

Oxytetracycline의 약욕 및 경구투여에 따른 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 체내 약물동태학적 특성

정승희[†] · 최동림 · 김진우 · 조미라* · 서정수 · 지보영
국립수산과학원 병리연구팀, *식품안전팀

Pharmacokinetics of oxytetracycline in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) by dipping and oral administration

Sung Hee Jung[†], Dong-Lim Choi, Jin Woo Kim, Mi Ra Jo*, Jung Soo Seo and Bo-Young Jee

Pathology Team, National Fisheries Research & Development Institute,
408-1 Shirang Gijang, Busan 619-900, Korea

*Food Safety Research Team, NFRDI, 408-1 Shirang Gijang, Busan 619-900, Korea

The pharmacokinetic properties of oxytetracycline (OTC) were studied after dipping and oral administration to cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (600 g). Plasma concentrations of OTC were determined after oral dosage (50, 100 and 200 mg/kg body weight) and dipping (50, 100 and 200 ppm, 1 h) in olive flounder (average 600 g, $23 \pm 1^\circ\text{C}$). Plasma samples were taken at 3, 5, 10, 15, 24, 32, 48, 72, 120, 168 and 240 h post-dose. In oral dosage of 50, 100 and 200 mg/kg, the peak plasma concentrations of OTC, which attained at 3 h post-dose, were 0.34, 0.44 and 1.18 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. In dipping of 50, 100 and 200 ppm, those of OTC which also observed at 5 h post-dose, were 0.43, 0.38 and 0.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively. Plasma concentrations of OTC were not measurable at 240 h post-dose in all experiments.

The kinetic profile of absorption, distribution and elimination of OTC in plasma were analyzed fitting to a one-compartment model by WinNonlin program. The following parameters were calculated for a single dosage of 50, 100 and 200 mg/kg body weight, respectively: AUC (the area under the concentration-time curve) = 31.40, 28.07 and 32.97 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$; $T_{1/2}$ (half-life) = 0.89, 1.12 and 0.43 h; T_{max} (time for maximum concentration) = 5.25, 3.70 and 7.30 h, C_{max} (maximum concentration) = 0.25, 0.38 and 0.61 $\mu\text{l}/\text{ml}$. Following dipping at 50, 100 and 200 ppm, these parameters were AUC = 15.51, 14.63 and 19.72 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$; $T_{1/2}$ = 0.75, 0.41 and 0.74 h; T_{max} = 4.90, 7.08 and 4.68 h, C_{max} = 0.40, 0.32 and 0.46 $\mu\text{l}/\text{ml}$.

Key words: Pharmacokinetics, Oxytetracycline, Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

현재 국내에서는 유효성분으로 약 30여종의 수산용 항생제 350여개 품목이 수의과학검역원으로부터 허가를 받아 시판되는 것으로 확인되었으며 이 가운데 oxytetracycline (OTC)의 제품은 15%를 차지하였다 (한국동물약품협회, 2001). 2006년 수산용 항생제는 총 221톤이 판매되었으며 tetracycline계 항생제인 OTC는 168

톤이 판매되어 전체 판매량의 약 76%에 해당하였다 (정 등, 2008). OTC는 양식어류의 사육단계에서 발생하는 연쇄구균증, 에드워드병, 비브리오병, 유결절증, 예로모나스병 및 슈도모나스증 등 광범위 세균성 질병을 치료 또는 예방하기 위해 경구투여 및 약욕의 방법으로 허가되었다 (한국동물약품협회, 2001).

[†]Corresponding Author : Sung Hee Jung, Tel : 051-720-2490,
Fax : 051-720-2498, E-mail : immu@nfrdi.re.kr

동물용의약품 안전사용기준 (국립수의과학검역원 고시 제2007-25호)에 의하면 OTC는 1일 용량으로 어체중 1 kg당 역가 50 mg 이하의 양을 사료에 혼합하여 경구투여하고 넙치에서 휴약기간은 40일로 규정하고 있으나 약육에 따른 사용법은 제외되어 있다. 그런데 시판되는 OTC 제품은 제조사별로 유효성분의 함량이 다르기 때문에 안전사용기준의 용법을 일률적으로 적용하기 어렵고 해당제품의 사용 설명서를 기준으로 살펴보아야 한다. 한편 넙치에서 약육의 경우 물 1톤당 역가 5~25 g (30~60분 동안) 또는 2.5~5 g (24시간~48시간 동안)을 녹여서 사용하게 허가되어 있다. 그리고 식품위생법상 OTC의 어체내 잔류허용기준은 0.2 mg/kg (ppm) 이하로 규정되어 있다.

동물용의약품등편람 (한국동물약품협회, 2001)에 의하면 양식장에서 사용되고 있는 OTC 제품은 1973년에 최초로 허가를 받은 이래, 1980년대 5개 제품, 1990년대 36개 제품 그리고 2000년대 11개 제품이 허가를 받았다. 따라서 전체 OTC 제품 가운데 67%에 해당하는 제품이 1990년대에 품목허가를 받았다. 따라서 1990년대와 2000년대에 이르기까지 OTC의 사용대상어종에 따른 투약 방법은 제조회사가 대부분 외국에서 실험하여 도출된 임상학적 연구 결과를 그대로 국내 어류에 적용하였기 때문에 사용하는 약품의 투약방법을 어종, 투약경로, 투약량, 서식수온, pH 등의 다양한 사육환경에 따라 재검토할 필요성이 있다. 양식어류를 대상으로 사육환경 및 투약방법에 따른 OTC의 약물동태학적 특성은 무지개송어 (Björklund and Bylund, 1990; Uno *et al.*, 1992, 1997; Uno, 1996; Abedini *et al.*, 1998; Namdari *et al.*, 1999), amago 연어 및 방어 (Uno *et al.*, 1992), 대서양 연어 (Elema *et al.*, 1996), chinook salmon (Abedini *et al.*, 1998; Namdari *et al.*, 1999), 농어 (Rigos *et al.*, 2002, 2004), gilthead sea bream (Rigos *et al.*, 2003), 뱀장어 (Ueno *et al.*, 2004), 초어 (Zhang and Li, 2007)에서 연구되었다. OTC는 넙치 (*Par-*

alichthys olivaceus)의 세균성 질병 치료제로 가장 많이 사용되고 있으나 넙치에 대한 약물동태학적 연구는 경구투여에 따른 간이스크리닝 검출방법 비교연구 (정과 김, 1998), 약육에 따른 조직내 잔류량 변화 (김 등, 2006)를 제외하면 거의 없다. 따라서 본 연구는 넙치를 대상으로 OTC의 투여경로별 및 투여농도별로 어체내 약물동태학적 패턴을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 실험어류

본 연구에서 사용된 항생제의 표준품 OTC hydrochloride (OTC)는 Sigma사 (USA)를 사용하였으며, 시료 중의 항생제 추출에는 acetonitrile, methanol (Merck, Germany), oxalic acid (Sigma, USA), EDTA (Sigma, USA) 등을 사용하였다.

넙치 (*Paralichthys olivaceus*)는 항생제 투여치료를 받은 경력이 없는 건강한 평균체중 600 g에 근접한 개체 약 150마리를 고르게 선별하여 유수식 수조(23±1.5°C)에서 3주간 순치시켰으며, 실험기간 동안 사육수온을 일정하게 유지하였다.

약제 투여 및 시료 채취

약제 투여방법에 따른 넙치 체내 약물동태학적 분석을 위하여 OTC를 넙치에 경구투여 및 약육으로 구분하였으며, 이들 투여경로별 실험구는 다시 투여농도에 따라서 농도별로 총 6개씩 설치하였다. 실험어는 약제 투여 하루 전부터 먹이를 공급하지 않았다. 경구투여구는 OTC의 투여농도를 어체중 kg당 50, 100 및 200 mg이 되도록 약제사료를 만들었다. 즉, 시판 뱀장어용 분말 배합사료를 넙치의 한입에 들어갈 크기로 동그랗게 잘 반죽한 다음 그 속에다 OTC를 칭량하여 환약처럼 만들어서 미리 냉동고(-80°C)에다 얼린 뒤, 실험 당일 꺼내어 핀셋을 이용하여 각 20마리씩 마취하지 않은 어체의

위장 안에까지 직접 강제로 1회 삽입한 뒤 수조에 수용하였으며, 만약 약제사료를 뱉어 내는 개체가 있을 경우에는 새로운 개체로 교체하였다. 약육구는 OTC의 투여농도를 어체중 kg당 50, 100 및 200 ppm으로 별도로 설정한 수조에서 각 20마리씩 1시간 동안 약육한 뒤 수조에 수용하였다. 경구투여 및 약육은 모두 1회 실시하였으며 투여가 종료된 직후를 0시간으로 간주하여 3, 5, 10, 15, 24, 32, 48, 72, 120, 168, 240시간 마다 각 실험구에서 5마리씩 시료를 채취하였다. 단, 3~5시간까지 채혈한 개체는 등지느러미를 소량 절단하였으며, 10~15시간째 채혈한 개체는 배지느러미를 소량 절단하여 표식하였다. 이어서 24~32시간째는 초기에 등지느러미를 절단한 개체로부터 다시 채혈하였고, 48~72시간째는 배지느러미를 절단한 개체로부터

반복 채혈하였으며, 120~168시간째는 등지느러미를 절단한 개체를 반복 채혈하였다. 최종 채혈시기인 240시간째는 배지느러미를 절단한 개체로부터 재반복 채혈하였다. 실험어는 MS-222 (Sigma, USA)로 마취시켜 미부혈관으로부터 헤파린 (Sigma, USA) 처리한 주사기로 혈액 1 ml를 채취, 원심분리 (3000 rpm, 10분)하여 혈장을 분리한 후 OTC의 분석에 사용하였다. 한편, 지느러미를 절단, 표식하는 방법으로 반복채혈을 실시하였으나 실험기간 동안 폐사한 실험어는 출현하지 않았다.

OTC의 추출 및 HPLC 분석

OTC의 추출방법은 Fig. 1에 나타내었다. 즉, OTC를 투여한 넙치의 혈장 500 μ l를 마이크로 원심분리용 튜브에 취하여 0.5% EDTA가 첨가

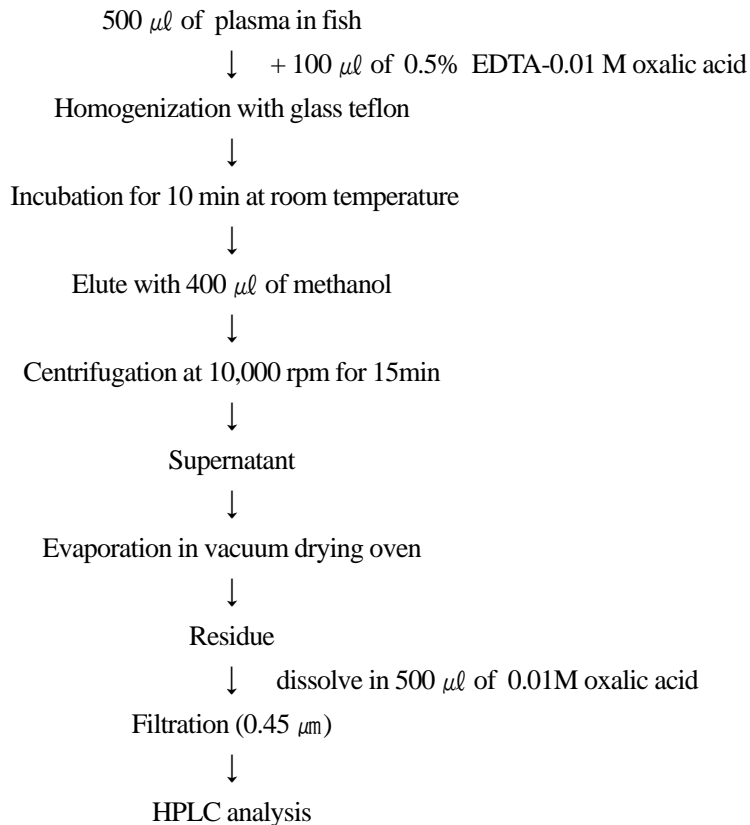


Fig. 1. Extraction procedure of oxytetracycline from the blood of olive flounder.

된 oxalic acid 100 μ l를 넣고 glass teflon homogenizer로 충분히 분쇄하여 균질화한 뒤 실온에서 10분간 방치하였다. 이어서 methanol 400 μ l를 첨가하여 잘 혼합하고 원심분리 (10,000 rpm, 15분)한 다음, 상등액을 취하여 이를 vacuum drying oven (PAREE Chemicals & Science)에서 감압 건조시켰다. 그 잔사를 0.01 M oxalic acid 500 μ l로 희석해 syringe filter (Nalgene, 0.45 μ m)로 여과시켜 HPLC에 주입하여 분석하였다.

HPLC (Hitachi, D-6000)의 기기분석 조건은 Table 1에서 나타낸 바와 같다. 즉 column은 250 \times 4.6 mm i.d. (C₁₈, 5 μ m, SHISEIDO), 이동상은 methanol-acetonitrile-0.01 M oxalic acid (100:100:700, v/v/v), column 온도는 40°C, flow rate는 1 ml/min, detector는 HITACHI L-4500 (Diode Array Detector), λ =336 nm, AUFS (0.02), injection volume은 20 μ l, run time은 15 min이었다.

Stock solution은 OTC-HCl 100 mg에 100 ml의 methanol을 첨가하여 용해시켜 갈색 시약병에 넣어 보관 (4°C)하여 사용하였다. 50 ml stock solution을 시험관에 취해 methanol 50 ml를 가하여 100 ml (500 ppm)로 맞춘 다음, 이 용액을 0.01 M oxalic acid로 희석하여 working solution으로 사용하였다. 0.01 M oxalic acid와 acetonitrile, methanol 용액을 700:100:100 (v/v/v)의 비율로 혼합한 후 여과필터로 진공 탈기시켜 이동상으로 사용하였다.

표준곡선 작성 및 회수율

OTC를 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2, 10, 20, 50, 100 ppm 농도로 이동상에 녹인 표준용액을 HPLC에 20 μ l 주입하여 도출된 피크면적에 의하여 표준곡선을 작성하였다. 회수율은 OTC 표준용액을 0.1, 1 및 10 ppm 농도로 넙치의 근육 및 혈장에 첨가한 후, 각 농도에서 OTC를 추출하여 HPLC로 측정하였다.

OTC의 약물동태학적 검토

OTC의 투약방법에 따른 넙치 체내에서의 약물 혈중농도 측정결과를 바탕으로 one-compartment model에 따라서 WinNonlin program (Pharsight Co., Inc., USA) 이용하여 OTC의 흡수, 배설, 반감기 등 약물동태학적 매개변수 (parameter)를 조사하였다.

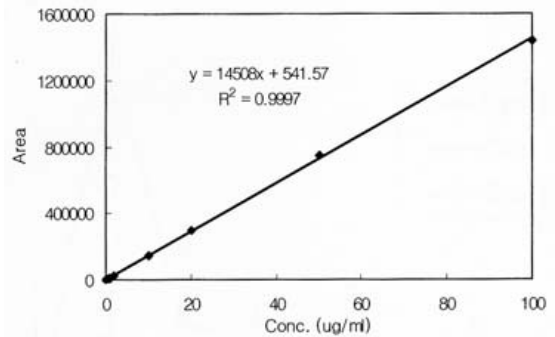


Fig. 2. Calibration curve for the assay of oxytetracycline.

Table 1. HPLC instruments and analysis conditions for oxytetracycline

Instrument	HITACHI D-6000
Column	250 \times 4.6 mm i.d. (C ₁₈ , 5 μ m, SHISEIDO)
Mobile phase	Methanol-acetonitrile-0.01 M oxalic acid (100:100:700, v/v/v)
Column temperature	40°C
Flow rate	1 ml/min
Detector	HITACHI L-4500 (Diode Array Detector) λ = 336 nm, AUFS (0.02)
Injection volume	20 μ l
Run time	15 min

결 과

표준곡선 및 회수율

OTC의 표준곡선을 작성한 결과 OTC의 농도에 따라 peak 면적의 넓이가 비례하여 양호한 직선성 ($R^2=0.9997$)을 나타내었다 (Fig. 2). OTC의 회수율은 혈액에서 10, 1, 0.1 ppm에서 평균 93.85, 89.72, 84.51%를 기록하였다 (Table 2).

투여경로 및 투여농도에 따른 OTC의 경시적 농도변화

OTC를 50, 100, 200 mg/kg 농도로 넙치에 1회 경구투여 한 후 시간 경과에 따른 혈중에서의 OTC 경시적 농도변화를 Fig. 3에 나타내었다. 50 mg/kg 시험구는 투약 후 3시간째 0.22±0.15 µg/ml를 나타낸 후, 5시간째 0.34±0.25 µg/ml로 최대값을 나타내었으나 10시간째부터 48시간까지 0.21±0.09~0.18±0.17 µg/ml로 거의 일정한

값을 나타내었으며, 이후 168시간까지 0.13±0.11~0.08±0.04 µg/ml로 완만한 약물소실 경향을 나타내었다. 100 mg/kg 시험구는 투약 후 3시간째 0.36±0.17 µg/ml를 나타낸 후, 5시간째 0.44±0.08 µg/ml로 최대값을 나타내었으나 10시간째부터 48시간까지 0.32±0.2~0.24±0.18 µg/ml로 소실되었으며, 이후 168시간까지 0.1±0.06~0.05±0.01 µg/ml로 소실하였다. 200 mg/kg 시험구는 투약 후 3시간째 0.13±0.08 µg/ml로 낮게 나타났으며, 5시간째 1.18±0.23 µg/ml로 최대값을 나타내었으나 10시간째 급격히 감소하였고, 이후부터 32시간까지 0.51±0.21~0.25±0.14 µg/ml로 서서히 소실하였으며, 이후 168시간까지 0.29±0.22~0.11±0.06 µg/ml로 소실하였다. 한편 240시간째는 모든 시험구에서 OTC가 검출한계 이하로 검출되지 않았다. OTC를 50, 100 및 200 mg/kg로 경구투여한 경우 모든 시험구에서 투약 후 5시간째 최대 혈중

Table 2. Recovery (%) of oxytetracycline from tissue of olive flounder

Tissue	Fortified level (ppm)	Re ¹ /Co ² (Mean ± SD, n=5)	Recovery (%) (Mean ± SD, n=5)
Blood	10	0.94 ± 0.02	93.85 ± 1.18
	1	0.90 ± 0.03	89.72 ± 2.04
	0.1	0.85 ± 0.06	84.51 ± 2.59

1) Recovered peak area. 2) Control peak area.

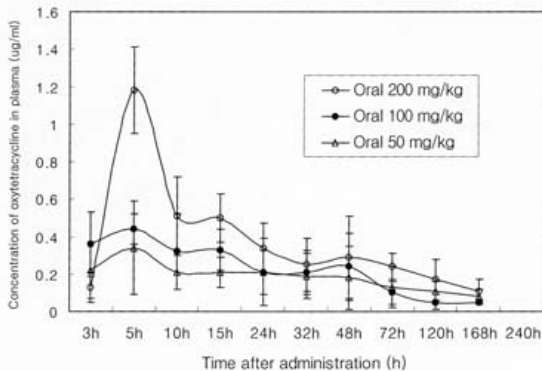


Fig. 3. Plasma concentration of oxytetracycline in olive flounder after oral feeding with different doses of 50, 100 and 200 mg/kg body weight.

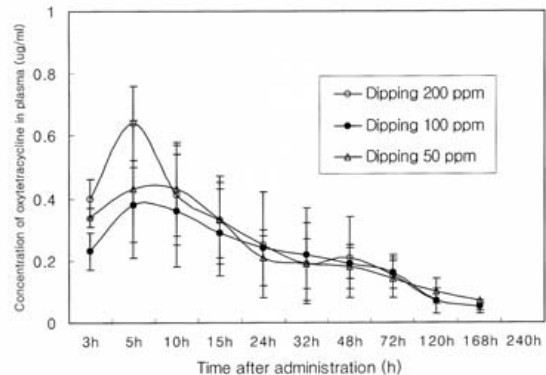


Fig. 4. Plasma concentration of oxytetracycline in olive flounder after dipping with different concentration of 50, 100 and 200 ppm for 1 h.

농도를 나타내었다.

OTC를 50, 100, 200 ppm 농도로 넙치에 1시간 약욕한 후 시간 경과에 따른 혈중에서의 OTC 경시적 농도변화를 Fig. 4에 나타내었다. 50 ppm 시험구는 투약 후 3시간째 $0.34 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$ 를 나타낸 후, 5시간째와 10시간째 $0.43 \pm 0.22 \sim 0.43 \pm 0.15 \mu\text{g/ml}$ 로 최대값을 나타내었으나 15시간째부터 168시간까지는 $0.33 \pm 0.14 \sim 0.07 \pm 0.0 \mu\text{g/ml}$ 로 소실하였다. 100 ppm 시험구는 투약 후 3시간째 $0.23 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ 를 나타낸 후, 5시간째와 10시간째 $0.38 \pm 0.12 \sim 0.36 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ 로 최대값을 나타내었으나 15시간째부터 168시간까지 $0.29 \pm 0.14 \sim 0.05 \pm 0.01 \mu\text{g/ml}$ 로 소실되었다. 200 ppm 시험구는 투약 후 3시간째 $0.4 \pm 0.06 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났으며, 5시간째 $0.64 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$ 로 최대값을 나타내었으나 이후부터 168시간까지 $0.41 \pm 0.16 \sim 0.05 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$ 로 소실하였다. 한편 240시간째는 모든 시험구에서 OTC가 검출한계 이하로 검출되지 않았다. OTC를 50, 100 및 200 ppm으로 약욕한 경우는 5시간~10시간째 최대 혈중농도를 나타내었으며, 시간에 따른 약물 소실경향은 경구투여에 비하여 가파른 경향을 나타내었다.

OTC의 약물동태학적 검토

OTC의 투여경로 및 투여농도별 넙치 체내에서의 약물동태학적 요인을 검토한 결과, 50, 100, 200 mg/kg을 경구투여한 넙치의 혈장농도-시간 곡선하 면적 AUC는 31.40, 28.07, 32.97 $\mu\text{l} \cdot \text{h/ml}$ 였고, 약물 흡수속도 K_{01} 은 0.78, 0.62, 1.60/h이었으며, 소실속도 정수 K_{10} 은 81.06, 35.40, 32.49/h로 나타났다. 약물의 반감기 $T_{1/2}$ 은 0.89, 1.12, 0.43 h로 나타났으며, 혈중최고농도의 도달시간 T_{max} 는 5.25, 3.70, 7.30 h, 혈중최고농도 C_{max} 는 0.25, 0.38, 0.61 $\mu\text{l/ml}$ 였다. 배설속도를 감안하여 혈중농도의 값이 완전 소실되는 시점인 예상 약물 소실시간 E_t 는 377.5, 270.9, 323.0 h로 나타났다 (Table 3).

50, 100, 200 ppm으로 약욕한 넙치의 혈장농도-시간곡선하 면적 AUC는 각각 15.51, 14.63, 19.72 $\mu\text{l} \cdot \text{h/ml}$ 였고, 약물흡수 속도 K_{01} 은 각각 0.92, 1.67, 0.94/h이었으며, 소실속도 정수 K_{10} 은 33.74, 26.02, 26.27/h로 나타났다. 약물의 반감기 $T_{1/2}$ 은 0.75, 0.41, 0.74 h로 나타났으며, 혈중최고농도의 도달시간 T_{max} 는 4.90, 7.08, 4.68 h, 혈중최고농도 C_{max} 는 0.40, 0.32, 0.46 $\mu\text{l/ml}$ 였다. 배설속도를 감안하여 혈중농도의 값이 완전 소실되

Table 3. Pharmacokinetic parameters for oxytetracycline in plasma of olive flounder following oral feeding with different doses of 50, 100 and 200 mg/kg body weight

Parameters (unit)	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$)	31.40	28.07	32.97
K_{01} (1/h)	0.78	0.62	1.60
K_{10} (1/h)	81.06	35.40	32.49
$T_{1/2}$ (h)	0.89	1.12	0.43
T_{max} (h)	5.25	3.70	7.30
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	0.25	0.38	0.61
E_t (h)	377.5	270.9	323.0

Abbreviations: AUC, area under the concentration-time curve; K_{01} and K_{10} , distribution rate constants of central and peripheral compartments; $T_{1/2}$, half-life; T_{max} , time for maximum concentration; C_{max} , maximum concentration; E_t , elimination time.

Table 4. Pharmacokinetic parameters for oxytetracycline in plasma of olive flounder following dipping with different concentration of 50, 100 and 200 ppm for 1 h

Parameters (unit)	50 ppm	100 ppm	200 ppm
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$)	15.51	14.63	19.72
K_{01} (1/h)	0.92	1.67	0.94
K_{10} (1/h)	33.74	26.02	26.27
$T_{1/2}$ (h)	0.75	0.41	0.74
T_{max} (h)	4.90	7.08	4.68
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.40	0.32	0.46
Et (h)	164.0	104.4	251.5

Abbreviations: AUC, area under the concentration-time curve; K_{01} and K_{10} , distribution rate constants of central and peripheral compartments; $T_{1/2}$, half-life; T_{max} , time for maximum concentration; C_{max} , maximum concentration; Et, elimination time.

는 시점인 예상 약물 소실시간 Et는 164.0, 104.4, 251.5 h로 나타났다 (Table 4).

고 찰

넙치 조직에 대한 OTC의 회수율을 조사한 연구에서 김 등 (2006)은 혈청 5mL에 각각 OTC를 0.5 및 1.0 ppm이 되도록 spiking하여 평균 71~77%의 회수율을 얻었다. 본 연구에서는 이들 연구자보다 훨씬 적은 조직의 양으로 혈장 0.5 mL에 각각 OTC를 1.0 및 0.1 ppm이 되도록 spiking하여 평균 90~85%의 회수율을 구하였다. 본 연구에서 얻어진 회수율은 김 등 (2006)의 회수율과 비교하면 오히려 높은 값을 얻었다. 따라서 본 연구에서는 최소한의 시료로부터 최대한 높은 회수율을 획득하고자 하였으며, 실험기간 동안 가능한 약제 투여량 어류를 죽이지 않고 체내 약물동태를 연구하기 위해서 고안한 방법이어서 향후 OTC의 잔류량을 분석하기에 본 분석법이 유용하게 사용될 것이다.

OTC의 *in vitro* 항균력을 조사한 정과 김 (2000)에 의하면 어류 병원세균인 *Vibrio anguillarum*, *Edwardsiella tarda* 및 *Streptococcus* sp.에 대한 OTC의 최소발육저지농도 (MIC)는 각각

0.78, 0.78, 1.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 나타내었다. 그런데 본 실험에서 OTC의 약욕 및 경구투여에 따른 넙치 혈장 중 약물농도를 살펴보면 50~200 mg/kg body weight 농도로 1회 경구투여 하였을 때 통상 투약량 (50 mg/kg 어체중)의 4배에 해당하는 경구투여 200 mg/kg body weight 시험구의 최대혈중농도가 투여 5시간째에 1.18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 *V. anguillarum* 및 *E. tarda*에 대한 MIC의 약 1.5배를 유지하였을 뿐, *Streptococcus* sp.에 대한 MIC의 약 0.75배에 불과하였다. 그리고 50 및 100 mg/kg body weight 시험구는 최대혈중농도가 투여 5시간째에 0.44~0.34 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 *V. anguillarum* 및 *E. tarda*에 대한 MIC의 약 0.56~0.44배, *Streptococcus* sp.에 대한 MIC의 0.28~0.22배를 나타내었다. 한편, 50~200 ppm의 농도로 1시간 약욕하였을 경우는 최대혈중농도가 투여 5시간째에 0.64~0.43 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 나타내어 이들 세균에 대한 MIC에 전혀 근접하지 못하였다. 특히 안전사용기준에 의거한 권장 경구투여 용량인 50 mg/kg body weight의 1회 투여로는 최대혈중농도가 0.34 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 나타나서 OTC의 *in vitro* 항균력과 혈장 중 약물농도의 비교 값으로는 주요 병원세균에 대한 MIC의 1/2의 농도 (0.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에도 도달하지 못하는 것으로 확인되었다.

OTC의 투여가 어류질병을 성공적으로 치료하기 위해서는 어체내 약물농도와 지속기간이 중요한 지표가 될 것이다. 또한 조직내 OTC의 농도는 항균력의 지표인 MIC보다 높을 필요가 있다는 것은 분명하지만 그 몇 배가 필요할 것인지에 대해서는 명확하게 정량화되어 있지 못하다. 물론 약물의 치료효과가 혈중농도와 반드시 직접적인 상관관계를 가지는 것은 아니겠으나 Rigos *et al.* (2004)에 의하면 대부분의 약물은 적어도 MIC의 1배~2배 이상의 농도로 혈중에서 일정 기간동안 유지해야 치료효과가 나타난다고 하였기에, 향후 어류병원체군에 대한 *in vitro* 항균력 (MIC)과 OTC의 투약농도에 따른 넙치 혈중농도의 변화 및 지속성에 대하여 더욱 심도 있게 연구되어야 하겠다.

Bioavailability (생체내이용률)란 치료성의 동등성을 보장하기 위해 흡수속도와 양의 두 가지 측면에서 흡수의 효율성을 정량적으로 평가하고자 하는 것으로 약물의 체내 흡수성을 살펴볼 수 있는 유의한 검사항목이다 (Treves- Brown, 2000). OTC의 경구투여 (50~100 mg/kg)에 따른 bioavailability는 잉어 0.6% (Grondel *et al.*, 1987), 무지개송어 5.6% (Björklund and Bylund, 1990) 및 1.25% (Nouws *et al.*, 1992), 대서양 연어 2% (Eleme *et al.*, 1996), 은어 9.3% (Uno, 1996), 뱀장어 0.69% (Ueno *et al.*, 2004)로 보고되어, 인간에 있어 OTC의 흡수율 60% (Björklund and Bylund, 1990)와 비교하면 대단히 낮은 흡수율을 나타내었다. 그러나 Abedini *et al.* (1998)은 OTC를 methanol에 녹여서 경구투여 하였더니 chinook 연어 24.84%, 무지개송어 30.30%의 증가된 bioavailability를 보고하였다. Uno (1996)는 인위적으로 비브리오 (*Vibrio anguillarum*)에 감염시킨 은어의 bioavailability를 조사한 결과, 건강한 은어 (9.3%)보다 훨씬 낮은 3.8%를 나타내었으며, 비브리오에 감염시킨 은어는 건강한 은어의 약 60%정도에 해당하는 bioavailability를 확인하였다. 본 연구에서는 넙치에 대한 OTC의 bioavailability를 조사하지 못

하였으나, 이와 같은 연구결과가 양식현장에서 질병에 감염된 어류를 대상으로 OTC를 경구투여 하더라도 실제로 어체내로 흡수되는 양은 건강한 어류에 비하여 현저하게 떨어질 수밖에 없다는 사실을 잘 증명해 준다고 하겠다. 경구투여 후의 OTC 흡수는 섭취된 먹이, 칼슘, 마그네슘, 철 및 알루미늄의 염 (salts)의 존재에 의해서 억제되고, 이들 금속이온들 (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+})과 OTC의 상호작용에 의해서 잘 흡수되지 않는 킬레이트(chelate)가 형성되기 때문에 펠렛 등 사료와 사육환경 (수온, pH 등)에서 형성된 금속이온들이 어느 정도를 영향을 미치는가에 따라서 어체내 bioavailability가 크게 영향을 받는 것으로 추정된다 (Björklund and Bylund, 1990; Abedini *et al.*, 1998; Sangrungruang *et al.*, 2004; Ueno *et al.*, 2004).

투여경로에서 투여농도가 가장 높은 경구 (200 mg/kg body weight) 및 약욕 (200 ppm)의 시험구에서 최대 혈중농도도 각 1.18 및 0.64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 높게 나타났으나, 투여농도에 따른 약물의 소실기인 잔류농도의 변화양상에는 투여농도와는 크게 차이가 없었다. 따라서 OTC의 약물 투여경로에 따른 경시적인 혈장 중 흡수, 분포 및 배설 패턴의 전체를 살펴보면, 경구 및 약욕 시험구는 초기 흡수패턴에서는 경구투여구가 높은 농도를 나타내었으나 그 이후에는 잔류농도에 별다른 차이를 보이지 않았다. 경구투여에서는 투여 3시간째를 제외하고 중반기까지는 약물의 혈중 분포가 비교적 투여농도에 잘 비례한 모습을 보여주었다. 특히 약욕의 경우, OTC 투여 초반기에 200 ppm 시험구를 제외하고 50 ppm 시험구가 100 ppm 시험구보다 오히려 높은 혈중농도를 나타내었으나, 15시간 이후부터는 약물 소실이 농도와 상관없이 거의 비슷한 패턴을 나타내었다. 본 연구에서 OTC를 넙치에 경구투여 및 약욕하였을 때 투여 후 5시간 이내에 혈중최고농도에 도달하였으므로 OTC는 비교적 빠른 시간 안에 어체내에서 흡수되는 것으로 생각된다. 테트라사이클린류는 경구적으로

투여된 후 빨리 흡수되어 약 2~4시간 이내에 모두 이루어지며, 치료적 유효농도는 12시간 이상 동안 유지되나 24시간 이상은 지속되지 않는다고 한다 (이, 1994). 반면에 Rigos *et al.* (2003)은 OTC의 혈장 최대농도가 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이상으로 1일 이상은 지속하는 것이 질병에 감염된 어류의 치료효과를 제대로 거둘 수 있다고 보고하였다.

생체시료에서 약물 및 그 대사체를 정량하기 위해서 도입되는 각종 분석법들은 이런 bioavailability 및 생물학적 동등성 (bioequivalence)을 평가하고 해석하는데 중요한 역할을 한다. 따라서 완벽하게 검증된 분석법들을 도입하여 만족스럽게 해석할 수 있는 신뢰할만한 결과들을 얻는 것이 필수적이다. 본 연구에서는 약물동태연구에 많이 이용되는 WinNonlin program을 이용하여 one-compartment model로써 흡수, 배설에 대한 각종 매개변수를 도출하였다 (Table 3 및 4). 그러나 Elema *et al.* (1996)은 주사법, Uno *et al.* (1992) 및 Uno (1996)는 주사 및 경구, Abedini *et al.* (1998)은 경구, Rigos *et al.* (2002, 2003)은 경구 및 주사, Sangrungruang *et al.* (2004)은 주사법을 이용하였으며, 본 연구와는 다르게 two 및 three-compartment model 등 다양한 분석법에 의거하여 매개변수를 도출하고 있어 본 연구결과에서 얻어진 값들 (AUC, K_{01} , K_{10} , $T_{1/2}$, T_{\max} , C_{\max} , Et)과 동일하게 비교하기는 어려웠다. 투여경로에 따라 다르게 나타나는 이러한 분석법의 검증 매개변수들은 그 추천사항이라든지 기준이 마련되어 있지 않기 때문에 자의적으로 비교할 수 밖에 없는 실정이라고 생각한다.

어체내에서 약물동태는 약물의 투여량, 위 공복시간, 흡수, 약물의 생체내 대사 및 약물의 배설율과 같은 여러 인자에 의존하고 (Treves-Brown, 2000), OTC의 흡수, 분포 및 배설속도의 패턴은 온도의존성 (temperature-dependent)이기 때문에 무엇보다 사육수온에 따라 약물동태학적 parameter가 크게 변하는데 약물의 어체내 잔류기간은 저수온에 비해 고수온에서 현저히 짧아진다고 보고하였다 (Björklund and Bylund,

1990; Zhang and Li, 2007). 본 연구에서는 증명하지 못하였으나 향후 넙치에 대한 OTC의 bioavailability, 투여횟수 및 사육수온별 그리고 실제 *in vitro* 항균력이 *in vivo*에서도 나타나는지 등 약물동태학적 연구가 더 진행되어야 하겠다.

요 약

옥시테트라사이클린 (OTC)을 넙치 (평균체중 600 g)에 1회 경구투여 (50, 100 및 200 mg/kg body weight) 및 1시간 동안 약욕 (50, 100 및 200 ppm)한 다음, 경시적 (3시간~240시간)인 혈장내 OTC의 잔류농도를 분석하였다. 50, 100 및 200 mg/kg 농도로 경구투여한 모든 시험구에서 투여 5시간째 각각 0.34, 0.44 및 $1.18 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 최대혈중농도를 나타내었다. 약욕한 시험구의 경우, 50, 100 및 200 ppm 시험구는 투여 5시간째 0.43, 0.38 및 $0.64 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 최대혈중농도를 나타내었다. 투여경로별 모든 시험구는 투여 240시간째 혈중에서 검출되지 않았다.

OTC의 투여방법에 따른 넙치 체내 약물 혈중농도 측정결과를 바탕으로 one-compartment model로 WinNonlin program을 이용하여 OTC의 흡수, 배설, 반감기 등 약물동태학적 매개변수 (parameter)를 조사하였다. 50, 100 및 200 mg/kg을 경구투여한 경우, 혈장농도-시간곡선하 면적 (AUC)은 각각 31.40, 28.07 및 $32.97 \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 약물의 반감기 ($T_{1/2}$)는 각각 0.89, 1.12 및 0.43 h, 혈중최고농도의 도달시간 (T_{\max})은 5.25, 3.70 및 7.30 h, 혈중최고농도 (C_{\max})는 0.25, 0.38 및 $0.61 \mu\text{l}/\text{ml}$ 로 계산되었다. 50, 100 및 200 ppm으로 약욕한 경우, 혈장농도-시간곡선하 면적 (AUC)은 각각 15.51, 14.63 및 $19.72 \mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$, 약물의 반감기 ($T_{1/2}$)는 0.75, 0.41 및 0.74 h, 혈중최고농도의 도달시간 (T_{\max})은 4.90, 7.08 및 4.68 h, 혈중최고농도 (C_{\max})는 0.40, 0.32 및 $0.46 \mu\text{l}/\text{ml}$ 로 계산되었다.

감사의 글

이 연구는 국립수산물과학원 (수산물약품의 약리학적 효능성 연구, RP-2008- AQ-006)의 지원에 의해 운영되었습니다.

참 고 문 헌

- Abedini, S., Namdari, R. and Law, F.C.P.: Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in rainbow trout and chinook salmon. *Aquaculture*, 162: 23-32, 1998.
- Björklund, H. and Bylund, G.: Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 84: 363-372, 1990.
- Elema, M.O., Hoff, K.A. and Kristensen, H.G.: Bioavailability of oxytetracycline from medicated feed administered to atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater. *Aquaculture*, 143: 7-14, 1996.
- Grondel, J.L., Nouws, J.F.M., DeJong, M., Schutte, A.R. and Driessens, F.: Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in carp, *Cyprinus carpio* L., following different routes of administration. *J. of Fish Dis.*, 10: 153-163, 1987.
- Namdari, R., Abedini, S. and Law, F.C.P.: A comparative tissue distribution study of oxytetracycline in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), and chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquacult. Res.*, 30: 279-286, 1999.
- Nouws, J.F.M., Grondel, J.L., Boon, J.H. and Van Ginneken, V.J.T.: Pharmacokinetics of antimicrobials in some fresh water fish species. In: Michel, C.M. and Aldeman, D.J. (eds). Office of International Epizootiology, Paris. 437-447, 1992.
- Rigos, G., Alexis, M., Andriopoulou, A., and Nengas, I.: Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, at two water temperatures. *Aquaculture*, 210: 59-67, 2002.
- Rigos, G., Nengas, I., Tyrpenou, AE., Alexis, M. and Troisi, G.M.: Pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) after a single dose. *Aquaculture*, 221: 75-83, 2003.
- Rigos, G., Nengas, I., Alexis, M. and Athanassopoulou, F.: Bioavailability of oxytetracycline in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *J. of Fish Dis.*, 27: 119-122, 2004.
- Sangrungruang, K., chotchuang, A. and Ueno, R.: Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in giant tiger prawn. *Fish. Sci.*, 70: 467-472, 2004.
- Treves-Brown, K.M.: Applied fish pharmacology. Tetracyclines. pp.64-82. Kluwer Academic Publishers, Boston, London. 2000.
- Ueno, R., Kinoshita, A. and Wakabayashi, J.: Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in eel and its fate in a closed aquatic environment. *Aquaculture*, 235: 53-63, 2004.
- Uno, K.: Pharmacokinetic study of oxytetracycline in health and vibriosis- infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture*, 143: 33-42, 1996.
- Uno, K., Aoki, T. and Ueno, R.: Pharmacokinetic study of oxytetracycline in cultured rainbow trout, amago salmon and yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi.*, 58: 1151-1156, 1992.
- Uno, K., Aoki, T., Ueno, R. and Maeda, I.: Pharmacokinetics of oxytetracycline in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* following bolus intravenous administration. *Fish. Sci.*, 63:

- 90-93, 1997.
- Zhang, Q. and Li, X.: Pharmacokinetics and residue elimination of oxytetracycline in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Aquaculture*, 272: 140-145, 2007.
- 김석, 정희식, 강석중, 하지영, 정원철, 허성혁, 신용운, 김경원, 김대근, 이후장: Oxytetracycline 과 tetracycline의 약육에 따른 양식어류 (넙치, 조피볼락, 참돔)의 조직내 잔류량의 변화. *한국어병학회지*, 19: 155-164, 2006.
- 국립수의과학검역원 고시 제2007-25호: 동물용의약품의 안전사용기준. 2008.
- 이장락: 동물약품해설, 서울대학교출판부. pp. 220-224, 1994.
- 이희정, 이태식, 손광태, 김풍호, 조미라, 박미정, 이영호: HPLC를 이용한 어패류 중의 테트라사이클린계 항생제 분석방법 개발. *한국수산학회지*, 38: 372- 378, 2005.
- 정준기, 김진우, 박관하, 강소영, 김형락, 강주찬, 박남규, 정승희, 서정수, 백근욱, 이상환, 김나영, 박음미, 김수연, 이민섭, 민은영, 고혜진, 제주은: 양식장 항생제 저감관리방안 및 기생충 구제제의 환경영향에 관한 연구용역. *농림수산식품부*. 2008.
- 정승희, 김진우: 넙치 근육중 잔류 옥시테트라싸이클린의 간이스크리닝 검출방법 비교연구. *한국어병학회지*, 11: 77-81, 1998.
- 정승희, 김진우: 병용항균제의 어류질병 세균에 대한 시험관내 항균활성. *한국어병학회지*, 13: 45-51, 2000.
- 한국동물약품협회: 동물용의약품등편람. 2001.

Manuscript Received : March 12, 2008

Revision Accepted : July 16, 2008

Responsible Editorial Member : Kim, Jung-Ho
(Kangnung National University)