

신규 캠포테신계 항암제 CKD-602의 약물동태: 흡수

이주몽 · 손용성 · 김준겸* · 신희종 · 이형기 · 이상준 · 홍청일

(주) 종근당 종합연구소

(Received May 30, 1998)

Pharmacokinetic Study of CKD-602, A New Camptothecin Derivative: Absorption

Ju-Mong Lee, Yong-Sung Sohn, Joon-Kyum Kim*, Hee-Jong Shin,
Hyung-Ki Lee, Sang-Joon Lee and Chung Il Hong

Chong Kun Dang Research Center, Chong Kun Dang Corporation, 410,
Shindorim-Dong, Kuro-Gu, Seoul, Korea., 152-600

Abstract—The pharmacokinetics of CKD-602, a new camptothecin anticancer derivative, were studied in mice, rats and dogs following a single or multiple intravenous administration, and the following results were obtained. The blood levels of CKD-602 declined in biphasic fashions with peak plasma levels (C_0) of 2.63 $\mu\text{g/ml}$ in mice, 2.27 $\mu\text{g/ml}$ in tumor bearing mice, 2.84 $\mu\text{g/ml}$ in rats at a dose of 20 mg/kg, and of 0.02 $\mu\text{g/ml}$ in dogs at a dose of 0.5 mg/kg. The plasma half-lives ($t_{1/2\beta}$) were 9.55 hr in mice, 9.94 hr in tumor bearing mice, 9.98 hr in rats and 12.75 hr in dogs. AUC of CKD-602 was increased linearly with the dose at a range from 5 to 20 mg/kg. Moreover, CL_{tot} and V_{dss} were also not significantly changed with increasing the dose. On the other hand, after 5 daily intravenous bolus injection of CKD-602 (5 mg/kg) in rats, $t_{1/2\beta}$, AUC and MRT of CKD-602 were 11.90 hr, 3.19 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$, and 11.61 hr, respectively, which were slightly higher than after the single bolus injection.

Keywords □ CKD-602, Camptothecin derivatives, pharmacokinetics, single bolus injection, multiple bolus injection.

캠포테신은 중국 원산의 회수나무(*Camptotheca acuminata*)에서 분리된 항암활성을 나타내는 알카로이드¹⁾로서 *in vitro*에서 강력한 세포독성 작용과 다제내성 세포주에 높은 항암활성²⁻⁵⁾을 나타내지만 극히 난용성인 까닭에 개발연구는 중지되었다. 그러나 캠포테신의 항암작용 양식이 DNA 이중나선의 풀림과정에 관여하는 topoisomerase type I(이하, topo-I)을 저해하는 새로운 기전으로, 사람의 각종 종양에 고농도로 분포함⁶⁻⁷⁾이 밝혀짐에 따라 구조와 활성간의 유도체 연구가 80년대 중반이후 활발히 진행되어 왔다. 이러한 노력의 일환으로 Daiichi사와 Yacurt사에서 공동 개발한 Irino-

tecan과 SmithKline Beecham사의 Topotecan이 94년부터 난치성 폐암, 난소암 등의 영역에 대한 발매허가를 취득하게 되었고, 98년 현재 구미 각국에서 다른 항암영역을 확보하기 위해 임상시험중에 있다. 그러나 이들 물질이 여전히 치료안전역 범위가 협소하며 전임상연구에서 항원성을 발현하는 등의 부작용을 나타냄에 따라 (주) 종근당 종합연구소에서는 83종의 캠포테신계 유도체 연구를 통해 가장 치료안전역이 뛰어나며 항암활성이 강력한 물질인 20(S)-7-[2-(N-Isopropylamino)ethyl]camptothecin HCl, CKD-602⁸⁻¹¹⁾을 개발하게 되었다(Fig. 1). 본 연구에서는 CKD-602의 체내 동태시험의 일환으로 종양이식 생쥐를 포함한 설치류 및 비갈견에 대하여 단회 또는 다회 투여시의 혈중농도를 HPLC법으로 분석, 검토 하였다.

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-677-3841 (팩스) 02-632-0214

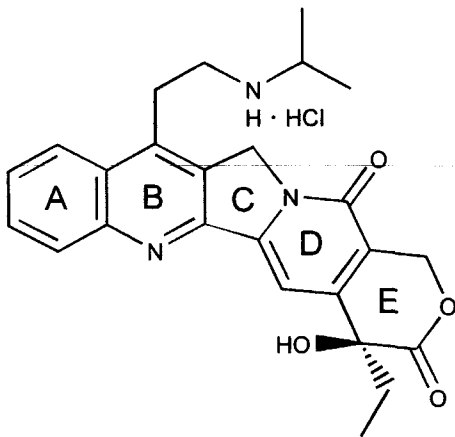


Fig. 1 — Chemical structure of CKD-602, a new camptothecin derivative.

실험방법

시약

실험에 사용한 CKD-602(20(S)-7-[2-(N-Isopropylethyl)amino]ethyl] camptothecin HCl: Lot. No. 12115)는 (주) 종근당에서 합성하였으며, 투여액의 조제는 ml 당 mannitol과 tartaric acid를 각각 50 mg과 0.06 mg을 함유한 용액(pH 3.5)에 녹여서 사용하였다. 기타 시약은 모두 특급 또는 HPLC 용을 사용하였다.

실험동물

체중 18~23 g의 숫컷 및 암컷의 ICR계 생쥐는 대한 실험동물(충청북도, 음성)에서, 180~220 g의 숫컷 Sprague-Dawley계 흰쥐는 Charles River(Japan)에서, 10~15 kg의 숫컷 비글견은 The Jackson Laboratory(USA)에서 구입하여 1주일동안 순화 사육하였다. 생쥐와 흰쥐는 실온이 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $60 \pm 5\%$, 환기방식은 12회/1시간, 조명시간은 12시간/일(아침 7시 점등, 저녁 7시 소등)으로 설정된 동물실에서 사육되었으며, 고형사료(삼양사)와 음용수를 자유로이 섭취하게 하였다. 또한 약물투여 16~20시간 전에는 사료를 제한하였다.

단회투여후 혈액채취

흰쥐를 pentobarbital sodium(40 mg/kg, i.p.)의 마취하에서 경동맥과 경정맥내에 폴리에틸렌관(PE-60, Clay Adams, Parsipany, USA)을 삽입하고 마취에서 완전 회복한 후에 약물을 투여하였다. CKD-

602의 투여는 경정맥으로 각각 5, 10, 20 mg/kg의 용량으로 10초간 주입한 후, 5, 10, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 1440 분대에 동일 흰쥐의 경동맥에서 혈액을 약 0.5 ml 씩 채취하였다. 이를 5분이내에 4°C , 1500 rpm에서 10분간 원심분리(Hanil Scientific Industrial Co.)하여 혈장을 얻었으며, 제단백 처리를 위해 -30°C 메탄올과 7%(v/v) perchloric acid를 동량 가하여 10초간 vortex한 후 다시 원심분리(3400 rpm, 3분)하여 그 상층액을 분석전까지 -60°C 에서 냉동보관하였다.

종차에 따른 약물투여 및 혈액채취

정상 생쥐와 Sarcoma 180 종양이식 생쥐에 CKD-602, 10 mg/kg을 꼬리정맥내에 투여한 후 에틸 마취하에서 심장으로부터 5, 10, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 1440분의 시간대에 헤파린이 함유된 주사기로 혈액을 취하였다. 채혈후, 즉시 원심분리하여 혈장을 얻었으며, 여기에 -30°C 메탄올과 7%(v/v) perchloric acid를 동량 가하여 제단백처리를 하여 그 상층액을 분석전까지 -60°C 에서 냉동보관하였다.

흰쥐의 경우 경동맥과 경정맥내에 cannulation 하여 CKD-602, 10 mg/kg을 경정맥으로 서서히 투여하였으며, 약물투여후 5, 10, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 1440 분대에 미리 경동맥에 삽입된 폴리에틸렌관을 통하여 혈액을 취하였다. 이를 원심분리하여 혈장을 얻고 제단백 처리를 거친 후, 그 상층액을 분석전까지 -60°C 에서 냉동보관하였다.

CKD-602, 0.5 mg/kg을 비글견의 오른쪽 상완정맥에 정속주입기(Infusion pump, Harvard, USA)를 통하여 30분간 0.827~0.927 ml/min의 속도로 서서히 주입하였다. 약물투여후 15, 30, 35, 45, 60, 90, 150, 270, 390, 510, 1470 분대에 왼쪽 상완정맥에서 취한 혈액을 바로 원심분리하여 혈장을 얻었으며, 제단백 처리 과정을 거쳐 그 상층액을 분석전까지 -60°C 에서 냉동보관하였다.

반복투여후 혈액채취

숫컷 흰쥐의 꼬리정맥내에 CKD-602, 5 mg/kg을 5일간 매일 반복투여한 후 마지막 날에 경동맥과 경정맥내에 폴리에틸렌관을 삽입하여 약물을 투여하였으며, 투여후 5, 10, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 360, 480, 1440 분대에 혈액을 채취하였다. 이를 단회투여시와 같

Table I—HPLC conditions for the analysis of CKD-602

Items	Conditions	
Instruments	P1000 pump (TSP Co., USA) AS3000 autosampler (TSP Co., USA) FL2000 fluorescence detector (TSP Co., USA) PC1000 software (TSP Co., USA)	
Column	Nucleosil 5C18 (5 μ m, 4 \times 250 mm, Chemopak)	
Temperature	25 $^{\circ}$ C	
Mobile phase	Methanol	400 ml
	Water	300 ml
	Ion-Pair Chromatography (IPC) Bb	12.5 ml
	1.0 M Phosphate buffer (pH 6.0)	25 ml
	Triethylamine	2.5 ml
	adjust to pH 6.0 with 85% phosphoric acid	
Detector	Fluorescence (Ex 370 nm, Em 434 nm)	
Flow rate	1.0 ml/min	
Inj. volume	50 μ l	

은 방법으로 처리하여 분석전까지 그 상층액을 -60° C에서 냉동보관하였다.

HPLC 정량법

검체의 분석은 Beijnen 등¹²⁾의 방법을 응용하여 역상의 고속액체크로마토그래피법으로 행하였으며, 이때의 기기 및 분석조건을 Table I에 표시하였다.

약물동태학적 해석 및 통계학적 분석

정맥내 CKD-602의 투여후의 약물농도-시간의 데이터는 bi-exponential decay로 해석하였으며, 비선형 최소회귀 분석법¹³⁾을 응용한 WinNonlin(Scientific Consulting, Inc., USA)으로 약물동태학적 파라미터를 산출하였다. 이 때 사용한 weighing factor는 $1/C^2$ (C=약물농도)이었다. 또한 통계학적 유의성 검증은 analysis of variance에 따른 Duncan's multiple range test를 이용하여 실시하였다.

실험결과 및 고찰

단회투여시의 혈장중 농도추이

흰쥐에 CKD-602를 5, 10, 20 mg/kg의 용량으로 단회 정맥내 투여하여 그 혈중농도를 측정된 결과, 혈장중 농도추이는 bi-exponential decay로 감소하였으며 (Fig. 2), 약물투여후 초기혈중농도(이하, C_0)가 각각 2.49, 2.98, 4.61 μ g/ml의 농도를 나타내었고, 1시간 경과시에는 C_0 의 무려 10~30%까지 감소하였다. 혈중 분포후상 반감기(이하, $t_{1/2\beta}$)는 각각 9.97, 9.71, 10.55시간으로 20 mg/kg까지는 용량증가에 의한 변동을

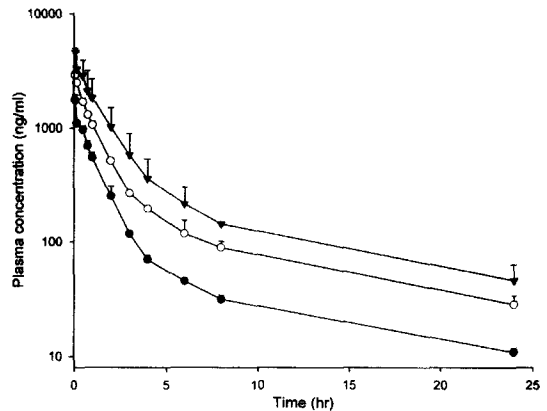


Fig. 2—Plasma concentration profiles of CKD-602 after intravenous administration in rats. Each point represents the mean \pm S.D. of 5 rats. ●: 5 mg/kg, ○: 10 mg/kg, ▼: 20 mg/kg.

나타내지 않았으나, 혈중곡선하면적(이하, $AUC_{0-\infty}$)는 각각 2.25, 5.06, 9.74 μ g \cdot hr/ml로서 용량의존적으로 증가하는 선형성을 보였다. 한편, 전신클리어런스(이하, CL_{tot}) 및 분포용적(이하, V_{dss})는 각각 2.23, 1.99, 2.08 l/hr/kg 및 13.15, 14.78, 13.96 l/kg로서, 농도의 증가는 혈장에서의 소실속도와 분포용적에는 영향을 미치지 않았으며 체내저류시간(이하, MRT)에서도 각각 5.91, 7.46, 6.86 시간으로 용량증가에 의한 체내저류에 거의 변화가 없었다(Table II).

용처에 따른 혈장중 농도추이

CKD-602를 종양이식 생쥐와 정상 생쥐, 그리고 흰쥐에 각각 10 mg/kg을, 비글견에는 최대내성용량에 가까운 0.5 mg/kg을 투여하여 이 때의 체내에서의 약물

Table II—Pharmacokinetic parameters of CKD-602 after intravenous administration in experimental animals (n=5)

Animals	Dose (mg/kg)	Pharmacokinetic parameters					
		C ₀ ^{b)} (μg/ml)	t _{1/2β} (hr)	AUC _{0-∞} (μg · hr/ml)	CL _{tot} (l/hr/kg)	Vd _{ss} (l/kg)	MRT (hr)
Normal mouse ^{a)}	10	2.63	9.55	1.95	5.13	19.7	3.84
Tumor bearing mouse ^{a)}	10	2.27	9.94	1.72	5.82	21.3	3.67
Rat	5	1.49±0.52	9.97±0.68	2.25±0.07	2.23±0.07	13.2±0.7	5.91±0.37
	10	2.84±0.23	9.98±1.16	5.06±0.38	1.99±0.15	14.8±0.7	7.46±0.41
	20	4.61±0.37	10.6±2.9	9.74±1.75	2.08±0.38	14.0±1.9	6.86±1.69
Dog	0.5	0.023±0.004	12.8±0.8	0.60±0.04	0.83±0.05	10.9±0.6	13.0±0.1

^{a)} Pharmacokinetic parameters was estimated from the mean plasma concentration of five mice pooled.

^{b)} Initial concentration

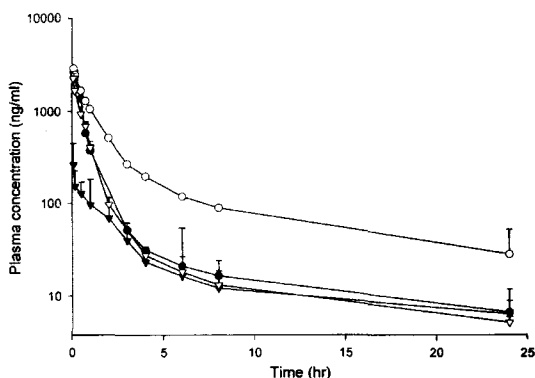


Fig. 3—Plasma concentration profiles of CKD-602 after intravenous the mean±S.D. (n=5). ●: mouse (10 mg/kg), ○: rats (10 mg/kg), ▼: dogs (0.5 mg/kg), ▽: tumor bearing mouse (10 mg/kg).

동태추이를 비교하였다(Fig. 3, Table II). 종양이식 생쥐와 정상 생쥐에서의 t_{1/2β}는 각각 9.94시간과 9.55시간으로서 나타났으며, 이는 흰쥐의 9.98시간과 거의 같은 양상으로 나타났다. 그러나 AUC_{0-∞}에서는 1.72 μg · hr/ml 및 1.95 μg · hr/ml으로서 흰쥐의 약 1/3에 해당하였으며, 종양이식 생쥐의 약물동태학적 파라미터는 정상 생쥐와 거의 차이가 없는 것으로 나타났다. 한편, 비글견의 경우는 생쥐와 흰쥐의 1/20의 용량으로 투여되었음에도 불구하고, t_{1/2β}와 AUC_{0-∞}는

각각 12.75시간과 0.60 μg · hr/ml이었으며, CL_{tot}와 Vd_{ss}는 각각 0.83 l/hr/kg과 10.85 l/kg, MRT는 13.04시간으로 실험동물의 체표면적이 커짐에 따라 소실속도는 느려지는 반면에 t_{1/2β} 및 MRT는 길어짐을 알 수 있다.

반복투여시의 혈장중 농도추이

반복투여시의 체내동태와 관련된 축적성 여부를 검토하기 위하여 5일간 정맥내로 반복투여하여 그 혈중농도추이를 조사하였다(Table III). 흰쥐에 CKD-602, 5 mg/kg을 5일간 매일 반복투여 하였을때의 체내동태의 양상은 t_{1/2β}가 9.97시간에서 11.90시간으로, AUC_{0-∞}는 2.25 μg · hr/ml에서 3.19 μg · hr/ml으로 각각 유의성은 인정되지 않았으나 대체로 증가하는 경향을 보였고, MRT는 5.91시간에서 11.61시간으로 약 2배나 유의성있게(p<0.01) 증가하였다. 또한 혈장에서의 약물소실지표인 CL_{tot}는 2.23 l/hr/kg에서 1.57 l/hr/kg로 다른 약물동태학적 파라미터와는 달리 감소하였으나, Vd_{ss}는 13.15 l/kg에서 18.02 l/kg으로 증가(p<0.01)하였다. 이러한 사실을 종합해 볼 때, CKD-602는 5 mg/kg의 용량으로 5일간 반복투여시에는 미약하나마 서서히 체내에서 축적의 양상이 나타나는 것으로 사료되었다.

Table III—Pharmacokinetic parameters of CKD-602 5 mg/kg after single or 5-daily intravenous administration in rats (n=5)

Dose (mg/kg)	Pharmacokinetic parameters					
	C ₀ ^{a)} (μg/ml)	t _{1/2β} (hr)	AUC _{0-∞} (μg · hr/ml)	CL _{tot} (l/hr/kg)	Vd _{ss} (l/kg)	MRT (hr)
Single (1 day)	1.49±0.05	9.97±0.68	2.25±0.07	2.23±0.07	13.2±0.7	5.91±0.37
Multiple (5 day)	1.07±0.04	11.9±0.8	3.19±0.89	1.57±0.46	18.0±5.6	11.6±1.1

^{a)} Initial concentration

결 론

캄토테신계 항암제인 CKD-602의 실험동물에서의 흡수과정에 관한 체내동태를 파악하였을 때의 결과는 다음과 같았다.

1. 흰쥐에서의 단회 정맥내 투여시 CKD-602의 혈장 중 농도추이는 반수치사량(LD₅₀)의 1/3에 해당하는 20 mg/kg까지, AUC_{0-∞}가 용량의존적으로 증가하였으며, t_{1/2β} 및 CL_{tot}, Vdss은 거의 일정한 선형성의 약물동태학적 양상(linear pharmacokinetics)을 나타내었다.

2. CKD-602를 10 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여된 종양이식 생쥐 및 비이식 생쥐에서의 혈중농도 추이는 t_{1/2β} 및 AUC_{0-∞} 등의 약물동태학적 파라미터에서 거의 차이가 없었으며, 생쥐에서 비글견에 이르기까지 거의 모든 동물종에서 체표면적이 커짐에 따라 소실속도가 느려지고, 혈중반감기 및 평균체류시간이 길어지는 양상을 나타내었다.

3. 흰쥐에 5 mg/kg의 CKD-602를 5일간 24시간 간격으로 정맥내에 반복투여 하였을 때에는 단회투여시에 비해 t_{1/2β}, AUC_{0-∞}, Vdss 등은 유의성은 나타내지 않았으나 증가하는 경향을 보여주었고, 이와는 달리 CL_{tot}는 오히려 감소하는 비선형성의 약물동태학적 양상을 나타내었다. 비록 5 mg/kg의 용량은 임상 사용 예정용량의 약 60배에 해당하는 고용량이라 사료되나 5일간 반복투여시에는 서서히 체내축적의 양상이 나타날 것으로 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건의료기술연구개발사업 과제에 일환으로 수행되었기에 이에 감사드립니다. 그리고 본 원고를 검토해주신 한국과학기술원(KIST) 생체대사연구센터의 권오승 박사님께도 감사를 드립니다.

문 헌

1) Wall, M. E., Wani, M. C., Cook, C. E., Palmer, K. H., Mcphail, A. T. and Sim, G. A. : Plant antitumor agents: 1. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibition from *camptotheca acuminata* *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 3888 (1966).

2) Creaven, P. J., Allen, L. M. and Muggia, F. M. : Plasma camptothecin (NSC-100880) levels during a 5-day course of treatment: relation to dose and toxicity *Cancer Chemother. Rep.* **56**, 573 (1972).

3) Gottlieb, J. Q. A. and Luce, J. K. : Treatment of malignant melanoma with camptothecin (NSC-100880) *Cancer Chemother. Rep.* **56**, 10 (1972).

4) Moertel, C. G., Scutt, A. J., Reitemeier, R. J. and Hahn, R. G. : Phase II study of camptothecin (NSC-100880) in the treatment of advanced gastrointestinal cancer *Cancer Chemother. Rep.* **56**, 95 (1972).

5) Muggia, F. M., Creaven, P. J., Hansen, H. H., Cohen, M. H. and Selawry, O. S. : Phase I clinical trial of weekly and daily treatment with camptothecin (NSC-10080): correlation with preclinical studies *Cancer Chemother. Rep.* **56**, 515 (1972).

6) Bodley, A. L. and Liu, L. F. : Topoisomerases as novel targets for cancer chemotherapy *Biotechnology* **6**, 1315 (1988).

7) Giovanelta, B. C., Stehlin, J. S., Wall, M. E., Wani, M. C., Nicholas, A. W., Liu, L. F., Silber, R. and Potmesil, M. : DNA topoisomerase I-targeted chemotherapy of human colon cancer in xenografts *Science* **246**, 1046 (1989).

8) Jew, S. S., Ok, K. D., Kim, H. J., Kim, M. G., Kim, J. M., Kim, J. K., Cha, K. H., Lee, K. K., Han, H. J. and Lee, H. S. : Enantioselective synthesis of 20(S)-camptothecin using sharpless catalytic asymmetric dihydroxylation *Tetrahedron: Asymmetry* **6**, 1245 (1995).

9) Jew, S. S., Kim, H. J., Kim, M. G., Roh, E. Y., Cho, Y. S., Kim, J. K., Cha, K. H., Lee, K. K., Han, H. J., Choi, J. Y. and Lee, H. S. : Synthesis and antitumor activity of 7-substituted 20-(RS)-camptothecin analogues *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **6**, 845 (1996).

10) Jew, S. S., Kim, H. J., Kim, M. G., Roh, E. Y., Cho, Y. S., Kim, J. K., Cha, K. H., Lee, K. K., Han, H. J., Choi, J. Y. and Lee, H. S. : Synthesis and *in vitro* cytotoxicity of (RS)-20-desethyl-20-substituted camptothecin analogues *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **6**, 849 (1996).

- 11) Lee, J. H., Sohn, Y. S., Lee, J. M., Kim, J. K., Ahn, S. K., Jew, S. S., Park, J. G. and Hong, C. I. : Antitumor activity of CKD-602, a novel camptothecin derivative *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **39**, 303 (1998).
- 12) Beijnen, J. H., Smith, B. R., Keijer, W. J., Van-Gijn, R., Huinink, W. W. Ten Bokkel, Vlasveld, L. Th., Rodenhuis, S. and Underberg, W. J. M. : High performance liquid chromatographic analysis of the new antitumor drug SK&F104864-A (NSC609699) in plasma *J. Pharm. Biomed. Anal.* **8**, 789 (1990).
- 13) Yamaoka, K., Tanigawara, Y., Nakagawa, T. and Uno, T. : A pharma cokinetic analysis program (multi) for microcomputer *J. Pharmacobio-Dyn.* **8**, 246 (1985).