

생쥐의 호흡기 감염에 대한 퀴놀론계 항생제 LB20304a의 치료 효과

안미정 · 김무용 · 백경숙 · 김인철 · 곽진환*

LG화학 기술연구원, 바이오텍연구소

(Received February 12, 1996)

In vivo Efficacy of LB20304a against Experimental Respiratory Tract Infection in Mice

Mi-Jeong Ahn, Mu-Yong Kim, Kyoung-Sook Paek, In-Chull Kim
and Jin-Hwan Kwak*

Biotech Research Institute, LG Chem Research Park, LG Chemical Ltd.,
Taejon 305-380, Korea

Abstract—The therapeutic activity of LB20304a was examined on experimental respiratory tract infection (RTI) caused by *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice. A single oral dose of LB20304a (1.2 mg/mouse) showed a rapid bactericidal activity in lung tissue at 4, 7, and 24 h after administration of drug. The *in vivo* activity of LB20304a was comparable to that of ciprofloxacin against *K. pneumoniae* infection, although *in vitro* MIC of LB20304a was four-fold higher than that of ciprofloxacin.

Keywords □ LB20304a, Quinolone, Respiratory Tract Infection (RTI), *Klebsiella pneumoniae* DT-S.

폐렴은 선진국과 후진국 모두에서 가장 심각한 감염질환의 하나이며, 이로 인한 사망률도 매우 높은 것으로 알려져 있다.¹⁾ 사회 생활 가운데서 발생하는 폐렴(community-acquired pneumonia) 환자 중 약 7%는 입원을 하게 되고, 이들 입원 환자의 5~10%가 사망하게 된다. Community-acquired pneumonia의 주원인균은 폐구균 (*Streptococcus pneumoniae*)이며²⁾, 이밖의 주요 원인균으로는 *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis* 등이 있으며, *Staphylococcus aureus*, *Legionella pneumophila*, influenza A virus, *Mycoplasma pneumoniae* 등이 다소 낮은 빈도로 존재한다.³⁾ 반면 *Klebsiella pneumoniae*는 병원내 감염 (Nosocomial infection)의 주 원인균 중 하나이며, 특히 쇠약해진 환자에게서 발병율이 높고, 특히 하기도 호흡기에서 이 균에

의해 감염이 일어난 폐렴의 경우에는 치료가 매우 어렵다.⁴⁾

폐렴의 경구 치료제로서는 ampicillin, amoxicillin이 많이 처방되고 있고⁵⁾, 이들 약제는 *S. pneumoniae*나 β -lactamase를 생산하지 않는 *H. influenzae*에 대해서는 높은 활성을 갖고 있으나, β -lactamase 생성 *H. influenzae*와 *B. catarrhalis* 또는 *K. pneumoniae*와 같은 그람 음성 간균에는 거의 활성이 없다. 따라서 이러한 경우에는 amoxicillin과 β -lactamase 저해제인 clavulanic acid의 병용 요법이 효과 있는 것으로 보고되고 있다.⁶⁾ 최근에 하기도 호흡기 감염의 치료제로서 퀴놀론계 항생제가 많은 주목을 받고 있는데, 이는 우수한 경구 흡수율과 조직 친화력 그리고 광범위한 항균력으로 인해 기존의 다른 약제에 비해 많은 장점을 갖고 있기 때문이다.⁷⁻⁸⁾ 그러나 ciprofloxacin과 같은 최근의 퀴놀론 항생제들도 *S. pneumoniae*에 대해서는 *in vitro* 활성이 낮기 때문에, 하기도 호흡기 감염의 경험적 사용 (empiric

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-866-2105 (팩스) 042-862-0333

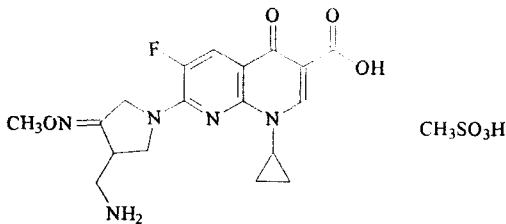


Fig. 1 - Chemical structure of LB20304a.

use)에는 많은 주의가 요망되고 따라서 점차 제한적으로만 쓰이고 있는 실정이다.⁹⁻¹⁰⁾

LB20304a는 최근 LG화학의 바이오텍 연구소에서 합성된 경구용 퀴놀론계 항생제로서, naphthyridone 구조의 7번 위치에 oxime치환 aminomethyl pyrrolidine 기를 갖고 있으며(Fig. 1), 그람양성균, 그람 음성균에 대해 광범위한 항균력을 보여준다.¹¹⁻¹²⁾ 특히 LB20304a는 호흡기 감염의 주원인균인 *S. pneumoniae* 등의 그람양성세균에 대해 기존의 퀴놀론 항생제보다 16~64배 정도 우수한 항균력을 지니고 있으며, 실험동물에서의 우수한 약물동력학적 특성으로 인해 실제 임상에서 호흡기 감염, 요로 감염, 위장관계 등의 감염 질환의 치료에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대하고 있다.¹³⁾

본 연구에서는 병원내 호흡기 감염의 주원인균인 *K. pneumoniae*에 의한 생쥐의 호흡기 감염모델에서 LB20304a의 *in vivo* 항균력을 대조약제인 ciprofloxacin, sparfloxacin과 비교 실험하였다.

실험방법

시험균주 - *In vivo* 항균력 측정을 위해 실험동물 감염균주로 사용한 *K. pneumoniae* DT-S 균주는 일본 교토 약과대학으로부터 입수하였다.

시약 및 기기 - Mueller-Hinton agar와 tryptic soy broth 등은 Difco사에서 구입하여 사용하였다. MIC (Minimal Inhibitory Concentration) 측정용 자동기기는 Dynatech사의 MIC-2000 plus를 사용하였고, 호흡기 감염을 위한 분무감염장치는 Ikemoto Rika사의 것을 사용하였으며, 균배양기는 Napco사, clean bench는 Baker사의 것을 사용하였다.

시험균주의 MIC 측정 - 항생물질의 최소발육저지농도 (MIC)는 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 방법에¹⁴⁾ 준하여

한천희석법으로 실시하였다. 최고농도 128 µg/ml에서부터 최저농도 0.008 µg/ml가 되도록 2배 계단 희석된 항생물질이 함유된 배지에 MIC-2000 plus multipin inoculator를 이용하여 10⁴ CFU/spot의 *K. pneumoniae* DT-S 균을 접종하여, 35°C에서 18시간 배양한 후, 균의 성장을 관찰할 수 없는 최소농도를 MIC로 결정하였다.

호흡기 감염¹⁵⁾ - Tryptic soy broth 200 ml에 *K. pneumoniae* DT-S를 접종하여 37°C에서 18시간 정치배양하였다. 배양액을 4°C에서 8,000 g로 20분간 원심분리한 뒤 0.9% 생리식염수로 잘 세척하고 다시 같은 조건으로 원심분리하였다. 균액을 다시 생리식염수로 희석하여 최종 균액 농도가 2×10⁹ CFU/ml이 되도록 하였다. 체중 19~21 g의 웅성 ICR 생쥐 (LG화학 기술연구원, 바이오텍연구소)를 분무감염장치(Ikemoto Rika, Tokyo, Japan) 안에 넣고, 10 ml의 *K. pneumoniae* DT-S 균액을 1 kg/cm²의 압력하에 30분 동안 aerosol로 분무하여 호흡기 감염을 유도했다. 감염 후 18시간에 LB20304a 또는 대조약제인 ciprofloxacin, sparfloxacin 약액을 각각 0.2 ml씩 (1.2 mg/mouse) 경구로 투여하였다. 약액 투여 직전과 약액을 투여하고 4, 7, 24시간 후에 각각 5마리의 생쥐로부터 폐를 적출하여 조직을 분쇄하고 생리식염수로 희석한 다음 MHA배지에 도말하였다. 35°C에서 18시간 배양한 후 전체 세균집락수를 세어 이로부터 폐당 생균수 (viable cells/lung)를 산출하였다.

실험결과 및 고찰

일반적으로 *in vivo*에서 세균에 대한 약물의 치료효과를 관찰하기 위해서는 실험동물에서 병원성이 있는 세균을 생쥐의 복강내로 주사하여 감염을 일으키는 전신감염모델이 많이 사용되고 있다. 그러나 항생제의 종류에 따라 또 새로운 항생제의 임상 적응증 개발을 위해서는 호흡기감염, 요로감염, 피부감염, 심내막 감염 등의 특수 감염모델이 필수적으로 요구된다. 따라서 새로운 퀴놀론 항생제인 LB20304a에 대해 생쥐를 이용한 호흡기 감염모델에서 치료효과를 대조약제들과 비교함으로써, 실제 임상에서 호흡기 감염의 치료제로서의 가능성을 조사하였다. 생쥐의 호흡기 감염균주로 사용한 *K. pneumoniae*는 일반 사회생활 가운데서 많이 감염되는 *S. pneumoniae*와는 달리 중환자들과 면역기능이 약

Table I— Therapeutic effect of LB20304a on respiratory tract infection by *K. pneumoniae* DT-S^a in mice

	Viable cells in lung after drug administration ^b (log ₁₀ CFU/lung)			
	0 hr	4 hr	7 hr	24 hr
Control	6.7±0.3	7.5±0.2	7.6±0.2	8.6±0.1
LB20304a ^c	6.7±0.3	4.9±0.1	4.2±0.4	3.3±0.3
Ciprofloxacin ^c	6.7±0.3	4.8±0.4	4.4±0.3	3.4±0.3
Sparfloxacin ^c	6.7±0.3	4.9±0.3	4.5±0.2	3.6±0.5

^a *In vitro* MIC against *K. pneumoniae* DT-S : LB20304a(0.13 µg/ml), Ciprofloxacin(0.031 µg/ml), Sparfloxacin (0.13 µg/ml).

^b Data was given as means±standard deviations.

^c Drug(1.2 mg/mouse) was administrated orally 18 hr after infection.

화된 환자들이 많은 병원내에서 감염의 주 원인균이 되고 있으며, 특히 이 균에 의한 폐렴의 경우에는 치료가 매우 어려운 것으로 알려져 있다.

Table I의 결과에서 LB20304a 또는 대조약제를 생쥐 당 1.2 mg의 농도로 투여한 다음 4시간 후에, 약물 투여군에서는 폐 조직 내의 생존수가 약물을 처치하지 않은 대조군에 비해 약 1,000배 정도 감소하여 모든 퀴놀론 항생제가 *K. pneumoniae*에 대해 빠른 살균효과를 보여주었다. 그리고 24 시간 후에는 약물 투여군에서는 폐 조직 내에서 균수가 대조군에 비해 100,000 배 정도 감소한 것을 볼때, LB20304a와 대조약제들은 *K. pneumoniae*에 의한 호흡기 감염에 대해 우수한 치료효과를 가지고 있음을 보여주었다. 한편 시험균주인 *K. pneumoniae* DT-S 균에 대한 LB20304a, ciprofloxacin, sparfloxacin의 *in vitro* MIC는 각각 0.13, 0.031, 0.13 µg/ml로서, LB20304a는 ciprofloxacin에 비해 *in vitro* 약효에서는 4배 정도 열등하였으나, 이 균에 의한 생쥐의 호흡기 감염에 대한 치료효과는 ciprofloxacin과 비슷하거나 약간 우수하여, LB20304a는 *in vitro*에서의 결과보다 *in vivo*에서의 약효가 우수한 특징을 보여주었다. 이는 LB20304a의 우수한 약물동력학적 특성과 시험관내에서의 우수한 약효가 잘 조화를 이룬 결과로 사료된다. 앞으로, *K. pneumoniae*와는 달리 기존의 퀴놀론 항생제로는 잘 치료가 되지 않는 *S. pneumoniae*에 의한 호흡기감염모델에서도 LB20304a의 치료효과를 검증하는 것이 실제 임상에서 LB20304a의 호흡기 감염에 대한 치료제로서 가능성을 판단하는데 많은 도움이 될것으로 판단된다.

문 헌

- 1) Bartlett, J. G. : Community-acquired bacteria infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2**, 512 (1989).
- 2) Perlman, P. E. and Ginn, D. R. : Respiratory infections in ambulatory adults-choosing the best treatment. *Postgrad. Med.* **87**, 175 (1990).
- 3) File, T. M. and Tan, J. S. : Antimicrobial therapy of serious pneumonia-an update. *Hosp. Formul.* **21**, 162 (1986).
- 4) Pierce, A. K. and Sanford, J. P. : Aerobic gram-negative bacillary pneumonias. *Am. Rev. Respir. Dis.* **110**, 647 (1974).
- 5) Woodhead, M. A., Macfarlane, J. T., McCracken, J. S., Rose, D. H. and Finch, R. G. : Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet* **ii**, 673 (1987).
- 6) Beumer, H. M. : Cefixime versus amoxicillin/clavulanic acid in lower respiratory tract infections. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **27**, 30 (1989).
- 7) Kobayashi, H., Takamura, K., Takeda, H. and Multicentric Group. : Comparative clinical study of ciprofloxacin and cefaclor in the treatment of respiratory tract infections. *Chemotherapy (Tokyo)* **34**, 1011 (1986).
- 8) Wollschlager, C. M., Raoof, S., Khan, F. A., Guarneri, J. J., LaBomardi, V. and Afzal, Q. : Controlled, comparative study of ciprofloxacin versus ampicillin in the treatment of bacterial respiratory infections. *Am. J. Med.* **82** (Suppl. 4A), 164 (1987).
- 9) Pendersen, S. S. : Clinical efficacy of ciprofloxacin in lower respiratory tract infections. *Scand. J. Infect. Dis.* **60** (Suppl.), 89 (1989).
- 10) Vellend, H. : Role of fluoroquinolones in lower

- respiratory tract infections. *Clin. Invest. Med.* **12**, 39 (1989).
- 11) Oh, J. I., Paek, K. S., Ahn, M. J., Kim, M. Y., Hong, C. Y., Kim, I. C. and Kwak, J. H. : *In vitro* and *in vivo* evaluations of LB20304, a new fluoronaphthyridone. *Antimicrob. Agents and Chemother.* **40**, 1564 (1996).
- 12) Kim, M. Y., Oh, J. I., Paek, K. S., Hong, C. Y., Kim, I. C. and Kwak, J. H. : *In vitro* activities of LB20304, a new fluoroquinolone. *Arch. Pharm. Res.* **19**, 52 (1996).
- 13) Oh, J. I., Paek, K. S., Kim, M. Y., Seo, M. K., Lee, Y. H., Hong, C. Y., Nam, D. H., Kim, Y. Z., Kim, I. C. and Kwak, J. H. : *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of LB20304, a new fluoronaphthyridone. In *Abstracts of the 35th Interscience Conference on Antimicrobial agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 1995*. Abstract F205, p. 148. American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1995).
- 14) National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Document M7-A3 : Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Villanova, Pa., (1993).
- 15) Nishi, T. and Tsuchiya, K. : Experimental respiratory tract infection with *Klebsiella pneumoniae* DT-S in mice: Chemotherapy with kanamycin. *Antimicrob. Agents and Chemother.* **17**, 494 (1980).