

Cefadroxil의 경구투여에 따른 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 에서의 약물동태학 연구

이지훈·박관하[†]

군산대학교 수산생명의학과

Pharmacokinetics of cefadroxil after oral administration in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

Ji-Hoon Lee and Kwan Ha Park[†]

Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Science and Technology,
Kunsan National University, San-68 Miryong-dong, Gunsan City, Jeonbuk, Korea

The pharmacokinetic properties of cefadroxil (CDX) were studied after oral administration for 7 days to cultured olive flounders (average 660 g), *Paralichthys olivaceus*. For examination of pharmacokinetic profiles, CDX of 45 to 225 mg/kg body weight was administered at two different water temperatures, 13±3°C or 22±3°C. CDX concentrations were determined in muscle, plasma, gastrointestinal tract, hematopoietic organs and liver by HPLC-MS/MS. Muscle samples were taken at 0.25, 0.5, 1, 3, 7, 14 and 28 days post dose, whereas plasma, gastrointestinal tract, hematopoietic organs and liver concentrations were measured at 1, 3, 7, 14 and 28 days post-dosing. The kinetic profiles of C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$ of CDX were analyzed by fitting to a non-compartmental model with PKSolver program. The following pharmacokinetic parameters were obtained with oral administration of 45 and 225 mg/kg at 13 and 22°C in muscle, plasma, gastrointestinal tract, hematopoietic organs and liver, respectively: C_{max} (maximum tissue concentration)=985.98-5,032.86 µg/kg, 5,670.99-38,922.23 µg/l, 2,457.27-10,192.78 µg/kg, 886.04-3,070.87 µg/kg and 1,188.15-3,814.33 µg/kg; T_{max} (time for maximum concentration)= every 1 day; $MRT_{0-\infty}$ (mean residence time)= 1.51-4.74, 2.12-3.06, 4.25-13.18, 1.37-18.66 and 1.78-29.76 days; $T_{1/2}$ (half-life)= 1.08-3.47, 1.14-5.42, 3.56-10.99, 1.17-14.93 and 1.25-28.55 days.

Key words: Cefadroxil, HPLC-MS/MS, Olive flounder, Oral administration, Pharmacokinetics

현재 국내에서 승인된 수산용 항생·항균물질은 36종으로 이들 중 cefadroxil (CDX)은 1세대 반합성 세파로스포린계 항생물질로 어류양식에서 에드워드병, 연쇄상구균증, 비브리오증, 활주세균증, 살모넬라증 및 세균성 장염에서 효능 및 효과를

기대할 수 있는 항생물질이다 (NIFS, 2016). 동물용 의약품의 오·남용이나 미승인 물질의 사용을 방지하기 위해 식품의약품안전처에서는 잔류허용기준 (maximum residue limit, MRL)을 어류 또는 세부 어종에 대해서 설정하여 관리하고 있으며, 규제대상 의약품들도 점차 확대되고 있는 추세이고 국내에서 식품 중 동물용의약품은 1989년부터 잔류허용기준을 설정하기 시작하여 2017년도 까지 193종

[†]Corresponding author: Kwan Ha Park
Tel: +82-63-469-1885, Fax: +82-63-469-7444
E-mail: khpark@kunsan.ac.kr

에 대한 잔류기준이 마련되어 있다 (KFDA, 2017).

과거에 허가된 대부분의 수산용의약품의 경우 1990년대와 2000년대에 이르기까지 사용대상어종에 따른 투약 방법을 제약회사가 대부분 외국에서 실험하여 도출된 약리 및 임상학적 연구 결과를 그대로 국내 어류에 적용하였기 때문에 우리나라의 양식배경에 적합한 투약농도, 투약방법 및 수온 등에 따라서 적합한 과학적 근거가 필요시 되고 있다 (Jung *et al.*, 2008). 또한 세균성질병 치료를 목적으로 이미 사용되고 있는 항균·항생물질의 대부분에 대해서는 이미 잔류허용기준이 설정되어 있지만 극히 소수의 의약품에 대해서는 아직 잔류허용기준이 미 설정되어 사용되고 있으며 이들을 대상으로 잔류허용기준 신설을 확대하는 국가적 차원에서의 연구가 활발히 이루어지고 있다.

CDX에 관한 약물동태학적특성은 인간에서 경구투여한 후 혈액에서 약동학적 특성의 연구 (Cutler *et al.*, 1979; Fan *et al.*, 2002; La Rosa *et al.*, 1982; Rahim *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2001), 레트 (García-Carbonell *et al.*, 1993; Jin *et al.*, 2014), 말 (Duffee *et al.*, 1989; Duffee *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 1985)에서 경구 및 정맥투여 후 혈액에서 약동학적 특성의 연구 및 토끼에서 정맥투여한 후 혈액에서 약물분석 (Marino *et al.*, 1981)이 보고되었지만, 어류에 대한 CDX의 약물동태학적 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 넙치에서 그람 양성 및 음성균에 의한 어병 예방 및 치료에 투여되는 CDX의 사육수온과 투여농도에 따른 약물동태학적 패턴을 분석함으로써 과학적으로 합리적인 잔류허용기준의 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시험어 및 시약

전남 완도 소재의 육상수조식 양식장에서 체중 660 ± 75 g의 건강한 넙치를 입수하여 차광된 실험실내에서 여과순환수조에 수용하여 시험하였다. 어류의 순치는 수온을 비교수온 $13 \pm 3^\circ\text{C}$ 와 적정수온 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 염분 농도는 30 psu, DO는 5.0-6.0 mg/l의 조건에서 2주간 유지하였다. 순치기간 중 배합

사료를 체중의 2% 정도의 급여율에 적용되도록 오전 10시경에 공급하였다. 분석에 사용한 항생제의 표준품 cefadroxil (CDX)은 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. LC-MS/MS분석을 위한 시료의 전처리에 사용한 solid-phase extraction (SPE) cartridge는 Waters사 (Oasis MCX, Milford, MA, USA)에서 구입하여 사용하였고 그의 시약은 Fisher사 (Fairlawn, NJ, USA)에서 구입하여 사용하였다.

CDX의 투여 및 시료 채취

가식부인 근육을 포함한 장기 내 CDX 잔류량을 분석하기 위해 매일 1회, 7일간 연속 경구투여 후 조직 시료를 채취하여 분석에 사용하였다. 경구투여 용량은 허가된 임상용량 (45 mg/kg b.w.)과 임상용량의 5배에 해당하는 양 (225 mg/kg b.w.)으로 투여하였다. CDX의 사료 내 흡착은 시판 부상넙치사료 (CJ Feed Co. Ltd., Incheon, Korea)에 혼합하여 투여하고 급여 후 30분 이내에 모두 섭취하는 상태를 기준으로 하였다. 사료의 급여가 종료된 직후를 0일로 간주하여 0.25, 0.5, 1, 3, 7, 14 및 28일에 각 시험군에서 10마리씩 채취하여 분석 시까지 냉동보관 (-70°C)하였다. 잔류분석조직은 근육, 간장, 조혈조직 (신장+비장), 위장 (+장관) 및 혈장을 분석에 사용하였다.

시료전처리

조직 중의 CDX을 물과 아세트니트릴을 가하여 초음파로 추출하여 농축한 뒤 SPE cartridge로 정제한 후 HPLC-MS/MS에 주입하여 분석하였다. 즉, 균질화한 2 g의 조직을 50 ml 원심분리관에 취하고 증류수 1 ml와 아세트니트릴 4 ml를 가하고 10분간 초음파 (Power Sonic 420, 50/60 Hz, 700W, Hwashin Tech, Seoul, Korea)를 이용하여 추출하였다. 추출액을 $4,612 \times$ g에서 10분간 원심분리 하여 상층액을 새로운 원심분리관에 취하고 잔사에 다시 한번 증류수 1 ml와 아세트나이트릴 4 ml를 가하여 초음파 추출한 후 상기 상층액과 합하였다. 이 용액을 40°C 수욕상에서 진공감압농축기 (EYELA, N-1100, Tokyo, Japan)로 2 ml까지 건조 하였다. 혈장의 경우는 시료 500 μl 를 동량의 증류수와 균질

하게 혼합하였다. 미리 메탄올 2 ml와 증류수 1 ml로 활성화시킨 MCX cartridge에 추출시료를 흡착시키고 2% 개미산 수용액 2 ml와 동량의 메탄올로 세척한 후, 5% 메탄올성 수산화암모늄용액 2 ml로 완전히 용출시켰다. 용출액은 40°C 수욕상에서 진공감압농축기로 건조 하여 잔류물을 0.1% 개미산 수용액 2 ml에 녹여 정용한 후 0.2 µm syringe filter로 여과하여 이를 LC-MS/MS에 주입하여 분석하였다.

기기분석조건

조직 내 CDX 잔류량 분석에 사용된 기기는 액체크로마토그래피 (Agilent 1260 HPLC series, Santa Clara, CA, USA)와 질량분석기 (Agilent 6420 Electrospray Ionization-Triple Quadrupole MS, Santa Clara, CA, USA)를 검출기로 사용하였다. 질량분석기를 통해 양이온 (positive) 모드에서 선구이온을 검출하고 최적화된 충돌 에너지 (collision en-

ergy)를 선택한 다음 조각이온을 탐색하여 정성 및 정량 이온을 결정하는 multiple reaction monitoring (MRM)으로 분석조건을 확립하였다 (Table 1).

직선성 및 회수율

직선성을 확인하기 위해 CDX 표준품을 정밀히 달아 증류수에 용해시켜 1,000 mg/l 농도가 되도록 stock solution을 조제 하였다. 이를 0.005, 0.025, 0.05, 0.1, 0.5 mg/l의 농도로 단계회석하여 검량선 작성에 사용하였다. 회수율을 평가하기 위해 정량 한계 (LOQ, limit of quantification)는 chromatogram 상에서 신호:잡음 비 (signal:noise ratio)가 10 이상 되는 수치로 설정하여 정량한계와 정량한계의 2배 농도를 시료에 spiking한 후, 위의 전처리 과정을 거친 후에 HPLC-MS/MS로 측정하였다. 측정된 시료의 정량이온 면적을 검량선에 대입하여 함량을 계산하였다. 추출액은 3회 반복하여 얻어진 분석값의 상대표준편차 (% RSD, relative standard devia-

Table 1. Analytical conditions of CDX analysis by LC-MS/MS

Parameter	Conditions		
HPLC	Agilent 1260 series		
Mass Spectrometry	Agilent 6420 triple quadrupole MS		
Column	2.1 mm × 150 mm, 3.5 µm C ₁₈ (XBridge waters)		
Column temperature	30°C		
Mobile phase	A : 0.1% formic acid in water B : acetonitrile (ACN)		
Gradient	Time (min:sec)	A (%)	B (%)
	0:00	100	0
	7:00	80	20
	15:00	100	0
Run time	15 minute		
Post time	5 minute		
Flow rate	0.25 ml/minute		
Injection volume	10 µl		
Ionization mode	positive(+) ion electrospray		
Gas temperature	350°C		
Gas flow	9.5 l/minute		
Neublizer pressure	30 psi		
Collision voltage	8 eV		
Scan type	Multiple Reaction Monitoring (MRM mode)		
	Precursor ion (m/z)	Fragment ions (m/z)	Collision energy (eV)
	364	114.1, 208.1	21, 4

tion)로 재현성 및 정밀성을 계산하였다.

약동학적 해석

CDX을 투여한 넙치 장기 조직 별 약물농도 측정결과를 바탕으로 비구획 (non-compartmental) model에 따라 PKSolver program (Zhang *et al.*, 2010)을 적용하여 최고농도 (C_{max}), 최고농도 도달시간 (T_{max}), 배설반감기 ($T_{1/2}$) 등의 중요한 pharmacokinetic parameter를 계산하였다.

결 과

직선성 및 회수율

CDX의 표준용액을 단계회석한 후 LC-MS/MS로 분석하여 각 농도에 대한 peak area 비를 이용해 검량선을 작성한 결과 상관계수 (r^2)는 0.999로 직선성이 매우 우수한 것으로 확인되었으며, 이는 CODEX guideline에서 제시하는 기준인 0.99 이상의 조건을 충족하여 충분한 신뢰도가 있음을 나타내었다.

회수율 측정을 위한 정량한계의 설정은 chromatogram상에서 신호:잡음 비를 10 이상으로 하여 측정한 결과 근육, 간장, 혈장은 0.005 mg/kg, 조혈조직 (신장+비장)은 0.025 mg/kg 그리고 위장 (+장관) 조직은 0.1 mg/kg으로 검출되었다. 각 조직별 정량한계와 정량한계의 2배 수준에서 본 전처리방법으로 CDX을 회수하여 검출한 결과 위장 (+장관) 조직을 제외한 나머지 조직에서는 CODEX guideline

(CAC/GL 71-2009)에 충족하는 결과를 나타내었다 (Table 2).

수은 및 투여농도에 따른 CDX의 잔류특성

현재 CDX의 임상투여 농도인 45 mg/kg b.w. 및 5배 농도인 225 mg/kg b.w. 로 넙치에 7일간 경구투여 한 후 시간경과에 따른 근육, 혈중 내 농도를 포함한 기타 장기에서의 CDX 경시적 농도변화를 Fig. 1에 나타내었다.

먼저 적수온인 22°C 시험구에서 45, 225 mg/kg 은 투여종료 1일 후에 각각 1,377.3±578.3, 5,032.9±2,144.1 µg/kg으로 근육 중 최고농도로 검출되었다 (Fig 1A). 45 mg/kg 시험구는 투여종료 14일째 검출되지 않았고 225 mg/kg 시험구는 14일까지 23.9±17.5 µg/kg으로 잔류가 지속되어 28일째는 불검출로 나타났다. 비교수온인 13°C 시험구에서는 45, 225 mg/kg 모두 투여종료 1일 후에 985.9±287.6, 3,313.6±1,084.9 µg/kg으로 근육 중 최고농도를 나타내었다. 두 시험구 모두 투여종료 14일까지 잔류가 지속되어 28일 후에는 검출되지 않았다.

시간에 따른 간장의 CDX 경시적 농도변화는 Fig. 1B에 나타내었다. 적수온인 22°C에서 투여종료 1일 후에 45, 225 mg/kg 시험구 모두 간장 내 최고농도인 1,188.2±608.4, 3,334.0±3,846.2 µg/kg으로 검출되었다. 45 mg/kg 시험구의 경우 투여종료 14일 후에는 검출되지 않았지만 225 mg/kg 시험구는 투여종료 28일 후에도 159.1±307.2 µg/kg으로 검출되었다. 비교수온인 13°C에서 45, 225 mg/kg

Table 2. Recoveries, limit of quantitation for CDX analysis of olive flounder samples

Compound	Sample (olive flounder)	Fortified Concentration (mg/kg, ppm)	Recovery (%) (Mean±SD, n=5)	CV (%)	LOQ (mg/kg)
	Muscle	0.005	98.1±0.7	14.5	0.005
		0.01	74.4±1.7	22.3	
	Liver	0.005	96.4±1.0	20.9	
		0.01	67.0±0.9	13.4	
Cefadroxil	Plasma	0.005	108.1±0.9	17.0	0.025
		0.01	82.2±0.8	9.4	
	Hematopoietic tissue (kidney+spleen)	0.025	73.0±1.7	18.1	
		0.05	62.6±4.6	29.4	
	Intestine (+stomach)	0.1	67.7±5.1	24.9	
	0.2	68.6±11.7	28.3	0.1	

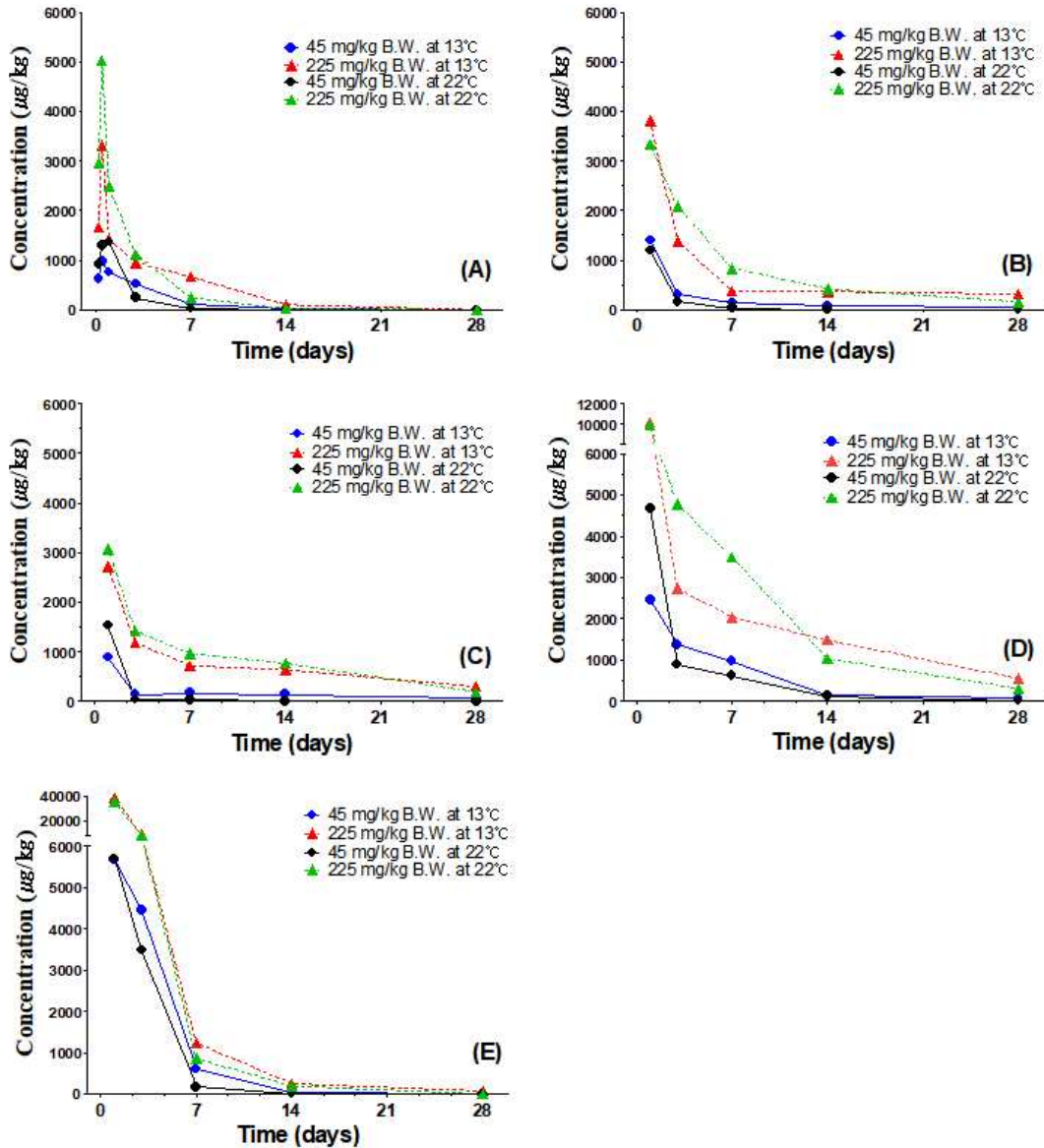


Fig. 1. Tissue concentration of CDX in olive flounder after oral administration with different doses at 13 and 22±3°C. Five flounder from each of the one tank were analyzed. (A) Muscle; (B) Liver; (C) Hematopoietic tissue (kidney+spleen); (D) Intestine (+stomach); (E) Plasma.

시험구 모두 투여종료 1일 후에 간장 내 최고농도인 1,399.6±1,153.6, 3,814.3±3,348.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 두 시험구 모두 투여종료 28일 후에도 47.4±65.5, 314.2±443.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다.

시간에 따른 조혈조직 (신장+비장)에서 CDX 경시적 농도변화는 Fig. 1C에 나타내었다. 적수온인

22°C에서 투여종료 1일 후에 45, 225 mg/kg 시험구 모두 조혈조직 내 최고농도인 1,531.2±762.7, 3,070.9±2,839.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 45 mg/kg 시험구는 투여종료 14일 후부터 검출되지 않았지만 225 mg/kg 시험구는 투여종료 14일 후에도 767.3±840.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 높은 농도를 유지하여 28일 후에는 190.3

$\pm 238.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 비교수온인 13°C 에서 45, 225 mg/kg 시험구 모두 투여종료 1일 후에 조혈조직 내 최고농도인 886.0 ± 762.8 , $2,722.9 \pm 2,148.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 두 시험구 모두 투여종료 28일 후에도 65.3 ± 116.8 , $298.4 \pm 302.4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다.

시간에 따른 위장 (+장관)조직의 CDX 경시적 농도변화는 Fig. 1D에 나타내었다. 먼저 적수온인 22°C 시험구에서 45, 225 mg/kg은 투여종료 1일 후에 $4,674.8 \pm 3,357.6$, $9,926.2 \pm 7,354.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 위장 조직 중 최고농도로 검출되었다. 두 시험구 모두 투여종료 28일 후에도 10.1 ± 25.1 , $312.1 \pm 554.9 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 비교수온인 13°C 에서도 45, 225 mg/kg 시험구 모두 투여종료 1일 후에 최고농도인 $2,457.3 \pm 197.0$, $10,192.8 \pm 4,028.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 두 시험구 모두 투여종료 28일 후에도 66.1 ± 99.1 , $553.2 \pm 552.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다.

마지막으로 혈장 내 CDX의 경시적 농도 변화는 Fig. 1E에 나타내었다. 분석조직들 가운데 CDX의 분포가 혈장 내에서 가장 높은 농도로 관찰되어 적수온인 22°C 시험구에서 45, 225 mg/kg은 투여종료 1일 후에 $5,702.5 \pm 4,430.6$, $35,826.3 \pm 10,900.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 반면 45 mg/kg 시험구에서는 투여종료 14일 후부터 불검출로 나타났으며 225 mg/kg 시험구는 14일째 $189.4 \pm 59.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 잔류되어 28일 후에는 검출되지 않았다. 비교수온인 13°C 에서도 45, 225 mg/kg 시험구 모두 투여종료 1일 후에 최고농도인 $5,670.9 \pm 1,131.5$, $38,922.2 \pm 4,430.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다. 45 mg/kg 시험구에서는 투

여종료 28일 후 불검출로 나타났지만 225 mg/kg에서는 14일째 $246.9 \pm 57.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 잔류되어 28일 후에는 $72.9 \pm 39.4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 검출되었다.

CDX의 약동학적 profile

CDX을 임상용량 및 그 용량의 5배 농도로 경구 투여 한 후 넵치의 장기 조직 별 잔류 약물농도 결과를 바탕으로 약물동태의 수학적 분석을 non-compartmental model에 따라 pharmacokinetic parameters를 계산한 결과를 장기별로 각각 Table 3, 4, 5, 6, 7에 나타내었다.

적수온인 22°C 에서 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넵치 근육 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 ($\text{AUC}_{0-\infty}$)은 각각 3,242.3, 10,561.3 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$ 로 나타났다. 근육 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 각각 1일에서 1,377.3, 5,032.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 그 외 배설반감기 ($T_{1/2}$)는 각각 1.1, 1.9일로 나타났고 평균체류시간 ($\text{MRT}_{0-\infty}$)은 각각 1.5, 2.4일로 나타났다. 비교수온인 13°C 에서는 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넵치 근육 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 ($\text{AUC}_{0-\infty}$)은 각각 7,048.1, 27,653.1 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$ 로 나타났다. 근육 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 3,771.9, 10,311.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타났다. 그 외 배설반감기 ($T_{1/2}$)는 각각 2.3, 3.5일로 나타났고 평균체류시간 ($\text{MRT}_{0-\infty}$)은 각각 3.3, 4.7일로 나타났다.

적수온인 22°C 에서 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넵치 간장 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 ($\text{AUC}_{0-\infty}$)은 각각 2,384.4, 23,387.1 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$ 로 나타

Table 3. Pharmacokinetic parameters of CDX in the muscle of olive flounder following oral administration with different doses and temperatures

Parameter	Unit	$13 \pm 3^\circ\text{C}$		$22 \pm 3^\circ\text{C}$	
		45 mg/kg	225 mg/kg	45 mg/kg	225 mg/kg
C_{max}	$\mu\text{g}/\text{kg}$	985.98	3,313.56	1,377.29	5,032.86
T_{max}	d	1.00	1.00	1.00	1.00
$T_{1/2}$	d	2.32	3.47	1.08	1.95
AUC_{0-t}	$\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$	3,771.90	10,311.75	3,200.06	10,494.07
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$	3,829.84	10,818.06	3,242.27	10,561.31
$\text{MRT}_{0-\infty}$	d	3.26	4.74	1.51	2.44

Abbreviations: d, day; C_{max} , maximum tissue concentration; T_{max} , time for maximum concentration; $T_{1/2}$, half-life; AUC_{0-t} , area under the time-concentration curve; $\text{MRT}_{0-\infty}$, mean residence time.

Table 4. Pharmacokinetic parameters of CDX in the liver of olive flounder following oral administration with different doses and temperatures

Parameter	Unit	13±3°C		22±3°C	
		45 mg/kg	225 mg/kg	45 mg/kg	225 mg/kg
C _{max}	µg/kg	1,399.60	3,814.33	1,188.15	3,333.95
T _{max}	d	1.00	1.00	1.00	1.00
T _{1/2}	d	14.06	28.55	1.25	8.96
AUC _{0-t}	µg/kg·d	4,972.45	17,922.47	2,321.37	21,330.85
AUC _{0-∞}	µg/kg·d	5,933.02	53,528.62	2,384.42	23,387.08
MRT _{0-∞}	d	13.17	29.76	1.78	9.95

Abbreviations: d, day; C_{max}, maximum tissue concentration; T_{max}, time for maximum concentration; T_{1/2}, half-life; AUC_{0-t}, area under the time-concentration curve; MRT_{0-∞}, mean residence time.

Table 5. Pharmacokinetic parameters of CDX in hematopoietic tissues (kidney+spleen) of olive flounder following oral administration with different doses and temperatures

Parameter	Unit	13±3°C		22±3°C	
		45 mg/kg	225 mg/kg	45 mg/kg	225 mg/kg
C _{max}	µg/kg	886.04	2,722.92	1,531.16	3,070.87
T _{max}	d	1.00	1.00	1.00	1.00
T _{1/2}	d	14.93	13.78	1.17	8.83
AUC _{0-t}	µg/kg·d	4,592.19	20,358.27	2,478.32	23,550.68
AUC _{0-∞}	µg/kg·d	5,998.99	26,291.30	2,523.47	25,975.48
MRT _{0-∞}	d	18.66	18.21	1.37	11.68

Abbreviations: d, day; C_{max}, maximum tissue concentration; T_{max}, time for maximum concentration; T_{1/2}, half-life; AUC_{0-t}, area under the time-concentration curve; MRT_{0-∞}, mean residence time.

Table 6. Pharmacokinetic parameters of CDX in the intestine (+stomach) of olive flounder following oral administration with different doses and temperatures

Parameter	Unit	13±3°C		22±3°C	
		45 mg/kg	225 mg/kg	45 mg/kg	225 mg/kg
C _{max}	µg/kg	2,457.27	10,192.78	4,674.87	9,926.19
T _{max}	d	1.00	1.00	1.00	1.00
T _{1/2}	d	5.12	10.99	3.56	6.19
AUC _{0-t}	µg/kg·d	15,200.32	54,199.61	14,611.87	61,421.71
AUC _{0-∞}	µg/kg·d	15,688.53	62,969.27	14,663.73	64,207.29
MRT _{0-∞}	d	6.76	13.18	4.25	7.91

Abbreviations: d, day; C_{max}, maximum tissue concentration; T_{max}, time for maximum concentration; T_{1/2}, half-life; AUC_{0-t}, area under the time-concentration curve; MRT_{0-∞}, mean residence time.

났다. 간장 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 1,188.2, 3,333.9 µg/kg으로 나타났다. 그 외 배설반감기 (t_{1/2})는 각각 1.3, 8.9일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 1.8, 9.9일로 나타났다. 비교수온인 13°C에서는 45,

225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 간장 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 5,933.0, 53,528.6 µg/kg·d로 나타났다. 간장 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 1,399.6, 3,814.3 µg/kg으로 나타났다. 그 외 배설반

Table 7. Pharmacokinetic parameters of CDX in plasma of olive flounder following oral administration with different doses and temperatures

Parameter	Unit	13±3°C		22±3°C	
		45 mg/kg	225 mg/kg	45 mg/kg	225 mg/kg
C _{max}	µg/l	5,670.99	38,922.23	5,702.52	35,826.32
T _{max}	d	1.00	1.00	1.00	1.00
T _{1/2}	d	2.34	5.42	1.14	1.77
AUC _{0-t}	µg/l·d	25,624.72	95,624.55	19,336.64	84,484.58
AUC _{0-∞}	µg/l·d	25,628.33	96,195.02	19,615.78	84,967.38
MRT _{0-∞}	d	3.06	2.69	2.28	2.12

Abbreviations: d, day; C_{max}, maximum tissue concentration; T_{max}, time for maximum concentration; T_{1/2}, half-life; AUC_{0-t}, area under the time-concentration curve; MRT_{0-∞}, mean residence time.

감기 (T_{1/2})는 각각 14.1, 28.6일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 13.2, 29.8일로 나타났다.

적수온인 22°C에서 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 조혈조직 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 2,523.5, 25,975.5 µg/kg·d로 나타났다. 조혈조직 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 1,531.2, 3,070.9 µg/kg으로 나타났다. 그 외 배설반감기 (T_{1/2})는 각각 1.2, 8.8일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 1.4, 11.7일로 나타났다. 비교수온인 13°C에서는 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 조혈조직 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 5,998.9, 26,291.3 µg/kg·d로 나타났다. 조혈조직 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 886.0, 2,722.9 µg/kg으로 나타났다. 그 외 배설반감기 (T_{1/2})는 각각 14.9, 13.8일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 18.7, 18.2일로 나타났다.

적수온인 22°C에서 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 위-장관 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 14,663.7, 64,207.3 µg/kg·d로 나타났다. 위-장관 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 4,674.9, 9,926.2 µg/kg으로 나타났다. 그 외 배설반감기 (T_{1/2})는 각각 3.6, 6.2일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 4.3, 7.9일로 나타났다. 비교수온인 13°C에서는 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 위-장관 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 15,688.5, 62,969.3 µg/kg·d로 나타났다. 위-장관 내 최고농도

도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 2,457.3, 10,192.8 µg/kg으로 나타났다. 그 외 배설반감기 (T_{1/2})는 각각 5.1, 10.9일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 6.8, 13.2일로 나타났다.

적수온인 22°C에서 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 혈장 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 19,615.8, 84,967.4 µg/l·d로 나타났다. 혈장 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 5,702.5, 35,826.3 µg/l로 나타났다. 그 외 배설반감기 (T_{1/2})는 각각 1.1, 1.8일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 2.3, 2.1일로 나타났다. 비교수온인 13°C에서는 45, 225 mg/kg으로 경구투여한 넙치 혈장 내 CDX의 농도-시간곡선하 면적 (AUC_{0-∞})은 각각 25,628.3, 96,195.0 µg/l·d로 나타났다. 혈장 내 최고농도 도달시간 (T_{max}) 및 최고농도 (C_{max})는 1일에서 각각 5,671.0, 38,922.2 µg/l로 나타났다. 그 외 배설반감기 (T_{1/2})는 각각 2.3, 5.4일로 나타났고 평균체류시간 (MRT_{0-∞})은 각각 3.1, 2.7일로 나타났다.

고 찰

본 연구는 넙치에서 CDX의 약동학 연구에 적용되기에 충분한 감도를 지닌 분석법을 확립하여 약동학적 잔류시험을 통하여 가식부인 근육을 포함한 중요 장기들의 약물속도론적 분석을 LC-MS/MS로 측정하였다. LC-MS/MS를 이용한 약동학적 분석법은 샘플의 matrix가 복잡한 수산식품의 내인성 생체 성분들로부터 미량의 잔류의약품만을

선택적으로 분석하기 위한 가장 신뢰성 있는 분석 방법이다 (Oh *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2011).

약동학적 분석을 위한 이전의 CDX 분석법은 HPLC-UVD를 이용하여 인간에서 경구투여 후 혈장에서 약물속도론적 분석을 보고하였고 (Barbhaiya, 1996; Welling *et al.*, 1985) 특히 Kano *et al.* (2012)은 인간 혈장에서 CDX의 정량적 측정을 위한 효율적인 HPLC-UVD 방법을 보고 하였지만 적절한 감도 (LOQ, 0.4 $\mu\text{g/ml}$)를 나타내지 못하였다. 또한 가축에서 CDX의 사용으로 인한 우유에서 고감도분석을 필요로 하는 잔류분석법이 LC-MS/MS로 발전되어 왔다 (Karageorgou *et al.*, 2013). 본 연구에서 샘플의 분석을 위한 전처리방법은 SPE cartridge를 사용하여 고상추출법을 활용해 높은 분석 감도를 정립하였고 (LOQ, 0.005 $\mu\text{g/ml}$), Colin *et al.* (2013)도 고상추출을 전처리법으로 사용하여 LC-MS/MS로 분석을 하였지만 본 연구에서 도출된 정량한계의 약 14배 높은 수준 (LOQ, 0.07 $\mu\text{g/ml}$)으로 보고하였다. 동일한 전처리법을 사용했음에도 정량한계의 차이는 분석샘플의 양, 샘플의 종류, pH, SPE 적재속도 등의 요인으로 직접적인 비교는 어렵지만 여러 요인 중 Huh and Myung (2010)은 시료의 pH가 분석물질들의 pKa값과 비슷한 조건에서 좋은 회수율 및 정량한계를 나타내었다고 보고하고 있어 본 연구에서 사용된 전처리 방법과 직접적으로 비교하긴 어려웠다. 따라서 본 연구에서는 넙치 조직으로부터 우수한 회수율 및 정량한계를 도출하고자 하였으며, 체내 약물동태를 연구하기 위해서 고안된 최적의 분석법으로서 유용하게 사용될 것으로 사료된다.

본 연구에서는 체내 약물동태연구를 위해 PK Solver program (Zhang *et al.*, 2010)을 적용하여 비구획 (non-compartmental) model로서 최고농도 (C_{max}), 최고농도 도달시간 (T_{max}), 배설반감기 ($T_{1/2}$) 등의 중요한 pharmacokinetic parameter를 계산하였다 (Table 3, 4, 5, 6 및 7). 근육을 제외한 나머지 분석 장기의 샘플분석 시간은 비교적 낮은 투여 종료 1일 후부터 측정하여 장기 조직에서 pharmacokinetic parameter의 결과는 신빙성이 떨어지지만 이 연구 자체는 degree day 산출을 목적하였기에 참고자료로서 고려된다. 어류를 포함한 넙치에서 CDX에 대

한 약물동태학적 연구가 보고되지 않아 본 연구결과에서 얻어진 약동학적 매개변수를 직접 비교하기는 어려웠지만 Duffee *et al.* (1997)이 말에서 CDX을 경구투여 시 혈장에서 약물의 평균체류시간은 농도 의존적이라고 보고하였다. 하지만 본 연구에서 보고한 혈장에서 약동학적 매개변수는 CDX의 투여농도와 약물의 평균체류시간은 오히려 투여농도가 높을수록 평균체류시간이 짧거나 유사하게 나타났다. 반면 투여농도가 동일 시 수온이 높을수록 약물의 평균체류시간이 짧아지는 것으로 보아 어류에서 약물이 체내에 머무르는 시간은 투여농도 보다 수온에서 영향을 더 크게 받는 것으로 나타났다. 어체내에서 약물동태는 투여량, 대사 및 배설율과 같은 여러 인자에 의존한다고 알려져 있다 (Treves-Brown, 2000). 또한 변온동물인 어류에서 수온은 체내 모든 생리적 대사과정에 직접적인 영향을 미치는 대사조절인자로서 항생제와 같은 약물의 체내 분포 및 분해 속도가 수온에 크게 영향을 받는다고 하였고 (Son *et al.*, 2011), 약물의 잔류기간은 저수온 영역보다 고수온 영역에서 현저히 짧아진다고 보고하였다 (Björklund and Bylund, 1990; Zhang and Li, 2007). 이처럼 수계환경의 조성이 약물속도론적 파라미터에 영향을 미칠 수 있으며 근육을 포함한 중요 장기의 경시적 농도를 바탕으로 비교수온 (13 \pm 3 $^{\circ}\text{C}$) 영역 보다 적정수온 (22 \pm 3 $^{\circ}\text{C}$) 영역에서 어체내 약물은 고농도로 흡수되어 배설은 신속하였다. 즉, 사육수온이 높을수록 근육내 잔류량이 높게 검출되는 이유는 아마 높은 수온으로 어체내 생리적 대사과정이 증가하여 전신 근육으로의 분포가 원활하였기 때문인 것으로 추정되며 Kim *et al.* (2015)도 어류를 대상으로 수온별 약물동태연구에서 본 연구와 동일한 패턴으로 보고하였다. 가식부인 근육과 분석 조직들에서 잔류동태의 공통점은 모두 근육 내 잔류보다 장기 조직 내 잔류가 월등히 높았다. 특히 위-장관에서 CDX이 가장 높은 농도로 흡수되었는데 이는 약물의 특성상 산에 안정하여 경구투여 시 위-장관에서 거의 완전하게 흡수되었고 (Yoo *et al.*, 2002), 근육에 비해 각종 분석에 사용한 중요 장기들도 약물농도가 높은 점은 혈관분포가 근육보다 월등히 높아 이와 같은 잔류분포로 추측된다. 혈중 약동학적 파

라미터 결과 (Table 7)에서 임상농도를 기준하여 최대혈중농도가 적수온에서 5,702.25 $\mu\text{g/l}$, 비교수온에서 5,670.99 $\mu\text{g/l}$ 로 차이가 크지 않았다. 약물의 평균체류시간도 적수온에서 2.28일, 비교수온에서 3.06일로 비슷한 수준으로 계산되었다. 일반적으로 체내로 투여된 약제의 효과는 투여용량보다 혈중 약제의 농도와 더 좋은 상관관계를 나타내는 것으로 보고되어 (Treves-Brown, 2000) 본 연구에서 도출된 수온별 평균체류시간을 고려할 시 β -lactam계 항생제인 CDX은 치료효과를 위해 지속적인 투여에 의해 일정한 농도를 계속 유지해주는 것이 우월한 시간의존형 항생제이므로 수온별로 넵치에게 동일한 농도로 투여 시 저수온에서도 혈중 약물의 흡수는 우수하며 이 농도에서 약물의 체류시간이 유지되어 본 연구에서 도출된 CDX의 혈중 약동학적 파라미터를 근거로 항생제의 수온별 처치에 대해 유용한 자료로 사료된다. 유사하게도 Jung *et al.* (2011)이 보고한 조피블락에서 nalidixic acid를 수온별로 경구투여 시 고수온, 저수온 영역에서 각각 최대 혈중농도가 5,870, 6,220 $\mu\text{g/l}$ 로 도출되어 본 연구와 동일하게 수온이 최대 혈중농도에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보고하였다. 이러한 연구결과를 종합하여 효과적인 항생제 투여에 있어서 고수온과 저수온에서의 혈중 내 약물 동태학적 파라미터에 관한 연구가 구체적으로 진행 되어야 할 것이다.

현재 CDX의 잔류허용기준은 2018년 1월부터 일본의 후생노동성에서 positive list system의 일률 기준인 0.01 mg/kg과 동일한 수준으로 관리하고 있다. 따라서 본 연구진은 현재 15-30일로 관리하고 있는 CDX의 degree day이 적절한지 아닌지를 검토하기 위해 Withdrawal-time Calculation Program (Hekman, 1996)을 활용하여 넵치 가식부인 근육에서의 잔류농도를 바탕으로 계산해 본 결과 13°C에서는 21.7일, 22°C에서는 18.1일로 단순 평균이 19.9일로 계산되어 현재 최장 degree day으로 설정되어 있는 30일에 적합한 방향으로 나타났다 (data not shown).

결론적으로 본 연구가 1세대 세팔로스포린계 항생제인 CDX의 적절한 분석법을 넵치에서 확립하였고 가식부인 근육을 포함하여 중요 장기 및 혈장

에서까지 분석법을 연구한 점에 큰 의미가 있으며 이 연구결과를 바탕으로 각 어종별로 잔류동태모델을 개발하여 현재 동물용의약품들 중 잔류허용기준이 설정되지 않거나 degree day의 적절한 검토를 위한 기초자료로 활용될 것으로 기대한다.

요 약

세파드록실 (CDX)의 수온에 따른 잔류 약동학적 특성을 알아보기 위해 평균 660 g의 넵치를 비교수온 (13±3°C) 및 적정수온 (22±3°C)에서 7일간 임상용량 (45 mg/kg b.w.)과 임상용량의 5배에 해당하는 양 (225 mg/kg b.w.)으로 연속 경구투여 후 시간에 따른 근육, 혈장, 위-장관, 조혈조직 (신장+비장) 및 간장에서 잔류농도를 HPLC-MS/MS로 분석하였다. CDX의 농도 측정을 위해 근육에서는 투여종료 후 0.25, 0.5, 1, 3, 7, 14 및 28일에 분석하였고, 혈장, 위-장관, 조혈조직 및 간장에서는 1, 3, 7, 14 및 28일에 분석하였다. 경시적 잔류농도를 바탕으로 PKSolver program의 non-compartmental model로 최고농도 (C_{max}), 최고농도 도달시간 (T_{max}), 배설반감기 ($T_{1/2}$) 등의 약물동태학적 매개변수 (parameter)를 계산하였다. 근육, 혈장, 위-장관, 조혈조직 및 간장에서 최고농도 및 최고농도 도달시간은 각각 985.98-5,032.86 $\mu\text{g/kg}$ (1일), 5,670.99-38,922.23 $\mu\text{g/l}$ (1일), 2,457.27-10,192.78 $\mu\text{g/kg}$ (1일), 886.04-3,070.87 $\mu\text{g/kg}$ (1일) 및 1,188.15-3,814.33 $\mu\text{g/kg}$ (1일)으로 계산되었다. 평균체류시간 ($MRT_{0-\infty}$)과 배설반감기 ($T_{1/2}$)는 각각 1.51-4.74일 (1.08-3.47일), 2.12-3.06 (1.14-5.42일), 4.25-13.18일 (3.56-10.99일), 1.37-18.66일 (1.17-14.93일) 및 1.78-29.76일 (1.25-28.55일)로 계산되었다.

감사의 글

본 연구비는 식품의약품안전평가원의 축·수산물 위해요소 관리를 위한 기술개발(14162미래안 866, 2015년)의 일환으로 수행되었습니다.

References

Alimentarius C.: CAC/GL 71-2009. Guidelines for the

- design and implementation of national regulatory food safety assurance programme associated with the use of veterinary drugs in food producing animals. Rome: Codex Secretariat. Adopted., 2009.
- Barbhaiya RH.: A pharmacokinetic comparison of cefadroxil and cephalexin after administration of 250, 500 and 1000 mg solution doses. *Biopharm. Drug Dispos.* 17: 319-330, 1996.
- Björklund H and Bylund G.: Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquacult.* 84: 363-372, 1990.
- Colin P, De Bock L, T'jollyn H, Boussey K and Van Boexlaer J.: Development and validation of a fast and uniform approach to quantify β -lactam antibiotics in human plasma by solid phase extraction-liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Talanta.* 103: 285-293, 2013.
- Cutler RE, Blair AD and Kelly MR.: Cefadroxil kinetics in patients with renal insufficiency. *C. Pharmacol. Therap.* 25: 514-521, 1979.
- Duffee NE, Christensen JM and Craig AM.: The pharmacokinetics of cefadroxil in the foal. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 12: 322-326, 1989.
- Duffee NE, Stang BE and Schaeffer DJ.: The pharmacokinetics of cefadroxil over a range of oral doses and animal ages in the foal. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 20: 427-433, 1997.
- Fan GR, Li Z, Tang SX, Shi J, Song HJ, Liu T and Hu JH.: Pharmacokinetics and relative bioavailability of cefadroxil dispersible tablet in healthy volunteers. *Acad. J. of Sec. Mil. Med. Univ.* 4: 19, 2002.
- García-Carbonell MC, Granero LUIS, Torres-Molina FRANCISCA, Aristorena JC, Chesa-Jimenez J, Pla-Delfina JM and Peris-Ribera JE.: Nonlinear pharmacokinetics of cefadroxil in the rat. *D. M. D.* 21: 215-217, 1993.
- Hekman P.: Withdrawal-time Calculation Program. CVMP note of guidance: considerations on establishing withdrawal periods, 1996.
- Huh MJ and Myung SW.: Simultaneous analysis of β -lactam antibiotics in surface water. *Anal. Sci. Technol.* 23: 199-127, 2010.
- Jin HE, Kim IB, Kim YC, Cho KH and Maeng HJ.: Determination of cefadroxil in rat plasma and urine using LC-MS/MS and its application to pharmacokinetic and urinary excretion studies. *J. of Chrom. B.* 947: 103-110, 2014.
- Jung SH, Choi DL, Kim JW, Jo MR, Seo JS and Jee BY.: Pharmacokinetics of oxytetracycline in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) by dipping and oral administration. *J. Fish Pathol.* 21: 107-117, 2008.
- Jung SH, Seo JS, Jee BY, Kim JW and Park MA.: Effect of temperature on pharmacokinetics of nalidixic acid and piromidic acid in black rockfish *Sebastes schlegeli* following oral administration. *J. Fish Pathol.* 24: 29-37, 2011.
- Kano EK, Serra CHDR, Koono EEM, Fukuda K and Porta V.: An efficient HPLC-UV method for the quantitative determination of cefadroxil in human plasma and its application in pharmacokinetic studies. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 35: 1871-1881, 2012.
- Karageorgou E, Myridakis A, Stephanou EG and Samanidou V.: Multiresidue LC-MS/MS analysis of cephalosporins and quinolones in milk following ultrasound-assisted matrix solid-phase dispersive extraction combined with the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe methodology. *J. Sep. Sci.* 36: 2020-2027, 2013.
- KFDA (Korean Food and Drug Administration): Advanced Notice No., pp. 9, Cheongju, 2017.
- Kim JS, Lee JH, Lee SJ and Park KH.: Pharmacokinetics of amoxicillin after intramuscular injection at different temperatures to cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. 28: 43-51, 2015.
- La Rosa, F., Ripa S, Prenna M, Ghezzi A and Pfeffer M.: Pharmacokinetics of cefadroxil after oral administration in humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21: 320-322, 1982.
- Marino EL, Dominguez-Gil AA, Cepeda M, Otero MJ and Dominguez-Gil A.: Effect of experimentally induced renal impairment on the pharmacokinetics of cefadroxil in rabbits. *Arzneim. Forsch.* 31: 478-481, 1981.
- NIFS: Guide Book for Aquacultural drug use, pp. 103, National Institute of Fisheries Science, Busan, 2016.
- Oh JH, Kwon CH, Jeon JS, and Choi DM.: Management of veterinary drug residues in food. *Korean J. Environ. Agric.* 28: 310-325, 2009.
- Park MS, Lee JJ and Myung SW.: Analysis of phoxim residue in animal food production (cattle and pig) by LC/ESI-MS/MS. *J. Korean Chem. Soc.* 55: 626-632, 2011.
- Rahim N, Naqvi S, Baqir S, Alam M, Rasheed A and Khaliq UA.: Comparative bioavailability and pharmacokinetic study of Cefadroxil capsules in male healthy volunteers of Pakistan. *Pakistan J. of pharmac. sci.* 29, 2016.
- Son KT, Jo MR, Oh EG, Mok JS, Kwon JY, Lee TS,

- Song KC, Kim PH and Lee HJ.: Residues of Ampicillin and Amoxicillin in Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* Following Oral Administration. Kor. J. Fish Aquat. Sci. 44: 464-469, 2011.
- Treves-Brown KM.: Applied Fish Pharmacology. Tetracyclines. pp. 64-82, Kluwer Academic Publishers, Boston, London, 2000.
- Welling PG, Selen A, Pearson JG, Kwok F, Rogge MC, Ifan A and Johnson CA.: A pharmacokinetic comparison of cephalexin and cefadroxil using HPLC assay procedures. Biopharm. Drug Dispos. 6: 147-157, 1985.
- Wilson WD, Baggot JD, Adamson PJ, Hirsh DC and Hietala SK.: Cefadroxil in the horse: pharmacokinetics and in vitro antibacterial activity. J. vet. Pharmacol. Therap. 8: 246-253, 1985.
- Yoo HJ, Choi MK, Kim KS, Chung SJ and Shim CK.: Bioequivalence of Shinil Cefadroxil Capsule to Duricef Capsule (cefadroxil 500 mg). J. Appl. Pharmacol. 10: 303-308, 2002.
- Zhang Q and Li X.: Pharmacokinetics and residue elimination of oxytetracycline in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. Aquacult. 272: 140-145, 2007.
- Zhang X, Wu LH, Shentu JZ, Chen ZG and Shi MF.: The Pharmacokinetics and Bioequivalence Study of Cefadroxil Capsules. Chinese J. of Clinic. Pharmacol. 17: 352-355, 2001.
- Zhang Y, Huo M, Zhou J and Xie S.: PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. Comput. Methods Programs Biomed. 99: 306-314, 2010.

Manuscript Received : May 25, 2018

Revised : Jun 11, 2018

Accepted : Jun 11, 2018