

## 리포솜에 봉입된 5-플루오로우라실 프로드럭의 약물 동태 및 장기 분포

이계원 · 지웅길\*

충남대학교 약학대학

(Received July 3, 1996)

### Pharmacokinetics and Tissue Distribution of 5-Fluorouracil Prodrugs Entrapped in Liposome

Gye Won Lee and Ung Kil Jee\*

College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

**Abstract**—In cancer chemotherapy, it is necessary to control the pharmacokinetic behavior of an antitumor drug for effective treatment. Therefore, two 5-fluorouracil derivatives synthesized with N-acyloxycarbonyl derivatives {1-(N-t-butyloxycarbonyl)leucyloxymethyl-5-FU (BLFU) and 1-(N-t-carbobenzoyloxymethyl)leucyloxymethyl-5-FU (CLFU)}, prodrugs of 5-fluorouracil, antitumor agent, were loaded into liposome of different lipid compositions. After liposomal drugs were injected intramuscularly, their pharmacokinetics and tissue distribution were assessed. The  $AUC_{0-\infty}$  values were 1.29, 72.50, 85.57, 66.40 and 103.60  $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$  for 5-FU, BLFU, CLFU, BLFU- and CLFU-loaded liposome, respectively. 5-FU was distributed to spleen and liver with a maximal concentration after 1 hr and eliminated after 24 hr. But both prodrugs and dimyristoylphosphatidylcholine liposome entrapped prodrugs were distributed to spleen and liver at a lower concentration but maintained for a long time with a relatively high concentration in lung. Especially, liposome-entrapped CLFU was distributed to lung with a maximal concentration after 1 hr and redistributed to spleen increasingly, while the concentration of liposome-entrapped BLFU in lung reached a maximal level after 12 hr.

**Keywords** □ 5-FU, prodrugs of 5-FU, liposome, pharmacokinetics, tissue distribution.

리포솜은 Gregoridias와 Ryman<sup>1)</sup>에 의해 약물수송체로서 주목받기 시작하면서 생화학, 물리화학 분야에서 생체막의 모델로서, 약물 투여 제형으로서 광범위한 연구가 진행되어 왔다.<sup>2)</sup>

5-플루오로우라실(이하 5-FU로 약함)같은 약물을 이용하는 항암제 요법에서 효과적인 치료를 위해서는 약물동태학적 양상을 조절하는 것이 필요하며 약물 수송체를 사용하여 중앙부위로 약물을 운반하려는 연구가 많이 보고되고 있다.<sup>3,4)</sup> 즉 항암제를 직접 제형에 적용하거나 약물분자를 화학적으로 변형한 프로드럭을

이용하는 방법으로 이러한 약물 수송체를 연구하여 왔다. 그러나 이러한 방법만으로는 항암제의 약물동태를 적당하게 조절하여 전신적인 독성을 완전히 제어하기에는 한계가 있다. 따라서 최근에는 5-FU와 mitomycin C 등의 항암제를 다양한 제형에 적용할 수 있는 가능성을 높이기 위하여 먼저 콜레스테롤기와 같은 지용성의 기를 화학적으로 변형, 도입시켜 지용성이 높은 프로드럭을 합성한 다음 이를 높은 봉입효율로서 봉입시킨 리포솜 또는 O/W 에멀전 같은 약물 수송체에 적용하여 안정성의 문제점을 개선하려는 노력이 경주되어 왔다.<sup>5-8)</sup> 또한 항암제를 W/O 에멀전으로 제제설계하여 근육 투여와 같이 국소적으로 투여하면 임파계로 전달되어 장시간 지속적으로 방출되면서 고농도로

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 042-821-5934 (팩스) 042-821-5903

유지된다는 보고도 있다.<sup>9)</sup>

5-FU는 경구투여시 위장관과 간에서의 초회통과효과가 크고 유수분배계수가 적으므로 위장관 점막을 통한 약물의 흡수가 적어 생체이용률이 매우 낮다. 또한 친수성과 소수성의 성질을 모두 가지고 있는 양친매성 물질이므로 수상 및 리포솜을 이루는 지질 성분에도 잘 녹아 리포솜을 만드는 지질 성분의 선택에 주의를 요하는 약물이며<sup>10)</sup> 리포솜 제조시 봉입률이 매우 낮고 약물의 방출도 빠르게 일어나며 현탁액으로 보관할 때 안정성이 매우 떨어지는 경향을 나타낸다.<sup>11)</sup>

저자 등은 이미 5-FU에 4종의 N-acyloxycarbonyl 유도체를 결합시킨 1-(N-t-butylloxycarbonyl)-glycyloxymethyl-5-FU, 1-(N-t-butylloxycarbonyl)-leucyloxymethyl-5-FU, 1-(N-t-carbobenzyloxymethyl)glycyloxymethyl-5-FU 및 1-(N-t-carbobenzyloxymethyl)leucyloxymethyl-5-FU를 합성하여 수종의 리포솜에 봉입시킨 후, *in vitro*에서 여러 가지 실험과 *in vivo*에서의 항암실험 결과를 발표한 바 있다.<sup>12)</sup> 이러한 실험 결과를 바탕으로 봉입률과 안정성이 좋은 1-(N-t-butylcarbonyl)leucyloxymethyl-5-FU와 1-(N-t-carbobenzyloxymethyl)leucyloxymethyl-5-FU를 봉입한 리포솜 제제를 선택하여 생체에 국소적으로 투여되었을 때 약물의 독성 감소를 기대하였을 뿐만 아니라 지속성 제제로서의 가능성 및 체내 분포에 대해 살펴보고자 하였다.

### 실험방법

**시약 및 기기** - 1-(N-t-butylloxycarbonyl)leucyloxymethyl-5-FU(BLFU)와 1-(N-t-carbobenzyloxymethyl)leucyloxymethyl-5-FU(CLFU)는 실험실에서 합성하였으며 soybean phosphatidylcholine (Epiekuron 200®, 95%, PC)는 Pacific사, dimyristoyl phosphatidylcholine(DMPC), cholesterol (96%, CH) 및  $\alpha$ -tocopherol acetate(95%,  $\alpha$ -TA)는 Sigma사에서 구입하여 사용하였으며 기타 시약 및 용매는 일급 또는 특급을 사용하였다.

기기로는 액체크로마토그래피(SPD 10A UV-Vis Detector, LC-10AD Liquid Chromatograph, C-R 6A Chromatopac, Shimadzu, Japan), 미량 원심분리기(Vision, VS-15000, Korea), Vortex mixer (Model 1801, Dong Yang Scientific Co., Korea),

초음파발생 장치(Cavitator, Mettler Electronics Co., U.S.A.), 조직 분쇄기(Wheaton, U.S.A) 및 기계식 교반기(Chang Shin Scientific Co. Ltd., Korea) 등을 사용하였다.

**약물동태 실험시료의 투여 및 혈액 채취**<sup>6-8, 13, 14)</sup> - 5-FU, BLFU 및 CLFU를 각각 50% PEG 400에 5-FU로서 1 mg/ml에 해당하는 농도로 용해시켜 투여하였고, PC와 PC : DMPC : CH :  $\alpha$ -TA (5 : 5 : 2 : 0.1)로 조성된 리포솜 현탁액을 제조하여 약물과 같은 농도로 희석하여 흰쥐의 오른쪽 뒷다리 근육에 0.1 ml/100 g씩 주사하였다.

흰쥐의 혈장 검체 채취를 위한 채혈은 에텔로 1~2분간 흡입 마취시킨 후 1회용 주사기를 이용하여 heart puncture로 직접 1 ml씩 채혈하였으며 채혈 시간은 0, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 240, 360분 및 24시간으로 하였다. 채혈된 혈액은 즉시 헤파린 처리된 튜브 (heparin 100 I. U./ml)에 넣어 약하게 흔들어서 다음 5,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 혈장을 얻어 정량 전까지 -20°C의 냉동고에 넣어 저장하였다.

**검체의 전처리**<sup>6-8)</sup> - 혈장 중 표준 용액 및 약물 투여 후 채취된 흰쥐의 혈장을 200  $\mu$ l 취하고 여기에 메탄올 300  $\mu$ l를 가하여 vortex로 1분간 혼화하여 단백질을 제거한 후, 15,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 HPLC에 직접 주입하였다. 이 때 HPLC는 모약물인 5-FU의 양으로 정량하였으며 컬럼은  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(300×3.9 mm), 이동상은 0.01 M 초산염 완충액(pH 5.0), 유속은 1.2 ml/min로 하여 266 nm에서 검출하여 분석하였다.

**약물속도론적 매개변수 산출** - 실험으로부터 얻은 분석자료에서 혈장중 약물 농도-시간 곡선을 그리고, 최고혈중농도( $C_{max}$ ) 및 최고혈중농도 도달시간( $T_{max}$ )는 이 곡선에서 직접 구하였다.

$AUC_{0-t}$ 는 사다리꼴 공식에 의하여 구하였으며,  $AUC_{t-\infty}$ 는  $C_t/K$ 로 구하였다.

$$AUC_{0 \rightarrow \infty} = AUC_{0 \rightarrow t} + AUC_{t \rightarrow \infty} = AUC_{0 \rightarrow t} + \frac{C_t}{K}$$

여기에서 K는 terminal phase의 직선 부분의 직선 회귀선으로부터 얻은 겉보기 소실속도 상수값을 의미하며 이 terminal phase에서의 겉보기 반감기(apparent terminal half-life,  $t_{1/2}$ )도 계산하였다. 생체이용률은 각 약물과 약물이 봉입된 리포솜 현탁액을 근육

투여했을 때의 AUC를 5-FU를 근육투여했을 때의 AUC로 나누어 계산하였다. 또한 전신클리어런스 (the time-averaged total body clearance, CL), 혈장중 약물농도-시간의 1차 모멘트 곡선하면적(area under the first moment of the plasma concentration-time curve, AUMC) 및 평균 체류시간 (mean residence time, MRT) 등은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$CL = \frac{\text{dose}}{\text{AUC}}$$

$$\text{AUMC} = \int_0^{\infty} t \cdot C_p dt$$

$$\text{MRT} = \frac{\text{AUMC}}{\text{AUC}}$$

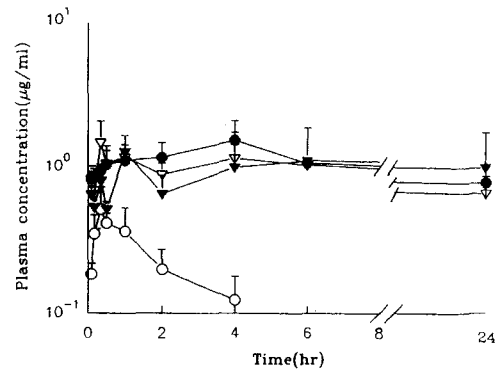
$$V_{ss} = CL \times \text{MRT}$$

$C_p$ 는 시간  $t$ 일 때의 혈장중 5-FU 농도이다.

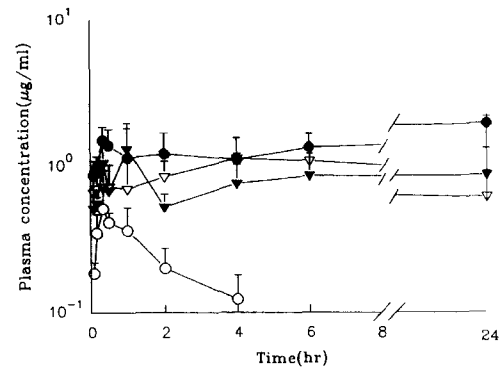
#### 장기 분포 실험<sup>15-17)</sup>

**시료의 투여 및 장기의 채취** - 약물과 PC : DMPC : CH :  $\alpha$ -TA(5 : 5 : 2 : 0.1)로 구성된 약물의 리포솜 현탁액을 약물동태 실험에서와 동일하게 흰쥐의 오른쪽 뒷다리 근육에 0.1 ml/100 g의 농도로 주사하였다. 주사 후 1, 12 및 24 시간에 흰쥐를 에테르 마취시켜 복부를 개복하고 간, 신장(오른쪽, 왼쪽), 심장, 폐 및 근육(왼쪽)의 순으로 적출하였다. 적출된 각 장기를 생리 식염수에 세척하고 이를 여지로 탈수시켜 무게를 평량하여 액체 질소에 넣어 급냉시켜 정량 전까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 의 냉동고에 저장했다. 또한 혈액도 채혈하여 5000 rpm으로 2분간 원심 분리하여 혈장을 얻었다.

**시료의 전처리** - 냉동된 각 장기를 해동시켜 무게 중량의 2배에 해당하는 용량의 0.01 M 초산염 완충액 (pH 4.0)을 넣고 조직 분쇄기를 이용하여 3분간 균질화하였다. 이때 비장, 간 및 신장의 경우에는 직접 균질화하지만 심장, 허파 및 근육은 약간 해동하여 미리 가위로 잘게 자른 다음 조직 분쇄기로 오랜 시간 동안 균질화시켰다. 균질화된 각 장기의 검체 500  $\mu\text{l}$ 를 취하여 원심 분리관에 넣고 여기에 메탄올 500  $\mu\text{l}$ 를 넣어 1분간 vortex하여 단백질을 침전시켰다. 이를 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액 100  $\mu\text{l}$ 를 직접 HPLC에 주입하였으며 이동상으로는 pH 5.5의 초산



(a)



(b)

**Fig. 1** - Mean plasma concentration profile of 5-FU after intramuscular injection of free 5-FU, BLFU, CLFU and prodrugs entrapped in liposomes with two different lipid composition to rat (1 mg/kg as 5-FU, a: BLFU, b: CLFU, Mean  $\pm$  S.D., n=5).

Key:  $\circ$  - Free 5-FU  $\bullet$  - Free BLFU and CLFU  $\nabla$  - BLFU and liposomal CLFU(PC only)  $\blacktriangledown$  - BLFU and liposomal CLFU(PC : DMPC 1 : 1)

염 완충액을 사용하여 분석하였다.

#### 결과 및 고찰

**약물동태** - Fig. 1은 약물과 리포솜 제제를 흰쥐에 근육 주사한 후 얻은 혈장농도의 추이를 나타내었다. 프로드럭과 리포솜 제제는 5-FU보다 초기 혈장농도가 높아졌다가 서서히 떨어지는 양상을 나타내었다. 리포솜 제제에서 피크가 초기에 나타나는 것은 리포솜 표면 근처에 봉입되었던 약물들이 먼저 신속하게 방출되면서 형성된 것으로 보이며 그 이후에는 약물이 서서히 방출

**Table 1**—Pharmacokinetic parameters of free 5-FU, BLFU, CLFU and prodrug entrapped in liposome after intramuscular injection with 1 mg/kg as 5-FU to rats

Treatment	t <sub>1/2</sub> (hr)	AUC <sub>0-2hr</sub> (μg · hr/)	AUC <sub>0-∞hr</sub> (μg · hr/ml)	AUMC <sub>0-2hr</sub> (μg · hr <sup>2</sup> /ml)	AUMC <sub>0-∞hr</sub> (μg · hr <sup>2</sup> /ml)	MRT (hr)	CL (ml/hr)	V <sub>ss</sub> (ml)	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (μg/ml)	BA (%)
Free 5-FU	1.77 ±0.19	0.98 <sup>a</sup> ±0.41	1.29 ±0.6	1.48 <sup>a</sup> ±0.64	3.50 ±1.78	2.81 ±0.46	231.2 ±112.7	605.8 209.1	0.46	0.46 ±0.31	100
Free CLFU	54.42* ±10.73	23.6* ±1.52	85.57* ±10.37	252.3* ±18.23	6700* ±1929.9	77.35* 14.53	2.96** ±0.39	225.2** ±22.28	0.2	0.98 ±0.23	6630
Free BLFU	50.69* ±7.26	23 ±0.96	72.5* ±8.10	254.5* ±14.39	6900* ±542.2	69.77* ±11.06	3.48* 0.36	241.7* ±15.91	0.52	1.03 ±0.13	5620
Liposomal CLFU(PC only)	76.95* ±21.31	24.7* ±1.65	103.6** ±41.58	237* ±22.63	11600 ±8131.7	130.9* ±36.39	2.63 ±1.05	257 ±15.32	0.41	0.72 ±0.18	8030
Liposomal BLFU(PC only)	40.33* ±11.79	22.1* ±4.17	66.4** ±28.47	229.8* ±57.94	4180 ±2812.3	57.19 18.03	4.42* 2.09	225.4* ±32.89	0.25	1.05 ±0.15	5150
Liposomal CLFU(PC : DMPC 1 : 1)	NC <sup>b</sup>	20.1	NC	245	NC	NC	NC	NC	1.1	0.91 ±0.41	NC
Liposomal BLFU(PC : DMPC 1 : 1)	NC	24.3	NC	290	NC	NC	NC	NC	1.17	0.98 ±0.568	NC

a:  $AUC_{0-2hr}$ ,  $AUMC_{0-2hr}$   $BA = \frac{AUC_{0-2hr}}{AUC_{0-2hr} \text{ of 5-FU}} \times 100$

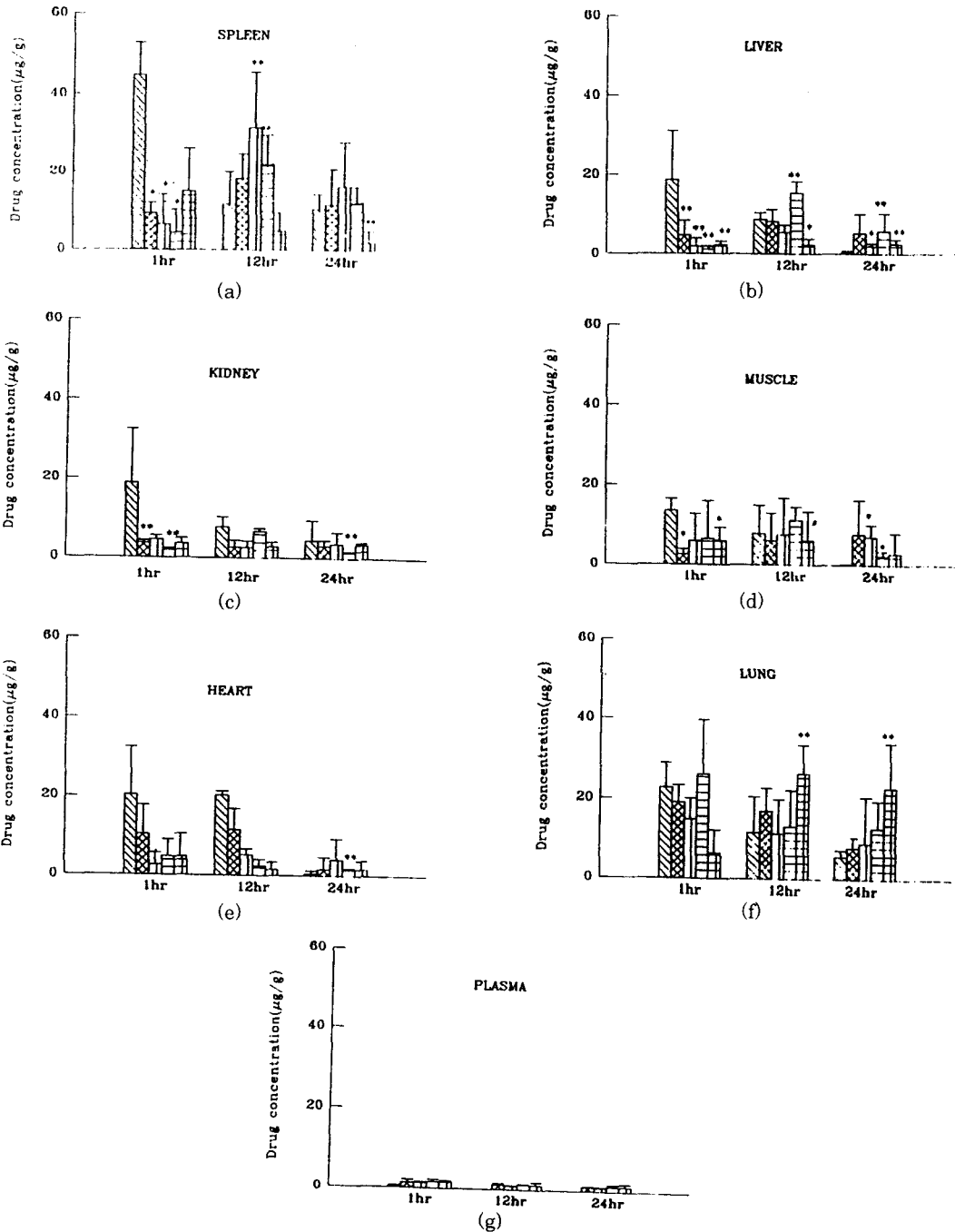
b: Not calculated because it prolonged for a long time \* p < 0.01, \*\* p < 0.05

되면서 피크가 조금씩 높아지는 것으로 보인다.

따라서 5-FU의 프로드럭 및 이를 봉입한 리포솜 제제는 치료 농도에 신속하게 도달하고 그 이후 오랜시간

동안 치료 농도가 유지되므로 부작용을 줄이고 약효를 높일 수 있을 것으로 사료된다.

Table I은 혈장농도 곡선으로부터 각종 parameter



**Fig. 2**—Tissue distribution of 5-fluorouracil after intramuscular injection 1, 12 and 24 hour of 5-FU, BLFU, CLFU and prodrug entrapped in liposome containing DMPC(1 mg/kg as 5-FU, Mean±S.D., n=5, \*P<0.01, \*\*P<0.05).  
Key : ▨: 5-FU, ■: CLFU, ▤: BLFU, ▩: liposomal CLFU, ▪: liposomal BLFU

인  $t_{1/2}$ , AUC, AUMC, MRT,  $V_{ss}$ , CL,  $T_{max}$  및  $C_{max}$ 를 구하여 나타내었다. AUC 및 AUMC는 모두 5-FU보다 훨씬 높게 나타났으며 프로드럭과 리포솜은 24시간까지의 AUC와 AUMC는 비슷한 수치를 나타낸 반면 무한대까지는 프로드럭 자체와 PC로 구성된 리포솜은 서로 비슷한 수치를 나타내었고 PC : DMPC(1 : 1)로 구성된 리포솜은 약물 농도가 더 서서히 감소되어 계산할 수 없을 만큼 큰 값을 나타내었다. 또한 무한대 시간까지의 평균 체류시간(MRT)은 5-FU가 2.81시간인데 반하여 프로드럭 및 리포솜 제제들은 30배 이상의 증가를 보여 주었다. 생체이용률도 크게 증가하였으며 PC로 구성된 리포솜에서 BLFU는 약물 자체와 차이가 없었지만 CLFU는 6633에서 8031로 증가하였다. 따라서 프로드럭 및 리포솜 제제 특히 DMPC 리포솜은 5-FU보다 생체이용률의 증가를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

**장기 분포** - 각 장기를 적출하여 얻어진 약물 농도를 Fig. 2에 나타내었다. 정맥 주사와는 다르게 약물을 피하나 근육 투여와 같이 국소적으로 주입하면 대부분 임파계를 거쳐서 정맥혈을 타고 전신으로 순환하는 과정을 받게 되므로 고분자 물질이나 미립자의 약물 운반체를 주입하면 목적으로 하는 임파계 부위에 선택적으로 약물을 보낼 수 있다.

5-FU 자체는 초기에 주로 비장, 폐, 심장 및 간에서 높은 농도로 분포하다가 간 및 비장 등에서 대사를 받아 24시간에는 거의 존재하지 않고 체외로 배설되는 것으로 추정된다.

일반적으로 정맥혈이 많이 존재하는 폐에서 약물 대사는 아주 적지만 약물동태학에 큰 영향을 미치며 어느 정도의 지용성을 가지는 약물이 많이 흡수되는 것으로 알려졌다. 따라서 지용성이 증가된 BLFU나 CLFU는 1시간에 폐에서 고농도로 나타나며 BLFU는 폐에 분포되었다가 일부가 비장으로 재분포하여 12시간에는 비장에서 고농도로 나타나지만 여전히 폐에서도 높은 농도를 유지한다. 또한 리포솜 제제는 프로드럭 자체와 같은 경로를 거치지만 각 조직에 도달할 수 있는 양은 입자 크기에 의해 영향을 받게 되어 약간 다른 분포를 보여 주고 있다. 즉 CLFU를 봉입한 리포솜보다 BLFU를 봉입한 리포솜은 분포도 다양하고  $3\mu\text{m}$  이상의 입자도 많이 존재하여 대부분 폐에서 걸리므로 12와 24시간에도 폐에 높은 농도로 유지되었다. 또한 CLFU를 봉입한 리포솜은 초기에 정맥혈을 타고 폐에

서 높다가 12시간에 내피망상계가 주로 존재하는 간과 비장으로 재분포를 이루게 된다.

따라서 프로드럭 또는 리포솜 제제로 투여하였을 때 각 장기에서 5-FU보다 고농도를 유지하면서 간에서의 초회통과효과를 피할 수 있을뿐 아니라 리포솜으로 제제화했을 경우 폐에 대한 선택성을 높일 수 있을 것으로 기대가 된다.

그러나 리포솜을 정맥 투여와 같이 전신적으로 투여하면 분포되는 과정이나 간에서의 초회통과효과 등이 다르게 나타날 것이다.

## 결론

항암제로 사용되고 있는 5-FU의 프로드럭으로 5-FU에 N-acyloxycarbonyl 유도체를 결합시킨 BLFU와 CLFU를 합성하여 이 약물을 리포솜으로 제조하여 근육투여한 다음 5-FU 및 5-FU 프로드럭의 혈중농도 변화 및 조직분포를 비교, 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 약물과 리포솜 제제를 각각 근육투여하였을 때의  $AUC_{0-\infty}$ 의 값은 5-FU와 프로드럭인 BLFU 및 CLFU는 1.29, 72.50 및 85.57이었고 프로드럭의 리포솜제제는 66.4와 103.6  $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$  이었다.

2. 5-FU는 1시간에 간과 비장에서 각각 18.8  $\mu\text{g}/\text{g}$  과 45  $\mu\text{g}/\text{g}$ 의 고농도로 존재하다 대사를 받아 점차 소실되었지만 BLFU는 1시간에 폐에서 15.6  $\mu\text{g}/\text{g}$ 의 높은 농도로 존재하다 12시간에 비장으로 재분포하였으며 CLFU는 폐에서 높은 농도로 장시간 유지되었다.

3. 프로드럭의 리포솜 제제는 CLFU의 경우 1시간에 폐에서 28.1  $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높다가 시간이 경과함에 따라 비장으로 재분포되는 경향이 있었고 BLFU의 경우 12시간에 폐에서 26.3  $\mu\text{g}/\text{g}$ 으로 가장 높은 농도를 유지하였다.

## 감사의 글

이 논문은 1994. 3~1996. 2 한국과학재단 핵심전문 연구비에 의해 연구되었다. 이에 감사드린다.

## 문헌

- Gregoriadis, G. : Carriers in biology and medi-

- cin. p. 287 (1981).
- 2) Szoka, F. and Papahadjopoulos, D. : Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles (liposomes). *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* **9**, 467 (1980).
  - 3) Yoshiko, T., Hashida, M., Muranishi, S. and Sezaki, H. : Specific delivery of mitomycin C to the liver, spleen and lung nano- and microspherical carriers of gelatin. *Int. J. Pharm.* **8**, 131 (1981).
  - 4) Hashida, M., Kojima, T., Muranishi, S. and Sezaki, H. : Antitumor activity of prolonged-release derivatives of cytosine arabinoside, cytosine arabinoside-agarose conjugate. *Gann* **69**, 839 (1978).
  - 5) Sasaki, H., Matsukawa, Y., Hashida, M. and Sezaki, H. : Characterization of alkylcarbamoyl derivatives of 5-fluorouracil and their application to liposome. *Int. J. Pharm.* **36**, 147 (1987).
  - 6) Sasaki, H., Fukumoto, M., Hashida, M., Kimura, T. and Sezaki, H. : Development of lipophilic prodrugs of Mitomycin C III. Physicochemical and biological properties of newly synthesized alkoxy carbonyl derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **31**, 4083 (1983).
  - 7) Tokunaga, Y., Iwasa, T., Fusisaki, J., Sawai, S. and Kagayama, A. : Liposomal sustained-release delivery systems for intravenous injection IV. Antitumor activity of newly synthesized lipophilic 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine prodrug-bearing liposomes. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 3574 (1988).
  - 8) Tokunaga, Y., Iwasa, T., Fusisaki, J., Sawai, S. and Kagayama, A. : Liposomal sustained-release delivery systems for intravenous injection V. Biological disposition of liposome-entrapped lipophilic prodrug of 1- $\beta$ -D-arabinofuranosylcytosine. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 4060 (1988).
  - 9) Hashida, M., Egawa, M., Muranishi, S. and Sezaki, H. : Role of intramuscular administration of water-in-oil emulsions as a method for increasing the delivery of anticancer agents to regional lymphatics. *J. Pharm. Biopharm.* **5**, 225 (1977).
  - 10) Tyrrell, D. A., Heata, T. D., Colley, C. M. and Brenda, E. R. : New aspects of liposomes. *Biochim. Biophys. Acta.* **457**, 259 (1978).
  - 11) Stephen, P. S. and Paul, A. K. : Liposomal entrapment of fluxuridine. *J. Pharm. Sci.* **66**, 984 (1977).
  - 12) Lee, G. W., Jee, U. K. : Cytotoxicity, stability and antitumor activity of 5-fluorouracil prodrugs entrapped in liposomes. *Yahak Hoeji in press* (1996).
  - 13) Kar, R., Kohen, R. A., Terem, T. M., Nahabedian, M. Y. and Wile, A. G. : Pharmacokinetics of 5-fluorouracil in rabbits in experimental regional chemotherapy. *Cancer Res.* **46**, 4491 (1986).
  - 14) Rahman, A., White, G., More, N. and Schein, P. S. : Pharmacological, toxicological and therapeutic evaluation in mice of doxorubicin entrapped in cardiolipin liposomes. *Cancer Res.* **45**, 796 (1985).
  - 15) Poste, G., Bucana, C., Raz, A., Bugelski, P., Kirsh, R. and Fidler, I. J. : Analysis of the fate of systemically administered liposomes and implications for their use in drug delivery. *Cancer Res.* **42**, 1412 (1982).
  - 16) Hisaoka, M., Tsukada, K. and Morioka, T. : Studies on liposome-encapsulated carboquinone II. Effect of liposomal encapsulation of carboquinone on distribution and clearance in animals. *J. Pharm. Dyn.* **5**, 18 (1982).
  - 17) Babbage, J. W. and Berenbaum, M. C. : Increased therapeutic efficacy of a lipid-soluble alkylating agent incorporated in liposomes. *Br. J. Cancer* **45**, 830 (1982).