creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000233275

2006년 2월

박사학위논문

프라보노이드류인 모린과 나린진이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향

조선대학교 대학원

약 학 과

나 종 학

프라보노이드류인 모린과 나린진이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향

Effects of Flavonoids, Morin and Naringin, on the Paclitaxel Bioavailability after Oral and Intravenous Administration of Paclitaxel in Rats

2006 년 2 월 일

조선대학교 대학원

약 학 과

나 종 학

프라보노이드류인 모린과 나린진이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향

지도교수 최 준 식

이 논문을 약학 박사학위신청 논문으로 제출함.

2005 년 10 월 일

조선대학교 대학원

약 학 과

나 종 학

나종학의 박사학위논문을 인준함

위원장	전남대학교 교 수	신 상 철 인
위 원	조선대학교 교 수	최 후 균 인
위 원	전남대학교 교 수	이 용 복 인
위 원	조선대학교 조교수	한 효 경 인
위 원	조선대학교 교 수	최 준 식 인

2005 년 12 월 일

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT ····· 1

***Part* Ⅰ. 모린이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향**

Abstract ····· 3

Ⅰ.서론 ····· 5

Ⅱ.실험방법 ····· 10

A. 시료, 시약 및 기기 ····· 10

B. 실험동물 ····· 10

C. 경구투여 및 시료 채취 ····· 11

D. 파크리탁셀 분석 ····· 12

E. HPLC조건 및 혈장크로마토그램 ····· 12

F. 파크리탁셀 약물동태학 분석 ····· 15

G. 통계처리 ····· 15

Ⅲ. 실험결과 ····· 16

A. 경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터 ····· 16

B. 정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터 ····· 16

Ⅳ. 고찰 ····· 24

Ⅴ. 결론 ····· 26

Ⅵ. 참고 문헌 ····· 28

***Part* Ⅱ; 나린진이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향**

Abstract ····· 37

Ⅰ.서론 ····· 39

Ⅱ.실험방법 ····· 43

A. 시료, 시약 및 기기 ····· 43

B. 실험동물 ····· 43

C. 경구투여 및 시료 채취 ····· 44

D. 파크리탁셀 분석 ····· 45

E. HPLC 조건 및 혈장크로마토그램 ····· 45

F. 파크리탁셀 약물동태학 분석 ····· 46

G. 통계처리 ····· 46

Ⅲ. 실험결과 ····· 47

A. 경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터 ····· 47

B. 정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터 ····· 47

Ⅳ. 고찰 ····· 55

Ⅴ. 결론 ····· 57

Ⅵ. 참고 문헌 ····· 59

결 론 ····· 67

표목차

Table 1. Mean plasma concentrations (ng/ml) of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 18

Table 2. Mean plasma concentrations (ng/ml) of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 19

Table 3. Mean (± S.D.) pharmacokinetic parameters of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 22

Table 4. Mean (± S.D.) pharmacokinetic parameters of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 23

Table 5. Mean plasma concentrations (ng/ml) of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 49

Table 6. Mean plasma concentrations (ng/ml) of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 50

Table 7. Mean (± S.D.) pharmacokinetic parameters of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 53

Table 8. Mean (± S.D.) pharmacokinetic parameters of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 54

도목차

Figure 1. Chemical structure of paclitaxel ····· 9

Figure 2. Chromatograms of blank plasma (A) and plasma spiked (B) with internal standard and paclitaxel ····· 13

Figure 3. Calibration curve of paclitaxel spiked in rat's blank plasma · 14

Figure 4. Mean plasma concentration (ng/ml) of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30mg/kg) to the rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) in rats ····· 20

Figure 5. Mean plasma concentrations (ng/ml) of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 21

Figure 6. Mean plasma concentration (ng/ml) of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30mg/kg) to the rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) in rats ····· 51

Figure 7. Mean plasma concentrations (ng/ml) of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) ····· 52

ABSTRACT

Effects of Flavonoids, Morin and Naringin, on the Paclitaxel Bioavailability after Oral and Intravenouse Administration of Paclitaxel in Rats

Na, Jong Hak

Advisor : Prof. Choi, Jun Shik, Ph.D.
Department of Pharmacy,
Graduate School of Chosun University

Paclitaxel has been used for effective chemotherapy for several types of neoplasms such as refractory breast cancer and ovarian cancer. This study was to investigate the effect of flavonoids on the bioavailability and pharmacokinetics of paclitaxel after oral and intravenous administration with flavonoids, morin and naringin, in rats. Blood samples were collected via femoral artery at 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 and 24 hr after oral and intravenous administration. Plasma concentrations were determined by HPLC with UV detector.

The plasma concentrations of paclitaxel pretreated with flavonoids (3.3 and 10 mg/kg) were increased significantly ($p<0.05$) compared to that of the control, given paclitaxel alonel. The plasma concentrations of paclitaxel coadministered with flavonoids were increased although it was not statistically signiticant compared to that of the control. Areas under the

plasma concentration time curve (AUC) of paclitaxel pretreated with flavonoids were significantly ($p<0.05$) higher than that of control. The absorption rate constants (K_a) of paclitaxel pretreated with flavonoids were significantly increased compared to that of control. Peak concentrations (C_{max}) of paclitaxel with flavonoids were significantly ($p<0.05$) increased compared to that of control. Absolute bioavailability (AB%) of paclitaxel pretreated with flavonoids was significantly ($P<0.05$) higher than that of control. AUC, C_{max}, K_a and AB% of paclitaxel coadministered with flavonoids were increased, but there was no statisticalnot significance. following an intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) with flavonoids such as morin and naringin (3.3 and 10 mg/kg), AUC and MRT were increased significantly ($p<0.05$) compared to those of control. Taken all together, the present study suggests that the altered pharmacokinetics of paclitaxel (by the concurrent use of flavonoids) might be due to both inhibition of metabolism and inhibition of P-glycoprotein efflux pump in the intestinal mucosa.

□***Keywords*** : Paclitaxel, Flavonoids, Pharmacokinetics, Bioavailability, AUC, Morin, Naringin.

Part Ⅰ.

경구 및 정맥투여시 모린이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향

Effects of A Flavonoid, Morin, on the Paclitaxel Bioavailability after Oral and Intravenous Administration of Paclitaxel in Rats

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of morin on the bioavailability of orally and intravenously administered paclitaxel in rats. Morin (3.3 and 10 mg/kg) was coadministered with paclitaxel orally, or pretreated 30 min before oral (30 mg/kg) or intravenous (3 mg/kg) paclitaxel administration.

Coadministration of morin did not result in the significant change of the pharmacokinetic parameters of oral paclitaxel. But the pretreatment with morin induced the significant alteration in the pharmacokinetic parameters of paclitaxel following the oral and intravenous administrations. Pretreatment with morin significantly ($p<0.05$) increased the absorption rate constant (K_a), the area under the plasma concentration-time curve

(AUC) and the peak concentration (C_{max}) of paclitaxel. Oral absolute bioavailability (AB%) of paclitaxel was 2.1% in the control group and increased significantly ($p<0.05$) up to 3.0~3.2% in rats pretreated with morin (3.3 and 10mg/kg). In the intravenous group, the pretreatment with morin significantly ($p<0.05$) increased AUC of paclitaxel, and RB of paclitaxel elevated 1.33- to 1.42-times compared to the control group. Mean residence time (MRT) of intravenous paclitaxel prolonged 1.4-fold by the pretreatment with morin.

Collectively, The pretreatment with morin enhanced the systemic exposure of paclitaxel after the oral and intravenous administration of paclitaxel. It might be because, partially, morin as the dual inhibitor of CYP 3A4 and P-glycoprotein, hindered the metabolism and efflux of paclitaxel in the liver and intestine. Result suggest that the concomitant was of morin, a natural and health-promoting flavonoid, might be beneficial to increase the anti-neoplastic activity of paclitaxel as well as decreasing its side effects.

□***Keywords*** : Paclitaxel, Morin, Pharmacokinetics, Bioavailability, CYP 3A4, P-glycoprotein.

Ⅰ. 서 론

파크리탁셀 (paclitaxel)은 주목나무 *Taxus brevifolia*의 수피에서 분리해낸 악성종양을 억제하는 항암약물이다. Vinca alkaloids와는 달리 이 약물의 항암 기전은 튜뷰린이 비 공유결합으로 마이크로튜뷰린을 형성하는 과정을 촉진시키거나 안정화 시키는 작용이 있어 세포주기의 유사분열 G_2상이나 M상에서 세포의 복제를 억제시키는 작용이 있다. 이로 인해 비정상적인 암세포의 복제를 억제시켜 항암작용을 나타낸다.[1-8] 파크리탁셀은 난소암, 유방암, 백혈병, 흑색증, 전립선암 등에 사용되며, 그 중에서도 특히 유방암에 효과가 좋다고 보고되었다.[9-18] 파크리탁셀을 정맥투여 하였을 때 골수억제, 체중감소, 간 기능장애, 배아상피형성부전증, 구토, 혈중에 지질, 콜레스테롤 및 트리글리세라이드의 증가 등 부작용이 있는 것으로 보고되었다.[19]

파크리탁셀의 화학구조식은 $C_{47}H_{51}NO_{14}$이며, 기본 핵인 taxane ring에 C_{13}과 C_2위치에 곁다리가 있는 복잡한 구조식이다(Fig. 1). 파크리탁셀은 물에 난용성으로 경구투여가 거의 불가능하여,[20] 정맥투여제제로서 Cremophor EL^{TM}(polyethoxylated castor oil derivatives)과 무수알콜(USP)의 1:1(v/v) 비율인 혼합제제가 시판되고 있으며 이는 5% 포도당주사액 혹은 생리식염수로 희석하여 사용한다.[21] Cremophor EL은 정맥주사 하였을 때 인체에서 독성을 초래하며 부작용으로는 혈관확장, 호흡곤란, 피로감 및 저혈압 등이 있다.[22] 그래서 파크리탁셀을 경구투여제제로 개발하려고 많은 노력들을 하고 있다.

파크리탁셀은 간에서 cytochrome P450에 의해서 주로 phase 1인 monoxygenase으로 인해 대사가 이루어지며 대사체로는 6α-, 3-p-dihydroxypaclitaxel, 3-p-hydroxy-paclitaxel 및 6α-hydroxypaclitaxel 등이 있으며, 그 중 주요 대사체는 6α-hydroxypaclitaxel이다.[23-26] 파크리탁셀의

체내배설양상은 다양하며 주로 CYP 3A4와 CYP 2C8에 의해서 대사되어 담즙으로 배설된다. 신장으로는 4.3-8.2% 정도의 미 변화체가 배설되며 흡수율은 낮다.[17,27,28]

경구 투여된 파크리탁셀은 낮은 수용성 및 간과 소장상피세포에 존재하는 CYP 3A4의 대사로 인해 생체이용률은 극히 낮다. 그리고 P-당단백질도 장관에서의 CYP 3A4와 함께 파크리탁셀의 흡수를 억제시킨다.[29] Salama 등[30] 의 보고에 의하면 파크리탁셀을 P-당단백질의 억제제인 enaminones와 함께 투여하였을 때 흰쥐의 뇌 내에 파크리탁셀의 량이 2.25배 증가되었다고 하였다. 그리고 P-당단백질과 CYP 3A4의 억제제인 싸이크로스포린을 파크리탁셀과 병용 경구투여 하였을 때 단독투여에 비해 인체 및 흰쥐에서 현저히 증가되었다고 보고하였다.[31,32] P-당단백질은 정상적인 분비성 내피세포에 존재하며 담낭내막, 신장 세뇨관, 장관강막, 태반, 고환 등 혈관내 분비성 세포에 존재한다.[33] P-당단백질은 세포막 투과에 관여하는 단백질로서 ATP의존적이며 많은 약물들이 경구투여 할 때 장관에서의 유입을 억제하는 다제내성(MDR, multi-drug resistance)작용이 있다고 보고된바 있다.[34] 이 단백질은 악성종양의 세포막에도 존재하며 독소루비신, 빈크리스틴, 빈불라스틴, 파크리탁셀, 코올치신, 아크티노마이신 D 및 미토마이신 C 등 많은 화학치료약물의 세포내 유입을 감소시킨다고 보고되었다.[35]

P-당단백질의 기질약물들의 생체이용률을 높이기 위하여 P-당단백질의 역류작용을 억제하는 물질들에 대하여 많은 연구를 하고 있다. 연구에 의하면 베라파밀, 페노티아진, 사이크로스포린 A 등이 P-당단백질을 억제한다고 보고되었다.[36-38] 항암약물과 P-당단백질억제제를 항암약물들에 대하여 다제내성 작용이 있는 세포에 병용투여 하였을 때 항암약물들의 유입량이 증가하였다. 임상에서는 이런 억제제들의 과량투여로 P-당단백질의 펌프작용은 억제하였지만 이들로 인해서 독성작용이 나타나게 된다. 베라파밀, 사이크로스포린 A 등 많은 억제제는 P-당단백질에 의하여 체내에서 수송에 관여하므로 그들은 경쟁적으로

기타 기질약물들의 역류를 감소하므로 P-당단백질 억제제라고 하기보다 pseudosubstrates라고도 한다. 그리하여 P-당단백질에 의하여 수송하지 않는 지용성 스테로이드, 프라보노이드 등의 연구가 필요하며 지용성 화학물질들은 프로게스테론, medroxy-progestenone acetate[39,40] 등이 보고되었다. PSC833, VX-710, LY335979, XR9051, XR9576, SCH6636 등은 높은 선택성과 효능이 있는 제2대 억제제로서 검토되고 있다.[41,42]

프라보노이드 (flavonoid)는 세포내에서 P-당단백질의 ATP결합부위에 작용하는 새로운 억제제로서 보고되었다.[43] 연구에 의하면 프라보노이드류인 sinensetin의 억제작용이 베라파밀과 사이크로스포린 A등 과 같으며 빈크리스틴과 병용 시 일정한 약물농도의 sinesetin은 MDR작용을 완전히 억제하였으나 독성은 극히 약하다고 보고되었다. Sinensetin은 P-당단백질에 의해 수송되지 않으며, P-당단백질을 유도하지도 않으므로 임상응용에서 가장 유력한 약물이라고 보고되었다.[44] 프라보노이드류의 유래물질인 pentamethylquercetin, pentaallylquercetin, pentaethylmorin은 P-당단백질을 억제하는 능력이 배라파밀과 싸이크로스포린 A에 비해 더욱 크다고 보고되었다[45]. 퀠세틴과 3,4,7-trimethoxyquercetin도 P-당단백질의 작용을 억제한다고 보고되었다.[46]

프라보노이드류는 각종 cytochrome P450의 기질물질 혹은 억제제로 작용한다고 보고되었다. Acacetin와 diosmetin은 CYP 1A와 CYP 1B1의 ethoxyresorufin O-dealdylase(EROD)작용을 강하게 억제하며 eriodictyol, homoeriodictyol와 나린제닌은 인체 CYP 1A의 EROD작용을 억제하는 능력이 약하며 Hesperetin와 homoeriodictyol은 CYP 1A1와 CYP 1B1을 선택적으로 억제 한다.[47] 나린진(Naringin)은 CYP 3A4의 억제제로서 퀴닌과 함께 흰쥐에게 경구투여 하였을 때 퀴닌의 생체이용률이 증가하였다고 보고되었다.[48]

프라보노이드류는 폴리페놀 복합체로서 모든 식물로 된 음식물에 존재한다. 프라보노이드류인 프라본, 프라보놀, 프라바논, 이소프라본 등은 암세포를 억제하는 작용이 있다고 보고되었다.[49] 프라보노이드류인 chalcone, 프라보논, 퀠세

틴, 캠페롤 등은 세포주기의 S상에서 G_2상까지를 차단한다고 보고되었다,[50]

모린(morin, 3, 5, 7, 2‘, 4’-pentahydroxyflavone)은 프라보노이드류로서 항산화작용,[51-53] 항암작용,[54,55] 항균작용[56-58]등 많은 생체에 유익한 작용이 있다. 그리고 모린은 많은 P-당단백질의 기질약물들이 세포에서 흡수를 증가하였다고 보고된 바 있다.[59] 연구에 의하면 모린은 또 cytochrome P-450등 생체대사효소를 조절하는 작용이 있다고 보고하였다.[60] 인체의 간 microsomes에서 모린은 파크리탁셀의 CYP 2C8효소(6α-hydroxypaclitaxel) 및 CYP 3A4(3′-hydroxypaclitaxel 및 C2-hydroxypaclitaxel)으로 인한 대사를 억제하였다고 보고되었으며, 그중에서 CYP 2C8에 대한 대사는 더욱 강력하였다.[61] 보고에 의하면 모린은 다제내성물질인 MRP1이 존재하는 Panc-1(human pancreatic adenocarcinoma cell line)에서 도노마이신 및 빈불라스틴의 유입량을 유의성 있게 증가하였다.[62] 이상의 결과를 보면 모린은 CYP 3A4, CYP 2C8 및 P-당단백질을 억제하는 작용이 있는 것으로 추측할 수 있다.

파크리탁셀을 경구투여시 낮은 생체이용률은 주로 낮은 수용성의 영향을 받을 뿐만 아니라 흡수과정에서 초회통과효과도 큰 작용을 한다. 그중에 주로 CYP 3A4와 P-당단백질의 상호 협조 작용이 파크리탁셀의 생체이용률에 많은 영향을 미치게 된다. 그러므로 저자는 인체에 많은 유익한 작용이 있는 동시에 생체에서 CYP 3A4와 P-당단백질을 억제하는 작용이 있는 모린을 파크리탁셀과 경구 및 정맥으로 함께 투여하였을 때 모린이 파크리탁셀의 약물동태에 미치는 영향을 검토하려고 하였다.

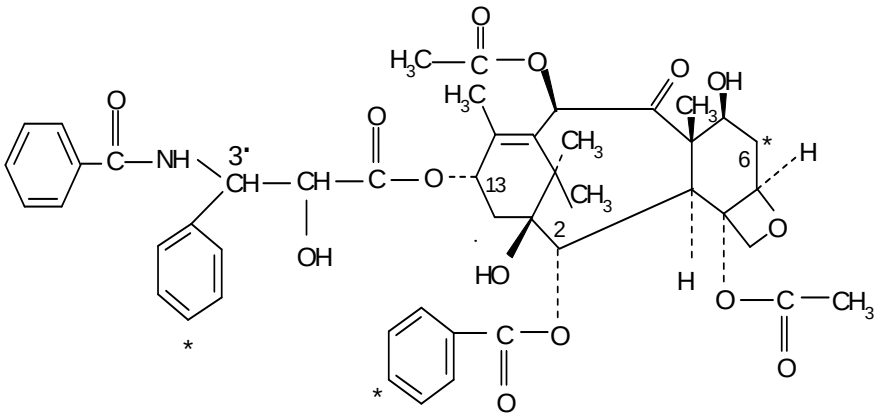

Figure 1. Chemical structure of paclitaxel

Ⅱ. 실험방법

A. 시료, 시약 및 기기

파크리탁셀은 Samyang Genex(Taejon, Korea)사의 Taxol을, 모린은 Sigma Chemical(St. Louis, MO)사, 생리식염수(0.9% NaCl injectable solution)는 중외제약사(seoul, Korea)의 것을 사용하였으며, 아세토니트릴, 메탄올, 에텔, *tert*-butylmethylether 및 n-핵산은 Merck사의 HPLC등급을, 내부표준물질로 사용한 butylparaben(butyparaoxybenzoic acid)은 Sigma사, 인산과 인산수소칼슘은 Junshei(Tokyo, Japan)사의 것을 사용하였다.

기기로는 Waters사의 HPLC시스템(Waters 1515 isocratic HPLC Pump, Waters 717 plus autosampler, Waters 2487 Dual absorbance detector, Waters Co., Milford, MA, USA), Rikakikai사의 MG 2100 Eyela dry thermo bath(Tokyo, Japan), Hitachi사의 원심분리기(Tokyo, Japan), Branson Ultrasonic사의 초음파청정기(Danbury, C.T., USA), Scientific Industries사의 Vortex(NY, USA)를 사용했다. 컬럼은 Water사의 Symmetry C_{18}(4.6 × 150 mm, 5 μm, USA)을 사용하였고 그리고 컬럼 온도조정기는 Phenomenex(CA, USA)사의 것을 사용하였다.

B. 실험동물

일정한 조건하에서 사육한 체중 270-300 g Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 물과 사료를 자유로이 공급하였다. 흰쥐를 경구투여군과 정맥투여군으로 나누었다. 경구투여군에서는 대조군, 병용투여군 및 전투여군으로 나누었으며 정맥투여군에서는 대조군과 전투여군으로 나누었다.

흰쥐를 에텔을 사용하여 마취시켜 고정대에 고정시킨 다음, 우측 대퇴동맥에

폴리에칠렌관(SP 45, I.D 0.58 mm, O.K. 0.96 mm, Natume Selsakuso Co., Yokyo, Japan)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 헤파린(75 U/㎖)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량만큼의 생리식염수를 피하주사로 보충해 주었다.

C. 약물투여 및 시료 채취

경구투여용 파크리탁셀은 Gao등[63]의 방법을 이용하여 Cremophor EL과 무수알콜을 1:1비율로 용해시켜 20 mg/ml 파크리탁셀용액을 조제한 다음 히드록시프로필메칠셀룰로오즈(HPMC EL5V, Colorcon, USA)를 50 mg을 1 ml에 혼합시키고 증류수에 희석시켰다. 정맥주사용 파크리탁셀은 파크리탁셀을 Cremophor EL과 무수알콜을 1:1비율로 용해시켜 6 mg/ml 파크리탁셀액을 조제한 다음 생리식염수로 희석시켰다. 모린은 증류수에 현탁액으로 조제하여 투여하였다.

경구투여군에서는 다음과 같이 약물투여 하였다. 대조군은 위에서 언급한 경구용 파크리탁셀 조제액을 흰쥐에게 30 mg/kg을 경구투여 하였으며 병용투여군에서는 파크리탁셀(30 mg/kg)과 모린(3.3 및 10 mg/kg)을 동시 경구투여 시켰고 전투여군에서는 모린(3.3 및 10 mg/kg)을 경구투여한 30분 후에 파크리탁셀(30 mg/kg)을 경구투여 하였다. 혈액은 파크리탁셀을 투여전 및 투여 후 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 및 24시간에서 0.5 ㎖를 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈장을 취해 분석 시까지 -45℃에서 냉동 보관하였다.

정맥투여군은 다음과 같이 약물투여 하였다. 대조군에는 조제한 파크리탁셀 정맥주사액을 흰쥐에게 3 mg/kg을 대퇴정맥으로 1분에 걸쳐 투여하였으며 모린 전투여군에는 모린(3.3 및 10 mg/kg)을 경구투여 시킨 30분 후에 대조군과 동일 한 방법으로 파크리탁셀을 정맥주사하였다. 채혈시간은 파크리탁셀을 투여전 및 투여후 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간에 0.5 ㎖를 채취하여 13,000 rpm에서

5분간 원심 분리시켜 혈장을 취해 분석 시까지 -45℃에서 냉동 보관하였다.

D. 파크리탁셀 분석

혈장중 파크리탁셀 농도는 Andreeva 등과 Lee 등[64,65]의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈장 0.2 ml 에 50 ㎕ butylparaben(내부표준물질, 4 ㎍/ml) 및 0.8 ml *tert*-butylmethylether를 가하여 1분간 볼텍스에서 혼합한 다음 5분간 방치시켰다. 그리고 0.6 ml 인산수소칼슘 포화용액을 가하여 혼합하고 10분간 방치시킨 다음 13,000 rpm에서 10 분간 원심분리 시켰다. 0.6 ml 상층액을 취해 38℃ 질소기류 하에서 증발시켰다. 잔사는 200 ㎕ 60%아세토니트릴 용액을 가하여 1분간 볼텍스에서 용해시킨 다음 1 ml n-핵산을 가하여 10초간 혼합시킨 후 10,000 rpm에서 2분간 원심분리 시켰다. 아세토니트릴 층을 취하여 50 ㎕을 HPLC에 주입한다.

*E. HPLC*조건 및 혈장크로마토그램

HPLC시스템은 파장을 227 nm으로 사용하였고 컬럼은 30℃에서 유지시켰다. 이동상은 아세토니트릴:메탄올:0.1% 인산(pH 3.2)혼합액(450:120:430, v/v/v)을 사용하였으며 유속은 1.3 ml/min으로 흘렸다. 혈장크로마토그램에서 내부표준물질인 butylparaben은 4.8 min, 파크리탁셀은 6.7 min에서 분리되었다(Figure 2).

혈중 검량곡선은 파크리탁셀 10, 20, 50, 100, 200, 500 및 1000 ng/ml 해당량을 흰쥐의 공혈장 0.2 ml에 넣은 후 위의 정량방법과 동일한 방법으로 정량하였다. 이렇게 작성한 검량곡선은 Figure 3와 같이 혈장에서 x=37.45y-6.08 (r=0.9984)로 나타내었다.

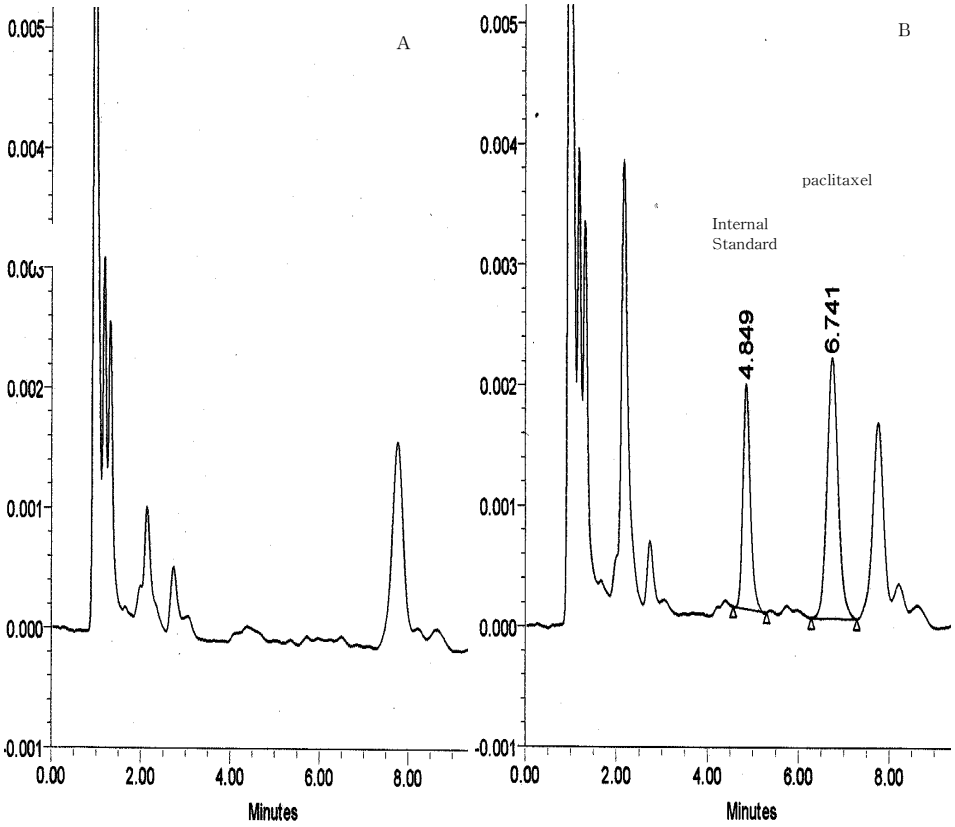

Figure 2. Chromatograms of blank plasma (A) and plasma spiked (B) with internal standard (4.84 min) and paclitaxel (6.74 min)

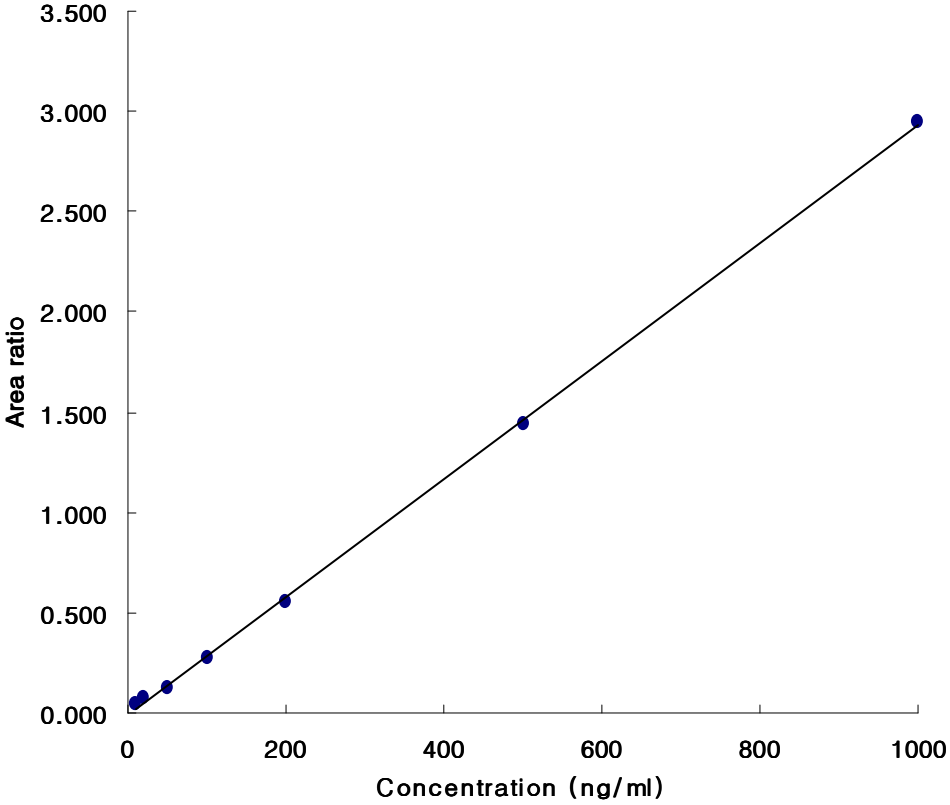

Figure 3. Calibration curve of rat's blank plasma spiked with paclitaxel. y=0.00267x+0.1624 (r=0.9984)

F. 파크리탁셀 약물동태학 분석

약물동태학 분석은 noncompartmental pharmacokinetic analysis으로 Lagran 방법을 사용한 LAGRAN computer program[66]을 이용하였다. 무한대까지의 혈중농도곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC)은 사다리꼴공식에 의한 오차를 줄이기 위해 LAGRAN에 의해 계산하였다. 최고혈중농도(C_{max})와 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 실험동물 각 개체의 실제 측정치에서 구했으며, 소실속도정수(K_{el})는 배설상의 혈중농도의 회귀분석에 의해, 반감기($t_{½}$)는 $0.693/K_{el}$로 구했다. 그리고 병용투여군과 전투여군의 상대적 생체이용율(RB%)은 병용투여군과 전투여군의 AUC에 대한 대조군 AUC의 백분율로 구했으며, 절대적 생체이용률(AB%)는 $(AUC_{oral}/AUC_{iv})\times(Dose_{iv}/ Dose_{oral})\times 100$에 의해 산출하였다.

G. 통계 처리

각 약물동태학적 파라미터의 유의성 검증은 unpaired Student's t-test를 적용하여 대조군과 비교해 $p < 0.05$일 때 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

Ⅲ. 실험결과

A. 경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터

파크리탁셀(30 mg/kg)을 흰쥐에게 단독경구투여, 모린(3.3 및 10 mg/kg)과 함께 경구투여 혹은 모린(3.3 및 10 mg/kg)을 경구투여한 30분 후 투여한 다음 얻은 파크리탁셀의 혈장중 평균약물농도추이는 Table 1 및 Figure 4과 같으며 약물동태학적 파라미터결과는 Table 3와 같았다.

모린과 병용투여 하였을 때 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있는 변화를 초래하지 않았으나, 모린을 30분전 투여하였을 때 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있게 변화되었다. 대조군에서 파크리탁셀의 흡수속도정수(K_a)는 14.1 ± 3.4 hr^{-1}이었으며, 전투여군에서는 18.9 ± 4.4hr^{-1}(3.3 mg/kg)과 19.7 ± 4.5hr^{-1}(10 mg/kg)이었으며 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 파크리탁셀의 혈중농도곡선하면적(AUC)은 대조군에서 926 ± 229 ng/ml · hr이었으며, 전투여군에서는 1305 ± 319ng/ml · hr (3.3 mg/kg)과 1424 ± 342 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에서는 36.8 ± 9.2 ng/ml이었고, 전투여군에서는 65.4 ± 15.6 ng/ml(3.3 mg/kg)과 71.8 ± 17.1 ng/ml(10 mg/kg)로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 절대적 생체이용률(AB%)는 대조군에서 2.1 ± 0.5%이었고, 전투여군에서는 3.0 ± 0.7(3.3 mg/kg)과 3.2 ± 0.8%(10 mg/kg)로서 전투여군에서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 상대적생체이용률(RB%)은 전투여군에서 1.41-1.54배 높아졌다. 그리고 최고혈중농도도달시간(T_{max})과 소실반감기($t_{1/2}$)는 유의성 있는 변화가 없었다. 모린을 30분전투여로 의해 경구 투여된 파크리탁셀의 흡수속도는 증가되었고 생체이용률은 현저히 높아졌다.

B. 정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터

파크리탁셀(3 mg/kg)을 흰쥐에게 단독 혹은 모린(3.3 및 10 mg/kg)을 경구투여한 30분 후 정맥투여 하였을 때 얻은 파크리탁셀의 혈장중 평균농도추이는 Table 2 및 Figure 5과 같으며 약물동태학적 파라미터결과는 Table 4와 같았다.

정맥투여군에서 모린이 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터에 유의성 있는 변화를 초래하였다. 대조군에서 파크리탁셀의 AUC는 4401 ± 1214 ng/ml · hr 이었으며, 전투여군에서는 5868 ± 1423 ng/ml · hr(3.3 mg/kg)과 6253 ± 1481 ng/ml · hr(10 mg/kg)로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 파크리탁셀의 RB%는 모린 전투여군에서 1.33-1.42배가 높아졌다. 파크리탁셀의 체내체류시간(MRT)는 대조군에서 5.3 hr이었으며, 전투여군에서는 7.6 hr로서 유의성($p<0.05$) 있게 연장되었다. 그리고 파크리탁셀의 K_{el} 및 $t_{½}$은 모린의 전투여에 의해 변화되지 않았다.

Table 1. Mean plasma concentration of paclitaxel (ng/ml) after oral administration of Paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg)

Time(hr)	Control	Morin coadministration		Morin pretreatment	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg	3.3 mg/kg	10 mg/kg
0	0	0	0	0	0
0.25	25.9±6.7	30.6±6.2	32.4±4.9	48.0±11.4	52.6±12.1
0.5	29.7±6.8	35.0±8.4	37.2±6.1	56.1±12.9*	61.4±13.5*
1	34.2±8.6	40.4±8.3	43.0±8.6	65.4±18.3*	71.7±14.6*
2	36.8±7.7	43.2±9.2	45.7±9.0	53.5±14.9*	58.7±12.4*
3	32.8±7.6	40.3±8.5	42.5±8.1	43.3±12.3*	47.4±10.7*
4	29.5±6.5	34.4±8.4	36.5±7.4	37.4±8.9*	41.0±8.2*
8	24±5.3	27.9±7.0	29.6±5.1	30.5±8.5	33.5±6.8
12	20.3±5.2	23.7±5.7	25.1±4.9	25.2±6.6	27.7±6.3
24	14.4±3.7	16.9±4.3	18.1±3.1	19.6±5.6	21.5±4.2

Mean ± S.D. (n = 6), *$p < 0.05$ compared to control.

Table 2. Mean plasma concentration of paclitaxel (ng/ml) after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg)

Time(hr)	Control	Morin pretreatment	
		3.3mg/kg	10mg/kg
0	38178±8780	40027±9206	41786±9295
0.1	5190±1193	5408±1319	5791±1365
0.25	2122±509	2624±682	2826±734
0.5	1091±284	1475±354*	1594±426*
1	554±139	716±193*	771±187*
2	260±68	357±82*	381±104*
4	111±28	206±47*	221±43*
8	61±16	110±29*	118±24*
12	38±11	58±19*	62±18*
24	22±5.8	46±9.8*	49±8.9*

Mean ± S.D. (n = 6), * $p < 0.05$ compared to control

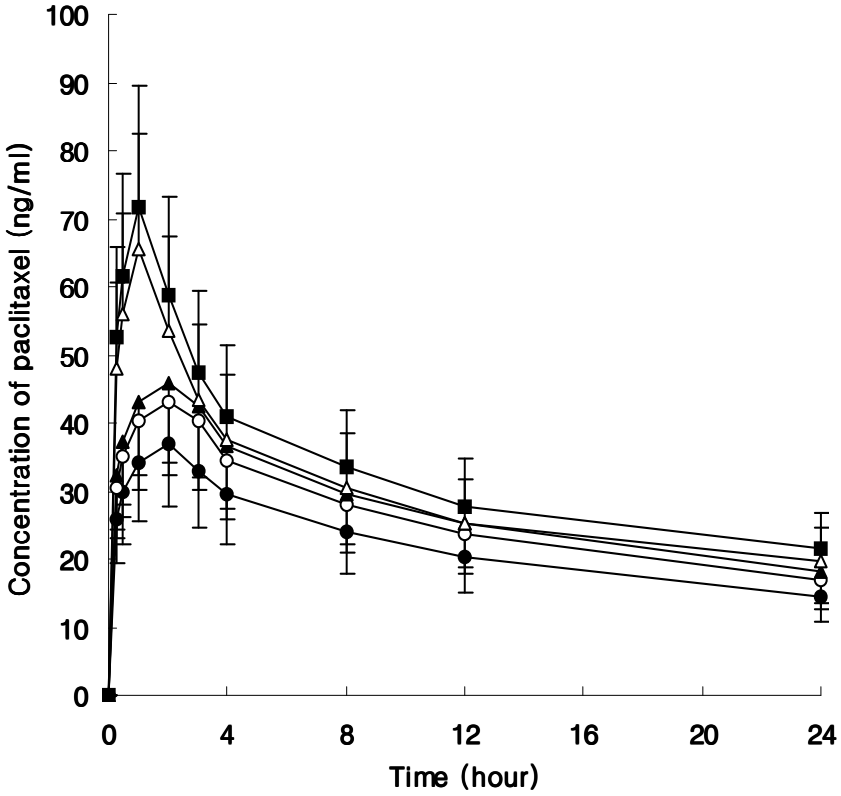

Figure 4. Mean plasma concentration-time curves of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) (●: paclitaxel 30 mg/kg, oral; ○: paclitaxel coadministered with morin 3.3 mg/kg; ▲: paclitaxel coadministered with morin 10 mg/kg; △: paclitaxel pretreated with morin 3.3 mg/kg; ■: paclitaxel pretreated with morin 10 mg/kg).

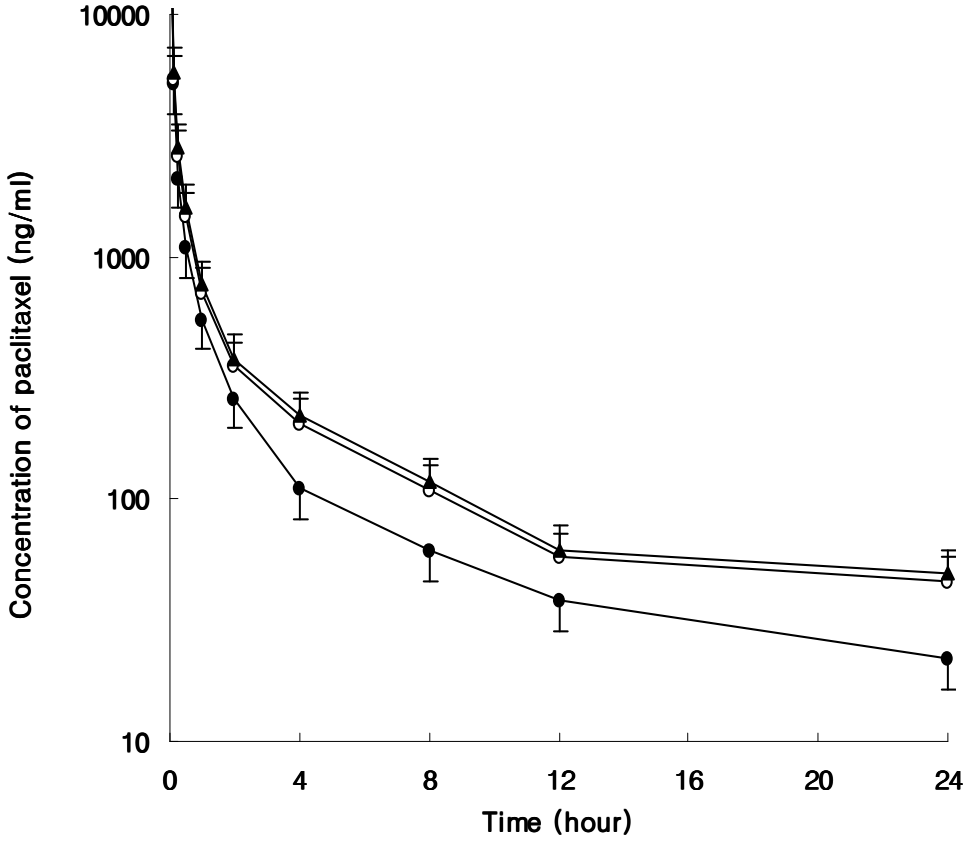

Figure 5. Mean plasma concentration-time curves of paclitaxel after intraveous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin (3.3 and 10 mg/kg) (●: paclitaxel 3 mg/kg, intravenous; ○: pretreated with morin 3.3 mg/kg; ▲: paclitaxel pretreated with morin 10 mg/kg).

Table 3. Mean (± S.D.) pharmacokinetic parameters of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of morin

Parameter	Control	Morin coadministration		Morin pretreatment	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg	3.3 mg/kg	10 mg/kg
AUC (ng/ml · hr)	926 ± 229	1093 ± 251	1163 ± 284	1305 ± 319*	1424 ± 342*
C_{max} (ng/ml)	36.8 ± 9.2	43.2 ± 10.2	45.7 ± 11.6	65.4 ± 15.6*	71.8 ± 17.1*
T_{max}(hr)	2.0 ± 0.45	2.0 ± 0.44	2.0 ± 0.45	1.2 ± 0.25	1.2 ± 0.26
$t_{½}$ (hr)	19.9 ± 4.5	20.2 ± 5.1	20.5 ± 5.2	22.5 ± 5.5	22.5 ± 5.6*
K_a (hr^{-1})	14.1 ± 3.4	16.8 ± 3.9	17.4 ± 4.3	18.9 ± 4.4*	19.7 ± 4.5*
AB(%)	2.1 ± 0.5	2.5 ± 0.6	2.7 ± 0.7	3.0 ± 0.7*	3.2 ± 0.8*
RB(%)	100	118	126	141	154

Mean ± S.D. (n = 6), * $p < 0.05$ compared to control.

AUC: area under the plasma concentration-time curve from 0 hr to infinity;

C_{max}: peak concentration;

T_{max}: time to reach peak concentration;

$t_{½}$: terminal half life;

K_a: absorption rate constant;

AB(%): absolute bioavailability;

R.B(%): relative bioavailability

Table 4. Mean (± S.D.) pharmacokinetic parameters of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence and absence of morin

Parameter	Control	Morin pretreatment	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg
AUC (ng/ml · hr)	4401±1214	5868±1423*	6258±1481*
K_{el} (hr^{-1})	0.074±0.017	0.067±0.016	0.066±0.015
$t_{½}$ (hr)	9.5±2.7	10.3±2.5	10.5±2.6
MRT (hr)	5.3±1.3	7.6±1.8*	7.6±1.7*
R.B(%)	100	133	142

Mean ± S.D. (n = 6), * $p < 0.05$ compared to control
AUC: area under the plasma concentration-time curve from 0 hr to infinity;
K_{el}: elimination rate constant;
$t_{½}$: half life;
MRT: mean residence time;
R.B(%): relative bioavailability.

Ⅳ. 고 찰

파크리탁셀은 낮은 수용성 및 초회통과효과에 의해 생체이용률이 너무 낮아서 현재는 정맥투여제제만 시판되고 있다. 그러나 파크리탁셀의 정맥주사제는 많은 부작용이 있으며 환자들에게 사용할 때 많은 불편한 점들이 있다. 그리하여 많은 연구자들은 파크리탁셀의 독성을 줄일 뿐만 아니라 사용에 편리한 경구용 제제개발에 초점을 두고 있다. 파크리탁셀은 주로 소장과 간에서 CYP 3A4, CYP 2C8에 의해서 대사되어 담즙으로 배설된다. 그리고 P-당단백질도 장관에서 CYP 3A4와 함께 파크리탁셀의 흡수를 억제시킨다.[29] 파크리탁셀의 생체이용률을 높이려면 수용성을 증가시키는 동시 초회통과효과를 줄이는 것도 중요하다. 모린은 프라보노이드류로서 생체에 항산화작용,[51-53] 항암작용,[54, 55] 항균작용[56-58]등 많은 생체에 유익한 작용이 있으며, 그리고 P-당단백질과 cytochrome P-450 등 생체대사효소를 조절하는 작용이 있다고 보고하였다.[59, 60] 그리하여 모린은 파크리탁셀의 약물동태에 영향을 미칠뿐만 아니라 동시투여하면 항암작용에도 촉진작용이 있을 것이라고 사료된다.

본 실험에서 모린을 30분전 투여하였을 때 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있게 변화되었다. 전투여군에서 파크리탁셀의 흡수속도정수(K_a)는 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었고, T_{max}는 짧아졌다. 그 기전은 Zhang 등[59]의 연구결과와 같이 모린이 소장에서 P-당단백질을 억제하여 소장에서 파크리탁셀의 흡수가 증가된 것으로 추측된다. Vaclavikova 등[61]의 보고에서는 모린이 간세포의 아이크로솜에서 파크리탁셀을 대사 시키는 CYP 2C8효소 및 CYP 3A4을 억제하였다고 보고하였다. 유의성 있게 증가된 파크리탁셀의 흡수속도는 모린이 파크리탁셀의 초회통과효과를 억제하여 초래한 것으로 추측할 수 있다. 모린으로 전투여 하였을 때 경구투여 및 정맥투여된 파크리탁셀의 AUC는 유의성 있게 증가되었고, 경구투여된 파크리탁셀의 C_{max}은 유의성 있게 증가되었으며, 정맥투여된 파크리탁셀의 MRT도 유의성 있게 연장되었

다. P-당단백질은 소장세포외에 간 및 신장 세포에서도 존재하며[33] 파크리탁셀의 배설에도 영향을 줄 수 있다. 증가된 AUC, C_{max}와 지연된 MRT에서 모린의 전투여로 의해 파크리탁셀이 초회통과효과가 감소되는 동시 배설 및 대사가 억제된 것을 추측한다. 파크리탁셀을 모린과 병용투여 하였을 때 경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있는 변화를 초래하지 않았다. 그 기전은 명확하지 않지만 모린은 파크리탁셀을 투여하기 일정한 시간 전에 투여하여야 파크리탁셀의 초회통과효과 및 대사를 억제할 수 있는 것으로 사료된다.

본 실험에서 흰쥐에서 경구투여된 모린은 경구 및 정맥투여된 파크리탁셀의 생체이용률을 현저히 증가시켰다. 모린은 인체에 많은 유익한 작용이 있으며 무독성이고 많은 음식물에 존재하는 프라보노이드류로서 파크리탁셀과 함께 사용되었을 때 파크리탁셀의 항암작용을 증가할 수 있는 것으로 사료된다. 그리고 파크리탁셀의 부작용을 줄일 수 있는 새로운 제형개발에도 도움이 될 것이라고 기대된다.

V. 결 론

본 연구에서는 인체에 유익한 작용이 있으며 음식물에 흔히 존재하고 있는 프라보노이드류인 모린이 경구 및 정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태에 미치는 영향을 연구 검토하고자 하였다. 모린(3.3 및 10 mg/kg)을 파크리탁셀과 함께 투여하였을 때 모린이 경구(30 mg/kg) 혹은 정맥(3 mg/kg)투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 Table 3 및 4과 같은 결과를 얻었다.

경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터변화

1. K_a는 대조군에서 14.1 ± 3.4 hr^{-1}이었으며, 전투여군은 18.9 ± 4.4(3.3 mg/kg)과 19.7 ± 4.5(10 mg/kg)로서 대조군에 비해 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

2. AUC는 대조군에서 926 ± 229 ng/ml · hr이었으며, 모린 전투여군에서는 1305 ± 319ng/ml · hr(3.3 mg/kg)과 1424 ± 342 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

3. C_{max}는 대조군에서는 36.8 ± 9.2 ng/ml이었고, 모린전투여군에서는 65.4 ± 15.6 ng/ml(3.3 mg/kg)과 71.8 ± 17.1 ng/ml(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

4. AB%는 대조군에서 2.1 ± 0.5%이었고, 전투여군에서는 3.0 ± 0.7(3.3 mg/kg)과 3.2 ± 0.8%(10 mg/kg)로서 전투여군에서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

5. RB%은 전투여군에서 1.41-1.54배 높아졌다.

6. 모린과 병용투여 하였을 때 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있는 변화를 초래하지 않았다.

정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터변화

1. AUC는 대조군에서 4401 ± 1214 ng/ml · hr이었으며, 전투여군에서는 5868 ± 1423 ng/ml · hr (3.3 mg/kg)과 6258 ± 1481 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

2. RB%는 모린 전투여군에서 1.33-1.42배를 높아졌다.

3. MRT는 대조군에서 5.3 hr이었으며, 전투여군에서는 7.6 hr로서 유의성($p<0.05$) 있게 연장되었다.

모린을 30분 전투여 함으로서 경구 및 정맥투여된 파크리탁셀의 생체이용률을 증가시켰다. 이러한 결과는 모린이 P-당단백질과 CYP 3A4를 억제시켜 파크리탁셀의 생체이용률을 증가시킨 것으로 사료된다. 임상에서 파크리타셀을 모린 및 모린을 함유한 음식물과 함께 사용될 때 두 약물의 상호작용을 검토하는 것이 바람직하다.

Ⅵ. 참고문헌

1. Kumar. N.. "Taxol-induced polymerization or purified tubulin. Mechanism of action." *J. Biol. Chem.* ***256:***10435-10440,1981.

2. Manfredi, J. J. Horwitz. S. B.. "An antimitotic agent with a new mechanism of action." *Pharmacol. Ther.* ***25:***83-89,1984.

3. Rowinsky, E. K. Cazenave, L. A. and Donehower. R.C.. "Taxol: a novel investigational antimicrotubule agent." *J. Natl. Cancer Inst.* ***82:***1247-1259, 1990.

4. Schiff, P.B. Fant, J. and Horwitaz, S. B.. "Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol." *Mature* ***277:***665-672,1979.

5. Wall, M. E. Wani. M. C.. "Antineoplastic agents from plants." *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* ***17:***117-124, 1977.

6. Wani, M. C. Taylor, H. L. Wall, M. E. Coggon, P. and McPhail. A. T. "Plant antitumor agents. Ⅵ. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumer agent from Taxus brevifolia." *J. Am. Cem. Soc.* ***93:***2325-2330, 1971.

7. Huizing, M. T. Keung, A. C. F. Van der Rosing, H. Kuij, V. Huinink, W. W. T. B. Mandjes, I. M. Dubbelman, A. C. Pinedo H. M. and Beijnen. J. H. "Pharmacokinetics of paclitaxel and metabolites in a randomized comparative study in platinum-pretreated ovarian cancer patients." *J. Clin. Oncol.* ***11:***2127-2135,1993.

8. Jamis-Dow, C. A. Klecker, R. W. Sarosy, G. Reed E. and Collins. J. "Steady-state plasma concentrations and effects of taxol for a 250 mg/m^2 dose in combination with granulocyte-colony stimulating factor in patients with ovarian cancer." *Cancer Chemother. Pharmacol.* ***33:***48-52, 1987.

9. Donehower, R. C. Rowinsky, E. K. and Grochow, L. B. et al. “Phase I trial of taxol in patients with advanced malignancies.” *Cancer Treat. Rep.* ***71:***1171-1177, 1987.

10. Legha, S. S. Tenney, D. M. and Krakhoff, I. R.. “Phase I study of taxol using a 5-day intermittent schedule.” *J. Clin. Oncol.* ***5:***1232-1239, 1987.

11. Einzig, A. I. Hochster, H. and Wiernik, P. H. et al. “A phase Ⅱ study of taxol in patients with malignant melanoma.” *Invest. New. Drugs.* ***9:***59-64, 1991.

12. McGuire, W. P. Rowinsky, E. K. and Rosenheim, N. B. et al. “Taxol: A unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasm.” *Ann. Intern. Med.* ***111:***273-279, 1989.

13. Einzig, A. I. Wiernik, P. H. and Sasloff, J. et al. “Phase Ⅱ study and long-term follow up of patients treated with taxol for advanced ovarian adenocarcinoma.” *J. clin. Oncol.* ***10:***1748-1753, 1992.

14. Einzig, A. I. Gorowski, E. and Sadloff, J. et al. “Phase Ⅱ trial of taxol in patients with metastatic renal cell carcinoma.” *Cancer invest.* ***9:***133-136, 1991.

15. Sarosy, G. Kohn, E. and Stone, D. A. et al. “Phase I study of taxol and granulocyte stimulation factor in patients with refractory ovarian cancer.” *J. clin. Oncol.* ***10:***1165-1170, 1992.

16. Wiernik, P. H. Schwartz, E. L. and Einzig, A. et al. “Phase I trial of taxol given as a 24-hour infusion every 21 days: Responses seen in metastatic melanoma.” *J. Clin. Omcol.* ***5:***1232-1239, 1987.

17. Grem, J. L. Tutsch, K. D. and Simon, K. L. et al. “Phase I study of taxol administered as a short iv infusion dail; for 5days.” *Cancer Treat. Rep.* ***71:***1179-1184, 1987.

18. Rowinsky, E. K. Gilbert, M. R. and McGuire, W. P. et al. “Sequences of taxol and cisplatin: A phase I and pharmacologic study.” *J. Clin. Oncol.* ***9:***1692-1703, 1991.

19. Summary on taxol(NSC-125973) from Columbus Laboratories, *Toxicology Program Office, Vienna, VA,* Nov 1982.

20. Mathew, A. E. Mejillano, M. R. Nath, J. P. Himes, R. H. and Stella, V. J.. “Synthesis and evaluation of some water-soluable prodrugs and derivatives of taxol with antitumor activity.” *J. Med. Chem.* ***35:***145-151, 1992.

21. Huizing, M. T. Sewbearath Misser, V. H. Pieters, R. C. Ten Bokkel huinink, W. W. Veenhof, C. H. N. Vermorken, J. B. Pinedo, H. M. and Beijnen, J. H.. Taxane. “A new class of antitumor agents.” *Cancer Invest.* ***13:***381-404, 1995.

22. Rowinsky, E. Eisenhauer. E. Chaudhy, V. Aqbuck, S. G. and Donehower, R. C., "Clinical toxicities encountered with paclitaxel (TaxolR)." *Sem. Oncol.* ***20***:1-15, 1993,

23. Rahman, A. Korzekwa, K. R. Grogan, J. Gonzalez, F. J. and Harris, J. W.. "Selective biotransformation of taxol to 6α-hydroxytaxol by human cytochrome P450 2C8.” *Cancer Res.* ***54:***5543-5548, 1994.

24. Sonnichsen, D. S. Liu, Q. Schuetz, E. G, Schuetz, J. D. Pappo, A. and Relling. M. V.. “Variability in human cytochrome P450 paclitaxel metabolism.” *J. Pharmacol. Exp. Ther.* ***275:***566-571(1995).

25. Walle, T.. “Short communication; Taxol metabolism in rat hepatocytes.” *Biochem. Pharmacol.* ***46***:1661-1664, 1993.

26. Sonnichsen, D. S. and Relling, M. V. “Clinical Pharmacokinetics of paclitaxel.” *Clin. Pharmacokinet.* ***27***:256-269, 1994.

27. Brown, T. Havlin, K. Weiss, G. Cagnola, J. Koeller, J. Kuhn, J. Rizzo, J. Craig, J. Philips, J. and Von Hoff, D. “A phase I trial of taxol given by a 6-hour intravenous infusion.” *J. Clin. Oncol.* ***9***:1261-1267, 1991.

28. Wiernik, P. H. Schwartz, E. L. Strauman, J. J. Dutcher, J. P. Lipton, R. B, and Paietta. E.. “Phase I xlinical and pharmacokinetic study of taxol.” *Cacer Res.* ***47***:2486-2493, 1987.

29. Sparreboom, A. van Asperen, J. Mayer, U. Schinkel, A. H. Smit, J. W. Meijer, D. K. Borst, P. Nooijen, W. J. Bejinen, J. W. and van Tellingen. O. "Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* ***4***:2031-2035, 1997.

30. Salama, N. N. Scott, K. R. and Eddington, N.D. The influence of enaminones on the transport and oral bioavailability of P-glycoprotein substrate therapeutic agents. *Int. J. Pharm.* ***273***:135-147, 2004.

31. Meerum Terwogt, J. M. Malingre, M. M, Beijnen, J. H. ten Bokkel Huinink, W. W. Rosing, H. Koopman, F. J. van Tellingen, O. Swart, M. and Schellens, J. H. "Coadministration of oral cyclosporin A enables oral therapy with paclitaxel." *Clin. Cancer Res.* ***5***:3379-3384, 1999.

32. van Asperen, J. van Tellingen, O. van der Valk, M. A. Rozenhart, M. and Beijnen, J. H. "Enhanced oral absorption and decreased elimination of paclitaxel in mice cotreated with cyclosporin A." *Clin. Cancer Res.* ***4:***2293-2297. 1998.

33. Chaudhary, P.M. and Robinson, I. B.. “Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells.” *Cell,* ***66:***85-94, 1991.

34. Van Asperen, J. Van Tellingen, O. Sparreboom, A. Schinkel, A. H. Borst, P. Nooijen W. J. and Beijnen. J. H.. "Enhanced oral bilavailability of paclitaxel in mice treated with the p-glycoprotein blocker SDZ PSC 833." *Br. J. Cancer, 76:*1181-1183, 1997.

35. Endicott, J.A. Ling, V.. "The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance." *Annu. Rev. Biochem. 58:*137-171, 1989.

36. Tsuruo, T.Eida, H. Tsuskagoshi, S. Sakurai, T. "Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil." *Cancer Res. 41:*1967-1972,1981

37. Ford, J. M. Prozialeck, W.C. Hait, W.N. "Structural features determining activity of phenothiazines and related drugs for inhibition of cell growth and reversal of multidrug resistance." *Mol. Pharmacol. 35:*105-115, 1989.

38. Twentyman, P.R. Fox, N.E. White, D.J. "cyclosporin A and its analogues as modifiers of adriamycin and vincristine resistance in a multi-drug resistant human lung Cancer cell line." *Br. J. Cancer 56:*55-57, 1987.

39. Barnes, K.M. Dikestein, B. Cutler. Jr., G. B. Fojo, T. Bates, S. E. "Steroid treatment, accumulation, antagonism of P-glycoprotein in multidrug-resistant cells." *Biochemistry 35:*4820-4827, 1996.

40. Zibera, C. Gibelli, N. Maestri, L. Della Cuna, G. R. "Medroxyprogesterone-acetate reverses the MDR phenotype of the CG5-doxorubicin resistant human breast cancer cell line." *Anticancer Res. 15:*745-749, 1995.

41. Mistry, P. Stewart, A. J. Dangerfield, W. Okiji, S. Liddle, C. Bootle, D. Plumb, J. A. Templeton, D. Charlton, P. “In vitro and in vivo reversual of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by a novel potent modulator,” XR9576, *Cancer Res.* ***61:*** 749-758, 2001.

42. Wang, E. Casciano, C.N. Clement, R.P. Johnson, W.W.. "The farnesyl protein transferase inhibitor SCH66336 is a prtent inhibitor of MDR1 product P-glycoprotein." *Cancer Res.* ***61:***7525-7529, 2001.

43. Conseil, G. Baubichon-cortary, H. Dayan, G. Jault, J. M. Barron, D. dI Pietro, A.. “Flavonoids: a class of modulators with bifunctional interactions at vicinal ATP-and steroid binding sites on mouse P-glycorortein,” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ***95:***9831-9836, 1998.

44. Choi, C. H. Sun, K. H. An, C. S. Yoo, J.C. Hahm, K. S. Lee, I. H. Sohng, J. K. and Kim, Y.C. "Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by 5,6,7,3,4-pentamethoxyflavone(sinensetin)," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* ***295:***832-840, 2002.

45. Ikegawa, T. Ohtani, H. Koyabu, N. Juichi, M. Iwase, Y. Ito, C. Furukawa, H. Naito, M. Tsuruo, T. Sawada, Y. "Inhibition of P-glycoprotein by flavonoid derivatives in adriamycin-resistant human myelogenous leukemia(K562/ADM) cells," *Cancer Lett.* ***177(1):***89-93, 2002.

46. Soambia, G. Ranelletti, F. O. Panici, P. B. Vincenzo, De R. Bonanno, G. Frrandina, G. Piantelli, M. Bussa, S. Rumi, C. Ciantriglia M. et al. "Quercetin potentiates the effect of adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line: P-glycoprotein as a possible target." *Cancer Chemother Pharmacol.* ***36(5):***448-50, 1995.

47. Doostdar, H. Burke, M.D. Mayer, R.T. "Bioflavoniods: selective substrates and inhibitors for cytochrome P450 CYP 1A and CYP 1B1", *Toxicology* ***144:***31-38, 2000.

48. Zhang, H. Wong, C. W. Coville, P. G. Wanwimolruk, S. "Effect of the grapefruit flavonoid naringen on pharmacokinetics of quinine in rats." *Drug Metabol Drug Interact.* ***17(1-4):***351-363, 2000.

49. kutz, B.S. Wellzel, U. Daniel, H. "Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines." *Eur. J. Nutr.* ***38(3):***133-142, 1999.

50. Koide, T. Kamei, H. Hashimoto, Y. Kojima, T. Terabe, K. Umeda, T. "Influence of flavonoids on cell cycle phase as analyzed by flowcytometry." *Cancer Biother Badiopharm* ***12(2):***111-5, 1997.

51. Hanasaki, Y. Ogawa S. and Fukui, S. "The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids." *Free Radic. Biol. Med.,* ***16***:845-850, 1994.

52. Kok, L.D. Wong, Y.P. Wu, T.W. Chan, H.C. Kwok, T.T. and Fung, K.P. "Morin hydrate: a potential antioxidant in minimizing the free-radicals-mediated damage to cardiovascular cells by anti-tumor drugs." *Life Sci.,* ***67***:91-99, 2000.

53. Ramanathan, L. Das, N.P. and Li, Q.T. "Studies on lipid oxidation in fish phospholipid liposomes." *Biol Trace Elem Res,* ***40***:59-70, 1994.

54. Bhattacharya, R.K. and Firozi, P.F. "Effect of plant flavonoids on microsome catalyzed reactions of aflatoxin B1 leading to activation and DNA adduct formation." *Cancer Letter,* ***39***:85-91, 1988.

55. Francis, A.R. Shetty, T.K. and Bhattacharya, R.K. "Modulating effect of plant flavonoids on the mutagenicity of N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine." *Carcinogenesis.* ***10***:1953-1955 (1989).

56. Kim, H.K. Cheon, B.S. Kim, Y.H. Kim S.Y. and Kim, H.P. "Effects of naturally occurring flavonoids on nitric oxide production in the macrophage cell line RAW 264.7 and their structure-activity relationships." *Biochem Pharmacol.* ***58***:759-765, 1999.

57. Raso, G.M. Meli, R. Di Carlo, G. Pacilio, M. and Di Carlo, R. "Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A.1." Life Sci. ***68***:921-931, 2001.

58. Fang, S. H. Hou, Y. C. Chang, W. C. Hsiu, S.L. Chao P. D. and Chiang, B. L.. "Morin sulfates/glucuronides exert anti-inflammatory activity on activated macrophages and decreased the incidence of septic shock." *Life Sci.,* ***74***:743-756, 2003.

59. Zhang, S. and Morris, M.E.. "Effects of the flavonoids biochanin A, morin, phloretin, and silymarin on P-glycoprotein-mediated transport." *J. Pharmacol. Exp. Ther.,* 304:1258-1267, 2003.

60. Hodek, P. Trefil, P. and Stiborova, M., "Flavonoids-potent and versaltile biologically active compounds interacting with cytochromes P450." *Chem..Biol. interact.* ***139***:1-21, 2002.

61. Vaclavikova, R. Horsky, S. Simek, P. and Gut, I. "Paclitaxel metabolism in rat and human liver microsomes is inhibited by phenolic antioxidants." *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.,****368***:200-209, 2003.

62. Nguyen, H. Zhang, S. and Morris, M.E., "Effect of flavonoids on MRP1-mediated transport in Panc-1 cells." *J. Pharm. Sci.,* ***92***:250-257, 2003.

63. Gao, P. Rush, B. D. Pfund, W.P. Huang, T. Bauer, J. M. Morozowich, W. and Kuo, M. S.. Hageman MJ. "Development of a supersaturable SEDDS (S-SEDDS) formulation of paclitaxel with improved oral bioavailability." *J Pharm Sci.* ***92***:2386-2398, 2003.

64. Andreeva, M. Niedmann, P. D. Binder, L. Armstrong, V. W. Meden, H. Binder, M. and Oellerich, M.. "A simple and reliable reverse-phase high-performance liquid chromatographic procedure for determination of paclitaxel (taxol) in human serum." *Ther. Drug Monit.* ***19***:327-332, 1997.

65. Lee, S. H. Yoo, S. D. Lee, K. H.. "Rapid and sensitive determination of paclitaxel in mouse plasma by high-performance liquid chromatography." *J. Chromatogr B Biomed. Sci. Appl.* ***724***:357-363, 1999.

66. Rocci, M. L. and Jusko, W. J.. "LAGRAN program for area and moments in pharmacokinetic analysis." *Computer Programs in Biomedicine.* **16:** 203-209. 1983.

Part Ⅱ.

경구 및 정맥투여시 나린진이 파크리탁셀의 생체이용률에 미치는 영향

Effects of a flavonoid, Naringin, on the Paclitaxel Bioavailability after Oral and Intravenous Administration of Paclitaxel in Rats

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of naringin on the bioavailability of orally and intravenously administered paclitaxel in rats. Naringin (3.3 and 10 mg/kg) was coadministered with paclitaxel orally, or pretreated 30 min before oral (30 mg/kg) or intravenous (3 mg/kg) paclitaxel administration.

Coadministration of naringin did not result in the significant change of the pharmacokinetic parameters of oral paclitaxel. But the pretreatment with naringin induced the significant alteration of the pharmacokinetic parameters of both oral and intravenous paclitaxel. Pretreatment of naringin significantly ($p<0.05$) increased the absorption rate constant (K_a), the area under the plasma concentration-time curve (AUC) and peak concentration (C_{max}) of paclitaxel. Oral absolute bioavailability (AB%) of paclitaxel was 2.1% in the control group and increased significantly

($p<0.05$) up to 3.0～3.2% in pretreated with morin (3.3 and 10mg/kg). Relative bioavailability Time to reach peak concentration (T_{max}) of paclitaxel after the pretreatment with naringin was shortened significantly ($p<0.05$) compared to the oral control group. In the intravenous group, the pretreatment with naringin significantly ($p<0.05$) increased AUC of paclitaxel, and RB of paclitaxel was elevated 1.3-fold. K_{el} of paclitaxel decreased, but without any statistical significance.

Collectively, the pretreatment with naringin significantly enhanced the systemic exposure of paclitaxel after the oral and intravenous administration of paclitaxel. It might be because, partially, naringin as the dual inhibitor of CYP 3A4 and P-glycoprotein, competitively inhibited the metabolism and efflux of paclitaxel in the liver and intestine. Therefore, the concurrent use of naringin or naringin-containing dietary supplement with paclitaxel may require close monitoring for potential drug interations.

□***Keywords*** : Paclitaxel, Naringin, Pharmacokinetics, Bioavailability, AUC.

Ⅰ. 서 론

파크리탁셀 (paclitaxel)은 *Taxus brevifolia*의 수피에서 분리해낸 물질로 악성 종양을 억제하는 약물이다. Vinca alkaloids와는 달리 이 약물의 항암기전은 튜뷰린이 비 공유결합으로 마이크로튜뷰린을 형성하는 과정을 촉진시키거나 안정화 시키는 작용이 있어 세포주기의 유사분열 G_2상이나 M상에서 세포의 복제를 억제시키는 작용이 있다. 이로 인해 비정상적인 암세포의 복제를 억제시켜 항암작용을 나타낸다.[1-8] 파크리탁셀은 난소암, 유방암, 백혈병, 흑색증, 전립선암 등에 사용되며, 그 중에서도 특히 유방암에 효과가 좋다고 보고되었다.[9-18] 파크리탁셀을 정맥투여 하였을 때 골수억제, 체중감소, 간 기능장애, 배아상피형성 부전증, 구토, 혈중에 지질, 콜레스테롤 및 트리글리세라이드의 증가 등 부작용이 있는 것으로 보고되었다.[19]

파크리탁셀의 화학구조식은 $C_{47}H_{51}NO_{14}$이며, 기본 핵인 taxane ring에 C_{13}과 C_2 위치에 곁다리가 있는 복잡한 구조식이다(Fig. 1). 파크리탁셀은 물에 난용성 물질으로 경구투여가 거의 불가능하여[20], 정맥투여제제로서 Cremophor EL™(polyethoxylated castor oil derivatives)과 무수알콜(USP)의 1:1(v/v) 비율인 혼합제제가 시판되고 있으며 이는 5% 포도당주사액 혹은 생리식염수로 희석하여 사용한다.[21] cremophor EL은 정맥주사 하였을 때 인체에서 독성을 초래하며 부작용으로는 혈관확장, 호흡곤란, 피로감 및 저혈압 등이 있다.[22] 그래서 파크리탁셀을 경구투여제제로 개발하려고 많은 노력들을 하고 있다. 파크리탁셀은 간에서 cytochrome P450에 의해서 주로 phase 1인 monoxygenase으로 인해 대사가 이루어지며 대사체로는 6α-, 3-p-dihydroxypaclitaxel, 3-p-hydroxy-paclitaxel 및 6α-hydroxypaclitaxel 등이 있으며, 그중 주요 대사체는 6α-hydroxypaclitaxel이다.[23-26] 파크리탁셀의 체내배설양상은 다양하며 주로 CYP 3A4와 CYP 2C8에 의해서 대사되여 담즙으로 배설된다. 신장으로는 4.3-8.2% 정도의 미 변화체가 배설되며 흡수율은 낮다.[17, 27, 28]

경구투여된 파크리탁셀은 낮은 수용성 및 간과 소장상피세포에 존재하는 CYP 3A4의 대사로 인해 생체이용률은 극히 낮다. 그리고 P-당단백질도 장관에서의 CYP 3A4와 함께 파크리탁셀의 흡수를 억제시킨다.[29] Salama 등[30]의 보고에 의하면 파크리탁셀을 P-당단백질의 억제제인 enaminones와 함께 투여하였을 때 흰쥐의 뇌 내에 파크리탁셀의 량이 2.25배 증가되었다고 하였다. 그리고 P-당단백질과 CYP 3A4의 억제제인 싸이크로스포린을 파크리탁셀과 병용 경구투여 하였을 때 단독투여에 비해 인체 및 흰쥐에서 현저히 증가되었다고 보고하였다.[31,32] P-당단백질은 정상적인 분비성 내피세포에 존재하며 담낭내막, 신장 세뇨관, 장관강막, 태반, 고환 등 혈관내 분비성 세포에 존재한다.[33] P-당단백질은 세포막 투과에 관여하는 단백질로서 ATP의존적이며 많은 약물들이 경구투여 할 때 장관에서의 유입을 억제하는 다제내성(MDR, multi-drug resistance)작용이 있다고 보고된바 있다.[34] 이 단백질은 악성종양의 세포막에도 존재하며 독소루비신, 빈크리스틴, 빈불라스틴, 파크리탁셀, 코올치신, 아크티노마이신 D, 미토마이신 C 등 많은 화학치료약물의 세포내 유입을 감소시킨다고 보고되었다.[35]

P-당단백질의 기질약물들의 생체이용률을 높이기 위하여 P-당단백질의 역류작용을 조절하는 물질들에 대하여 많은 연구들을 하고 있다. 연구에 의하면 베라파밀, 페노치아진, 사이크로스포린 A 등이 P-당단백질을 억제한다고 보고되었다.[36-38] 항암약물과 P-당단백질억제제를 다제내성 작용이 있는 세포에서 병용하였을 때 항암약물들의 유입량이 증가되었다. 그러나 위에서 언급한 억제제들은 기질약물들과 경쟁적 작용으로 P-당단백질을 억제하며 억제작용을 현저히 나타내기 위하여 임상적으로 과량 투여 하여야한다. 이로 인해 이들의 억제작용을 나타내는 동시 독성작용을 초래하게 된다. 베라파밀, 사이크로스포린 A 등 많은 억제제는 P-당단백질에 의하여 체내에서 수송에 관여하므로 그들은 경쟁적으로 기타 기질약물들의 역류를 감소하므로 P-당단백질 억제제라기보다 pseudosubstrates라고도 한다. 그리하여 P-당단백질에 의하여 수송하지 않는

지용성 스테로이드류, 프라보노이드류 등의 연구가 필요하며 지용성 화학물질들은 프로게스테론, medroxy-progestenone acetate[39,40] 등이 보고되었다. PSC833, VX-710, LY335979, XR9051, XR9576, SCH6636 등은 높은 선택성과 효능이 있는 제2대 억제제로서 검토되고 있다.[41, 42]

프라보노이드류(flavonoid)는 세포내에서 P-당단백질의 ATP결합부위에 작용하는 새로운 억제제로서 보고되었다.[43] 연구에 의하면 프라보노이드류인 sinensetin의 억제작용이 베라파밀과 사이크로스포린 A등 과 같으며 빈크리스틴과 병용투여 하였을 때 MDR작용을 완전히 억제하는 약물농도에서 sinesetin의 독성은 매우 약하다고 보고하였다. 베라파밀, 사이크로스포린 A와는 달리 sinesetin은 무독성농도에서 P-당단백질의 농도를 감소시킨다. Sinensetin은 임상응용에서 가장 유력한 약물로서 P-당단백질에 의하여 수송되지 않으며, 그리고 P-당단백질을 유도하지도 않는다고 보고되었다.[44] 프라보노이드류의 유래물질인 pentamethylquercetin, pentaallylquercetin, pentaethylmorin은 P-당단백질을 억제하는 능력은 배라파밀과 싸이크로스포린 A에 비교해 더욱 강력하다고 보고 하였다[45]. 퀠세틴과 3,4,7-trimethoxyquercetin등도 P-당단백질의 작용을 억제한다고 보고되었다.[46]

프라보노이드류는 각종 cytochrome P450의 기질물질 혹은 억제제로서 작용한다고 보고되었다. Acacetin와 diosmetin은 CYP 1A와 CYP 1B1의 ethoxyresorufin O-dealdylase(EROD)작용을 강하게 억제하며 eriodictyol, homoeriodictyol와 나린제닌은 인체 CYP 1A의 EROD 작용을 억제하는 능력이 약하며 Hesperetin와 homoeriodictyol은 CYP 1A1와 CYP 1B1을 선택적으로 억제 한다.[47] 프라보노이드류는 폴리페놀 복합체로서 많은 음식물에 존재한다. 프라보노이드류인 프라본, 프라보놀, 프라바논, 이소프라본 등은 암세포 억제하는 작용이 있다고 보고되었다.[48] 프라보노이드류인 chalcone, 프라보논, 퀠세틴 및 캠페롤 등은 세포주기 중 S상에서 G_2상까지를 차단한다고 보고되었다.[49]

나린진(naringin, 4′,5,7-trihydroxy-flavanone-7-rhamnoglucoside)은 프라보노이드류로서 자몽쥬스에 많이 존재한다. 나린진을 경구투여시 인체 소장에 존재하는 박테리아들이 방출한 alpha-rhamnosidase, beta-glucosidase 및 endo-beta-glucosidase등 효소들에 인해 신속히 나린제닌으로 대사된다.[50, 51] 흰쥐에 나린진으로 전처리 투여한 다음 퀴닌을 투여하였을 때 퀴닌의 생체이용률은 17%인 대조군에 비해 42%로서 유의성 있게 증가되었으며, 퀴닌은 생체에서 CYP 3A4에 의해 대사되는 약물로서 나린진의 억제작용에 의해 퀴닌의 생체이용률이 증가되었다고 보고하였다.[52] 시험관 실험에서는 나린진과 나린제닌이 CYP 3A4를 억제하였다고 보고되었다.[53,54] 나린진과 나린제닌은 Caco-2세포에서 P-당단백질의 기질약물인 빈불라스틴의 역류를 억제시켰다.[55] 나린진과 나린제닌은 Caco-2세포에서 P-당단백질의 담체작용을 조절할 뿐만 아니라 CYP 3A4의 대사효소작용을 억제시켰다.[56] Baily등의 연구에 의하면 나린진을 남성건강인에게 펠로디핀과 함께 투여하였을 때 나린진은 펠로디핀의 생체이용률을 증가시켰다.[57] 나린진은 CYP 3A4와 P-당단백질을 억제작용이 있는 것을 추측할 수 있다.

저자는 프라보노이드류인 나린진이 파크리탁셀의 약물동태 및 생체이용률에 영향을 주리라고 사료되어 흰쥐에서 나린진이 경구 및 정맥으로 투여된 파크리탁셀의 약물동태와 생체이용률에 미치는 영향을 검토하고자 하였다.

Ⅱ. 실험방법

A. 시료, 시약 및 기기

파크리탁셀은 Samyang Genex(Taejon, Korea)사의 Taxol을, 나린진은 Sigma Chemical(St. Louis, MO)사, 생리식염수(0.9% NaCl injectable solution)는 중외제약사(seoul, Korea)의 것을 사용하였으며, 아세토니트릴, 메탄올, 에텔, *tert*-butylmethylether 및 n-Haxane은 Merck사의 HPLC등급을, 내부표준물질로 사용한 butylparaben(butyparaoxybenzoic acid)은 Sigma사, 인산과 인산수소칼슘은 Junshei(Tokyo, Japan)사의 것을 사용하였다.

기기로는 Waters사의 HPLC시스템(Waters 1515 isocratic HPLC Pump, Waters 717 plus autosampler, Waters 2487 Dual absorbance detector, Waters Co., Milford, MA, USA), Rikakikai사의 MG 2100 Eyela dry thermo bath(Tokyo, Japan), Hitachi사의 원심분리기(Tokyo, Japan), Branson Ultrasonic사의 초음파청정기(Danbury, C.T., USA), Scientific Industries사의 Vortex(NY, USA)를 사용했다. 컬럼은 Water사의 Symmetry C_{18}(4.6 × 150 mm, 5 μm, USA)을 사용하였고 그리고 컬럼 온도조정기는 Phenomenex(CA, USA)사의 것을 사용하였다.

B. 실험동물

일정한 조건하에서 사육한 체중 270-300 g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 물과 사료를 자유로이 공급하였다. 흰쥐를 경구투여군과 정맥투여군으로 나누었다. 경구투여군에서는 대조군, 병용투여군 및 전투여군으로 나누었으며 정맥투여군

에서는 대조군과 전투여군으로 나누었다.

에텔을 사용하여 마취시켜 고정대에 고정시킨 다음, 우측 대퇴동맥에 폴리에칠렌관(SP 45, I.D 0.58 mm, O.K. 0.96 mm, Natume Selsakuso Co., Yokyo, Japan)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 헤파린(75 U/㎖)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량만큼의 생리 식염수를 피하주사로 보충해 주었다.

C. 경구투여 및 시료 채취

경구투여용 파크리탁셀은 Gao등[63]의 방법을 이용하여 Cremophor EL와 무수알콜을 1:1비율로 용해시켜 20 mg/ml 파크리탁셀용액을 조제한 다음 히드록시프로필메칠셀룰로오즈(HPMC EL5V, Colorcon, USA)를 50 mg을 1 ml에 혼합시키고 증류수에 희석시켰다. 정맥주사용 파크리탁셀은 파크리탁셀을 Cremophor EL과 무수알콜을 1:1비율로 용해시켜 6 mg/ml 파크리탁셀액을 조제한 다음 생리식염수로 희석시켰다. 모린은 증류수에 현탁액으로 조제하여 투여하였다.

경구투여군에서는 다음과 같이 약물투여 하였다. 대조군은 위에서 언급한 경구용 파크리탁셀 조제액을 흰쥐에게 30 mg/kg을 경구투여 하였으며 병용투여군에서는 파크리탁셀(30 mg/kg)과 나린진(3.3 및 10 mg/kg)을 동시 경구투여 시켰고 전투여군에서는 나린진(3.3 및 10 mg/kg)을 경구투여한 30분 후에 파크리탁셀(30 mg/kg)을 경구투여 하였다. 혈액은 파크리탁셀을 투여전 및 투여후 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 및 24시간에 0.5 ㎖를 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈장을 취해 분석시까지 -45℃에서 냉동 보관하였다.

정맥투여군은 다음과 같이 약물투여 하였다. 대조군에는 조제한 파크리탁셀 정맥주사액을 흰쥐에게 3 mg/kg을 대퇴정맥으로 0.5분을 걸쳐 투여하였으며 나린진 전투여군에는 나린진(3.3 및 10 mg/kg)을 경구투여 시킨 30분 후에 대조군과 동일 한

방법으로 파크리탁셀을 정맥주사 하였다. 채혈시간은 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간에서 0.5 ㎖를 채취하여 13,000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 혈장을 취해 분석 시까지 -45℃에서 냉동 보관하였다.

D. 파크리탁셀 분석

혈장중 파크리탁셀 농도는 Andreeva 등과 Lee 등[59, 60]의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈장 0.2 ml 에 50 ㎕ butylparaben(내부표준물질4 ㎍/ml) 및 0.8 ml *tert*-butylmethylether를 가하여 1분간 볼텍스에서 혼합한 다음 5분간 방치시켰다. 그리고 0.6 ml 인산수소칼슘 포화용액을 가하여 혼합하고 10분간 방치시킨 다음 13,000 rpm에서 10 분간 원심분리 시켰다. 0.6 ml 상층액을 취해 38℃ 질소기류 하에서 증발시켰다. 잔사는 200 ㎕ 60%아세토니트릴 용액을 가하여 1분간 볼텍스에서 용해시킨 다음 1 ml n-핵산을 가하여 10초간 혼합시킨 후 10,000 rpm에서 2분간 원심분리 시켰다. 아세토니트릴 층을 취하여 50 ㎕을 HPLC에 주입한다.

*E. HPLC*조건 및 혈장크로마토그램

HPLC시스템의 파장은 227 nm으로 사용하였고 컬럼은 30℃에서 유지시켰다. 이동상은 아세토니트릴:메탄올:0.1% 인산(pH 3.2)혼합액(450:120:430, v/v/v)을 사용하였으며 유속은 1.3 ml/min으로 흘렸다. 혈장크로마토그램에서 내부표준물질인 butylparaben은 4.8 min, 파크리탁셀은 6.7 min에서 분리되었다(Figure 2).

혈중 검량곡선은 파크리탁셀 10, 20, 50, 100, 200, 500 및 1000ng/ml 해당량을 흰쥐의 공혈장 0.2 ml에 넣은 후 위의 정량방법과 동일한 방법으로 정량하였다. 이렇게 작성한 검량곡선은 Figure 3와 같이 혈장에서 x=37.45y-6.08

(r=0.9984)로 나타내었다.

F. 파크리탁셀 약물동태학적 분석

약물동태학적 분석은 noncompartmental pharmacokinetic analysis으로 Lagran방법을 사용한 LAGRAN computer program[61]을 이용하였다. 무한대까지의 혈중농도곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC)은 사다리꼴공식에 의한 오차를 줄이기 위해 LAGRAN에 의해 계산하였다. 최고혈중농도(C_{max})와 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 실험동물 각 개체의 실제 측정치에서 구했으며, 소실속도정수(K_{el})는 배설상의 혈중농도의 회귀분석에 의해, 반감기($t_{½}$)는 $0.693/K_{el}$로 구했다. 그리고 병용투여군과 전투여군의 상대적 생체이용율(RB%)은 병용투여군과 전투여군의 AUC에 대한 대조군 AUC의 백분율로 구했으며, 절대적 생체이용률(AB%)는 $(AUC_{oral}/AUC_{iv})\times(Dose_{iv}/Dose_{oral})\times100$에 의해 산출하였다.

G. 통계 처리

각 약물동태학적 파라메타의 유의성 검증은 unpaired Student's T-test를 적용하여 대조군과 비교해 $p < 0.05$일 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 처리하였다.

Ⅲ. 실험결과

A. 경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터

흰쥐에게 파크리탁셀을 단독경구투여 또는 나린진과 함께 경구투여 하였을 때 얻은 평균혈장농도는 Table 5 및 Figure 6과 같으며, 각 약물동태학적 파라미터는 Table7과 같았다. 나린진을 30분전 투여하였을 때 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있게 변동되었다. 그러나 동시투여군에서는 유의성 있는 변화를 초래하지 않았다. 대조군에서 파크리탁셀의 흡수속도정수(K_a)는 14.1±3.4 hr^{-1}이며, 나린진 전투여군에서는 19.0±5.0 hr^{-1}(3.3 mg/kg)과 20.2 ± 5.1hr^{-1}(10 mg/kg)로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었으며, 나린진이 파크리탁셀의 초회통과효과에 일정한 억제작용이 있는 것으로 추측할 수 있다. 혈장농도곡선하면적(AUC)은 대조군에서 926±229 ng/ml · hr이었고, 전투여군에서는 1315 ± 318 ng/ml · hr(3.3 mg/kg)과 1412 ± 334 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에서 36.8±9.2 ng/ml이었으며, 전투여군에서는 65.6±15.6 ng/ml(3.3 mg/kg)과 71.0 ± 15.4 ng/ml(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 절대적 생체이용률(AB%)은 대조군에서 2.1±0.5%이었고 전투여군에서는 3.0±0.7%(3.3 mg/kg)과 3.2± 0.7%(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 상대적 생체이용률(RB%)은 나린진 전처리투여에 인해 1.42-1.52배로 증가되었다. 나린진의 전처리투여에 의해 흰쥐에서 경구투여된 파크리탁셀의 생체이용률이 증가된 것을 알 수 있다. 최고혈중농도도달시간(T_{max})과 소실반감기($t_{½}$)는 나린진을 함께 투여로서 변화되지 않았다.

B. 정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터

흰쥐에게 파크리탁셀을 단독 정맥투여 또는 나린진을 30분전 경구투여 한 다음 파크리탁셀을 정맥투여 하였을 때 얻은 평균혈장농도는 Table 6, Figure 7과 같으며, 각 약물동태학적 파라미터는 Table 8과 같았다. 대조군에서 파크리탁셀의 AUC는 4401±1214 ng/ml · hr이었고, 전투여군에서는 5879±1421 ng/ml · hr(3.3 mg/kg)과 6134±1442 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 나린진 전투여군에서 정맥투여된 파크리탁셀의 RB%는 1.33-1.34배로서 현저히 증가되었다. 체내체류시간(MRT)은 대조군에서 5.3 hr이었으나 전투여군에서는 7.5 hr로서 유의성($p<0.05$) 있게 연장되었다. 소실속도정수(K_{el})와 $t_{½}$도 대조군에 비해 전투여군에서 유의성 있게 변화되지 않았다.

Table 5. Mean plasma concentration of Paclitaxel (ng/ml) after oral administration of Paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg)

Time(hr)	Control	Naringin coadmin.		Naringin Pretreat.	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg	3.3 mg/kg	10 mg/kg
0	0	0	0	0	0
0.25	25.9±6.7	31.3±7.8	32.8±8.2	48.1±12.0	52.1±13.0
0.5	29.7±6.8	35.8±9.0	37.6±9.4	56.1±14.0*	60.7±15.2*
1	34.2±8.6	41.3±10.3	43.5±10.9	65.5±16.4*	71±17.8*
2	36.8±7.7	44.1±11.0	46.3±11.6	53.5±13.4*	58±14.5*
3	32.8±7.6	41.3±10.3	43.1±10.8	43.3±10.8*	46.9±11.7*
4	29.5±6.5	35.2±8.8	37.0±9.3*	37.4±9.4*	40.5±10.1*
8	24.0±5.3	28.5±7.1	29.9±7.5	30.5±7.6*	33.1±8.3*
12	20.3±5.2	24.2±6.1	25.4±6.4	25.3±6.3	27.4±6.9
24	14.4±3.7	17.3±4.3	18.3±4.6	19.7±4.9	21.2±5.3

Mean ± S.D. (n = 6), * $p < 0.05$ compared to control

Table 6. Mean plasma concentration of Paclitaxel (ng/ml) after intravenous administration of Paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg)

Time(hr)	Control	Naringin	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg
0	38178±8780	40042±10011	40985±10246
0.1	5190±1193	5424±1356	5686±1422
0.25	2122±509	2636±659	2772±693
0.5	1091±284	1485±371	1565±391
1	554±139	721±180	756±189
2	260±68	359±90*	375±94*
4	111±28	208±52*	217±54*
8	61±16	111±28*	116±29*
12	42±11	58±15*	61±15*
24	22±5.8	46±12*	48±12*

Mean ± S.D. (n = 6), *$p < 0.05$ compared to control

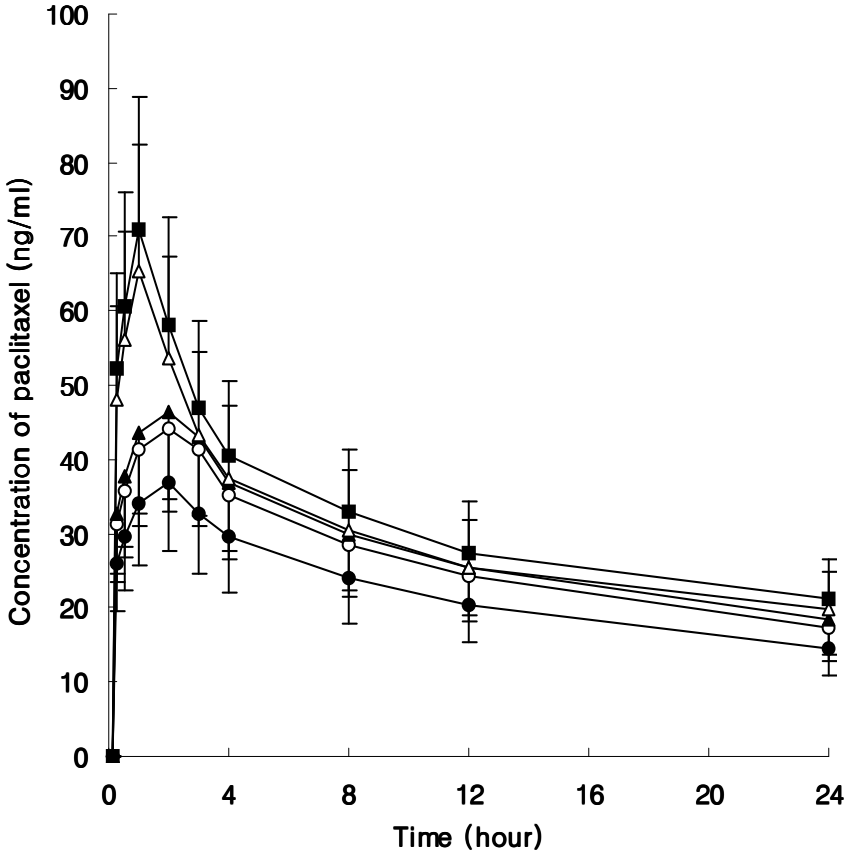

Figure 6. Mean plasma concentration-time curves of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) (●: paclitaxel 30 mg/kg, oral; ○: paclitaxel coadministered with naringin 3.3 mg/kg; ▲: paclitaxel coadministered with naringin 10 mg/kg; △: paclitaxel pretreated with naringin 3.3 mg/kg; ■: paclitaxel pretreated with naringin 10 mg/kg).

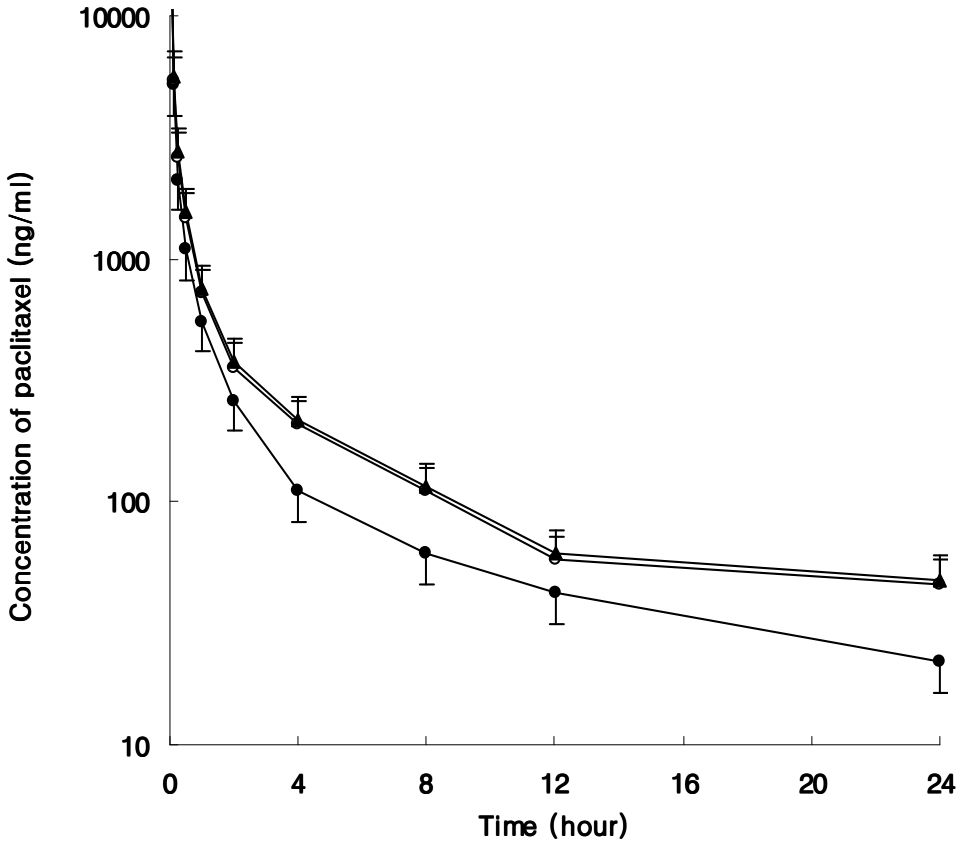

Figure 7. Mean plasma concentration-time curves of paclitaxel after intraveous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence or absence of naringin (3.3 and 10 mg/kg) (●: paclitaxel 3 mg/kg, intravenous; ○: pretreated with naringin 3.3 mg/kg; ▲: paclitaxel pretreated with naringin 10 mg/kg).

Table 7. Mean (± S.D.) Pharmacokinetic parameters of paclitaxel after oral administration of paclitaxel (30 mg/kg) with naringin(3.3 and 10 mg/kg) in rats

Parameters	Paclitaxel Control	Naringin coadministration		Naringin pretreatment	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg	3.3 mg/kg	10 mg/kg
AUC (ng/ml · hr)	926 ± 229	1115 ± 265	1180 ± 258	1315 ± 318*	1412 ± 334*
C_{max} (ng/ml)	36.8 ± 9.2	44.1 ± 11.1	46.3 ± 10.1	65.6 ± 15.6*	71.0 ± 15.4*
T_{max}(hr)	2.0 ± 0.52	2.0 ± 0.51	2.0 ± 0.49	1.0 ± 0.27	1.0 ± 0.28
$t_{½}$ (hr)	19.8 ± 4.5	20.4 ± 5.2	20.5 ± 5.3	22.6 ± 5.5	22.5 ± 5.5
K_a (hr^{-1})	14.1 ± 3.4	17.0 ± 3.6	17.6 ± 3.7	19.0 ± 5.0*	20.2 ± 5.1*
AB(%)	2.1 ± 0.5	2.5 ± 0.6	2.7 ± 0.7	3.0 ± 0.7*	3.2 ± 0.7*
R.B(%)	100	120	127	142	152

Mean ± S.D. (n = 6), * $p < 0.05$ compared to control.
AUC: area under the plasma concentration-time curve from 0h to 24h;
C_{max} : peak concentration;
T_{max}: time to reach peak concentration;
$t_{½}$: terminal half life;
K_a : absorption rate constant;
AB(%): absolute bioavailability;
R.B(%): relative bioavailability.

Table 8. Mean (± S.D.) Pharmacokinetic parameters of paclitaxel after intravenous administration of paclitaxel (3 mg/kg) to rats in the presence and absence of naringin

Parameters	Paclitaxel Control	Naringin pretreatment	
		3.3 mg/kg	10 mg/kg
AUC (ng/ml · hr)	4401±1214	5879±1421*	6134±1442*
K_{el} (hr^{-1})	0.074±0.017	0.069±0.015	0.066±0.014
$t_{½}$ (hr)	9.5±2.7	10.2±2.5	10.3±2.6
MRT (h)	5.3±1.3	7.5±1.8*	7.5±1.7*
R.B(%)	100	133	141

Mean ± S.D. (n = 6), * $p < 0.05$ compared to control.
AUC: area under the plasma concentration-time curve from 0h to 24 h;
K_{el}: elimination rate constant;
$t_{½}$: half life;
MRT: mean residence time;
R.B(%): relative bioavailability.

Ⅳ. 고 찰

파크리탁셀은 물에 난용성 물질이며 경구투여시 극히 낮은 생체이용률로 인하여 현재는 정맥주사제로 시판되고 있다.[20,21] 그러나 정맥주사제는 많은 부작용으로 인해 입원치료에서만 사용할 수 있다. 그리하여 환자들에게 많은 불편을 초래하게 된다. 정맥투여제제의 단점을 극복하기 위하여 기타 각종 경구투여제제들을 개발하려고 많은 연구들이 진행되고 있다. 파크리탁셀은 생체에서 주로 CYP 3A4와 CYP 2C8에 의해 대사되며, 그리고 P-당단백질도 장관에서 CYP 3A4와 합께 파크리탁셀의 흡수를 억제시킨다.[29] 본 실험에서 흰쥐에게 나린진으로 30분전 투여한 다음 파크리탁셀을 경구투여하였을 때 파크리탁셀의 K_a는 1.4배로 유의성 있게 증가되었으며, T_{max}는 대조군의 0.5배로 줄었다. Takanaga 등[55]의 연구에 의하면 Caco-2세포에서 나린진과 나린제닌은 P-당단백질의 역류작용를 억제시켰으며 Eagling 등[56]도 나린진과 나린제닌은 Caco-2세포에서 P-당단백질의 작용을 억제할 뿐만 아니라 CYP 3A4의 대사효소작용도 억제시켰다고 보고하였다. 증가된 파크리탁셀의 흡수속도정수는 나린진의 전투여로 CYP 3A4 및 P-당단백질을 억제한 결과라고 사료된다. 나린진을 전투여 하였을 때 경구투여된 파크리탁셀의 AUC와 C_{max}, 정맥투여된 파크리탁셀의 AUC는 유의성 있게 증가되었고 MRT도 유의성 있게 연장되었다. 이러한 결과는 Zhang 등[52]의 흰쥐에게 나린진을 전투여해서 CYP 3A4의 기질인 퀴닌의 생체이용률을 증가시켰다는 결과와 유사하다. 나린진 동시투여군에서 경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터는 유의성 있는 변화가 없었다. 나린진은 경구투여 하였을 때 소장에 존재하는 세균이 방출한 alpha-rhamnosidase, beta-glucosidase 및 endo-beta-glucosidase등 효소들에 의해 나린제닌으로 대사되어 흡수되며,[50,51] 나린진은 P-당단백질 및 CYP 3A4를 억제하려면 일정한 흡수시간이 소요되리라고 사료된다.

본 실험에서 나린진 전투여군에서 파크리탁셀의 생체이용률은 유의성 있게

증가되었다. 경구투여된 파크리탁셀의 AB%값을 보면 경구투여제제를 개발에는 더 많은 노력이 필요하나 본 실험결과에서 프라보노이들류인 나린진은 인체에 많은 유익한 작용이 있고 독성이 없는 물질로서 파크리탁셀과 함께 투여하였을 때 파크리탁셀의 생체이용률을 증가시키고 항암작용에도 보조작용이 있다고 사료된다.

V. 결 론

프라보노이드류인 나린진은 자몽쥬스 등 많은 음식물에 존재하는 무독성, 인체에 항산화작용 항암작용등 많은 유익한 작용이 있는 물질이다. 나린진은 소장 및 간세포등에 존재하며 많은 약물들의 초회통과효과를 관여하는 P-당단백질과 CYP 3A4를 억제하는 작용이 있다. 파크리탁셀도 P-당단백질과 CYP 3A4의 기질약물로서 본 실험에서는 항암약물인 파크리탁셀을 흰쥐에게 경구(30 mg/kg) 및 정맥(3 mg/kg)투여하였을 때 함께 투여시킨 나린진이 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터에 미치는 영향을 고찰하였다. 실험결과는 Table 7 및 8과 같다.

경구투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터변화로는;

1. 파크리탁셀의 흡수속도정수(K_a)는 대조군에서 14.1±3.4 hr^{-1}이며, 나린진 전투여군에서는 19.0±5.0 hr^{-1}(3.3 mg/kg)과 20.2 ± 5.1hr^{-1}(10 mg/kg)로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

2. 파키리탁셀의 혈장농도곡선하면적(AUC)은 대조군에서 926±229 ng/ml · hr이었고, 전투여군에서는 1315 ± 318 ng/ml · hr(3.3 mg/kg)과 1412 ± 334 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

3. 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에서 36.8±9.2 ng/ml이었으며, 전투여군에서는 65.6±15.6 ng/ml(3.3 mg/kg)과 71.0 ± 15.4 ng/ml(10 mg/kg)으로서 현저히 증가되었다.

4. 절대적 생체이용률(AB%)은 대조군에서 2.1±0.5이었고 전투여군에서는 3.0±0.7(3.3 mg/kg)과 3.2± 0.7(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

5. 상대적 생체이용률(RB%)은 나린진 전처리투여에 인해 1.42-1.52배로 증가되었다.

6. 병용투여시 AUC, K_a,T_{max}, RB%는 증가되었으나 유의성은 없었다.

정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터변화로는;

1. 파크리탁셀의 AUC는 대조군에서 4401±1214 ng/ml · hr이었고, 전투여군에서는 5879±1421 ng/ml · hr(3.3 mg/kg)과 6134±1442 ng/ml · hr(10 mg/kg)으로서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

2. RB%는 1.34-1.39배로서 현저히 증가되었다.

3. 파크리탁셀의 MRT은 대조군에서 5.3 hr이었으며 전투여군에서는 7.5 hr로서 유의성($p<0.05$) 있게 연장되었다.

나린진과 함께 투여하였을 때 경구투여 및 정맥투여된 파크리탁셀의 생체이용률은 현저히 증가되었다. 이러한 결과는 나린진이 P-당단백질과 CYP 3A4를 억제시켜 파크리탁셀의 생체이용률을 증가시킨 것으로 사료된다. 나린진은 무독성이며 생체에 유익한 작용이 있는 자연산 물질로서 파크리탁셀의 항암작용 및 제형개발에 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.

Ⅵ. 참고문헌

1. Kumar. N.. "Taxol-induced polymerization or purified tubulin. Mechanism of action." *J. Biol. Chem.* ***256:***10435-10440,1981.

2. Manfredi, J. J. Horwitz. S. B.. "An antimitotic agent with a new mechanism of action." *Pharmacol. Ther.* ***25:***83-89,1984.

3. Rowinsky, E. K. Cazenave, L. A. and Donehower. R.C.. "Taxol: a novel investigational antimicrotubule agent." *J. Natl. Cancer Inst.* ***82:***1247-1259, 1990.

4. Schiff, P.B. Fant, J. and Horwitaz, S. B.. "Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol." *Mature* ***277:***665-672,1979.

5. Wall, M. E. Wani. M. C.. "Antineoplastic agents from plants." *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* ***17:***117-124, 1977.

6. Wani, M. C. Taylor, H. L. Wall, M. E. Coggon, P. and McPhail. A. T. "Plant antitumor agents. Ⅵ. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumer agent from Taxus brevifolia." *J. Am. Cem. Soc.* ***93:***2325-2330, 1971.

7. Huizing, M. T. Keung, A. C. F. Van der Rosing, H. Kuij, V. Huinink, W. W. T. B. Mandjes, I. M. Dubbelman, A. C. Pinedo H. M. and Beijnen. J. H. "Pharmacokinetics of paclitaxel and metabolites in a randomized comparative study in platinum-pretreated ovarian cancer patients." *J. Clin. Oncol.* ***11:***2127-2135,1993.

8. Jamis-Dow, C. A. Klecker, R. W. Sarosy, G. Reed E. and Collins. J. "Steady-state plasma concentrations and effects of taxol for a 250 mg/m^2 dose in combination with granulocyte-colony stimulating factor in patients with ovarian cancer." *Cancer Chemother. Pharmacol.* ***33:***48-52, 1987.

9. Donehower, R. C. Rowinsky, E. K. and Grochow, L. B. et al. “Phase I trial of taxol in patients with advanced malignancies.” *Cancer Treat. Rep.* ***71:***1171-1177, 1987.

10. Legha, S. S. Tenney, D. M. and Krakhoff, I. R.. “Phase I study of taxol using a 5-day intermittent schedule.” *J. Clin. Oncol.* ***5:***1232-1239, 1987.

11. Einzig, A. I. Hochster, H. and Wiernik, P. H. et al. “A phase Ⅱ study of taxol in patients with malignant melanoma.” *Invest. New. Drugs.* ***9:***59-64, 1991.

12. McGuire, W. P. Rowinsky, E. K. and Rosenheim, N. B. et al. “Taxol: A unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasm.” *Ann. Intern. Med.* ***111:***273-279, 1989.

13. Einzig, A. I. Wiernik, P. H. and Sasloff, J. et al. “Phase Ⅱ study and long-term follow up of patients treated with taxol for advanced ovarian adenocarcinoma.” *J. clin. Oncol.* ***10:***1748-1753, 1992.

14. Einzig, A. I. Gorowski, E. and Sadloff, J. et al. “Phase Ⅱ trial of taxol in patients with metastatic renal cell carcinoma.” *Cancer invest.* ***9:***133-136, 1991.

15. Sarosy, G. Kohn, E. and Stone, D. A. et al. “Phase I study of taxol and granulocyte stimulation factor in patients with refractory ovarian cancer.” *J. clin. Oncol.* ***10:***1165-1170, 1992.

16. Wiernik, P. H. Schwartz, E. L. and Einzig, A. et al. “Phase I trial of taxol given as a 24-hour infusion every 21 days: Responses seen in metastatic melanoma.” *J. Clin. Omcol.* ***5:***1232-1239, 1987.

17. Grem, J. L. Tutsch, K. D. and Simon, K. L. et al. “Phase I study of taxol administered as a short iv infusion dail; for 5days.” *Cancer Treat. Rep.* ***71:***1179-1184, 1987.

18. Rowinsky, E. K. Gilbert, M. R. and McGuire, W. P. et al. “Sequences of taxol and cisplatin: A phase I and pharmacologic study.” *J. Clin. Oncol.* ***9:***1692-1703, 1991.

19. Summary on taxol(NSC-125973) from Columbus Laboratories, *Toxicology Program Office, Vienna, VA,* Nov 1982.

20. Mathew, A. E. Mejillano, M. R. Nath, J. P. Himes, R. H. and Stella, V. J.. “Synthesis and evaluation of some water-soluable prodrugs and derivatives of taxol with antitumor activity.” *J. Med. Chem.* ***35:***145-151, 1992.

21. Huizing, M. T. Sewbearath Misser, V. H. Pieters, R. C. Ten Bokkel huinink, W. W. Veenhof, C. H. N. Vermorken, J. B. Pinedo, H. M. and Beijnen, J. H.. Taxane. “A new class of antitumor agents.” *Cancer Invest.* ***13:***381-404, 1995.

22. Rowinsky, E., Eisenhauer. E., Chaudhy, V., Aqbuck, S. G., Donehower, R. C., 1993, Clinical toxicities encountered with paclitaxel (TaxolR). Sem. Oncol. 20 Suppl. 3:1-15.

23. Rahman, A. Korzekwa, K. R. Grogan, J. Gonzalez, F. J. and Harris, J. W.. “Selective biotransformation of taxol to 6α-hydroxytaxol by human cytochrome P450 2C8.” *Cancer Res.* ***54:***5543-5548, 1994.

24. Sonnichsen, D. S. Liu, Q. Schuetz, E. G, Schuetz, J. D. Pappo, A. and Relling. M. V.. “Variability in human cytochrome P450 paclitaxel metabolism.” *J. Pharmacol. Exp. Ther.* ***275:***566-571(1995).

25. Walle, T.. “Short communication; Taxol metabolism in rat hepatocytes.” *Biochem. Pharmacol.* ***46(9):***1661-1664, 1993.

26. Sonnichsen, D. S. and Relling, M. V. “Clinical Pharmacokinetics of paclitaxel.” *Clin. Pharmacokinet.* ***27(4):***256-269, 1994.

27. Brown, T. Havlin, K. Weiss, G. Cagnola, J. Koeller, J. Kuhn, J. Rizzo, J. Craig, J. Philips, J.and Von Hoff, D. “A phase I trial of taxol given by a 6-hour intravenous infusion.” *J. Clin. Oncol.* ***9:***1261-1267, 1991.

28. Wiernik, P. H. Schwartz, E. L. Strauman, J. J. Dutcher, J. P. Lipton, R. B, and Paietta. E.. “Phase I xlinical and pharmacokinetic study of taxol.” *Cacer Res.* ***47:***2486-2493, 1987.

29. Sparreboom, A. van Asperen, J. Mayer, U. Schinkel, A. H. Smit, J. W. Meijer, D. K. Borst, P. Nooijen, W. J. Bejinen, J. W. and van Tellingen. O.. "Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* ***4***:2031-2035, 1997.

30. Salama, N. N. Scott, K. R. Eddington, N. D.. "The influence of enaminones on the transport and oral bioavailability of P-glycoprotein substrate therapeutic agents." *Int. J.Pharm.* ***273***:135-147, 2004.

31. Meerum Terwogt, J. M. Malingre, M. M. Beijnen, J. H. ten Bokkel Huinink, W. W. Rosing, H. Koopman, F. J. van Tellingen, O. Swart, M. and Schellens, J. H.."Coadministration of oral cyclosporin A enables oral therapy with paclitaxel." *Clin. Cancer Res.* ***5***:3379-3384, 1999.

32. van Asperen, J. van Tellingen, O. van der Valk, M. A. Rozenhart, M. and Beijnen, J. H.. "Enhanced oral absorption and decreased elimination of paclitaxel in mice cotreated with cyclosporin A." *Clin. Cancer Res.* ***4***:2293-2297, 1998.

33. Chaudhary, P.M. and Robinson, I. B.. “Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells.” *Cell,* ***66:***85-94, 1991.

34. Van Asperen, J. Van Tellingen, O. Sparreboom, A. Schinkel, A. H.

Borst, P. Nooijen W. J. and Beijnen. J. H.. "Enhanced oral bilavailability of paclitaxel in mice treated with the p-glycoprotein blocker SDZ PSC 833." *Br. J. Cancer,* ***76:***1181-1183, 1997.

35. Endicott, J.A. Ling, V.. "The biochemistry of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance." *Annu. Rev. Biochem.* ***58:***137-171, 1989.

36. Tsuruo, T.Eida, H. Tsuskagoshi, S. Sakurai, T. "Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia in vivo and in vitro through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil." *Cancer Res.* ***41:***1967-1972,1981

37. Ford, J. M. Prozialeck, W.C. Hait, W.N. "Structural features determining activity of phenothiazines and related drugs for inhibition of cell growth and reversal of multidrug resistance." *Mol. Pharmacol.* ***35:***105-115, 1989.

38. Twentyman, P.R. Fox, N.E. White, D.J. "cyclosporin A and its analogues as modifiers of adriamycin and vincristine resistance in a multi-drug resistant human lung Cancer cell line." *Br. J. Cancer* ***56:***55-57, 1987.

39. Barnes, K.M. Dikestein, B. Cutler. Jr., G. B. Fojo, T. Bates, S. E. "Steroid treatment, accumulation, antagonism of P-glycoprotein in multidrug-resistant cells." *Biochemistry* ***35:***4820-4827, 1996.

40. Zibera, C. Gibelli, N. Maestri, L. Della Cuna, G. R. "Medroxyprogesterone-acetate reverses the MDR phenotype of the CG5-doxorubicin resistant human breast cancer cell line." *Anticancer Res.* *15:*745-749, 1995.

41. Mistry, P. Stewart, A. J. Dangerfield, W. Okiji, S. Liddle, C. Bootle, D. Plumb, J. A. Templeton, D. Charlton, P. "In vitro and in vivo reversual

of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by a novel potent modulator," XR9576, *Cancer Res.* ***61:*** 749-758, 2001.

42. Wang, E. Casciano, C.N. Clement, R.P. Johnson, W.W.. "The farnesyl protein transferase inhibitor SCH66336 is a prtent inhibitor of MDR1 product P-glycoprotein." *Cancer Res.* ***61:***7525-7529, 2001.

43. Conseil, G. Baubichon-cortary, H. Dayan, G. Jault, J. M. Barron, D. dI Pietro, A.. "Flavonoids: a class of modulators with bifunctional interactions at vicinal ATP-and steroid binding sites on mouse P-glycorortein," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ***95:***9831-9836, 1998.

44. Choi, C. H. Sun, K. H. An, C. S. Yoo, J.C. Hahm, K. S. Lee, I. H. Sohng, J. K. and Kim, Y.C. "Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by 5,6,7,3,4-pentamethoxyflavone(sinensetin)," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* ***295:***832-840, 2002.

45. Ikegawa, T. Ohtani, H. Koyabu, N. Juichi, M. Iwase, Y. Ito, C. Furukawa, H. Naito, M. Tsuruo, T. Sawada, Y. "Inhibition of P-glycoprotein by flavonoid derivatives in adriamycin-resistant human myelogenous leukemia(K562/ADM) cells," *Cancer Lett.* ***177(1):***89-93, 2002.

46. Soambia, G. Ranelletti, F. O. Panici, P. B. Vincenzo, De R. Bonanno, G. Frrandina, G. Piantelli, M. Bussa, S. Rumi, C. Ciantriglia M. et al. "Quercetin potentiates the effect of adriamycin in a multidrug-resistant MCF-7 human breast-cancer cell line: P-glycoprotein as a possible target." *Cancer Chemother Pharmacol.* ***36(5):***448-50, 1995.

47. Doostdar, H. Burke, M.D. Mayer, R.T. "Bioflavoniods: selective substrates and inhibitors for cytochrome P450 CYP 1A and CYP 1B1", *Toxicology* ***144:***31-38, 2000.

48. kutz, B.S. Wellzel, U. Daniel, H. "Comparative analysis of the effects

of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines." *Eur. J. Nutr.* ***38(3):***133-142, 1999.

49. Koide, T. Kamei, H. Hashimoto, Y. Kojima, T. Terabe, K. Umeda, T. "Influence of flavonoids on cell cycle phase as analyzed by flowcytometry." *Cancer Biother Badiopharm* ***12(2):***111-5, 1997.

50. The Merck Index, 12th Edition, Merck and Co. Inc., Rahway, USA (1996) 6512,

51. Kim, D. H. Jung, E. A. Shong, I. S. Han, J. A. et al., "Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities," *Arch. Pharm. Res.* ***21***:1723, 1998.

52. Zhang, H. Wong, C. W. Oville, C. P. G. and Wanwimolruk. S.. "Effect of the grapefruit flavonoid naringin on pharmacokinetics of quinine in rats." *Drug Metabol. Drug Interact.* ***17***:351-363, 2000.

53. Bailey,D. G. Dresser, G.K. Kreeft, J. H. Munoz, C. Freeman, D. J. and Bend, J. R., 2000. "Grapefruit-felodipine interaction: effect of unprocessed fruit and probable active ingredients." *Clin. Pharmacol. Ther.* ***68***:468-477.

54. Ho, P.C. Saville, D.J. and Wanwimolruk, S.. "Inhibition of human compounds," *J. Pharm. Pharm. Sci.* ***4***:217-227, 2001.

55. Takanaga, H. Ohnishi, A. Matsuo, H. and Sawada, Y.. "Inhibition of vinblastine efflux mediated by P-glycoprotein by grapefruit juice components in caco-2 cells," *Biol. Pharm. Bull.* ***21***:1062-1066, 1998.

56. Eagling, V. A. Profit, L. Back, D. J.. "Inhibition of the CYP 3A4-mediated metabolism and P-glycoprotein-mediated transport of the

HIV-1 protease inhibitor saquinavir by grapefruit juice components." *Br. J. Clin.Pharmacol.* ***48***: 543-552, 1999.

57. Bailey, D. G., Arnold, J. M., Munoz, Spence. J. D., 1993. Grapefruit juice-felodipine interaction: mechanism, predictability, and effect of naringin. Clin. Pharmacol. Ther. 53, 637-642.

58. Gao, P. Rush, B. D. Pfund, W. P. Huang, T. Bauer, J. M. Morozowich, W. Kuo, M.S. and Hageman, M. J.. "Development of a supersaturable SEDDS (S-SEDDS) formulation of paclitaxel with improved oral bioavailability." *J Pharm Sci.* '***92***:2386-2398, 2003.

59. Andreeva, M. Niedmann, P. D. Binder, L. Armstrong, V. W. Meden, H. Binder, M. and Oellerich, M.. "A simple and reliable reverse-phase high-performance liquid chromatographic procedure for determination of paclitaxel (taxol) in human serum." *Ther Drug Monit.* ***19***:327-332, 1997.

60. Lee, S. H. Yoo, S. D. Lee, K. H.. "Rapid and sensitive determination of paclitaxel in mouse plasma by high-performance liquid chromatography." *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* ***724***:357-363, 1999.

61. Rocci, M. L. and Jusko, W. J.. "LAGRAN program for area and moments in pharmacokinetic analysis." *Computer Programs in Biomedicine.* ***16:*** 203-209, 1983.

결 론

프라보노이드류인 모린과 나린진은 많은 음식물에 존재하며 항산화작용, 항암작용, 항균작용 등 인체에 유익한 작용이 있는 식이성분이다. 그리고 프라보노이드들은 소장, 간세포 및 신장 세포 등에 존재하면서 많은 약물들의 초회통과효과에 관여하는 P-당단백질과 CYP 3A4를 억제하는 작용이 있다. 파크리탁셀은 항암약물로서 생체내에 다제내성물질인 P-당단백질의 유출작용과 CYP 3A4 및 CYP 2C8에 의해 대사를 받으므로 생체이용률이 낮다. 특히 파크리탁셀은 낮은 수용성 및 소장세포에 존재하는 CYP 3A4와 P-당단백질에 의해 대사받으므로 경구투여시 생체이용률이 극히 낮다. 본 연구에서는 P-당단백질과 CYP 3A4를 억제시키는 작용이 있는 모린과 나린진을 흰쥐에게 파크리탁셀과 함께 투여하였을 때 이들이 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터에 미치는 영향을 연구 검토하고자 하였다. 파크리탁셀을 흰쥐에게 경구(30 mg/kg) 및 정맥(3 mg/kg)으로 단독투여 및 모린(3.3 및 10 mg/kg) 혹은 나린진(3.3 및 10 mg/kg)과 함께 투여시켰을 때 얻은 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터에 Table 3, 4, 7 및 8과 같았으며 모린과 나린진은 파크리탁셀의 약물동태에 다음과 같이 영향을 주었다.

1.모린 및 나린진이 경구투여시 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터에미치는 영향으로는, 파크리탁셀의 혈장농도곡선하면적(AUC)은 대조군에비해서 전투여군에서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

2. 최고혈중농도(C_{max})는 대조군에 비해서 전투여군에서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

3. 파크리탁셀의 흡수속도정수(K_a)는 대조군에 비해서 전투여군에서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다.

4. 절대적 생체이용률(AB%)은 대조군에 비해서 전투여군에서 유의성 $p<0.05$) 있게 증가되었다.

5. 모린과 나린진 전투여시 상대적 생체이용률(RB%)은 1.41-1.54배로 증가되었다.

6. 모린과 나린진 병용경구투여시 파크리탁셀의 AUC, K_a, T_{max}, RB%는 증가되었으나 유의성은 없었다.

7. 모린 및 나린진이 정맥투여된 파크리탁셀의 약물동태학적 파라미터에미치는 영향으로는, 파크리탁셀의 혈장농도곡선하면적(AUC)은 대조군에비해서 유의성($p<0.05$) 있게 증가되었다. 상대적생체이용률은(RB%) 1.33-1.42배로서 현저히 증가되었다. 파크리탁셀의 MRT은 대조군에 비해서 전투여군에서 유의성($p<0.05$) 있게 연장되었다.

프라보노이드인 모린 및 나린진과 파크리탁셀을 함께 경구투여 및 정맥투여시 파크리탁셀의 생체이용률은 현저히 증가되었다. 이러한 결과는 모린과 나린진이 P-당단백질과 CYP 3A4를 억제시켜 파크리탁셀의 생체이용률을 증가시킨 것으로 사료된다. 또한 모린과 나린진은 항암작용, 항균작용, 항산화작용과 혈관개선작용으로 파크리탁셀의 항암작용 및 제제개발에 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다.