

## 항암성 백금화합물의 용혈독성기전에 관한 연구

최병기 · 박영숙 · 정세영\*

동덕여자대학교 약학대학 · 경희대학교 약학대학\*

### Studies on the Hemolytic Mechanism of Antitumor Platinum Complex

Byung Ki Choi, Young Sook Park, Se Young Choung\*

College of Pharmacy, Dongduck Women's University

College of Pharmacy, Kyung Hee University\*

#### ABSTRACT

This study was designed to determine the hemolytic mechanism of antitumor agent tetrachloroaurate platinum (II) complex (RC-1), which was synthesized recently.

Erythrocytes treated with RC-1 showed concentration and time dependent lipid peroxydation, methemoglobin synthesis and hemolysis. And also treatment of radical scavengers showed the inhibitory effect of hemolysis and the decrease of malondialdehyde levels in RC-1 treated erythrocytes.

So, the mechanism of hemolysis was considered to be the generation of free radicals, methemoglobin synthesis and the lipid peroxidation of phospholipid which composed of erythrocyte membrane.

#### 서 론

수은, 납, 카드뮴 등 중금속류는 인체에 독성 특히 신장, 간장, 적혈구에 대한 독성이 매우 강한 화합물로 알려져 있다.

이들 중 전이금속류는 생체내 또는 세포내에서 전자의 이동을 촉매함으로써 라디칼의 생성속도를 증가시켜 과산화지질, 산화된 단백질의 생성을 초래

하게 된다.

전이금속의 하나인 백금화합물은 항균작용, 항암 작용이 있는 것이 밝혀져 cisplatin의 경우 생식기암, 소화기암에 널리 사용되어지고 있다.<sup>1~5)</sup>

백금화합물의 독성으로는 신장장해<sup>6,7)</sup>, 혈구감소, 돌연변이원성<sup>8)</sup>을 들 수 있으며 실제 임상투여 시 고농도로 단시간에 투여하는 방법을 사용함으로써 국소적인 혈구세포의 파괴가 예상되어진다. 혈구세포중 적혈구에 대해서는 이제까지의 산소운반,

영양분공급이라는 개념을 넘어 체내에 흡수된 여러 물질이 최초로 접하게 되는 총 표면적이 가장 넓은 세포라는 점에서 독성물질의 scavenger로서의 역할이 강조되고 있다.

이런 관점에서 새로 합성된 항암성 백금화합물 RC-1에 의한 적혈구의 용혈여부 및 그 용혈기전을 밝힘으로써 독성경감제 개발에 응용하고자 한 바 유익성 있는 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

## 실험방법

### 1. 실험동물

150~200g의 Sprague-Dawley계 웅성 rat를 서울대학교 의과대학 동물실험실에서 분양받아 1주일간 기본사료로 적응시킨 다음 실험에 사용하였다.

### 2. 적혈구의 분리

YC-001, YC-008, YC-012 및 adriamycin을 일정량 취하여 메탄올에 녹이고 계열 희석한 다음 96 well titer plate에 200 $\mu$ l씩 시료를 채운다. 용매를 감압하에서 모두 날려 보내고 cell수 1~2 $\times$ 10<sup>4</sup>/well이 되도록 RPMI 1640배지에 suspension한 mouse leukemia p-388 cell 200 $\mu$ l을 가하여 주고 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 배양하였다. 여기에 50 $\mu$ l MTT 용액을 넣고 4시간 배양시켜 2,000rpm에서 15분간 96 well titer plate를 원심분리하여 상정액은 버리고 침전된 leukemia p-388에 DMSO 50 $\mu$ l을 넣어 용해시킨 다음 Elisa Reader로 495nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 3. 적혈구의 용혈 및 억제실험

적혈구(2 $\times$ 10<sup>8</sup>cells/ml)에 0.1mM RC-1 단독 또는 여러 농도로 조제한 radical scavenger를 동시에 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 incubation한 다음 2000rpm에서 5분간 원심분리하고 상정액 중의 hemoglobin 값을 415nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 4. Malondialdehyde의 측정

적혈구(2 $\times$ 10<sup>8</sup>cells/ml)에 0.1mM RC-1 단독 또는 여러 농도로 조제한 radical scavenger를 동시에 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 incubation한 다음 2000rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상정액을 취하여 TBA법<sup>9)</sup>으로 MDA 농도를 측정하였다.

### 5. Superoxide anion의 측정

0.1mM RC-1 0.5ml에 300mM 인산완충액(pH 7.8) 250 $\mu$ l 및 0.6mM EDTA-Na 250 $\mu$ l와 6 $\times$ 10<sup>-5</sup>M cytochrome C 0.5ml를 가하고 여기에 적혈구(10<sup>9</sup>cells/ml)를 함유하는 TBS 1.5ml를 가하거나 또는 10mM GSH 0.5ml 및 적혈구 10<sup>9</sup>cells/ml를 함유하는 TBS 1ml를 가하여 3ml로 만든 다음 25 $^{\circ}$ C에서 incubation시킨 다음 550nm에서 연속으로 흡광도를 측정하였다.

### 6. 적혈구 인지질의 추출 분리 및 정량

적혈구(2 $\times$ 10<sup>8</sup>cells/ml)에 0.1mM RC-1을 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 incubation한 다음 실험에 사용한 수용액의 H<sub>2</sub>O를 0.8로 하였을 때 H<sub>2</sub>O·MeOH·CHCl<sub>3</sub>(0.8:2:1)의 비율로 MeOH, CHCl<sub>3</sub>을 가하여 30분간 실온에서 방치하였다. 이때 가끔 흔들어 주었다. 이 추출액에 H<sub>2</sub>O·MeOH·CHCl<sub>3</sub>(1:1:1)이 되도록 H<sub>2</sub>O와 CHCl<sub>3</sub>을 가하여 추출하고 CHCl<sub>3</sub>층을 취하여 증발시킨 다음 다시 이 잔사에 benzene을 가하고 증발하여 H<sub>2</sub>O를 완전 제거하였다.

소량의 CHCl<sub>3</sub>를 가하여 여지로 불용물을 여과한 다음 인지질의 분획을 얻었고 이를 농축하였다. 추출한 지질을 소량의 CHCl<sub>3</sub>에 넣어 녹이고 Kiesel G60 TLC plate (Merck 5553)에 점적하였다.

1차 전개용매로 CHCl<sub>3</sub>·MeOH·28% NH<sub>4</sub>OH (65:35:5)를 사용하였으며 전개한 다음 풍건하여 용매를 충분히 날려 보냈다.

2차 전개용매로 CHCl<sub>3</sub>·acetone·MeOH·acetic acid·H<sub>2</sub>O(10:4:2:2:1)을 사용하여 전개한 다음 용매를 충분히 날려 보내고 I<sub>2</sub> chamber에 넣

어 발색되는 부분을 TLC plate에 표시하고 박리하여 인정량에 시료로 사용하였다.

TLC plate상에서 박리한 인지질을 함유한 silicagel 및 300mM의 인정량용표준용액 일정량을 각각 인정량용 시험관에 취하여 분해시액\* 0.7ml를 넣고 draft 중에서 gas burner로 시험관을 흔들면서 가열하였다. 액이 황색으로 되면 실온에 방치하여 냉각시키고 증류수 0.5ml 및 1% ammonium molybdate액 4ml를 가하여 잘 혼화하였다. 여기에 환원시액\*\* 0.2ml를 넣고 잘 혼화하여 10분간 비등수욕 중에서 가열하고 식힌 다음 원심분리하여 상정액을 750nm에서 흡광도를 측정하였다.

\*분해시액 : 60% HClO<sub>4</sub>와 동량의 진한 황산용액.

\*\*환원시액 : 0.25g의 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid와 1g의 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>를 유발에서 섞고 15% NaHSO<sub>3</sub> 100ml에 녹여 여과한 여액을 갈색병에 보관(진한 황색이 나타나면 다시 조제)

## 7. Methemoglobin의 측정

흰쥐에서 심장채혈한 혈액으로부터 적혈구를 분리하고 10<sup>8</sup>cells/ml의 적혈구에 대하여 1mM RC-1을 가하고 일정용량으로 하여 37°C에서 30분간 incubation한 다음 시료로 사용하였다.

이 시료에 대하여 Kampen법<sup>10)</sup>에 의하여 methemoglobin을 측정하였다.

## 실험결과 및 고찰

### 1. 용혈작용

백금은 그 자체가 전이금속으로 전자를 자신이 공여받아 전자를 수용하기 쉬운 분자에 전자를 쉽게 넘겨주는 작용을 가지고 있다. 이러한 금속의 대표적인 예로는 철이 있으며, 실제로 산화력이 강한 물질이 혈액내로 들어오게 되면 방어기전의 하나로 적혈구가 그 물질을 먼저 접촉하면서 세포내로 끌어들여 이게 되고 산화력이 강한 물질이 철에게 전자를 넘겨주고 이 전자가 hemoglobin에 결합된 산소로 넘어가는 과정에서 methemoglobin이 생성되고 산소가 방출된다.<sup>11)</sup>

또한 일부 산소에 넘겨진 전자는 oxygen free radical을 형성하여 적혈구막에 존재하는 지질을 공격하게 되고, 과산화지질의 대량생성은 phospholipase들에 의한 가수분해를 받게 되어 lysophospholipid, diglyceride, monoglyceride의 생성 및 과산화지질의 축적을 일으켜 세포의 죽음까지 가져오게 된다.<sup>12)</sup>

Oxygen free radical은 단백질의 효소를 공격하여 일부의 아미노산을 과산화시킬 수도 있어 효소로서의 기능저하에도 관련되고 있다. 세포내에는 과산화된 단백질을 제거하는 기구도 같이 존재하여 중성에서 활성을 갖는 protease들에 의하여 분해 제거된다.

Oxygen free radical 중 hydroxyl radical (OH·)은 DNA의 염기를 공격하여 hydroxyl radical을 첨가시킨 뒤 분해되어 떨어져 나감으로써 DNA 이중나선구조의 파괴 및 축쇄사슬을 끊는 작용도 갖고 있어 유전정보의 복제 및 전사에도 치명적인 손상을 주게 된다. 그러나 사람의 적혈구에는 핵이 없으므로 핵산의 손상은 예상되지 않으나 지질 및 단백질에 대한 과산화는 충분한 가능성이 있으므로 적혈구에 대한 직접 독성여부 및 그 작용기전에 대하여 검토하였다.

흰쥐의 심장으로 부터 취한 heparin처리 혈액에서 적혈구를 분리하고 RC-1을 가한 다음 37°C에서 incubation을 하면서 시간의 변화에 따른 적혈구 용혈을 측정하였다(Fig. 1).

0.1mM RC-1에서는 5분 경과할 때까지는 용혈은 일어나지 않았으나 15분경부터 용혈이 일어나기 시작하여 20분경에 거의 80%의 용혈이 일어났으며 30분 incubation하였을 때 약 100%의 용혈을 보였다. 반면에 1mM RC-1에 의한 용혈은 5분 경과시 10%, 10분경에 약 90%, 15분경에는 약 100%의 용혈이 일어났다. 따라서 충분한 용혈완료 시간으로서 37°C에서 30분을 고정하여 실험을 실시하였다.

RC-1의 농도변화에 따른 용혈정도를 보기 위하여 0.01mM, 0.1mM 및 1mM의 RC-1을 가하여 용혈실험을 실시하였다(Fig. 2).

0.01mM에서는 거의 용혈이 일어나지 않는데 반

하여 0.1mM 및 1mM에서는 거의 100%의 용혈을 보임으로써 0.01mM과 0.1mM 사이에 sigmoid의 용혈반응곡선이 존재함을 알 수 있었다.

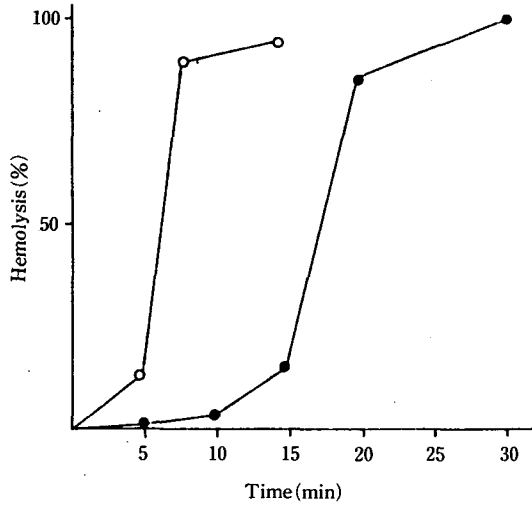


Fig. 1. Time dependent hemolysis induced by RC-1 [○]; 1mM RC-1, [●]; 0.1mM RC-1

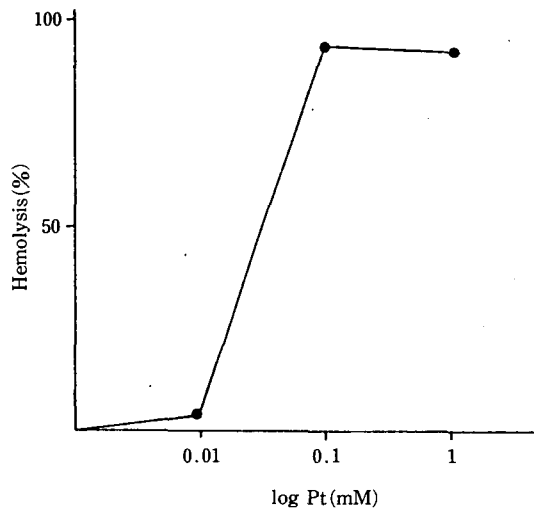


Fig. 2. Concentration dependent hemolysis induced by RC-1

## 2. 과산화지질 및 superoxide anion 생성

적혈구의 용혈기전이 적혈구막에 가장 흔하게 존

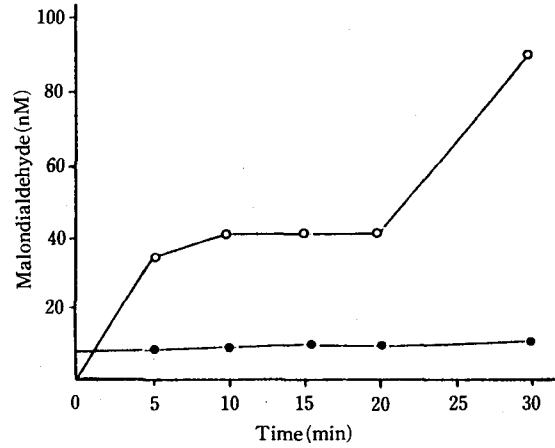


Fig. 3. Lipid peroxidation induced by RC-1 [○]; RC-1, [●]; control

재하는 지질에 대한 과산화에 기인하는 가를 알아보기 위하여 과산화지질생성량을 MDA 생성량으로 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 3과 같다.

0.1mM의 RC-1에서 MDA생성은 37°C에서 처음 5분이 경과될 때까지 증가되는 추세를 보였으며, 그 후 20분 경과시까지 변함없이 일정하다가 현저하게 증가하여 30분에는 90nM을 넘어서는 것을 알 수 있었다.

MDA생성량이 이상(二相)으로 보이는 이유는 추측하기 어려우나 2번 위치에 이중결합이 많은 불포화지방산을 가지고 있는 지질이 먼저 과산화를 받아 분해되고 계속하여 저급지방산을 가진 지질이 과산화를 받음으로써 이러한 현상이 나타난다고 생각할 수 있다.

지질의 과산화가 oxygen free radical의 생성에 의한 것인지를 확인하기 위하여 대표적인 radical인 superoxide radical의 생성여부를 cytochrome C 법으로 측정하였다.

Superoxide radical에 의한 cytochrome C산화에 따른 흡광도의 증가는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 0.1mM RC-1에 의하여 현저한 증가 추세를 보였으나 용혈억제를 강하게 나타내었던 10mM GSH를 가하였을 때 완전히 억제되었다.

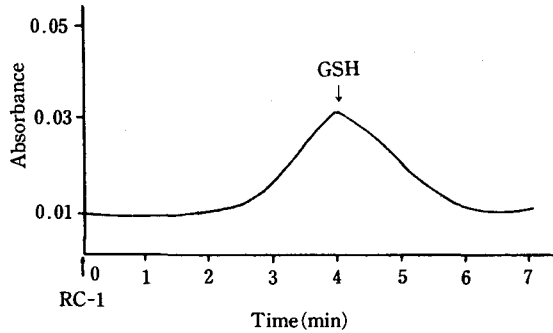


Fig. 4. Inhibition of superoxide anion generation by GSH

3. 적혈구인지질의 성분변화

적혈구 세포막의 인지질은 phosphatidylcholine (PC)과 phosphatidylethanolamine(PE)이 있으며 PC는 세포외막에 많고 PE는 세포내막에 많이 존재한다.

세포막인지질의 과산화지질에 의한 손상을 검토하기 위하여 RC-1을 적혈구와 일정시간 incubation한 다음 인지질을 추출하여 TLC로 2차전개시키고 PC, PE 및 phosphatidylserine(PS), phosphatidylinositol(PI) 및 sphingomyelin(SM)의 lipid phosphorus를 정량하였다(Fig. 5).

Fig. 5에서와 같이 37°C에서 15분 incubation하였을 때 PE는 18%의 감소를 보인데 반하여 PC는 약 40%의 감소를 보였다. PS와 PI는 분리하기가 쉽지 않으므로 같이 박리하여 정량하였고, 약 10% 정도의 감소만을 보였다.

30분이 경과하였을 때 PE는 50%의 감소를, PC는 55%의 감소를 보여 비슷한 정도의 과산화가 일어났음을 알 수 있었으며 PS+PI는 15분과 별 차이가 없었다.

SM은 30분이 경과할 때까지 전혀 감소되지 않은 경향을 보였다. 이 결과로 미루어 볼 때 oxygen free radical이 세포내에서 주로 생성된다는 관점에서 외막과 내막에 국재되어 존재하는 인지질을 선택적으로 공격하였다기 보다는 인지질의 종류에 관계없이 인지질 중에서 oxygen free radical과 접촉하

기 쉬우며 불포화도가 많은 것이 우선적으로 과산화가 일어나 MDA를 생성시키고 있음을 시사해 준다고 하겠다.

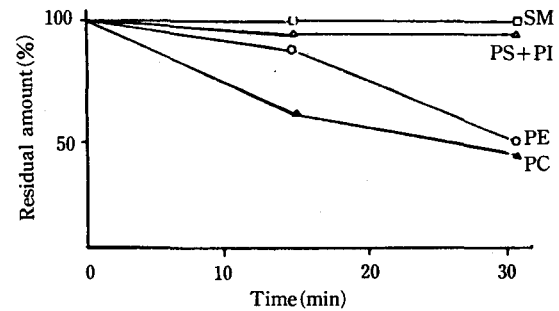


Fig. 5. Changes of phospholipid composition in RC-1 treated erythrocytes [SM]; Sphingomyelin, [PS+PI]; Phosphatidylserine+Phosphatidylinositol, [PE]; Phosphatidylethanolamine, [PC]; Phosphatidylcholine

4. Radical scavenger에 의한 용혈억제작용

적혈구는 이제까지 영양성분과 산소를 조직에 운반하여 주는 기능을 가지는 혈구세포로서만 인식되어졌으나 최근들어 혈액내에 들어오는 독성성분을 일차적으로 흡수함으로써 각 조직이나 장기에 도달하는 양을 줄여 급격한 신체 homeostasis의 파괴를 막아 생명을 유지하게 해준다는 이론이 설득력있게 받아들여지고 있다.

따라서 적혈구내에는 외부에서 들어온 산화물질에 대한 방어기전으로 환원성물질, 예를 들어 reduced form의 GSH를 대량 생산할 수 있는 시스템이 매우 발달되어 있다.

백금항암제 RC-1에 의한 적혈구 독성이 MDA생성량에 기인한다는 결론을 얻기 위하여 다음으로 항산화제 및 환원성물질을 이용하여 적혈구용혈억제 및 MDA생성량 감소에 대한 실험을 실시하였다. 의약품으로 가장 많이 쓰이며 항산화작용이 강한 것으로 알려진 Vit C를 이용하여 용혈억제를 보았다(Fig. 6).

0.1mM RC-1 단독 투여와 10mM Vit C 병용투여시의 용혈정도를 보면, 단독 투여시 15분경부터

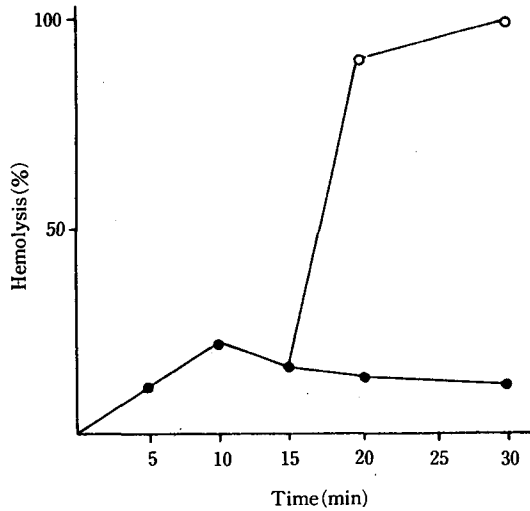


Fig. 6. Inhibition of hemolysis by ascorbic acid  
[○]; 0.1mM RC-1,  
[●]; 0.1mM RC-1+10mM VC

용혈이 급격히 증가하여 30분 경과하였을 때 100% 용혈이 일어나는데 반하여, 10mM Vit C을 병용투여하게 되면 30분이 경과하더라도 10% 정도의 용혈에 그침으로써 백금항암제에 의한 적혈구 세포독성이 거의 완벽하게 억제되었다.

다음으로 과산화지질의 생성기전으로서 oxygen free radical 생성량의 증가가 의심되므로 oxygen free radical scavenger에 의한 용혈억제를 측정하였으며 그 결과는 Table I에 나타내었다.

0.1mM RC-1에 의하여 100% 가까운 용혈이 일어나는 것이 Vit C 및 GSH 10mM에 의하여 거의 완벽하게 억제되었으며, oxygen free radical 중 주로 hydroxyl radical의 scavenger인 thiourea, mannitol을 가하였을 때는 그다지 큰 억제가 나타나지 않았다. Oxygen free radical 중 superoxide anion에 specific하게 작용하는 SOD에 의한 용혈억제는 100unit에서 현저하게 억제되었으며, 200unit에서는 전혀 용혈이 일어나지 않는 것을 알 수 있었다.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 제거하는 catalase에 의한 용혈억제는 100unit에서는 SOD보다 떨어졌으나 200unit에서는 SOD에서와 마찬가지로 용혈이 일어나지 않는

Table I. Inhibitory effects of various radical scavengers

Radical scavengers	Concentration (mM)	Hemolysis (%)
RC-1	0.1	97
Vit C	1	44
	10	11
GSH	1	41
	10	14
Thiourea	1	48
	10	40
Mannitol	1	85
	10	83
SOD	100unit	43
	200unit	0
Catalase	100unit	67
	200unit	0

[Vit. C]; Ascorbic acid,  
[GSH]; Reduced glutathione,  
[SOD]; Superoxide dismutase

것을 알 수 있었다.

GSH에 의하여서도 강한 용혈억제가 나타나 10mM에서는 천연항산화제인 Vit C와 유사한 세포독성억제를 볼 수 있었다.

##### 5. GSH에 의한 용혈 및 과산화지질생성억제

용혈억제실험에 사용한 항산화제 중 GSH나 Vit C는 항산화작용도 있으나 백금과 같은 중금속에 대한 chelate complex의 형성능을 가지고 있으므로 이들에 의한 용혈억제가 chelate complex의 형성에 의한 것인지, oxygen free radical 생성억제인지를 보기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다.

첫째는 RC-1과 GSH를 일정시간 incubation한 다음 적혈구를 가하여 RC-1-GSH complex형성에 의하여 용혈억제를 일으킬 수 있는가를 확인하는 실험을, 둘째는 GSH와 적혈구를 일정시간 incubation하여 GSH를 적혈구내에 미리 축적시켜 두고 RC-1을 가하여 RC-1에 의한 oxygen free radical의 생성저하 및 용혈억제를 할 수 있는가의 여부를 보는 실험을, 셋째는 RC-1과 GSH를 동시에 가하여 어느쪽 원인이든 용혈억제가 된다는 것을 확인하

는 control 실험을 실시하였다.

그 결과 Fig. 7에서 보는 바와 같이 RC-1과 GSH를 동시에 가하였을 때와 미리 양자를 incubation 하였을 때에 비하여 GSH를 세포내에 미리 축적시킨 뒤에 RC-1을 가하였을 때가 용혈억제가 더 현저함으로써 항산화작용에 의한 세포독성억제가 GSH의 적혈구직접독성억제의 기전임을 확인할 수 있었다.

즉 10mM GSH를 미리 세포내에 축적시킨 경우에는 31분 경과시 20% 정도의 용혈이 일어나고 그 뒤로 용혈의 증가가 없었던데 반하여 동시에 가하였을 때와 GSH, RC-1을 미리 incubation한 경우에는 60%의 용혈이 일어남으로써 유의성 있는 차가 나타났다.

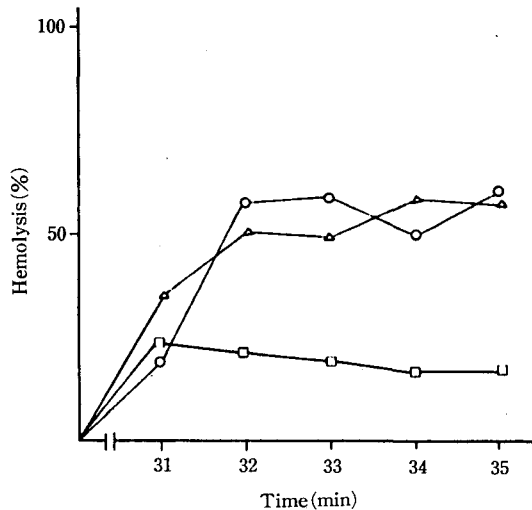


Fig. 7. Inhibition of RC-1 stimulated hemolysis by pre- and post- treatment of reduced glutathione [○]; Pre-incubated RC-1+GSH and added RBC, [□]; Pre-incubated RBC+GSH and added RC-1, [△]; RC-1+GSH+RBC

GSH 농도를 변화시켰을 때의 용혈억제 정도에 대하여도 동일한 실험을 실시하였으며 그 결과는 Fig. 8에서 보는 바와 같이 0.1, 1 및 10mM 어느 경우에도 GSH를 적혈구와 미리 incubation 하였을 때 용혈억제가 더 크게 나타났다.

용혈억제와 MDA생성량감소와의 상관성을 보기

위하여 10mM GSH와 RC-1을 같이 가하였을 때의 MDA 생성량 변화를 보았다(Fig. 9).

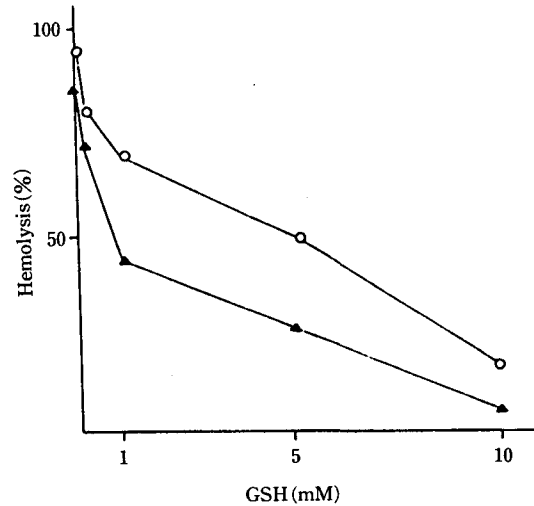


Fig. 8. Inhibition of RC-1 stimulated hemolysis by pre- and post- treatment reduced glutathione [○]; Pre-incubated RC-1+GSH and added RBC, [▲]; Pre-incubated RBC+GSH and added RC-1

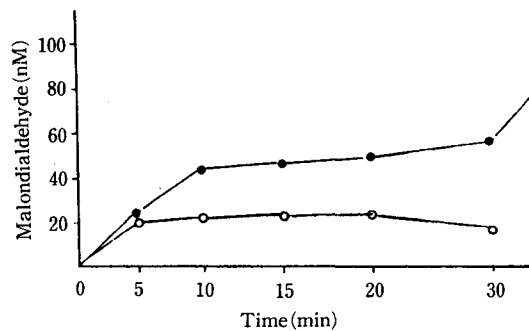


Fig. 9. Inhibition of malondialdehyde generation by reduced glutathione. [○]; RC-1+10mM GSH, [●]; RC-1

MDA생성은 RC-1을 단독으로 가한 경우, 5분경에 20nM에서 시간이 경과함에 따라 이상(二相)으로 증가함을 볼 수 있었으나 10mM GSH를 가하였을 경우에는 5분경 20nM이 생성된 후 전혀 증가되지 않음을 알 수 있었으며 30분 경과시에는 오히려 15nM 정도로 감소함을 볼 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 보면 RC-1에 의한 용혈

은 백금자체가 전자전달에 참여함으로써 적혈구내에 다량 존재하는 산소를 oxygen free radical화하고 이들이 인지질을 공격하여 과산화를 일으킴으로써 분해되는 과정에서 lysophospholipid가 다량 생성되고 이들이 micelle을 형성하여 막으로부터 떨어져 나감으로써 세포손상이 커져 용혈에 도달한다는 것을 알 수 있었다.

### 6. Methemoglobin의 생성

Oxygen free radical 생성은 산소를 적혈구내에서 결합한 상태로 존재하는 hemoglobin에 대하여서도 methemoglobin 생성의 가능성을 제시하여 주는 것이므로 마지막으로 methemoglobin 생성량을 검토하였다.

RC-1 1mM과 적혈구를 37°C에서 30분간 incubation한 다음 원심분리하여 상정액 중의 methemoglobin 생성량을 보았다(Table II).

이 농도에서는 적혈구는 대부분 용혈이 되므로 원심분리한 다음 살아남아 있는 적혈구는 극소수에 불과하였으며 전 hemoglobin의 약 40%가 methemoglobin으로 변해있는 것을 알 수 있었다.

따라서 methemoglobin 생성도 적혈구용혈의 일부분을 담당하고 있으리라는 추측을 할 수 있었으며 어느 쪽이 더 세포독성에 크게 작용하는가는 쉽게 판단할 수 없으나 양자가 동시에 작용하여 용혈을 가속화시킬 것으로 사료된다.

**Table II. Inhibition of methemoglobin synthesis by radical scavengers**

Radical scavengers	Methemoglobin (%)
Control	2
RC-1	42
1mM Vit C	28
10mM Vit C	11
1mM GSH	22
10mM GSH	5

[Vit.C]; Ascorbic acid, [GSH]; Reduced glutathione

### 결 론

새로 합성된 항암활성 백금화합물인 RC-1의 혈액내 적혈구세포에 대한 용혈독성 및 그 용혈기전을 검토하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. RC-1은 적혈구에 대하여 농도의존적, 시간의존적으로 지질과산화와 용혈을 일으켰다.
2. 항산화작용을 갖는 radical scavenger들에 의해 RC-1에 의한 과산화지질유도 및 용혈작용은 억제되었다.
3. 적혈구막에 존재하는 인지질들의 과산화에 따른 분해가 세포독성의 주된 원인이며 이는 radical scavenger들에 의해 억제되었다.

위의 사실로 보아 대부분의 백금화합물의 대량 흡수에 따른 혈액내 혈구파괴가 radical scavenger들에 의해 억제될 수 있다는 가능성이 시사되었다.

### 참 고 문 헌

1. Rosenberg, B., van. Camp, L., Trosko, J.E. and Mansour, V.H.: *Nature* (London), 222, 385 (1969).
2. Braddock, P.D., Connors, T.A., Jones, M., Khokhar, A.R. Melzack, D.H. and Tobe, M.L.: *Chem. Biol. Interactions*, 1, 145 (1975).
3. Rose, W.C., Schurig, J.E., Huftalen, J.B. and Bradner, W.T.: *Cancer Treat. Rep.* 66, 135 (1982).
4. Schwartz, P., Meischen, S.J., Gale, G.R., Alkines, L.M., Smith, A.B. and Walker, E.M.: *Cancer Treat. Rep.* 61, 1519 (1977).
5. Noji, M., Hanai, M., Ohmori, T., Tashiro, T., Suzuki, K. and Kidani, Y.: *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 3439 (1988).
6. Fillastre, J.P. and Rauguenez-Viotte, G.: *Toxicol. Lett.*, 46, 163-175 (1989).
7. Tanaka, H., Ishikawa, E. and Teshima, S.: *Toxicol. Pathol.*, 14, 247-257 (1986).



8. Sherman, S.F. and Lippard, S.J.: *Chem. Rev.*, 87, 1153-1181 (1989).
9. Stocks, J. Kemp, M. and Dormandy, T.L.: *Lancet*, 1, 266 (1900).
10. Van Kampen, E.J. and Eijlstra, W.G.: *Adv. Clin. Chem.*, 8, 141 (1900).
11. Link, C.M. Theoharides, A.D., Anders, J.C., Chung, H. and Canfield, C.J.: *Toxicol. and Applied Pharm.*, 81, 192-202 (1985).
12. Harriet, S. Gilbert, Fugene F. Roth, Jr. and Henry Ginsberg: *J. Lab. Clin. Med.* Vol. 103, No. 1 (1984).