



Pharmacokinetic and Toxicokinetic Studies of Potential Antifungal Compounds, KAF-200522 and KAF-200522 · HCl, in Animal Models

Kwang-Han Kong^{1,2}, Ju Young Jung^{1,2}, Kyo Hwan Koo², Si-Whan Song², Kap-Ho Kim²,
Zhong Ze Han², Seon-Hwa Lee² and Ho-Chul Shin^{1*}

¹College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, Korea

²Preclinical Research Center, Chemon Inc., Yongin, Korea

Recent researches on clinically used triazole antifungal reagents are focused on their pharmacokinetic disadvantage which increases the probability of inducing adverse effects in patients. For this point, in the present laboratory, Chemon Inc., has investigated new antifungal reactive compounds, KAF-200522 and its chloride form, KAF-200522 · HCl, which has a modified triazole structure. Pharmacokinetic data were measured with LC-MS/MS in male mice which were orally treated with the above compounds at 10 mg/kg. T_{max} and $t_{1/2}$ of KAF-200522 · HCl were comparable to KAF-200522, but AUC and C_{max} were 1.4 and 1.6 times higher than those of KAF-200522, respectively. In beagle dogs, AUC and C_{max} of KAF-200522 · HCl were 2.7 and 1.4 times higher than those of KAF-200522, and $t_{1/2}$ was 3.5 times higher than that of KAF-200522. Moreover, in beagle dogs, the oral bioavailability value of KAF-200522 · HCl was revealed as 31.0% to contrast to 6.2% of KAF-200522. In 1-week repeated oral treatment toxicity study of KAF-200522 in male rats, inhibition of body weight gain was observed in 120 mg/kg treatment group, and loss of body weight was observed in 600 mg/kg treatment group. In the toxicokinetic study of KAF-200522, no accumulation after the systemic exposure was observed. In conclusion, as to the new antifungal drug development, KAF-200522 · HCl was considered to be advantageous in pharmacokinetic characteristics compared to KAF-200522.

Key words: KAF-200522, KAF-200522 · HCl, pharmacokinetic, toxicokinetic, toxicity

Received 11 November 2010; Revised version received 30 November 2010; Accepted 3 December 2010

진균에 의한 감염증은 표재성 진균증과 심재성 진균증으로 나뉘어진다. 이 중 심재성 진균증으로 대부분 *Candida*나 *Aspergillus* 균주에 의해 발생하고 사망률은 높은 경우에 침습적 candidiasis가 50%, 침습적 aspergillosis가 90%에 이른다(Cornely et al., 2003). 심재성 진균증을 치료하기 위한 전신성 항진균제는 크게 4개의 군으로 나눌 수 있는데 polyene계, pyrimidine계, azole계 그리고 최근에 개발된 echinocandin계이다. 1950년대 말부터 개발된 초기 항진균제들은 오한, 구토, 신독성 때문에 제한적으로 사용되었고 경구용 제제가 없었다(Gupta et al., 1994). 이러한 문제점을 해결하기 위해 새로운 항진균제에 대한 연구가 계속되었고, 1970년대 초 azole계인

clotrimazole이 경구용 제제로 처음 개발된 이후(Plempel et al., 1974) 많은 azole계 약물이 개발되었으나 부작용, 약물상호작용, 낮은 효능 등의 이유로 널리 사용되지 못하다가 1990년대 초반 fluconazole, itraconazole 등의 triazole이 등장한 이후 현재 광범위하게 사용되고 있다(Saag and Dismkes, 1988).

하지만 최근 심재성 진균감염은 HIV 감염증, 항암치료, 장기이식 및 장기적인 스테로이드의 사용 등과 관련된 면역저하 환자들이 늘어나면서 급속도로 증가하였고, 이러한 환자들에게 전파되는 감염성 질환 중의 12-15%가 진균에 의한 질환으로 알려져 있다(Rao and Anderson, 1988; Sanglard and Odds, 2002). 이러한 상황에서 fluconazole은 침습적 aspergillosis에 활성이 떨어지며, 많은 non-albicans *Candida* 감염에 효과가 없고(Arathroon, 2001), 장시간 치료제로 사용할 경우 약물의 낮은 제거율과 긴 작용시간에 기인하여 약제내성 균주가 발달하는 단점이 있다(Walshr et al., 1986; Walshr et al., 1990; Rex et al., 1993). 또한 itraconazole의 경우 높은 lipophilicity

*Corresponding author: Ho-Chul Shin, Department of Veterinary Pharmacology and Toxicology, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, 1 Hwayang-dong, Kwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea
Tel.: +82-2-450-4056
Fax: +82-2-450-3037
E-mail: hshin@konkuk.ac.kr

및 물에 대한 용해도가 낮아 체내흡수율이 적은 단점이 있다고 알려져 있다(Abruzzo *et al.*, 1987). 따라서 이러한 문제점들을 극복할 수 있는 새로운 항진균제에 대한 연구가 요구되고 있다.

한편, 최근의 신약개발에 있어서 다양한 동물모델을 이용한 약물동태연구의 중요성이 재조명되고 있는데, 국내 식품의약품안전청이 고시하는 의약품등의독성시험기준은 신약개발을 목적으로 하는 물질에 대해서 반드시 약리 및 독성작용에 대한 다양한 자료를 요구하고 있으며, 독성시험기준에서도 약물동태 연구 및 독성동태 연구도 반드시 비임상시험에서 수반되어야 한다고 고시하고 있다(Korea Food and Drug Administration, 2009, 2010). 따라서 임상시험에서의 결과를 정확히 예측하고 신약개발과정에서의 비용과 시간절감을 위해서는 다양한 실험동물을 이용한 약물동태연구를 통하여 동물 중간 차, 약물 투여 농도, 약물 투여 방법 및 동태학적 지표 분석 방법 등 많은 변동 요소들을 파악하여야 하는 것이 중요하다(Shreiner and Steimer, 2000).

이러한 관점에서 본 연구는 triazole계 항진균제 기본골격을 바탕으로 새롭게 개발중인 KAF-200522이라는 합성 화합물과 KAF-200522에 염화물을 첨가하여 생체에 침투 효과의 생체이용률을 높일 것으로 기대되는 KAF-200522·HCl을 대상으로 설치류 및 비설치류에서의 약물동태 및 생체이용률을 보고하는 바이며, 새로운 항진균제로서의 개발 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험물질 KAF-200522 및 KAF-200522·HCl은 (주)캠온 전임상연구소(Yongin, Korea)와 한국화학연구소(Daejeon, Korea)가 공동개발한 triazole계 항진균제의 개량화합물로

서 넓은 스펙트럼을 가진 항진균활성 효과가 기대되고 있는 물질들이다. KAF-200522·HCl은 KAF-200522에 HCl을 합성한 물질로, KAF-200522의 용해도를 높여 생체 내 침투효과를 높일 것으로 기대되는 물질이다(Table 1).

실험동물 및 사육환경

마우스에서의 약물동태 시험을 위하여 10주령 수컷 Hsd:ICR(CD-1[®]) 마우스 110마리를 코아텍(Pyeongtaek, Korea)으로부터 공급받았다. 비글견에서의 약물동태시험을 위하여 Marshall BioResources (Beijing, China)에서 생산한 약 9개월령의 암컷 비글견 5마리와 수컷 비글견 9마리를 (주)우정BSC (Seoul, Korea)로부터 제공받았다. 랫드를 이용한 독성 및 독성동태 시험에서는 특정병원균 부재(specific pathogen-free) 5주령 수컷 Hsd:Sprague Dawley[®]™SD[®]™ 랫드 24마리를 코아텍(Seoul, Korea)으로부터 공급받았다. 입수 후 마우스와 랫드는 (주)캠온 전임상연구소 실험동물실에서 1주간의 검역 및 순화기간을 거친 후, 투여 전일 일반증상 관찰에서 건강한 동물 중 평균체중에 가까운 동물을 각각 100마리와 20마리를 선발하여 시험에 사용하였다. 비글견의 경우는 2주 이상의 검역 및 순화기간을 거친 후 담당 수의사가 검진(활력징후, 혈액학적 및 혈액화학적 검사, 체중증가 및 일반증상 관찰 등)을 실시하여 시험에 적합한 동물 각각 4마리와 8마리를 선별하여 사용하였다.

사육환경으로 시험 전 기간동안 모든 동물은 온도 23±3 °C 상대습도 55±15%, 환기횟수 10-20회/hr, 조명 12 hrs/cycle, 조도 150-300 Lux로 설정되어 있는 (주)캠온 전임상연구소 실험동물실에 수용되었고, 사육상자는 마우스에서는 스테인레스(W165×L240×H145 mm) 사육상자, 비글견 시험에서 스테인레스(W895×L795×H766 mm) 사육상자, 랫드에서는 스테인레스(W215×L355×H200 mm) 사육상자를 사용하였다. 사료는 비글견 애완견용 고형사료(피

Table 1. Physical characteristics of KAF-200522 and the synthesis of KAF-200522 · HCl

Name	KAF-200522
Formulation	C23H23ClF2N6O2
Molecular weight	488.92
Melting point	129-130
Permeability	-6.13±0.15
pKa	3.472±0.001
logP	2.874±0.075
Solubility	74.1 µM in Water (0.0362 mg/mL)

Process of
KAF-200522 · HCl synthesis

피맥, (주)바이오맥, Suwon, Korea)를 매일 약 300 g씩 제한급여를 하였고, 설치류는 방사선조사로 멸균한 실험동물용 고형사료(Teklad Certified Global 18% Protein Rodent Diet, 2918C, Harlan Co. Ltd., IN, USA)를 (주)폴라스인터내셔널(Seoul, Korea)로부터 공급받아 자유롭게 섭취하도록 하였다. 물은 지하수를 자외선 살균기 및 미세여과장치로 소독한 후, 비글견 실험에는 노즐을 이용하였고 설치류는 물병을 이용하여 자유롭게 섭취하도록 하였다.

시험군의 구성 및 시험방법

마우스에서의 KAF-200522와 KAF-200522·HCl의 약물동태시험: 약 10주령의 수컷 ICR 마우스 100마리를 두 개군으로 두어 각 군당 50마리씩 군간 체중이 고르게 분배하였으며, KAF-200522와 KAF-200522 · HCl을 0.5% methylcellulose를 부형제로 하여 투여 전 측정된 체중을 기준으로 10 mg/10 mL/kg로 투여액량을 산출하여 경구투여하였다. 투여 후 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10 및 24 시간째에 채혈하였다.

Dog에서의 KAF-200522와 KAF-200522·HCl의 약물동태 및 생체이용률시험: KAF-200522의 약물동태시험에서 약 9.5개월령의 암컷 비글견 4마리를 사용하였고, 선별된 동물을 두 개 군으로 군당 2마리씩 두었다. KAF-200522·HCl의 약물동태시험에서는 약 9.5개월령의 수컷 비글견을 사용하였으며, 두 개 군으로 군당 4마리씩 두었다. KAF-200522와 KAF-200522 · HCl의 투여량은 10 mg/kg이고 투여횟수는 1일 1회로 단회투여 하였으며, 각각의 실험모두 1개군은 0.5 mL/kg의 투여액량을 기준으로 40% 에탄올을 부형제로 하여 정맥내 투여하였고, 다른 1개군은 젤라틴 캡슐을 이용하여 경구투여 하였다. 정맥투여의 경우 KAF-200522는 투여 후 15, 30분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 8, 10 및 24 시간째에 KAF-200522 · HCl은 투여 후 10, 20, 40분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10 및 24 시간째에 채혈하였고, 경구투여의 경우 두 시험물질을 모두 투여한 후 30분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 8, 10 및 24 시간째에 채혈하였다.

랫드를 이용한 KAF-200522의 1주간 반복 경구투여 독성시험 및 독성동태시험: 약 6주령의 수컷 랫드 20마리를 군당 5마리씩 군간 체중을 고르게 하여 총 4개 군으로 분배하였고 시험물질 투여 전 측정된 체중을 기준으로 0.5% methylcellulose를 부형제로 하여 각 군에 0(부형제 대조군), 24, 120 및 600 mg/10 mL/kg으로 1일 1회씩 총 7일간 반복 경구투여 하였다. 독성동태시험을 위한 채혈은 시험물질 투여개시일(1차 채혈)과 최종 투여일(7회차 투여일, 2차 채혈)에 시험물질 투여군에 대하여 실시하였고, 채혈시간은 시험물질 투여 전, 투여 후 0.5, 1, 2, 4, 10 및 24 시간째에 각 시험군 당 3마리에 대하여 실시하였다. 단, 1차 채혈은 시험물질 투여 전 채혈을 실시하지 않았으며, 2차 채혈의 시험물질 투여 전 채혈은 투여 약 30분 전에 실시하였다.

채혈 및 혈장분리 방법

마우스의 경우, 정해진 채혈시간에 군당 5마리를 ether로 흡입마취시킨 후 후대정맥에서 0.5 mL씩 채혈하였고, 비글견은 정해진 채혈시간에 요측피정맥에서 매회 약 2 mL씩 채혈하였으며, 랫드는 경정맥에서 정해진 채혈시간에 약 0.5 mL씩 채혈하였다. 채혈한 혈액은 heparin 처리한 튜브(500 IU/mL액 5 μ L/tube)에 옮기고, 4°C에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층(혈장)을 분리하여 -20°C 이하의 조건으로 (주)캠온 전임상연구소의 분석실로 운송하여 분석에 사용하였다. 분석 전까지 혈장샘플은 -70°C로 설정되어 있는 초저온냉장고(deep freezer)에 보관하였다.

혈장 중 KAF-200522의 분석방법

LC-MS/MS를 이용하여, 각 실험동물 혈장 중 KAF-200522의 농도를 정량하였다. 기기 및 장치는 MSD: API3200 (Applied Biosystems, CA, USA), HPLC: 1200series (Agilent Technologies, CA, USA), Balance: XP205 (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland), Micropipette: Pipetman (Gilson, Paris, France), Dispenser: Repetman (Gilson), Vortex mixer: CM-1000 (YELA, Tokyo, Japan) 등을 사용하였으며 검출기는 MS/MS 검출기(ESI positive, MRM)를 사용하였다. 분석조건은 Column; Pursuit XRs C18, 2.0×50 mm, 3 μ m (Varian, MA, USA), Mobile phase & Flow rate; 0.1% formic acid in 2 mM Ammonium acetate /0.1% formic acid in MeCN (20/80, v/v), 250 μ L/min, Injection volume; 250 μ L, Ion source/polarity; Turbo-spray/positive, MRM transition; 505.2>436.1(KAF-200495), 489.3>419.6(Internal standard)이다. 전처리 방법은 혈장시료 100 μ L에 0.1% formic acid가 포함된 acetonitrile을 첨가하여 혈장 중 단백성분을 침전시켜 제거하고, 상등액을 취하여 위의 분석조건에서 정량하였다.

관찰항목

약물동태 및 독성동태시험에서는 투여 된 동물에 대한 투여 후 0시간부터 마지막 채혈시간까지의 농도곡선하면적(area under curve, AUC), 최고혈중농도(C_{max}), 최고혈중농도 도달시간(T_{max}) 및 소실반감기($t_{1/2}$)를 측정하였고, 비글견을 이용한 약물동태 시험에서는 생체이용률(bioavailability: F)을 계산하였다.

독성시험에서는 투여개시일로부터 투여종료일인 일주일 동안 사망여부, 일반증상의 종류, 발현일 및 증상의 정도를 1일 1회 관찰하여 개체 별로 일반증상 관찰기록지에 기록하였고, 모든 동물에 대하여 투여개시일, 투여 후 1, 3, 6일 째 및 부검일의 체중을 측정하였다.

통계처리

약물동태 및 독성동태 시험에서는 분석장비 운용프로그램(Analyst 1.4.2)을 이용하여 크로마토그래피 데이터를 얻은 후 분석성분의 내부표준품에 대한 피크면적비를 세로축으로 하고 각각의 검량선용 표준물질의 농도를 가로축으로 하여 검량선을 작성하였다. 분석 파라미터는 비모텔해석법에 의하여 WinNonlin™ (version 5.2, Pharsight, CA, USA) 프로그램을 이용하여 산출하였고, 결과는 평균(mean)과 표준편차(SD)로 표기하였으며, 생체이용률(F)은 다음 계산식으로 산출하였다.

$$F (\%) = [AUC(p.o.) / Dose(p.o.)] * [AUC(i.v.) / Dose(i.v.)] * 100$$

독성시험에서 부형제대조군과 시험물질 투여군과의 체중 비교는 평균과 표준편차를 산출하여 군간 비교하였다. 통계학적 방법은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA test)을 실시하였으며, $P < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다. 통계학적 분석은 상용으로 널리 사용되고 있는 통계 패키지인 SPSS 10.1 K를 이용하였다.

동물실험윤리규정의 준수

본 시험은 동물보호법(제정 1991년 05월 31일 법률 제 4379호, 일부 개정 2008년 02월 29일 법률 제 8852호)에 근거한 (주)캠온 전임상연구소의 동물윤리위원회에 의해 승인되었다.

결 과

마우스에서의 KAF-200522와 KAF-200522 · HCl의 약물동태 시험

KAF-200522와 KAF-200522 · HCl을 각각 투여한 후 농도를 채혈시간대별로 정량한 결과, 투여 후 10시간째까지 농도가 검출되었는데, 투여 후 10시간째에 농도가 검출된 동물의 수는 KAF-20052 투여군에서는 3마리였고, KAF-200522 · HCl 투여군에서는 5마리 전례에서 검출되었다. AUC는 각각 3687 및 5150 hr*ng/mL, C_{max} 는 908 및 1,488 ng/mL, T_{max} 는 1.0 및 0.5 hr, $t_{1/2}$ 은 1.9 및 1.7 hr였다(Table 2). 상기의 결과는 KAF-200522 · HCl의 투여가 KAF-200522보다 AUC가 1.4배, C_{max} 가 1.6배 높으며, T_{max} 는 0.5배, $t_{1/2}$ 은 0.8배가 낮음을 나타내었다.

Dog에서의 KAF-200522와 KAF-200522 · HCl의 약물동태 및 생체이용률시험

KAF-200522의 농도를 각 채혈시간대별로 정량한 결과, KAF-200522와 KAF-200522 · HCl의 경구투여시 투여군의 AUC는 각각 2,402 및 6,538 ng*hr/mL, C_{max} 는 511 및 746 ng/mL, T_{max} 는 1.5 및 1.4 hr, $t_{1/2}$ 은 6.0 및 21.1 hr로 나타났다. KAF-200522와 KAF-200522 · HCl의 정맥 투여시 AUC는 각각 38,437 및 20,909 ng*hr/mL, C_{max} 는 6,691 및 4,987 ng/mL, $t_{1/2}$ 은 12.8 및 43.9 hr로 나타났다. (Table 3). 즉, KAF-200522의 경우 정맥투여가 경구투여에 비해서 AUC가 16.0배, C_{max} 가 13.0배, $t_{1/2}$ 이 2.1배로 관찰되었고, 생체이용률은 6.2%로 산출되었다. 또한 KAF-200522 · HCl의 경우 정맥투여가 경구투여에 비해서 AUC가 3.19배, C_{max} 가 6.6배, $t_{1/2}$ 이 2.0배로 관찰되었고, 생체이용률은 31.0%로 산출되었다.

Table 2. Pharmacokinetic parameters of KAF-200522 and KAF-200522 · HCl after a single oral administration of KAF-200522 and KAF-200522 · HCl at 10 mg/kg to male mice (n=5, respectively)

Compounds	$t_{1/2}$ (hr)	T_{max} (hr)	C_{max}^a (ng/mL)	AUC (hr*ng/mL)
KAF-200522	1.9	1.0	908±151	3687
KAF-200522 · HCl	1.7	0.5	1488±256	5150

^{a)}The standard deviation was calculated only in C_{max} because blood collected mice were sacrificed every time point of blood collection due to the sampling method (Blood was taken from the posterior vena).

Table 3. Pharmacokinetic parameters for KAF-200522 from female beagle dogs after single administrations of KAF-200522 and KAF-200522 · HCl at 10 mg/kg (KAF-200522; n=2, KAF-200522 · HCl; n=4, respectively)

Compounds	Route	$t_{1/2}$ (hr)	T_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC (hr*ng/mL)	F ^{a)} (%)
KAF-200522	I.V.	12.8±7.8	- ^{b)}	6691±587	38437±5266	6.2
	P.O.	6.0±1.8	1.5±0.7	511±139	2402±594	
KAF-200522·HCl	I.V.	43.9±38.7	-	4987±1237	20909±3841	31
	P.O.	21.1±6.6	1.4±0.6	746±447	6538±5078	

^{a)}F means the bioavailability calculated by following formula.

$F = [AUC(p.o.) / Dose(p.o.)] * [AUC(i.v.) / Dose(i.v.)] * 100$

^{b)}Not applied due to intravenous administration route.

Table 4. Body weight changes after 1 week repeated oral administrations of KAF-200522 in male rats (n=5)

Dose (mg/kg/day)		Weights (g)				
		Day 0	Day 1	Day 3	Day 6	Gains ^{a)}
0	TK ^{b)}	182.89±3.71	197.29±5.18	202.53±6.35	226.23±8.67	43.35±5.10
	Non-TK ^{c)}	175.38±6.42	188.13±6.75	195.74±8.33	220.08±7.97	44.7±1.55
	Total	179.88±5.84	193.63±7.07	199.82±7.17	223.77±8.05	43.89±3.76
24	TK	180.87±8.13	182.19±13.83	188.56±13.34	214.68±14.94	33.81±6.84
	Non-TK	184.19±0.07	197.74±1.85	204.14±3.76	225.68±2.04	41.49±1.97
	Total	182.20±6.03	188.41±13.00	194.79±12.86	219.08±12.20	36.88±6.48
120	TK	182.83±5.56	181.82±6.71	187.88±9.31	209.17±11.94	26.34±6.38
	Non-TK	177.94±6.02	184.66±9.02	192.67±10.78	212.56±10.29	34.62±4.27
	Total	180.87±5.63	182.96±6.73	189.79±8.90	210.52±10.06*	29.65±6.75**
600	TK	180.47±7.66	157.28±12.73	165.92±13.94	176.97±6.80	-3.5±6.91
	Non-TK	180.18±0.54	160.51±2.94	172.61±1.99	180.73±0.18	0.55±0.72
	Total	180.35±5.42	158.57±9.29**	168.60±10.56**	178.47±5.23**	-1.88±5.38**

^{a)}Gains are body weight difference between day 0 and day 6.^{b)}TK represents the data of animals for the toxicokinetic analysis (n=3).^{c)}Non-TK represents the data of normal animals for the toxicity study (n=2).

*/**Represents a significant difference at p<0.05 or p<0.01 level compared with the vehicle control.

Table 5. Mean toxicokinetic parameters for KAF-200522 from male Sprague-Dawley rats following 1-week repeated oral administrations of KAF-200522 (n=5)

Dose (mg/kg/day)	Period	AUC	C _{max}	T _{max}
		(hr*ng/mL)	(ng/mL)	(hr)
24	Day 1	13500±3481	1150±256	2.0±0
	Day 7	16521±11127	1394±708	4.0±0
120	Day 1	118185±22613	7792±986	10.0±4.6
	Day 7	88340±10947	6587±1194	4.0±1.2
600	Day 1	346502±80486	17768±5874	10.0±0
	Day 7	156224±89647	8744±5106	10.0±4.6

랫트를 이용한 KAF-200522의 1주간 반복 경구투여 독성시험 및 독성동태시험

실험기간 동안 모든 시험군에서 일반증상의 이상이나 사망동물은 관찰되지 않았다. 체중변화 관찰 결과 시험물질 투여군에서 용량상관성 있는 체중증가 억제 및 체중감소가 관찰되었다. 120 mg/kg/day 투여군은 투여 후 6일째, 600 mg/kg/day 투여군은 투여 후 1, 3 및 6일째의 체중이 부형제대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었다($P<0.01$). 증체량 비교에서는 24 mg/kg/day 투여군의 증체량이 부형제대조군에 비하여 0.8배의 경미한 감소를 보였으나, 120 및 600 mg/kg/day 투여군의 증체량은 용량상관성 있는 유의한 감소를 나타내었다($P<0.01$, Table 4).

독성동태시험에서 KAF-200522를 24, 120 및 600 mg/kg/day으로 7일간 투여하였을 때, 모든 시험군에서 KAF-200522는 전신에 노출되는 것으로 나타났다. 시험물질 투여 1일째의 독성동태시험 결과, 120 mg/kg/day 투여군에서 24 mg/kg/day 투여군에 비하여 AUC는 약 9배, C_{max}는 약 7배 증가하였고, 600 mg/kg/day 투여군에서 120 mg/kg/day 투여군에 비하여 AUC는 약 3배, C_{max}는 약

2.5배 증가하였다. T_{max}는 24 mg/kg/day 투여군에서는 2 hr이었으나, 120 및 600 mg/kg/day 투여군에서는 10 hr였다. 시험물질 투여 7일째는 120 mg/kg/day 투여군에서 24 mg/kg/day 투여군에 비하여 AUC 및 C_{max}가 약 5배 증가하였고, 600 mg/kg/day 투여군에서 120 mg/kg/day 투여군에 비하여 AUC는 약 2배, C_{max}는 약 1.3배 증가하였다. T_{max}는 24 및 120 mg/kg/day 투여군에서 4 hr였으나, 600 mg/kg/day 투여군에서 10 hr를 나타내었다(Table 5).

고찰 및 결론

본 연구는 항진균활성이 있는 tiazole계 물질인 KAF-200522과 KAF-200522 · HCl의 마우스에서의 비글견에서의 약물동태 및 비글견에서의 생체이용률과 추가적으로 랫드에서의 독성 및 독성동태에 관한 연구이다. 최근 국내의 신약개발과정은 시간과 비용이 많이 요구되는 새로운 화학구조를 가진 물질을 개발하기 보다는 기존의 임상적으로 사용되는 약물들의 골격 구조를 개량하여 약물동태 및 독성동태를 개선시켜 비임상시험을 거친 후 임

상에서의 활용을 다양하게 하는 것에 중점을 두고 있다. 이러한 측면에서, 본 시험물질의 약물동태에 관한 연구를 통해 신약개발 가능성을 높이는 것에 그 연구 목적이 있었다.

KAF-200522의 ICR 마우스와 비글견에 대한 약물동태 시험에서, 10 mg/kg을 단회투여했을 때 비글견에서 C_{max} 가 511 ng/mL로 약 0.6배 낮았으나 T_{max} 는 1.5 hr로 약 1.5배 높았고 비글견에서의 $t_{1/2}$ 은 6.0 hr로 약 3.2배 높은 것으로 관찰되었다. 특히 본 시험물질들을 비글견에 정맥 투여하였을 때 KAF-200522·HCl은 $t_{1/2}$ 이 43.9 hr까지 높아졌는데 마우스의 KAF-200522 경구투여 동태인 1.7 hr와 비교하여 약 25.9배의 차이를 나타내었다. 이는 동물 종간 차이로 마우스의 높은 약물대사능에 기인하여 시험 물질이 마우스에서 빨리 대사되어 제거된 것으로 판단되었으나(Hucker, 1970), 전체 약물노출정도를 평가하는 AUC의 경우, 약 1.5배 이하로 마우스와 비글견 사이에 큰 차이는 관찰되지 않았다.

KAF-200522에 염화물을 붙인 KAF-200522·HCl의 경우 용해도 상승에 따른 생체이용률 증가가 기대되었는데, 경구투여시 KAF-200522보다 ICR 마우스에서 C_{max} 가 1.6배 높은 1,488 ng/mL로 관찰되었고, 비글견에서 C_{max} 가 약 1.5배 높은 746 ng/mL로 관찰되었으며, AUC는 ICR 마우스에서 약 1.4배, 비글견에서 약 2.7배 증가한 것으로 나타났다. 위의 결과를 보아 KAF-200522·HCl의 투여는 KAF-200522 투여군의 마우스와 비글견에서의 전신적인 약물노출량이 뚜렷하게 증가하였음을 알 수 있었다. 이에 상응하여, 생체이용률을 볼 때, KAF-200522·HCl은 KAF-200522의 6.2%였던 생체이용률을 약 31%까지 증가 시킴을 확인할 수 있었다. 특히 비글견에서 주목할 점은 KAF-200522·HCl의 투여가 KAF-200522와 비교하여 시험 물질의 반감기를 경구투여시 약 3.5배, 정맥투여시 약 3.4배 높인 것이었다. 길어진 반감기로 인하여 크지 않은 C_{max} 차이에도 불구하고 시험물질의 AUC가 크게 늘어난 결과가 나타난 것으로 사료되었다. 따라서 같은 투여량에서의 KAF-200522·HCl의 항진균제로서의 약효 및 독성이 KAF-200522에 비교하여 상향적인 것으로 추정하였다.

1997년 혈액암 환자에서 분리한 42종의 *Candida albicans* 균주에 대한 90% 최소 생육 억제 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)가 fluconazole의 경우 약 0.5 mg/mL이고, voriconazole의 경우 약 0.03 µg/mL인 것으로 보고되었는데(Girmentia et al., 2000), KAF-200522와 KAF-200522·HCl은 비글견에서 약 0.5 및 0.7 µg/mL의 C_{max} 를 나타내고 있으며 아직 발표되지는 않았지만 당 연구소에서 수행한 KAF-200522과 KAF-200522·HCl의 *in vitro*에서의 약효시험 결과, fluconazole 내성 균주인 *C. albicans* (ATCCMYA-573)에서 0.0156 µg/mL 이하의 80%

MIC를 보인 것으로 보아, 본 시험물질이 항진균제로서의 활성능력을 마우스 및 비글견 모델에서 확인할 수 있을 것으로 판단된다. 또한 fluconazole의 비글견에서 10 mg/kg 단회경구투여는 15 hr의 반감기와 4시간 이내에서 최고혈중농도가 나타난다는 보고가 있었는데(Humphrey et al., 1985), 본 연구에서 KAF-200522·HCl이 비글견에서 21.1 hr의 반감기를 나타내어, fluconazole에 비해 약효 지속시간이 길 것으로 판단된다.

그리고 랫드에서의 KAF-200522의 독성시험 결과 용량 상관적인 체중증가 억제와 최고용량군인 600 mg/kg/day 투여군에서 체중감소가 관찰되었는데, 현재 시판되고 있는 fluconazole (DIFLUCAN®, Pfizer, NY, USA)은 표재성 candida증의 경우 성인에서 1일 1회 적용시 초회 투여용량이 약 100 mg/kg이고, 랫드 수컷에서의 반수치사량(LD₅₀)이 1,325 mg/kg인 것과 본 시험물질의 fluconazole 내성균주에서의 MIC가 fluconazole보다 민감한 것, 그리고 채혈군이 비채혈군에 비해 유의성은 확인되지 않았으나 시험물질 투여 후 체중이 약 3-16 g 정도 감소한 것을 고려할 때(Table 4), 시험에서 관찰된 체중 변화는 채혈에 의한 스트레스에 어느 정도 영향을 받았고, 과다용량투여에 기인한 것으로 판단하였다. 반복되는 채혈은 랫드에 스트레스를 유발하고 체중의 감소를 일으키는 원인이 될 수 있다고 보고된 바 있다(Gartner et al., 1980; O'Neill and Kaufman, 1990). 독성동태에서 KAF-200522는 투여 후 1 및 7일째에 AUC 및 C_{max} 가 투여량 증가 비율에 따른 증가한 것, 투여 후 7일째 위의 파라미터 값이 고용량군에서 약간의 감소를 나타낸 것 및 T_{max} 의 경우 용량 증가에 따른 일정치 않은 증가를 나타내었고, 120 mg/kg 투여군에서 7일째 값이 1일째 값에 비해 감소한 것을 고려할 때, 본 시험물질의 축적성은 없다고 판단하였고. 120 mg/kg 이상의 반복투여에서 약물의 흡수저해 또는 효소유도에 의한 대사촉진이 의심되었으나 확증을 위한 추가적인 연구가 요구되었다.

결론적으로, 본 연구를 통하여 KAF-200522에 비하여 KAF-200522·HCl의 경구투여 생체이용률에서의 우수함이 입증되었다. 또한 KAF-200522의 반복투여에 따른 축적성이 없는 것에 미루어 보아 KAF-200522·HCl 또한 축적성이 없을 것으로 사료되었다. 따라서 KAF-200522·HCl의 항진균제로서의 개발 가능성은 약물동태학적인 측면에서 매우 높은 것으로 판단하였다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부에서 시행한 산업기술개발사업의 기술개발결과이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Abruzzo, G.K., Fromtling, R.A., Turnbull, T.A. and Giltinan, D.M. (1987) Effects of biconazole, fluconazole, itraconazole, and terbinafine on the chemiluminescence response of immune cells. *J. Antimicrob. Chemother.* 20(1), 61-68.
- Arathoon, E.G. (2001) Clinical efficacy of echinocandin antifungals. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 14(6), 685-691.
- Cornely, O.A., Ullmann, A.J. and Carthaus, M. (2003) Evidence based assessment of primary antifungal prophylaxis in patients with hematologic malignancies. *Blood* 101, 3365-3372.
- Gartner, K., Buttner, D., Dohler, K., Friedel, R., Lindena, J. and Trautschold, I. (1980) Stress response of rats to handling and experimental procedures. *Lab. Anim.* 14, 267-274.
- Gimenia, C., Tuccinardi, C., Santilli, S., Mondello, F., Monaco, M., Cassone, A. and Martino, P. (2000) *In vitro* activity of fluconazole and voriconazole against isolates of *Candida albicans* from patients with haematological malignancies. *J. Antimicrob. Chemother.* 46(3), 479-483.
- Gupta, A.K., Sauder, D.N. and Shear, N.H. (1994) Antifungal agents: an overview. Part I. *J. Am. Acad. Dermatol.* 30(5 Pt 1), 677-698.
- Korea Food and Drug Administration (2009) *The Standards of Toxicity Study for Medicinal Products*, p. 116, Korea Food and Drug Administration, Seoul.
- Korea Food and Drug Administration (2010) *The Regulation for Review and Approval of Medicinal Products*, p. 71, Korea Food and Drug Administration, Seoul.
- Hucker, H.B. (1970) Species differences in drug metabolism. *Annu. Rev. Pharmacol.* 10, 99-118.
- Humphrey, M.J., Jevons, S. and Tarbit, M.H. (1985) Pharmacokinetic evaluation of UK-49,858, a metabolically stable triazole antifungal drug in animals and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28(5), 648-653.
- O'Neill, P.J. and Kaufman, L.N. (1990) Effects of indwelling arterial catheters or physical restraint on food consumption and growth patterns of rats: advantages of noninvasive blood pressure measurement techniques. *Lab. Anim. Sci.* 40, 641-643.
- Plempel, M., Buchel, K.H., Bartmann, K. and Regel, E. (1974) Antimycotic properties of clotrimazole. *Postgrad. Med. J.* 50, 11-12.
- Rao, K.V. and Anderson, R.C. (1988) Long-term results and complications in renal transplant recipients. Observations in the second decade. *Transplantation* 45(1), 45-52.
- Rex, J.H., Pfaller, M.A., Rinaldi, M.G., Polak, A. and Galgiani, J.N. (1993) Antifungal susceptibility testing. *Clin. Microbiol. Rev.* 6(4), 367-381.
- Saag, M.S. and Dismukes, W.E. (1988) Azole antifungal agents: emphasis on new triazoles. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32, 1-8.
- Sanglard, D. and Odds, F.C. (2002) Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect. Dis.* 2, 73-85.
- Sheiner, L.B. and Steimer, J.L. (2000) Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in drug development. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 40, 67-95.
- Walsh, T.J., Newman, K.R., Moody, M., Wharton, R.C. and Wade, J.C. (1986) Trichosporonosis in patients with neoplastic disease. *Medicine* 65(4), 268-279.
- Walsh, T.J., Melcher, G.P., Rinaldi, M.G., Lecciones, J., McGough, D.A., Kelly, P., Lee, J., Callender, D., Rubin, M. and Pizzo, P.A. (1990) Trichosporon beigeli, an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *J. Clin. Microbiol.* 28(7), 1616-1622.