 흡수되기 쉽다. 이 지용성의 지표로 유수분배계수가 이용되고 있다.

CFZ-BL의 경우 걸보기 유수 분배 실험에서 CFZ에 비해 지용성이 증가했음을 알 수 있었는데, 이것은 butyrolactone 기에 의한 것으로<sup>9)</sup> CFZ-BL의 흡수를 증가시켜 CFZ 투여시 보다 혈청 CFZ 농도를 증가시켰다.

경구적으로 투여된 약물은 장관벽을 통해 혈액으로 흡수되어 혈중에 존재하는 nonspecific esterase를 포함한 많은 효소에 의해 대사를 받게 되며, 간은 약물 대사효소가 존재하므로 많은 종류의 약물분자를 신속히 대사시킬 수 있는 약물대사의 중요부위이기 때문에 간초화통과로 인해 대사를 받게 된다. 따라서 CFZ-BL에 대한 생체내로 흡수된 후의 가수분해에 대해 알아보려고 하였다. CFZ-BL 투여시 HPLC로 분석한 결과 혈청에서 CFZ-BL를 검출할 수 없었는데 이는 CFZ-BL가 위장관 및 간을 통과하면서 non-specific esterase에 의해 parent drug인 CFZ로 가수분해됨을 나타내 주는 것으로 사료되었다.<sup>41,42)</sup> 또한 항균력 실험에서도 CFZ-BL는 *in vitro*상에서 항균력을 나타내지 않은 반면, 이를 경구 투여한 혈청에서는 항균력을 나타내었는데, 이 결과도 CFZ-BL가 체내에서 가수분해되어 CFZ를 유리하고 이것이 항균력을 나타내고 있음을 보여준다.

Pharmacokinetics는 생체 내에 투여된 약물의 흡수, 분포, 대사, 배설 등 생체 내에서 약물의 변환의 속도과정을 알아 보기 위한 것으로, 약물의 물리 화학적 성질 및 투여방법이 약물의 혈중농도 이행에 영향을 미치게 되며, 생체이용률을 약물평가의 지표로 한다. 따라서 경구적으로 투여하고 평균 혈중농도와 pharmacokinetic parameter들을 얻어 서로 비교 검토하여 CFZ-BL의 생체이용률이 1.45배 증가하였다.

이상의 결과들을 볼 때 CFZ-BL는 CFZ에 비해 지용성이 증가되어 흡수가 증가되었다.

## 결 론

위장관에서 흡수가 개선된 ceftazidime(CFZ)의 prodrug을 개발 목적으로 ceftazidime butyrolactone ester(CFZ-BL)를 합성하여 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Sodium ceftazidime과  $\alpha$ -bromo- $\gamma$ -butyrolactone를 25°C

에서 반응시켜 ceftazolidime butyrolactone ester의 백색 분말을 얻어 TLC, IR, NMR을 분석하여 합성되었음을 확인하였다.

2. pH 1.2 - 5.6의 완충액 및 n-octanol을 이용한 겔보기 유/수 분배 실험으로 CFZ-BL가 CFZ에 비해 지용성이 증가하였음을 알 수 있었다.

3. 생체내에서 CFZ-BL의 가수분해과정은 겔보기 1차 분해과정에 따랐으며 그 분해속도상수는 간 추출물에서  $0.0587 \text{ min}^{-1}$ (반감기 = 11.8 min)로 가장 빨랐으며, 혈액 및 장관 내에서는 각각  $0.00768$ (반감기 = 90.2 min),  $0.00158 \text{ min}^{-1}$ (반감기 = 438 min)이었다.

4. 항균력실험으로 CFZ-BL 자체는 항균력을 나타내지 않는 반면 경구투여후 얻은 혈청은 항균력을 나타내는 것으로 보아, CFZ-BL는 생체 내에서 parent drug인 CFZ로 가수분해된 후 항균력을 나타내는 CFZ의 prodrug임을 알 수 있었다.

5. 가토 경구투여 실험에서 CFZ에 비해 CFZ-BL의 최고 혈중농도(Cmax)는  $10.9 \pm 1.0$ 에서  $14.0 \pm 4.3 \text{ mcg/ml}$ 로 높아졌고, 최고혈중농도 도달시간(Tmax)은  $4.0 \pm 0.4$ 에서  $6.5 \pm 0.7 \text{ hr}$ 로 지연되었다. 혈청중농도곡선하면적(AUC)은  $188.2 \pm 12.3$ 에서  $273.3 \pm 42.5 \text{ hr} \cdot \text{mcg/ml}$ 으로 유의성 있게( $p < 0.01$ ) 증가하여 상대적 생체이용률이 1.45배 증가하였다.

6. CFZ-BL은 CFZ의 위장관 흡수를 개선할 수 있는 경구용 prodrug임을 확인하였다.

### 감사의 말씀

이 논문은 1997년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었으며 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

- 1) H.C. Neu, Clinical uses of cephalosporins, *Lancet*, **2**, 252-255 (1982).
- 2) P. Garzone, J. Lyon and V.L. Yu, Third generation and investigational cephalosporins, *Drug Intell. Clin. Pharm.*, **17**, 507-515 (1983).
- 3) G.E. Schumacher, Pharmacokinetic and microbiologic evaluation of dosage regimens for newer cephalosporins and penicillin, *Clin. Pharm.*, **2**, 448-457 (1983).
- 4) M.N. Dudley and C.H. Nightingale, Effect of protein binding on the pharmacology of cephalosporin, Philadelphia, Francis Clarke Wood Institute for the history of Medicine pp. 227-239 (1982).
- 5) C.H. Nightingale, D.S. Greene and R. Quintiliani, Pharmacokinetics and clinical uses of cephalosporin antibiotics, *J. Pharm. Sci.*, **64**, 1899-1926 (1975).
- 6) J.M. Brogard, F. Comete and M. Pinget, Pharmacokinetics of cephalosporin antibiotics, *Antibiot. Chemother.*, **25**, 123-126 (1978).
- 7) J.P. Cayton, M. Cole, S.W. Elson and H. Ferres : BRL.8988 (Talampicillin), well absorbed oral form of ampicillin, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **5**, 670-678 (1974).
- 8) J.P. Clayton, M. Code, S.W. Elson, H. ferres, J.C. Hanson and R. Sutherland, Preparation, hydrolysis, and oral absorption of lactonyl esters of penicillins, *J. Med. Chem.*, **19**, 1385-1391 (1976).
- 9) M. Rozencweigh, M. Staquet and J. Klasterksy, Antibacterial activity and pharmacokinetics of bacampicillin, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **19**, 592-599 (1975).
- 10) W.E. Daehne, E. Frederiksen, F. Gundersen, H.J. Morch and W.O. Godtfredson, Acyloxymethyl esters of ampicillin, *J. Med. Chem.*, **13**, 607-614 (1970).
- 11) G.N. Jansen and T.J. Russell, Some novel penicillin derivatives, *J. Chem. Soc.*, **21**, 132-142 (1965).
- 12) J.C.K. Loo, E. Foltz, H. Wallick and K.C. Kwan, Pharmacokinetics of pivapicillin and ampicillin in man, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **16**, 35-43 (1974).
- 13) A.A. Alhaider, C.D. Selassie, S.O. Chua and E.J. Lien, Measurements of isoniazation constants and partition coefficients of guanazole prodrugs, *J. pharm. Sci.*, **71**, 89-94 (1982).
- 14) J.B. Houston, D.G. Upshall and J.W. Bridges, Further studies using carbamate ester as model compounds to investigate the role of lipophilicity in the gastrointestinal absorption of foreign compounds, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **195**, 67-72 (1975).
- 15) C. Hansch and J.N. Clayton, Lipophilic character and biological activity of drugs, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 1-21 (1973).
- 16) J.B. Houston, D.G. Upshall and J.W. Bridges, A reevaluation of the importance of partition coefficients in the gastrointestinal absorption of nutrients, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **189**, 244-254 (1974).
- 17) A. Tsuji, E. Miyamoto, T. Terasaki and T. Yamana, Carbenicillin prodrugs, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 403-406 (1982).
- 18) A. Tsuji, E. Miyamoto, I. Kagami, H. Sakaguch and T. Yamana, G. I. absorption of -lactam antibiotics : Kinetic assessment of competing absorption and degradation in G. I. tract, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 1701-1712 (1987).
- 19) S.A. Kang, Studies on oral absorption of piperacillin pivaloxyloxymethyl ester, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**, 49 (1988).
- 20) I. Saikawa, S. Takano, K. Momono, I. Takakura and C. Yoshida, Studies on  $\beta$ -lactam antibiotics for medicinal purpose, *Yakugaku Zasshi*, **99**, 929-935 (1979).
- 21) E. Binderup, W.O. Godtfredsen and K. Roholt, Orally active cephalolycine esters, *J. Antibiotics.*, **24**, 767-773 (1971).
- 22) W.E. Wright, W.J. Wheeler, V.D. Frogge and D.R. Finley, Orally active esters of cephalosporin antibiotics. Synthesis and biological properties of the acetoxymethyl ester of cefamandole, *J. Antibiotics.*, **32**, 1155-1160 (1979).
- 23) W.J. Wheeler, D.A. Preston, W.E. Wright, G.W. Huffman and D.P. Howard, Orally active esters of cephalosporin antibiotics.

- Synthesis and biological properties of aminoacyloxymethyl esters of 7-[D-(-)mandel-amino]-3-[(1-ethyl-1H-tetrazo-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylic acid, *J. Med. Chem.*, **22**, 657-661 (1979).
- 24) Y.S. Chough, Y.S. Choo and J.I. Yang, Availability of cephalixin phthalidyl ester as a cephalixin prodrug, *Yakhak Hoeji*, **24**, 11-14 (1980).
- 25) J.K. Kim, S.H. Choi, G.B. Park and Y.W. Choi, Pharmaceutical studies of cefoperazone phthalidyl ester, a novel prodrug of cefoperazone, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **17**, 183-188 (1987).
- 26) J.H. Lee, G.N. Kim, Synthesis and biopharmaceutical studies of cefazolin phthalidyl ester prodrug, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **23**, 61-69 (1993).
- 27) Y.W. Choi, G.B. Park, S.H. Choi and J.K. Kim, Oral absorption of cefoperazone pivaloyloxymethyl ester, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **18**, 197-201 (1988).
- 28) S.Y. Ahn, J.H. Lee, J.H. Choi and J.P. Burm, Synthesis and biopharmaceutical studies of cefazolin pivaloyloxymethyl ester, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **22**, 139-148 (1992).
- 29) C.F. Martin, L.T. Takahashi, J.L. Worsley, C.J. Hagemeyer and L.K. Hall, Analysis of sodium cefazolin in ophthalmic ointment by high performance liquid chromatography, *J. Chromato.*, **402**, 376-380 (1987).
- 30) G.E. Schumacher and J.B. Nagwekar, Kinetic and thermodynamic aspects of in vitro interface transfer of sulfonamides II, *ibid.*, **63**, 245-249 (1974).
- 31) A. Tsuji, O. Kubo and T. Yamana, Physicochemical properties of beta-lactam antibiotics: Oil water distribution, *ibid.*, **66**, 1675-1679 (1977).
- 32) R.R. Chauvette and P.A. Pennington, Chemistry of cephalosporin antibiotics. 3-Methoxy- and 3-Halo-3-cephems, *J. Med. Chem.*, **18**, 403-408 (1975).
- 33) C.W. Ryan, R.L. Simon and E.M. Heyning, Chemistry of cephalosporin antibiotics. XIII. Desacetoxyccephalosporins. The synthesis of cephalixin and some analogs, *J. Med. Chem.*, **12**, 310-313 (1969).
- 34) R.R. Chauvette, P.A. Pennington, C.W. Ryan, R.D.G. Cooper, F.L. Lose, I.G. Wright, E.M. Van Heyning and G.W. Huffman, Chemistry of cephalosporin antibiotics. XXI. conversion of penicillins to cephalixin, *J. Org. Chem.*, **36**, 1259-1267 (1971).
- 35) W.V. Daehne, E. Frederiksen, E. Gundersen, F. Lund and H.J. Petersen, Acyloxymethyl esters of ampicillin, *J. Med. Chem.*, **13**, 607-612 (1970).
- 36) F. Sakamoto, S. Ikeda and G. Tsukamoto, Studies on Prodrugs. I. Preparation and characterization of acyloxymethyl esters of ampicillin, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 2698-2707 (1984).
- 37) F. Sakamoto, S. Ikeda and G. Tsukamoto, Studies on Prodrugs. II. Preparation and characterization of (5-Substituted-2-xo-1,3-dioxolen-4-yl) methyl esters of ampicillin, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 2241-2248 (1984).
- 38) J.P. Clayton, M. Cole, S.W. Elson, K.D. Hardy, L.W. Mizen and R. Sutherland, Preparation, hydrolysis and oral absorption of -carboxy esters of carbenicillin, *J. Med. Chem.*, **18**, 172-177 (1975).
- 39) A. Tsuji, E. Miyamoto, T. Terasaki and T. Yamana, Carbenicillin prodrugs: stability kinetics of  $\alpha$ -phenyl and  $\alpha$ -indanyl esters in aqueous solution, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1259-1263 (1979).
- 40) R.R. Chauvette and E.H. Flynn, Chemistry of cephalosporin antibiotics. V. Amides and esters of cephalothin, *J. Med. Chem.*, **9**, 741-745 (1966).
- 41) Y. Shiobara, A. Tachibana, H. Watanabe and T. Sado, Phthalidyl D- $\beta$ -aminobenzyl penicillinate hydrochloride, A new orally ampicillin ester, *J. Antibiotics*, **27**, 665-673 (1974).
- 42) A. Tachibana, M. Komiya, C. Shiobara, K. Yano and H. Maeno, Absorption, distribution, metabolism and excretion of talampicillin hydrochloride, *J. Infectious Dis.*, **49**, 709-715 (1975).