약제학회지(2004), 제 34 권 제 3 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 34, No. 3, 161-168 (2004)

흰쥐 생체시료 중 5-플루오로우라실 및 테가푸르의 안정성

장지현 · 박종국 · 강진형* · 정석재** · 심창구** · 구효정†

*가톨릭대학교 의과학연구원 신약개발연구소, *강남성모병원 혈액종양내과, **서울대학교 약학대학*

(2004년 2월 12일 접수 · 2004년 4월 24일 재심사 · 2004년 5월 11일 승인)

Stability of 5-FU and Tegafur in Biological Fluids of Rats.

Ji-Hyun Jang, Jong-Kook Park, Jin-Hyoung Kang*, Suk-Jae Chung, Chang-Koo Shim** and Hyo-Jeong Kuh†**

Research Institute of New Drug Development, Catholic Research Institutes of Medical Science
**Division of Medical Oncology, College of Medicine, The Catholic Univ of Korea*
***College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea*

(Received February 12, 2004 · Revised April 24, 2004 · Accepted May 11, 2004)

ABSTRACT–5-Fluorouracil (5-FU) is an antimetabolite anticancer agent active against many types of solid tumors. Tegafur (TF), a prodrug of 5-FU, is frequently used in combination with uracil as dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) inhibitory fluoropyrimidine. We studied the stability of 5-FU and TF in biological fluids of rats and determined their bioavailability (BA) and excretion into bile, and urine. The drug concentrations were analyzed by an HPLC method. At room temperature, there was a 14–30% decrease in the concentration of 5-FU and TF in bile, urine, and plasma specimen at 10 and 100 μg/m*l* over 240 min. No significant difference was noted among the sample types or between two different concentrations of 10 and 100 μg/m*l*. The decrease in drug concentration was significantly less in samples kept on ice (6–12%) for both drugs. These data indicate that biological fluid samples containing 5-FU or TF in plasma, urine, or bile should be placed on ice during the sample collection. Following these storage guidelines, samples were collected after administration 50 mg/kg of each drug via i.v. or oral route. BA was 1.5 folds greater for TF (60%) than that of 5-FU (42%). Approximately 0.52 and 3.3% of the i.v. doses of 5-FU and TF was excreted into bile, respectively. Renal clearance of 5-FU was about 16% of its total body clearance. These results suggest that instability of 5-FU and TF in biological fluids should be considered in pharmacokinetic or pharmacogenomic studies.

Key words–5-FU, Tegafur, Stability, Bioavailability

5-플루오로우라실(5-Fluorouracil, 5-FU)은 임상에서 고형암종에 대해 가장 많이 사용되고 있는 항암제 중 하나이다. 단회 급속정맥주사(bolus injection)나 단시간 주입(short infusion)을 할 경우, 위장관 독성(설사, 구내염 포함), 신경독성, 골수기능억제 등으로 인하여 치료의 강도나 기간이 제한받고 있다.[1] 5-FU는 대사길항적 약물(anti-metabolite)로서 대사체인 5-fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP)가 5,10-methylene tetrahydrofolate 존재 하에 thymidylate synthase의 활성을 억제하며, 또 다른 대사체인 fluorouridine triphosphate(FUTP)와 fluorodeoxyuridine triphosphate(FdUTP)는 각각 RNA 및 DNA와 결합하여 복제를 저해한다.[2]

5-FU는 대부분 간에서 포화과정에 의해 대사 받으므로 간기능이 손상되었을 경우 투여용량을 조절하여야 한다.[2] Dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD, uracil reductase)는 5-FU의 대사에 관여하는 주 효소로서, 정맥투여된 5-FU의 85% 이상을 비활성화 시키는데, 이 효소의 활성도는 정상세포와 암세포 사이에 상당한 차이를 나타낸다고 한다.[3] DPD의 활성도가 낮으면 5-FU의 혈중 농도가 높아져 표준용량을 투여한 경우에도 심각한 독성이 나타나게 된다. 개인간 혹은 개인내 DPD활성의 차이로 인해 경구투여 후 5-FU의 생체이용률(BA, bioavailability)은 넓은 범위의 값을 나타내므로 그 값을 예측해 내기가 어렵다.[3]

이렇게 5-FU는 체내에서 간대사에 의해 신속하게 체외로 배출되며($t_{1/2}$=10–20 min), 경구흡수율(25%)이 낮기 때문에 분해효소인 DPD활성 억제제와의 동시 투여 방법이나 프로드럭들이 개발되어 왔다.[3,4] 5-FU의 BA를 개선시키는 여러 유도체들이 개발되었는데 그 중 테가푸르(1-(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluorouracil®, ftorafur®, tegafur®, TF)는 위장관에서 잘 흡수(BA: 43.8–70.8%)되며 부작용도 5-FU 보다 경미하여 최근에 널리 사용되고 있다.[5] TF의 체내 반감기는 약 8시간으로 간에서 대사된 후 간과 신장으로 배설되는 특

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)590-2422, E-mail : hkuh@catholic.ac.kr

징을 가지고 있는데,[6,7] 간의 cytochrome P-450에 의한 가수분해, 종양세포 내의 자발적 분해나 thymidine phosphorylase (TP)에 의하여 5-FU로 변환된다.[8] TF로부터 전환되는 5-FU의 항암효능을 효과를 상승시키기 위해서 DPD의 기질인 uracil을 동시투여하여 5-FU의 분해를 방지하거나, leucovorin (LV)을 투여하여 thymidylate synthase 저해도를 조절하거나, aspartate transcarbomylase의 저해제인 N-(phosphonacetyl)-L-aspartate(PALA)의 존재 하에 5-FU의 세포내 RNA로의 삽입을 증가시키는 방법 등이 시도되어 왔다.[4] 이러한 방법들 중 UFT(uracil:FT=4:1)가 가장 큰 효과상승을 보였으며 그 외에 DPD저해제로서 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine (CDHP)와 potassium oxonate를 FT와 결합시킨 S-1과 간에서 carboxyesterase와 cytidinedeaminase에 의해 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR)으로 대사된 후 암세포 내 TP에 의해 5-FU로 변환되는 capecitabine 등이 개발되어 있다.[1]

흰쥐를 이용한 실험에서 5-FU 및 FT에 관해 인체에서와 유사한 반감기 및 BA가 보고되었다.[9,10] 5-FU와 TF를 비롯한 항암제들의 후발의약품에 대한 약동학적/약력학적 연구는 약물의 특성상 인체를 대상으로 한 연구보다는 실험동물이 많이 사용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 흰쥐의 생체시료 중 5-FU 및 FT의 안정성을 평가하고 이를 고려하여 5-FU 및 TF의 생체이용률, 담즙배설 및 뇨배설을 측정하였다. 본 연구는 흰쥐를 이용한 5-FU나 TF제제의 약동학적 연구를 수행할 때 샘플 취급과 관련하여 고려해야 할 사항들을 지적하고자 하였다. 또한 이러한 사항들은 인체에서 5-FU 및 TF의 약동학이 흰쥐에서와 유사하기 때문에 이 약물들의 대사 및 항암효능과 관련된 효소들을 대상으로 하는 약물유전체학 연구에도 도움을 줄 수 있다.

실험 방법

시약 및 기기

5-Fluorouracil, 5-bromouridine, thymidine, tegafur 및 기타 시약들은 Sigma Chem Co.(St. Louis, MO, 미국)에서 분석용을, 메탄올은 Fisher Scientific(Pittsburgh, PA, 미국)에서 HPLC용을 구입하여 사용하였다. 증류수는 Millipore (Millipore, Bedford, MA, 미국)에서 18 mΩ-cm로 통과시킨 것을 0.45 μm 필터로 여과한 후 사용하였다. 실험동물 마취용 케타라와 럼푼은 (주)유한양행과 바이엘 코리아로부터, 헤파린(5000 I.U./m*l*)은 (주)녹십자로부터 구입하였다. 담관 및 혈관에 삽입한 PE-10과 PE-50관은 Becton Dickinson & Co.(Sparks, MD, 미국)로부터 구입하여 사용하였다.

HPLC system(Gilson system, Villiers-le-Bel, 프랑스)은 LC-306 dual pump, 231XL-auto sample injector, 122-fluorometer detector 및 118-UV/VIS detector로 구성하여 사용하였다.

5-FU와 TF의 시료 처리

5-FU와 TF는 DMSO stock solution을 제조하고 이것을 희석하여 검량선 작성용 메탄올 표준용액을 제조하였다. 각 농도의 5-FU와 TF의 메탄올 표준용액을 흰쥐의 공혈장 100 μ*l*에 가하여 검량선 작성용 혈장 표준샘플을 제조하였고 5-FU의 정량은 문헌에 보고된 방법을 적절히 수식하여 사용하였다.[11] 간략히, 표준시료나 시료(100 μ*l*의 혈장, 담즙 및 뇨를 이용, 50 μ*l*의 혈장을 수집한 경우에는 공혈장 50 μ*l*를 가하여 분석함)에 내부표준 물질인 5-bromouridine(1.5 mg/m*l*)을 일정량 가하여 잘 섞은 후 1 m*l*의 ethylacetate을 가해 추출하였다. 2분간 진탕한 후 원심 분리하고 수층을 제거하였다. 유층은 Speed-Vac(Savant Instruments, Inc. Farmingdale, NY, 미국)을 이용하여 증발시킨 후 ethylacetate 50 μ*l*로 재조성 시켜 그 중 20 μ*l*를 HPLC에 주입하였다. FT의 정량도 문헌에 보고된 방법을 적절히 수식하여 사용하였다.[12] 간략히, 조제된 표준샘플이나 시험샘플에 내부표준 물질인 thymidine(50 μg/m*l*)을 5 μ*l*를 가하고 5-FU 경우와 같이 추출한 후, 유층을 옮겨 증발시키고 잔사를 이동상 150 μ*l*에 녹여 이 중 100 μ*l*를 HPLC에 주입하였다. 채취한 담즙과 뇨 샘플도 혈장과 같은 방법으로 추출하여 HPLC로 분석하였다.

5-FU 및 TF의 HPLC 분석 조건

5-FU의 분석을 위해 Hypersil사의 ODS-1 C_{18} reversed-phase column(4.6 × 250 mm, 5 μm)을 고정상으로 사용하였다. 컬럼 오븐을 사용하여 40°C에서 안정화시키고 1% acetic acid를 함유하고 메탄올과 PBS가 9:1로 혼합(v/v %)된 이동상(pH 3.3)을 유속 1.0 m*l*/min으로 흘려주었다. 형광검출기는 여기파장 255 nm, 발광파장 350 nm에 고정하여 형광을 측정하였다. 크로마토그램에서 얻어진 5-FU와 내부표준물질의 피이크 높이비를 계산하여 검량선을 작성하고 혈장 시료 중의 5-FU의 농도를 산출하였다.

TF 분석을 위해서는 Waters Assoc의 C_{18} ODS-2(4.6 × 100 mm, 3 μm)을 고정상으로 사용하였다. 이동상으로는 메탄올-10 mM ammonium acetate(3:97 v/v, pH 4.2)를 사용하였고, 유속은 1.0 m*l*/min으로 하여 265 nm에서 검출하였다. 크로마토그램에서 얻어진 TF와 내부표준물질의 피이크 높이비를 계산하여 검량선을 작성하고 혈장 시료 중의 TF의 농도를 산출하였다.

각각의 분석조건에서 5-FU와 5-bromouridine(5-FU의 내부표준물질) 및 TF와 thymidine(TF의 내부표준물질)은 기타 내인성 성분 피크들과 겹치지 않고 잘 분리되었고 5-FU, 5-bromouridine, TF 및 thymidine의 retention time은 각각 3.4, 5, 13 및 8분이었다. 각 약물에 대한 검량선의 직선성은 r^2=0.997 이상이었으며 일내 및 일간 정밀성의 변동계수는 15% 미만이었다. 검량 범위는 혈장 중 5-FU와 TF에 대해 각각 0.1-50 μg/ml 및 0.25-100 μg/ml, 담즙 및 뇨 중 5-FU에 대해 1-100 μg/ml, 그리고 담즙 중 TF에 대해 0.5-100 μg/ml이었으며 이 범위를 넘는 샘플에 대해서는 각각의 공시료로 적절히 희석하여 분석하였다.

실험동물

가톨릭의과학연구원 실험동물실로부터 구입한 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(8-9주령, 체중 200-250 g)를 23±2°C, 습도 30-70% 사육실에서 예비사육하고, 고형사료 및 수돗물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 절식 실험 동물군(경구투여군)에는 투여 20시간 전 및 투여 후 3시간 동안 물만 주었다.

5-FU와 TF의 흰쥐 생체액 중의 안정성 실험

흰쥐의 생체액 중 5-FU 및 TF의 온도에 따른 화학적 안정성을 평가하기 위해 최종 농도가 10 및 100 μg/ml가 되도록 일정량의 약물을 담즙, 뇨 및 혈장 내에 각각 첨가한 후 상온과 얼음상에서 240분까지 방치시키면서 담즙, 뇨 및 혈장 내에서 약물의 농도 변화를 측정하여 분해정도를 살펴보았다.

체내동태 실험

흰쥐를 에테르로 가볍게 마취한 후 케타라(10 mg/kg)와 럼푼(23 mg/kg)을 복강 내 주사하여 마취시켜 고정대에 고정시킨 후 경정맥 및 동맥에 헤파린(25 I.U.)처리된 식염수로 채워진 PE-50관을 삽입하였다. 마취에서 회복된 후 경정맥을 통하여 5-FU와 TF를 각각 50 mg/kg 용량으로 주사한 후 경동맥으로부터 5-FU인 경우 3. 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 90 및 120분에, 40분까지는 120 μl를, 그 이후 시간에는 240 μl를 채혈하였다. TF의 경우 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 및 8시간에 각각 혈액 240 μl를 취하여 13000 rpm에서 1분간 원심분리한 후 혈장을 분리하였다. 혈액 채취를 위한 튜브는 얼음상에 미리 보관하였으며 채혈한 혈액은 원심분리 후 혈장을 분리하여 분석 시까지 -20°C에 냉동 보관하였다. 실험이 진행되는 동안 흰쥐의 체온은 백열등으로 일정하게 유지시켜 주었다. 각 시간마다 채혈된 양과 동량의 헤파린(25 I.U.)을 포함하는 식염수를 동맥을 통해 넣어 주었다. 경구투여의 경우에는 PE-50관을 동맥에 삽입한 후 마취에서 회복된 흰쥐에 생리식염수에 녹인 5-FU 또는 TF를 50 mg/kg의 용량으로 1 ml 주사기가 연결된 존대를 사용하여 투여하였다. 이후의 실험과정은 정맥주사시와 동일하게 진행하였다.

담즙 및 뇨 중 배설 실험을 위해서는 정맥투여 실험시와 동일한 방법으로 PE-50관을 경정맥 및 동맥에 삽입한 후 흰쥐 복부의 정중선을 따라 상복부를 1.5 cm 정도 절개하고 담관에 PE-10관을 삽입한 후 개복부를 봉합하였다. 수술 후 1시간 이상 방치하여 마취가 회복되고 담즙배설량이 일정해지면, 5-FU 또는 TF를 생리식염수에 녹여서 50 mg/kg의 용량으로 1분간 정맥으로 주사하였다. 실험이 진행되는 동안 흰쥐의 체온은 백열등으로 일정하게 유지시켜 주었다. 주사한 후 동맥을 통해 혈액을 채취하고 담즙은 5-FU의 경우 0-15, 15-30, 30-45, 45-60, 60-90, 90-120, 120-240 및 240-480분까지, TF는 0-1, 1-2, 2-3, 3-4, 4-5, 5-6 및 7-8시간까지 채취하였다. 채취시 튜브는 얼음상에 고정하여 온도를 유지시켰다. 각각 모아진 담즙의 부피를 측정하고 분석 시까지 -20°C에 냉동 보관하였다. 손실된 체액을 보충하기 위해 1시간 간격으로 정맥에 생리식염수 0.4 ml씩을 주사하였다. 뇨의 채집은 24시간 동안 이루어 졌는데 이때에도 채뇨튜브를 얼음상에 고정하여 온도를 유지하였다. 채뇨 후 무게를 측정하고 분석 전까지 -20°C에 냉동 보관하였다.

약동학 파라미터의 산출

5-FU 및 TF를 각각 따로 정맥 및 경구투여 한 후 혈장중 약물 농도에 대해서 사다리꼴 공식을 이용하여 혈장중 농도-시간 곡선하면적(AUC) 값을 계산하였다(WinNonlin®, Pharsight Co., Mountain View, CA, 미국). BA와 담즙 및 요 배설클리어런스는 각각 다음 식들을 이용하여 구하였다.

$$BA(\%) = \frac{AUC_{oral}}{AUC_{iv}} \times 100 \quad (1)$$

$$CL_{bile} = \frac{Amt_{bile}}{AUC_{iv}} \quad (2)$$

$$CL_{renal} = \frac{Amt_{renal}}{AUC_{iv}} \quad (3)$$

여기서 아래첨자 *iv*와 *oral*은 각각 정맥투여와 경구투여를, CL_{bile}은 담즙 배설 클리어런스, Amt_{bile}은 담즙으로 배설된 총 약물량, CL_{renal}은 요중 배설클리어런스, Amt_{renal}은 요중으로 배설된 총약물량을 의미한다.

통계처리

Student *t*-test를 이용하여 $p<0.05$일 때 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

5-FU와 TF의 안정성 실험

5-FU 및 TF의 담즙, 뇨 및 혈장 중에서의 안정성을 평가하기 위해 상온과 얼음상에서 일정 농도로 조제된 시료 중의 5-FU 및 TF의 농도를 240분까지 모니터링 하였다(Figure 1 및 2). Table I에는 상온 및 얼음상에서 240분 방치 후 남아 있는 약물농도를 요약하여 나타내었다. 두 약물 모두 시간에 따라 점진적인 농도저하를 보였으며 240분 후에는 상온의 수용액 중에 방치한 경우에서는 두 약물 모두 7–8% 정도의 분해를 보였다. 또한 두 약물 모두 분해도가 약물농도에 따라 크게 달라지지 않았으나 온도에 따라서는 모두 유의한 차이를 보였다($p<0.05$). 5-FU의 경우 상온에서는 240분 후 20–26%가 분해되었으나 얼음상에서는

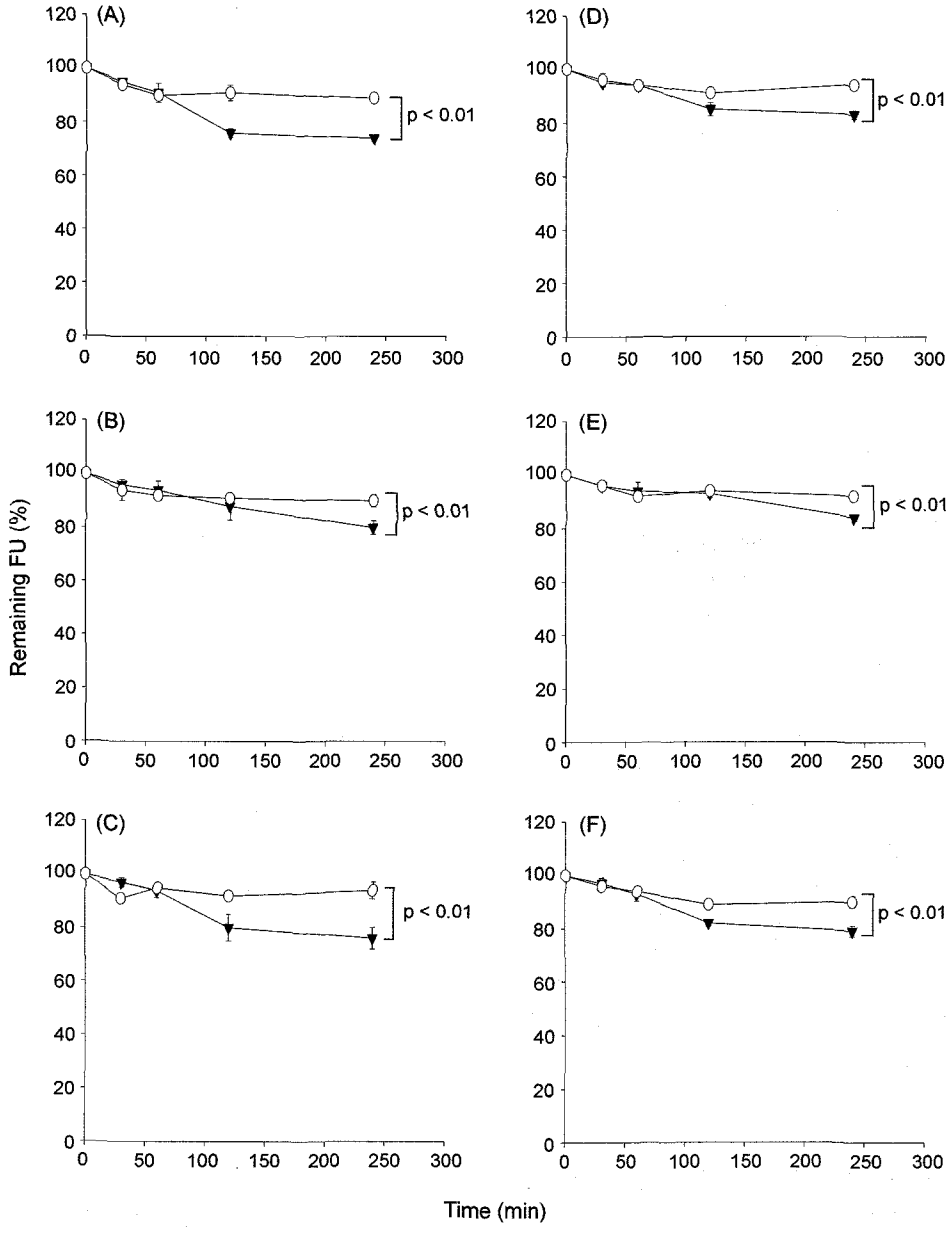

Figure 1–Effect of storage conditions on the stability of 5-FU (FU). Bile (A, D), urine (B, E) and plasma (C, F) samples were prepared at 10 μg/ml (A, B, C), and 100 μg/ml (D, E, F) with 5-FU and incubated for 240 min. Storage temperatures were either on ice (○) or at room temperature (▼). Values are mean±SD from three observations.

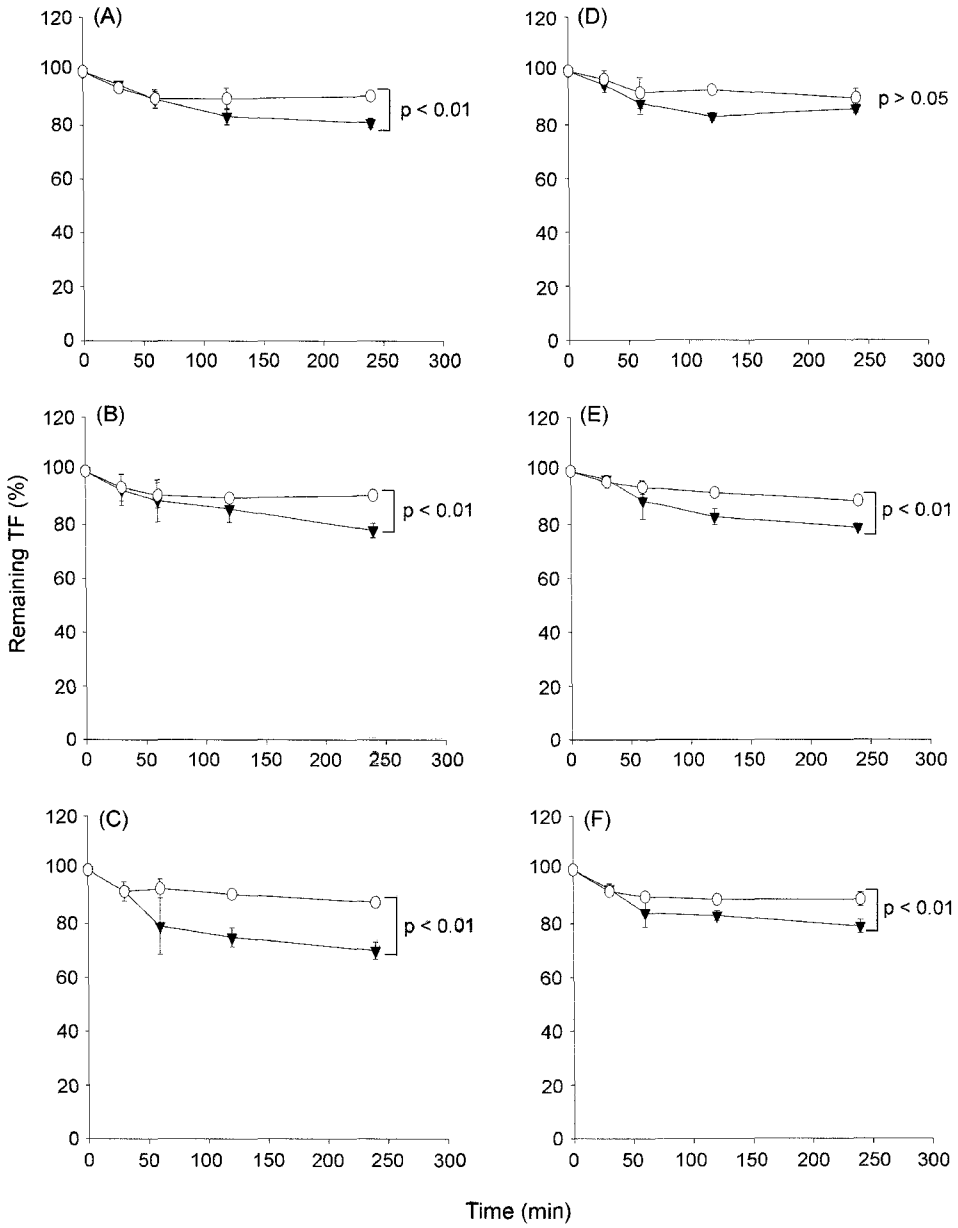

Figure 2–Effect of storage conditions on the stability of tegafur (TF). Bile (A, D), urine (B, E) and plasma (C, F) samples were prepared at 10 μg/ml (A, B, C), and 100 μg/ml (D, E, F) with tegafur and incubated for 240 min. Storage temperatures were either on ice (○) or at room temperature (▼). Values are mean±SD from three observations.

6–11%로 분해도가 감소하였고, 이와 유사하게 TF의 경우도 상온에서는 240분 후 14–30%의 분해도를 나타낸 반면, 얼음상에서는 9–12%로 분해정도가 유의성 있는 감소를 보였다.

5-FU의 약물 동태 및 뇨/담즙 배설

5-FU를 50 mg/kg 용량으로 정맥투여 한 후 얻은 60분까지의 AUC는 전체 AUC의 99% 이상이었다(Figure 3A). 따라서, 경구투여 및 정맥주사 후 60분까지의 AUC에 기초하여 구한 평균 BA는 42.4%로 나타났다. 경구투여 후 C_{max}는 약 20분에 관찰되었고 경구 흡수율은 개체차가 크게 나타났다(AUC_{oral}의 개체차, Table II). CL_{bile}은 14.4±2.0 ml/hr/kg, CL_{renal}은 441±103 ml/hr/kg로 각각 전신클리어런스의 0.52% 및 16%를 차치하는 것으로 나타났다(Table II).

TF의 약물 동태 및 뇨/담즙 배설

TF를 50 mg/kg 용량으로 정맥투여 한 후 얻은 720분까지의 AUC는 전체 AUC의 98% 이상이었다(Figure 3B). 경구

Table I–*Stability of 5-FU and Tegafur in Bile, Urine and Plasma of Rats**

(A) 5-FU

% Remaining	10 μg/ml		100 μg/ml	
	ICE	RT	ICE	RT
Bile	89±1.15	74±1.15	92±1.53	83±1.0
Urine	90±2.31	80±2.53	94±1.15	84±1.0
Plasma	94±3.21	76±4.04	90±2.16	79±2.0
DDW**	N/D†	92±1.75	N/D†	93±0.81

(B) Tegafur

% Remaining	10 μg/ml		100 μg/ml	
	ICE	RT	ICE	RT
Bile	91±1.00	81±1.73	90±3.51	86±1.53
Urine	91±1.53	78±2.72	89±0.59	79±1.10
Plasma	88±1.15	70±3.21	89±2.52	79±2.52
DDW**	N/D†	92±0.22	N/D†	92±1.89

*Samples were prepared at two different concentrations and kept on ice (ICE) or at room temperature (RT) until 240 min. % remaining is the percentage of drug concentrations at 240 min compared to the initial concentrations. Values are mean±SD from three different observations.
**DDW: Deionized distilled water.
†N/D: Not determined.

투여후의 AUC는 1440분까지 계산하였고 평균 BA는 60% 이었다. 경구투여 후 C_{max}는 약 1시간에 관찰되었고 정맥주사 후 담즙으로 720분까지 투여량의 3.3%가 배설되어 CL_{bile}은 5.99±0.65 ml/hr/kg로 산출되었다(Table II).

고 찰

흰쥐나 인체에서 5-FU의 BA는 약 30%로 보고되어 있고[13] 이는 본 연구의 결과와도 유사하였다. 인체에서 5-FU의 뇨배설은 20% 정도이고 주로 간대사에 의해 소실된다고 알려져 있다.[2,14] 본 연구에서도 뇨 배설클리어런스는 전신클리어런스의 16%를 차지하고 담즙배설은 0.52%를 차지하여 주로 대사에 의해 소실됨을 확인하였다. 5-FU의 낮고 불규칙한 BA는 주로 초회통과효과(first pass effect)에 의해 일어나기 때문에 이 기전을 규명하여 좀더 효율적인 5-FU 약물전달방법을 개발하고 경구흡수의 효율성을 증가시켜야 할 필요가 있다.[2] 5-FU의 장 수송은 부분적으로 피리미딘 수송체가 관여한다고 알려져 있어서 용량-의존적으로 작용할 수 있지만, 5-FU의 장 점막을 통한 수송은 용량에 상관없이 상당히 흡수율이 좋다고 알려져 있다.[15] 또한 5-FU는 용량에

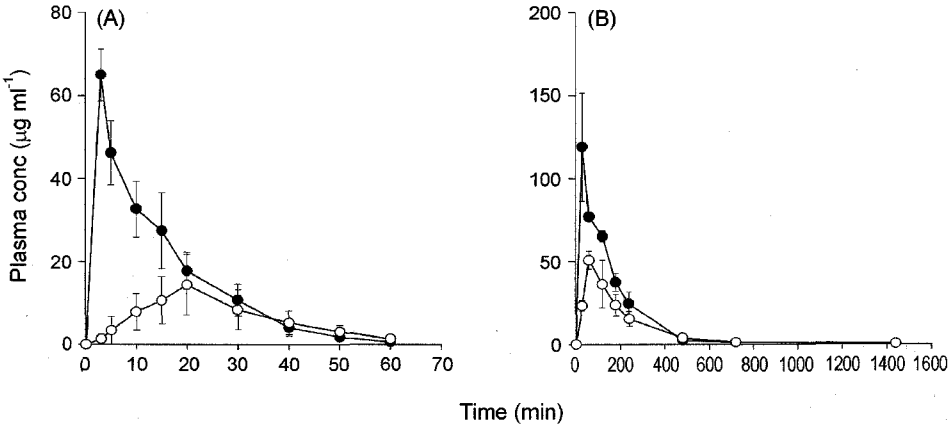

Figure 3–Plasma concentration versus time profiles of 5-FU (A) and tegafur (B). Each drug was given i.v. dose of 50 mg/kg. Data points represent mean±SD. 5-FU was administered i.v. (●) or oral (○), and TF i.v. (●) or oral (○).

Table II–*Pharmacokinetic Parameters of 5-FU and Tegafur (TF) in Rats Given i.v. Doses of Each Drug at 50 mg/kg**

Drug	Dose ($mg \cdot kg^{-1}$)	AUC_{oral}† ($\mu g \cdot min \cdot ml^{-1}$(n))	AUC_{iv}† ($\mu g \cdot min \cdot ml^{-1}$ (n))	CL_{bile}‡ ($ml \cdot hr^{-1}kg^{-1}$)	CL_{renal}‡ ($ml \cdot hr^{-1}kg^{-1}$)	BA§ (%)
5-FU	50	462±331 (7)	1089±202 (5)	14.4±2.00	441±103	42.4
TF	50	10805±1600 (3)	17976±353 (3)	5.99±0.65	N/D**	60.1

*Values are mean±SD from 3-7 observations as indicated in the parenthesis.
**N/D: Not determined.
†AUC_{oral}, AUC_{iv}: Area under the plasma concentration versus time curve after oral or i.v. administration, respectively.
‡CL_{bile}, CL_{renal}: Biliary and renal clearance, respectively.
§BA: Bioavailability.

상관없이 gastric emptying-limited manner로 흡수되는 약물로서 장 흡수가 낮은 생체이용율의 원인일 가능성은 적다고 보고되었다.[15] 여러 연구들에 의해 5-FU의 first-pass metabolic extraction이 소장의 점막에서 상당히 일어나는 것이 밝혀졌으며, 이는 낮은 경구흡수율에 크게 기여한다고 생각된다.[9,13]

5-FU는 혈장에서 보다 전혈에서 그 안정성이 크게 떨어져 24시간까지 방치할 경우 혈장에서는 52%가 전혈에서는 94%가 분해됨이 보고된 바 있다.[16] 이 때에도 얼음상에서는 분해가 현저히 감소하여 24시간에서 혈장내 분해도는 10%, 전혈에서는 30%로 나타났다. 본 연구에서는 혈장 이외에 담즙과 뇨에서의 안정성을 평가하였는데 분해정도와 온도 의존성에서 혈장에서의 안정성과 유사한 경향을 보였다. 이는 혈장에서 5-FU의 소실을 유도하는 DPD 효소가 담즙과 뇨에서도 유사하게 작용한 것으로 생각되며 Collins 등[17]이 약동학적 모델링을 통해 5-FU가 간 이외의 장소에서 대사될 가능성이 있으며 동시에 담즙과 뇨 및 혈장 중에서 효소학적으로 분해 될 가능성을 제시한 것과 일치한다.[18]

TF는 간의 microsomal P-450 효소에 의해 5-FU로 활성화되는 것으로 알려져 있으며 사람에서는 CYP2A6가, 쥐에서는 CYP1A와 3A 및 CYP2C가 관여하는 것으로 보고되었다.[19,20] 이 중 CYP1A 및 CYP3A 효소의 경우 TF 투여에 의해 자가유도 되어지므로 P-450 효소 유도 약물을 TF와 동시에 투여함으로써 TF에서 5-FU로의 활성화 전환을 상당히 증가시킬 수 있음이 제안되었다.[20,21]

이전 연구들에서는 TF의 안정성이 보고된 바 없었다. 본 연구의 결과에 의하면 혈장 중에서 TF의 안정성은 5-FU와 유사하게 나타났다. 또한 혈장뿐 아니라 담즙과 뇨에서도 혈장에서와 같은 정도의 분해가 관찰되었다. 이는 혈장에서 TF의 소실을 유도하는 P-450 효소가 담즙과 뇨에서도 작용한 것으로 보이며 5-FU와 마찬가지로 흰쥐를 이용한 동물실험이나 인체실험을 할 경우에 생체시료는 채집 직후 바로 얼음상에 보관하여 이동하고 그 이하의 온도(즉, -20 내지 -70°C)에서 보관하여 이들 효소들에 의한 분해를 막아야 할 것이다.

결 론

본 연구는 5-FU와 그의 프로드럭인 TF의 흰쥐의 혈장, 담즙 및 뇨에서의 안정성을 평가하고 또한 정맥주사 및 경구투여 한 후 두 약물의 생체이용율, 담즙 및 뇨배설율을 확인하였다. 5-FU와 TF는 시간에 따른 점진적 분해를 보였으며 240분 동안 담즙, 뇨 및 혈장 중에서 약 14-30%가 분해 되었지만, 얼음상에서는 좀더 안정하여 6-12% 만이 분해 되었다. 5-FU 또는 TF를 50 mg/kg 용량으로 투여한 경우에서 각 약물의 생체이용률은 42.4%와 60%로 TF가 1.5배 정도 높았다. 두 약물 모두 정맥 주사 후 담즙 배설클리어런스는 전신 클리어런스의 5% 미만이었다. 5-FU의 뇨 배설클리어런스는 약 16%를 차지하였다. 본 연구의 결과는 흰쥐를 이용한 동물실험이나 인체실험에서 5-FU나 TF를 포함하는 생체시료는 채취 직후 바로 0°C 이하에 보관해야 하며 상온에서의 노출을 최소화하여야 보다 정확한 약동학적 결과를 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업(99-PJ1-PG3-21700-0007)과 가톨릭암센타에 의해 지원되었습니다.

문 헌

1) D.B. Longley, D.P. Harkin and P.G. Johnston, 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies, *Nat. Rev. Cancer,* **3**, 330-338 (2003).
2) R.B. Diasio and B.E. Harris, Clinical pharmacology of 5-fluorouracil, *Clin Pharmacokinet*, **16**, 215-237 (1989).
3) R.B. Diasio, Oral DPD-inhibitory fluoropyrimidine drugs, *Oncology (Huntingt)*, **14**, 19-23 (2000).
4) S. Cao, C. Frank, T. Shirasaka and Y.M. Rustum, 5-Fluorouracil prodrug: role of anabolic and catabolic pathway modulation in therapy of colorectal cancer, *Clin Cancer Res.*, **1**, 839-845 (1995).
5) M. Valdivieso, G.P. Bodey, J.A. Gottlieb and E.J. Freireich, Clinical Evaluation of ftorafur (pyrimidine-deoxyribose N1-2'-furanidyl-5-fluorouracil), *Cancer Res.*, **36**, 1821-1824 (1976).
6) M.I. Anttila, E.A. Sotaniemi, M.I. Kairaluoma, R.E. Mokka and H.T. Sundquist, Pharmacokinetics of ftorafur after intravenous and oral administration, *Cancer Chemother Pharmacol,* **10**, 150-153 (1983).
7) J.A. Benvenuto, J.G. Liehr, T. Winkler, D. Farquhar, R.M. Caprioli and T.L. Loo, Human urinary metabolites of 1-(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluorouracil (ftorafur), *Cancer Res.*, **39**, 3199-3201 (1979).
8) D.H. Ho, W.P. Covington, R. Pazdur, N.S. Brown, J. Kuritani, R.A. Newman, M.N. Raber and I.H. Krakoff, Clinical pharmacology of combined oral uracil and ftorafur, *Drug Metab. Dispos.*, **20**, 936-940 (1992).
9) H. Yuasa, J. Gu, Y. Hayashi and J. Watanabe, First-pass metabolism of 5-fluorouracil in rats, *J. Pharm. Pharmacol*, **50**, 1019-1025 (1998).
10) A.T. Wu, H.J. Schwandt, C. Finn and W. Sadee, Determination

of ftorafur and 5-fluorouracil levels in plasma and urine, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol,* **14**, 89-102 (1976).
11) W.R. Wrightson, S.R. Myers and S. Galandiuk, HPLC analysis of 5-FU and FdUMP in tissue and serum, *Biochem Biophys Res. Commun.*, **216**, 808-813 (1995).
12) D.H. Ho, W. Covington, N. Brown, S.N. Lin, R. Pazdur, Y.Y. Huo, P.J. Creaven, Y.M. Rustum, N.J. Meropol, Y. Lassere, J. Kuritani and T. Hayakawa, Oral uracil and Ftorafur plus leucovorin: Pharmacokinetics and toxicity in patients with metastatic cancer, *Cancer Chemother Pharmacol*, **46**, 351-356 (2000).
13) J. Gu, H. Yuasa, Y. Hayashi and J. Watanabe, First-pass metabolism of 5-fluorouracil in the perfused rat small intestine, *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 871-873 (1998).
14) L.A. Celio, G.J. DiGregorio, E. Ruch, J.N. Pace and A.J. Piraino, 5-Fluorouracil concentrations in rat plasma, parotid saliva, and bile and protein binding in rat plasma, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 597-599 (1983).
15) H. Yuasa, K. Matsuda, J. Gu, E. Suzuki, I. Yokouchi and J. Watanabe, Dose-dependent gastrointestinal absorption of 5-fluorouracil in rats *in vivo*, *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 1494-1498 (1996).
16) R.F. Murphy, F.M. Balis and D.G. Poplack, Stability of 5-fluorouracil in whole blood and plasma, *Clin Chem.*, **33**, 2299-2300 (1987).
17) J.M. Collins, R.L. Dedrick, F.G. King, J.L. Speyer and C.E. Myers, Nonlinear pharmacokinetic models for 5-fluorouracil in man: Intravenous and intraperitoneal routes, *Clin Pharmacol Ther*, **28**, 235-246 (1980).
18) G. Milano and A.L. Chamorey, Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil with consideration of chronopharmacokinetics, *Chronobiol Int.*, **19**, 177-189 (2002).
19) K. Ikeda, K. Yoshisue, E. Matsushima, S. Nagayama, K. Kobayashi, C.A. Tyson, K. Chiba and Y. Kawaguchi, Bioactivation of tegafur to 5-fluorouracil is catalyzed by cytochrome P-450 2A6 in human liver microsomes *in vitro*, *Clin Cancer Res.*, **6**, 4409-4415 (2000).
20) H. Yamazaki, T. Komatsu, K. Takemoto, N. Shimada, M. Nakajima and T. Yokoi, Rat cytochrome P-450 1A and 3A enzymes involved in bioactivation of tegafur to 5-fluorouracil and autoinduced by tegafur in liver microsomes, *Drug Metab. Dispos.*, **29**, 794-797 (2001).
21) D.H. Ho, R. Pazdur, W. Covington, N. Brown, Y.Y. Huo, Y. Lassere and J. Kuritani, Comparison of 5-fluorouracil pharmacokinetics in patients receiving continuous 5-fluorouracil infusion and oral uracil plus N1-(2'-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil, *Clin Cancer Res.*, **4**, 2085-2088 (1998).