



# Oxytetracycline의 약욕에 따른 조피볼락 (*Sebastes schlegelii*) 체내 약물동태학적 특성

우수지 · 정준기<sup>†</sup>  
부경대학교(학생) · <sup>†</sup>부경대학교(교수)

## Pharmacokinetics of Oxytetracycline after Dipping to Cultured Rock Fish, *Sebastes schlegelii*

Soo-Ji WOO · Joon-Ki CHUNG<sup>†</sup>  
Pukyong National University(student) · <sup>†</sup>Pukyong National University(professor)

### Abstract

Oxytetracycline (OTC) is a tetracycline broad-spectrum antibiotic with bacteriostatic action. The pharmacokinetic properties and the residue level of OTC were studied after dipping to cultured rock fish, (283±5 g) *Sebastes schlegelii*. For pharmacokinetic studies, OTC of 50, 100 and 400ppm were administered at 15±1 °C and OTC concentrations were determined in plasma, muscle and liver by HPLC-DAD. Plasma, muscle and liver samples were taken at 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 168 and 336h post-injection. The kinetic profiles of OTC were analyzed by fitting to a two-compartmental model. The kinetic profile of the OTC was found to be dose dependent. The time for maximum concentration ( $T_{max}$ ) and the maximum concentration ( $C_{max}$ ) of 400ppm OTC were 2.12h at 1.66 $\mu$ g/ml in plasma, 15.25h at 0.95 $\mu$ g/ml in muscle, and 15.3h at 6.29 $\mu$ g/ml in liver. The absorption half-life ( $t_{1/2\alpha}$ ) of 400ppm OTC was 1.24h in plasma, 9.43h in muscle, and 10.31h in liver, respectively, whereas the elimination half-life ( $t_{1/2\beta}$ ) of the drug was 90.28h in plasma, 265.3h in muscle, and 6.93 ×10<sup>5</sup>h in liver. A higher OTC residue level of liver in comparison with muscle and plasma was showed at all time points

**Key words :** Oxytetracycline, Pharmacokinetics, *Sebastes schlegelii*, HPLC-DAD

### I. 서론

우리나라 국민 1인당 연간 수산물 소비량은 58.4kg 로 세계 최고 수준이며, 계획생산이 가능한 양식어업 분야의 관심이 높아지고 있다. 양식 어업으로 생산하는 어패류 중 많은 비중을 차지하는 조피볼락(*Sebastes schlegelii*) 은 국내 주요 양식 해수어종이다. 하지만 양식과정에서의 밀식,

환경문제에 의해 각종 질병 유발과 이를 예방하기 위한 항생제 과다 사용 및 오남용에 대한 문제가 많이 발생하고 있다(Kim et al., 2014).

우리나라에서 약 30 여 종의 항생·항균 물질이 수산양식용으로 시판되고 있으며, 이 중 Tetracycline 계 항생제인 oxytetracycline(OTC) 가 가장 많이 사용되고 있다. OTC는 그람양성균 및 그람음성균에 광범위하게 작용하는 tetracycline 계열의 반

<sup>†</sup> Corresponding author : 051-629-5940, jkchung@pknu.ac.kr

\* 이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비 (2017년)에 의하여 연구되었음.

합성 항생물질이다. 세균 ribosome의 30s subunit에 결합해 단백질 합성을 억제하는 정균작용을 나타낸다. 국내에서는 수산용으로 품목이 허가된 OTC는 세부적으로 염산염 형태의 단일 사용 또는 neomycin sulfate 등 다른 항생제와 병용제제로 사용 가능하고 투여방법으로 경구투여와 약육법이 허가되어 있다. 그리고 양식어류의 연쇄구균증, 에드워드병, 비브리오팀, 유결절증, 에로모나스병 등 세균성 질병 치료 및 예방을 목적으로 사용하는 처방대상의약품이다(NIFS, 2016). 동물용 의약품 안전사용기준에 의하면 OTC의 1일 사용량은 참돔, 뱀장어 등의 경우 어체 중 1kg당 역가 40-200mg 이하의 양을 사료에 혼합하여 경구투여하고 휴약기간은 20일 및 30일로 규정하고 있으나 약육에 따른 사용법은 참돔의 비브리오팀 경우만 적용되어 있다. 그리고 식품 위생법에 따라 OTC의 잔류허용기준은 어류, 갑각류, 전복에서 0.2mg/kg 이하로 규정되어 있다.

최근, 어류에 사용하는 기존 항생제의 잔류에 대한 연구가 많이 진행되었다. OTC의 체내 잔류에 관해서 나일 틸라피아(Guidi et al., 2017), 무지개송어(Miller et al., 2007), 귀족도미(Guardiola et al., 2012), 뱀장어(Ueno et al., 2004) 등 다양한 어종을 대상으로 연구되었다. 국내 주요 양식어류인 넙치에 대해서 OTC의 경구투여 및 약육에 대한 미생물학적 간이검사와 체내 잔류에 관한 연구가 보고되어 있다(Ko et al., 2016). 그러나 어류에 사용하는 항생제의 투여경로는 사료첨가 뿐만 아니라 주사, 약육 등 다양한 경로를 취하고 있어, 각각의 투여경로에 대한 어체 내 분포 및 잔류에 대한 연구는 매우 중요하다. 특히, 양식 현장에서 일반적으로 사용되고 있는 약육 투여에 대한 잔류 연구와 약물동태학적연구는 미미한 실정이다. 따라서, 항생제의 과다 사용으로 인한 항생제 내성균의 출현과 체내 항생제 잔류의 안전성 확보가 시급한 실정인 만큼, 항생제 약육을 통한 어류 체내 약물의 분포 및 잔류에 대한 연구가 요구되고 있다.

본 연구에서는 양식어류에 가장 광범위하게 사용되고 있는 OTC의 농도별 약육에 따른 조피볼락의 혈액, 근육, 간의 잔류분포 조사를 통해 수산용 동물용 의약품 사용에 필요한 정보를 제공하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시약 및 실험어류

본 연구에서 사용된 항생제의 표준품 oxytetracycline hydrochloride(OTC)는 Sigma(USA) 제품을 사용하였다. 기기분석을 위한 HPLC 용 acetonitrile, methanol 및 증류수 등 용매류는 Burdick & Jackson 사(USA)를 사용하였으며, 기타 실험에 사용된 모든 시약은 특급 이상을 사용하였다.

조피볼락(*Sebastes schlegelii*)은 통영 양식장에서 항생제 투여 치료를 받지 않은 건강한 개체(체중 283±5g; 전장 28±2cm)를 분양받았다. 유수식 수조(염도 27‰, 수온 15±1℃)에 실험구별 10미씩 수용하고 1주간 순치시켰으며, 실험기간동안 굶이 하지 않았다.

### 2. 약제 투여 및 시료 채취

OTC 약제 투여는 참신약품(주)의 수산용 OTC-500을 이용해 약육하였다. 조피볼락에 대한 OTC 사용법이 마련되어 있지 않아 참돔 비브리오팀의 약육법을 따랐다. 본래 투약량인 50ppm와 2배에 해당하는 100ppm, 8배에 해당하는 400ppm에서 별도로 준비한 수조(15±1℃)에 각 80마리씩 30분 간 약육한 뒤 각각 여과해수 수조에 수용하였다. 약육이 종료된 직후를 0시간으로 간주하여, 0, 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 168, 336시간마다 각 실험구에서 8마리씩 혈액, 근육, 간을 채취하였다. 실험어는 MS-222(Sigma, USA)로 마취시켜 미부혈관으로부터 헤파린(MP Bio, France) 처리한 주사기로 혈액 3mℓ을 채취해 원심분리

(4°C, 3000rpm, 10분) 하여 혈장을 분리한 후 -8 0°C 에 냉동 보관하였다. 실험기간 동안 폐사한 실험어는 출현하지 않았다.

### 3. OTC 추출

혈액 내 OTC를 추출하기 위해, 정 등(Jung et al., 2008) 의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 혈장 0.5ml 에 0.5% EDTA-0.01M oxalic acid 0.2 ml 를 넣어 균질화한 후 10분 동안 실온에서 반응 시켰다. methanol 0.4ml을 첨가하여 희석시킨 뒤 5,000rpm, 4°C 에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취하여 40°C 이하의 수욕상에서 rotary evaporator(EYELA, Japan) 로 감압 농축하였다. 남은 잔류물은 0.01M oxalic acid 1ml로 희석시킨 뒤 5,000rpm, 4°C 에서 10분간 원심분리 후 0.45 µm syringe filter로 여과해 HPLC 분석에 사용하였다.

근육 및 간 내 OTC를 추출하기 위해 조피볼락의 근육 및 간 1g을 정량하여 0.5% EDTA-0.01M oxalic acid 1ml을 넣어 균질화 한 후 10분 동안 실온에서 반응 시켰다. methanol 3ml을 첨가하여 희석시킨 뒤 5,000rpm, 4°C 에서 15분간 원심분리하여 상등액을 취하여 40°C 이하의 수욕상에서

감압 농축하였다. 남은 잔류물은 0.01M oxalic acid 1ml로 희석시킨 뒤 5,000rpm, 4°C 에서 10분간 원심분리 후 0.45µm syringe filter로 여과해 HPLC 분석에 사용하였다.

### 4. HPLC 분석 조건

HPLC(Agilent 1200) 의 분석 조건은(<Table 1>)에서 나타내었다. Column은 150 x 4.6 mm.i.d.(C18, 5 µm, COSMOSIL), 이동상은 methanol: acetonitrile: 0.01M oxalic acid (100:100:700, v/v/v), column 온도는 40°C, flow rate는 1ml/min, detector는 diode array detector, λ=268nm, AUFS(0.005), injection volume은 20µl, run time 은 15분 이었다.

### 5. 표준곡선 작성 및 회수율

HPLC-DAD 분석을 위해 stock solution을 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10µg/ml 농도로 이동상에 녹인 표준용액을 HPLC에 20µl 주입하여 도출된 피크면적에 의하여 표준곡선을 작성하였다. 회수율은 OTC의 표준용액을 0.1, 1 및 10µg/ml 농도로 넉치의 혈장, 근육 및 간에 첨가한 후 전처리 과정을 거쳐 HPLC-DAD 로 분석하였다.

<Table 1> HPLC instruments and analysis conditions for oxytetracycline

Instrument	Agilent Technologies 1200 system
Column	150 x 4.6 mm i.d. (C <sub>18</sub> , 5µm, COSMOSIL)
Mobile Phase	Methanol: Acetonitrile: 0.01M oxalic acid (100:100:700, v/v/v)
Column temperature	40°C
Flow rate	1 ml/min
Detector	Diode Array Detector λ=268nm, AUFS (0.005)
Injection volume	20µl
Run time	20min

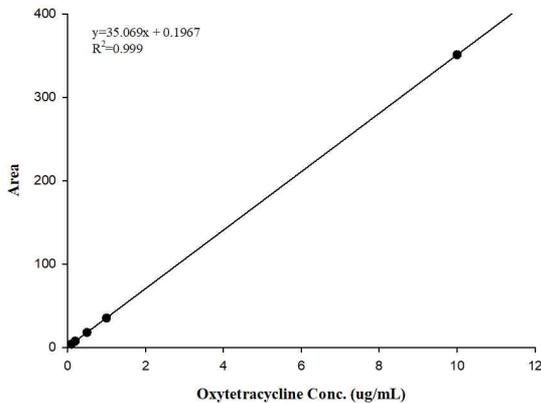
### 6. 약물동태학적 해석

약제를 투여한 조피볼락의 혈장, 근육, 간 내 약물 농도 측정 결과를 바탕으로 two-compartmental model 에 따라 Microsoft Office Excel 의 add-in인 PK Solver를 이용하여 Cmax, Tmax, AUC(area under the time-concentration curve) 등의 OTC의 약물동태학적 변수 (pharmacokinetic parameter) 를 구하였다.

## III. 결 과

### 1. 표준곡선 및 회수율

OTC의 표준용액을 단계희석한 후 HPLC-DAD 로 분석하여 농도에 대한 peak 면적비를 이용하여 표준곡선을 작성하였다. OTC의 회귀계수(R<sup>2</sup>) 는 0.999로 직선성이 매우 양호한 것으로 확인되었으며, CODEX guideline 에서 제시하는 기준인 0.99 이상의 조건을 충족하였다([Fig. 1]).



[Fig. 1] Calibration curve for the assay of OTC

회수율은 OTC의 표준용액을 0.1, 1 및 10 $\mu$ g/ml 농도로 넙치의 혈장, 근육 및 간에 첨가한 후 전 처리 과정을 거쳐 분석 한 결과를(<Table 2>) 에 나타내었다. 신호대 잡음 비 3 이상으로 하여 조 피볼락의 혈장, 근육 및 간의 OTC의 검출한계

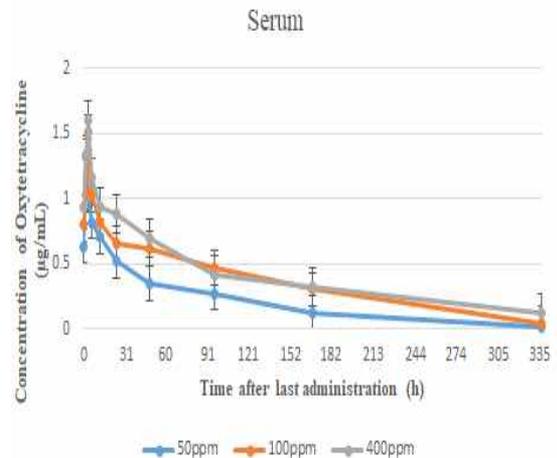
(LOD, Limit of Detection) 는 0.05 $\mu$ g/ml 이고, 신호대 잡음 비 10이상으로 하여 정량한계 (LOQ, Limit of Quantitation) 는 0.15 $\mu$ g/ml 로 측정되었 다.

<Table 2> Recovery of OTC from blood, muscle, liver samples of *Sebastes schlegelii*

Sample	Fortified concentration ( $\mu$ g/ml)	Recovery (%) (Mean $\pm$ SD, n=5)
Blood	10	102.33 $\pm$ 1.43
	1	99.21 $\pm$ 2.05
	0.1	95.3 $\pm$ 2.66
Muscle	10	98.74 $\pm$ 2.56
	1	95.35 $\pm$ 1.21
	0.1	93.55 $\pm$ 1.75
Liver	10	88.47 $\pm$ 3.61
	1	85.42 $\pm$ 2.44
	0.1	80.11 $\pm$ 3.59

### 2. 투여 농도에 따른 OTC의 경시적 농도 변화

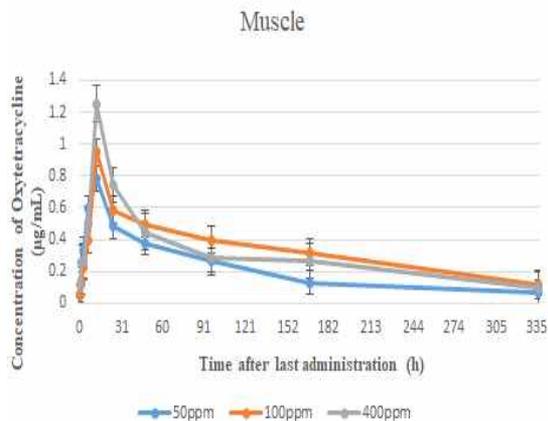
OTC를 각 농도로 조피볼락에 약육시킨 후 시간 경과에 따른 혈중에서의 경시적 농도 변화를 [Fig. 2]에 나타내었다.



[Fig. 2] Blood concentration ( $\mu$ g/ml) of OTC in *S. schlegelii* after dipping with different doses of 50, 100, and 400ppm for 30min at 15 $^{\circ}$ C (mean $\pm$ S.E.; n = 8)

50ppm 시험구는 약욕 후 3시간 쯤 1.32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 혈중 최고 값을 나타내었다. 6시간 쯤 급격히 감소해 12시간부터 96시간까지 0.71 $\pm$ 0.03 ~ 0.27 $\pm$ 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 완만한 약물 소실 경향을 나타내어 168시간째부터 OTC가 검출한계 이하로 검출되지 않았다. 100ppm 시험구는 약욕 후 3시간 쯤 1.51 $\pm$ 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 혈중 최고값을 나타내었다. 6시간부터 48시간까지 1.03 $\pm$ 0.05 ~ 0.617 $\pm$ 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소실되었으며, 이후 168 시간까지 0.46 $\pm$ 0.01 ~ 0.3 $\pm$ 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소실하였다. 400ppm 시험구는 약욕 후 3시간 쯤 1.60 $\pm$ 0.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 최대값을 나타내었고 6시간부터 48시간까지 1.15 $\pm$ 0.05 ~ 0.70 $\pm$ 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 완만하게 소실하였다. 이후 336시간까지 0.42 $\pm$ 0.01 ~ 0.11 $\pm$  0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소실하였다.

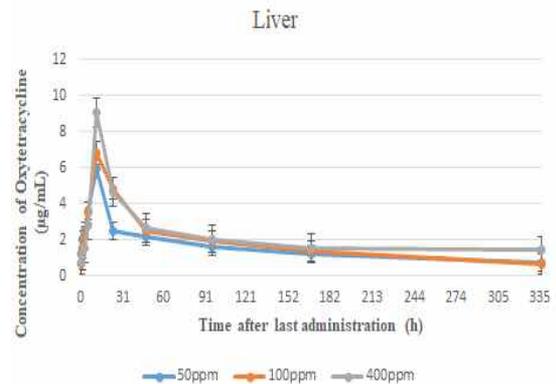
OTC의 약욕 후 시간에 따른 근육 내 농도변화를 [Fig. 3]에 나타내었다. 50, 100 및 400ppm 로 약욕시킨 모든 시험구에서 투약 후 12시간 쯤 0.78 $\pm$ 0.02, 0.95 $\pm$ 0.03, 1.25 $\pm$ 0.03 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 최대 혈중 농도를 나타내었다. 50ppm 시험구는 24시간부터 168시간까지 0.48 $\pm$ 0.01 ~ 0.13 $\pm$ 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 100ppm 시험구는 0.59 $\pm$ 0.04 ~ 0.32 $\pm$ 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소실하였고 그 후 검출한계 이하로 검출되지 않았다.



[Fig. 3] Muscle concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of OTC in *S. schlegelii* after dipping with different doses of 50, 100, and 400ppm for 30min at 15 $^{\circ}\text{C}$  (mean $\pm$ S.E.; n = 8)

400ppm 시험구는 48시간부터 336시간째까지 0.45 $\pm$ 0.01 ~ 0.1  $\pm$  0.02  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소실하였다.

OTC의 약욕 후 시간에 따른 간장 내 농도변화를 [Fig. 4]에 나타내었다. 50, 100 및 400ppm 로 약욕시킨 모든 시험구 에서 투약 후 12시간 쯤 5.95 $\pm$ 0.35, 6.83 $\pm$ 0.43, 9.05 $\pm$ 0.77  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 최대 혈중 농도를 나타내었다. 50ppm 시험구는 24시간부터 336시간까지 2.52 $\pm$ 0.23 ~ 0.74 $\pm$ 0.16, 100ppm 시험구는 4.84 $\pm$ 0.6 ~ 0.69 $\pm$ 0.06, 400ppm 시험구는 4.68 $\pm$ 0.2 ~ 1.42  $\pm$  0.09  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 소실하였다.



[Fig. 4] Liver concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of OTC in *S. schlegelii* after dipping with different doses of 50, 100, and 400ppm for 30min at 15 $^{\circ}\text{C}$  (mean $\pm$ S.E.; n = 8)

### 3. OTC 의 약물동태학적 해석

OTC의 다양한 농도별로 약욕시킨 조피볼락의 혈장, 근육 및 간의 약물동태학적 요인을 분석한 결과, 50, 100, 400ppm 으로 약욕한 어류의 혈장 내 OTC의 농도-시간곡선하 면적(AUC<sub>0-∞</sub>)는 각각 62.50, 132.42, 135.83 $\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$ 로 나타났다. 혈중 최고 농도(C<sub>max</sub>) 및 도달시간(T<sub>max</sub>)는 각각 1.66, 2.45, 2.12시간에서 1.26, 1.47, 1.66 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. 그 외 흡수속도반감기(t<sub>1/2K<sub>a</sub></sub>)는 각각 0.8, 1.20, 0.94시간, 분포반감기(t<sub>1/2 $\alpha$</sub> )는 0.9, 1.4, 1.24시간, 소실반감기(t<sub>1/2 $\beta$</sub> )는 55.21, 70.23, 90.98시간으로 나타났다. 평균체류시간(MRT)은

각각 77.71, 155.24, 128.84시간으로 나타났다 (<Table 3> 참조).

50, 100, 400ppm 으로 약육한 어류의 근육 내 AUC<sub>0-∞</sub>는 각각 80.44, 149.41, 151.06 $\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$  로 나타났다. C<sub>max</sub> 및 T<sub>max</sub>는 각각 11.92, 16.69, 15.25 시간에서 0.69, 0.73, 0.95 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. t<sub>1/2</sub>K<sub>a</sub>는 각각 6.20, 8.01, 8.92시간, t<sub>1/2</sub> $\alpha$ 는 6.52, 8.38, 9.43시간, t<sub>1/2</sub> $\beta$ 는 118.49, 186.65, 265.30시간으로 나타났다. MRT는 158.82, 259.25, 330.27시간으로

나타났다(<Table 4> 참조).

어류의 간 내 AUC<sub>0-∞</sub>는 각각 775.65, 873.27, 1.51 $\times 10^6\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$  로 나타났다. C<sub>max</sub> 및 T<sub>max</sub>는 각각 10, 14.71, 15.3 시간에서 4.85, 5.8, 6.29 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. t<sub>1/2</sub>K<sub>a</sub>는 각각 5.68, 8.66, 8.95 시간, t<sub>1/2</sub> $\alpha$ 는 5.98, 9.12, 10.31시간, t<sub>1/2</sub> $\beta$ 는 247.51, 252.51, 6.93 $\times 10^5$ 시간으로 나타났다. MRT는 328.68, 313.43, 9.99 $\times 10^5$ 시간으로 나타났다(<Table 5> 참조).

<Table 3> Pharmacokinetic parameters for OTC in blood of *S. schlegelii* following dipping with different doses of 50, 100 and 400ppm

Parameters (unit)	50ppm	100ppm	400ppm
t <sub>1/2</sub> K <sub>a</sub> (h)	0.8	1.20	0.94
t <sub>1/2</sub> $\alpha$ (h)	0.9	1.40	1.24
t <sub>1/2</sub> $\beta$ (h)	55.21	70.23	90.98
T <sub>max</sub> (h)	1.66	2.45	2.12
C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	1.26	1.47	1.66
AUC <sub>0-∞</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$ )	62.50	132.42	135.83
MRT (h)	77.71	155.24	128.84

Abbreviations : h, hours; t<sub>1/2</sub>K<sub>a</sub>, half-life of the drug during absorbance; t<sub>1/2</sub> $\alpha$ , half-life of the drug during distribution phase; t<sub>1/2</sub> $\beta$ , half-life of the drug during elimination phase; T<sub>max</sub>, time for maximum concentration; C<sub>max</sub>, maximum tissue concentration; AUC<sub>0-∞</sub>, area under the time-concentration curve; MRT, mean residence time.

<Table 4> Pharmacokinetic parameters for OTC in muscle of *S. schlegelii* following dipping with different doses of 50, 100 and 400ppm

Parameters (unit)	50ppm	100ppm	400ppm
t <sub>1/2</sub> K <sub>a</sub> (h)	6.2	8.01	8.92
t <sub>1/2</sub> $\alpha$ (h)	6.52	8.38	9.43
t <sub>1/2</sub> $\beta$ (h)	118.49	186.65	265.3
T <sub>max</sub> (h)	11.92	16.69	15.25
C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	0.69	0.73	0.95
AUC <sub>0-∞</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$ )	80.44	149.41	151.06
MRT (h)	158.52	259.25	330.27

Abbreviations : h, hours; t<sub>1/2</sub>K<sub>a</sub>, half-life of the drug during absorbance; t<sub>1/2</sub> $\alpha$ , half-life of the drug during distribution phase; t<sub>1/2</sub> $\beta$ , half-life of the drug during elimination phase; T<sub>max</sub>, time for maximum concentration; C<sub>max</sub>, maximum tissue concentration; AUC<sub>0-∞</sub>, area under the time-concentration curve; MRT, mean residence time.

<Table 4> Pharmacokinetic parameters for OTC in muscle of *S. schlegelii* following dipping with different doses of 50, 100 and 400ppm

Parameters (unit)	50ppm	100ppm	400ppm
$t_{1/2}K_a$ (h)	5.68	8.66	8.95
$t_{1/2}\alpha$ (h)	5.98	9.12	10.31
$t_{1/2}\beta$ (h)	247.51	252.51	$6.93 \times 10^5$
$T_{max}$ (h)	10	14.71	15.3
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ )	4.85	5.8	6.29
$AUC_{0-\infty}$ ( $\mu\text{g}/\text{m}\ell \cdot \text{h}$ )	775.65	873.27	$1.51 \times 10^6$
MRT (h)	328.68	313.43	$9.99 \times 10^5$

Abbreviations : h, hours;  $t_{1/2}K_a$ , half-life of the drug during absorbance;  $t_{1/2}\alpha$ , half-life of the drug during distribution phase;  $t_{1/2}\beta$ , half-life of the drug during elimination phase;  $T_{max}$ , time for maximum concentration;  $C_{max}$ , maximum tissue concentration;  $AUC_{0-\infty}$ , area under the time-concentration curve; MRT, mean residence time.

#### IV. 고찰

본 연구는 OTC의 다양한 농도 별로 조피볼락에 약욕 시 혈장 및 각 조직에 머무르는 약물의 잔류와 이를 통한 약물동태학적 해석, 체내 생리학적 변화에 대해 조사하였다.

OTC를 포함한 tetracycline계 항생물질을 검출하는 방법에는 대표적으로 고정상과 샘플의 상호작용에 의해 물질의 용출 시간이 다른 점을 이용한 고성능액체크로마토그래피(HPLC)가 있다. 그 외의 OTC 검출 방법에는 높은 온도와 압력을 이용해 물의 기화점을 상승시켜 고온에서 유지되도록 하는 아임계수추출법(Subcritical Water Extraction)(Wang et al., 2008), 물체에 따른 빛의 흡수 농도차를 이용한 분광광도법(Salinas et al., 1989), 빛을 흡수한 어떤 물질이 기저상태로 되돌아가면서 재방출하는 빛을 이용하는 형광분석법(Goicoechea and Olivieri, 1999), 전자기 복사선을 목적 물질에 조사하여 물질 속에 있는 전자가 전기장과 상호작용을 일으키는 현상을 이용한 근적외선분광법(Sivakesava and Irudayaraj, 2002) 등이 있다. 위의 방법들 중 HPLC 기기 분석은 OTC가 저농도로 존재할 때 특히 유용하게 쓰이는 방법으로, 훨씬 민감하고 정밀한 분석법으로 사용되

고 있다(Freitas et al., 2014). 본 실험에서 사용한 DAD 검출기는 전과장을 검출할 수 있기 때문에 입체적 분석이 가능하고 간편하게 사용할 수 있는 장점이 있다.

Kim et al. (2006)은 조피볼락의 혈청과 근육에 각각 0.5 및 1.0mg/L의 OTC를 spiking하여, 회수율을 조사한 결과 72.12%, 77.27% 및 83.24%, 81.93%로 보고하였다. 본 연구에서 조피볼락의 혈장, 근육 및 간에 1.0mg/L을 첨가 후, 회수율은 평균 99%, 95%, 85%를 나타내었다. 이러한 결과는 Kim et al. (2008)의 연구결과보다 높은 회수율을 보였으며, 이는 샘플 전처리 방법에 따라 회수율의 차이가 있는 것으로 사료된다.

조피볼락의 근육 및 간에서 OTC를 추출할 때 정 등(Jung et al., 2008)의 방법을 약간 수정하여 진행하였는데, 간에 0.1mg/L의 OTC 투여시, 회수율 결과가 80.11%로 근육의 회수율보다 다소 낮게 나왔다. 이는 Food and drug administration (FDA) guideline (2001)에서 설정한 회수율의 80-120%에 포함되고 시료종류와 처리수준에 따라 큰 차이가 없었으므로 만족할만한 수준을 보였다.

현재 약욕법으로 허가된 OTC의 투여농도는 참돔일 경우 어체중kg당 50mg으로(NIFS, 2016), 본

연구에서는 최대 8배의 농도(어체중kg당 400mg) 까지 시험하여 혈장, 근육, 간 내 잔류량을 분석하였다. OTC 투여 초반기에는 50mg/kg 시험구가 근육에서 3시간에서 6시간째 까지, 간에서 투여 직후부터 6시간까지, 100 및 400mg/kg 시험구보다 오히려 높은 혈중 농도를 나타냈으나, 48시간 이후부터 약물 소실이 농도와 상관없이 거의 비슷한 패턴을 나타내었다.

본 연구에서는 OTC 약육시, 혈장은 투여 후 3 시간만에, 근육과 간은 12시간 이내에 혈중최고농도에 도달하였으므로, OTC는 어류의 피부, 입, 및 아가미로 흡수된 뒤, 혈관 내로 빨리 흡수가 되고, 체내 장기 분포는 비교적 느린 편으로 생각된다. 혈장은 약물의 체내 분포에 직접적인 영향을 끼치는 인자이다. 많은 약물들이 혈장 알부민과 약하게 결합하며 결합형태(PB, bound form)와 결합하지 않은 형태(B, free form)가 일정 비율로 평형을 이루며 혈액 내 유리약물의 농도를 조절한다(Kratz, 2008). 따라서 혈액 내 약물의 분포가 다른 조직에 비해 빠르게 흡수되고 소실되는 경향을 보였다.

특히 간의 경우, 약육 후 336시간 쟁가 되었을 때도  $0.6 \sim 1.5 \mu\text{g/ml}$ 의 OTC의 잔류량이 검출되었다. 조피볼락에 대한 OTC 휴약기간은 정해지지 않았으나, 참돔에서 약육시 5일째로 규정되어 있다(NIFS, 2016). 본 연구진은 조피볼락의 OTC 약육시 degree day를 계산하기 위해, Withdrawal-time Calculation Program(Hekman, 2004) 을 활용하여, 조피볼락의 간과 근육에서의 잔류농도를 바탕으로 계산해 본 결과, 28일로 계산되어, 현재 최장 degree day 으로 설정되어 있는 30일에 적합한 방향으로 나타났다고(data not shown).

조피볼락에 대한 OTC의 약물동태학적 연구가 보고되지 않아 본 연구결과와의 직접적 비교는 어려웠다. Jung et al (2008)은 넙치(600 g,  $23 \pm 1.5^\circ\text{C}$ ) 에 OTC 50mg/L, 100mg/L 농도로 약육시 혈장에서의 Tmax는 4.90, 7.08시간, Cmax는 0.4,

$0.32 \mu\text{g/ml}$  로 보고하였다. Rigos et al. (2003) 는 농어(110g, 13.5 및  $22^\circ\text{C}$ ) 에 OTC 40mg/kg BW 농도로 주사시 근육에서의 Tmax는 16 및 1시간, Cmax는  $6.2 \pm 0.4$  및  $13.5 \pm 6.3 \mu\text{g/ml}$ , 간에서의 Tmax는 16 및 32시간, Cmax는  $12.2 \pm 1$  및  $36.4 \pm 6.5 \mu\text{g/ml}$  로 보고하였다. 이들의 결과로 보면 OTC는 혈중으로 빨리 흡수되고, 근육과 간에 다소 느리게 흡수됨을 알 수 있었으며, 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 간은 약물에 극성 작용기를 도입해 신장으로의 배출을 용이하게 해주는 해독작용을 하는 주요 장기이다. 고농도의 약물이 체내로 유입되면 상대적으로 대사 분해속도가 느려져 간 내 약물의 잔류량과 시간이 증가한다.

생체이용률(Bioavailability) 이란 투여한 약물의 총량 중 흡수되어 혈중에 도달하는 약물의 분획 또는 양을 말하며, 약물의 체내 흡수성을 알아볼 수 있는 약동학적 일차 변수이다.

Ueno et al. (2004) 에 따르면, 뱀장어의 경우 50mg/kg 의 OTC를 경구투여시 생체이용률은 0.69% 로 보고하였다. Rigos et al. (2003)은, gilthead sea bream에 75mg/kg 의 OTC를 수용액상태로 위장투여시 생체이용률은 9% 로 보고하였다. 이는 사람의 OTC 흡수율 (60%) 와 비교시 매우 낮은 흡수율을 나타낸다. 본 연구에서는 OTC를 정맥투여하여 시험을 진행하지 않았기 때문에 생체이용률을 구할 수 없었으나, 국내외 연구결과를 바탕으로 OTC를 경구투여하였을 때 실제로 어류 체내에 흡수되는 양은 매우 낮음을 알 수 있었다.

Tetracycline 계는 2가 및 3가 양이온(cation) 과 복합체를 형성하는 특징을 가진다. 이 이온들이 해수나 사료속에 존재할 때, 장내로의 흡수를 크게 방해한다. OTC와 양이온간의 복합체 형성은 해수보다 담수에서는 덜 하다고 알려져 있지만, Ueno et al. (2004) 의 연구에 따르면, 담수어 (뱀장어 및 메기) 와 해수어(방어) 의 OTC 생체이용률에는 별 차이가 없었음을 보고하였다. Treves-Brown (2000) 에 따르면, 이는 초회통과효

과(first pass effect) 때문으로, 체순환이 되기 전에 간이나 위장관에서 이미 1차대사가 되어 약물의 생체이용률을 감소시킴을 보고하였다. 또한 간과 담즙에 상당한 양의 OTC가 검출되었음을 증명하였고(Björklund and Bylund, 1990), 본 연구에서도 간조직이 혈장과 근육에 비해 OTC 잔류량이 많았으므로 OTC의 낮은 생체이용률의 결과에 뒷받침 된다.

하지만 약물동태학적 변수는 같은 어종일지라도 투여방법 및 수온 등 사육조건에 따라 전혀 다른 값을 나타내고, 연구자마다 분석한 기기, 전처리방법이 다르기 때문에 직접적인 비교는 어렵다고 판단된다. 따라서 조피볼락에 대한 OTC 투여방법, 투여횟수 및 사육수온 별 등 세부적인 약물동태학적 연구가 더 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

## References

- Björklund H and Bylund G(1990). Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* 84(3-4), 363~372.  
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90101-R](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90101-R)
- Food and drug administration (FDA), Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation (2001).  
<https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070107.Pdf>
- Freitas A, Barbosa J and Ramos F(2014). Multi-residue and multi-class method for the determination of antibiotics in bovine muscle by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Meat science* 98(1), 58~64. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.003>
- Goicoechea HC and Olivieri AC(1999). Enhanced synchronous spectrofluorometric determination of tetracycline in blood serum by chemometric analysis. Comparison of partial least-squares and hybrid linear analysis calibrations. *Analytical chemistry* 71(19), 4361~4368. 10.1021/ac990374e
- Guardiola FA, Cerezuela R, Meseguer J and Esteban MA(2012). Modulation of the immune parameters and expression of genes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by dietary administration of oxytetracycline. *Aquaculture* 334, 51~57.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.003>
- Guidi LR, Santos FA, Ribeiro ACS, Fernandes C, Silva LH and Gloria MBA(2017). A simple, fast and sensitive screening LC-ESI-MS/MS method for antibiotics in fish. *Talanta* 163, 85~93.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.10.089>
- Hekman P(2004). Withdrawal Time Calculation Program WT1.4. BRD Agency for the Registration of Veterinary Medicinal Products, Wageningen, The Netherlands, 1~8.
- Jung SH, Choi DL, Kim JW, Jo MR, Seo JS and Jee BY(2008). Pharmacokinetics of oxytetracycline in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) by dipping and oral administration. *Journal of Fisheries Pathology* 21(2), 107~117.
- Kim JD, Seo JS, Kim JW, Lee JS, Jung SH, Jee BY, Kim JW and Kim EO(2008). Pharmacokinetics of Oral Administration of Oxytetracycline in Eel, *Anguilla japonica*. *Journal of Fish Pathology* 21(2), 119~127.
- Kim S, Chung HS, Kang SJ, Ha, JY, Jung WC, Heo SH, Shin YW, Kim KW, Kim DG and Lee HJ(2006). Tissue Distribution after dipping administration of Oxytetracycline and Tetracycline in Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), Rockfish (*Sebastes schlegelii*), and Red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Fish Pathology* 19(2), 155~164.
- Kim SY, Kim YC, Jeong SK, Jun LJ, Jin JW and Jeong HD(2014). Increased resistance to Quinolones in *Streptococcus parauberis* and development of a rapid assay for detecting mutations in topoisomerase genes. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 47(3), 247~254.  
 10.5657/KFAS.2014.0247
- Ko CS, Kim DH, Park SH, Moon KM and Heo MS(2016). Effect of Oxytetracycline Injection on the Body of *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Life Science* 26(3), 309~317.  
<http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2016.26.3.309>
- Kratz F(2008). Albumin as a drug carrier: design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. *Journal of Controlled Release* 132(3), 171~183.  
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.05.010>

- Miller RA, Reimschuessel R and Carson MC (2007). Determination of oxytetracycline levels in rainbow trout serum on a biphenyl column using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 852(1-2), 655~658. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.01.040>
- National Institute of Fisheries Science (NIFS) : Catalog of aquaculture drugs in 2016, pp 61~83, NIFS, Ministry of Oceans and Fisheries, 2016. <https://www.nifs.go.kr/adms/index.ad>
- Rigos G, Nengas I, Tyrpenou AE, Alexis M and Troisi GM(2003). Pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) after a single dose. *Aquaculture* 221(1-4), 75~83. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00071-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00071-1)
- Salinas F, Nevado JJB and Espinosa A(1989). Determination of oxytetracycline and doxycycline in pharmaceutical compounds, urine and honey by derivative spectrophotometry. *Analyst* 114(9), 1141~1145. 10.1039/AN9891401141
- Sivakesava S and Irudayaraj J(2002). Rapid determination of tetracycline in milk by FT-MIR and FT-NIR spectroscopy. *Journal of dairy science* 85(3), 487~493. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74099-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74099-X)
- Treves-Brown KM(2000). *Applied fish pharmacology* (Vol 3). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1~299.
- Ueno R, Kinoshita A and Wakabayashi J (2004). Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in eel and its fate in a closed aquatic environment. *Aquaculture* 235(1-4), 53~63. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00449-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00449-6)
- Wang L, Yang H, Zhang C, Mo Y and Lu X (2008). Determination of oxytetracycline, tetracycline and chloramphenicol antibiotics in animal feeds using subcritical water extraction and high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 619(1), 54~58. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.026>
- 
- Received : 15 October, 2018
  - Revised : 01 November, 2018
  - Accepted : 16 November, 2018