

다양한 경로로 안조직에 투여한
Tobramycin의 전방수내 농도변동

연 세 대 학 교 대 학 원

의 학 과

송 원 석

다양한 경로로 안조직에 투여한
Tobramycin의 전방수내 농도변동

지도교수 이 종 혁

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2002년 7월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

송 원 석

송원석의 석사 학위논문을 인준함

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

심 사 위 원 _____ 인

연세대학교 대학원

2002년 7월 일

감사의 글

이 논문을 완성하기까지 뒤돌아보며 세심한 지도와 노고를 아끼지 않으신 이종혁 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 연구 계획에서부터 방법론에 대하여 세심한 조언을 해주신 최종환 교수님, 최재원 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 실험검체를 매번 깊은 관심으로 결과보고 해주신 녹십자 직원들과 서울대 임상병리과 선생님께도 심심한 감사의 말씀을 드립니다. 매 실험마다 궂은일을 마다하지 않고 열심히 도와 주신 한명수 선생님을 포함한 안과 의국원들에게도 감사를 드립니다.

돌아보면 여러 가지로 부족함이 많은 저에게 안과학을 전공하고 수학할 수 있는 기회를 허락하시고 배움의 기쁨을 깨닫게 해주신 안과학 교실 라상훈 선생님과 이석준 선생님 그리고 김윤희 선생님께도 감사의 말씀을 전합니다.

이 자리에 서기까지 저를 위해 아낌없이 사랑을 베풀어 주시고 뒷바라지 해 주신 존경하는 아버지, 어머니께 감사를 드립니다. 아울러 저에게 묵묵히 사랑과 관심을 준 사랑하는 아내 미연과 소중한 아들 진권이와 이 기쁨을 함께 나누고 싶습니다. 마지막으로 처음부터 저를 사랑하시고 이끌어 주시는 하나님께 영광을 돌립니다.

2002년 7월 저자씀

차 례

| | |
|--|-----|
| 그림 및 표차례 | ii |
| 국문요약 | iii |
| I. 서론 | 1 |
| II. 재료 및 방법 | 3 |
| 1. 재료 | 3 |
| 가. 실험동물 | 3 |
| 나. 시약 및 재료 | 3 |
| 2. 방법 | 4 |
| 가. 가토의 마취 | 4 |
| 나. 실험군 | 5 |
| 다. 약물 농도분석 | 6 |
| 라. 통계분석 | 6 |
| III. 결과 | 8 |
| 1. 국소 점안 후 전방수내 토브라마이신의 농도 | 8 |
| 2. 결막하 주사 후 전방수내 토브라마이신의 농도 | 9 |
| 3. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 전방수내 토브라마이신의 농도 | 10 |
| 4. 양막 이식 후 국소 점안한 경우 전방수내 토브라마이신의 농도 | 11 |
| 5. 투여경로별 시간경과에 따른 농도변동, 이론적 농도변동 및 흡수율 | 12 |
| 가. 투여경로별 시간경과에 따른 농도변동 | 12 |
| 나. 이론적 농도변동 및 흡수율 | 13 |
| IV. 고찰 | 18 |
| V. 결론 | 21 |
| 참고문헌 | 22 |
| 영문요약 | 25 |

그림 차례

| | |
|-------------------------------------|----|
| 그림 1. 투여경로별 시간경과에 따른 농도변동 ----- | 12 |
| 그림 2. 투여경로별 이론적 농도변동 ----- | 13 |
| 그림 3. 국소 점안한 경우 AUC ----- | 14 |
| 그림 4. 결막하 주사한 경우 AUC ----- | 14 |
| 그림 5. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 AUC ----- | 14 |
| 그림 6. 양막을 이식한 경우 AUC ----- | 14 |
| 그림 7. 투여경로별 시간경과에 따른 누적 흡수량 곡선----- | 16 |
| 그림 8. 투여경로별 최대 농도에 이르는 시간 ----- | 17 |

표 차례

| | |
|---|----|
| 표 1. 국소 점안 후 시간경과에 따른 농도변동 ----- | 8 |
| 표 2. 결막하 주사 후 시간경과에 따른 농도변동 ----- | 9 |
| 표 3. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 후 시간경과에 따른 농도변동 ----- | 10 |
| 표 4. 양막 이식 후 시간경과에 따른 농도변동 ----- | 11 |
| 표 5. 투여경로별 3시간 동안 전방수내 흡수량과 흡수율 ----- | 15 |

국문요약

다양한 경로로 안조직에 투여한 Tobramycin의 전방수내 농도변동

토브라마이신(tobramycin)은 아미노글라이코사이드(aminoglycoside)계통의 항생제로 일반적인 투여경로는 0.3%로 만들어진 안약의 국소 점안과 고농도(4%)로 결막하 주사하는 방법이 있다. 그러나 이러한 투여방법에 대한 약물의 이동 및 흡수 등의 약동학적 연구들은 다양한 농도와 투여량을 통상적인 투여방법에 따라 투여한 후 전방수내 농도를 분석한 임상적인 관점의 연구들이었다. 따라서 투여경로에 따른 약물의 이동에 대한 비교와 분석이 미흡하였다. 이에 본 연구에선 다양한 경로로 동일한 양(200 μl)의 0.3% 토브라마이신을 투여한 후 시간경과(0.5시간, 1시간, 2시간, 3시간)에 따른 전방수내 농도변동 양상을 전방수를 채취하여 fluorescence polarization immunoassay 방법으로 알아보았다.

국소 점안한 경우 1시간 경과 후 $1.29 \pm 0.52 \mu\text{g/ml}$ 의 최대 농도를 나타냈고 3시간이 지나면서 통계학적으로 유의한 농도감소 양상을 보였다. 결막하 주사한 경우 1시간이 경과한 후 $1.66 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$ 의 최대 농도를 보이다가 3시간이 경과하면서 통계학적으로 유의한 농도감소 양상을 보였다. 친수성 연성콘택트렌즈를 0.3% 토브라마이신 200 μl 에 30분간 담가둔 후 각막에 덮고 나머지 토브라마이신을 국소 점안한 경우 2시간 경과 후 $6.71 \pm 1.83 \mu\text{g/ml}$ 로 통계학적으로 유의한 농도상승이 일어났다. 양막을 각막에 이식한 후 0.3% 토브라마이신을 국소 점안한 경우 2시간 경과시 통계학적으로 유의한 농도상승을 보였다. 3시간이 경과한 후에도 $2.68 \pm 0.48 \mu\text{g/ml}$ 로 지속적인 농도상승 양상을 보였다. 국소 점안, 결막하 주사, 양막 이식의 경우 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에 대한 MIC₉₀(minimal inhibitory concentration 90%)을 초과하였고 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*에

대한 MIC₉₀ 농도를 초과하였다.

3시간 동안의 전방수내 토브라마이신의 흡수율(흡수량)은 친수성 연성콘택트렌즈가 2.3%(13.89 μg)으로 가장 높은 흡수율을 보였고 국소 점안한 경우가 0.46%(2.77 μg)으로 가장 낮은 흡수율을 보였다.

본 실험에서 결막하 주사의 경우 낮은 농도(0.3%)에서는 국소 점안한 경우와 유사한 농도변동을 보였다. 친수성 연성콘택트렌즈는 정상 각막에서 초기 전방수내 농도 상승과 장시간의 농도유지를 위해 가장 좋은 방법이라 생각된다. 양막 이식은 항염증, 항반흔, 항혈관화작용 등의 유용한 특성과 함께 전방수내 토브라마이신의 농도를 장시간 고농도로 지속시키는 저장고 역할이 있음을 확인하였고 임상에서는 각막 상피가 손상된 경우에 주로 사용하므로 그 효과는 더욱 증대될 것으로 기대된다.

핵심되는 말 : 국소 점안, 결막하 주사, 양막 이식, 친수성 연성콘택트렌즈, 흡수율, 토브라마이신

다양한 경로로 안조직에 투여한 Tobramycin의 전방수내 농도변동

< 지도교수 이 종 혁 >

연세대학교 대학원 의학과

송 원 석

I. 서론

토브라마이신(tobramycin)은 아미노싸이클리톨(aminocyclitol; 2-deoxy streptomine)에 2개의 아미노-당질(amino-sugars)이 부착된 구조를 가지고 있다. 리보솜(ribosome)에 작용하며 mRNA 전사과정의 충실도를 떨어뜨려 단백질 합성을 방해하여 빠른 멸균작용을 보인다. 그러나 극도로 극성을 띠고 있기 때문에 안질환에 대한 국소 점안시 지용성-친수성-지용성 장벽인 각막을 투과하여 안내조직으로 침투하는 양은 매우 적어 그람음성세균에 의한 안내염의 경우 전방수내 치료 농도에 이르기 위해 보통 고농도의 토브라마이신을 국소 점안하거나 안구주위로 주사하는 방법이 사용된다.

안조직으로 약물을 투여하는 가장 대표적인 경로는 국소 점안과 결막하 주사하는 방법이 있고 약물의 저장고 개념을 응용하여 친수성 연성콘택트렌즈¹⁻³나 콜라겐 막(collagen shield)⁴⁻⁵을 투여할 약물에 담가둔 후 각막에 덮는 방법들이 있다. 최근 양막 이식 후 국소 점안한 경우도 양막의 유용한 작용과 함께 각막이나 전방수내 약물의 농도를 높일 수 있다는 보고⁶를 통해 더욱 다양한 투여 방법이 제안되고 있다.

국소 점안의 경우 눈물층에서의 희석과정과 눈물 안으로 용해되는 과정을 거치는데 이때는 약물의 농도와 용해도가 중요한 요소로 작용한다고 알려져 있다⁷. 그러나 토브라마이신 국소 점안액은 0.3%의 저농도이며 극성을 띠므로 친수성이 강해서 안내 침

투가 용이하지 않다⁸.

결막하 주사의 경우 전방수내 빠른 약물농도의 상승과 세균수의 감소가 필요할 때 가장 적합한 투여경로다. 각막윤부의 혈관과 공막을 통한 확산으로 약물흡수가 일어나는 것으로 알려져 있으며 보고자마다 실험설정과 약물 채취시간, 용량, 및 주입부에 따라 전방수내 약물농도는 다양한 측정결과를 보인다⁷. 친수성 연성콘택트렌즈는 최근 시도되고 있는 투여경로로 약물 저장고 역할이 몇몇의 보고에 의해 제시되었고 렌즈 종류에 따른 함수율의 차이로 약물의 저장이나 유리하는 정도에 차이를 보이지만 일반적으로 전방수내 농도를 높일 수 있다고 알려져 있다¹⁻³.

최근 항반흔, 항염증, 항혈관작용 등의 유용한 특성을 가진 양막을 각막에 이식하는 방법이 각막화상이나 천공이 발생한 각막궤양 등의 난치성 외안부질환에서 시도되고 있다. Kim등⁶은 양막 이식 후 퀴놀론(quinolone)계통의 항생제를 투여하여 전방수내 높은 약물농도를 얻을 수 있었다고 보고하며 양막의 약물 저장고 역할을 제시하였다.

본 연구에서는 동일한 용량과 농도의 약물을 다양한 경로로 가토의 안조직에 투여한 후 시간경과에 따라 전방수내 농도를 측정하여 각 투여경로에 따른 토브라마이신의 농도변동과 흡수량상을 비교하고자 하였다. 또한 양막을 정상 각막에 이식 후 토브라마이신을 국소 점안하는 경우 약물의 이동과 흡수에 어떤 영향을 주는지 알아보려고 하였다. 더불어 각 투여경로별로 안내염을 일으킬 수 있는 균주들에 대한 MIC₉₀⁹에 도달할 수 있는지를 알아보고 임상적인 적용 방법을 고찰하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

가. 실험동물

암수 구별 없이 체중이 2.0 - 2.7 kg인 New Zealand White rabbits 20마리를 사용하였다. 모든 가토에 대해 실험 전 세극등 검사를 시행하였고 각막이나 결막에 안질 환이나, 결막 혈관의 충혈 소견 등의 이상 소견이 없는 가토만을 대상으로 실험하였다. 안검이 완전히 닫히지 않는 경우나 안검외반 또는 안검내반 등의 이상 소견이 있는 경우는 제외하였다.

나. 시약 및 재료

(1) 토브라마이신(tobramycin)

0.3% 토브라마이신(Tobrex[®], Alcon) 점안 용액을 사용하였다. 국소 점안은 미량관(micropipet)을 사용하여 20 μ l를 매 10분 간격으로 10회에 걸쳐 투여하였고, 결막하 주사는 26게이지 주사침으로 200 μ l를 한번에 주입하였다. 친수성 연성콘택트렌즈는 200 μ l의 토브라마이신에 담가두어 흡착시켰고 남은 토브라마이신은 국소 점안하였다.

양막 이식 후 20 μ l를 매 10분 간격으로 10회에 걸쳐 국소 점안하였다. 각 투여경로마다 동일한 용량(200 μ l)을 투여하였다.

(2) 친수성 연성콘택트렌즈

본 연구에서 사용된 친수성 연성콘택트렌즈(VISTINT[®], CIVA Vision, USA)는 vifilcon A로 구성되어 있으며 흡수율은 55%, 기본 만곡도는 8.4 직경은 14 mm였다.

(3) 양막

(가) 양막의 준비

정상적인 방법으로 임신을 하고 전염성 질환(HIV-1 and 2, HBV, HCV, syphilis)의 혈청학적 증거가 없으며 유전적인 질환이나 이상, 그리고 고혈압, 당뇨병 등의 전신 질환이 없는 산모를 선별하였다. 연구목적으로 태반을 사용하기 위한 동의서를 산모에게 받은 후 수술실에서 제왕절개술을 시행할 때 무균적으로 태반을 적출하였다. 적출한 태반은 당일 lamina flow hood 안에서 50 µg/ml penicilline, 50 µg/ml streptomycin, 100 µg/ml neomycin, 2.5 µg/ml amphotericin-B가 섞인 생리식염수로 혈괴 세척 후 용모막으로부터 양막을 박리하였다. 다시 항생제가 들어있는 생리식염수로 미세한 혈괴를 제거하였다. 세척한 양막을 nitrocellulose paper에 상피세포가 위로 가도록 펴서 부착시킨 후 2 x 2 cm 크기로 잘랐다. Petri dish에 DMEM(Dulbecco's modified Eagle media; Giboco BRL, Life technologies)과 glycerine이 1:1로 혼합된 용액을 넣은 후 자른 양막을 한개씩 담가 두었다.

(나) 양막의 보관

DMEM과 glycerine이 1:1로 혼합된 용액에 담가놓은 양막은 -70°C 냉동보관 하였고 다음날 녹여서 실험에 사용하였다. 실험이 끝난 후 잔여 양막은 다시 사용하지 않았다.

2. 방법

가. 가토의 마취

근주용 Ketamine hydrochloride(케타라[®] 유한양행 50 mg/ml)를 5 ml 주사침을 사용하여 2-3 ml/kg 근주하고 5분 정도 지난 후 가토의 두 귀를 잡고 들어올릴 때 저항이 느껴지지 않는 전신 근육이 이완된 상태를 확인하고 실험을 진행하였다. 실험 중 추가 마취는 1 ml/kg씩 근주하였다.

나. 실험군

(1) 국소 점안한 실험군

총 5마리 가토를 마취시킨 후 수술현미경하에서 양안의 눈물점을 지혈기로 폐쇄시켰다. 개검기로 안검을 벌리고 결막낭에 0.3% 토브라마이신 20 μ l를 미량관(micropipet)으로 매 10분마다 100분 동안 10회 투여하여 총 200 μ l를 점안하였다.

마지막 점안 후 0.5, 1, 2, 3시간 경과할 때마다 수술현미경하에서 30게이지 주사침으로 3시 방향의 전방천자하여 홍채와 평행하게 진행시켜 중앙부에서 100 μ l의 전방수를 채취하였다. 채취한 검체가 들어있는 주사침 끝부분은 고무마개로 막은 다음 -70°C 냉동보관 하였다. 반대 방향의 전방천자를 통해 100 μ l의 평형염액(balanced salt solution; BSS plus[®], Alcon laboratories Inc., USA)을 전방내 주입하였다.

(2) 결막하 주사한 실험군

총 5마리 가토의 상, 하안검을 벌리고 26게이지 주사침으로 0.3% 토브라마이신 200 μ l를 하측 결막하 주사하였다. 주사 후 0.5, 1, 2, 3시간 경과할 때마다 수술현미경하에서 30게이지 주사침으로 3시 방향의 전방천자하여 100 μ l의 전방수를 채취하였고 동일한 양의 평형염액을 전방내 주입하였다. 채취한 검체는 동일한 방법으로 보관하였다.

(3) 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 실험군

총 5마리 가토의 눈물점을 지혈기로 폐쇄시킨 후 친수성 연성콘택트렌즈를 0.3% 토브라마이신 200 μ l에 30분 동안 담가두고 마취된 가토의 각막에 덮었다. 남은 토브라마이신은 미량관으로 매 10분마다 20 μ l를 국소 점안하였다. 친수성 연성콘택트렌즈를 덮어 놓은 시점부터 0.5, 1, 2, 3시간 경과할 때마다 수술현미경하에서 30게이지 주사침으로 3시 방향을 전방천자하여 100 μ l의 전방수를 채취한 후 동일한 양의 평형염액을 전방내 주입하였다.

(4) 양막 이식 후 국소 점안한 실험군

총 5마리 가토의 눈물점을 폐쇄시킨 후 -70°C 냉동보관된 양막을 실온에서 녹여 각막을 전부 덮도록 수술가위로 알맞게 자른 다음 정상 각막상피에 이식하고 7-0 vicryl 봉합사로 공막에 고정하였다. 양막을 고정시킨 후 0.3% 토브라마이신을 미량관으로 하측 결막낭에 매 10분마다 $20\ \mu\text{l}$ 씩 10회($200\ \mu\text{l}$) 투여하였다. 마지막 투여 후 0.5, 1, 2, 3시간 경과될 때마다 30게이지 주사침으로 전방천자하여 전방수를 채취하였고 동일한 양의 평형염액을 전방내 주입하였다.

전방수를 채취할 때마다 건조된 스폰지(weck cell)로 천자할 각막윤부의 수분을 잘 닦아 건조시켜 결막낭이나 각막 표면에 남아있는 토브라마이신이 포함되지 않도록 하였고 전방수 채취와 평형염액 주입과정에서 홍채나 렌즈에 손상을 주지 않도록 주의하였다.

다. 약물 농도분석

전방수에서 채취한 토브라마이신은 비방사성의 면역학적인 기법인 fluorescence polarization immunoassay(FPIA, TDx[®] analyser, Abbott Diagnostics)방법으로 TDx/TDxFDx Tobramycin assay reagent-specific kits(Abbott Laboratories)를 사용하여 전방수내 농도를 측정하였다. 본 검사장비의 민감도는 95%이다. 토브라마이신 검사세트(kits)를 장기간 사용시 시약의 농도변화로 결과에 영향을 줄 수 있기 때문에 32일 이내에 농도분석기에 넣고 농도분석을 하였다¹⁰.

라. 통계분석

측정값은 Excel 프로그램을 사용하여 정리하였고 통계분석은 SPSS-PC 10.0 프로그램을 사용하였다. 전방수내 토브라마이신의 농도는 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 투여경로마다 시간경과에 따른 평균값에 유의한 차이가 있는지는 Repeated measures ANOVA로 검정하였다. 각 투여경로 안에서 시간경과에 따른 농도의 유의한 상승이나 하강이 있었는지는 Mann-Whitney test로 검정하였고 p 값이 0.05미만인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다. 투여경로별로 3시간 동안의 흡수량 비교는 각각의 측정값들을 Origin 프로그램을 이용하여 그래프화 시킨 후 각 곡선 아래의 면적(AUC; Area under curve)을 산정하여 비교하였고 총 투여량에 따른 흡수율은 투여경

로별로 총 투여량(600 μg)에 대해 3시간 동안 흡수된 토브라마이신의 양의 비로 알아보았다.

III. 결과

1. 국소 점안 후 전방수내 토브라마이신의 농도

마지막 국소 점안 후 1시간 경과할 때 $1.29 \pm 0.52 \mu\text{g/ml}$ 로 최대 농도를 보이다가 3시간 경과 후 $0.39 \pm 0.23 \mu\text{g/ml}$ 로 통계학적으로 유의한 농도감소를 보였다($p < 0.05$) (표 1).

표 1. 국소 점안 후 시간경과에 따른 농도변동

| hr | Mean \pm SD* ($\mu\text{g/ml}$) |
|-----|-------------------------------------|
| 0.5 | 0.60 ± 0.52 |
| 1 | 1.29 ± 0.52 |
| 2 | 1.15 ± 0.56 |
| 3 | 0.39 ± 0.23 |

*SD; standard deviation

2. 결막하 주사 후 전방수내 토브라마이신의 농도

초기 0.5시간 경과 후 $1.06 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ 의 농도를 보였고 2시간 경과 후 $1.23 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$ 로 최대 농도를 보이다가 3시간 경과 후 통계학적으로 유의한 농도감소를 보였다($p < 0.05$)(표 2).

표 2. 결막하 주사 후 시간경과에 따른 농도변동

| hr | Mean \pm SD* ($\mu\text{g/ml}$) |
|-----|-------------------------------------|
| 0.5 | 1.06 ± 0.58 |
| 1 | 1.66 ± 0.45 |
| 2 | 1.23 ± 0.41 |
| 3 | 0.68 ± 0.47 |

*SD; standard deviation

3. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 전방수내 토브라마이신의 농도

초기 0.5시간 경과 후 다른 경로의 투여방법들에 비해 가장 높은 농도를 보였고 2시간 경과시 통계학적으로 유의한 농도상승을 나타냈다($p < 0.05$). 3시간이 경과한 후에도 $5.69 \pm 1.22 \mu\text{g}/\text{m}\ell$ 로 고농도가 지속되는 양상을 나타냈다. 4가지 투여경로 중에서 시간대별로 가장 높은 농도를 보였다(표 3).

표 3. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 후 시간경과에 따른 농도변동

| hr | Mean \pm SD* ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$) |
|-----|---|
| 0.5 | 1.95 \pm 0.93 |
| 1 | 2.92 \pm 1.70 |
| 2 | 6.71 \pm 1.83 |
| 3 | 5.69 \pm 1.22 |

* SD; standard deviation

4. 양막 이식 후 국소 점안한 경우 전방수내 토브라마이신의 농도

초기 0.5시간 경과 후 4가지 투여방법 중 가장 낮은 농도인 $0.30 \pm 0.23 \mu\text{g}/\text{ml}$ 를 보였으나 2시간이 경과하면서 통계학적으로 유의한 농도상승을 보였다($p < 0.05$). 그 후에도 지속적인 농도상승을 보이며 3시간이 경과한 후에는 $2.68 \pm 0.48 \mu\text{g}/\text{ml}$ 였다(표 4).

표 4. 양막 이식 후 시간경과에 따른 농도변동

| hr | Mean \pm SD* ($\mu\text{g}/\text{ml}$) |
|-----|--|
| 0.5 | 0.30 ± 0.23 |
| 1 | 0.87 ± 0.41 |
| 2 | 1.99 ± 0.65 |
| 3 | 2.68 ± 0.48 |

* SD; standard deviation

5. 투여경로별 시간경과에 따른 농도변동, 이론적 농도변동 및 흡수율

가. 투여경로별 시간경과에 따른 농도변동

국소 점안과 결막하 주사한 경우 1시간 경과 후 최대 농도를 나타냈으나 점차 감소하는 양상을 보였다. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 2시간 경과 후 최대 농도를 보이며 감소하였으나 양막 이식 후 국소 점안한 경우 3시간 이후에도 농도상승이 지속되었다(그림 1).

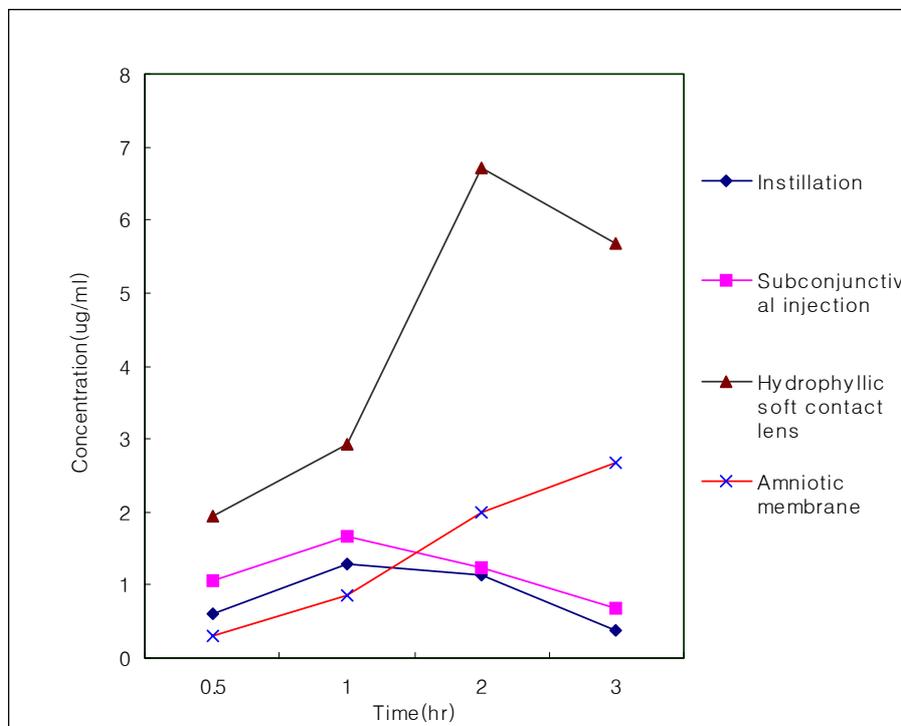


그림 1. 투여경로별 시간경과에 따른 농도변동

나. 이론적 농도변동 및 흡수율

동일한 농도와 양의 토브라마이신을 투여한 후 일정한 시간동안 전방수내로 흡수된 농도가 각 경로별 어떤 차이를 보이는지 대략적인 흡수율로 비교하기 위해 투여경로에 따른 전방수내 농도에 대한 측정값들을 비선형 회기분석으로 이론적인 그래프를 구하였다. 투여된 약물농도는 시간경과에 따라 점진적으로 상승하다가 최대 정점을 지난 후 다시 약물의 대사와 배출과정을 통해 농도의 감소를 나타낼 것으로 예상되며 측정된 약물의 농도를 이용하여 그래프화 하였다. 최대 정점이 없는 양막 이식의 경우는 3시간 경과 후 측정된 값을 최대값으로 생각하고 이론적인 곡선을 얻었다(그림 2).

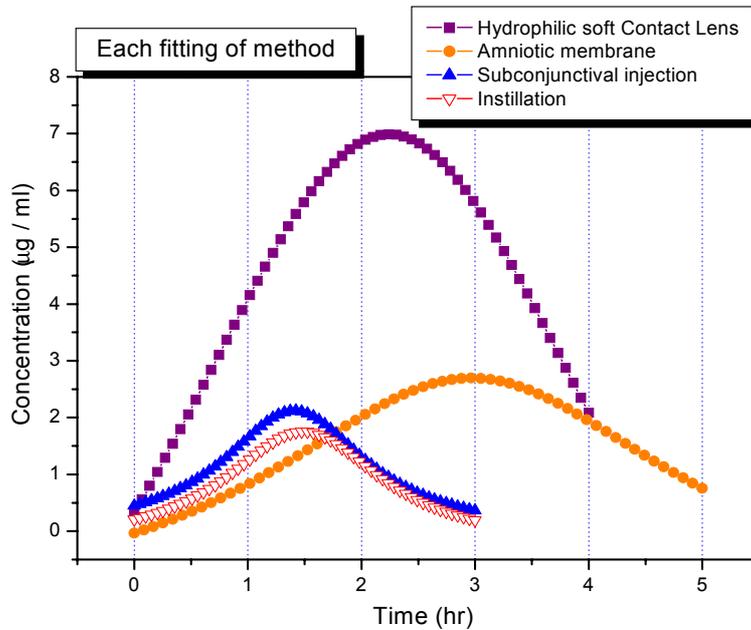


그림 2. 투여경로별 이론적 농도변동.

국소 점안과 결막하 주사한 경우 유사한 농도 곡선의 경향을 보였고 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 가장 높은 농도로 3시간 이상 지속되었다. 양막 이식의 경우 3시간 이상 지속적인 농도상승을 보였다.

각 투여경로별 시간경과에 따른 곡선 아래 면적과 총시간 동안의 면적을 비교하여 투여경로에 따른 흡수율을 비교해 보았다(그림 3-6).

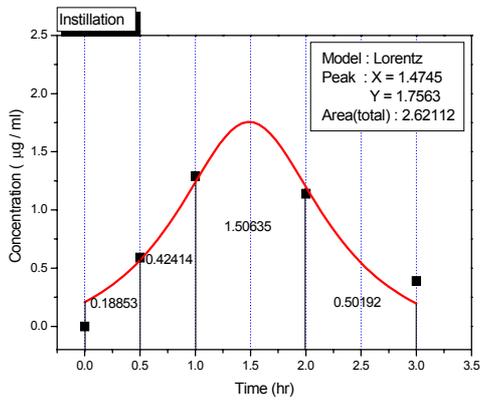


그림 3. 국소 점안한 경우 AUC.

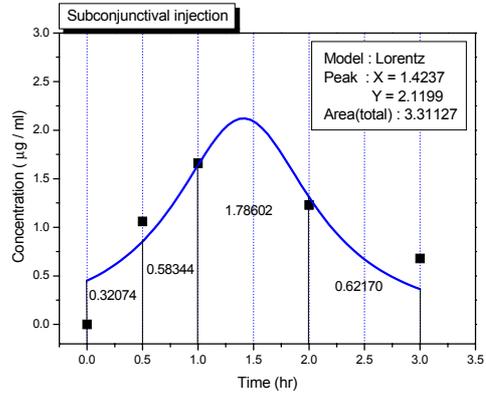


그림 4. 결막하 주사한 경우 AUC.

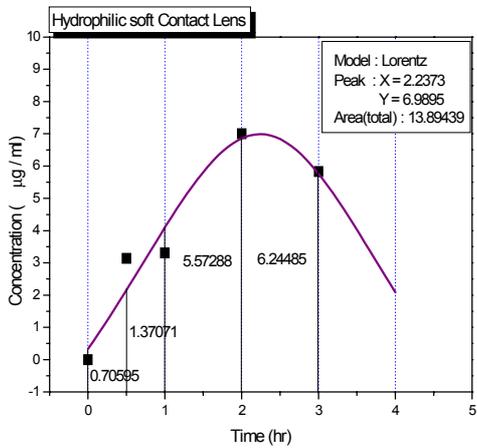


그림 5. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 AUC.

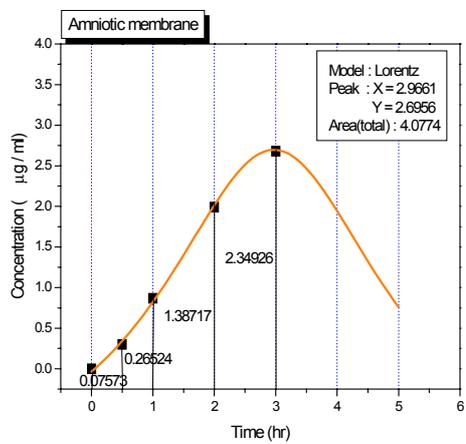


그림 6. 양막을 이식한 경우 AUC.

곡선 아래 면적이 시간에 따른 흡수량을 나타내며 곡선에 대한 적분값으로 정의된다. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 13.89 μg 로 3시간 동안 가장 높은 흡수량을 보였고 두 번째로 양막 이식한 후 국소 점안한 경우가, 세 번째로 결막하 주사한 경우가, 마지막으로 국소 점안한 경우가 2.77 μg 로 가장 낮은 흡수량을 보였다.

흡수율은 총 투여된 토브라마이신의 양에 대해 전방수내 측정된 양의 비로 정의된다. 0.3% 토브라마이신 200 μl (600 μg)을 국소 점안했을 때 3시간 동안 전방수내 2.77 μg 농도를 보여 가장 낮은 0.46%의 흡수율을 나타냈고 친수성 연성콘택트렌즈의 경우 2.30%의 가장 높은 흡수율을 보였다. 투여 후 3시간 동안 친수성 연성콘택트렌즈가 국소 점안한 경우보다 약 5배 더 높은 흡수량(흡수율)을 보였다. 3시간 동안의 총 투여량에 대한 투여경로별 흡수량과 흡수율은 아래와 같다(표 5).

표 5. 투여경로별 3시간 동안 전방수내 흡수량과 흡수율

| 투여경로 | 총 흡수된 양(μg) | 흡수율(%) |
|-------------|--------------------------|--------|
| 국소 점안 | 2.77 | 0.46 |
| 결막하 주사 | 3.50 | 0.58 |
| 친수성 연성콘택트렌즈 | 13.89 | 2.30 |
| 양막 이식 | 4.06 | 0.73 |

누적 흡수량은 친수성 연성콘택트렌즈와 양막 이식의 경우 3시간 이상 증가하는 양상을 보였고 국소 점안과 결막하 주사한 경우 2시간 이후부터 완만하고 편평한 곡선을 보였다(그림 7).

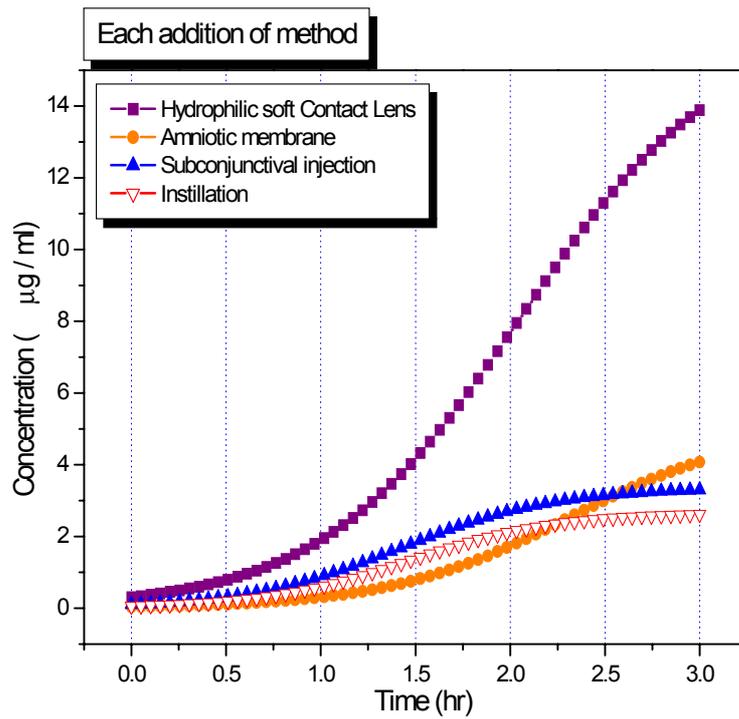


그림 7. 투여경로별 시간경과에 따른 누적 흡수량 곡선.

각 투여경로별 최대 농도에 도달하는 시간은 결막하 주사의 경우가 1.42시간으로 가장 먼저 최대 농도에 도달하였고 양막 이식의 경우가 2.97시간으로 가장 나중에 최대 농도에 도달하였다. 즉 양막 이식 후 국소 점안한 경우가 초기에 느린 약물농도의 상승을 보이지만 장시간 동안 점진적인 전방수내 농도상승이 일어남을 알 수 있었다 (그림 8).

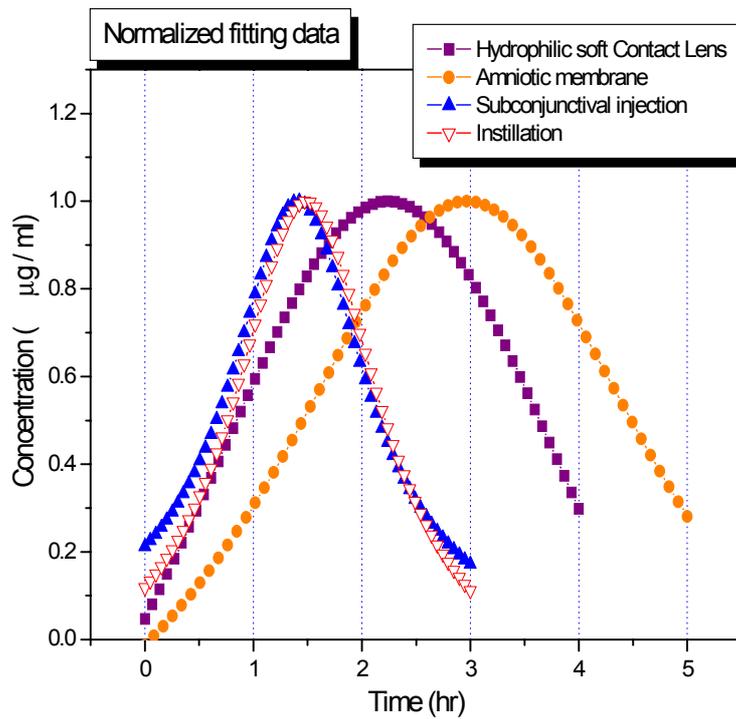


그림 8. 투여경로별 최대 농도에 이르는 시간.

IV. 고찰

각막과 결막은 외부에 노출되어 있는 안조직의 일부로 안질환이 발생한 경우 가장 효과적으로 접근할 수 있는 약물의 투여경로다. 이전부터 안조직 내로 약물의 투과를 증강시키려는 연구가 진행되었고 각각의 안조직 특성에 따른 약동학을 밝혀내려는 노력이 계속되고 있다.

사람의 결막이 포함할 수 있는 눈물 용량은 단지 7 μl 로 점안 투여시 일시적으로 20-30 μl 까지 늘어날 수 있다고 한다. 국소 점안하는 안약 1방울은 약 50 μl 정도인데 이러한 용적의 제한으로 20 μl 로도 최대 생체이용률(bioavailability)에 충분히 도달할 수 있는 농도를 만들었다고 한다¹¹. 그러나 국소 점안으로는 점안한 안약의 90% 이상이 눈물점을 통해 배출되며 눈물에 의해 희석되기 때문에 약물이 각막조직을 투과하기가 어렵다. 또한 지용성-수용성-지용성 장벽으로 이뤄진 정상 각막을 투과해야 하는데 토브라마이신은 친수성이므로 이러한 각막의 장벽을 투과하기 매우 힘들기 때문에 단시간 안에 전방수내 약물농도 상승을 일으키지 못한다. 따라서 국소 점안으로는 전방수내 *P. aeruginosa*를 비롯한 그람음성세균들에 대한 MIC₉₀ 농도에 도달하지 못한다고 알려져 있으며 각막과 결막을 침범한 감염시 주요 투여경로로 사용하고 있다⁷.

본 실험에서 국소 점안한 경우 1-2시간 경과 후의 농도가 기존의 결과¹보다 높게 나타났던 것은 다른 경로와 비교하기 위해 동일한 투여 용량과 농도를 사용했기 때문에 일반적인 투여 빈도보다 더 잦은 빈도로 투여되었기 때문으로 생각된다. 결론적으로 국소 점안으로 전방수내 약물농도를 높이기 위해서 점안 횟수를 증가시키는 방법이 효과적일 수 있다. 그러나 임상적으로 빈번한 점안은 눈물점을 통한 점막의 흡수를 증가시켜 전신 부작용을 유발할 가능성이 높으므로 점안할 때 누낭을 손가락으로 눌러 막아 약물의 점막을 통한 흡수를 최소화해야 할 것이다.

결막하 주사는 이전부터 국소 점안보다 전안부의 약물농도를 빠르게 상승시킨다고 알려져 있다¹². Gorden 및 Cuninghame¹³에 의하면 4% 토브라마이신 0.25 ml를 결막하 주사할 때 전방수내 최대 농도는 2-3시간 후 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 라고 보고하였다. 그러나 이 결과는 혈관 주사용으로 사용하는 4%의 고농도를 투여한 경우였고 투여농도 차이로 인해 0.3% 농도의 국소 점안과는 전방수내 농도의 비교가 약리학적 측면에선 불가능했다. 본 실험을 통해서 결막하 주사는 국소 점안한 경우와 비교하여 흡수율의 유의한 차이를 보이지 않아 전방수내 약물농도를 유의하게 높이지 못함을 알 수 있었다. 결

과적으로 전방수내 약물농도를 높이기 위해 결막하 주사를 시행할 경우 기존의 방법대로 고농도를 투여해야 안내 감염을 흔히 일으키는 균주에 효과적임을 확인할 수 있었다. 그러나 결막하 출혈, 안통, 안구과열 등의 합병증이 발생할 수 있기 때문에 장기간 투여방법으로는 적합하지 않아 다른 경로를 고려할 수 있을 것이다. 결막하 주사한 약물의 이동에 있어서 친수성인 토브라마이신은 공막이 주된 이동경로이며 각막이나 방수내 농도는 염증의 유무에 관계없이 항상 높은 농도를 유지할 수 있다고 알려져 있다¹¹. 본 실험에서는 대부분 1시간 경과 후 최대 농도에 도달하였고 2시간 경과 후부터 농도감소 양상이 관찰되었다. 이는 결막이나 윤부를 통한 배출, 풍부한 맥락막의 혈관으로 약물의 흡수와 함께 빠른 회식 및 배설이 일어났기 때문으로 생각되며 약물이 결막하 공간에 구획되기 때문에 약물 자체의 정수압과 지속적인 공막 접촉을 통해 빠른 이동을 보인 것으로 추정할 수 있다.

친수성 연성콘택트렌즈는 각막상피의 손상이 있을 때 통증 감소나 미세한 각막천공의 경우 전방유지 등의 다양한 목적으로 사용한다. 본 실험에서는 다른 투여경로에 비해 전방내 장시간 동안(3시간 이상) 고농도를 유지하였다. 다른 조건이 동일하다고 가정할 때 친수성 연성콘택트렌즈를 통한 약물흡수가 국소 점안을 통한 흡수보다 약 5배 더 높다고 볼 수 있었다. 임상적으로 외상이나 각막궤양 등에 의해 상피의 손상이 있거나 2 mm이하의 작은 각막천공이 발생할 경우 물리적인 방어막 기능을 함과 동시에 투여하는 약물의 저장고 역할로 전방수내 약물농도를 높여 여러 상황에서 효과적인 치료를 가능케 할 수 있다고 생각된다. 또한 전신 투여 등의 다른 경로를 통한 약물의 투여를 줄일 수 있는 장점이 있다. 기존의 보고들¹⁻³이 전방수내 약물의 농도만을 측정된 경우가 대부분이며 총 투여량을 정량화하여 전방수내 흡수율을 연구한 보고가 없기 때문에 결과의 비교가 불가능하지만 참고 자료로 이용될 수 있을 것이다.

양막은 항염증¹⁴, 항반흔¹⁵⁻¹⁶, 항혈관화 작용¹⁷, 기저상피세포의 부착 강화¹⁸, 상피의 분화 촉진¹⁹⁻²⁰ 및 세포고사²¹를 방지하는 등의 유용한 특성을 가지고 있어 최근 각막을 비롯한 외안부의 난치성 안질환에 사용하기 시작했다. 양막은 1층의 상피와 기저막, 치밀층, 섬유아세포층, 해면층인 5층으로 구성되어 있고 평활근, 신경, 림프관, 혈관 등이 없기 때문에 이식 거부반응도 매우 드물다. 본 실험에서 초기 30분 경과한 후 측정된 농도는 다른 투여경로보다 가장 낮은 전방수내 농도를 보였으나 시간의 경과에 따라 점진적으로 높은 농도를 보였는데 이는 초기에 양막이 약물의 장벽 역할을 한 것이라 추측되며 투여된 약물이 시간의 경과에 따라 유리되면서 완만한 농도상승

을 보인 것으로 추정할 수 있었다. 콜라겐으로 구성된 양막의 간질이 약물의 주요한 저장고로 생각되며 냉동보관 후 녹여서 사용하였기 때문에 양막의 상피세포가 손상되고 상피세포 사이의 결합이 느슨해져 약물의 양막 투과가 좀 더 용이했을 것이라고 추측된다. 결과적으로 양막 이식은 약물이동의 관점에서 약물이동에 관여하여 투과 장벽으로 작용할 수 있으나 지속적인 약물 유리로 3시간 이상 전방수내 농도를 높일 수 있다는 결론을 내릴 수 있었다.

안내염을 유발하는 흔한 균주인 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*에 대한 MIC₉₀은 각각 0.25, 1, 4 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 이며⁹ 국소 점안, 결막하 주사, 양막 이식의 경우 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에 대한 MIC₉₀ 농도를 초과하였고, 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 *S. epidermidis*, *S. aureus*, 그리고 *P. aeruginosa*에 대한 MIC₉₀ 농도를 초과하였다.

본 연구는 3시간 동안 토브라마이신의 농도변동에 관한 것으로 장기간의 농도변동에 대한 제한점이 있다. 따라서 추후 3시간 이상의 장기간 동안 농도변화에 대해서 추가 연구가 필요할 것이다. 또한 양막 이식은 대개 각막 상피가 손상된 경우나 천공이 임박한 경우에 주로 사용하는데 각막 상피를 제거하고 이식한 효과에 대해서도 실험을 진행하여 약물이동과 전방수 농도에 어떤 영향을 주는지 밝혀내면 임상에 더 유용하게 적용될 수 있을 것이다. 또한 같은 아미노글라이코사이드 계통의 약물들을 비교해 보는 것도 안조직에 대한 약물 투여시 약물 선택에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

V. 결론

본 연구에서는 동일한 농도와 용량의 토브라마이신을 사용하여 다양한 경로로 가토의 안조직에 투여한 후 시간경과에 따른 전방수내 농도를 fluorescence polarization immunoassay로 측정해 보았고 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 토브라마이신을 국소 점안한 경우 3시간 동안 가장 낮은 흡수율을 보였다. 결막하 주사한 경우 가장 먼저 전방수내 농도상승을 보였으나 단시간 안에 농도감소를 보였고 국소 점안한 경우와 비슷한 농도변동 양상을 보였다.

2. 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 초기 0.5시간부터 급격한 농도상승이 일어났고 3시간 이상 고농도를 나타내어 가장 높은 흡수율을 보였다. 양막 이식 후 국소 점안한 경우 장기간 전방수내 농도를 높일 수 있었다.

3. 전방수내 토브라마이신의 농도는 국소 점안, 결막하 주사, 양막 이식한 경우 *S. aureus*와 *S. epidermidis*에 대한 MIC₉₀ 농도를 초과하였고, 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 *S. epidermidis*, *S. aureus*, 그리고 *P. aeruginosa*에 대한 MIC₉₀ 농도를 초과하였다.

4. 3시간 동안 총 흡수량은 국소 점안한 경우와 비교하여 친수성 연성콘택트렌즈를 사용한 경우 약 5배 더 높았고 양막 이식 후 국소 점안한 경우 약 1.6배 더 높았다.

이상의 결과로 안내염의 흔한 원인균주들에 대한 전방수내 MIC₉₀ 농도를 초과하기 위해서 정상 각막에서는 친수성 연성콘택트렌즈를, 상피가 손상된 각막에서는 양막 이식 후 국소 점안하는 방법이 효과적이라고 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Hehl E-M, Beck R, Luthard K, Guthoff R, Drewelow B. Improved penetration of aminoglycosides and fluoroquinolones into the aqueous humor of patients by means of Acuvue contact lens. *Eur J Clin Pharmacol* 1999;55:317-23.
2. Tian X, Iwatsu M, Kanai A. Disposable 1-day Acuvue contact lenses for the delivery of lomefloxacin to rabbits' eyes. *CLAO J* 2001;27:212-5.
3. Kalayci D, Basci N, Kortunay S, Hasiripi H, Bozkurt A. Penetration of topical ciprofloxacin by presoaked medicated soft contact lenses. *CLAO J* 1999;25:182-4.
4. Taravella MJ, Balentine J, Young DA, Stepp P. Collagen shield delivery of ofloxacin to the human eye. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:562-5.
5. Unterman SR, Rootman DS, Hill JM, Parelman JJ, Thompson HW, Kaufman HE. Collagen shield drug delivery : therapeutic concentrations of tobramycin in the rabbit cornea and aqueous humor. *J Cataract Refrac Surg* 1988;14:500-4.
6. Kim HS, Sah WJ, Kim YJ, Kim JC, Hahn TW. Amniotic membrane, tear film, corneal, and aqueous levels of ofloxacin in rabbit eyes after amniotic membrane transplantation. *Cornea* 2001;20:628-34.
7. David EP, David WL. *Clinical Ophthalmic Pharmacology*. 1st ed. Boston/Toronto: Little Brown and company; 1987. p.9-10.

8. Bazar M. Factors affecting the intraocular penetration of antibiotics, the influence of route, inflammation, animal species, and tissue pigmentation. *Scand J Infect Dis* 1978;14:151-9.
9. Joel GH, Lee EL. *The Pharmacological Basis of therapeutics*. 10th ed. McGraw Hill; 2001. p.11-3.
10. White LO, Holt HA, Reeves DS, MacGowan AP. Evaluation of Innofluor fluorescence polarization immunoassay kits for the determination of serum concentrations of gentamicin, tobramycin, amikacin and vancomycin. *J Antimicrob Chemother* 1997;39:355-61.
11. William HH. *Ocular Pharmacology*. 5th ed. The C.V Mosby company: ST. LOUIS TORONTO; 1983. p.19-22.
12. Petounis A, Papapanos G, Karageorgiou-Makromihelaki C. Penetration of tobramycin sulphate into the human eye. *Br J Ophthalmol* 1978;62:660-2.
13. Gorden TB, Cuningham RD. Tobramycin levels in aqueous humor after subconjunctival injection in humans. *Am J Ophthalmol* 1982;93:107.
14. Harminder SD, Augusto AB. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:748-52.
15. Sato H, Shimazaki J, Shinozaki N. Role of growth factors for ocular surface reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Inves Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:S428.

16. Li DQ, Tseng SC. Three patterns of cytokine expression potentially involved in epithelial-fibroblast interactions of human ocular surface. *J Cell Physiol* 1995;163: 61-79.
17. Hao Y, Ma DH, Hwang DG, Kim WS, Zhang F. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000;19:348- 52.
18. Khodadoust AA, Silverstein AM, Kenyon KR, Dowling JE. Adhesion of regenerating corneal epithelium. The role of basement membrane. *Am J Ophthalmol* 1968;65:339-48.
19. Guo M, Grinnell F. Basement membrane and human epidermal differentiation in vitro. *J Invest Dermatol* 1989;93:371-8.
20. Kurpakus MA, Stock EL, Jones JC. The role of the basement membrane in differential expression of keratan proteins in epithelial cells *Dev Biol* 1992;150:243- 55.
21. Wang MX, Gray TB, Park WC, Prabhasawat P, Celbertson W, Forster R, et al. Reduction in corneal haze and apoptosis by amniotic membrane matrix in excimer laser photoablation in rabbits. *J Cataract Refr Surg* 2001;27:310-9.

Abstract

The change of the Tobramycin concentration in aqueous humor administered into ocular tissue in various routes

Won-Seok Song

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Jong Hyuck Lee)

Tobramycin is an aminoglycoside with administering routes of the topical instillation of ophthalmic solution prepared in 0.3% or 4% for the subconjunctival injection. Previous studies concerning delivery and absorption of tobramycin were focused on the analysis of the level of the drug in aqueous humor administered through conventional route with different concentrations and doses. Thus previous studies have left the necessity to review the comparison and the analysis of the drug delivery depending on the various administering routes. In this study, I have analyzed the changing aspect of the level of the tobramycin(0.3%) in aqueous humor administered via the different routes with the same dose(200 $\mu\ell$), depending on the time passage(0.5 hour, 1 hour, 2 hours, 3 hours) through the fluorescence polarization immunoassay.

In the topical instillation, after 3 hours, the aspect of decreasing tendency in the mean concentration was shown to have statistical significance.

In the subconjunctival injection, the maximal concentration, $1.66 \pm 0.45 \mu\text{g}/\text{ml}$, was shown after 1 hour, and statistically significant decreasing tendency in

mean concentration was shown after 3 hours.

After soaking hydrophilic soft contact lens in 200 μ l of tobramycin for 0.5 hour and applying onto cornea, the remained tobramycin was topically instilled. Increase in concentration had been statistically significant upto 6.71 \pm 1.83 μ g/ml after 2 hours.

In the amniotic membrane transplantation followed by tobramycin topical instillation, after 2 hours, the statistically significant increase was shown with the gradual increase as time passed. Even after 3 hours, the tendency of gradual increase was shown upto 2.68 \pm 0.48 μ g/ml.

Tobramycin concentration was obtained above MIC₉₀ against *S. aureus* and *S. epidermidis* in the topical instillation, the subconjunctival injection, and the amniotic membrane transplantation, in the hydrophilic soft contact lens, the drug concentration was obtained above MIC₉₀ against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *P. aeruginosa*.

As for the absorption rate of the tobramycin in aqueous humor for 3 hours, hydrophilic soft contact lens demonstrated the highest rate of absorption as 2.30% and topical instillation showed the lowest rate of absorption as 0.46%.

The subconjunctival injection showed the similar change in concentration compared with the topical instillation in low concentration(0.3%). The hydrophilic soft contact lens was considered the best method to increase the early concentration in the aqueous humor and to maintain the concentration for long period. The amniotic membrane demonstrated the high efficacy in the maintenance of drug concentration for long period, and its use would show great benefit and effectiveness for the patients of corneal injury in the clinical field.

Key Words : absorption rate, amniotic membrane transplantation, hydrophilic soft contact lens, instillation, subconjunctival injection, tobramycin