

흰쥐에서의 신규 항암제 BR-28702-2의 체내동태

용철순* · 이신웅 · 전철수 · 채희상¹ · 신원섭¹ · 백우현¹

영남대학교 약학대학, ¹보령제약 중앙연구소

Pharmacokinetic Study on BR-28702-2, a New Anticancer Drug, in Rats

Chul-Soon YONG*, Shin Woong LEE, Chul-Soo JUN, Hee Sang CHAI¹,
Won Sup SHIN¹, Woo Hyun PAIK¹

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyongsan 712-749, Korea Boryung Pharmaceutical Central Research Laboratories, 689 Kumjeong-Dong, Kunpo-Si, Kyunggi-Do, Korea

(Received March 8, 1995; accepted April 4, 1995)

Abstract—The purpose of this study was to determine pharmacokinetic parameters of BR-28702-2, a new antineoplastic agent which is the conjugate of nucleotide and phospholipid, and to compare them with those of ara-C. Male rats were cannulated in the left femoral vein and received a single i.v. bolus dose of either BR-28702-2 or ara-C. BR-28702-2 was also administered i.p. and plasma samples were analyzed by reversed-phase HPLC. The $t_{1/2(\beta)}$ of ara-C(1.22 hr.) was significantly smaller than that of BR-28702-2(4.420 hr.). The absolute bioavailability of BR-28702-2 after i.p. injection was 1.125%. This lower bioavailability, together with previous reports that marked antineoplastic activity was observed when given i.p., indicates that BR-28702-2 would act as a depot system to release active moieties. Further works, therefore, need to be done to characterize active metabolites.

Keywords □ 1-β-D-arabinofuranosylcytosine-5-diphosphate-rac-1-O-hexadecyl-2-O-palmitoyl glycerol(ara-CDP-DL-PCA), Cytosine arabinoside(ara-C), nucleotide, phospholipid, antineoplastic activity, pharmacokinetics

BR-28702-2은 항암 및 면역조절작용을 지닌 인지질 부분과 항암작용을 지닌 신규 뉴클레오사이드의 접합체로(Hong 등, 1986) 화학명은 1-β-D-arabinofuranosylcytosine-5-diphosphate-rac-1-O-hexadecyl-2-O-palmitoyl glycerol(ara-CDP-DL-PCA)이며 구조식은 Fig. 1과 같다.

Cytosine arabinoside(ara-C, 1-β-D-arabinofuranosylcytosine)는 *in vivo*에서 deoxycytidine kinase에 의해 cytosine arabinoside-5'-monophosphate (ara-CMP)를 거쳐 활성을 나타내는 5'-triphosphate(ara-CTP)로 전환된 후 DNA 합성을 저해하므로, 포유동물의 조직에 존재하는 kinase의 활성정도는 ara-C의 유효성을 감소시키는 인자로 작용할 수 있다(Raetz 등, 1972; Coleman 등, 1975). 그러나 BR-28702-2의 경우 ara-CMP를 직접 방출하므로 kinase의 활성에 영향을 받지 않는다(Turcotte 등, 1980). 항암작용이 우수한 이 신규 물질은 암세포 내부의 각각

다른 표적부위인 nucleic acid 합성과 생체막에 작용하는 두 종류의 세포독성 물질로 구성되어 있으며(Hong 등, 1990), 그 자체가 서방성 프로드럭의 역할을 하면서 표적세포에 도달하고 세포내에서 효소작용에 의해, 상가 작용 혹은 상승작용을 나타낼 것으로 예측되어 합성되었다(Hong 등, 1991).

본 연구는 BR-28702-2의 유효성 및 안전성과 밀접한

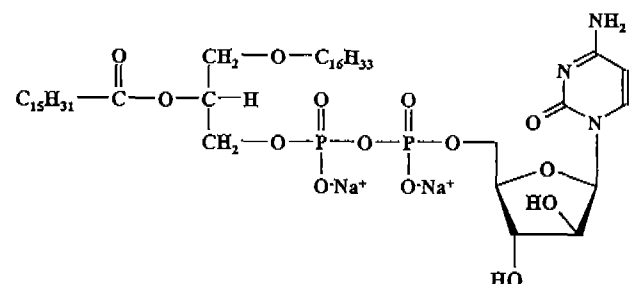


Fig. 1. Chemical structure of BR-28702-2

* To whom correspondence should be addressed.

관계를 갖고 있으며, 가장 적합한 투여경로를 결정하거나 최적의 제형을 개발하며 나아가 임상시험에 이용하기 위해 필요한, 흰쥐에서의 체내동태 특성을 연구하였으며, 또한 기존의 시판 ara-C의 혈장농도-시간의 변화도 함께 연구하여 BR-28702-2의 체내동태 특성과 비교 분석하였다.

실험방법

실험동물

Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐(7~8주령, 체중 250 g 정도)를 해운에서 구입하여 사용하였고 고품사료(삼양사료) 및 물을 충분히 공급하였다.

사용약물

BR-28702-2, ara-C 및 Cytosine는 보령제약에서 공급받아 사용하였으며, tetrahydrouridine는 Calbiochem-Novabiochem Corp.(La Jolla, CA, USA)에서, uracil은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 이외의 모든 시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

투여용액의 조제

정맥 및 복강주사용 BR-28702-2의 투여용액을 조제하기 위해 주사용증류수에 sonication시킬 경우 micellar disks(지름 0.01~0.04 μm)로 존재하며, 3~4°C에서 보관할 경우 화학적으로 안정하였다(Hong 등, 1987). BR-28702-2를 투여하기 위해 주사용 증류수에 약물을 분산시킨 후(20 mg/ml) 약 20분 동안 60°C에서 sonication시킨 후 0.22 μm membrane filter를 통과시켜 냉장(3~4°C)에 보관하며 사용하였다.

약물투여 및 검체 채취

복강주사 : 24시간 절식시킨 흰쥐를 에틸로 가볍게 마취시킨 후 왼쪽 대퇴동맥에 폴리에틸렌 튜브(PE 50, Clay Adams사)를 삽입하였다. 마취가 완전히 회복된 후에 BR-28702-2를 주사용증류수에 용해하여 흰쥐 kg당 1g을 복강내로 투여하였다. 약물투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 6.5, 8.5, 11, 13.5시간에서 대퇴부동맥으로부터 약 300 μl 의 혈액을 취하고, 매회 채혈 후 튜브내에 남아 있는 혈액은 100 units/ml 헤파린을 함유한 생리식염수를 주입하여 혈관내로 이입시켰다. 채취한 혈액은 즉시 원심분리하여(10,000 rpm, 30 sec) 혈장을 분리하였다. 혈장 100 μl 를 취한 후 내부표준물질로 Cytosine(0.5 mg/ml)를 가하고 혈장 단백질을 침전시키기 위해 200 μl 의 에탄올을 넣었다. 에탄올을 가하고 혼화한 다음 5,000 rpm에서 3분간 원심분리시킨 후 상정액을 HPLC로 정량하였다. 위의 모든 조작은 4°C에서 시행하였다.

정맥주사 : BR-28702-2를 흰쥐 체중 300 g당 20 mg을 i.v. bolus로 투여하였다. 혈액은 약물투여 후 12, 25, 40분 및 1, 1.7, 2.5, 4, 7, 10.3시간에서 약 300 μl 를 채취하였다. Ara-C는 kg당 150 mg을 i.v. bolus로 투여하였으며, 혈

액은 약물투여 후 1, 5, 10, 20, 30, 90, 120, 240, 및 300분에서 약 300 μl 를 채취한 다음 deaminase 저해제(Hanze 등, 1967)인 tetrahydrouridine(50 μg)을 가한 후 즉시 얼음에 저장하였다. 채취한 혈액을 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장 100 μl 를 얻은 다음 내부표준물질로 uracil(1 mg/ml)을 가하고 에탄올을 가하여 혼화한 후 얼음 위에서 10분간 방치한 후 10,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 침전된 단백질을 제거한 상정액을 0.22 μm membrane filter로 여과한 후 HPLC로 정량하였다.

노 및 담즙 채취

약물을 투여하기 위해 흰쥐의 좌측 대퇴부 정맥에 폴리에틸렌 튜브(PE 50, Clay Adams, NJ, USA)를 삽입하여 체중 300 g당 20 mg의 BR-28702-2를 투여하고 노 및 담즙 채취를 위해 랫트의 수노관과 총담관에 삽입한 폴리에틸렌 튜브(PE 10)를 통하여 각각 0.5, 1, 2, 3, 4시간과 1, 2, 3, 4, 5시간에서 연속적으로 채취하였다. 채취한 담즙액과 노는 10,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 대사체 확인 실험때 까지 -70°C에서 냉동 보관하였다.

노 및 담즙의 TLC

Kieselgel 60 F254 TLC plate(Merck Com., USA)의 규격은 200 mm×200 mm, 두께 25 mm이었으며, 전개액은 chloroform:methanol:acetic acid:water=25:15:4:2이었다(Hong 등, 1990). BR-28702-2를 정맥주사 후 일정간격으로 채취한 노 및 담즙과 증류수에 녹인 BR-28702-2 표준품, ara-C 표준품과 blank 노, blank 담즙과 함께 전개하였다. 전개가 끝난후 UV lamp 하에서 관찰하고, 발색시약으로 10% 황산을 분무시킨 후 hot plate에서 서서히 가온하며 발색시켰다.

혈장중 BR-28702-2의 정량

BR-28702-2의 정량을 위해 Sinkule 등(1983)과 Liversidge 등(1983)의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. BR-28702-2를 탈이온수에 sonication시켜 4 mg/ml의 stock solution을 만들었다. 이를 단계적으로 희석하여 1.5 ml PE tube에 25 μl 씩 각각 넣고 질소가스하에서 각 sample 용액의 용매를 날려보낸 후 -70°C에 미리 냉동보관하였던 blank plasma를 상온에서 완전히 녹여 각각의 샘플에 100 μl 씩 넣은 다음 잘 섞이도록 2분간 혼화하는 방법으로 800, 400, 200, 100, 50, 25, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 검량선용 sample 및 blank plasma sample을 제조하였다. 여기에 에탄올 200 μl 를 가해 1분간 혼화하여 단백질을 침전시키고 5분간 원심분리(10,000 rpm)한 후 상정액을 취하였다. 이 상정액 20 μl 를 아래와 같은 조건하에서 정량하여 검량선을 작성하였다. 다음, BR-28702-2를 투여한 흰쥐로부터 각 시간별로 채취한 혈장 100 μl 에 에탄올 200 μl 를 가해 1분간 혼화하여 제단백하고 5분간 원심분리(10,000 rpm)한 후 상정액 20 μl 를 취하여 다음과 같이 정량하였다. Pharmacia HPLC system을 사용하였고 Shim-pack CLC-C₈ reverse phase column

(3.9 mm×250 mm, Shimadzu, Japan)으로 분리하였다. 1.2 ml/min의 유속으로 CH₃OH:Pot.phosphate buffer (90:10 v/v, pH 6.0, 0.01 M)를 사용하였으며, UV spectrophotometer로 254 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 내부표준물질로 Cytosol을 사용하였다.

혈장중 ara-C의 정량

약물을 투여하지 않은 흰쥐의 혈액으로부터 혈장을 얻고 ara-C 5 mg을 탈이온수 1 ml에 녹여 stock solution을 만든다음 단계적으로 희석하여 tetrahydrouridine (50 µg)을 함유한 300 µl의 혈장에 30 µl씩 가하고 내부표준물질로 uracil(1 mg/ml) 20 µl를 가하였다. 여기에 메탄올 900 µl를 가하여 잘 섞은 후 얼음위에서 10분간 방치하여 단백질을 침전시키고, 10,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 상정액을 취하여 0.22 µm membrane filter를 통해 여과하였다. 여액 20 µl를 Zimmerman 등 (1990)의 방법을 변형한 다음과 같은 조건하에서 정량하고 각 농도에 있어서의 내부표준물질과 ara-C의 피크 비율로부터 검량선을 작성하였다. Tosho HPLC system

을 사용하였고 µ-BondaPak C₁₈ reverse phase column (3.9 mm×300 mm Waters Associates, Boston, MA)으로 분리하였다. 1 ml/min의 유속으로 CH₃OH:Pot.phosphate buffer(10:90 v/v, pH 7.0, 0.01 M)를 사용하였으며, UV spectrophotometer로 280 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

실험결과

HPLC 정량분석 방법

혈장중 분리된 ara-C와 BR-28702-2의 크로마토그램을 Fig. 2와 Fig. 3에 각각 나타내었으며, ara-C와 BR-28702-2 및 내부표준물질을 방해하는 peak는 관찰되지 않았다. 전술한 방법과 조건에서 검량선을 작성하였을 때 ara-C는 20~1,000 µg/ml, BR-28702-2는 10~800 µg/ml의 농도 범위에서 직선관계가 성립되었으며, correlation coefficient는 각각 0.9959 및 0.9969를 나타내었다.

흰쥐 혈장중 약물농도 추이

BR-28702-2: 흰쥐의 정맥으로 BR-28702-2를 투여한 후의 혈장 농도 추이를 Fig. 4에 나타내었으며, 비선형 최소자승 회귀분석 프로그램인 RSTRIP(Ramson, 1987)으로 stripping하여 초기값을 구한 다음, 가중치를 2(혈장중 약물농도 제곱의 역수(Boxenbaum 등, 1974))로 두어 수식1에 대해 curve fitting하였으며, 이로부터 얻은 약물속도론적 파라메타를 Table I에 나타내었다.

$$C(t) = C_1e^{-\alpha t} + C_2e^{-\beta t} \tag{1}$$

흰쥐에 정맥투여하였을 때 혈장중 반감기는 분포상에 있어서는 약 20분정도이었고, 소실상의 반감기는 4.42시

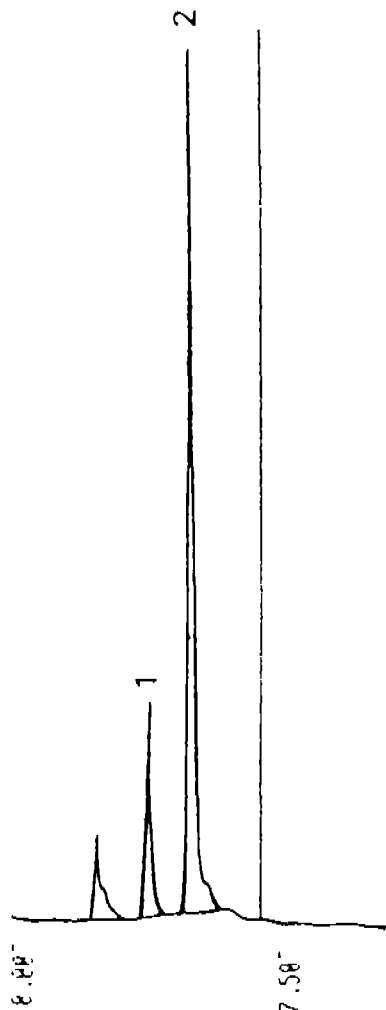


Fig. 2. HPLC chromatogram of uracil(1) and ara-C(2) in rat plasma

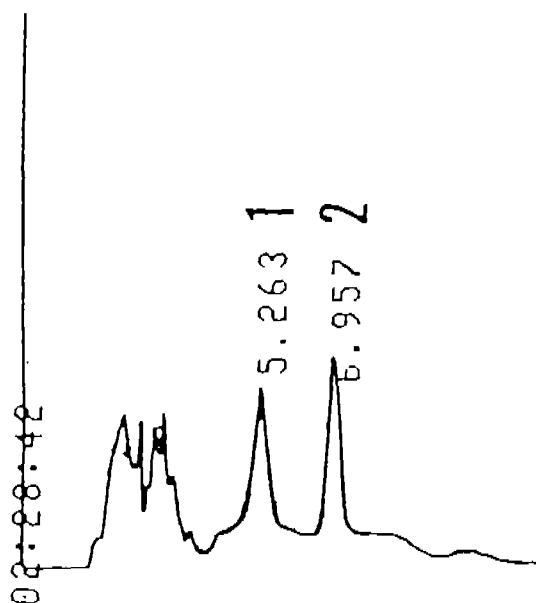


Fig. 3. HPLC chromatogram of BR-28702-2(1) and Cytosol(2) in rat plasma

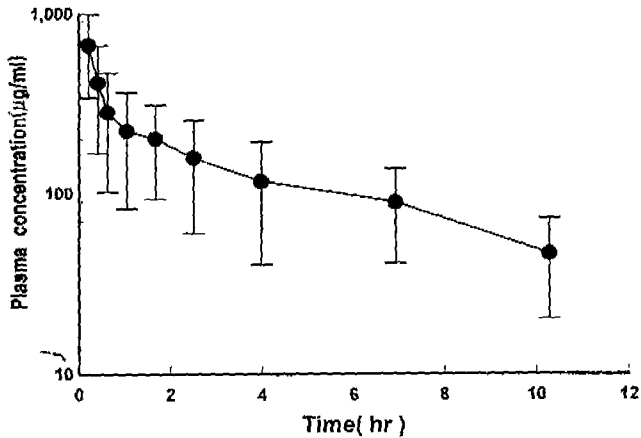


Fig. 4. Mean plasma concentration-time profile of BR-28702-2 after iv bolus administration of 20 mg/300 g in rats.

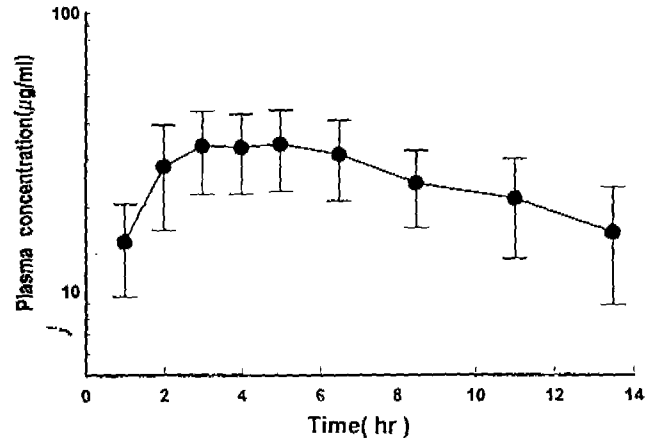


Fig. 5. Mean plasma concentration-time profile of BR-28702-2 after intraperitoneal administration of 1 g/kg in rats.

Table I. Mean pharmacokinetic parameters calculated following iv administration of BR-28702-2 (20 mg/300 g) to male rats

Parameter	Unit	Value
$t_{1/2(\alpha)}$	hr	0.342 ± 0.191
$t_{1/2(\beta)}$	hr	4.420 ± 0.905
AUC	$\mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$	2601 ± 652.38
Cl_t	$\text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	25.631 ± 6.429
$V_{d(\beta)}$	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.1635 ± 0.0435
V_{ss}	$\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.1458 ± 0.0379
MRT	hr	5.689 ± 1.968
C_1	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	641.70 ± 264.41
C_2	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	360.12 ± 81.84
k_{10}	hr^{-1}	1.241 ± 0.538
k_{12}	hr^{-1}	0.687 ± 0.273
k_{21}	hr^{-1}	0.256 ± 0.125

Values are expressed as means ± SD (n=8). $t_{1/2(\alpha)}$; half-life at α -phase, $t_{1/2(\beta)}$; half-life at β -phase, AUC; area under the curve from time 0 to infinity, Cl_t ; total clearance, $V_{d(\beta)}$; volume of distribution at β -phase, V_{ss} ; volume of distribution at steady state, MRT; mean residence time, k_{10} , k_{12} and k_{21} ; microconstants.

Table II. Mean pharmacokinetic parameters calculated following iv administration of ara-C (150 mg/kg) to male rats

Parameter	Unit	Value
$t_{1/2(\alpha)}$	min	5.38 ± 2.24
$t_{1/2(\beta)}$	min	73.20 ± 32.35
MRT	min	94.01 ± 37.43
C_1	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	220.59 ± 67.54
C_2	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	120.54 ± 48.25

Values are expressed as means ± SD (n=3). $t_{1/2(\alpha)}$; half-life at α -phase, $t_{1/2(\beta)}$; half-life at β -phase, MRT; mean residence time

간이었다. BR-28702-2의 분포용적($V_{d(\beta)}$)은 $0.1635 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 이었고 전신클리어런스는 $25.63 \text{ ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 이었다.

Table III. Mean pharmacokinetic parameters calculated following ip administration of BR-28702-2 (1 g/kg) to male rats

Parameter	Unit	Value
AUC	$\mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$	439.3 ± 254.0
MRT	hr	8.968 ± 2.583
C_{max}	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	33.19 ± 11.86
t_{max}	hr	4.38 ± 1.60
k_a	hr^{-1}	0.249 ± 0.062
k	hr^{-1}	0.211 ± 0.081
C_1	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	641.1 ± 490.5
C_2	$\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	635.3 ± 492.8

Values are expressed as means ± SD (n=3). AUC; area under the curve from time 0 to infinity, MRT; mean residence time, C_{max} ; maximum concentration, t_{max} ; time taken to reach C_{max} , k_a ; absorption rate constant, k ; elimination rate constant

BR-28702-2의 체내동태와 비교하기 위해 ara-C의 약물속도론적 파라메타를 정맥주사하여 구하였으며, ara-C의 체내동태는 2-컴파트먼트로 해석되었으며 약물속도론적 파라메타를 Table II에 나타냈다. 초기에 5분 정도의 짧은 반감기로 신속히 분포가 일어난 후 73분 정도의 반감기를 갖고 서서히 소실되는 양상을 나타내었다.

BR-28702-2의 혈장중 체내동태 역시 2-컴파트먼트 모델로 설명할 수 있었으며 BR-28702-2의 $t_{1/2(\beta)}$ 가 ara-C의 $t_{1/2(\beta)}$ 보다 현저히 증가하였다(4.42 hr vs. 1.22 hr). 흰쥐의 복강내에 BR-28702-2(1 g/kg) 투여 후의 혈장중 농도-시간 데이터를 RSTRIP을 이용하여 전술한 방법으로 수식2에 대해 curve fitting시킨 곡선과 약물속도론적 파라메타를 각각 Fig. 5와 Table III에 나타내었다.

$$C(t) = C_1 e^{-kt} - C_2 e^{-k_a t} \quad (2)$$

BR-28702-2의 소실상의 반감기는 3.28시간이었고, AUC는 $439.3 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ 이었다. 최고혈장농도에 도달하는 시간은 약 4.4시간이었고 그 때의 농도는 $33.19 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 이었다. 흡수속도정수는 0.2493 hr^{-1} 이었다.

BR-28702-2의 정맥주사시 AUC는 $2601 \mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{m}^{-1}$ 이었고 복강주사시 $439.3 \mu\text{g}\cdot\text{hr}\cdot\text{m}^{-1}$ 을 나타냈다. 이러한 결과로부터 복강주사시의 생체이용률을 다음 식에서 구하였으며 1.125%를 나타내었다.

$$\text{Bioavailability} = \frac{\text{AUC}_{\text{IP}}/\text{Dose}_{\text{IP}}}{\text{AUC}_{\text{IV}}/\text{Dose}_{\text{IV}}}$$

노 및 담즙의 TLC

BR-28702-2를 정맥 투여한 후 시간별로 채취한 뇨를 TLC로 전개한 후 발색시킨 결과, BR-28702-2 standard (Rf=0.36)와 ara-C(Rf=0.31) 표준품의 적색 반점은 blank와 4시간까지 채취한 뇨에서 발견할 수 없었다. 또한 BR-28702-2를 정맥 투여한 후 시간별로 채취한 담즙을 TLC로 전개한 후 발색시킨 경우도 BR-28702-2 표준품(Rf=0.37)과 ara-C(Rf=0.35) 표준품의 적색 반점은 blank와 5시간까지 채취한 담즙에서 발견할 수 없었다. Blank와 2시간까지 채취한 담즙에서 보이지 않던 옅은 푸른색 반점(Rf=0.11)이 3시간 이후부터 채취한 담즙에서 나타났다.

고 찰

항암 및 면역조절작용을 갖는 BR-28702-2는 구조적으로 소수성과 친수성 부분을 동시에 갖고 있어 현탁액을 sonication시킬 경우 ara-CDP-L-dipalmitin(MacCoss 등, 1982)의 경우처럼 micelle을 형성하므로 생체내 환경에서 물리적으로 독특한 상태로 존재하여 활성을 나타낼 수 있다. 이러한 상태로 존재할 경우 ara-C나 phospholipid 각 분자의 화학적 특성으로는 설명할 수 없는 생물물리학적 특성과 생체내 분포를 나타낼 수 있다. 그러므로 liponucleotide는 세포배양에서보다는 *in vivo*에서 ara-C보다 큰 활성을 보여준다(Turcotte 등, 1980). 이러한 관점에서 ara-C의 소실 반감기가 1.22시간이었으나 BR-28702-2의 경우 4.42 시간으로 현저히 증가한 이유중의 하나를 BR-28702-2가 Yang 등(Yang 등, 1982)이 보고한 바와같이 혈액중에서 일종의 micelle 상으로 존재하여 체외배설이 지연되는 것으로 설명할 수 있다. 즉 새로운 nucleotide의 물리적 특성과 약동력학 및 항암작용이 밀접한 관계가 있음을 보여준다(Yang 등, 1982). 또한 세포 내에서 효소에 의해 뉴클레오시드 혹은 뉴클레오타이드와 에텔인지질(ether lipid)로 분리되어 만일 그 세포가 인지질에 특정한 결합부위를 갖고 있을 경우 내성세포에 특히 효과가 있을 수 있고, 각각의 물질을 투여했을 때와 같은 상승효과를 기대할 수 있다. 즉, 세포내에서의 nucleic acid 합성은 ara-C에 의해, 생체막은 thioether lipid에 의해 저해된다. 지용성의 1-O-alkyl phospholipid 운반체에 결합된 복합체의 pyrophosphate 결합이 끊어지는 경우 운반체 자체도 항암작용을 나타낼 수 있다. 자연에 존재하는 1-octadecyl-2-acetyl-sn-gly-

cero-phosphocholine (platelet activating factor)인 ether lipid나 thioether lipid 동족체의 항암작용이 *in vivo* 및 *in vitro*에서 밝혀졌다(Berdel 등, 1983) 대부분의 악세포는 정상세포에 비해 높은 etherlipid 농도를 나타내며, 이것은 1-O-alkyl cleavage enzymes이 암세포에는 특이적으로 결핍되어 있기 때문이며(Pfleger 등, 1967; Sood-sma 등, 1970) 결과적으로 thioether-lysophospholipid 동족체는 암세포에 축적된 후 암세포의 인지질대사를 교란시키고(Modolle 등, 1979) 생체막을 파괴하여 항암작용을 나타낸다(Berdel 등, 1988). 이러한 관점에서 alkyl-lysophospholipid가 제1상 임상실험에서 효과가 있음이 밝혀졌다(Berdel 등, 1982; Berdel 등, 1983). 또한 liponucleoside 동족체는 생체막에 존재하는 phosphoglyceride head-group의 조성을 변화시켜(Raetz 등, 1977) 세포성장을 방해한다(Hawrot 등, 1975; Raetz 등, 1976; Glaser 등, 1974). BR-28702-2는 이러한 접합체의 운반에 관여하는 혈장중의 지단백질과 신속하게 결합하여(MacCoss 등, 1983) 표적세포에 도달한 후 micelle 형성에 의해 세포막을 쉽게 통과하여(Cohen 등, 1975) 세포내로 용이하게 이입(Schliselfeld 등, 1987)된 후 강력하고 효과적인 항암작용을 나타낼 수 있는 장점이 있다. 또한 BR-28702-2는 liponucleotide, glycerophospholipid 및 지질의 세포내 대사(Paterson 등, 1977; Hokin-Neaverson 등, 1977; Shearer 등, 1977; Pizer 등, 1974)와 지질 생합성에 영향을 (Turcotte 등, 1980; Raetz 등, 1977) 미치고, phosphate 결합이 가수분해된 후 서로 다른 작용양식을 지닌 ether-lipid와 ara-C로 분리될 수 있다(Berdel 등, 1988). BR-28702-2의 특성으로 지방조직에 축적(Wechter 등, 1975; Aoshima 등, 1976)되거나 면역억제 작용을 나타내는 것이 보고되었다. 그러나 *in vivo*에서 치료효과를 나타내는 정확한 작용기전은 아직 밝혀져 있지 않다. BR-28702-2가 ara-C보다 활성이 우수한 또 다른 이유는 혈중에서의 ara-C가 cytidine-deoxycytidine deaminase에 의해 신속하게 탈아민화되어 불활성인 uracil arabinoside(ara-U)로 대사되지만 ara-CDP-L-dipalmitin(MacCoss 등, 1982)과 그 유사체 등은, 접합체 형태로 남아있을 동안은 ara-C의 NH₂기가 cytidine deaminase 혹은 adenosine deminase에 의한 탈아미노화에 안정성을 나타내어(Matsushita 등, 1981) 결과적으로 세포내 nucleoside 5'-phosphate 양이 증가하기 때문이다(Raetz 등, 1977; Raetz 등, 1972).

약물대사연구를 위한 전단계로 BR-28702-2를 정맥주사로 투여한 후 얻은 뇨와 담즙을 TLC로 확인한 결과 뇨나 담즙으로 배설되는 유의한 농도 수준의 BR-28702-2가 없는 것으로 사료되며, 보다 나은 최적의 분석조건이나, 방사성 동위원소 표지화합물을 이용한 BR-28702-2 대사연구를 통해 배설된 BR-28702-2의 발견 가능성은 배제할 수 없지만 그 양은 매우 적을 것으로 기대된다. 이러한 결과를 차후 약물대사연구를 위한 기본 자료로

이용할 수 있으며, 열은 푸른색 반점(Rf=0.11)에 대응하는 대사체를 구명하는 것이 대사과정에 관한 소견을 얻기 위해 선행되어야 할 것이다.

Raetz 등(Raetz 등, 1977)은 ara-CDP-L-dipalmitin가 혈장단백, 세포표면 및 plasma membrane에 대해 친화성을 갖고 있으며 생체막에서 가수분해되어 ara-CMP와 phosphatidylinositol 혹은 인지질을 방출한다고 보고하였으며, ara-CMP는 생체막에 결합해 있는 5'-nucleotidase나 다른 phosphatase에 의해 ara-C로 다시 전환될 수 있다(Hong 등, 1988). 즉, BR-28702-2의 약리작용이 명확히 규명되어 있지는 않으나, L1210 leukemic mice에 대한 효과는 주로 ara-C에 기인하는 것으로(Rustum 등, 1988), 복강주사시 1.125%의 낮은 생체이용률은 복강에서 점합체상태로는 흡수가 좋지 않지만 낮은 생체이용률에서도 BR-28702-2와 같은 점합체가 투여계획과 무관하게 ara-C보다 우수한 항암효과를 나타낼 수 있는 것은(Hong 등, 1988B) 일종의 저장형태인 BR-28702-2이 ara-C의 지용성 프로드럭으로서 지속적으로 활성물질을 서서히 방출하며(Hong 등, 1991), 세포내에 지속적으로 존재할 수 있기 때문이다. 즉 BR-28702-2은 ara-C에 비해 현저하게 증가된 소실상의 생체반감기 등, ara-C와 상이한 pharmacokinetic profile을 나타내었다. 따라서 BR-28702-2를 효과적인 항암제로 개발하기 위해서는 활성물질의 체내동태에 대한 연구와 다회 투여시의 체내동태 및 용량의존적 체내동태 등에 관한 보다 상세한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 말씀

이 연구는 1993년도 보건사회부 신약개발연구지원에 의해 이루어졌으며 이에 진심으로 감사드립니다.

참고문헌

- Aoshima, M., Tsukagoshi, S., Sakurai, Y., Oh-ishi, J., Ishida, T. and Kobayashi, H. (1976). Antitumor activities of newly synthesized N⁴-acyl-1-β-D-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Res.* **36**, 2726-2732.
- Berdel, W. E., Fromm, M., Fink, U., Pahlke, W., Bicker, U., Reichert, A and Rastetter, J. (1983). Cytotoxicity of thioetherlyosphospholipids in leukemias and tumors of human origin. *Cancer Res.* **43**, 5538-5543.
- Berdel, W. E., Danhauser, S., Hong, C. I., Schick, H. D., Reichert, A., Busch, R., Rastetter, J. and Vogler, W. R. (1988). Influence of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine conjugates of lipids on the growth and metastasis of Lewis lung carcinoma, *Cancer Res.* **48**, 826-829.
- Boxenbaum, H. G., Riegelman, S. and Elashoff, R. M. (1974). Statistical estimation in pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **2**, 123-148.
- Cohen, S. S. (1975). Metabolism of 9-β-D-arabinofuranosyladenine by mouse fibroblasts. *Biochem. Pharmacol.* **24**, 1929-1932.
- Coleman, C. N., Johns, D. G. and Chabner, B. A. (1975). Deoxycytidine kinase. Properties of the enzyme from human leukemic granulocytes. *Blood* **46**, 791-803.
- Glaser, M., Ferguson, K. and Vagelos, P. R. (1974). Manipulation of the Phospholipid composition of tissue culture cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **71**, 4072-4076.
- Hanze, A. R. (1967). Nucleic acids. IV. The catalytic reduction of pyrimidine nucleosides(human liver deminase inhibitors). *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 6270-6275.
- Hawrot, E. and Kennedy, E. P. (1975). Biogenesis of membrane lipids: Mutants of Escherichia coli with temperature-sensitive phosphatidylserine decarboxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 1112-1116.
- Hokin-Neaverson, M., Sadeghian, K., Harris, D. W. and Merrin, J. S. (1977). Synthesis of CDP-diglyceride from phosphatidylinositol and CMP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **78**, 364-371.
- Hong, C. I., Buchheit, D. J., Kiristis, A. J., Nechaev, A., and West, C. R. (1985). Antitumor activity of ara-C conjugates of phospholipids against intracerebrally inoculated mouse leukemia. *Recent Adv. Chemother., Proc. Int. Congr. Chemother., 14th Anticancer Sect.* **1**, 365-366.
- Hong, C. I., Kiristis, A. J., Buchheit, D. J., Nechaev, A., and West, C. R. (1986A). 1-β-D-Arabinofuranosylcytosine conjugates of thioether phospholipids as a new class of potential antitumor drug. *Cancer Drug Delivery* **3**, 101-113.
- Hong, C. I., An, S.-H., Buchheit, D. J., Nechaev, A., Kiristis, A. J., West, C. R., and Berdel, W. E. (1986B). Nucleoside conjugates. 7. Synthesis and antitumor activity of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine conjugates of ether lipids. *J. Med. Chem.* **29**, 2038-2044.
- Hong, C. I., An, S.-H., Schliselfeld, L., Buchheit, D. J., Nechaev, A., Kiristis, A. J., and West, C. R. (1988). Nucleoside conjugates. 10. Synthesis and antitumor activity of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine 5'-diphosphate-1,2-dipalmitins. *J. Med. Chem.* **31**, 1793-1798.
- Hong, C. I., Bernacki, R. J., Hui, S.-W., Rustum, Y. and West, C. R. (1990). Formulation, stability, and antitumor activity of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine conjugate of thioether phospholipid. *Cancer Res.* **50**, 4401-4406.
- Hong, C. I., Kiristis, A. J., Nechaev, A., Buchheit, D. J. and West, C. R. (1990). Nucleoside conjugates. II. Synthesis and antitumor activity of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine and cytidine conjugates of thioether lipids. *J. Med. Chem.* **33**, 1380-1386.
- Hong, C. I., Wester, C. R., Bernacki, R. J., Tebbi, C. K. and Berdel, W. E. (1991). 1-β-D-arabinofuranosylcytosine conjugate of ether and thioether phospholipids. A new class of ara-C prodrug with improved antitumor activity. *Lipids* **26**, 1437-1444.
- Liversidge, G. G., Nishihata, T. and Higuchi, T. (1983). Simultaneous analysis of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine, 1-β-D-arabinofuranosyluracil and sodium salicylate in biological samples by high-performance liquid chromatography. *J. Chromato.* **276**, 375-383.
- MacCoss, M., Edwards, J. J., Seed, T. M., Spragg, S. P. (1982).

- Phospholipid-nucleoside conjugates, The aggregational characteristics and morphological aspects of selected 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5'-diphosphate-L-1,2-diacylglycerols. *Biochim. Biophys. Acta.* **719**, 544-555.
- MacCoss, M., Edwards, J. J., Logocki, P. and Rahman, Y.-E. (1983). Phospholipid-nucleoside conjugates. 5. The interaction of selected 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5'-diphosphate-L-1,2-diacylglycerols with serum lipoproteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **116**, 368-374.
- Matsushita, T., Ryu, E. K., Hong, C. I., and MacCoss, M. (1981). Phospholipid derivatives of nucleoside analogs as prodrugs with enhanced catabolic stability. *Cancer Res.* **41**, 2707-2713.
- Modollel, M., Andreesen, R., Pahlke, W., Brugger, U. and Munder, P. G. (1979). Disturbance of phospholipid metabolism during the selective destruction of tumor cells induced by alkyl-lysophospholipids. *Cancer Res.* **39**, 4681-4686.
- Paterson, Alan R. P. and Lauzon, Gilles J. (1977). Binding of the nucleoside transport inhibitor nitrobenzylthioinosine to HeLa cells. *Mol. Pharmacol.* **13**, 883-891.
- Pfleger, R. C., Piantadosi, C. and Snyder, F. (1967). The biocleavage of isomeric glyceryl ethers by soluble liver enzymes in a variety of species. *Biochim. Biophys. Acta.* **144**, 633-648.
- Pizer, Lewis I., Merlie, John P. and Ponce De Leon, Manuel. (1974). Metabolic consequences of limited phospholipid synthesis in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **249**, 3212-3224.
- Ramson, M. L. (1987). *RSTRIP-polyexponential curve stripping/least square parameter estimation*, user handbook, Micromath. Inc., Salt Lake City, Utha.
- Raetz, C. R. H., Hirshberg, C. B., Dowhan, W., Wickner, W. T. and Kennedy, E. P. (1972). Membrane-bound pyrophosphate in *Escherichia coli* catalyzing the hydrolysis of cytidine diphosphate-diglyceride. *J. Biol. Chem.* **247**, 2245-2247.
- Raetz, C. R. H. (1976). Phosphatidylserine synthetase mutants of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **251**, 3242-3249.
- Raetz, C. R. H., Chu, M. Y., Srivastava, S. P. and Turcotte, J. G. (1977). A phospholipid derivative of cytosine arabinoside and its conversion to phosphatidylinositol by animal tissue. *Science* **196**, 303-305.
- Shearer, W. T. and Crouch, J. A. (1977). Humoral immunostimulation. VIII. Increased incorporation of phosphate and turn over of phosphatidylinositol in cells treated with antibody. *J. Immunol.* **119**, 911-917.
- Sinkule, J. A. and Evans, W. E. (1983). High-performance liquid chromatographic assay for cytosine arabinoside, uracil arabinoside and some related nucleosides. *J. Chromato.* **274**, 87-93.
- Snyder, F. and Wood, R. (1969). Alkyl and alkylenyl ethers of glycerol in lipids from normal and neoplastic human tissues. *Cancer Res.* **29**, 251-257.
- Soodsma, J. F., Piantadosi, C. and Snyder, F. (1970). The biocleavage of alkylglyceryl ethers in Morris hepatomas and other transplantation neoplasms. *Cancer Res.* **30**, 309-311.
- Turcotte, J. G., Srivastava, S. P., Meresak, W. A., Rizkalla, B. A., Lousone, F. and Wunz, T. P. (1980). Cytotoxic liponucleotide analogs. II. Antitumor activity of CDP-diacylglycerol analogs containing the cytosine arabinoside moiety. *Biochim. Biophys. Acta.* **619**, 619-631.
- Wechter, W. J., Johnson, M. A., Hall, C. M., Warner, D. T., Berger, A. H., Wenzel, A. H., Gish, D. T. and Neil, G. L. (1975). ara-Cytidine acylates. Use of drug design predictors in structure-activity relationship correlations. *J. Med. Chem.* **18**, 339-344.
- Yang, V. C., Turcotte, J. G. and Steim, J. M. (1985). Biophysical properties of cytidine diphosphate diacylglycerol in solution. *Biochim. Biophys. Acta.* **834**, 364-375.
- Zimmerman, C. L. (1990). The disposition of cytosine arabinoside and its metabolite after single doses to rabbits. *Biopharmaceutics & Drug Disposition.* **11**, 121-129.