

## 에틸렌디아민을 배위자로 한 백금(II)착체의 토끼 및 인체 신장세포에 대한 *in vitro* 독성

노영수<sup>#</sup> · 이경태 · 정지창\* · 장성구\*

경희대학교 약학대학, \*경희대학교 의과대학

(Received December 26, 1995)

### *In Vitro* Cytotoxicity of Pt(II) Complexes Containing Ethylenediamine in Rabbit Kidney Proximal Tubular and Human Renal Cortical Cells

Young Soo Rho<sup>#</sup>, Kyung Tae Lee, Jee Chang Jung\* and Sung Goo Chang\*

College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

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

**Abstract**—This laboratory has recently reported the synthesis and *in vitro* antitumor activity of Pt(II) complexes containing ethylenediamine and diphosphine. In view of the reports of others, cisplatin is toxic to the kidney since the kidney's vulnerability to Pt(II) complexes may originate in its ability to accumulate and retain platinum to a greater degree than other organs. The *in vitro* cytotoxicity of these synthetic Pt(II) complexes on the primary cultured proximal tubular cells of rabbit kidney and renal cortical cells of human kidney was investigated. Three endpoints for cytotoxicity tests were evaluated: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), <sup>3</sup>H-thymidine uptake and the glucose consumption tests. The rank order of sensitivity exhibited <sup>3</sup>H-thymidine uptake > MTT > glucose consumption test. The agents with diphosphine leaving group were significantly less cytotoxic than cisplatin. Moreover, 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane (DPPE) exhibited less cytotoxic than 1,3-bis(diphenylphosphino)propane (DPPP) against on rabbit and human cultured kidney cells. Based on these results, the decreased nephrotoxicity of these new complexes over cisplatin appeared to be partially attributable to a leaving group of DPPP and DPPE. This novel class of platinum compound represents a valuable lead in the development of a "third-generation" agent.

**Keywords** □ Platinum(II) complexes, nephrotoxicity, proximal tubular cells, renal cortical cells, <sup>3</sup>H-thymidine uptake, glucose consumption.

Cisplatin은 종양세포를 이용한 항종양 실험에서 항암활성이 강한 물질로 나타났으며<sup>1,2)</sup> 임상시험에서도 탁월한 효과가 인정되어<sup>3,4)</sup> 고환암, 난소암, 방광암, 자궁암, 전립선암 등의 고형암 치료제로서 지금까지 널리 사용되고 있다. 그러나 cisplatin은 강한 신독성과 오심, 구토 및 내이신경독성등의 부작용을<sup>5-7)</sup> 나타내기 때문에 그 사용에 상당한 제약을 받아왔다. Cisplatin

과 cis-tetraplatin의 심한 신장독성에 비해 transplatin과 trans-tetraplatin은 신독성을 나타내지 않은 결과로 볼 때 백금착체의 신독성은 중금속인 백금에 기인하지 않음을 알 수 있다.<sup>8)</sup> Cisplatin의 신독성은 주로 용량증가에 따른 세뇨관 괴사인 것으로 알려졌으며<sup>9-11)</sup> 신 피질, 원위 세뇨관, 집합관에도 독성을 나타내나 근위 세뇨관에 가장 심한 영향을 준다고 보고되었다.<sup>12)</sup> 따라서 cisplatin의 신 독성을 경감시키기 위하여 투여 전 생리식염수의 과량투여에 의한 수화요법의 처리 후, mannitol과 같은 삼투성 이뇨제를 투여하는 등

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-961-0370 (팩스) 02-966-3885

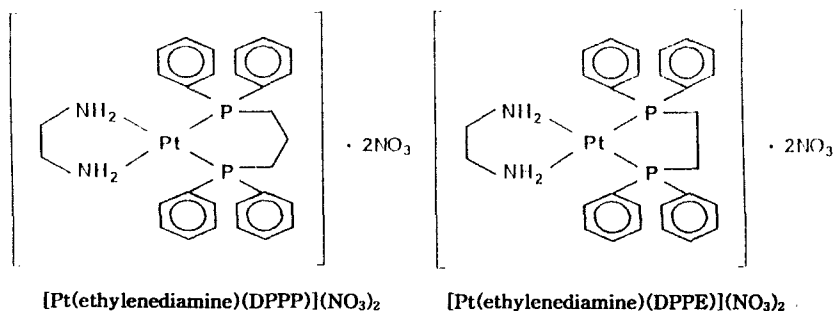


Fig. 1 — Chemical structure of Pt(II) complexes containing ethylenediamine and diphosphine(DPPP or DPPE).

의 방법<sup>13)</sup>으로 임상에 응용하고 있으며 cisplatin에 대한 교차내성을 나타내지 않고, 우수한 항암효과 및 광범위한 항암 spectrum을 가지면서도 부작용이 경감되고 수용성화 및 안정화 등을 목적으로 하는 새로운 백금착체들이 연구되어 왔다. 이에 저자 등은 우수한 항암효과를 나타내고 신 독성을 경감시킨 새로운 백금착체를 개발할 목적으로 carrier ligand로서 ethylenediamine을 선택하고 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane(DPPE)와 1,3-bis(diphenylphosphino)propane(DPPP)를 leaving group으로 하는 수용성 백금(II) 착체를 합성하여 *in vitro*에서 cisplatin과 유사한 항암효과를 검토한바 있고<sup>14)</sup> 이 실험에는 신장 독성실험의 일환으로서 백금착체 화합물의 중요한 부작용인 신 독성을 cisplatin과 비교 검토하여 보고하고자 한다.

### 실험방법

#### 시약 및 재료

실험에 사용한 합성 시료는 전보14)에서 보고한 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane (ethylene-diamine) platinum(II) dinitrate  $[\text{Pt}(\text{en})(\text{DPPE})] \cdot 2\text{NO}_3$ 과 1,3-bis(diphenylphosphino) propane-(ethylene-diamine) platinum(II) dinitrate  $[\text{Pt}(\text{en})(\text{DPPP})] \cdot 2\text{NO}_3$ 을 사용하였으며 그 구조식은 Fig. 1과 같다. 그 외의 시약으로서는 DMEM, Ham's F<sub>12</sub>, RPM1 1640, MEM medium, soybean trypsin, fetal bovine serum(FBS), penicillin G(92 IU/ml) streptomycin(100 g/ml)들은 Gibco (Grand island, NY)에서 구입하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT), collagenase (Type IV) 및 glucose [HK] 20 등은 Sigma chem-

ical Co.(St. Louis, MO, U.S.A)에서 collagen gel은 Health Design Industries(Rochester, NY)을 사용하였다. <sup>3</sup>H-Tymidine은 Du Pont NEM Products (Boston, MA)에서 구입하였다.

#### 실험동물

실험에 사용한 동물은 체중 1.8~2.0 kg의 수토끼(New Zealand white)를 사용하였다. 사료는 삼양유지사료(주)의 고품사료로 하고, 충분한 물을 공급하면서 온도와 습도가 조절된 사육실에서 사육하였다. 실험 동물은 2주간 실험실 환경에 순응시킨 후 사용하였다.

#### 토끼 근위 세뇨관 상피세포의 분리 및 배양

Chung등<sup>15)</sup>의 방법에 따랐으며 요약하면, 체중 2.0 kg 정도의 토끼를 cervical dislocation에 의해 치사시킨 다음, 신장을 적출하고 신동맥을 통하여 인산 완충용액(PBS)을 주입하여 세척하였다. 다시 DME/F<sub>12</sub> 배지로 2회 세척한 후 0.5% 산화철용액을 주입하고, 신 피질만을 박리하여 DME/F<sub>12</sub> 배지에 넣어 Dounce-homogenizer로 균질화 시켰다. Homogenator를 253 μm mesh filter를 통과시키고, 83 μm mesh filter에 모아진 세뇨관과 사구체를 DME/F<sub>12</sub> 배지에 옮기고, 사구체는 magnetic stirring bar를 이용하여 제거하였다. 그 직후 trypsin inhibitor와 collagenase를 넣어 2분간 실온에서 배양한 후 insulin(5 μg/ml), transferrin(5 μg/ml) 및 hydrocortisone(5×10<sup>-8</sup> M)을 첨가한 DME/F<sub>12</sub> 배지에 부유시켜 일정량씩 배양접시에 접종하고, CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C로 2주간 배양하였다.

#### 인체 정상 신 피질 조직의 삼차원 배양

신장암 절제수술을 받은 암환자로부터 신장을 적출

하여 정상조직 부위를 취하고 penicillin G 및 streptomycin을 함유한 DME/F<sub>12</sub> 배지로 수 회 세척한 다음, renal capsule을 제거하고 mess를 사용하여 신 피질만을 얇게 잘라준 후 무균 상태 하에서 균질화하여 일정량의 DME/F<sub>12</sub> 배지에 부유시켰다. Trypsin inhibitor와 collagenase(10 mg/ml)를 0.2 ml씩 넣고 2분간 실온에서 배양한 후 insulin (5 µg/ml), transferrin (5 µg/l), hydrocortisone(5×10<sup>-8</sup> M, triiodotyronine (5 µg/ml), prostalandin E<sub>1</sub>(5×10<sup>-8</sup> M) 및 1% Fetal Bovine Serum을 함유한 DME/F<sub>12</sub> 배지에 부유시켜 배양접시에 접종하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 2주간 배양하였다.

### 인체 정상 신장세포의 분리 및 배양

신장암 환자로부터 적출한 신장에서 정상 신 조직을 취하고 MEM 배지에 침액시켜 1.0×1.0 cm 크기로 절단한 collagen gel위에 3.0×3.0 mm로 세절한 신조직 절편 4~5개를 이식하고 6 well plate에 well당 한 개씩 넣었다. 10% FBS를 첨가한 MEM 배지를 collagen gel 표면 높이까지 주입하고 72시간 주기로 교환하여 주었으며 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다.

### MTT assay

MTT assay는 각각의 세포를 10<sup>6</sup> cell/ml 농도로 조절하여 0.1 ml를 96 well plate에 이식한 후 합성한 백금(II) 착화합물을 5, 50 및 500 M 농도로 조절한 후 0.1 ml를 첨가하여 48시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양 하였다. 5 mg/ml의 농도의 MTT용액 50 µl를 가하여 4시간 배양후 상등액을 제거하고 DMSO 50 µl를 첨가하여 침전물을 용해시킨 후 Elisa-reader로 630 nm의 흡광도에서 측정하였다.

### <sup>3</sup>H-thymidine uptake assay

일차배양하여 7일에서 10일이 경과된 토끼 신장의 근위 세뇨관 상피세포 및 인체 정상 신장의 신 피질 세포를 24 well titer plate에 각 well당 10<sup>6</sup>개씩 접종하고 1시간 동안 배양하였다. 다시 여기에 각 well당 50 µM이 되도록 백금(II)착체를 가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 동안 배양하였다. 1 µCi/ml 농도의 <sup>3</sup>H-thymidine을 가한 다음 다시 24시간 배양하고, trypsin처리하여 모든 세포를 10% trichloroacetic acid(TCA) 및 인산 완충용액으로 세척하여 준 다음, 0.5 M-NaOH를 가하여 37°C에서 2시간 동안 용해시키고 0.5 M-HCl로 중화시킨 후 scintillation cocktail 10 ml가 함유된 scintillation vial에 0.1 ml씩 옮겨 β-counter로 측정하였다. 비교약물로는 cisplatin을 사용하였으며 검체없이 동일한 조건으로 배양된 세포를 대조군으로 하여 100% thymidine 섭취율로 하였고, 각 검액에 따른 thymidine 섭취율로부터 세포의 생존율을 구하였다.

조직 배양된 인체의 정상 신 피질 조직을 cisplatin 및 백금(II)착체에 24시간, 48시간 및 72시간 동안 노출시키고, 각각의 실험 군을 인산 완충용액으로 3회 세척하고 정상 MEM 배지를 공급하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양시킨 후 다시 MEM 배지를 교환하고 glucose의 소모량을 측정하였다. 조직 배양기간 동안 매일 50 µl의 medium을 각 well로 부터 취하여 96 well titer plate에 보관한 상태에서 포도당의 농도를 측정하였다. 먼저 분말 상태의 glucose (HK) 20을 증류수 20 ml에 가하여 만든 용액 1 ml를 큐벳에 넣어 340 nm에서 1차 흡광도를 측정하였다. 다시 10 µl의 배양액을 첨가한 후 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 반감기의 측정은 t<sub>1/2</sub> = 0.693/slope의 공식을 이용하였다. 실험하고자 하는 각 well을 3주기 동안 반복 측정하여 실험 전 정상 대조군으로 하였으며 검액 투여 후에도 3주기 동안의 포도당 소모량을 측정하여 반감기를 계산한 뒤 약물 처치 후에 발생한 반감기의 연장 정도를 수치로 나타내었다.

### Glucose consumption test

조직 배양된 인체의 정상 신 피질 조직을 cisplatin 및 백금(II)착체에 24시간, 48시간 및 72시간 동안 노출시키고, 각각의 실험 군을 인산 완충용액으로 3회 세척하고 정상 MEM 배지를 공급하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양시킨 후 다시 MEM 배지를 교환하고 glucose의 소모량을 측정하였다. 조직 배양기간 동안 매일 50 µl의 medium을 각 well로 부터 취하여 96 well titer plate에 보관한 상태에서 포도당의 농도를 측정하였다. 먼저 분말 상태의 glucose (HK) 20을 증류수 20 ml에 가하여 만든 용액 1 ml를 큐벳에 넣어 340 nm에서 1차 흡광도를 측정하였다. 다시 10 µl의 배양액을 첨가한 후 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 반감기의 측정은 t<sub>1/2</sub> = 0.693/slope의 공식을 이용하였다. 실험하고자 하는 각 well을 3주기 동안 반복 측정하여 실험 전 정상 대조군으로 하였으며 검액 투여 후에도 3주기 동안의 포도당 소모량을 측정하여 반감기를 계산한 뒤 약물 처치 후에 발생한 반감기의 연장 정도를 수치로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

Cisplatin의 항암효과를 처음 발견한 후로 많은 금속 착체화합물들의 항암효과를 검색해오고 있으며 cisplatin의 amine ligand의 성질을 변화 시키거나 leaving group인 chloride를 대체하는 방법을 사용하여 여러 유도체들을 합성 하였다. 전보에서 합성하여 *in vitro*에서 항암효과를 검색하였으며, 본 논문에서는 새로운 백금(II) 착체 화합물을 cisplatin을 대조 약물

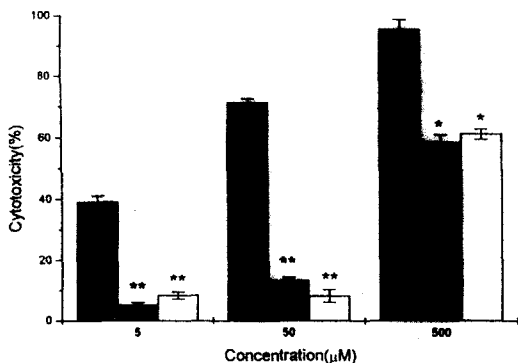


Fig. 2 — Cytotoxic activities of Pt(II) complexes on the proximal tubular cells of rabbit kidney.

■ : cisplatin  
 ■ : [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
 □ : [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Vertical bars represent standard error of the mean. Significantly different from cisplatin-control (\* P<0.05, \*\* P<0.01).

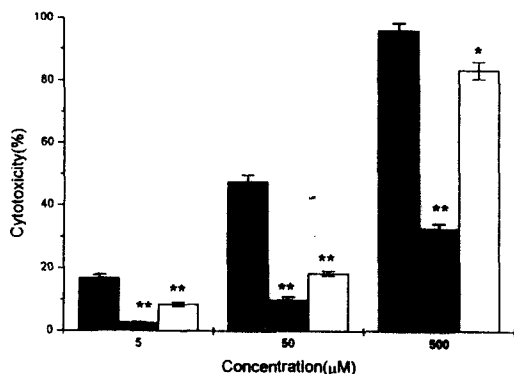


Fig. 3 — Cytotoxic activities of Pt(II) complexes on the renal cortical cells of human kidney.

■ : cisplatin  
 ■ : [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
 □ : [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

Vertical bars represent standard error of the mean. Significantly different from cisplatin-control (\* P<0.05, \*\* P<0.01).

로 사용하여 MTT, <sup>3</sup>H-thymidine 및 glucose consumption 등의 3 endpoints 세포 독성법을 사용하여 토끼 신장의 근위 세뇨관 상피세포 및 인체 정상 신장의 신 피질 세포에서 독성을 검토 하였다.

**MTT에 의한 신 독성 시험** - 백금(II)착체 [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>의 토끼 근위 세뇨관 상피세포에 대한 독성은 비교약물인 cisplatin과 비교해 본 결과 5 μM, 50 μM 실험 농도에서 현저히 저하되었다(Fig. 2). 5 μM 및 50 μM에서 cis-

Table I — Effect of platinum complexes on <sup>3</sup>H-thymidine incorporation on primary cultured proximal tubular cells of rabbit kidney.

Groups	<sup>3</sup> H-Thymidine (cpm/10 <sup>5</sup> cells)	Uptake Rate(%)
Control	498.3±75.15	100.0
[Pt(en)(DPPP)] · (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	338.3±51.24	45.8
[Pt(en)(DPPE)] · (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	274.0±49.11	56.8
Cisplatin	9.0±3.41	1.5

Concentration of Pt(II) complexes in cultured medium : 5×10<sup>-5</sup> M

Values are means±S.E All the incorporations were determined in triplicate.

platin이 39.2%와 71.4%의 세포독성을 나타낸 반면 새로이 합성한 [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>는 각각 8.5%, 8.3%와 5.3%, 13.5%의 독성을 나타내어 약 1/5이하로 독성이 감소된 것을 알 수 있었으며 500 μM의 고농도에서도 새로이 합성한 백금 착체는 cisplatin보다 30%정도의 독성이 감소되었으나 낮은 농도의 cisplatin에 비해 상대적으로 강한 독성을 보였다. Leaving group인 DPPP 및 DPPE에 대한 세포독성의 차이는 MTT 방법에 의한 토끼 근위 세뇨관 상피세포에서는 관찰할 수 없었다. 인체의 정상 신장세포에서도 각각의 농도에서 cisplatin에 비해 현저히 독성이 감소된 것으로 나타났다 (Fig.3). 5 μM에서 cisplatin이 16.9%의 세포독성을 나타낸 반면 새로 합성한 [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>는 각각 8.5%와 2.7%의 독성을 나타내었으며 50 μM에서는 cisplatin이 47.6%의 독성을 나타냈으나, 두 착체 [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>는 각각 18.6% 와 10.0%의 독성을 나타내어 현저히 독성이 감소되었음을 보여주었다. 500 μM의 고농도에서도 cisplatin이 95.9%의 높은 독성을 나타내는데 반해 새로이 합성한 착체는 독성이 83.4% 및 32.6%가 감소되었음을 관찰하였으며, 특히 leaving group ligand인 DPPE가 DPPP에 비해 50 및 500 μM 농도에서 독성이 감소 되었음을 관찰할 수 있었다.

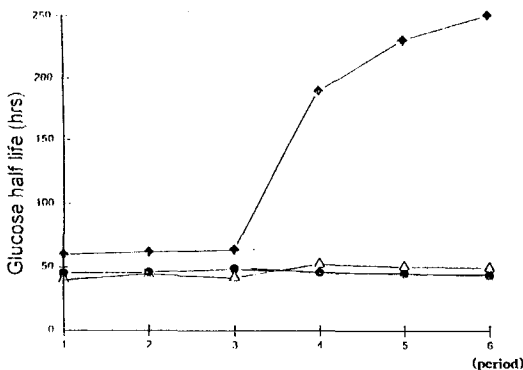
**<sup>3</sup>H-thymidine uptake assay에 의한 신독성 평가** - 토끼 근위세뇨관 상피세포에 대하여 새로이 합성한 백금(II)착체 화합물인 [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>는 50 μM에서 thymidine 섭취율(%)로서 DNA합성을 검토한 결과 각각의 세포에서 cisplatin에 비해 현저하게 섭취율이 높은 것으로 관찰되었으며 (Table I) 이는 cisplatin보다 새로이 합성한

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

Groups	$^3\text{H}$ -Thymidine (cpm/ $10^5$ Cells)	Uptake Rate(%)
Control	621.3 $\pm$ 56.01	100.0
[Pt(en)(DPPP)]·(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	192.0 $\pm$ 21.50	30.9
[Pt(en)(DPPE)]·(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	265.7 $\pm$ 55.97	42.8
Cisplatin	8.7 $\pm$ 5.14	1.4

Concentration of Pt(II) complexes in cultured medium:  $5 \times 10^{-5}$  M

Values are means $\pm$ S.E. All the incorporations were determined in triplicate.



**Fig. 4**—Glucose consumption was measured after 3 periods on 3 weeks histocultured human kidney. Each drug was exposed for 72 hrs with 0.5 mM.

—◆—: cisplatin  
—●—: [Pt(en)(DPPP)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
—△—: [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

백금(II)착체에서의 세포 생존율이 현저하게 높다는 것을 나타낸다.

인체 정상 신장세포에서도 cisplatin에 비하여 섭취율이 현저하게 높은것으로 나타나 새로운 백금(II)착체물 모두 cisplatin에 비해 인체의 신장세포에 대해 DNA 합성을 현저히 저하시킴을 알 수 있었다(Table II).

새로운 백금(II)화합물중 토끼 및 인체 신장 배양 세포에 대한 thymidine 섭취율에서 leaving group인 DPPE가 DPPP보다 높음을 나타냈으며 이는 ligand인 DPPE가 DPPP보다 독성이 감소 되었음을 확인할 수 있었다.

**Glucose 소모량에 따른 신 독성** - 인체 정상 신장 조직을 배양하여 cisplatin과 합성한 백금(II)착체를 각 시간대로 노출시킨 후 다시 배지를 공급하여 그에 따른 glucose소모량을 측정하고 반감기를 계산하여 그 독성

을 검토한 결과, 각각의 검체에 노출되기 시작한 3주기 이후 glucose반감기의 변화를 살펴볼 때 cisplatin에 노출된 것은 glucose의 반감기가 190 hrs이상으로 급격히 증가한 반면 새로이 합성한 [Pt(en)(DPPP)]-(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 및 [Pt(en)(DPPE)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>에 노출된 것은 3주기 이후에도 반감기가 일정하게 유지되는 것으로 관찰되었다. 이는 세포의 생존율이 cisplatin에 노출시킨 것보다 새로이 합성한 백금(II)착체에서 현저하게 높다는 것을 나타낸다. 따라서 인체의 신장 조직에 대한 두 가지 백금(II)착체의 독성이 cisplatin에 비하여 현저하게 저하되었음을 알 수 있었다(Fig. 4).

DPPE 및 DPPP에 의한 leaving group의 세포 독성 정도는 인체 정상 신장 조직을 배양한 glucose consumption 실험에서는 유의성 있는 차이를 발견할 수 없었다.

Cisplatin과 유사한 항암활성은 전보에서 보고한 바와같이 carrier ligand인 ethylenediamine에 의한 것으로 보고 하였으나<sup>14)</sup>, 신장의 세포독성은 3 endpoint에 의한 assay에서 저해 농도로 비교해 볼때  $^3\text{H}$ -thymidine법이 가장 예민 하였으며 MTT 및 glucose consumption assay 순 이었다.

대조 약물인 cisplatin에 비해 현저한 독성의 감소는 leaving group인 DPPP 및 DPPE에 의한 것으로 사려되며, 새로운 백금 착체의 leaving ligand인 DPPE는 DPPP에 비해 독성의 감소를 확인할 수 있었으며 이는 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane 및 1,3-bis(diphenylphosphino) propane의 구조를 비교 해 볼때 propyl기를 ethyl기로 치환함으로써 세포 독성의 감소를 확인 하였으며 또한 cisplatin의 chloride ligand에 비해 훨씬 독성이 떨어짐을 알 수 있었다.

## 결 론

Diphosphine류를 leaving group 으로 하고 ethylenediamine을 carrier ligand로 하는 일련의 수용성 백금(II)착체에 대한 신 독성 실험으로서 토끼의 근위 세뇨관 및 인체의 정상 신 피질에 대한 MTT 및  $^3\text{H}$ -thymidine 섭취율 및 glucose 소모량 측정에 따른 세포 독성을 검토한바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 합성한 백금(II)착체는 토끼 근위 세뇨관 세포와 인체 정상 신 피질에 대하여 MTT 및  $^3\text{H}$ -thymidine에 의한 세포독성 실험에서 대조물질인 cisplatin에 비하

여 독성이 현저히 저하되었다.

2. 새로운 백금(II)착화합물의 인체 신장 조직에 대한 독성은 glucose consumption test에서도 대조 약 물인 cisplatin에 비해 현저히 저하되었음을 관찰하였다.

3. 세포 독성을 나타내는 확인방법 중에서  $^3\text{H}$ -thymidine 섭취율, MTT assay 및 glucose 소모량 측정 순서로 독성의 예민성이 높았다.

4. 새로운 백금(II)착화합물의 독성의 경감 정도는 leaving group에 의한 것으로 추정되며 그 정도는 leaving group인 DPPE가 DPPP보다 토끼 근위 세뇨관 세포와 인체 정상 신 피질에서 현저히 독성이 감소됨을 확인하였다.

백금착체의 배위자 선택에 따라 보다 높은 항암 효과와 독성의 감소를 추구하는 과정에서, ethylenediamine과 diphosphine류를 함유하는 백금(II)착체는 L-1210 및 P-388 leukemia cells 그리고 M-14 melanoma cells에 대한 항암효과 시험에서 cisplatin과 유사하거나 다소 높은 항암효과를 보인 반면 토끼 및 인체 신장세포독성 시험에서는 3 endpoints 세포 독성 시험을 한바 대조물질 cisplatin에 비하여 현저하게 낮은 독성을 나타내고 있음을 확인하였으며 leaving group인 DPPE가 DPPP보다 현저히 독성의 정도가 감소되었음을 알 수 있었다. 이상의 실험 결과에서 세포독성을 감소 시키기 위해서는 leaving group 및 carrier ligand를 고려하여야 하며 diphosphine group을 함유하는 DPPP 및 DPPE를 이용한 새로운 항암성 백금 착화합물로의 개발 가능성이 있는 것으로 보여진다.

### 감사의 말씀

본 연구의 경비의 일부는 1995년도 경희대학교 교수 연구비 지원에 의해 수행하였습니다.

### 문헌

- 1) Rosenberg, B., Van Camp, L., Trosko J. E. and Mansour, V. H. : Platinum compounds: a new class of potent antitumor agents. *Nature* **223**, 385 (1969).
- 2) Rosenberg, B. Van Camp, L. and Krigas, T. L. : Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by

electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* **205**, 698 (1965).

- 3) Rosenberg, B. Van Camp, L., Grimley, E. B. and Thomson, A. J. : The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum(IV) complexes. *J. Biol. Chem.* **242**, 1347 (1967).
- 4) Connors, T. A. "Antitumor effects of platinum complexes in experimental animals In." T. A. Connors, J. J. Roberts eds. "Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy." New York. Springer-Verlag, 113 (1974).
- 5) Kociba, R. J. Sleight S. D. and Rosenberg, B. : Inhibition of dunning ascitic leukemia and Walker 256 carcinosarcoma with cis-diaminedichloroplatinum (NSC-119875). *Cancer Chemother. Rep.* **54**, 325 (1970).
- 6) Lippman, A. J. Helson, C. Helson, L. and Kradoff, I. H. : Clinical trials of cis-diaminedichloroplatinum (NSC-119875). *Cancer Chemother. Rep.* **57**, 191 (1973).
- 7) Higby, D. J. Wallace, J. J. and Holland, J. F. : cis-diamine dichloroplatinum (NSC-119875) a phase I study. *Cancer Chemother. Rep.* **57** 459 (1973).
- 8) Kociba, R. J. and Sleight. S. D. : Acute toxicologic and pathologic effects of cis-diamine-dichloroplatinum (NSC-119875) in the male rat. *Cancer Chemother. Rep.* **55**, 1 (1971).
- 9) Ward, J. M. and Fauvie, K. A. : The nephrotic effects of cis-diaminedichloroplatinum(II) (NSC-119875) in male F-344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **38**, 535 (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**, 1975 (1976).
- 11) Leonard, B. J. Eccleston, E., Jones D. *et al.* : Antileukemic and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature* **234**, 43 (1971).
- 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 (1975).

- 13) Krakoff, I. H. : Nephrotoxicity of cis-diaminedichloroplatinum(II). *Cancer Treat. Rep.* **63**, 1523 (1979).
- 14) Lee, K. T. Jung, J. C. and Roh, Y. S. : Synthesis and antitumor activity of activity of Pt(II) complexes containing ethylenediamine. *J. Kor. Pharm. Sci.* **24**, 245, (1994).
- 15) Chung, S. D. Alavi, N. Livingston, 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, (1982).