

세파로스포린계 약물이 겐타마이신, 토브라마이신의 혈청중 안정성에 미치는 영향

김인화 · 이숙향 · 신현택 · 김명민* · 최경업*
서울특별시 용산구 청파동 2가 숙명여자대학교 약학대학
서울특별시 강남구 일원동 50 삼성생명과학연구소 임상약리센터*

The Effect of Cephalosporins on the Stability of Gentamicin and Tobramycin in Human Serum

In Wha Kim, Suk Hyang Lee, Hyun Taek Shin, Myung Min Kim*
and Kyung Eob Choi*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University
Chungpa-Dong 2-Ka, Yongsan-Ku, Seoul 140-742, Korea
Department of Clinical Pharmacology Research Center*
Samsung Medical Center and Samsung Biomedical Research Institute
50 Ilwon-Dong Kangnam-Ku, Seoul 135-230, Korea

The *in vitro* inactivation of gentamicin and tobramycin by four cephalosporins (cefotetan, cefuroxime, cefodizime, cefotiam) in human serum was investigated. Each cephalosporin was added to human serum samples containing gentamicin sulfate or tobramycin sulfate. Blank samples containing only aminoglycosides were used as controls. Samples were stored at -20, 4 and 25 °C and were analyzed for aminoglycoside concentrations by fluorescence polarization immunoassay (TDxFLx™ system) at 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 and 72 hours after mixing. The serum containing cefotiam stored at 25 °C showed significant inactivation of gentamicin by 12% at 72 hours. The results indicate that cefotetan, cefuroxime and cefodizime do not inactivate gentamicin and tobramycin while cefotiam inactivates gentamicin. (Kor. J. Clin. Pharm. 1996; 6(2): 28-31)

□ Keywords – Aminoglycosides, Cephalosporins, Gentamicin, Tobramycin, Cefotetan, Cefotiam, Cefuroxime, Cefodizime, Inactivation.

TDM은 안전하고 효과적인 약물치료를 위해 좁은 치료농도범위를 갖은 약물을 대상으로 시행되고 있으며 이러한 TDM 대상약물로 아미노글리코사이드계 항생제, 반코마이신, 테오필린, 디곡신 등이 있다. TDM을 시행할 때에는 환자의 혈청약물농도를 기초로 하여 약동학적 분석이 이루어지고 이를 근거로 새로운 용량이 설정되므로 측정된 약물농도는 정확해야 한다. 중증감염에 항균효과를 높이기 위해 아미노글리코사이드계 항생제와 병용되는 베타락탐계 항생제는 환자에게서 채취한 혈액 중에서 약물농도분석시간이 지연될 때 공존하는 아미노글리코사이드계 항생제를 불활성화시킬 수 있음이 보고되어 왔다^{1,2)}.

본 연구에서는 TDM을 시행하고 있는 아미노글리

코사이드계 항생제중 겐타마이신, 토브라마이신과 우리나라에서 사용되고 있는 세파로스포린계 항생제중 아미노글리코사이드계 항생제의 불활성화 여부가 밝혀지지 않은 세포테탄³⁾, 세푸록심⁴⁾, 세포티암⁵⁾, 세포디짐⁶⁾을 각각 인혈청에 혼합하여 -20, 4, 25 °C의 온도에 보관하면서 혼합 후 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72시간마다 겐타마이신과 토브라마이신의 농도를 측정하여 아미노글리코사이드계 항생제의 불활성화 여부를 관찰하였다.

실험방법

시약 및 재료

아미노글리코사이드계 항생제로는 쉐링-플라우 코리아의 황산겐타마이신(겐타신™, Lot. No. KR 6AMKC07)과 유한양행의 황산토브라마이신(황산토브라마이신™, Lot. No. 6008)을 사용하였고 세파로스포르린계 항생제로는 제일약품의 세포테탄 나트륨(아마테탄™, Lot. No. YC 6503), 신풍제약의 세푸록심 나트륨(신세프™, Lot. No. SCV 603), 한일약품의 염산세포티암(세라도란™, Lot. No. 016023) 그리고 한독약품의 세포디짐 나트륨(모디비드™, Lot. No. MOVD003)을 사용하였다. 약물은 다른 약물이 함유되지 않은 혈청에 녹였으며 분석시약은 TDx/TDxFLx™ 겐타마이신 분석시스템(Abbott Laboratories)으로 gentamicin 시약(Lot. No. 133420100), calibrators(Lot. No. 081820200), 대조시약(Lot. No. 11069200)을 사용하였고 TDx/TDxFLx™ 토브라마이신 분석시스템(Abbott Laboratories)으로 토브라마이신 시약(Lot. No. 146590100), calibrators(Lot. No. 095540100), 대조시약(Lot. No. 13764100)을 사용하였으며 Dilution buffer™(보존제로 0.1% 아지드 나트륨을 함유한 0.1 M 인산완충액, Abbott Laboratories, Lot. No. 13803M302)을 사용하였다.

기기 및 기구

분석은 fluorescence polarization immunoassay analyzer(TDxFLx™, Abbott Laboratories)을 이용하였으며 TDxFLx™ cuvettes(Lot. No. 00580), TDxFLx™ cartridges(Lot. No. 603301APT8)을 사용하였다. 기타 냉동고(-79 °C, -20 °C), Vortex genic-2™(Scientific industries, Inc. model G-560-E) 등을 이용하였다.

약물의 조제, 혼합 및 저장

겐타마이신, 토브라마이신에 약물이 함유되지 않은 혈청을 첨가하여 12 µg/ml의 용액으로 조제하였고 세포테탄, 세푸록심, 세포티암, 세포디짐도 같은 방법으로 각각 500, 300, 400, 800 µg/ml의 용액으로 조제하였다. 유리시험관에 겐타마이신, 토브라마이신 용액을 넣고 같은 용적의 세파로스포르린계 항생제의 용액을 첨가하여 2배 희석함으로써 최종농도를 각각 겐타마이신 6 µg/ml, 토브라마이신 6 µg/ml, 세포테탄 250 µg/ml, 세포티암 200 µg/ml, 세푸록심 150 µg/ml, 세포디짐 400 µg/ml이 되도록 하였다. 이들 농도는 치료혈중농도를 나타내며 세파로스포르린계 항생제의 농도는 건강인에게 고용량을 투여했을 때 나타나는 최고혈중농도이다.³⁷⁾ 혼합 즉시 용액중 일부를 취하여 아미노

글리코사이드계 항생제의 농도를 측정했으며 나머지를 에펜돌프 튜브™에 분주하여 -20 °C(냉동), 4 °C(냉장), 25 °C(실온)으로 각각 저장하였다. 각각의 온도조건하에 저장되어 있는 혼합용액을 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72시간 경과한 후 아미노글리코사이드계 항생제의 농도를 측정하였다. 대조군은 아미노글리코사이드계 항생제만을 포함한 혈청으로 하였으며 위와 동일한 방법으로 조제, 저장하여 분석하였다.

약물농도 분석

겐타마이신, 토브라마이신의 농도는 fluorescence polarization immunoassay인 TDxFLx™ 분석법(Abbott Laboratories)⁸⁾에 따라 분석하였다. 검량선은 제조회사에서 제공한 calibrator를 사용하여 TDxFLx™ 분석법에 따라 0, 2, 4, 8, 10 µg/ml의 농도를 측정하여 작성하였다. 각각의 시료의 농도는 2회 반복측정되었다.

통계학적 분석

아미노글리코사이드계 항생제의 시간경과에 따른 농도를 최초농도의 백분율로 나타내어 평균과 표준편차를 구하였다. 겐타마이신, 토브라마이신의 농도변화를 온도, 시간, 혼합한 항생제의 종류에 따라 각각 repeated measure ANOVA로 비교 분석하였다. 유의성 있는 농도감소(>10%)는 paired *t*-test로 분석하였다. 모든 통계학적 유의성은 *p* value<0.05를 기준으로 판정하였다.

결 과

겐타마이신과 토브라마이신에 세포테탄, 세푸록심, 세포티암, 세포디짐을 혼합한 후 25, 4, -20 °C로 보관하면서 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72시간에서 측정된 아미노글리코사이드계 항생제의 농도는 다음 Table 1와 같다. 겐타마이신에 세포티암을 혼합한 후 25 °C에서 72시간 보관하였을 때 농도가 12% 감소하였다(*p*<0.05). 세파로스포르린계 항생제가 혼합되지 않은 겐타마이신과 토브라마이신의 대조군을 측정할 경우, 각각 within-run 변동 추이는 4.1, 4.7%였고 between-run 변동 추이는 6.1, 5.2%이었으며 72시간 경과후에도 불활성화는 나타나지 않았다.

고 찰

본 연구결과, 저장온도와 시간경과에 따라 겐타마

Table 1. 세파로스포린계 항생제와 혼합한 후 아미노글리코사이드계 항생제의 농도변화

약물	온도 (°C)	각 약물의 저장시간 (hours)에 따른 초기농도의 %농도 ^{ab}							
		0	2	4	8	12	24	48	72
GM+ CTTN	25	100±1.92	102±1.24	102±1.31	102±0.92	102±1.06	102±1.17	101±1.41	100±1.42
	4	100±1.92	102±1.06	102±0.74	101±1.05	102±0.57	101±0.63	101±1.09	102±0.60
	-20	100±1.92	103±1.04	102±1.06	100±0.63	102±0.97	101±1.17	101±1.02	102±1.16
GM+ CTAM	25	100±1.35	94±2.05	94±1.59	95±0.99	96±1.04	97±0.96	93±2.30	88±0.73*
	4	100±1.35	96±1.59	95±0.99	96±1.04	96±1.75	98±2.15	94±1.31	89±0.77
	-20	100±1.35	96±0.84	95±0.62	95±1.89	95±1.70	98±1.22	97±0.76	91±1.11
GM+ CRXM	25	100±1.22	97±0.85	100±1.07	98±0.61	97±0.94	97±0.59	95±1.20	99±1.28
	4	100±1.22	98±2.27	103±1.51	97±0.99	96±1.41	99±1.07	109±1.12	101±0.49
	-20	100±1.22	97±0.77	101±0.47	99±0.71	97±1.25	98±0.96	97±0.80	98±1.24
GM+ CDZM	25	100±1.99	98±1.91	103±2.10	107±0.68	105±2.87	104±3.27	101±2.08	103±1.57
	4	100±1.99	105±1.13	103±2.62	107±0.81	107±1.45	105±3.11	102±1.44	104±0.60
	-20	100±1.99	104±1.50	103±4.26	108±0.47	102±2.19	108±1.83	104±3.32	106±2.66
TOB+ CTTN	25	100±1.29	100±0.62	103±1.51	102±1.25	97±0.93	100±0.81	100±1.36	97±0.92
	4	100±1.29	100±0.62	103±1.51	102±1.25	97±0.93	100±0.81	100±1.36	97±0.92
	-20	100±1.29	101±0.40	103±0.61	101±1.64	99±0.45	101±1.79	101±2.49	99±0.79
TOB+ CTAM	25	100±0.94	102±0.87	105±0.94	102±1.99	99±0.57	99±1.10	100±0.70	102±1.27
	4	100±0.94	104±0.67	105±1.57	103±0.92	100±0.43	99±0.94	103±1.46	105±0.98
	-20	100±0.94	103±0.52	104±1.25	103±1.95	100±0.87	100±1.22	102±1.30	104±0.81
TOB+ CRXM	25	100±0.99	101±1.20	101±1.30	104±1.14	99±0.68	98±1.17	103±1.17	95±1.37
	5	100±0.99	103±0.73	103±1.60	105±1.49	101±2.80	101±1.15	105±0.84	100±3.54
	-20	100±0.99	102±1.49	102±1.79	104±0.87	101±3.82	101±0.60	107±1.33	98±2.93
TOB+ CDZM	25	100±1.80	103±1.22	104±0.65	101±1.02	100±1.78	101±1.43	95±1.72	106±1.32
	4	100±1.80	102±1.03	105±0.67	104±1.93	100±1.80	100±1.50	93±3.06	109±1.02
	-25	100±1.80	101±0.96	103±1.03	102±3.21	101±1.57	101±2.06	97±1.08	107±0.84

^aRoom temperature; 25 °C, Refrigeration temperature; 4 °C, Freezing temperature; -20 °C.

^bMean ± standard deviation. *Significant inactivation (>10%).

GM; Gentamicin, TOB; Tobramycin, CTTN; Cefotetan, CTAM; Cefotiam, CRXM; Cefuroxime, CDZM; Cefodizime

이신과 토브라마이신의 농도변화가 통계학적으로 유의성있는 ($p < 0.05$) 차이를 나타낸 것도 있었으나 Fluorescence Polarization Immunoassay의 정밀도가 $\pm 10\%$ 인 것을 감안하면 아미노글리코사이드계 항생제의 농도가 초기농도의 10% 미만으로 변화한 것은 의의가 없는 것으로 사료된다.⁹⁾ 이에 근거하여 겐타마이신에 세포티암을 혼합하여 25 °C에서 72시간동안 보관한 후 측정된 겐타마이신의 농도는 초기 농도보다 10% 이상 감소하였으므로 이 변화는 의의가 있다고 판단된다.

세포티암은 3번 위치에 tetrazolethiomethyl기로 치환된 구조를 가진 2세대 세파로스포린계 항생제로서 기존 연구에서 아미노글리코사이드계 항생제를 불활성화시키는 약물인 세포페라존이나 목사락탐과 구조적으로 유사하다. Wright 등의 연구에 의하면 세포페라존 300 $\mu\text{g/ml}$ 은 37 °C에서 24시간동안 겐타마이신과 토브라마이신을 10% 미만 불활성화시켰으며²⁰⁾,

Giamarellou의 연구에 의하면 목사락탐 250 $\mu\text{g/ml}$ 은 21 °C에서 48시간 경과후 토브라마이신을 16% 불활성화시켰으므로¹¹⁾ 본 연구결과는 기존 연구에서 보고된 아미노글리코사이드계 항생제의 불활성화는 베타락탐계 항생제의 구조에 영향을 받는다는 가정과 일치하였다.^{12,13)} 그러나 본 실험에서 같은 치환기인 tetrazolethiomethyl기를 가진 250 $\mu\text{g/ml}$ 의 세포테탄은 아미노글리코사이드계 항생제의 농도에 영향이 없는 것을 감안할 때 같은 위치에 동일한 치환기가 있다고 해서 아미노글리코사이드계 항생제에 미치는 영향이 같은 것은 아니므로 아미노글리코사이드계 항생제의 불활성화 연구는 각 약물별로 실행되어야 한다는 기존 연구의 결론과 일치하였다.^{9-11,14)} 그리고 세파로스포린계 항생제가 아미노글리코사이드계 항생제에 미치는 영향은 접촉시간^{1,13,15)}, 반응온도, 농도^{13,15,16)}에 따라 결과가 다른데, 이제까지의 연구는 관찰기간을 주로 24시간이나^{9,10,14)} 48시간¹¹⁾으로 하였으나 본 연

구에서는 채취된 혈액의 약물농도측정이 최대 60시간까지 지연되는 우리나라의 실정을 감안하여 72시간동안 관찰하였으며 세파로스포린계 항생제의 농도는 건강한 성인에게 고용량을 투여했을 때 나타나는 최고 혈중농도를 사용한 것으로 기존 연구와 차이가 있다. (1,9-15,17)

결 론

본 연구는 TDM을 위해서 혈중약물농도를 측정할 때 혈액시료중에 공존하는 약물의 상호작용으로 인해 발생할 수 있는 불활성화에 관한 실험으로써 본 실험에서 세포테탄, 세푸록심, 세포티암, 세포디집이 겐타마이신과 토브라마이신의 안정성에 미치는 영향을 관찰하였다. 실험결과 세포티암이 상온에서 72 시간동안 보관할 때 겐타마이신을 현저하게 불활성화시킨다는 결론을 얻을 수 있었다. 겐타마이신의 TDM시 약물분석시간의 지연으로 현저하게 불활성될 경우 환자의 혈액중에 있는 약물농도가 실제보다 낮은 농도로 해석되어 과용량의 약물이 투여될 수 있으므로 겐타마이신과 세포티암을 투여받는 환자에서 채취한 혈액은 가능한 한 신속히 약물농도를 측정하는 것이 바람직하며, 농도측정시간이 지연될 때에는 냉동보관하는 것이 추천된다.

감사의 말씀

본 연구는 1996년도 숙명여자대학교 교비연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Glew RH, Pavuk RA. Stability of gentamicin, tobramycin, and amikacin in combination with four beta-lactam antibiotics. *Antimicrob. Agent. Chemother.* 1983; 24: 474-477.
2. Trissel LA. *Handbook on injectable drugs.* 8th edition. American Society of Hospital Pharmacists, Inc. 1994: 484-497.
3. Ward A, Richards DM. Cefotetan. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties

- and therapeutic use. *Drugs.* 1985; 30: 382-426.
4. Brogden RN, Hwwl RC, Speight TM, Avery GS. Cefuroxime. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* 1979; 17: 233-266.
5. Brogard JM, Jehl F, Willemin B et al. Clinical pharmacokinetics of cefotiam. *Clin. Pharmacokinet.* 1989; 17: 163-174.
6. Barradell LB, Brogden RN. Cefodizime. A review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* 1992; 44(5): 800-834.
7. Winter ME. *Basic clinical pharmacokinetics.* 3rd edition, Applied Therapeutics, Inc. 1995: 127-176.
8. Abbott Laboratories, Diagnostics Division. TDxFLx™ system, system assay and system operations manual. Abbott Park, IL 60064, 1994.
9. Kohoe WA. Lack of effect ceftazodime on gentamicin serum level determinations. *Hosp. Pharm.* 1986; 21: 340-345.
10. Wright DN, Marble DA, Saxon B et al. *In vitro* inactivation of aminoglycosides by cephalosporin antibiotics. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1988; 112: 526-528.
11. Giamarelou H. Aminoglycosides plus beta-lactam against gram-negative organisms. Evaluation of *in vitro* synergy and chemical interactions. *Am. J. Med.* 1986; 80(6B); 126-137.
12. Pickering LK, Cleary TG, Ericsson CD. Gentamicin and ticarcillin levels (letter). *JAMA* 1980; 38: 1167-1170.
13. Wait JA, Drube CG, Moss EL Jr et al. Biological aspects of the interaction of gentamicin by carbenicillin. *Lancet.* 1971; 1: 261-264.
14. Tindula RJ, Ambrose PJ, Harralson AF. Aminoglycoside inactivation by penicillins and cephalosporins and its impact on drug-level monitoring. *Drug. Intell. Clin. Pharm.* 1983; 17: 906-910.
15. Pickering LK, Rutherford I. Effect of concentration and time upon inactivation of tobramycin, gentamicin, netilmicin and amikacin by azlocillin, carbenicillin, mecillinam, mezlocillin and piperacillin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1981; 217: 345-349.
16. Noone P, Pattison JR. Therapeutic implications of interaction of gentamicin and penicillins. *Lancet.* 1971; 2: 575-578.
17. Flournoy DJ. Inactivation of netilmicin by carbenicillin. *Infection.* 1978; 6: 241.