

[報 文]

## Cis-Diaminocyclohexane을 배위자로 하는 백금 (II) 착체의 선택적 세포독성

노 영 수 · 정 세 영 · 정 지 창\*

경희대학교 약학대학, \*의과대학

### Selective Cytotoxicity Platinum (II) Complex Containing Carrier Ligand of cis-1,2-Diaminocyclohexane

Young-Soo Rho, Se-Young Choung and Jee-Chang Jung\*

College of Pharmacy and \*School of Medicine, Kyung Hee  
University, Seoul 130-701, Korea

#### ABSTRACT

The use of cisplatin is limited by severe side effects such as renal toxicity. Our platinum-base drug discovery is aimed at developing drugs capable of diminishing toxicity and improving antitumor activity. We synthesized new Pt (II) complex analogue [Pt (cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub> (PC) containing cis-1,2-diaminocyclohexane as a carrier ligand and 1,3-bis(diphenylphosphino) propane as a leaving group. Furthermore, nitrate was added to improved the solubility. In this study, its structure was determined and its antitumor activity against SKOV-3 and NIH-OVCAR-3 human ovarian adenocarcinoma, and *in vitro* cytotoxicity was determined against primary cultured rabbit kidney proximal tubular and renal cortical cells of human kidney using colorimetric MTT assay. PC demonstrated acceptable antitumor activity against SKOV-3 and NIH-OVCAR-3 human ovarian adenocarcinoma and significant activity as compared with that of cisplatin. The toxicity of PC was found quite less than that of cisplatin using MTT and <sup>3</sup>H-thymidine uptake tests in rabbit proximal tubular cells and human kidney cortical cells. PC was used for human cortical tissue in 7 weeks hitoculture by the glucose-consumption tests. We determined that the new platinum drug has lower nephrotoxicity than cisplatin. Based on these results, this novel platinum (II) complex compound (PC) represent a valuable lead in the development of a new anticancer chemotherapeutic agent capable of improving antitumor activity and low nephrotoxicity.

#### 서 론

백금 (II) 착체의 하나인 cisplatin은 Rosenberg

등<sup>1)</sup>에 의하여 항암활성이 규명된 이래 고환암, 난소암, 방광암, 전립선암, 전이된 호즈킨병과 악성 림프종, 갑상선암 등에 현재까지 직접 임상적용되고 있으며 특히 고환종양에 있어서는 치료효과가 탁월

한 것으로 알려지고 있다.<sup>2,6)</sup>

그러나 cisplatin은 강한 신독성, 오심, 구토, 혈관장애, 내이신경독성등의 부작용을 수반하고 조직내 축적효과가 있는 것으로 알려져 사용에 제한을 받고 있다.

Cisplatin의 독성중 가장 문제시되고 있는 신독성은 용량증가에 따른 독성증가현상<sup>12)</sup>으로써 주로 세뇨관 괴사에 기인한 것으로 밝혀진바 있으며,<sup>13)14)</sup> 신피질에 직접 독성을 나타내고, 원위 세뇨관에 집합관에도 손상을 주기는 하나 근위 세뇨관에 가장 심한 영향을 주는 것으로 알려져 있다.<sup>15,16)</sup>

특히 cisplatin의 고용량요법으로 훨씬 효과적인 항암효과를 기대 할 수 있으나 cisplatin의 강력한 신독성으로 임상적 적용에 어려움이 있다. 백금착체는 여러 가지 구핵시약에 대해서 배위자(이탈배위자, leaving group)와 치환불활성인 배위자(담체 배위자, carrier ligand) 및 중금속(Pt)으로서 구성된다. 즉 백금착체의 특징은 항암효과의 강도 및 항암스펙트럼에 관계하는 carrier ligand와 수용성, 안정성, 반응성에 영향을 미치는 leaving group을 여러 가지로 수식, 변화시키는 것에 의해 많은 백금착체를 합성할 수 있다.

임상적으로 일부 고탍암에 platinum 계통의 항암제가 효과적인 것은 이미 입증되었으나. 그 문제점은 투약에 따른 독성에 관한 문제이다. 특히 신장에 대한 독성문제는 심각하여, 그 부작용을 경감시키기 위하여 hydration요법이나 이뇨제의 사용등이 권장되고 있다.

따라서 저자는 신독성을 감소시킨 새로운 백금착체의 개발을 목적으로 carrier ligand로서 cis-1,2-diaminocyclohexane (DACH)를 채택하고 leaving group으로 1,3-bis(diphenylphosphino)propane (DPPP)을 수식하여 수용성 혼합배위자인 백금(II)착체를 합성하고 인체 난소암세포인 SKOV-3와 NIH-OVCAR-3세포에 대한 항암효과 그리고 토끼 근위관 세포, 인체정상 신조직 및 세포에 대한 독성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 방법

이 실험에 사용된 새로운 백금(II)착체로는 Rho

등<sup>17)</sup>이 합성한 [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub> (이하 PC로 표기)이었으며, Insulin, transferrin, hydrocortisone, prostagladin E<sub>1</sub>, triiodothyronine 및 기타 시약은 Sigma Co.의 제품을 사용하였으며, DMEM과 RPMI medium, soybean trypsin inhibitor는 Life Technology (Grand Island, NY, USA)로부터, collagenase IV는 Worthington (Freehold, NY, USA)의 제품을 사용하였으며 <sup>3</sup>H-thymidine은 Du Pont Co. (Wilmington, DE USA)의 것을 사용하였다. Iron oxide는 Cook과 Pickering<sup>18)</sup>의 방법에 따라 제조한 iron oxide 표준용액을 사용하기 전에 phosphate buffered saline(PBS)으로 희석하여 실험에 사용하였다.

### 2. 실험동물 및 암세포주

#### 1) 실험동물

실험에 사용한 동물은 체중 1.8~2.0 kg의 가토를 사용하였다. 사료는 삼양유지 사료(주)의 고탍 사료로 사육하고, 충분한 물을 공급하면서 온도와 습도가 조절된 사육실에서 2주간 실험환경에 순응시킨 후 사용하였으며, 실험은 23±2°C에서 실시하였다.

#### 2) 암세포주

암세포주로는 SKOV-3와 NIH-OVCAR-3 human ovarin adenocarcinoma cell-line은 서울의 대 암연구 센터로부터 분양받아 사용하였다.

### 3. 실험방법

#### 1) 세포독성시험

##### (1) 세포배양

(1)토끼의 근위세뇨관 상피세포의 배양

Chung 등<sup>19)</sup>의 방법에 준하여 체중 1.8~2.0 kg의 토끼를 cervical dislocation에 의해 치사시킨 다음, 신동맥을 보존한 채 신장을 적출하였다. 신동맥을 통하여 인산완충액 (phosphate saline, PBS, pH 7.4)을 주입하여 세척한 다음 DME/F12 (pH 7.4) medium에 넣은 후 Dounce homogenizer (type B pestle)로 homogenize시켰었다. Homogenate를 253µm mesh filter에 통과시키고 83µm mesh filter에 모아진 세뇨관과 사구체를 DME/F12 medium에 옮긴 다음 사구체는 magnetic stir

bar를 사용하여 제거하였다. 그 직후 soybean trypsin inhibitor (0.025%)와 collagenase (0.125 mg/ml)를 넣어 2분간 실온에서 incubation한 후 insulin (5 µg/ml), transferrin (5 µg/ml) 및 hydrocortisone ( $5 \times 10^{-8}$  M)을 첨가한 DME/F12 medium에 부유시키어 일정량씩 배양접시에 접종하고 CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C로 2주간 배양하였다.

② 인체의 정상 신피질 세포의 배양

Jung 등<sup>20)</sup>의 방법을 변형하여 실험하였다. 먼저, 신장암 절제수술을 받은 암환자로부터 신장을 적출하여 정상조직부위를 취하고, penicillin G 및 streptomycin을 함유하는 DME/F12 (pH 7.4) medium으로 수회 세척하여 준 다음, renal capsule을 제거하고 mess를 사용하여 신피질만을 얇게 잘라준 후 무균 상태에서 homogenize하여 일정량의 DME/F12 (pH 7.4) medium에 부유시켰다. Trypsin inhibitor와 collagenase (10 mg/ml)를 0.2 ml씩 넣고 2분간 실온에서 배양한 후 10%의 fetal bovine serum (FBS)을 함유한 DME/F12 medium에 부유시키어 배양접시에 접종하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 2주간 배양하였다.

③ 인체의 정상 신피질 조직의 삼차원 배양

신세포암 환자로부터 적출한 신장의 종양부위와 반대측 신극에서 정상 신조직을 획득하여 약 2.0 × 2.0 × 0.5 cm의 크기로 절단한 후 무균조작하에 mess를 이용하여 조직의 크기가 3.0 × 3.0 mm이 되도록 세절한 뒤 three dimensional collagen gel culture method로 배양하였다.

즉, 최소한 48시간 이상 M.E.M (minimum essential medium)에 침액시킨 collagen gel을 1.0 × 1.0 cm 크기로 절단한 뒤 6well plate에 한 개씩 넣고 그 위에 4~5개의 조직편을 이식하였다. 10% FBS와 nonessential amino acid (0.1 mM) 및 cefotaxime (95 µg/ml)을 첨가한 MEM을 collagen gel표면과 같은 높이까지 각 well에 주입하였으며 72시간을 주기로 교환하여 주었다. 이 조직 배양판은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다.

(2) MTT 분석에 의한 항암 활성 실험

SKOV-3 및 NIH-OVCAR-3 cell을 각각 2 × 10<sup>6</sup>개를 10% FBS 및 100 unit/l의 penicillin G와 streptomycin을 첨가한 RPMI medium 20ml에 이식하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였

다. 이식한지 제3일에 1000 rpm에서 5분간 원심분리하여 세포를 모은 다음 배지를 교환하였다. 세포 증식기인 제4일에 다시 배지를 교환한 후 10<sup>6</sup> cell/ml 농도로 희석하고, 합성한 백금(II)착체를 500 µM, 50 µM 및 5 µM 농도로 만들었다. 96 well titer plate에 세포 희석액 0.1 ml 및 각종 농도의 검체 0.1 ml을 가하고 48시간 동안 배양하였다. 배양액속에 5 mg/ml농도의 MTT용액 0.05 ml씩을 가하여 4시간 배양한 후 상등액을 제거하고 DMSO 0.05 ml을 가하여 침전물을 용해시킨 다음 ELISA reader로 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비교 약물로는 cisplatin을 사용하였고 검체없이 동일한 조건에서 배양된 세포군을 대조군으로 하였으며, 판정은 다음의 산출식에 따라 %로 나타내었다.<sup>21, 22)</sup>

$$\text{항암활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{검액의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

(3) 신장독성 실험

① MTT assay

상술한 항암 활성 실험에서 실시한 MTT assay와 같은 방법에 준하여 실험을 실시하였으며 동일한 산출식에 의하여 세포독성을 판정하였다.

② <sup>3</sup>H-Thymidine incorporation 실험

Primary culture하여 7일에서 10일이 경과된 토끼 신장의 근위세뇨관 상피세포 및 인체의 정상 신피질세포를 24well plate에 각 well당 10<sup>6</sup>개씩 접종하고 1시간 동안 배양하였다. 다시 여기에 각 well당 50 µM되도록 백금(II)착체를 가한후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 동안 배양하였다. 1 µCi/ml농도의 <sup>3</sup>H-thymidine을 가한 다음 다시 24시간 동안 배양하고 trypsin처리하여 모은 세포를 10% trichloroacetic acid 및 PBS로 세척한 다음, 0.5 M-NaOH를 가하여 37°C에서 2시간 동안 solublize시키고 0.5 M-HCl로 중화시킨 후 scintillation cocktail 10 ml이 함유된 scintillation vial에 0.1 ml씩 옮겨 β-counter로 측정하였다. 비교 약물로는 cisplatin을 사용하였으며 검체없이 동일한 조건으로 배양한 세포를 대조군으로 하여 100% thymidine섭취율로 하였고, 각 검액에 따른 thymidine섭취율로부터 세포의 치사율을 구하였다.

③ Glucose consumption 실험

삼차원으로 조직배양된 인체의 정상신피질 조직을

cisplatin 및 백금(II)착체에 24시간, 48시간, 72시간 동안 노출시키고, 각각의 실험군을 PBS로 3회 수세한 뒤 정상 M.E.M. (Minimum Essential Mediums, Gibco Grand Island N.Y. U.S.A. cat.#320=1095 AJ)을 공급하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양시킨 후 다시 M.E.M.을 교환한후 glucose의 소모량을 측정하였다.

조직 배양기간동안 매일 50 µl의 medium을 각 well로부터 취하여 96 well titer plater에 보관한 상태에서 포도당의 농도를 측정하였다. 먼저, 분말상태의 glucose [HK] 20 mg을 증류수 20 ml에 가하여 만든 용액 1ml를 큐벳에 넣어 340 nm에서 1차 흡광도를 측정하였다. 다시 10 µl의 배양액을 첨가한 뒤 2차 흡광도를 구하여 포도당의 농도를 산출하였으며 각 well의 포도당 농도는 3회씩 반복하여 측정하였다. 72시간의 포도당 농도를 측정하여 변화를 관찰하였는데, 이 72시간 동안의 변화를 1주기(period)라 하였으며 이러한 변화는 Statgraphics 프로그램을 이용하여 포도당의 반감기를 측정하였다. 이러한 포도당 농도의 측정은 실험하고자 하는 각 well을 3주기 동안의 포도당 소모량을 측정하여 반감기를 계산한 뒤 약물 처치후에 발생된 반감기의 연장 정도를 수치로 나타내었다.<sup>23,24)</sup>

## 결과 및 고찰

### 1. 항암효과

MTT assay 방법에 의하여 인체 난소암 cell-line SKOV-3와 NIH-OVCAR-3 세포에 대한 항암효과 결과는 Fig. 1 및 2에 나타내었다.

인체난소암세포에 대한 세포독성은 PC 500 µM 농도에서는 SKOV-3, NIH-OVCAR-3의 경우 본 물질의 CI값이 85.1%로서 cisplatin 72.9%에 비하여 유의(p<0.001)하게 높았다. 그러나 50 µM과 5 µM에서는 2가지 세포모두에서 cisplatin보다 낮은 세포독성을 나타내었다.

### 2. 신장세포에 대한 독성

#### 1) 토끼의 근위 세뇨관 상피세포에 대한 독성

MTT assay방법에 의한 토끼의 근위세뇨관 세포에 대한 독성은 Fig. 3에 제시한 바와 같다. 500 µM의 고농도에서 검체는 46.0% 독성정도로 95.6%

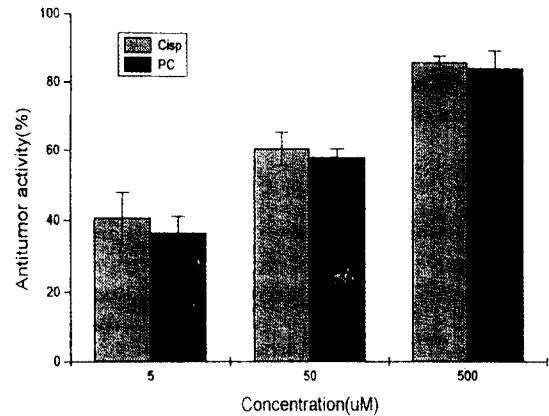


Fig. 1. Anticancer activities of platinum(II) complexes on the SKOV-3 human ovarian adenocarcinoma cells.

Cisp : Cisplatin,

PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub>

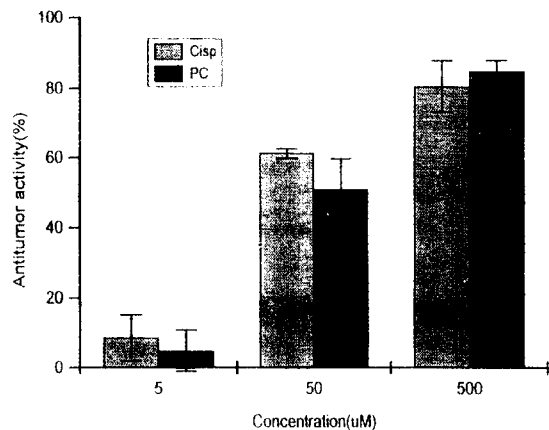


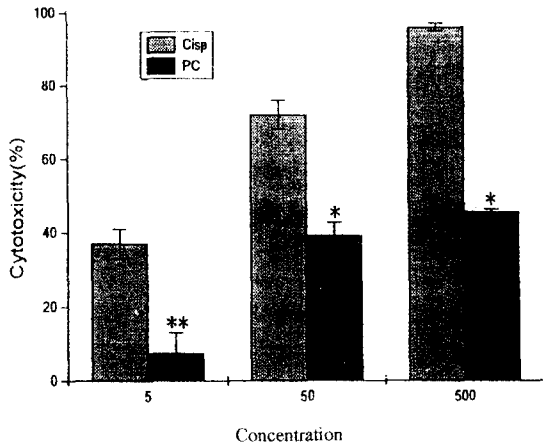
Fig. 2. Anticancer activities of platinum(II) complexes on the NIH-OVCAR human ovarian adenocarcinoma cells.

Cisp : Cisplatin

PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub>

인 cisplatin의 경우보다 독성이 현저히 저하되었다. 50 µM과 5 µM의 저 농도에서는 검체의 독성저하 정도가 cisplatin에 비하여 더욱 뚜렷하였으며, 5 µM cisplatin이 39.2%의 독성을 검체는 6.6% 독성을 나타내었다.

<sup>3</sup>H-thymidine incorporation 실험에 의한 토끼의 근위세뇨관 세포에 대한 독성은 Table 1에 나타낸



**Fig. 3.** Cytotoxic activities of platinum(II) complexes on the primary cultured proximal tubule cells of rabbit kidney.  
 Cisp : Cisplatin  
 PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub>  
 \*Statistically significant compared to cisplatin-treated group (\*P<0.01, \*\*P<0.001).

**Table 1.** Effect of platinum complexes on <sup>3</sup>H-thymidine incorporation into primary cultured proximal tubule cells of rabbit kidney

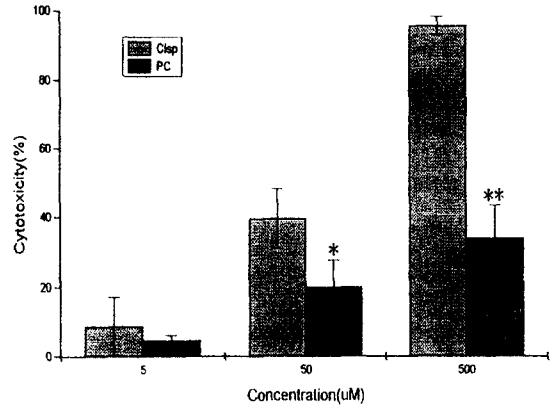
Group	<sup>3</sup> H-Thymidine Uptake (cpm/10 <sup>5</sup> cells)	Uptake rate (%)
Control	598.3 ± 75.15	100.0
Cisplatin	9.0 ± 3.46	1.5
PC	288.0 ± 59.01	48.1

Concentration of Pt-complexes in culture medium : 5 × 10<sup>-5</sup>M  
 PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub>  
 Values are means ± SE. All the incorporation were determined in triplicate.

바와 같이 cisplatin의 세포uptake rate (1.5%)에 비하여 PC는 48.1%의 세포 uptake rate를 나타내어 검체의 세포 uptake rate가 월등히 높아 합성항백금(II)착체는 토끼 신장세포에 대한 세포독성이 현저히 낮았다.

2) 인체의 정상 신피질 세포에 대한 독성

MTT assay방법에 의한 인체의 정상 신세포에 대한 독성은 Fig. 4에 나타난 바와 같이 cisplatin은 농도 증가에 따른 세포독성 증가현상이 뚜렷하였고 500 μM의 고농도에서 95.8%, 50 μM에서 42.2%



**Fig. 4.** Cytotoxic activities of platinum(II) complexes on the primary cultured renal cortical cells of human kidney.  
 Cisp : Cisplatin  
 PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO<sub>3</sub>  
 \*Statistically significant compared to cisplatin-treated group (\*P<0.05, \*\*P<0.001)

및 5 μM의 농도에서 12.6%의 독성을 보인 반면, 검체의 경우 농도별로 각각 40.1%, 22.9%, 21.0%의 독성을 보였으며 고농도에서의 독성 감소 현상이 뚜렷하였다. 이 실험방법에 의한 토끼에 대한 신세포 독성과 인체에 대한 신세포 독성을 비교하여 보면, cisplatin의 경우에는 500 μM의 실험농도에서 토끼와 인체에서 비슷한 정도의 독성을 나타내었으나 50 μM과 5 μM의 저농도에서는 인체에 대한 cisplatin의 독성이 토끼에서의 경우보다 저하되었다.

인체의 정상 신피질세포에 대한 각 검체의 <sup>3</sup>H-thymidine uptake의 정도는 (Table 2) cisplatin이 1.4%를 나타낸 반면 새로운 백금착체의 <sup>3</sup>H-thymidine uptake 정도가 43.6%로 높아 인체의 신장세포에 대한 독성이 cisplatin에 비하여 현저히 낮았다.

한편 인체의 신조직에 대한 glucose 소모량에 의한 독성측정은 Fig. 5에 나타난 바와 같이 cisplatin의 경우 cisplatin 투여후 glucose half life가 최고 250시간까지 길어진 반면 새로운 백금(II)착체의 경우는 투여전과 투여후의 glucose half life가 크게 달라지지 않은 것을 알 수 있었으며, 이러한 사실은 인체 정상 신장세포의 MTT assay와 <sup>3</sup>H-thymidine incorporation 실험에서의 결과는 유사

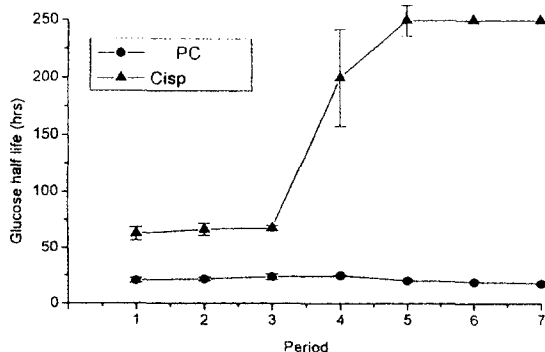
**Table 2.** Effect of platinum complexes on  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation into primary cultured renal cortical cells of human kidney.

Group	$^3\text{H}$ -Thymidine Uptake (cpm/ $10^5$ cells)	Uptake rate(%)
Control	621.3 $\pm$ 56.01	100.0
Cisplatin	8.7 $\pm$ 5.14	1.4
PC	271.0 $\pm$ 41.28	43.6

Concentration of Pt-complexes in culture medium :  $5 \times 10^{-5}$  M

PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)]  $\cdot$  2NO<sub>3</sub>

Values are means $\pm$ SE. All the incorporation were determined in triplicate.



**Fig. 5.** Nephrotoxicity on 3 weeks histocultured human kidney. Toxicity was measured by glucose consumption. Each drug exposed for 72 hrs with 50  $\mu\text{M}$  in concentration.

Cisp : Cisplatin

PC : [Pt(cis-DACH)(DPPP)]  $\cdot$  2NO<sub>3</sub>

\*Statistically significant compared to cisplatin-treated group (\* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ ).

한 양상을 보이었다.

이상의 결과를 종합할 때 항암활성에 중요한 영향을 미치는 인자로 leaving group의 영향을 고려하지 않을 수 없다. 생체내에 투여된 백금(II)착체는 세포막을 통과한 후 leaving group이 가수분해를 받아 떨어져 나오며, 이 부위가 DNA에 결합함으로써 DNA의 복제를 억제하여 세포독성을 일으키게 된다. 따라서 백금(II)착체의 항암활성은 carrier ligand와 leaving group을 변화시킴에 따라 항암활성과 수용성 및 안정성화에 큰 영향을 주게 된다.

백금(II)착화합물에서 leaving group이 떨어진 후 세포안의 DNA염기외에 thiol기를 가지고 있는

정상세포와도 쉽게 결합할 수 있고,<sup>26)</sup> 이와같은 작용은 항암활성과는 관계없이 독성만을 나타내게 되는 것으로 알려져 있다.<sup>27)</sup> 이런점으로 보아 leaving group의 이탈능력이 항암활성을 나타내는데 있어서 가장 중요한 요인으로 작용함을 알 수 있다. 그러나 이탈이 너무 큰 경우에는 암세포의 DNA와 cross-link하기 전에 다른 정상 단백질과 결합하여 독성을 일으킬 수 있고, 반대로 leaving group의 이탈율이 적다면 항암효과를 발휘하지 못할 뿐 아니라, 항암효과를 일으키기전에 체외로 배설되고 말 것이다.

Cisplatin을 위시한 백금(II)착체의 신장독성에 대한 구체적인 기전은 아직 정확하게 밝혀져 있지 않으나, 신장 혈류의 저해설이나 신장내 sulfhydryl group의 감소를 주장하는 연구자도 있는 바, 이 실험에서 밝혔듯이 신장혈류와 관계없는 *in vitro*에서 proximal tubule cell 또는 신장조직 자체가 손상을 받는 점으로 미루어 신장 혈류저해 이외의 원인이 있을 것으로 생각된다.

Cisplatin에 의하여 일어나는 신장의 손상부위에 관한 연구로서 Dobyas 등<sup>28)</sup>과 Levi 등<sup>28)</sup>은 원위 세뇨관의 S segment에 많은 변화가 일어남을 관찰한 바 있고, Gonzalez-Vitale 등<sup>29)</sup>은 인체 신조직을 이용한 연구에서 주된 병변이 distal tubule 전체에 손상이 생긴다는 주장이 있다.

이러한 신독성을 줄이기 위한 방법으로 cisplatin의 투약 전후 충분한 수분의 공급이나 mannitol 그리고 WR-2721과 같은 sulfhydryl의 투여뿐만 아니라 diethyldithiocarbamate를 투여한 보고들이 있다.<sup>30,31)</sup>

이 실험에서 PC는 cisplatin에 비하여 낮은 신독성을 나타내었다. 이것은 cisplatin의 carrier ligand인 diamine을 DACH로 치환시켰고, leaving group을 2분자의 Cl 대신에 DPPP로 각각 바꿔줌으로써 보다 우수한 항암효과와 아울러 신독성의 감소를 보이는 것이 아닌가 여겨진다.

*In vitro*에서의 신독성을 측정하는데 Montine과 Borch<sup>32)</sup>는 돼지의 proximal epithelial cell line인 LLC-PK1을 cisplatin에 의한 신독성을 측정하는데 좋은 model이 된다고 한 바 있으나, 이 실험에서는 토끼 신장의 근위세뇨관 primary culture cell을 이용함으로써 다른 cell line에 비하여 보다 좋은 data를 얻을 수 있었다. 더욱이 신독성의 index를 결정하는데 있어서 rabbit kidney proximal

tubule cell과 human renal cortical cell의 primary culture cell을 활용하는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

## 결 론

현재 임상적으로 사용되고 있는 cisplatin의 최대의 결합인 신장독성을 경감시킨 항암성 백금(II) 착체를 개발하기 위한 목적으로 diaminocyclohexane의 cis체를 carrier ligand로 하고 diphosphorine류를 leaving group으로 한 수용성 혼합배위자 백금(II) 착체를 합성하여 SKOV-3와 NIH-OVCAR-3 난소암세포에 대한 항암효과와 토끼의 신장근위세뇨관 상피세포 및 인체의 신피질세포에 대한 독성시험을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. SKOV-3 및 NIH-OVCAR-3 난소암 cell line에 대한 항암효과는 대조약물인 cisplatin과 유사하였다.

2. MTT assay 및 <sup>3</sup>H-thymidine uptake 실험을 통한 토끼와 인체의 신피질세포에 대한 독성실험 결과 cisplatin에 비하여 신독성이 현저히 저하되었음을 확인하였으며 토끼에서보다 인체의 신피질세포에서의 신독성이 유의하게 낮았다.

3. 인체 신피질조직에 의한 포도당 소모량 측정에서도 본 물질이 대조약물 cisplatin보다 낮은 포도당소모 억제 효과를 갖고 있음이 확인되었다.

이상의 사실을 종합하여 보면 새로운 백금 착체의 *in vitro*에서 항암효과는 대조물질 cisplatin과 대등하였으며 *in vitro*에서의 신장에 대한 독성은 cisplatin보다 현저히 낮음을 확인할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

1. Rosenberg, B., Van Camp, I., Trosko, J.E. and Mansour, V.H. : Platinum compounds : A new class of antitumor agents. *Nature* **222**, 385-387(1969)
2. Anderson, W.K., Quagliato, D.A., Haugwitz, R.D., Narayanan, V.L. and Wolpert-DeFilippes, M.K. : "Synthesis, physical properties and antitumor activity of tetraplatin and related tetrachloroplatinum(IV) stereoisomers of 1,2-diaminocyclohexane." *Cancer Treat. Rep.* **70**, 997-1003(1986)

3. Cvitkovid, E., Spaulding, J. and Bethune, V. : Improvement of cis-diaminedichloroplatinum (NSC-119875) : Therapeutic index in and animal model. *Cancer* **39**, 1357-1362(1977)
4. Hill, J.M., Loeb, E. and MacLellan, A. : Clinical studies of platinum coordinations in the tretment of various malignant disease. *Cancer Chemother. Rep.* **59**, 647-653(1975)
5. Harstrick, A., Casper, H., Guba, R., Wilke, H. and Schmoll, H.J. : Comparison of the antitumor activity of cisplatin, carboplatin and iproplatin against established human testicular cancer cell lines *in vivo* and *in vitro*. *Cancer (Philadelphia)* **63**, 1079-1085(1989)
6. Soloway, M.S., Rose, D. and Weldon, T. : Single and combination chemotherapy for primary murine bladder cancer. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 7-15(1974)
7. Brian, R., Ravi, J., Bhalla, B. and Mladek, J. : Comparison of methods of evaluating nephrotoxicity of cis-platinum. *Clin. Pharmacol. Ther.* **27**, 557-562 (1980)
8. Dobyen, D.C., Levi, J. and Jacobs, C. : Mechanism of cisplatinum nephrotoxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **213**(3), 551-556(1980)
9. Ward, J.M. and Fauvie, K.A. : The nephrotoxic effects if cis-diaminedichloroplatinum (II) (NSC-119875) in male F344 rats. *Toxicol. Appl. Phamacol.* **38**, 535-540(1976)
10. Ward, J.M., Young, D.M., Fauvie, K.A., Wolpert, M.K., Davis, R. and Guarino, A.M. : Comparative nephrotoxicity of platinum cancer chemotherapeutic agent. *Cancer Chemother. Rep.* **60**, 1675-1681(1976)
11. Zhang, J.G., Zhang, L.F., Zhang, M. and Xia, Y.X. : Protection effects of procaine on oxidative stress and toxicities of renal cortical slices from rats caused by cisplatin *in vitro*. *Arch. Toxicol.* **66**, 354-358(1992)
12. Gottlieb, J.A. and Drewinko, B. : Review of the current clinical status of platinum coordination complexes in cancer chemotherapy. *Cancer Chemother. Rep.* **59**, 621-626(1975)
13. Krakoff, I.H. : Nephrotoxicity of cis-diaminedichloroplatinum (II). *Cancer Treat Rep.* **63**, 1523-1528(1979)
14. Jacobs, C., Kalman, S.M., Tretton, M. and Weiner, M.W. : Renal handling of cis-diam-

- minedichloroplatinum (II). *Cancer Treat. Rep.* **64**, 1223-1229(1980)
15. Hardaker, W.T., Stone, R.A. and McCoy, R.: Platinum toxicity. *Cancer* **34**, 1030-1035 (1974)
  16. Walker, E.M. and Gale, G.R.: Methods of reduction cisplatin nephrotoxicity. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **11**, 397-403 (1981)
  17. Rho, Y.S., Lee, K.T., Jung, J.C. and Chang, S.G.: In vitro cytotoxicity of Pt(II) complexes containing ethylenediamine in rabbit kidney proximal tubular and human renal cortical cell. *Yakhak Hoeji* **40**, 218-224(1996)
  18. Cook, W.F. and Pickering, G.W.: A rapid method for separating glomeruli from rabbit kidney. *Nature* **182**, 1103-1104(1958)
  19. Chung, S.D., Alavi, N., Sivingston, D., Hiller, S. and Taub, M.: Characterization of primary rabbit kidney cultures that express proximal tubule functions in a hormonally defined medium. *J. Cell Biol.* **95**, 118-123(1982)
  20. Jung, J.C., Lee, S.M., Kadakia, N. and Taub, M.: Growth and Function of primary rabbit kidney proximal tubule cells in glucose-free serum-free medium. *J. Cellular Physiol.* **150**, 243-252(1992)
  21. Carmichael, J., DeCraff, W.G. and Gazdar, A.F.: Evaluation of a tetrazolium-based semi-automated colorimetric assay : Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* **47**, 936-942 (1987)
  22. Shimoyama, Y., Kubota, T. and Watanade, M.: Predictability of *in vivo* chemosensitivity by in vitro MTT assay with reference to the clonogenic assay. *J. Surg. Oncol.* **41**, 12-18 (1989)
  23. Chang, S.G., Slocum, H.K., Toth, K. and Hoffman, R.M.: Glucose consumption end point in primary histoculture indicates recovery of human tumors from treatment. *In Vitro Cell Dev. Biol.* **28A**, 585-592(1992)
  24. Chang, S.G., Lee, J.H., Hong, D.H., Lee, H. L., Chai, S.E. and Hoffman, R.M.: Comparison of glucose=consumption and thymidine-incorporation endpoints in histocultured human superficial bladder tumors. *Anticancer Res.* **14**, 77-86(1994)
  25. Kidani, Y.: Development of antitumor platinum complexes. *Yakugaku Zasshi* **105**, 909-914 (1985)
  26. Alden, M.W. and Repta, A.J.: Exacerbation of cisplatin-induced nephrotoxicity by methionine : *Chem. Biol. Interact.* **48**, 121-127(1984)
  27. Meijer, S., Mulder, N.H. and Sleijer, D.T.: Nephrotoxicity of cis-diamminedichloride platinum (CDDP) during remission-induction and maintenance chemotherapy of testicular carcinoma. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **8(1)**, 27-30, (1982)
  28. Levi, J., Jacobs, C., Kalman, S.M., McTigue, M. and Winer, M.W.: Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity : I. Effects of sulfhydryl group on rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **213(3)**, 545-550(1980)
  29. Gonzales-Vitale, J.C., Hayes, D.M. and Sternberg, S.S. : The renal pathology in clinical trials of cis-platinum, *Cancer* **39**, 1362-1371(1977)
  30. Bodenner, D.L., Dedon, P.C., Katz, J.C. and Borch, R.F.: Selective protection against cis-diamminedichlor platinum (II) induced toxicity in kidney, gut and bone marrow by diethyl-dithiocarbamate. *Cancer Res.* **46(6)**, 2751-2756 (1986)
  31. Glover, D., Glick, J.H. and Weiler, C.: Phase I/II trials of WR-2721 and cisplatinum. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **12(8)**, 1509-1512 (1986)
  32. Mortine, T.J. and Borch, R.F.: Quiescent LLC-PK1 cells as a model for cis-diamminedichloro platinum (II) nephrotoxicity and modulation by thio rescue agents. *Cancer Res.* **48**, 6017-6024(1988)