

신규 캠포테신계 항암제 CKD-602의 약물동태: 분포, 대사 및 배설

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

(주) 종근당 종합연구소

(Received May 30, 1998)

Pharmacokinetic Study of CKD-602, A New Camptothecin Derivative: Distribution, Metabolism and Excretion

Ju-Mong Lee, Jun-Hee Lee, 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 distribution, metabolism and excretion of CKD-602(20(S)-7-(2-(N-Isopropylamino)ethyl) camptothecin · HCl), a new camptothecin derivative, were investigated in rats after a single administration of CKD-602. 1. The tissue levels of CKD-602 given to mice by the intravenous route at a dose of 20 mg/kg were the highest in intestine, followed in descending order by kidney, liver, stomach, lung, heart, spleen and plasma. The concentrations of CKD-602 after 24 hrs decreased to less than 2% of the peak level in most tissues except the skin. The urinary and fecal excretion of CKD-602 were 47.6% and 44.4% of the administered dose, respectively, with 0.7% remaining in the rinse. 2. After administration of CKD-602 at 10 mg/kg in rats, metabolism of this compound was examined in plasma, urine, and feces. The plasma samples were collected for 24 hr, urinary and fecal samples for 72 hr. While any peak of CKD-602 in HPLC chromatograms was not detected from plasma and urine it was detected in feces (peaks, 9.8 min). However, additional peak area was about 0.5% of the peak area of parent CKD-602. Therefore, CKD-602 may be eliminated with the parent form and rarely metabolized in the body. 4. After i.v. administration of CKD-602 at 10 mg/kg in rats, urinary and fecal excretions were examined for 72 hrs post dose period. 87% of total urinary excretion of CKD-602 was excreted within 8 hr after administration, 53%, and 32% of total fecal excreted amounts were determined in 0-24 hr and 24-48 hr periods, respectively. The total excretion amounts of CKD-602 into urine and feces were 94% of the administered dose.

Keywords □ CKD-602, Camptothecin derivatives, pharmacokinetics, distribution, metabolism, excretion.

캠포테신¹⁾은 중국원산의 회수나무(*Camptotheca acuminata*)에서 단리된 천연 항종양 알카로이드로서 *in vitro*에서 강력한 살세포작용을 나타낸 것으로 판명된 이래, 임상시험을 통한 개발에 착수되었으나 극히 난용성으로 이와 관련된 골수억제 및 출혈성 방광염 증상으로 인한 독성²⁻⁵⁾으로 인하여 그 개발이 중단되었다. 그러나

1990년대 들어서 캠포테신이 가지는 독특한 메카니즘, 즉, 다른 항암제군의 DNA topoisomerase type II(이하, topo-II) 효소 저해기전⁶⁻⁷⁾과는 달리 DNA topoisomerase type I(이하, topo-I)효소를 저해함⁸⁻⁹⁾으로 인하여 많은 관심과 활발한 유도체 연구가 수행되고 있다. 이들 효소들은 DNA 복제와 전사과정 중에 관련된 supercoiled DNA의 rearranging 및 relaxation 과정에 깊이 관련된 것으로 알려져 왔으나, type I 효소는 type II와는 달리 정상세포의 분열과 증식과정에 크게

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-677-3841 (팩스) 02-632-0214

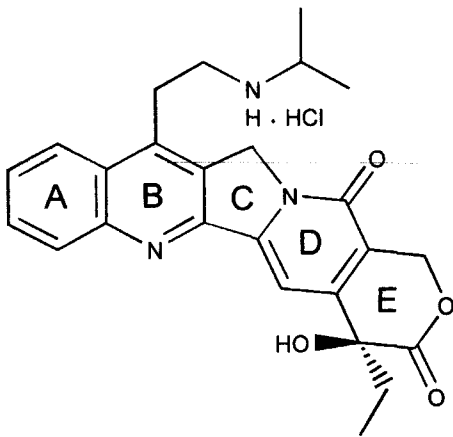


Fig. 1 — Chemical structure of CKD-602, a new camptothecin derivative.

관여되어 있고, 대장 및 난소, 식도, 임파절 등의 여러 종양조직에 고농도로 존재하고 있음이 밝혀졌다.¹⁰⁻¹²⁾ 이러한 이유로 인해 캄토테신과 같은 topo-I 저해 활성을 가진 화합물들이 임상에서 내성이 발현된 종양들의 치료를 위해 개발이 진행되어 오고 있다. 이러한 캄토테신의 작용기전이 밝혀진 이후 캄토테신 분자에 대한 구조-활성의 연구가 본격적으로 시작되었으며, 특히 활성영역이라고 일컬어지는 캄토테신 구조의 E ring과 수용성을 증대시킬 수 있는 A, B ring의 구조-활성에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다.¹²⁾ 그 결과 1995년 이후 2종의 캄토테신 유도체인 Topotecan과 Irinotecan이 출시되기에 이르렀다. 이에 (주) 종근당에서는 캄토테신 모핵 B-ring의 7번 위치에 수용성과 활성을 증가시킨 7-2-(N-Isopropyl amino)ethyl-(20, S)-camptothecin, CKD-602(Fig. 1)를 개발하였으며, 본보에서는 CKD-602의 체내동태연구의 일환으로 CKD-602의 단회 투여시의 분포, 대사 및 배설에 관련한 체내약물동태를 HPLC법을 이용하여 분석, 검토 하였다.

실험방법

시약

실험에 사용한 CKD-602(20(S)-7-[2-(N-Isopropylamino)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)으로 조제한 후, membrane filter (0.22 μ m, Sartorius, USA)로 여과하여 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 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)로 설정된 동물실에서 사육되었으며, 고형 사료(삼양사)와 음용수를 자유로이 섭취하게 하였다. 또한 약물투여 16~20시간전에는 사료를 제한하였다.

조직분포

Sarcoma 180 종양을 피하에 집종한 숫컷 ICR계 생쥐에 CKD-602, 20 mg/kg을 꼬리정맥내에 투여한 후 10, 30, 60, 120, 360, 1440 분대에 에텔 마취하에서 각 시간대에에서 한 마리씩 심장에서 약 0.5 ml의 혈액을 헤파린이 함유된 주사기로 채혈하였다. 이를 5분 이내에 원심분리(1500 rpm, 10분, 4°C)하여 혈장을 얻었으며, 제단백처리를 위해 -30°C 메탄올과 7%(v/v) perchloric acid를 동량 가하여 10초간 vortex한 후 다시 원심분리(3400 rpm, 3분)하여 상층액을 얻은 후, 분석전까지 -60°C 에서 냉동보관하였다. 또한 방혈치사후 적출한 각각의 피부, 근육, 소장, 간장, 폐, 위장, 심장, 혈장, 비장, 흉선, 뇌 등의 장기 등을 빙냉 생리식염수로 세정하고 탁습한 후, 조직중량에 대하여 4배량의 1.15% (w/v) KCl을 가한 후, polytron homogenizer(Wheaton Co., USA)를 사용하여 빙냉하에서 균질화하였다. 원심분리에서 얻어진 상층액은 분석전까지 -60°C 에서 냉동보존하였다.

대사연구

흰쥐에 CKD-602 10 mg/kg을 정맥내로 투여하여 혈액은 약물투여전 및 투여후 3, 6 및 24 시간대에, 뇨와 변은 대사케이지(Nalgene Co., USA)에서 각각 0, 24, 48, 72 시간과 0, 24, 48, 72 시간대에 채취하였다. 채취한 혈액은 바로 원심분리하여 제단백 처리를 거친 후 분석전까지 그 상층액을 -60°C 에 냉동보존하였다. 채취한 요는 membrane filter(0.22 μ m, Sartorius, USA)로 여과한 후 메탄올로 25배 희석하여 이를 원심분리한 후, 그 상층액을 -60°C 에서 냉동보존하였다. 또

한 분변은 중량의 4배량에 해당하는 증류수를 가하여 polytron homogenizer(Wheaton Co., USA)로서 빙냉하에서 균질화한 다음 냉각원심분리(3,400 rpm, 15분)하여 얻어진 상층액을 -60°C에서 분석전까지 냉동보존하였다.

배설시험

흰쥐에 CKD-602, 10 mg/kg을 꼬리정맥내에 투여하여 뇨와 변을 대사케이지(Nalgene Co., USA)에서 각각 0, 8, 24, 48, 72 시간과 0, 24, 48, 72 시간대에 자연배뇨법으로 채취하였다. 채취한 요는 membrane filter(0.22 µm, Sartorius, USA)로 여과한 후 메탄올로 25배 희석하여 이를 원심분리한 후 그 상층액을 분석전까지 -60°C에서 냉동보존하였다. 또한 분변은 중량의 4배량에 해당하는 증류수를 가하여 polytron homogenizer(Wheaton Co., USA)로서 빙냉하에서 균질화한 다음, 원심분리(3,000 rpm, 15분)하여 얻어진 상층액을 -60°C에서 냉동보존하였다.

HPLC 정량법

검체의 분석은 Beijnen 등¹³⁾의 방법을 응용하여 역상의 고속액체크로마토그래피법으로 행하여졌으며, 이때의 기기 및 분석조건을 Table I에 표시하였다.

약물동태학적 해석 및 통계학적 분석

조직내의 약물농도-시간의 데이터는 bi-exponential decay로 해석하였으며, 비선형 최소회귀 분석법¹⁴⁾을 응용한 WINNONLIN 프로그램(Scientific Con-

sulting, Inc., USA)으로 약물동태학적 파라미터를 산출하였다. 이때 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

조직분포

Sarcoma 180 종양이식 암컷 ICR계 생쥐에 대하여 CKD-602를 20 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여하였을 때의 조직내 농도는 Table II에 나타내었으며, 이때의 약물동태학적 파라미터와 각 장기의 혈중곡선하면적(이하, AUC_{0-24hr})는 Table III과 Fig. 2에 나타내었다. 조직중의 CKD-602의 농도는 어느 조직에서도 투여 초기 (30분 이내)에 최고치에 달하였고, bi-exponential decay로 하강하였다. 혈중 분포후상 반감기(이하, $t_{1/2\beta}$)는 대부분의 조직에서 혈장에 비해 길었고, 조직내 CKD-602의 AUC_{0-24hr} 는 소장과 신장에서 가장 높게 나타난 것이 주목되었다. 그 다음으로 간장>폐>위장>심장>혈장>비장>흉선>난소, 종양, 피부>뇌 등의 순의 농도를 나타내었으며, 뇌에서의 CKD-602의 농도가 제일 낮아 6시간 이후에는 검출한계 이하의 농도(0.1 µg/ml, g tissue)를 유지하였다. 그리고 약물투여후 24시간째의 각 조직중에서의 농도는 각각 최고 농도의 2% 이하였다. 이상의 결과로 보았을때 CKD-602의 각 장기에서의 분포양상은 같은 캄토테신 유도체인 Topotecan의 양상¹⁵⁾과 비슷한 것으로 나타났으며, 특히 신

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) Nucleosil 5C18 (5 µm, 4×250 mm, Chemopak)
Column	25°C
Temperature	Methanol
Mobile phase	Water
	10n-Pair Chromatography (IPC) B6
	1.0 M Phosphate buffer (pH 6.0)
	Triethylamine
	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 µl

Table II—Tissue concentrations of CKD-602 20 mg/kg after intravenous administration in Sarcoma 180 tumor bearing female mice

Tissue	Time after administration					
	10 min	30 min	1 hr	2 hr	6 hr	24 hr
Plasma	7.07±0.76	4.99±0.97	2.24±0.40	0.88±0.05	0.12±0.01	0.090±0.002
Brain	0.23±0.04	0.19±0.01	0.14±0.01	0.10±0.01	not detected	not detected
Heart	10.2±2.0	4.13±0.65	1.69±0.27	0.60±0.07	0.26±0.06	0.10±0.01
Liver	24.9±2.4	17.6±4.1	8.38±1.83	5.93±0.69	1.66±0.23	0.11±0.01
Kidney	109±23	39.9±8.7	11.0±3.0	5.44±0.89	0.66±0.04	0.33±0.07
Lung	12.3±1.2	8.16±1.03	4.09±0.90	2.20±0.20	0.34±0.05	0.16±0.02
Thymus	2.98±0.16	2.27±0.14	1.94±0.08	1.13±0.21	0.19±0.05	0.10±0.01
Spleen	5.50±0.28	4.59±0.31	2.58±0.36	1.56±0.55	0.25±0.06	0.04±0.01
Stomach	11.4±0.6	9.40±1.19	6.20±1.04	4.13±0.47	1.11±0.13	0.20±0.06
Intestine	26.4±2.3	49.8±5.4	40.8±4.0	32.3±5.8	13.4±6.4	0.30±0.13
Muscle	5.05±0.80	3.37±0.61	1.84±0.36	0.81±0.20	0.15±0.02	0.13±0.02
Skin	2.11±0.27	1.58±0.16	0.76±0.11	0.42±0.04	0.14±0.03	0.11±0.02
Ovary	2.42±0.53	1.66±0.21	0.76±0.29	0.24±0.02	0.16±0.04	0.03±0.02
Tumor	2.18±0.37	1.49±0.08	0.86±0.10	0.62±0.10	0.23±0.05	0.06±0.02

Each values represents tissue concentrations ($\mu\text{g}/\text{ml}$, g tissue) \pm S.D. of five mice pooled.

Table III—Pharmacokinetic parameter of CKD-602 in tissues after intravenous administration at a dose of 20 mg/kg in Sarcoma 180 tumor bearing female mice

Tissue	Pharmacokinetic parameters ^{a)}		
	$t_{1/2\beta}$ (hr)	MRT (hr)	AUC _{0-24 hr} ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$, g)
Plasma	10.2	3.65	9.80
Brain	1.65	0.85	0.31
Heart	11.8	4.41	11.5
Liver	4.54	3.77	48.7
Kidney	16.8	2.13	83.9
Lung	1.49	4.07	19.9
Thymus	16.9	5.27	8.49
Spleen	6.61	3.56	11.4
Stomach	6.96	4.95	33.1
Intestine	3.35	4.72	222
Muscle	4.41	5.11	8.90
Skin	25.9	7.08	5.43
Ovary	7.61	5.17	7.61
Tumor	8.27	5.90	6.05

^{a)} Each parameters were calculated from mean tissue concentrations ($\mu\text{g}/\text{ml}$, g tissue) of five mice pooled.

장에서의 매우 높은 분포양상은 배설과정에서 나타난 뇨로의 우선적 배설과 무관치 않은 것으로 사료되었다. 또한 24시간 후의 거의 모든 장기에서 최고농도의 2% 이하로 약물농도가 감소한 것은 단회투여시 CKD-602가 거의 축적을 시사하지 않는 것으로 사료되었다.

대사

새로이 개발되고 있는 동종 캄토테신계 항암제중 화학적 구조가 CKD-602와 구조상으로 가장 유사한 To-

potecan의 경우 9번 위치의 dimethylaminomethyl기가 대사과정에서 탈 메틸화(demethylation)가 일어나며, 그 양은 뇨에서의 경우 임상시험시 투여용량의 약 1-4% 정도라고 보고되고 있다.¹⁶⁾ 이에 CKD-602의 경우 7번 위치에 isopropylaminoethyl기가 부분적인 대사를 받을 가능성이 있어 혈장과 뇨, 변에서의 생체내에서의 대사에 의한 대사물 존재여부와 그 실체를 규명하고자 하였다. CKD-602를 10 mg/kg의 용량으로 흰쥐의 정맥내에 단회투여 하였을때 혈장은 24시간까지, 뇨와 변은 72시간까지의 대사물의 존재여부와 실체를 형광검출기를 갖춘 HPLC를 이용하여 측정하였다. 이때의 CKD-602의 피크는 6.2분대에 나타났으며, 이외의 다른 피크는 혈중과 뇨에서는 발견되지 않았고, 단지 변에서는 9.8분대에서 발견되어 대사물은 하나 정도로 추정되었다(Fig. 3-5). 그러나 이 피크는 주 피크에 대하여 각각 약 0.5%(피크 면적비)이하였다. 또한 형광파장의 excitation 파장과 emission 파장을 각기 290 nm에서 420 nm, 370 nm에서 590 nm까지 변화시키면서 검색한 결과 주 피크 이외의 다른 피크는 발견되지 않았다. 또한 CKD-602는 혈중과 뇨, 변에서 총 CKD-602 투여량의 99.2% 이상이 미변화체로 존재하였으며, 이것으로 보아 CKD-602의 대사는 경미한 것으로 사료되었다.

배설

CKD-602의 배설경로를 규명하기 위하여 흰쥐에 10 mg/kg의 용량으로 단회 정맥내 투여하여 뇨 또는 변으

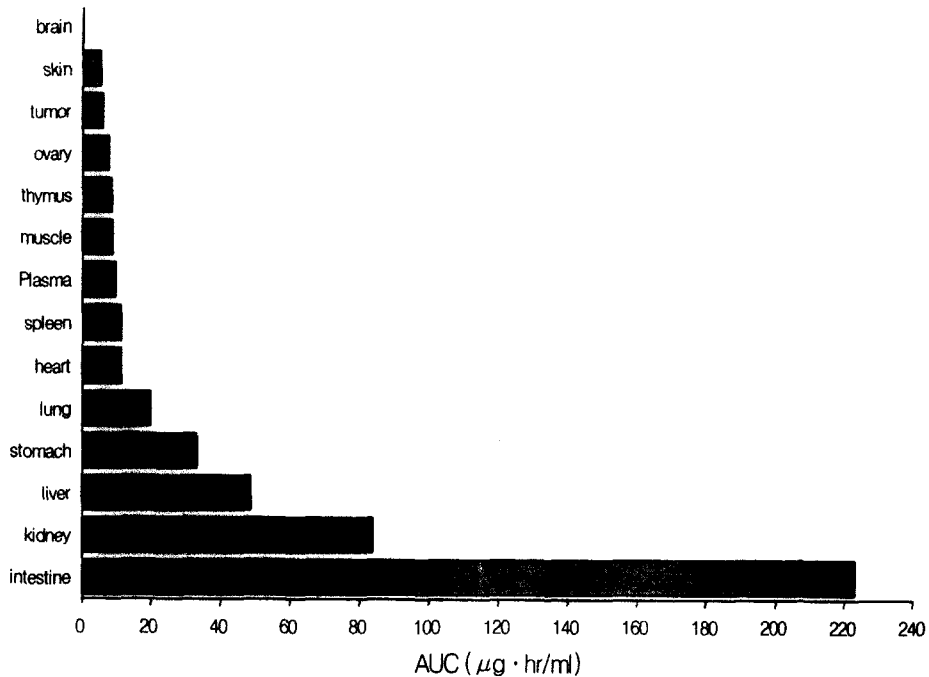


Fig. 2 — Tissue AUC_{0-24hr} of CKD-602 after intravenous administration at a dose of 20 mg/kg in Sarcoma 180 tumor bearing mice. Each parameters were calculated from mean tissue concentrations (µg/ml, g tissue) of five mice pooled.

로의 배설율을 대사케이지를 이용한 자연배뇨법으로 조사하였다(Table IV). 뇨로의 배설은 0시간에서 8시간까지 투여량의 41.3%가 배설되었으며, 8~24시간 및 24~48시간, 그리고 48~72시간까지는 각각 4.13, 1.43, 0.77%가 배설되어 뇨로의 총배설량은 47.6% 이었다. 이 때 CKD-602의 뇨로의 배설은 거의 8시간이내에 대부분 이루어지는 것으로 나타났다. 한편 변으로의 배설은 0~8시간, 8~24시간, 24~48시간 그리고 48~72시간까지 분석한 결과, 8시간까지는 배설이 이루어지지 않았으며, 그 다음부터 각각 23.4, 14.2, 6.72%가 배설되어 검출시간까지는 총 투여량의 44.4%가 배설되었다. 이러한 변으로의 배설은 48시간까지 변으로의 총배설량의 53%가 48시간까지 32%에 이르고 있어 CKD-602는 변으로 배설될 경우에는 이틀간에 걸쳐 배설됨을 알 수 있었다. 결국 CKD-602는 주로 뇨 및 변으로 골고루 배설되고 있음을 알 수 있었다.

결 론

CKD-602의 체내에서의 약물동태를 파악하기 위한 일환으로 분포와 대사, 배설의 전과정을 검토해 보았다.

1. CKD-602를 종양이식 생쥐에 20 mg/kg으로 단회투여 하였을 때의 조직내의 약물분포양상을 24시간까지의 AUC로 비교하였을때 소장, 신장에서 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 간장>폐>위장>심장>혈장>비장>흉선>난소≒종양>뇌의 순으로 분포함을 알 수 있었다. 그리고 24시간대의 조직내 농도는 각 조직에서 최고농도의 2% 이하로 감소하여 그 축적성은 인정되지 않았다.

2. CKD-602는 흰쥐의 혈장 및 뇨, 변에서 거의 대사를 받지 않는 intact form으로 약 99.2% 이상이 존재하는 것으로 나타났으며, 주 피크 이외의 피크는 그 함량이 0.5% 이하였다. 이것으로 보아 모핵의 7번 위치에서의 dimethylaminomethyl기의 탈메틸화가 일어나는 Topotecan과 달리 CKD-602는 같은 위치에 isopropylaminoethyl기를 가지고 있어 보다 안정한 것으로 사료되었다.

3. CKD-602를 10 mg/kg의 용량으로 정맥내 투여하였을 때의 72시간까지 뇨와 변으로는 각기 약물투여량의 47.6%, 44.4%가 배설되어 72시간내에 거의 배설이 이루어짐을 알 수 있었다. 또한 이때까지의 뇨와 변으로의 배설총량은 92.7% 이었다. 이는 투여된 약물이

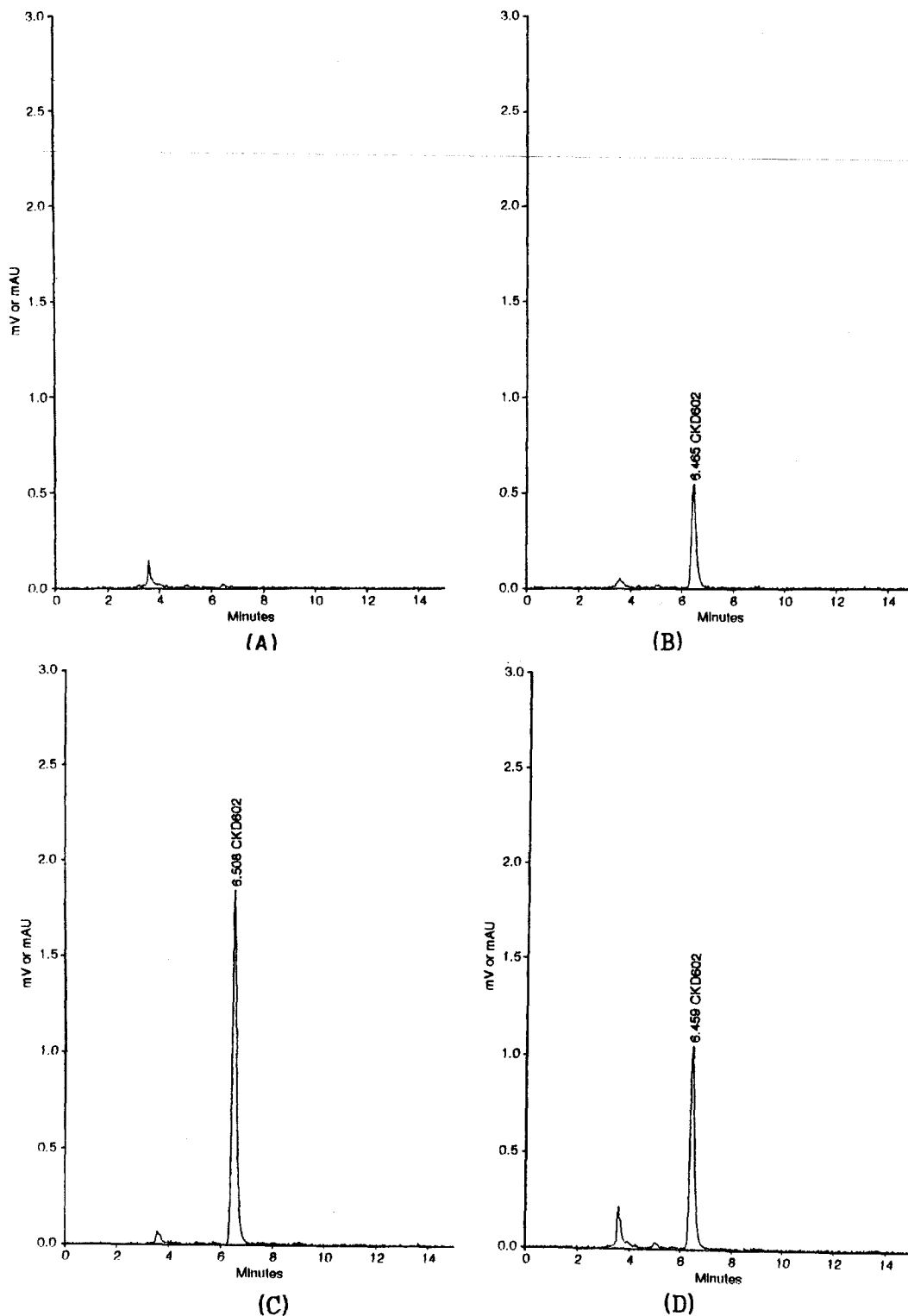


Fig. 3—Fluorescence chromatograms of blank (A), standard (B), 3 hr (C), 6 hr (C) plasma sample after administration of CKD-602 10 mg/kg (i.v.) in rats.

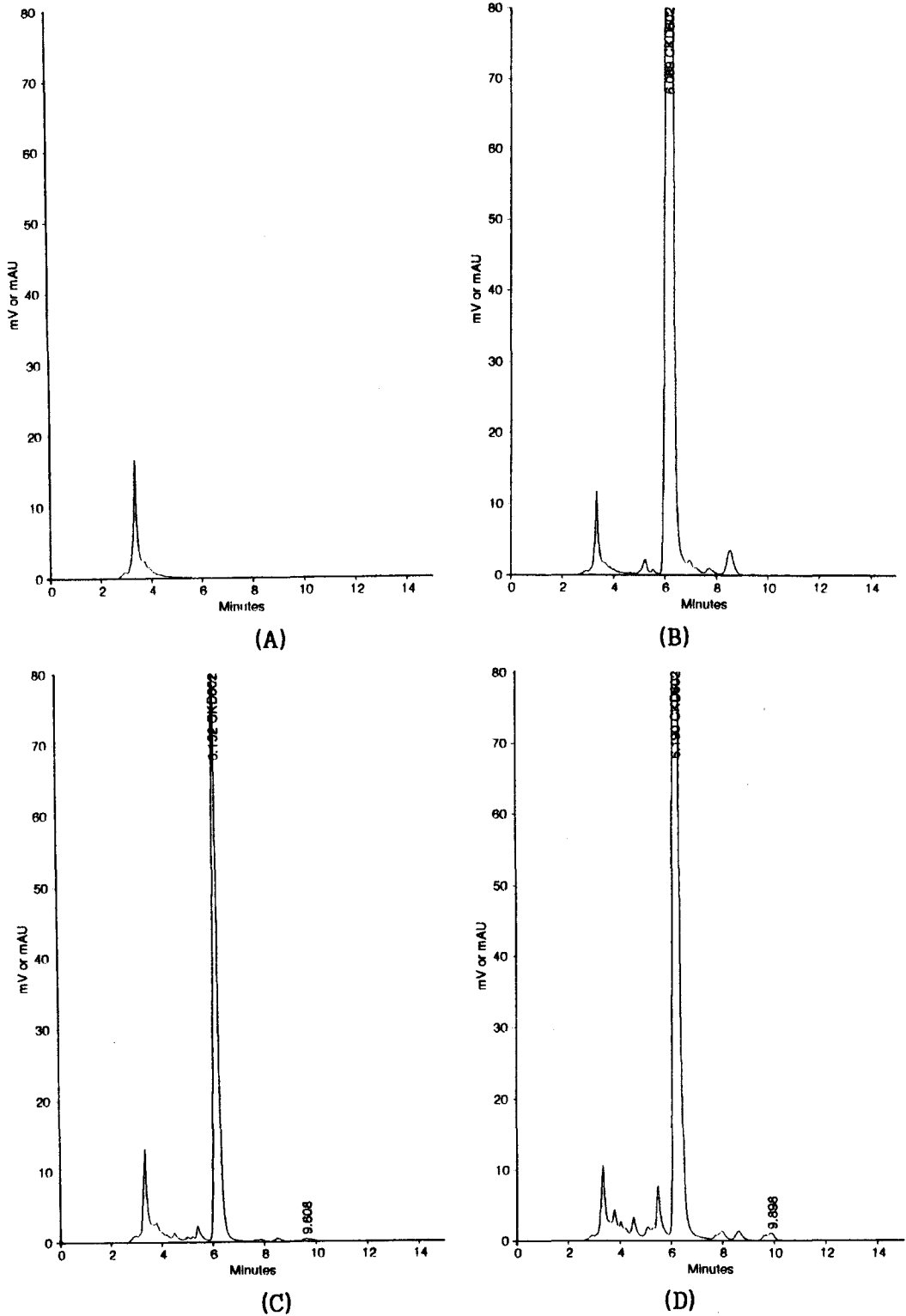


Fig. 4—Fluorescence chromatograms of blank (A), standard (B), 24 hr (C), 48 hr (D) urinary sample after administration of CKD-602 10 mg/kg (i.v.) in rats.

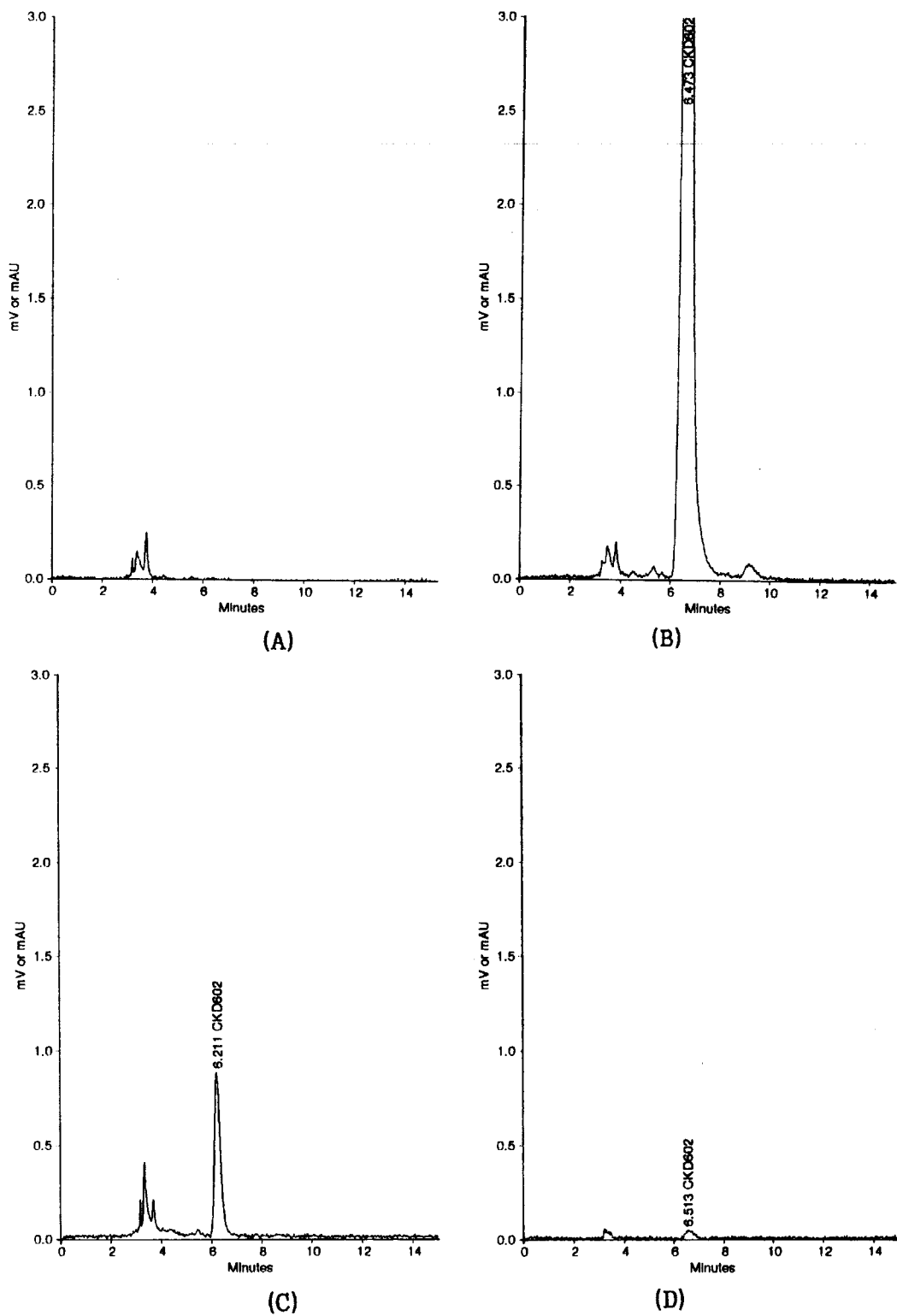


Fig. 5 — Fluorescence chromatograms of blank (A), tandard (B), 24 hr, 48 hr (C) fecal sample after administration of CKD-602 10 mg/kg (i.v.) in rats.

Table IV— Urinary and fececal excretion of CKD-602 after intravenous administration at a dose of 10 mg/kg in rats

Drug	Dose (mg/kg)	Time (hr)	Route excretion (%)			
			Urine	Feces	Rinse	Total ^{a)}
CKD-602	10	0~8	41.3±2.4	— ^{b)}	— ^{b)}	— ^{b)}
		8~24	4.13±0.81	23.4±1.8	— ^{b)}	68.8
		24~48	1.43±0.48	14.2±1.7	— ^{b)}	15.6
		48~72	0.77±0.25	6.72±0.78	0.74±0.35	8.23
		Total	47.6±2.9	44.4±1.1	0.74±0.35	92.7

^{a)} Total: urine+feces+rins

^{b)} Samples are not collected

^{c)} Each values represents the mean±S.D. of 5 rats

체내에 축적되는 율이 크지 않다는 것을 나타낸다고 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건 의료기술연구개발사업 과제의 일환으로 수행되었기에 이에 감사드립니다. 그리고 본 원고를 검토해주신 한국과학기술원(KIST) 생체대사연구센터의 권오승 박사님께도 감사를 드립니다.

문헌

- 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**, 103 (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) Hsiang, Y. H. and Liu, L. F. : Identification of mammalian DNA topoisomerase I as an intracellular target of the anticancer drug camptothecin *Cancer Res.* **48**, 1722 (1988).
- 7) Hsiang, Y. H., Hertzberg, R., Hech, S. and Liu, L. F. : Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I *J. Biol. Chem.* **260**, 14873 (1985).
- 8) Hsiang, Y. H., Wu, H. Y. and Liu, L. F. : Topoisomerases: novel therapeutic targets in cancer chemotherapy *Biochem. Pharmacol.* **37**, 1801 (1988).
- 9) Rose, K. M. : DNA topoisomerases as targets for chemotherapy *FASEB J.* **2**, 2474 (1988).
- 10) Bodley, A. L. and Liu, L. F. : Topoisomerases as novel targets for cancer chemotherapy *Biotechnology* **6**, 1315 (1988).
- 11) Giovanela, 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).
- 12) Kingsbury, W. D., Boehm, J. C. and Jakas, D. R. : Synthesis of watersoluble (Aminoalkyl) camptothecin analogues: Inhibition of topoisomerase I and antitumor activity *J. Med. Chem.* **34**, 98 (1991).
- 13) 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).
- 14) Yamaoka, K., Tanigawara, Y., Nakagawa, T. and Uno, T.: A pharmacokinetic analysis program (multi) for microcomputer *J. Pharmacobio-Dyn.* **8**, 246 (1985).
- 15) Hiroshi, F., Masaaki, O., Ayuko, T., Hiroharu, A., Ryutaro I. and Hiroaki, A. : Pharmacokinetics of SK&F104864 in experimental animals II. Tissue distribution *Jpn. J. Cancer Chemother.* **22**(10), 1789 (1995).
- 16) Rosing, H. and Herben, V. M. M. : Isolation and structural confirmation of N-desmethyl topotecan a metabolite of topotecan *Cancer Chemother. Pharmacol.* **97**, 498 (1996).