

신규 플루오로퀴놀론계 DWP20367의 흰쥐 및 개에서의 체내동태와 조직분포

조재열* · 한승희 · 김병오 · 남권호 · 손호정 · 심점순 · 정대영¹
공재양¹ · 이재욱 · 유영효 · 박명환
(주) 대웅제약 중앙연구소, ¹한국화학연구소

Pharmacokinetics and Tissue Distribution of DWP20367, a Novel Fluoroquinolone, in Rats and Beagle Dogs

Jae Youl CHO*, Seung Hee HAN, Byoung O KIM, Kweon Ho NAM,
Ho Jung SON, Jeom Soon SHIM, Dae Young JEONG¹, Jae Yang KONG¹,
Jae Wook LEE, Young Hyo YU and Myung Hwan PARK

R & D center, Daewoong Pharmaceutical Co., Ltd. 223-23, Sangdaewon-Dong,
Sungnam, Kyunggi-Do, 462-120, Korea

¹Pharmaceutical Screening Center, Korea Research Institute of Chemical Technology,
P.O. Box 9, Yu-Sung, Taejeon 305-606, Korea

(Received June 24, 1997; accepted August 11, 1997)

Abstract – The pharmacokinetics and tissue distribution of DWP20367 (1-cyclopropyl-6-fluoro-8-chloro-7-(2,7-diazabicyclo[3,3,0]oct-4-ene-7-yl)-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid), a novel fluoroquinolone, were examined in rats and beagle dogs after a single intravenous and oral administration. Analysis of DWP20367 in plasma, tissue, and urine was determined by both HPLC and microbiological assay (bioassay). The plasma concentration-time curves of the drug in rats and beagle dogs were biexponentially declined. The terminal half-life ($t_{1/2\beta}$) of the drug in rats was about 60.1 ± 7.3 min (i.v.) and 61.3 ± 12.4 min (p.o.) in bioassay, and 86.3 ± 19.8 min (i.v.) and 50.9 ± 14.9 min (p.o.) in HPLC. In beagle dogs, half-life of the drug determined by bioassay was about 121.8 ± 6.2 min (i.v.) and 111.0 ± 7.6 min (p.o.). The volume of distribution at steady-state ($V_{d_{ss}}$) was 243.8 ± 74.1 ml/kg (bioassay) and 339.2 ± 84.3 ml/kg (HPLC) in rats, and 1587.5 ± 536.9 ml/kg (bioassay) in beagle dogs. The total body clearance (Cl_t) of DWP20367 was 3.4 ± 0.4 ml/min/kg (bioassay) and 2.4 ± 0.4 ml/min/kg (HPLC) in rats, and 12.3 ± 1.0 ml/min/kg (bioassay) in beagle dogs, respectively. The extent of bioavailability after oral administration was 89.1% (bioassay) and 79.9% (HPLC) in rats, and 78.7% (bioassay) in beagle dogs. Urinary recovery (24-h) assayed by bioassay was 0.7% (p.o.) and 1.2% (i.v.) in rats, and 0.8% (p.o.) and 1.0% (i.v.) in beagle dogs. In rats, 24-h fecal recovery determined by bioassay was 11.2% (p.o.) and 0.1% (i.v.). Rat and human serum protein binding ratios at $2 \mu\text{g/ml}$ were about 90~91%. This drug determined by bioassay was also distributed by the order of liver, kidney, lung, heart, spleen and muscle 30 min after oral administration.

Keywords □ DWP20367, pharmacokinetics, bioavailability, tissue distribution, urinary recovery, fecal recovery, protein binding, rats, beagle dogs

Enoxacin, norfloxacin, perfloxacin, ciprofloxacin (CPFX) 및 sparfloxacin (SPFX) 등과 같은 카르복실산계 퀴놀론 항생물질들은 우수한 항균력과 다양한 항균범위 외에도 생체 이용률과 요배설이 높은 약동학적 특징을 가지고 있어 전신 및 요로감염증 치료에 매우 뛰어난 효과를 보이고 있다.

그러나 이들 항생물질들은 그람음성균에는 강한 활성을 나타내고 있는 반면에 그람양성균에 대해서는 상대적으로 약한 활성을 가지고 있어, 그람양성균에 대한 항균활성의 증가가 요구되었다(Caekenberghe와 Pattyn, 1984; Campoli-Richards 등, 1988; Chin 등, 1991; Ito 등, 1980).

이런 문제점을 개선하고자 본 연구소에서는 플루오로퀴놀론계 항생물질의 모핵내 C7 위치에 치환체로서 메칠치

* To whom correspondence should be addressed.

오메칠피롤리딘 및 3-아미노-4-메칠치오메칠피로리디닐기를 도입하여 그람음성균뿐만 아니라 그람양성균에도 뛰어난 항균활성을 갖도록 하였다. 또한 임상분리균주 및 임상에서 치료에 어려움이 많은 *Bacteriodes fragilis*, *Clostridium spp.*, 및 *Fusobacterium spp.*에 속하는 여러 균종에 대한 우수한 항균력을 바탕으로 높은 혈중농도 및 폐조직 분포 등의 우수성이 인정되어 이들 구조에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(Cho 등, 1995; Kim 등, 1995; Lee 등, 1994a; Lee 등, 1994b; Yu 등, 1994).

한편 저자 등은 이와 달리 퀴놀론계 항생물질이 가지는 광선조사에 대한 불안정성을 극복하고자, 입체효과와 전자효과 및 약제의 물리화학적 특성을 결정하는 모핵내 7번 위치에 2,7-디아자비시클로[3,3,0]옥트-4-엔-7-일 기를 도입한 새로운 모핵을 가지는 항생물질에 대한 항균활성 및 체내 약물동태 연구를 실시한 바, C7 위치에 메칠치오메칠피롤리딘 및 3-아미노-4-메칠치오메칠피로리디닐기가 도입된 신규 항생물질들(DWQ-013, DWP20349 및 DWP20351 등)이나 CPFX 및 SPFX 등과 같은 피페라진기를 가지는 대조 약물들과 비교시 우수한 항균력과 20%~30% 이상의 높은 생체이용율을 나타낸다는 것을 확인하였다(Kim 등, 1996; Kim 등, 1997; Cho 등, 1997a; Cho 등, 1997b)

이에 따라 2,7-디아자비시클로[3,3,0]옥트-4-엔-7-일 기가 도입된 구조들을 가지는 신규항생물질들에 대한 약동학적 차이점을 보다 심도있게 규명할 필요성이 요구되어, 일차적으로 본 실험에서는 Fig. 1에서 처럼 플루오로퀴놀론계 항생물질의 7번 탄소위치에 동일치환체를 가지면서 C8위치에 -Cl기가 도입된 신규 플루오로퀴놀론계 항생물질인 DWP20367의 체내동태 연구를 실시하였다.

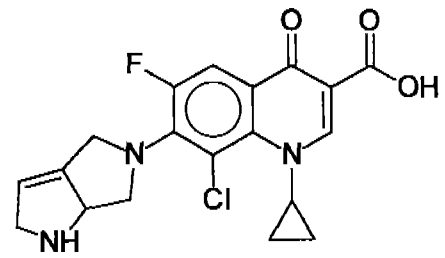
실험방법

사용약물

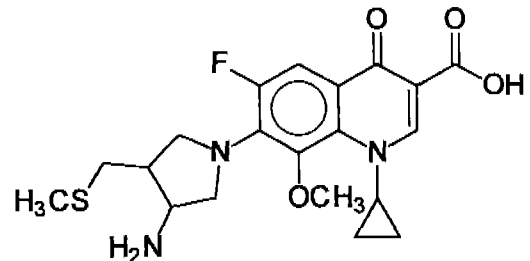
실험에 사용한 DWP20367과 CPFX 및 SPFX는 대웅제약 중앙연구소 합성연구실에서 합성된 것을 사용하였으며 순도는 99.5% 이상이였다. DWP20367은 Fig. 1에서 처럼 C7 위치에 2,7-디아자비시클로[3,3,0] 옥트-4-엔-7-일기를, C8위치에 -Cl기를 도입한 신규 플루오로퀴놀론계 항생물질이다. 또한 HPLC 분석시 내부표준물질(internal standard)로 사용된 DWP20351은 C7 위치에 메칠치오메칠피로리디닐기를 가지는 플루오로퀴놀론계 항생물질로서 대웅제약 중앙연구소에서 합성한 것을 사용하였으며, HPLC로 분석시 순도는 99.9% 이상이였다.

실험동물

Sprague-Dawley (SD)계 6~7주령 수컷 흰쥐를 Charles River Co.(Atsugi, Japan)에서 구입하여 1주 이상 순화시켜 200~250 g된 것을 사용하였다. 또한 Beagle dogs(사용시



DWP20367



DWP20351

Fig. 1. Chemical structures of DWP20367 and DWP20351.

11~13 kg)는 Hazleton (MI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 사육환경은 온도 23±2℃, 습도 55±10%, 및 조명시간 12시간을 유지하였으며, 사료와 물은 자유로이 섭취하도록 하였다.

약물투여 및 검체 채취

흰쥐 및 개에서의 약동학 연구

흰쥐에서의 체내 약물동태 연구시 약물투여 및 채혈을 용이하게 하기 위해 흰쥐를 고정대에 묶고 에텔 마취하에 대퇴동맥 및 대퇴정맥에 폴리에틸렌 튜브(PE 50, Clay Adams, Parisippany, NJ, USA)를 삽입하였다. 시험물질은 각 약물 60 mg을 정확히 취해서 5 ml의 증류수와 0.165 ml의 0.1 M NaOH용액을 넣어 완전히 용해시킨 후, 다시 최종 부피가 6 ml가 되도록 조제한 약물(약 pH 9.10)을, 흰쥐가 마취에서 완전히 회복된 것을 확인하고 경구 및 정맥내에 20 mg/2 ml/kg로 각각 투여하였다. 혈액 채취는 경구투여의 경우 약물 투여전, 투여후 5, 15, 20 및 40 분과 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9 시간에 채혈하였으며, 정맥투여의 경우 약물 투여전, 투여후 1, 3, 5, 10, 15 및 30분과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9시간에 약 0.2 ml씩 실시하고 100 unit/ml의 heparin을 동량 보충해 주었다. 채취한 혈액은 즉시 원심분리(12,000 rpm, 2분)하여 혈장을 분리하고, HPLC 및 bioassay로 정량할 때까지 -20℃에서 냉동보관하였다.

개에서의 체내 약물동태 연구는 흰쥐 실험에서의 동일환 방법으로 조제한 약물을 10 mg/kg로 경구투여와 왼쪽 상완

정맥을 이용한 정맥주사 후 실시하였다. 각 경로에 따른 채혈은 동일 시간으로 실시하였는데, 오른쪽 상완정맥에서 약물 투여전, 투여후 5, 15, 및 30분과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 및 24시간에 실시하였으며, 즉시 원심분리(12,000 rpm, 5분)한 후 bioassay로 정량할 때까지 -20℃에서 냉동 보관하였다.

요 및 변 중 배설연구

요 및 변 중 시험약의 배설 연구는 대사케이지를 이용하여 약물을 흰쥐에 20 mg/kg의 용량으로 정맥주사(경정맥에서)와 경구 투여시에 대해 실시하였다. 요 및 변은 24시간까지 채취하여 실험에 이용하였다.

조직 분포 연구

DWP20367용액을 흰쥐에 20 mg/kg으로 경구투여한 다음, 약물 투여후 30분까지 대사케이지에서 방치시킨 후 에텔 마취하에 개복하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하고 간문맥을 통해 차가운 생리 식염수를 충분히 관류시켜 조직내 혈액을 제거하였다. 계속해서 폐, 간장, 비장, 신장, 심장, 및 뇌 등의 장기를 적출하였다. 각 장기내 약물은 중량 4 배량의 0.1 M 인산염 완충액 (pH 7.4)을 가하여 조직분쇄기(Ultra-Turrax T25, Jankel & Kunkel, IKA Labortechnik, Stauffer, Germany)로 균질화시켜, 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상정액을 검체로 하여 bioassay법으로 정량하였다.

혈청 단백질과의 결합성

DWP20367과 CFX 및 SPFX에 대한 사람과 흰쥐 혈청 단백질과의 결합률을 한의 여과법을 이용하여 측정하였다(Cho 등, 1995). 동일한 방법으로 조제된 각 약물을 phosphate buffered saline(PBS)을 이용하여 최종 2 µg/ml의 농도 (pH 7.8~8.2)로 희석하여 이들로부터 0.1 ml를 사람 및 흰쥐 혈청 0.9 ml와 섞은 후, 천천히 흔들며 주면서 37℃에서 1시간 동안 배양시켰다. 다음 이들 시료를 한의 여과기(Amicon Div., MA., USA)에 넣어 800×g로 10 분간 원심분리 하였다. 여액의 부피가 가한 혈장 총액의 20% 미만인 되도록 하여, 얻어진 여액을 bioassay법에 의하여 정량하고 약물량을 산출하여 다음 식에 따라서 결합률을 구하였다. 또한 각 약물은 여과기에 흡착되지 않는 것으로 확인되었다(adsorption factor=0).

$$\text{결합률}(\%) = (C - C_i) / C \times 100$$

C: 약물의 농도

C_i: 비결합 약물의 농도

약물의 농도 분석

Bioassay법에 의한 약물의 농도 분석

HPLC법에 의한 혈장 중 약물농도 연구와 비교를 하기 위해 흰쥐 혈장내 약물농도를 bioassay법을 이용하여 정량하였다. 또한 흰쥐에서 두 정량법간에 약동학적 변수들의

큰 차이가 없는 것으로 확인하고 개에서의 체내동태 연구는 비교적 정량이 쉬운 bioassay법을 이용하여 평가하였다. 또한 흰쥐 조직에서의 약물농도 측정 한계와 조직, 혈장, 변 및 요중 약물 분포에 관한 상대적 비교를 위해 bioassay (microbiological assay)법을 실시하여 정량하였다. 각 시료내 약물의 농도는 *K. oxytoca* 01082E를 Fleisch extract broth 배지에서 하룻밤 배양한 균액을 1:10으로 희석하고, 희석한 균주액 2 ml를 100 ml의 배지(Muller Hinton broth 2.1%, agar 1.7%)에 식균하여 large-plate agar well diffusion technique으로 측정하였다. 검체중 약물의 농도는 동일 동물의 blank 시료에 일정량 약물을 가하여 만든 검량선(0.25~500 µg/ml)에 의해 계산하였고, 장기 추출액 중의 약물농도는 0.1 M 인산염 완충액(pH 7.4)에 일정량 약물을 가하여 만든 검량선을 이용하여 구하였다(Cho 등, 1995).

HPLC법에 의한 혈장 중 약물의 정량

제단백 과정은 혈장 중 약물의 농도가 희석되는 것을 줄이기 위해 Shim 등(1993)의 방법처럼 혈장과 40 µg/ml의 내부표준물질(DWP20351)이 녹아 있는 acetonitrile을 1:1로 처리하여 원심분리(12,000 rpm, 5분)를 통해 실시하고 얻어진 상정액을 검체로 하였다. 혈장내 DWP20367의 HPLC 분석은 Table I의 방법으로 실시하였으며, 혈장내 농도는 DWP20351과 DWP20367의 피크 면적비를 통해 검량선으로부터 산출하였다. 검량선용 시료는 DWP20367 용액 (20 mg/100 ml)을 단계적으로 희석하여 blank 혈장에 넣어 200, 100, 50, 25, 5, 2.5, 0.5, 및 0.25 µg/ml의 농도로 제조하였으며, 검량선은 DWP20351(20 µg/ml)과 DWP20367의 각 농도에 대한 피크 면적비로 작성하였다. HPLC분석시 정량한계는 0.1 µg/ml이었다.

데이터의 해석

혈장 중 DWP20367의 농도-시간 데이터를 regression 프로그램인 RSTRIP으로 fitting해서 약동학 파라메타들(소실상 반감기(t_{1/2β}), AUC, area under the first moment curve (AUMC), T_{max} 및 C_{max})을 구하였으며, 이들 결과를 바탕으로

Table I. HPLC conditions for analysis of plasma DWP20367 concentration in rats

Instrument	Waters HPLC system (Waters, MA, USA) Detector: Waters 484 Pump: Waters 510 Integrator: Waters 746
Column	µ-Bondapak phenyl (3.9×300 mm, 10 µm, Waters)
Mobile phase	Acetonitrile/100 mM KH ₂ PO ₄ (23/77, V/V), pH 3.0
Flow rate	1.0 ml/min
Detector	UV detection at 290 nm
Injection volume	20 µl
Internal standard	DWP20351

로 분포용적(V_{d_s}), 평균체류시간(MRT) 및 총클리어런스(Cl_t)를 아래식과 같이 계산하였다. 또한 CPFX를 포함한 대부분의 플루오로퀴놀론계 약물들은 용량 비의존적인 선형 약동학을 보여줌에 따라 아래와 같은 계산식을 이용하여 생체이용률(BA)을 구하였다(Nix 등, 1992; Weidekamm 등, 1987; Seo 등, 1996).

$$V_{d_s} = (D \times AUMC) / (AUC)^2 \quad (D: \text{투여량})$$

$$Cl_t = D / AUC \quad (D: \text{투여량})$$

$$MRT = (AUMC_{iv} / AUC_{iv})$$

$$BA(\%) = (AUC_{po} / AUC_{iv}) \times 100$$

통계분석

실험값은 rats의 경우 mean ± SE로 표시하였으며, beagle dogs의 경우는 n값의 제한(2마리)으로 인해 mean ± SD로 나타났다. 또한 실험 결과는 Student's t-test 를 이용하여 p < 0.05인 것을 유의성있는 결과로 판정하였다.

실험결과

Bioassay법

HPLC분석에 의한 조직내 약물정량은 조직내 방해피크로 인해 정확한 약물분석이 어려웠으며, 또한 일부장기에서는 약물의 정량 범위를 넘어섰기 때문에 조직에서의 약물분석은 bioassay법을 이용하였다. 또한 HPLC에 의한 혈장내 약물동태와 비교하기 위해 동일 조건에서 bioassay 법을 동시 병행하여 그 결과를 비교하였다. 그러나 bioassay 법에 의한 약물의 정량은 실제 존재할 수 있는 조직내 대사체에 의한 약효를 포함하므로 정확한 약물의 농도를 반영하는데 한계가 있으며, 구하여진 약물의 농도는 equivalent한 *K. oxytoca*에 항균력을 가지는 물질의 농도로 나타내는 것이 일반적이므로, 본 실험에서도 이와 동일한 방법으로

표기하였다. 한편 요 및 변중 각 약물의 정량 역시 상대적인 분포비를 확인하기 위해 조직분포 실험과 동일하게 bioassay법으로 정량분석하였다. 조직, 변, 요 및 단백 결합률에 대한 DWP20367의 bioassay법에 의한 검량선은 각 표준 농도 범위(0.25~500 µg/ml)에서 높은 상관성을 보였으며 r값은 각각 0.987이상이었다. Bioassay에서 일내 및 일간 변동계수는 다소 차이를 보였으나 8% 이내에 들었다. 또한 bioassay시 각 시료(조직, 변, 요 및 혈청)에서의 약물 회수율은 95% 이상이었다.

HPLC법

흰쥐 혈장에서의 DWP20367은 본 실험의 HPLC 정량조건에서 혈장 방해물질들 뿐 아니라 내부 표준물질인 DWP 20351과도 잘 분리되었고, 유지시간은 약 9.5분이었다. 이와같은 결과는 0.1 N NaOH에서의 각 표준물질 및 blank혈장에 첨가한 시료의 정량결과와 일치하는 것으로 보아 시료내 방해물질과의 상호작용은 없는 것으로 생각되며, 또한 단백질의 불충분한 제거시 나타날 수 있는 피크 유지시간의 변화는 없는 것으로 사료된다. 각 약물에 대해 분리된 피크 면적비간의 검량선은 0.25~200 µg/ml이상의 범위에서 높은 상관성을 보여 r값은 0.9993이었다. HPLC정량에 있어서 각 약물에 대한 일내 및 일간 변동계수는 3% 이내 이었다. 또한 제단백시 약물의 회수율은 90%이상이었다.

흰쥐 혈장중 약물농도 추이

Bioassay 및 HPLC 분석에 의한 흰쥐와 개에서의 정맥 및 경구투여(20 mg/kg)시 DWP20367의 혈장농도-시간 곡선과 약동학 파라미터를 Fig. 2, 3 및 4와 Table II, III 및 IV에 나타내었다. 각 결과는 약동학 분석 프로그램인 RSTRIP을 이용하여 biexponential decay 모델로 fitting해서 여러 약동학 파라메타들(AUC, AUMC, $t_{1/2\beta}$, C_{max} 및 T_{max})을 구하였으며, 이때 흰쥐에서의 r²값은 bioassay 결과가 0.9821이상, HPLC정량 결과들이 0.9847이상이었으며, 개에서의 값은

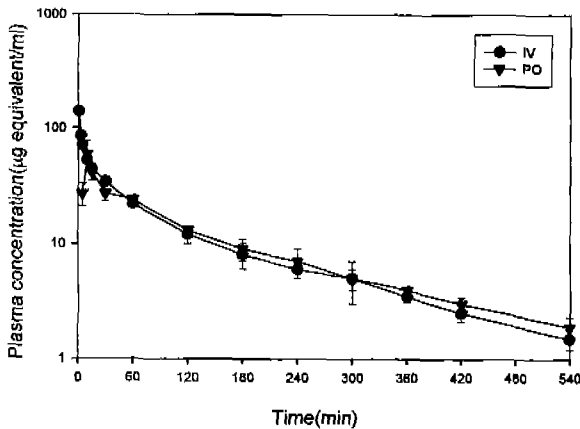


Fig. 2. Plasma concentration-time curves of DWP20367 after oral and intravenous dosing of 20 mg/kg in rats, determined by bioassay. Each data represents the mean ± S.E. of 4 rats.

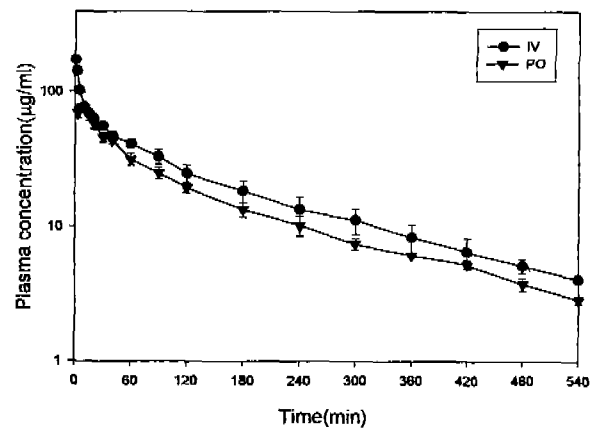


Fig. 3. Plasma concentration-time curves of DWP20367 after oral and intravenous dosing of 20 mg/kg in rats, determined by HPLC. Each data represents the mean ± S.E. of 4 rats.

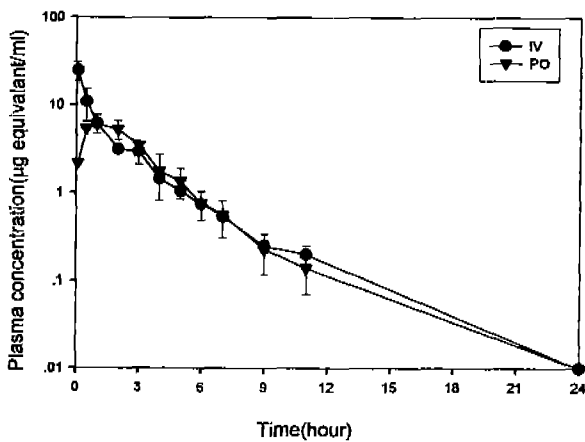


Fig. 4. Plasma concentration-time curves of DWP20367 after oral and intravenous dosing of 20 mg/kg in beagle dogs, determined by bioassay. Each data represents the mean \pm S.D. of 2 beagle dogs.

0.9893 이상이었다. 또한 이들 결과를 바탕으로 $V_{d_{ss}}$, Cl_i 및 BA를 계산하였다. 흰쥐에서 bioassay에 의해 구하여진 DWP 20367의 걸보기 소실상의 반감기($t_{1/2\beta}$)는 정맥주사시 60.1 ± 7.3 분과 경구투여시 61.3 ± 12.4 분이었으며, HPLC에 의해서는 정맥주사시 86.3 ± 19.8 분과 50.9 ± 14.9 분으로 수치상 다소 차이를 나타냈으나, 통계적인 유의성은 확인되지 않았다. 한편 개에서의 경우 정맥주사는 121.8 ± 6.2 분이었으며 경구투여시에는 111.0 ± 7.6 분으로 서로 유의적 차이는 없었으나 흰쥐와는 약 2배 정도 길게 나타났다. 이와같은 차이는 평균체류시간에서도 확인할 수 있었는데, 흰쥐에서 bioassay에 의한 경우 80.4 ± 5.5 분과 HPLC법에서는 105.9 ± 16.0 분으로 통계처리시 유의적인 차이가 없었으나 개에서는 131.6 ± 29.7 분(bioassay)으로 약 20분에서 50분 정도 증가하였다. 흰쥐에서 경구투여시 혈중 최고농도(C_{max})는 53.9 ± 10.0 $\mu\text{g/ml}$ (bioassay) 및 75.2 ± 3.3 $\mu\text{g/ml}$ (HPLC)이었으며, 개에서는 30.1 ± 5.3 $\mu\text{g/ml}$ (bioassay)로 나타났다. 흰쥐에서 DWP20367의 혈장농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 bioassay의 경우 5964.8 ± 523.5 $\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$ (정맥주사)와 $5188.9 \pm$

Table III. Pharmacokinetic parameters of DWP20367 after intravenous and oral dosing of 10 mg/kg in beagle dogs, determined by bioassay

Parameters	DWP20367	
	I.V.	P.O.
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$)	1638.6 ± 173.8	1294.5 ± 238.7
$T_{1/2\beta}$ (min)	121.8 ± 6.2	111.0 ± 7.6
MRT (min) ^a	131.6 ± 29.7	
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)		30.1 ± 5.3
T_{max} (min)		60.4 ± 1.4
$V_{d_{ss}}$ (ml/kg)	1587.5 ± 536.9	
Cl_i (ml/min/kg)	12.3 ± 1.0	
BA (%) ^b		78.7 ± 6.2

Data represent the mean \pm S.D. of 2 dogs. ^aMRT: Mean residence time. ^bBA: Bioavailability.

Table IV. Urinary recovery (%) of DWP20367 after intravenous and oral dosing of 20 mg/kg for 24 hours in rats and beagle dogs, determined by bioassay

Animal	Urinary recovery (%)	
	I.V.	P.O.
Rats ^a	1.2 ± 0.6	0.7 ± 0.2
Beagle dogs ^b	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.2

^aData represent the mean \pm S.E. of 3 rats. ^bData represent the mean \pm S.D. of 2 beagle dogs.

593.3 $\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$ (경구투여)이었으며, HPLC법에서는 8843.6 ± 1203.9 $\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$ (정맥주사)와 5826.0 ± 782.4 $\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$ (경구투여)이었다. Bioassay에 의해 정량된 개에서의 AUC는 1638.6 ± 173.8 $\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$ (정맥주사)와 1294.5 ± 238.7 $\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$ (경구투여)이었다. 한편 이들 값을 토대로 계산된 생체이용률은 흰쥐에서 88.6%(bioassay) 및 79.9%(HPLC)로 통계적인 유의성은 관찰되지 않았으며, 개에서는 약 79%로 흰쥐와 통계적으로 유사하였다. 두 약물의 전신클리어런스(Cl_i)는 흰쥐에서 bioassay와 HPLC가 거의 유사하여 $2 \sim 3$ ml/min/kg이었으나, 개에서는 12.3 ± 1.0 ml/min/kg이었다. 흰쥐 정상상태에서의 분포용적($V_{d_{ss}}$)은 243.8

Table II. Pharmacokinetic parameters of DWP20367 after intravenous and oral dosing of 20 mg/kg/2 ml in rats

Parameters	Bioassay		HPLC	
	I.V.	P.O.	I.V.	P.O.
	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{min/ml}$)	5964.8 ± 523.5	5188.9 ± 593.3	8843.6 ± 1203.9
$T_{1/2\beta}$ (min)	60.1 ± 7.3	61.3 ± 12.4	86.3 ± 19.8	50.9 ± 14.9
MRT (min) ^a	80.4 ± 5.5		105.9 ± 16.0	
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)		53.9 ± 10.0		75.2 ± 3.3
T_{max} (min)		21.0 ± 6.1		16.2 ± 2.2
$V_{d_{ss}}$ (ml/kg)	243.8 ± 74.1		339.2 ± 84.3	
Cl_i (ml/min/kg)	3.4 ± 0.3		2.4 ± 0.4	
BA (%) ^b		88.6 ± 8.2		79.9 ± 7.9

Data represent the mean \pm S.E. of 4 rats. ^aMRT: Mean residence time. ^bBA: Bioavailability.

Table V. Fecal recovery (%) of DWP20367 after intravenous and oral dosing of 20 mg/kg for 24 hours in rats, determined by bioassay

Compounds	Fecal recovery (%)	
	I.V.	P.O.
DWP20367	0.1±0.1	11.2±13.0

Data represent the mean ± S.E. of 3 rats.

±74.1 ml/kg (bioassay), 339.2±84.3 ml/kg (HPLC)으로 나타났다. 개에서의 분포용적은 1587.5±536.9 ml/kg이었다.

흰쥐 및 변종 회수율

Table IV와 V에서 보여지 듯 bioassay에 의해 확인된 DWP20367의 요중회수율은 정맥주사와 경구투여 모두에서 약 0.7%(p.o.)에서 1.2%(i.v.) 이하로 낮았으며, 변종회수율도 0.1%(i.v.)에서 11.2%(p.o.)로 낮은 결과를 나타냈다. 한편 변종 배설에서 경구투여와 정맥주사와의 차이점은 경구 투여시의 흡수율 차이에서 기인된 것으로 사료된다. 또한 개에서의 요중배설을 역시 통계적으로 유사하여 1%로 나타났다. 따라서 DWP20367의 흰쥐와 개에서의 요중배설 형태는 거의 유사한 양상을 가지는 것으로 판단된다. 그러나 이와같은 결과에 대한 자세한 연구는 흰쥐와 개에서의 HPLC에 의한 대사체 비교연구를 통해 보다 정확히 확인될 수 있을 것으로 사료된다. 한편 흰쥐에서 CPF₃X에 대한 변종 배설은 정맥주사시 5.1%, 경구투여시 21%로 나타났다.

조직 중 분포

흰쥐에서 bioassay에 의해 정량된 DWP20367의 각 장기 중 분포를 Fig. 5에 나타내었다. 경구로 20 mg/kg투여 30분 후, 장기중의 농도분포는 DWP20367의 경우 간장(8.4±1.0 µg/g)>신장(3.5±0.5 µg/g)>폐(2.7±0.3 µg/g)>심장(2.4±0.3 µg/g)>비장(2.0±0.3 µg/g)>근육(1.1±0.1 µg/g) 순으로 높았

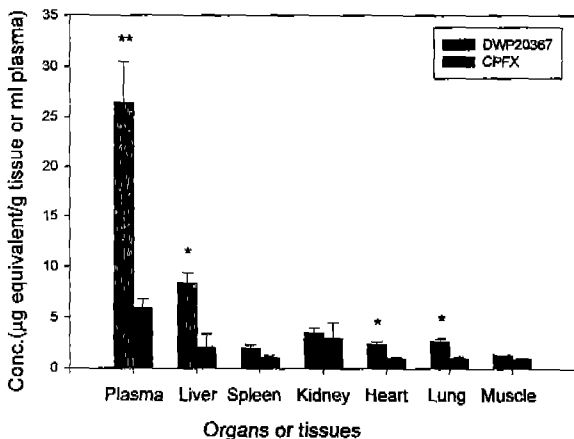


Fig. 5. Tissue levels of CPF₃X, DWP20367 after 30 min following oral dosing of 20 mg/kg in rats, determined by bioassay. Each data represents the mean ± S.E. of 3 rats. *p<0.05 compared to CPF₃X. **p<0.01 compared to CPF₃X.

Table VI. Protein binding ratios (%) of DWP20367, CPF₃X and SPFX to rat and human serum, determined by bioassay

Compounds (at 2 µg/ml)	Protein binding (%)	
	Rat	Human
DWP20367	91.3±0.2	90.3±0.3
CPF ₃ X	33.4±6.8	26.1±1.1
SPFX	24.0±2.8	26.2±2.5

Data represent mean ± S.E. of 4 observations.

으며 뇌에서는 검출되지 않았다.

혈청단백과의 결합성

Bioassay에 의해 정량된 사람 및 흰쥐 혈청단백에 대한 결합률을 Table VI에 나타내었다. 2 µg/ml에서의 단백질결합률은 DWP20367이 약 90%로 거의 유사하였으며, CPF₃X는 33%와 26%로 다소 차이를 보였으나 유의적인 차이는 없었으며, SPFX는 24%에서 26%이었다.

고 찰

DWP20367에 관한 흰쥐 및 개에서의 체내동태, 요중배설, 조직분포 및 단백질결합률을 HPLC법 또는 bioassay법을 이용하여 비교 연구하였다.

흰쥐 혈장에서 bioassay법과 HPLC법으로 비교한 DWP20367의 약물동태는 AUC, t_{1/2β}, MRT, C_{max} 및 T_{max} 등의 약동학적 파라메타로 볼 때, 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며, 생체이용률에 있어서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 간대사 후 생성될 수 있는 DWP20367의 혈장내 대사형태는 체내 약효에 큰 영향을 미치지 않을 것으로 판단되나, 정맥주사시 두 정량법간의 몇몇 파라메타들에서 수치상 다소 차이를 보인 것으로 보아 혈장 약물동태에 영향을 미치는 대사체 형태를 포함하고 있을 가능성도 시사된다. 개에서의 DWP20367의 체내동태는 흰쥐와 다소 차이를 보여, 반감기는 30분에서 60분 정도, T_{max}는 40분에서 45분 정도, MRT는 20분에서 50분 정도 지연되었다. 그러나 흰쥐 및 개에서의 생체이용률은 통계적으로 유사하여 80% 정도로 매우 높게 나타났다.

플루오로퀴놀론계 모핵내 8번 탄소에 -Cl기가 치환된 DWP20367과 -OCH₃기가 치환된 DWP20373과의 흰쥐에서의 약동학적 결과들을 비교해보면 AUC는 DWP20367이 약 2.5~4배 정도, 혈장최고 농도는 역시 4배 정도 우수한 것으로 나타났다(Cho 등, 1997b). 또한 V_{dss} 및 Cl_r도 3~4배 정도 차이가 나타났으며, 생체이용률도 DWP20367이 DWP20373보다 30%~40%정도 높은 것으로 나타났다(Cho 등, 1997b). 한편 모핵내 -Cl기와 -OCH₃기 사이의 약동학적 차이는 7번 탄소에 메칠치오메칠피로리딘기가 도입된 신규 퀴놀론계 항생물질들에서도 동일한 경향이 확인

되었는데(Cho 등, 1997a) 이와같은 결과들은 8번 탄소의 치환기로서 $-OCH_3$ 보다 $-Cl$ 기가 체내 약물동태에 더 유리하다는 것을 시사한다고 할 수 있다.

또한 *in vitro* 항균력과 혈장 중 약물농도를 비교해 보면 김 등(1997)이 보고한 경구 폐렴유발균과 여러 MRSA균주들에 대한 *in vitro* MIC값($0.013\sim 0.049\ \mu\text{g/ml}$)보다 100배 높은 농도인 $1\sim 5\ \mu\text{g/ml}$ 이상의 농도가 420 분에서 540분 이상 지속되었다. C_{max} 값 역시 여러 임상분리균주에 대한 MIC값보다 약 5000배 이상의 농도를 나타내었다(Kim 등, 1996). 이것은 *in vitro* MIC를 초과하는 혈장농도 유지시간과 *in vivo* 항균효과의 비례성(Choi, 1993)으로 볼 때, DWP 20367은 매우 긴시간까지 약효를 유지할 수 있을 것으로 사료되나, 실제 *in vitro* 항균력이 *in vivo*에서도 나타나는지 상기도 감염모델 등의 *in vivo* 항균력 시험을 통해 보다 자세히 증명되어야 하겠다.

흰쥐에서 DWP20367의 요 및 변중회수율은 0.7% (p.o.)와 1.2% (i.v.) 이하로서 매우 낮았는데, 이것은 혈장에 대한 bioassay 결과와 마찬가지로 요 및 변중 약물의 미확인 배설물질은 항균활성이 적은 대사체 형태를 나타내고 있다고 판단된다. 그러나 신장이나 다른 장기 등의 축적 가능성 역시 배제할 수 없으므로 저자 등은 약물 투여 후 4시간 및 24시간에서 간, 신장, 폐 및 뇌에 대한 DWP20367의 농도 변화를 조사해 보았다. 그 결과 간, 신장 및 폐의 경우, 시간이 경과 됨에 따라 점차 감소되어 24시간에서는 30분에서의 약물 농도가 약 85% 이상 소실되는 것을 확인할 수 있었으며, 각 시간 마다 뇌에서는 검출되지 않았다(데이터는 나타내지 않았음). 따라서 이와같은 결과는 DWP20367이 그 자체로서 축적되기 보다는 항균활성이 적은 대사형태로 전환되어 배설된다는 사실을 반영하는 것으로 판단된다. 한편 30분에서의 상대적인 조직내 약물분포비를 plasma농도와 비교해 볼 때, DWP20367은 DWP20373의 결과에서처럼, 대부분의 장기가 혈장에 비해 낮은 농도를 나타내었다. 이것은 C7 치환체로서의 diazabicyclic기는 동일 시간에서 혈장농도에 비해 3~5 배이상의 농도를 나타내는 DWP20349 및 DWP20351처럼 7번 탄소에 메칠치오메칠피로리딘기를 가지는 약물들보다 조직친화력이 매우 작은 것으로 판단된다. 그러나 시간이 경과되면서 분포후상에서의 조직내 평형상태 및 체내 클리어런스 등의 영향으로 인해 조직내 약물의 분포비는 달라질 수 있으며, 따라서 약물의 조직분포도는 시간에 따른 장기 및 조직 분포연구를 통해 더욱 심도있게 연구되어야 하겠다.

이와같은 결과를 종합하여 보면 DWP20349 및 DWP 20351에서도 증명되었듯이 모핵내 8번 탄소의 치환기는 7번 탄소의 치환기에 상관없이 $-OCH_3$ 보다 $-Cl$ 기가 더 유리한 것으로 사료되며, 이를 바탕으로 $-Cl$ 기가 도입된 보다 우수한 약동학적 특징을 가지는 항균제 설계가 가능할 것

으로 판단된다. 또한 DWP20367은 높은 생체이용률과 항균력 및 광선조사에 대한 안정성 등을 바탕으로의 신규 항생물질로서 개발 가능성이 큰 약물로서 사료되며 이후 여러 감염모델에서의 *in vivo* 약효와 농도의존성 및 장기연용 투여후의 약동학적 연구 등이 더 진행되어야 하겠다.

참고문헌

- Abadia, A. R., Aramayona, J. J., Munoz, M. J., Pla Delfina, J. M., Saez M. P. and Bregante, M. A. (1994). Disposition of ciprofloxacin following intravenous administration in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **17**, 385-388.
- Caekenbergh, D. L. and Pattyn, S. (1984). *In vitro* activity of ciprofloxacin compared with those of other new fluorinated piperazinyl-substituted quinolone derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 518-522.
- Campoli-Richards, D. M., Monk, J. P., Benfield, A. P. P., Todd, P. A. and Ward, A. (1988). Ciprofloxacin, A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* **35**, 373-379.
- Chin, N. and Neu, H. C. (1991). Ciprofloxacin, a quinolone carboxylic acid compound active against aerobic and anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 319-321.
- Cho, J. Y., Nam, K. H., Kim, D. O., Lee, J. W., Park, N. J., Kang, Y. S., Yu, Y. H. and Lee, J. W. (1995). Pharmacokinetic study on DWQ-013, a new quinolone, in rats and mice. *Yakhak Hoeji* **39**, 223-230.
- Cho, J. Y., Nam, K. H., Yoo, E. S., Yu, Y. H., Lee, J. W. and Park, M. H. (1997a). Pharmacokinetics and tissue distribution of DWP20349 and DWP20351, new quinolones having 3-amino-4-methylthiomethyl pyrrolidinyl group on C7, in rats. *Yakhak Hoeji* **41**, 312-320.
- Cho, J. Y., Han, S. H., Kim, B. O., Nam, K. H., Yoo, E. S., Shim, J. S., Jeong, D. Y., Kong, J. Y., Yu, Y. H., Lee, J. W., Park, M. H. and Kim, J. H. (1997b). Pharmacokinetics and tissue distribution of DWP20373, a new fluoroquinolones, in rats and beagle dogs. *J. Applied Pharmacol.* **5**, 178-186.
- Choi, K. E. (1993). Pharmacokinetic parameters and their clinical significances in the new drug development. *Kor. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **1**, 212-216.
- Ito, A., Hirai, K., Inoue, M., Koga, H., Suzue, S., Irikura, T. and Misuhashi, S. (1980). *In vitro* antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob. Agents Chemother.* **77**, 103-107.
- Kim, B. O., Choi, M. J., Han, S. H., Kim, J. Y., Shim, J. S., Park, N. J., Son, H. J., Lee, J. W., Yu, Y. H. and Park, M. H. (1995). Evaluation of *in vitro* and *in vivo* antibacterial activity of DWQ-217, a fluoroquinolone. *Yakhak Hoeji* **39**, 351-359.
- Kim, J. Y., Choi, M. J., Han, S. H., Kim, B. O., Shim, J. S., Jung, Y. E., Lee, J. W., Yu, Y. H. and Park, M. H. (1996). Evaluation of *in vitro* antibacterial activity of DWP20373, a novel fluoroquinolone. *Yakhak Hoeji* **40**, 357-368.

- Kim, J. Y., Choi, M. J., Han, S. H., Shim, J. S., Jung, Y. E., Son, H. J., Lee, J. W., Yu, Y. H. and Park, M. H. (1997). *In vitro* antibacterial activity of novel fluoroquinolone. *Yakhak Hoeji* **41**, 225-232.
- Lee, J. W., Kang, T. C., Lee, K. S., Son, H. J., Yoon, G. J., Yu, Y. H. and Kim, D. Y. (1994a). Synthesis and antimicrobial activity of 7-[(3-methylthio or 3-methylthiomethyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic acid. *Yakhak Hoeji* **38**, 197-201.
- Lee, J. W., Son, H. J., Lee, K. S., Yu, Y. H. and Yoon, G. J. (1994b). Synthesis and antimicrobial activity of 7-[3-hydroxy-(4-methylthio or 3-methylthiomethyl)pyrrolidinyl]quinolone-3-carboxylic acid. *Yakhak Hoeji* **38**, 677-682.
- Nix, D. E., Spivcy, J. M., Norman, A. and Schentag, J. J. (1992). Dose-ranging pharmacokinetic study of ciprofloxacin after 200-, 300-, and 400-mg intravenous doses. *Ann. Pharmacother.* **26**, 8-13.
- Ontay, G., Goueffon, Y. and Roquet, F. M. (1984). Absorption, distribution, metabolic fate, and elimination of pefloxacin mesylate in mice, rats, dogs, monkeys, and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* **25**, 463-472.
- Seo, M. K., Lee, S. H., Choi, Y. J., Jeong, Y. N., Lee, S. H., Kim, I. C. and Lee, Y. H. (1996). Pharmacokinetics of LB 20304, a new fluoroquinolone, in rats and dogs. *Arch. Pharm. Res.* **19**, 359-367.
- Shim, C. K., Choi, E. J., Lee, S. W., Kim, D. O., Park, N. J., Kang, Y. S. and Yu, Y. H. (1993). Pharmacokinetic study on DWC-715, a New cephalosporin, in rats and mice. *J. Applied Pharmacol.* **2**, 204-210.
- Weidekamm, E., Portmann, R., Suter, K., Partos, C., Dell, D. and Lucker, P. W. (1987). Single- and multiple-dose pharmacokinetics of fleroxacin, a trifluorinated quinolone, in humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* **3**, 1909-1913.
- Yu, Y. H., Park, N. J., Kim, B. O., Choi, M. J., Shim, J. S., Kang, T. C., Lee, J. W. and Kim, D. Y. (1994). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of the new quinolone, DWQ-013. *Yakhak Hoeji* **38**, 265-273.