

Methotrexate의 임상약동력학적 고찰

최 경 업

제일제당 종합연구소
(1990년 10월 29일 접수)

Review on the Clinical Pharmacokinetics of Methotrexate

Kyung Eob Choi

R & D Center, Cheil Foods & Chemicals, Inc.

(Received Oct. 29, 1990)

Folates are involved in a variety of important biosynthesis by way of donating one carbon unit. Since folate metabolism was well understood, a number of antifol have been developed. Among these antifols, aminopterin was first used in the treatment of childhood leukemia. However, due to its toxicity and purity problems, it was immediately replaced by another antifols, methotrexate (MTX). MTX is shown to be active against various malignancies including leukemia, breast cancer, osteogenic sarcoma, and head and neck cancer. Clinically, MTX therapy is divided into 3 categories, depending on the dose administered; low-dose is defined as doses <80 mg/m², intermediate-dose as doses ≥ 80 mg/m² and <1000 mg/m², and high-dose as doses ≥ 1000 mg/m². Leucovorin should be administered to minimize MTX toxicities when MTX doses are greater than 80-100 mg/m². The clinical pharmacokinetics (ADME) of MTX is discussed in this text.

서 론

세포내 보조인자 (cofactor)로 알려져 있는 엽산 (folic acid)은 단일탄소 unit를 전달함으로써 생체내 중요한 합성반응에 관여한다. 환원형 엽산인 N¹⁰-formyltetrahydrofolate(10-formyl-FH₄)와 N⁵, N¹⁰-methylenetetrahydrofolate(5, 10-CH= FH₄)는 purine 생합성에 필요한 단일탄소 unit를 제공하며, N⁵, N¹⁰-methylenetetrahydrofolate(5, 10-CH₂FH₄)는 탄소 1원자 및 수소 2원자를 제공하고, 자신은 dihydrofolate(FH₂)로 바뀐다. 환원형 엽산이 중요한 생체의 여러 합성 반응에 관여하고 있다고 알려진 이래, 많은 엽산 유도체가 개발되었다. 대부분의 엽산 유도체는 엽산대사 길항제(antifols)로서 purine, thymidylate, 궁극적으로 DNA의 합성을 억제함으로써 그 항암효과를 나타낸다.

1948년 Farber 등¹⁾은 엽산 길항제인 Aminopte-

rin을 소아의 급성백혈암 치료에 최초로 사용하여 항암효과를 관찰하였다. 그러나, 당시 이 제제의 순도문제와 높은 독성 때문에, 곧이어 또 다른 엽산 길항제인 Methotrexate(MTX)가 소개되었다. MTX의 항암효과는 target 효소인 dihydrofolate reductase(DHFR)와 강력하게 결합하여 세포내 FH₄의 생성을 억제함으로써 나타난다. 현재 MTX는 백혈암과 같은 혈액종양 뿐만아니라 유방암, 후두암, 용모탁암 및 골수암 등의 여러 고형암에 다른 항암제와 병용하여 사용되고 있다.

MTX(분자량=454.46)는 약산성 물질로서, 생리 pH에서 거의 이온화되고 수용성(25°C에서 1.6 mg/ml)도 높아진다. MTX와 그 표적효소인 DHFR과의 결합은 상당히 강하지만 비가역적은 아니며, 주변의 pH와 염의 농도에 의해 상당한 영향을 받는다. MTX의 세포독성(cytotoxicity)은 비교적 선택성이 낮으므로, 암세포 뿐만아니라 정상 골수세포 및 위

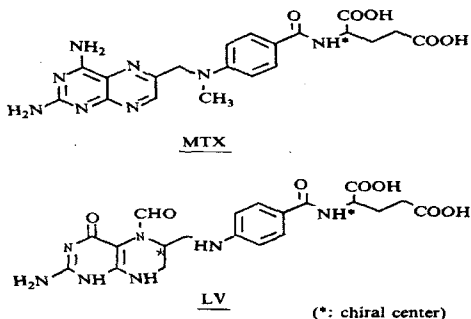


Fig. 1. Chemical structure of MTX and LV.

장관 점막세포에도 독성을 나타낸다. 용량제한의 요인(dose-limiting factor)으로서 골수억제(bone marrow suppression)와 점막세포염(mucositis)과 같은 부작용을 들 수 있다. 임상적으로 MTX의 투여용량에 따라 저용량, 중간용량 및 고용량 요법으로 분류한다. 일반적으로, 저용량(Low dose) 요법은 MTX의 용량이 80 mg/m²미만, 중간용량(Intermediate dose) 요법은 80 mg/m²이상 1000 mg/m²미만, 고용량(High dose) 요법은 1000 mg/m² 이상으로 정의한다. 1966년 Goldin 등²⁾은 환원형 엽산의 일종인 Leucovorin(LV; N⁵-formyltetrahydrofolate; 5-formyl FH₄)을 MTX 투여 일정시간 경과 후 사용할 때, MTX의 독성으로부터 정상세포를 선택적으로 구조(rescue)할 수 있다고 보고하였다. 이러한 사실을 근거로 LV이 임상에 소개된 이래, MTX에 투여량을 비교적 안전하게 증가시켜 사용할 수 있었으며, MTX에 의한 치사율(보통 6%이상) 및 부작용도 상당히 감소되었다.

LV은 화학구조적으로 2개의 부채탄소(chiral carbon)를 소유하고 있어, 이론적으로 4개의 광학 이성체가 존재할 수 있다. 첫번째 부채탄소는 pteridine ring내의 6번 위치에 있으며, 두번째의 것은 말단에 있는 glutamate moiety에 포함되어 있다.(Fig.1)

그러나, 실제적으로 LV을 합성할 때 L-glutamate만을 사용하기 때문에, 현재 임상에 쓰이는 제제는 (6S)-LV (혹은 1-LV)과 (6R)-LV (혹은 d-LV)의 1 : 1 혼합물이다. 이 두개의 광학이성체는

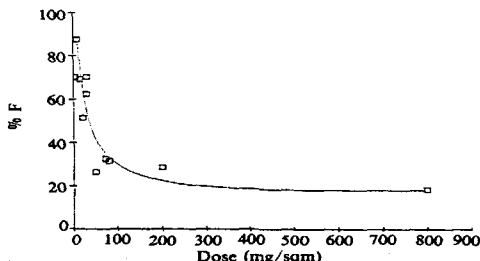


Fig. 2. Dose-dependent absorption of MTX.

약동력학적으로 상이하다; (6S)-LV은 생리학적 활성이 있으나, (6R)-LV은 거의 없는 것으로 알려져 있다. 또한 LV을 경구로 투여할 때, (6S)-LV의 위장관 흡수는 (6R)-LV보다 약 5배가 높은 반면, 혈중 반감기는 무척 짧다(32분 vs. 7-8시간)고 보고되었다.³⁾ 따라서, 정맥투여 2시간 후의 혈중농도의 비율을 살펴보면 100 : 1 이상으로 (6R)-LV의 양이 훨씬 많다. 생체내에서 활성형 (6S)-LV에 비해 (6R)-LV이 고농도로 존재할 때, 임상적으로 얼마나 중요한 의미를 갖는지에 대해서는 앞으로 더 연구해야할 과제이다.

MTX 항암요법을 보다 안전하고 효과적으로 사용할 수 있도록, MTX의 임상약동력학 즉 흡수, 분포, 대사, 배설에 대해 고찰하고자 한다.

1. MTX의 흡수

MTX 흡수에 관하여 보고된 연구논문들⁴⁻¹⁴⁾을 종합 분석한 결과, MTX의 위장관 흡수는 사용한 경구용량에 반비례하고 있음을 알 수 있다. Fig. II에서 보여주는 것과 같이 MTX 용량이 증가함에 따라 생체이용률(bioavailability)은 감소하는 경향이 있다. MTX의 분자 구조중에 glutamate가 있기 때문에, MTX의 위장관 흡수는 아미노산의 전달시스템을 이용한다. 따라서, 위장관 내 MTX의 농도가 높으면 이 전달시스템이 포화가 되어 흡수가 저하된다. MTX의 경구용량이 80 mg/m²미만일 때는, 비교적 흡수가 잘 일어나지만, 그 이상의 용량을 투여하면 MTX의 생체이용률은 약 20%까지 떨어진다.

MTX의 흡수경도와 속도의 개인차는 상당히 크다.

급성림프성 백혈암 maintenance 치료에 통상 사용하는 용량인 25 mg/m²을 경구로 투여할 때, MTX의 최고 혈중농도는 0.25μM에서 1.25μM까지 약 5배의 개인차를 나타내며, 최고 혈중농도에 도달하는 시간은 투여 후 0.7시간에서 5시간까지 약 7배의 개인차를 보인다. MTX의 흡수는 음식물¹⁵⁾, 경구용 항생제 투여⁶⁾ 등에 의해 영향을 받는다. MTX의 위장관 흡수를 개선시키기 위하여 여러 가지 임상 실험을 하였다.

Christophidis 등¹³⁾은 800 mg의 MTX를 16회로 분할하여 매 시간마다 투여한 결과, 생체이용률은 약 87.6%까지 증가하였다고 보고하였다. 그러나, Harvey 등¹²⁾은 MTX 200 mg/m²을 4회로 나누어 매 시간 투여하여도, 생체이용률은 28% 밖에 되지 못하였다. 이 두개의 상반된 실험결과를 볼 때, 분할 투여법은 아직까지 추천할 만한 것이 못된다. MTX를 경구로 투여할 때, 일련의 MTX 혈중농도를 측정하는 것이 MTX의 흡수를 확인하는 가장 이상적인 방법이지만, 백혈구 수의 변화를 모니터링하는 간접적인 방법을 사용함으로써, 약물의 효과 및 환자의 compliance를 살펴볼 수 있다.

2. MTX의 분포

MTX는 정맥주사 직후 체중의 약 20%까지 체내에 분포되며,¹⁶⁾ 평형시의 분포용적(volume of distribution; Vd)은 0.4-0.8 L/Kg이다.¹⁷⁾ MTX의 혈청단백 결합률은 약 50%이며, 주로 혈청 알부민과 결합한다. MTX도 약산성이기 때문에 아스피린과 같은 약산성 물질이 공존할 때, 혈청단백 결합률은 다소 저하되나, 이런 현상은 임상적으로 염려할 것이 못 된다.

1977년 Bleyer¹⁸⁾ 등은 원하는 MTX의 혈중농도를 얻기 위한 MTX 용량을 계산할 수 있는 공식을 발표하였다;

$$\text{Loading dose(mg/m}^2\text{)} = 15 \times [\text{MTX}]$$

$$\text{Maintenance dose(mg/m}^2\text{/hr)} = 3 \times [\text{MTX}]$$

(여기서, [MTX]는 원하는 MTX의 혈중농도(μM)임.)

MTX의 중추신경계(CNS) 통과는 극히 미약하여, 혈중 MTX 최고농도의 0.1% 정도가 척수액의 MTX 농도이다.¹⁹⁾ 급성림프성 백혈암 치료시, 고용량

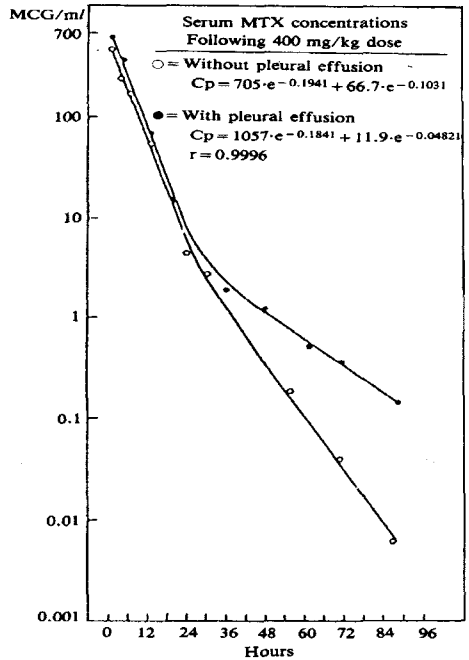


Fig. 3. Serum MTX concentrations in a 12-yo boy with osteogenic sarcoma, treated with 12 g/sqm with and without a pleural effusion.

MTX 요법을 사용하여 MTX의 척수액 농도를 어느 정도 증가시킬 수 있으나, 환자간의 차이가 너무 심하고 예측이 불가능하기 때문에, MTX 12mg을 직접 척수에 투여(intrathecal administration)하는 방법을 추천하고 있다.

MTX의 조직내 분포를 보면, 간과 신장에 가장 많이 분포되며 근육조직에는 적게 분포된다.²⁰⁾ 따라서, MTX를 장기간 투여하면 간 및 신장에 만성 독성이 일어날 확률이 높다. 1978년 Evans 등²¹⁾은 복수(pleural effusion)가 차 있는 환자에게 고용량인 12g/m²를 6시간 연속정맥 투여한 후, MTX의 복수액 농도를 측정된 결과 혈중농도 보다 훨씬

높다는 것과, MTX의 terminal 혈중반감기는 정상 환자에 비해 약 2배 정도 길다는 것을 발표하였다 (Fig. 3). 이는 복수가 소위 "third space reservoir"로서 작용한다는 것을 의미한다. 따라서 복수가 있는 환자에게는 MTX의 체외배설이 늦어져 MTX의 독성이 더 많이 예상되므로, 혈중 MTX 농도를 계속 모니터링하여, MTX 농도에 따른 적절한 LV rescue를 실시해야 한다.

1975년 Goldman²²⁾은 MTX와 같은 엽산유도체들은 단순 세포막 확산과 에너지를 필요로 하는 능동형 전달의 두가지 과정을 통하여 세포내로 유입된다고 보고하였다. 세포외액의 MTX 농도가 5μM 이하인 경우, 후자의 전달과정이 더 우세하나, MTX 농도가 증가함에 따라 능동세포막 통과는 포화되고 단순세포막 확산현상이 일어나기 시작한다. LV 역시 MTX와 똑같은 세포막 통과과정을 거치기 때문에, MTX의 존재하에서는 세포막통과는 경쟁적으로 일어난다.

따라서, LV이 MTX 독서으로부터 세포를 효과적으로 구조하기 위하여, 필요한 세포외액의 LV의 농도는 MTX의 농도에 따라 다르다. 즉, MTX 농도가 0.1μM 이하일 때, LV의 농도는 MTX와 같아도 효과적 구조를 할 수 있으나, 0.1μM-1.0μM 일때는 5배 이상의 농도, > 1.0μM 일때는 10배 이상의 농도가 요구된다.

3. MTX의 대사

최근에 이르러, 선택적이고 고감도의 HPLC분석 방법이 개발된 이래, 다음과 같은 3종의 주요 대사물을 확인하였다.

1) 4-amino-4-deoxy-N¹⁰-methylpteroic acid(DAMPA)

장내세균에 의해 MTX 구조의 말단 부위인 glutamate가 탈리되어 DAMPA가 형성된다. 따라서, MTX를 정맥투여보다 경구투여시 더 많은 양의 DAMPA가 형성된다. 정맥주사 후에도 미량의 DAMPA가 형성되는데, 이는 MTX가 enterohepatic circulation을 하기 때문이다. DAMPA의 항암효과는 거의 없으며, MTX의 표적효소인 dihydrofolate reductase(DHFR)에 대한 친화력은 1/200밖에 되지 않는다.

2) 7-hydroxymethotrexate(7-OH MTX)

Table I. pH 변화에 따른 MTX와 7-OH MTX의 용해도 (mole/liter)

	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0
MTX	9.59×10^{-4}	3.41×10^{-3}	1.99×10^{-2}
7-OH MTX	2.77×10^{-4}	7.88×10^{-4}	3.30×10^{-3}

간에 존재하는 aldehyde oxidase 효소에 의해 pteridine ring의 7번 탄소에 hydroxylation이 되어 7-OH MTX가 형성된다. 7-OH MTX는 항암효과는 거의 없으나, 임상적으로 대단히 중요한 MTX의 대사물로 알려져 있다. 1980년 Lankelma와 Van der Klein 등²³⁾은 7-OH MTX의 혈중반감기는 MTX의 그것보다 2-3배 길다고 보고하였다. 따라서, MTX 투여 후 수 시간내에 7-OH MTX의 혈중농도는 MTX 농도보다 훨씬 높아진다. 7-OH MTX의 최고 혈중농도는 MTX 투여용량에 비해하며, 고용량 MTX 요법을 사용시에도 7-OH MTX의 혈중농도는 비례하여 계속 상승한다. 이는 현재 골수암 치료에 사용하고 있는 MTX의 최고 용량인 36g/m²에서도 hydroxylation 반응에 관여하는 효소가 포화되지 않음을 의미한다. 7-OH MTX가 혈중에 고농도로 존재한다는 것은 임상적으로 중요하다. 왜냐하면 7-OH MTX의 용해도는 MTX에 비해 무척 낮아(표 I), 신장에서의 침전이 더 잘 일어나기 때문이다.

MTX와 7-OH MTX의 용해도는 pH가 낮아질수록 감소된다. MTX 투여 후 뇨의 pH를 알칼리성으로 유지하지 못하면, MTX와 7-OH MTX의 침전이 신장에서 쉽게 일어나, 24-48시간내에 급성 신장독성을 유발한다. 따라서, 중간 및 고용량 MTX 치료를 받는 환자에 있어, NaHCO₃를 투여(3-7 mg/m²/hr)하여, 뇨를 알칼리화 시킴으로써, MTX 및 7-OH MTX의 침전을 예방해야 한다.

3) MTX Polyglutamates(MTXPGs)

1973년 Baugh 등²⁴⁾은 MTX가 세포내에서 polyglutamate 형태로 전환되어 축적된다는 사실을 최초로 보고하였다. Polyglutamation은 정상세포 뿐만아니라 암세포내에도 일어나며, 이 반응에 folylpolyglutamate synthetase(FPGS)가 관여되어 있다. FPGS는 자연에 존재하는 엽산을 기질(substrate)로 사용하여, 엽산 말단 부위의 glutamate에 glutamate를 첨가시키는 역할을 한다. MTX의 경우, glutamate 1분자가 첨가된 MTXPG₁부터 5분자가 첨

가된 MTXPG₅까지 확인되었다.²⁶⁾ MTX가 일단 MTXPG₁로 바뀌면 세포외로 유출되지 않기 때문에, 지속적인 항암효과를 발휘한다. Glutamate가 많이 붙어 있을수록 세포내에 머무는 시간이 더 길지만, 항암효과에서는 비슷하다.

1981년 Poster 등,²⁶⁾ 1983년 Fry 등,²⁷⁾ 및 1984년 Fabre 등²⁸⁾은 MTXPG의 농도는 정상세포보다 암 세포에서 훨씬 높다는 것을 발견하였다. 1984년 Samuel 등²⁹⁾은 MTXPG가 정상세포에서 많이 존재하지 않는 이유중의 하나로 가수분해 효소(hydrolase)의 활성도가 암세포에 비해 높기 때문이라고 보고하였다.

이러한 세포내의 농도 차이 때문에 MTX의 세포 독성은 정상세포에 비해 암세포에 좀 더 강하게 나타나며(선택적 항암효과), 세포를 구조하기 위해 LV rescue를 실시할 때, 비교적 선택적으로 정상 세포를 구조할 수 있다.

재미있는 사실은, MTX의 대사물인 7-OH MTX 역시 polyglutamate로 전환된다.³⁰⁾ 그러나 아직까지 7-OH MTXPG의 임상적 중요성에 대해 알려지지 않고 있다.

4. MTX의 배설

MTX의 간에서 대사되어 배설되는 경로 뿐만 아니라, 신장을 통해 변화되지 않은 상태로 배설된다. 비록 소량이지만, enterohepatic circulation을 통하여 변으로도 배설된다. 신장을 통한 배설은 사구체 여과(glomerular filtration), 세뇨관 분비(tubular secretion)과 세뇨관 재흡수(tubular reabsorption)의 세가지 과정으로 구성되어 있다. 신장기능이 정상인 환자에 있어, MTX의 혈중농도가 0.2-0.4 μ M 일때의 MTX 신배설률(renal clearance)을 평균 105 (\pm 14) ml/min/m²이다.³¹⁾ 이 수치는 MTX가 저농도로 존재할 때, 주로 사구체 여과와 세뇨관 분비가 관여되는 것을 의미한다. 그러나 MTX의 혈중농도가 2 μ M 이상일 때, 신배설률은 50 ml/min/m² 이하로 급격히 저하되는데,³²⁾ 이는 세뇨관 분비가 포화되었기 때문이다. 아스피린이나 p-aminohippuric acid와 같은 약산성 물질이 혈중에 공존할 때, 세뇨관 분비가 포화되어 MTX의 신배설률이 저하된다.

MTX의 신장배설은 뇨의 속도(urine flow), 뇨의

Table II. MTX 투여 용량에 따른 MTX와 7-OH MTX의 최고 뇨중농도

최고뇨중농도(M)	MTX 투여 용량(g/m ²)		
	0.7-1.4	2.0-4.2	5.6-8.4
MTX	1.52 \times 10 ⁻³	3.30 \times 10 ⁻³	1.08 \times 10 ⁻²
7-OH MTX	1.37 \times 10 ⁻⁴	1.83 \times 10 ⁻⁴	2.83 \times 10 ⁻⁴

pH, 그리고 탈수정도(degree of dehydration) 등에 좌우된다.³³⁾ 고용량 MTX 요법시 최고 뇨중 MTX 농도는 10 mM 이상 올라가며, 이 때에 뇨의 pH가 낮으면 MTX의 침전이 쉽게 형성된다. MTX의 신장내의 침전은 뇨의 속도의 감소를 초래하여, 신기능 저하를 가속화 시킨다.

1984년 Sasaki 등³⁴⁾은 중간 및 고용량 MTX 요법을 사용시, 이론적으로 필요한 뇨의 속도(theoretically required urine flow : TRUF)를 산정하는 공식을 발표하였다. 이 임상실험에 사용한 MTX의 용량은 0.7-8.4g/m²이었으며, 6시간동안 정맥을 통해 약물을 투여하였다.

MTX와 7-OH MTX의 뇨중 배설속도(urinary excretion rate : UER) 계산공식 :

$$UER =$$

$$\frac{\text{뇨량(L)} \times \text{뇨중 MTX나 7-OH MTX 농도(mole/L)}}{\text{뇨 채취시간(min)} \times \text{체표면적(m}^2\text{)}}$$

이론적으로 필요한 뇨의 속도(TRUF) 계산공식 :

$$TRUF \text{ of pH X} = \frac{\text{MTX의 UER}}{\text{MTX의 용해도 at pH X}} + \frac{\text{7-OH MTX의 UER}}{\text{7-OH MTX의 용해도 at pH X}}$$

용량에 따른 MTX와 7-OH MTX의 최고 뇨중농도를 Table II에 요약하였다. MTX나 7-OH MTX의 최고 뇨중농도는 MTX 투여 후, 보통 12시간내에 도달한다. 만약 뇨의 pH가 5.0이라고 가정할 때(Table I과 Table II참조), MTX나 7-OH MTX의 최고 뇨중 농도가 그 용해도에 비해 훨씬 높기 때문에 약물들의 침전이 일어나게 된다.

MTX 투여가 끝난 후 적어도 12-18시간동안 계속하여 뇨를 알칼리화 시켜야 침전을 방지할 수 있다. 또한, 뇨의 pH가 7.0일 때 이론적으로 필요한

Table III. 8g/m²의 MTX를 투여한 후의 pH에 따른 이론적으로 필요한 요의 속도(TRUF) (단위: ml/min/m²)

pH	0-6시간	6-12시간	12-24시간
5.0	20	30	6
6.0	5	9	1.6
7.0	0.9	1.7	0.4

노의 속도(TRUF)는 MTX 투여 후 처음 6시간은 0.9 ml/min/m² 이상, 6-12시간은 1.7 ml/min/m² 이상, 12-24시간은 0.4 ml/min/m²이다(Table III). 따라서, MTX에 의해 유발되는 신장독성을 효율적으로 예방하기 위하여 충분한 수분공급(hydration)을 하여야 하며, 노의 속도를 적어도 1.7 ml/min/m² 이상 유지시켜야 한다.

결 론

이상과 같이 MTX에 대한 약동력학 즉, ADME (흡수, 분포, 대사, 배설) 연구가 괄목할만하게 이루어져 왔다. 예전에는 MTX의 용량은 5-15 mg/m²로 사용되었으나, 급성백혈암 치료에는 1g-2g/m², 골수암 치료에는 36g/m²의 용량까지 안전하게 사용할 수 있는 것은, ADME 연구를 통해 MTX의 체내동태를 충분히 이해할 수 있었기 때문이다. MTX에 대한 임상연구 및 그 대사물들에 대한 연구가 계속되어야 할 것이며, 특히, LV의 경우, 각각의 stereoisomer 즉, l-form과 d-form에 대한 임상약동력학 연구가 절실히 요청된다.

문 헌

- 1) Farber, S, Diamond, L.K. and Mercer, R.D., *et al.*: Temporary reimmisions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin). *New Engl. J. Med.* **238**, 787-793 (1948).
- 2) Goldin, A, Venditti, J.M. and Kline, L., *et al.*: Eradication of leukemic cells (L1210) by methotrexate and methotrexate plus citrovorum factor. *Nature*, **212**, 1548-1550 (1966).
- 3) Straw, J.A., Szapary, D. and Wynn, W.T.:

Pharmacokinetics of the diastereoisomers of leucovorin after intravenous and oral administration to normal subjects, *Cancer Res.*, **44**, 3114-3119 (1984).

- 4) Henderson, E.S., Adamson, R.H. and Oliverio, V.T.: The metabolic fate of tritiated methotrexate II, Absorption and excretion in man, *Cancer Res.*, **25**, 1018-1024 (1965).
- 5) Balis, F.M., Savitch, J.L. and Bleyer, W.A.: Pharmacokinetics of oral methotrexate in children., *Cancer Res.*, **43**, 2342-2345 (1983).
- 6) Cohen, M.H., Creaven, P.J. and Fossieck, B.F. *et al.*: Effect of oral prophylactic broad spectrum nonabsorbable antibiotics on the gastrointestinal absorption of nutrients and methotrexate in small cell bronchogenic carcinoma patients. *Cancer*, **38**, 1556-1559 (1976).
- 7) Pinkerton, C.R., Welshmas, S.G. and Dempsey, S.I., *et al.*: Absorption of methotrexate under standardized conditions in children with acute lymphocytic leukemia, *Br. J. Cancer*, **42**, 613-615 (1980).
- 8) Schornagel, J.H., Vas Engeles MEAG, De Vos D. *et al.*: Bioavailability of methotrexate tablets, *Pharm. Weekbl., (Sci.) Ed.* **4**, 89-90 (1982).
- 9) Wan, K., Hoffman, D.H. and Azarnoff, D.L., *et al.*: Effect of route of administration and effusion on methotrexate pharmacokinetics, *Cancer Res.*, **34**, 3487-3491 (1974).
- 10) Choi, K.E.: Oral bioavailability of methotrexate in children with acute lymphocytic leukemia (unpublished data).
- 11) Stuart, J.F.B., Calman, K.C. and Watters, J., *et al.*: Bioavailability of methotrexate: Implications for clinical use. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **3**, 239-241 (1979).
- 12) Harvey, V.J., Slevin, M.L. and Woollard, R.C. *et al.*: The bioavailability of oral intermediate-dose methotrexate., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **13**, 91-94 (1984).
- 13) Christophidis, N., Vaida, F.J.E. and Lucas, I., *et al.*: Comparison of intravenous and oral high-dose methotrexate in treatment of solid tumors., *Br. Med. J.*, **1**, 298-300 (1979).
- 14) Smith, D.K., Omura, G.A. and Ostray, F.: Clin-

- ical pharmacology of intermediate-dose oral methotrexate., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **4**, 117-120 (1980).
- 15) Pinkerton, C.R., Welshmas, S.G. and Glasgow, J.F.T., *et al.*: Can food influence the absorption of methotrexate in children with acute lymphocytic leukemia? *Lancet*, **11**, 944-946 (1980).
- 16) Lerne, P.R., Creaven, P.J. and Allen, L.M., *et al.*: Kinetic model for the disposition and metabolism of moderate and high-dose methotrexate (NSC-740) in man., *Cancer Chemother. Rep.*, **59**, 811-817 (1975).
- 17) Evans, W.E., Stewart, C.F. and Hutson, P.R., *et al.*: Disposition of intermediate-dose methotrexate in children with ALL., *Drug Intell. Clin. Pharm.*, **16**, 839-842 (1982).
- 18) Bleyer, W.A.: Methotrexate Clinical Pharmacology, current status and therapeutic guidelines., *Cancer Treat. Rev.*, **4**, 87-101 (1977).
- 19) Shapiro, W.R., Young, D.F. and Mehta, B.M.: Methotrexate distribution in cerebrospinal fluid after intravenous, ventricular and lumbar injections. *N. Engl. J. Med.*, **293**, 161-166 (1975).
- 20) Bischoff, K.B., Dedrick, R.L. and Zaharko, D.S., *et al.*: Methotrexate pharmacokinetics., *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1128-1133 (1971).
- 21) Evans, W.E. and Pratt, C.B.: Effect of pleural effusion on high-dose methotrexate kinetics., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **23**, 68-72 (1978).
- 22) Goldman, I.D.: Membrane transport of methotrexate (NSC-740) oral other folate compounds. Relevance to rescue protocols., *Cancer Chemother. Rep.*, Part 3, **6**, 63-72 (1975).
- 23) Lankelma, J., Vanderklein, E. and Ramaekers, F.: The role of 7-hydroxymethotrexate during methotrexate anti-cancer therapy., *Cancer Lett.* **9**, 133-142 (1980).
- 24) Baugh, C.M., Krumdieck, C.L. and Nair, M.G.: Polyglutamylation of methotrexate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **52**, 27-34 (1973).