

Diaminocyclohexane을 배위자로 한 새로운 항암성 백금(II)착체류의 일반약리작용

고석태 · 강선영 · 임동윤¹ · 신현준² · 최승기² · 노영수² · 정지창^{3*}

¹조선대학교약학대학/의과대학, ²경희대학교 약학대학/의과대학

General Pharmacology of the New Platinum (II) Anticancer Agents with Diaminocyclohexane as a Carrier Ligand

Suk-Tai KO, Seon-Yung KANG, Dong-Yoon LIM¹, Hyun-June SHIN²,
Seung-Ki CHOI², Young-Soo RHO² and Jee-Chang JUNG³

College of Pharmacy and ¹School of Medicine, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea
²College of Pharmacy and ³School of Medicine, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

(Received April 1, 1998; accepted August 1, 1998)

Abstract – The general pharmacological properties of new platinum (II) coordination complexes, SA : [Pt (trans-*l*-DACH)(DPPE)] · 2NO₃, SB : [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO₃ and SC : [Pt(cis-DACH)(DPPE)] · 2NO₃ on central nervous, respiratory, cardiovascular and digestive systems were studied in various experimental animals. These platinum (II) anticancer agents had no effects on analgesia, thiopental-induced sleeping time, body temperature, strychnine-induced convulsion, inflammation and local anesthetic action in mice and rats. Intestinal motility, stomach-ulcer induced by serotonin and bile-secretion of rats were not influenced by the dose of 30 mg/kg. However SB and SC induced a mild decrease in heart rate in anesthetized rats. Based on these results, these new platinum (II) complexes may be regarded as a valuable lead compound in the development of new anticancer chemotherapeutic agents with marked antitumor activity and low toxicity.

Keywords □ new platinum(II)anticancer agent, general pharmacology

Cisplatin을 위시한 기존의 항암성 백금착체류는 수종의 고형암에 항암효과가 인정되고 있으나 신장독성, 오심, 구토, 혈관장애, 내이신경독성등의 부작용(Brian 등, 1980; Dobyang 등, 1980; Ward와 Fauvie, 1976; Ward 등, 1976; Zhang 등, 1992; Zhong 등, 1990)을 일으키고 조직내 축적작용이 있는 것으로 알려져 사용에 제한을 받고 있다.

Cisplatin의 신독성은 용량증가에 따른 독성증가 현상(Gottlieb 등, 1975)으로써 주로 세뇨관 괴사에 기인한 것으로 밝혀진바(Hardaker 등, 1974; Krakoff, 1979; Jacobs 등, 1980)있다. 또한 cisplatin은 소화기장애, 골수기능 억제, 청각장애, 투여후 혈중 단백질의 강한 결합으로 인한 생체이용율의 저하와 최근에는 저항성 암세포의 출현(Burchenal 등, 1977)등으로 새로운 항암성 백금착체개발의 필요성이 대두되고 있다.

Rho 등(1996)이 새로이 합성한 백금(II)착체 [Pt(trans-*l*-DACH)(DPPE)] · 2NO₃, [Pt(cis-DACH)(DPPE)] · 2NO₃와 [Pt

(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO₃ 등은 *in vitro*에서 난소암, 방광암과 전립선암 등의 고형암세포주에 대하여 매우 우수한 항암활성을 나타낸 반면에 인체의 신장피질과 토끼의 신장 근위세뇨관 상피정상세포에 대한 독성은 미약한 것으로 발표된 바 있다(Jung 등, 1995; 1997). 이들 새로운 백금(II)착체류의 *in vitro*항암효과는 물론 *in vivo*항암효과도 매우 우수하였으며(Back 등, 1997), 마우스와 흰쥐에 대한 급성독성과 아급성독성 정도는 매우 적은 것으로 밝혀진 바 있다(Jeong 등, 1995; Jeong 등, 1996). 본 연구는 이들 새로운 백금(II)착체류의 전임상연구단계의 일환으로, 임상적용시 예측되는 부작용에 관한 정보를 얻기위하여 각종 실험동물에서 중추신경계, 호흡, 순환기 및 소화기계에 관련된 일반약리작용을 검토하였다.

실험방법

시험물질 및 시약

* To whom correspondence should be addressed.

이 연구에 사용된 새로운 백금(II)착체로는 carrier ligand에 trans-*l* 및 cis-체의 1,2-diaminocyclohexane(DACH)을, leaving group에 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane (DPPE)와 1,3-bis(diphenylphosphino)propane(DPPP)을 도입한 [Pt(trans-*l*-DACH) (DPPE)] · 2NO₃(SA), [Pt(cis-DACH)(DPPP)] · 2NO₃(SB), [Pt(cis-DACH) (DPPE)] · 2NO₃(SC)로서 물에 잘 녹는 미황색 결정성 분말이며, 이 실험에는 생리식염수에 용해하여 사용하였다. 그밖에 chlorpromazine, phenobarbital sodium, thiopental sodium, strychnine nitrate, carrageenan, lidocaine, atropine sulfate, serotonin, norepinephrine, acetylcholine chloride 등은 Sigma시약을 사용하였다.

실험동물

실험동물로는 Sprague-Dawley계 흰쥐(체중 200-250 g)와 ICR계 마우스(체중 20-25 g)를 국내업자로부터 공급받아 순화기간을 거친후 사용하였다. 순화기간과 실험기간중의 동물사육 환경은 온도 23±3℃, 습도 55±14%, 조명시간 12시간(07:00-19:00)의 조건을 유지하였으며, 사료와 물은 자유섭취시켰다. 단 장관수송능에 대한 작용실험에서는 흰쥐를 24시간 절식시킨후 사용하였다.

용량설정

실험약물인 SA, SB와 SC의 성인 1회 임상예정투여용량은 60 mg으로서, 1 mg/kg을 정맥내 투여하게 된다. 본 실험에서는 예상용량인 1 mg/kg의 30배인 30 mg/kg을 투여용량으로 하였으며, 실험종목에 따라 피하 또는 정맥내에 투여하였다.

중추 및 말초신경계에 미치는 영향

진통작용

체중 200-250 g의 웅성 흰쥐를 각군당 6-10 마리씩 사용하였다. Randall-Selitto방법을 수정보완한 Dunham 등(1957)의 방법에 따라 흰쥐의 발에 analgesy meter(UGO Basile, Italy)의 침을 올려놓고 모터를 작동하여 발에 가중무게를 점진적으로 증가시켜 동물이 발을 뺄려고 할 때의 침에 가해지는 무게를 동통역치로 삼았다. 이 동통역치의 측정은 3회 이상 반복하여 그 평균치를 채택하였다. 실험약물은 대조치의 동통역치를 측정된 직후 피하주사한 후 1시간 후와 3시간후에 동통역치를 다시 측정하며 이때 나타난 동통역치를 대조치와 비교하여 analgesic index를 구하였다. 이때 양성대조약물은 비스테로이드성 소염진통제의 하나인 naproxen을 사용하였다.

Thiopental의 수면작용에 대한 영향

체중 20-25 g 정도의 마우스를 각군당 10마리를 사용하여 SA, SB, SC를 각군에 각각 30 mg/kg, s.c.로 투여하고 15분 후에 thiopental sodium, 40 mg/kg을 복강주사하여 정향반사소실점을 수면개시점으로, 정향반사가 소실에서 회복할 때 까지의 시간(min)을 수면시간으로 계산하였다(高

木과 小澤, 1969). 양성대조약물로 chlorpromazine 6.0 mg/kg, s.c.를 사용하였다.

정상체온에 대한 영향

체중 180-200 g 정도의 웅성 흰쥐를 각 군당 10마리씩 사용하였으며 실험 전날 thermistor thermometer를 이용하여 30분 간격으로 3회 체온을 측정하여 체온 변동이 0.5℃ 미만인 것을 선택하여 실험에 사용하였다. 약물투여 15분전에 체온을 측정하고 SA, SB, SC를 각 군에 각각 30 mg/kg, s.c.로 투여한 후 30분, 1시간, 2시간, 4시간 후에 체온을 측정하였다. 양성 대조물질은 chlorpromazine 6.0 mg/kg, s.c.를 투여 하였다(高木과 小澤, 1969).

Strychnine 유발경련에 대한 실험

체중 20-25 g의 마우스를 각 군당 10마리씩 이용하여 SA, SB, SC를 각 군에 각각 30 mg/kg, s.c.로 투여하고 15분 후에 strychnine 2.0 mg/kg을 복강주사하여 강직성 경련의 발현 및 사망유무를 30분 동안 관찰하였다. 이때 양성 대조약물로서 phenobarbital sodium을 30 mg/kg, s.c.로 투여하였다(Araki와 Ueki, 1972).

염증실험

체중 200-250 g의 웅성 흰쥐를 각군당 6마리씩 사용하였다. 실험방법은 carrageenan으로 발바닥에 부종을 일으키는 법(즉저부종법)으로 염증을 유발시키고 그 부종정도는 plethysmometer(UGO, Basile, Italy)를 이용하여 측정하였다(Shibata 등, 1979). 대조치의 용량을 측정된 직후 대조군에 saline을 투여하고 각군은 시료를, 양성대조물질군은 naproxen을 150 mg/kg을 피하로 주사한후 30분 후에 1% carrageenan 0.1 ml을 흰쥐의 발바닥에 주사한 다음 5시간 후에 흰쥐 발의 부종상태를 측정된 다음 saline군과 비교 검토하여 그 효능을 관찰하였다.

현수에 의한 근이완작용에 대한 영향

체중 25-30 g의 마우스를 각 군당 5마리로 하여 Courvoisier 등의 방법(1957)에 의하여 시행하였다. SA, SB, SC를 각 군에 각각 30 mg/kg, s.c.로 투여하고 30분, 1시간, 2시간, 4시간의 4회에 걸쳐 측정하였다. 30 cm 높이의 수평으로 설치한 철사줄(지름 1 mm)에 앞발을 걸치게 현수하여 10초 이내에 뒷다리가 따라오지 않는 것을 양성으로 하였으며 이때 양성대조약물로는 chlorpromazine을 6.0 mg/kg, s.c.로 투여하였다.

국소마취에 대한 영향

체중 200-250 g의 흰쥐를 각 군에 5마리씩 사용하였다. 0.9% saline에 용해시킨 실험물질을 각막에 3-5회 dropping으로 점안 후 5, 10, 20 및 30분에 돼지털로 된 자극모로 각막에 5회 자극하여 3회이상 반사가 소실되는 것을 각막반사반응 음성으로 하였다. 이때의 국소마취작용대조약물로는 1.0% lidocaine을 사용하였다(田村과 藤井, 1981).

호흡 및 순환기계에 미치는 영향

마취 흰쥐의 혈압에 대한 영향

24시간 단식시키고 물을 자유로이 취하도록 한 체중 200-250 g의 웅성 흰쥐를 사용하였다. 25%의 urethane용액 4.5 ml/kg, s.c.로 마취한 흰쥐를 동물고정대에 고정하고 호흡을 용이하게 하기 위하여 기관 cannule을 삽입고정한 다음 한쪽 경동맥에 heparin을 첨가한 saline으로 채운 polyethylene(PE)관을 삽입고정한 다음 blood pressure transducer에 연결하여 physiograph상에 혈압의 변화를 기록하여 관찰하였다. 양성대조물질은 norepinephrine과 acetylcholine이었다. 실험약물과 대조약물은 다같이 대퇴정맥내에 삽입고정한 PE관을 통하여 투여하였다.

흰쥐의 호흡 및 심전도에 대한 영향

체중 200-250 g의 흰쥐를 25% urethane 4.0 ml/kg, s.c.로 마취한 후 동물고정대에 고정하고 심전도는 low level DC preamplifier(Grass model 7P1)에 subdermal needle electrode (E₂)을 동물에 연결하여서, 호흡은 strain gage adaptor (Grass model 7DMGA)에 strain gage를 동물에 연결하여 physiograph 상에 그렸다.

흰쥐의 적출심장에 대한 작용

흰쥐에 30 mg/kg 용량으로 sodium pentobarbital을 복강 주사하여 마취시킨 후 흉부를 절개하여 대동맥을 절개하여 삽입관을 삽입한 다음 폐장을 포함한 주위조직을 제거하고 곧이어 Langendorff 관류장치에 대동맥 삽입관을 연결시켜 역방향 관류를 하였다. 관류액은 95% O₂+5% CO₂로 포화시킨 Krebs-Henseleit(K-H) 완충용액(118 mM NaCl, 27.2 mM NaHCO₃, 4.8 mM KCl, 1.2 mM MgSO₄, 1 mM KH₂PO₄, 1.25 mM CaCl₂, 10 mM Glucose, pH 7.4)을 80 cm H₂O의 일정 압력으로 관류하였고, 심장온도를 37℃로 일정하게 유지하였다. 충분히 산소가 포화된 K-H용액으로 15분 동안 관류하여 심기능이 안정화된 후, 대동맥 삽입관에 장치된 3-way 코크를 통하여 pinusolide를 투여하여 투여전과 투여 후 심기능과 심근 손상에 미치는 영향을 비교 관찰하였다. Pinusolide가 심기능에 미치는 영향을 보기위해 심기능의 지표로서 심박수와 좌심실 압력 그리고 관상 관류량을 측정하였다. 좌심실 압력은 끝에 balloon이 붙은 20G의 plastic 삽입관을 승모판을 통해서 좌심실에 삽입하고 압력 변환기에 연결한 후, 생리기록계를 이용해서 측정하였고, 이때 안정화된 좌심실 이완기말 압력(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)이 5 mmHg을 팽창시켰다. 심박수는 1분간 기록된 수축횟수로 알 수 있었으며 좌심실 압력중 이완기말 압력은 심근의 contracture정도를, 수축기말 압력과 이완기말 압력의 차이(developed pressure, DP)는 심장의 수축력을 나타내는 지표로 사용하였고, 또한 심장의 혈액순환 능력(심기능 지수)은 developed pressure에 심박수를 곱하여 산출(DP×HR×10⁻³)하였다.

소화기계에 대한 영향

장관 수송능에 대한 영향

24시간 단식시키고 물을 자유로이 취하도록 한 체중 200-250 g의 웅성 흰쥐를 각 군 마다 6마리 씩 사용하였다. 실험은 3% 탄말용액(용매:0.5% carboxymethyl-cellulose sodium)을 1.0 ml/100 g로 경구투여하였다. 탄말용액 투여 20분 후에 흰쥐를 치사시킨후 유문부로 탄말이송거리를 측정하고, 이를 전체소장길이에 대한 백분율(%), transfer rate)로 환산하여 표시하였다(高木과 小澤, 1969). 시료약물과 대조약물은 탄말용액 투여 1시간 전에 피하주사 하였다. 이때 양성대조약물은 atropine이었다.

위점막에 대한 영향

24시간 단식시키고 물을 자유로이 섭취하도록 한 웅성 흰쥐에 serotonin 20 mg/kg을 s.c.로 투여하였다. 주사후 4시간 후에 흰쥐를 치사시켜 위를 적출한 다음 2% formalin액을 위내에 10 ml정도 주입한 후 2% formalin액 내에 약 10분간 침적한 다음 위의 대만부를 절개하여 확대경하에서 腺胃部的 점막에 생성한 궤양의 정도를 Kubo's방법(Kubo 등, 1983)에 따라 측정하였다. 판정은 0;병변이 없다. 1; 출혈, 괴사된 곳 2; 5개이하의 소궤양(직경 2 mm) 3; 5개 이상의 소궤양 혹은 대궤양(2 mm) 4; 다수의 대궤양 5; 천공 등으로 나타내었다.

담즙분비에 대한 영향

체중 200-250 g의 웅성 흰쥐를 각 군당 10마리 씩 사용하였다. 25% urethane 4.5 ml/kg, s.c.로 마취한 동물을 동물고정대에 고정시킨후 복부를 절개하여 총담관에 polyethylene tube를 삽입하여 30분의 대조기후에 SA, SB, SC를 30 mg/kg, s.c.로 투여한 후 30분 간격으로 담즙을 채취하여 약물 투여전의 용량과 비교하였다. 이때 담즙분비량은 미리 달이둔 시험관에 채취하여 그 무게의 차로 환산하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 사용하여 나타내었고 각 군간의 비교는 Student's t-test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 P<0.05일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

중추 및 말초신경계에 미치는 영향

진통작용

진통작용 양성대조약물인 naproxen을 비롯한 실험약 SA, SB 및 SC의 pain threshold(PT)를 측정한 결과를 종합하여 보면 naproxen의 경우 150 mg/kg, s.c. 한시간 후와 3시간 후 각각의 PT는 11.6±1.65 g과 14.6±1.43 g 이었다 (Table I). 이것은 대조치 7.9±1.05 g에 비하여 통계적인 유의성을 나타내는 증가현상이다. 그러나 SA는 30 mg/kg, s.c. 한시간 후의 PT는 8.1±0.28 g으로 대조치 10.7±0.64 g에

비하여 유의적인 감소를 보였다. 이와 비슷하게 SB와 SC의 경우에 30 mg/kg, s.c. 투여 한시간 후에서는 다같이 PT의 유의성인 감소현상이 나타났으며 SB의 경우에는 이 감소현상이 3시간 후까지 계속되는 점으로 보아 동통유발 가능성이 있을 것으로 보여진다.

Thiopental의 수면작용에 대한 영향

SA, SB, SC의 투여는 thiopental-Na유발 수면작용에 있어서 수면유도 시간과 수면시간에 유의성있는 영향을 나타

내지 않았다. 즉 SA 30 mg/kg의 경우에 수면 유도시간은 3.93 ± 0.15 로서 sleep-inducing time 및 sleeping time 각각 대조군의 3.22 ± 2.76 , 39.2 ± 3.46 과 유사하게 나타났다. 또한 SB와 SC의 경우에서도 수면 유도시간은 3.24 ± 0.21 과 3.52 ± 0.18 , 수면시간은 38.1 ± 4.25 와 36.5 ± 4.10 으로 대조군과 별다른 차이가 없었다. 그러나 양성대조 물질로 사용한 chlorpromazine 6.0 mg/kg의 경우 유의성있는 수면 연장 작용을 나타내었다(Table II).

정상체온에 대한 영향

흰쥐의 정상체온에 대하여 SA, SB, SC의 영향에 대한 실험결과를 보면 흰쥐에서 정상체온에 대하여 SA, SB, SC 투여 후 4시간까지 별다른 영향을 미치지 않았으나, 양성대조약물인 chlorpromazine 6.0 mg/kg, s.c.에서 60분후부터 유의성이 있는 체온하강반응이 나타났으며, 그 효능은 4시간까지 계속되었다(Table III).

Strychnine 유발경련에 대한 영향

SA, SB, SC 투여군에서 대조군과 비교할 때 strychnine에 의한 경련 유발발현시간과 사망율에 차이가 없었다(Table IV). 그러나 양성 대조물질인 phenobarbital의 경우에는 경련이 5마리중 2마리에서 나타났으나 그경련의 강도는 극히 미약하였으며 사망하는 동물은 없었다.

염증작용에 대한 영향

흰쥐의 발바닥에 carrageenan을 주사하여 염증을 일으키는 실험에서 양성대조 물질은 naproxen을 사용하였다. Carrageenan의 염증(부종)을 일으키는 작용엔 naproxen을 150

Table I. Analgesic effect of new platinum(II) complexes and naproxen in rat by the Randall-Sellito method

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Pain threshold ($\times 30$ g)		
		Control	Time after administration (hr)	
			1	3
SA	30	10.7 ± 0.64	$8.1 \pm 0.28^*$ (0.76)	10.6 ± 1.45 (0.99)
SB	30	9.1 ± 1.07	$5.3 \pm 0.47^*$ (0.59)	6.3 ± 0.53 (0.69)*
SC	30	9.0 ± 0.96	$6.1 \pm 0.54^*$ (0.68)	7.2 ± 1.24 (0.79)
Naproxen	150	7.9 ± 1.05	$11.6 \pm 1.65^*$ (1.47)	14.6 ± 1.43 (1.85)*

Each value represents the mean \pm S.E. (n=7). Values in parenthesis represent the analgesic index, respectively. *Significantly different from control ($p < 0.05$). SA: [Pt(trans-*l*-dach)(DPPE)] \cdot 2NO₃, SB: [Pt(cis-dach)(DPPP)] \cdot 2NO₃, SC: [Pt(cis-dach)(DPPE)] \cdot 2NO₃.

Table II. Effect of new platinum (II) complexes on thiopental induced sleeping time in mice

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Sleeping time (min)	
		Onset	Duration
Control	-	3.22 ± 0.27	39.2 ± 3.46
SA	30	3.93 ± 0.15	32.7 ± 2.76
SB	30	3.24 ± 0.21	38.1 ± 4.25
SC	30	3.52 ± 0.18	36.5 ± 4.10
Chlorpromazine	150	$1.52 \pm 0.13^*$	$117.5 \pm 11.01^*$

Each value represents the mean \pm S.E. (n=10). *Significantly different from control ($p < 0.05$).

Table III. Effect of new platinum (II) complexes on the normal body temperature in rats

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Time after administration (min)				
		Before	30	60	120	240
Control	-	37.43 ± 0.12	37.24 ± 0.11	37.60 ± 0.20	37.63 ± 0.08	37.45 ± 0.11
SA	30	37.39 ± 0.14	37.40 ± 0.14	37.51 ± 0.12	37.45 ± 0.10	37.40 ± 0.21
SB	30	37.34 ± 0.12	37.32 ± 0.10	37.20 ± 0.11	37.22 ± 0.10	37.34 ± 0.12
SC	30	37.42 ± 0.11	37.40 ± 0.10	37.30 ± 0.13	37.23 ± 0.15	36.94 ± 0.11
Chlorpromazine	6.0	37.40 ± 0.13	37.33 ± 0.10	$36.30 \pm 0.13^*$	$36.20 \pm 0.15^*$	$35.90 \pm 0.10^*$

Each value represents the mean \pm S.E. (n=10). *Significantly different from control ($p < 0.05$).

Table IV. Effect of new platinum (II) complexes on the strychnine-induced convulsion in mice

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Time of onset (min)	Convulsion-rate (%)	Death rate (%)
Control	-	5.24 ± 0.47	100	100
SA	30	4.89 ± 0.65	100	100
SB	30	5.13 ± 0.71	100	100
SC	30	5.07 ± 0.58	100	100
Phenobarbital	30	$11.36 \pm 1.84^*$	40	0

Each value represents the mean \pm S.E. (n=10). *Significantly different from control ($p < 0.05$).

Table V. Effect of new platinum (II) complexes and naproxen on carrageenan-induced foot-pad edema in rats

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Increased rate of edema (%)
Control	-	42.1±2.54
SA	30	47.6±2.09
SB	30	51.8±9.35
SC	30	40.5±5.22
Naproxen	150	25.1±5.17*

Each value represents the mean±S.E. (n=6). *Significantly different from control (p<0.05).

mg/kg투여한 실험군에서는 유의성 있는 항염증작용이 나타났으나 실험약물 투여군에서는 전혀 영향이 없었고 실험군 SB는 오히려 염증이 증가되는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다(Table V).

현수에 의한 근이완 작용에 대한 영향

SA, SB, SC 30 mg/kg, s.c. 투여군 및 대조군에서 약물투여 후 30분부터 4회에 걸쳐 관찰하여 10초 이내에 뒷다리가 따라오지 못하는 것을 양성으로 나타낸 것이다. SA, SB, SC투여군에서 전혀 영향을 미치지 않았으나 양성 대조물질로 사용한 chlorpromazine 6.0 mg/kg투여군에서는 유의성있는 양성반응을 나타내었다(Table VI).

국소마취에 대한 영향

흰쥐의 국소마취에 대한 SA, SB 및 SC의 영향을 관찰한

Table VI. Effect of new platinum (II) complexes on the traction-test in mice

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	No. of animal	Time after administration (hr)			
			0.5	1.0	2.0	4.0
Control	-	10	0	0	0	0
SA	30	10	0	0	0	0
SB	30	10	0	0	0	0
SC	30	10	0	0	0	0
Chlorpromazine	6	10	9	10	10	10

Each value represents the number of responded mice.

Table VII. Effect of new complexes and lidocaine on the corneal reflex in rats

Drugs	Dose (%)	No. of animal	Reflex response			
			Time after administration (min)			
			5	10	20	30
Control	-	5	+	+	+	+
SA	1.0	5	+	+	+	+
SB	1.0	5	+	+	+	+
SC	1.0	5	+	+	+	+
Lidocaine	1.0	5	-	-	-	-

Table VIII. Effect of new platinum (II) complexes on mean arterial blood pressure in anesthetized rats

Drugs	Dose (mg/kg, i.v.)	Arterial blood pressure (mmHg)	
		Before administration	After administration
Control	-	117.5±5.46	119.8±6.35
SA	15	119.1±6.89	122.3±7.28
	30	116.0±7.53	119.5±7.49
SB	15	104.9±6.92	116.5±7.10
	30	111.3±6.92	132.5±6.58
SC	15	112.3±5.99	117.4±5.12
	30	115.9±6.23	126.3±5.94

Each value represents the mean±S.E. (n=5).

결과를 보면 SA, SB 및 SC 투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 각막반사의 영향은 보이지 않았다. 그러나 양성 대조군으로 사용한 1.0% lidocaine 투여군에서는 투여후 5분부터 30분까지 유의성인 각막반사의 소실을 관찰할 수 있었다(Table VII).

호흡 및 순환기계에 미치는 영향

마취흰쥐의 혈압에 대한 영향

Table VIII에 나타낸 바와 같이 SA, SB, SC와 양성 대조물질로써 사용한 acetylcholine과 norepinephrine을 흰쥐의 정맥내에 투여한 후 나타난 혈압변화를 보면 양성 대조물질인 acetylcholine의 경우 2.0 µg/kg, i.v.에서 77.5±4.62 mmHg의 혈압을 나타내었다. 또한 norepinephrine 2.0 µg/kg, i.v.에서 대조치 122.8±6.80 mmHg에서 160.5±6.09 mmHg로 증대되었다. SA는 15.0 µg/kg, i.v.와 30.0 µg/kg, i.v.에서 각각 122.3±7.28 mmHg와 119.5±7.49 mmHg이었는데 대조치 119.1±6.86 mmHg, 116.0±7.53 mmHg에 비하여 유의성있는 차이는 발견할 수 없었다. SB의 경우 15.0 µg/kg, i.v.에서 104.9±6.92 mmHg에서 116.5±7.10 mmHg로 상승하였고, 30.0 µg/kg, i.v.에서도 132.5±6.58 mmHg로서 대조치 111.3±6.92 mmHg에 비하여 상승하였으나 통계적인 유의성은 없었다.

흰쥐의 호흡 및 심전도에 대한 영향

약물투여 후 0.5, 1.0 및 2.0시간 후에 심전도에 대한 영향을 관찰한 결과 SA, SB 및 SC중 어느것에 의하여도 시간에 관계없이 영향을 받지 않았으며, 호흡폭에는 SA, SB, SC에 의하여 별다른 변화를 관찰할 수 없었기 때문에 호흡수만을 계산하여 Table IX에 나타내었다. SB와 SC는 검역투여 2.0시간후부터 호흡수의 유의한 감소를 나타내었다.

흰쥐 적출심장에 대한 영향

Table X는 적출한 흰쥐 심장의 기능에 대한 SA, SB, SC의 영향을 관찰한 실험 5례를 종합한 것이다. Table X에서 나타낸바와 같이 심장의 수축기말 압력과 이완기말 압력의 차이에 심박수를 곱하여 산출한 심기능지수[HR×DP×10³

Table IX. Effect of new platinum (II) complexes on the respiration in anesthetized rats

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Respiration rate (strokes/min)			
		Before	Time after administration (min)		
			30	60	120
Control	-	107.5±6.24	105.2±8.03	106.4±7.22	102.8±9.24
SA	30	111.0±5.69	94.0±5.18	99.0±4.15	95.0±3.85
SB	30	103.0±2.60	96.6±16.0	95.0±2.64	85.0±6.08*
SC	30	116.0±1.90	99.5±16.5	105.5±10.5	87.5±4.50*

Each value represents the mean ± S.E. (n=5). *Significantly different from control (p<0.05).

Table X. Effect of new platinum (II) complexes on the cardiac function in isolated heart of rats

Drugs	Dose (μg/ml)	Index of cardiac function ^a	
		Before administration	After administration
Control	-	25.7±2.71	24.8±3.54
SA	5		24.1±3.04
	10	24.8±3.18	23.7±3.13
	20		22.8±3.22
SB	5		24.2±3.44
	10	25.1±3.62	19.9±3.40
	20		18.1±2.49
SC	5		24.8±3.47
	10	25.0±3.52	20.0±3.35
	20		18.0±3.10*

Each value represents the mean ± S.E. (n=5). ^aIndex of cardiac function was calculated from $HR \times DP \times 10^{-3}$. HR: heart-rate, DP: developed pressure (Systolic blood pressure-Diastolic blood pressure).

(mmHg)]를 관찰하였을 때 SB 및 SC 5, 10 및 20 μg/ml의 농도에서 심기능지수에 있어서 별다른 차이가 없었다.

소화기계에 대한 영향

장관수송능에 대한 영향

장관수송에 대한 영향을 검토한 결과를 종합하여 통계처리하였을 때 대조군은 62.9±3.53%의 이송율을 나타내는데 비하여 atropine군은 31.7±3.53%로 유의하게 억제되었고 SA, SB와 SC는 각각 63.3±4.00%, 71.4±6.86%와 68.9±5.70%로 대조군에 비하여 유의한 차이를 발견할 수 없었다 (Table XI).

Table XI. Effect of new platinum (II) complexes on the intestinal transportation of charcoal in rats

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Transfer rate (% mean ± S.E.)
Control	-	62.9±0.75
SA	30	63.3±4.00
SB	30	71.4±6.86
SC	30	68.9±5.70
Atropine	50	31.7±3.53*

Transport percentages of charcoal were calculated by transport length of charcoal from the pylorus/length of whole small intestine × 100. *Significantly different from control (p<0.05).

Table XII. Effect of new platinum (II) complexes on stomach ulcer induced by serotonin in rats

Drugs	Dose (mg/kg, s.c.)	Ulcer Index (mean ± S.E.)
Control	-	2.06±0.23
SA	30	2.50±0.22
SB	30	2.20±0.31
SC	30	2.11±0.21
Atropine	50	0.30±0.22*

Ulcer indexes were calculated Kubo's method. *Significantly different from control (p<0.05).

위점막에 대한 영향

Serotonin(5-HT)으로 유발시키는 위궤양에 대한 영향을 관찰하였다. Atropine은 serotonin ulcer를 유의하게 억제하였으나 SA, SB와 SC는 serotonin 위궤양에 대하여 아무런 영향을 미치지 않았다(Table XII).

담즙분비에 미치는 영향

Table XIII. Effect of new platinum (II) complexes on biliary secretion of bile in rat

Drug	Dose (mg/kg, s.c.)	Bile weight (g/30min)				
		Control	0-30	30-60	60-90	90-120 (min)
Control	Saline	0.291±0.004	0.286±0.011	0.290±0.008	0.288±0.012	0.299±0.009
SA	30	0.309±0.044	0.292±0.041	0.278±0.043	0.308±0.040	0.290±0.030
SB	30	0.313±0.011	0.307±0.023	0.277±0.016	0.294±0.031	0.289±0.011
SC	30	0.262±0.034	0.255±0.008	0.248±0.010	0.243±0.024	0.227±0.030

Each value represents the mean ± S.E. (n=10).

담즙분비에 대한 SA, SB, SC의 영향을 관찰한 결과 SA, SB, SC는 담즙분비에 대하여 별다른 영향을 미치지 않았다(Table XIII).

고 찰

백금(II)착체의 하나인 cisplatin은 Rosenberg 등(1969; 1973; 1975), Einhorn(1977)과 Hortobagyi 등(1987)에 의하여 고환암과 난소암 등의 일부 고형암에 효과적으로 쓰여져 오고 있으나, 상대적으로 심한 신장독성 등이 하나의 문제점으로 지적되고 있다. 따라서 cisplatin의 단점을 보완하기 위한 연구가 활발하게 진행되어, cisplatin에 대한 교차내성을 일으키지 않고, 보다 우수한 항암효과와 광범위한 항암 spectrum을 가지면서 부작용이 경감되고 수용성 및 안정성을 높인 여러 백금착체가 개발되어 왔다.

백금(II)착체는 항암활성의 강도와 항암 spectrum을 결정짓는 carrier ligand와 수용성, 안정성, 반응성에 영향을 주는 leaving group 및 중심금속인 백금(II)으로 구성되어 있으며, 이들 carrier ligand와 leaving group을 여러 물질로 바꿔줌으로써 많은 백금화합물을 얻을 수 있다.

유효한 carrier ligand의 하나로써 1,2-diaminocyclohexane (DACH)을 배위자로 하는 백금착체가 항암활성이 있는 것으로 알려져 있다(Clear and Hoeschele, 1973; Connors 등, 1972; Hill 등, 1975; Soloway 등, 1974; Wallace 등, 1974; Welsch 등, 1971). DACH는 cis, trans-l 및 trans-d체로 분리될 수 있고, 이들로부터 합성된 백금착체중에서 trans-l-DACH의 항암활성이 가장 높으며 cis-DACH는 신독성이 가장 낮은 것으로 알려져 있다(Inagaki와 Kidani, 1986).

또한, 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 DNA와 interstrand 및 intrastrand 결합함으로써 DNA의 복제를 억제하여 세포독성을 일으키게 된다. 따라서 백금(II)착체의 항암활성은 carrier ligand와 leaving group을 변화시킴에 따라 항암활성 수용성 및 안정성화에 큰 영향을 주게 된다(Tashiro, 1988).

Cisplatin을 위시한 백금(II)착체의 신장독성에 대한 구체적인 기전은 아직 정확하게 밝혀져 있지 않으나, 신장 혈류의 저해설이나 sulfhydryl group의 감소를 주장하는 연구자도 있으며, *in vitro*에서 근위세뇨관 세포 또는 신장조직 자체가 손상을 받는점으로 미루어 신장 혈류저해 이외의 원인이 있을것으로 생각된다(Brian 등, 1980; Levi 등, 1980).

Cisplatin에 의하여 일어나는 신장의 손상부위에 관한 연구로서 Dobyas 등(1980)은 distal tubule의 S₃ segment에 많은 변화가 일어남을 관찰한 바 있고, Gonzalez-Vitale 등(1977)은 인체 신조직을 이용한 연구에서 주된 병변이 원위

세뇨관에 일어남을 보고하고 있으며, 근위세뇨관과 원위세뇨관에 모두 손상이 생긴다는 주장도 있다(Porter 등, 1981; Jones 등, 1980).

이러한 신독성을 줄이기 위한 방법으로 cisplatin의 투약 전후 충분한 수분의 공급이나 mannitol 그리고 WR-2721과 같은 sulfhydryl의 투여 뿐만 아니라 diethyldithiocarbamate를 투여한 보고들이 있다(Jones, 1986; Glover 등, 1986; Bodenner 등, 1986).

Cisplatin에 의한 신장의 병소가 어느 부위이든 간에 cisplatin의 신독성은 임상적으로 많은 문제를 유발하여 충분한 항암효과를 기대하기 위한 고용량의 치료가 불가능하게 되어, 많은 연구자들에 의하여 cisplatin에 버금가는 항암효과와 아울러 독성이 적은 약물의 개발에 노력하게 되었다. 이러한 연구의 결과 임상적으로 사용되는 대표적인 예가 carboplatin이다. 그러나 이 carboplatin은 신독성이나 신경독성은 경감시킨 반면 골수억제 현상이 강하게 나타나는 문제점이 제기되고 있다(Marina 등, 1994; Field 등, 1994; Ettinger 등, 1994).

이 연구에 사용된 새로운 백금(II)착체인 SA, SB 및 SC는 *in vitro*에서의 여러 암세포주에 대한 항암활성과 *in vivo* 항암효과가 밝혀진바 있고(Jung 등, 1995; 1996; 1997; Baek 등, 1997), 반면에 기존의 cisplatin에 비하여 신장독성은 훨씬 적은 것으로 규명된 바 있다. 이 연구는 SA, SB와 SC의 일반약리작용을 각종 실험동물에서 검토함으로써 항암작용이외의 특이한 약리작용 및 부작용 유무를 확인하고, 나아가 이 약물의 전임상 기초자료를 제공하기 위하여 실시하였다.

SA, SB와 SC는 ICR마우스의 중추 및 말초신경계에 대한 작용에 있어서 진통작용, thiopental 수면시간, 체온, strychnine유발경련, 항염증작용, 국소마취작용등에 관하여 유의한 변화를 나타내지 않았다. 호흡 및 순환기계에 대한 작용으로 마취 환귀에서 저용량에서는 혈압변화가 없었고, 고용량의 정맥투여후 일시적인 혈압상승을 보였으나 빠른 시간내에 정상혈압으로 회복되었으며, 호흡 및 심전도에 있어서는 아무런 영향을 받지 않았다. 환귀의 적출심장에 별다른 변화가 없었으나 높은 농도에서 심장기능의 억제현상이 관찰 되었다.

소화계에 있어서 환귀의 장관수송능에 대하여 SA와 SC는 아무런 영향을 일으키지 않았으나, SA의 경우는 미약하기는 하나 궤양을 항진시키는 것으로 관찰되었고, 담즙분비에 대하여는 의미있는 영향을 미치지 않았다.

이상의 결과로 보아 새로운 항암성 백금(II)착체 SA, SB와 SC는 실험동물에 대한 일반약리작용에 있어서 별로 영향을 주지 않는 것으로 나타남으로써 임상적으로도 의미있는 특이한 약리작용을 일으키지 않을 것으로 생각되며 앞으로 새로운 항암성 백금착체의 개발에 기여 될 것으로

기대된다.

참고문헌

- Araki, S. and Ueki, S. (1972). Changes in sensitivity to convulsion in mice with olfactory bulb ablation. *Jap. J. Pharmacol.* **22**, 447-456.
- Baek, M. S., Rho, Y. S., Jung, J. C., Chang, S. G., Nomura, M. and Miyamoto, K. I. (1997). Antitumor activity and nephrotoxicity of a novel platinum complex, [1,3-bis(diphenylphosphino)propane](trans-1-dach)platinum(II) dinitrate. *Anticancer Research* **17**, 955-960.
- Bodenner, D. L., Dedon, P. C., Katz, J. C. and Borch, R. F. (1986). Selective protection against cis-diaminedichloroplatinum (II) induced toxicity in kidney, gut and bone marrow by diethyl-dithiocarbamate. *Cancer Res.* **46**(6), 2751.
- Brian, R., Ravi, J., Bhalla, B. and Mladek, J. (1980). Comparison of methods of evaluating nephrotoxicity of cis-platinum. *Clin. Pharmacol. Ther.* **27**, 557-562.
- Burchenal, J. H., Kalaher, K., O'Toole, T. and Chisholm, J. (1977). Lack of cross-resistance between certain platinum coordination compounds in mouse leukemia. *Cancer Res.* **37**, 455.
- Clear, M. J. and Hoeschele, J. D. (1973). Antitumor platinum compound: Relationship between structure and activity. *Platinum metals review* **17**, 2.
- Connors, T. A., Jones, M. and Ross, W. C. J. (1972). New platinum complexes with antitumor activity. *Chem. Biol. Interact.* **5**, 415.
- Courvoisier, S., Ducrot, R. and Julou, L. (1957). Nouveaux aspects experimentaux de l'activite centrale des derives de la phenothiazine. *Psychotic Drug*, Elsevier Pub. Co. Amsterdam.: 373-391.
- 高木敬次郎, 小澤光. (1969). *藥物學實驗法*, 東京, P.69.
- Dobyan, D. C., Levi, J., Jacobs, C. (1980). Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **213**(3), 551-556.
- Dunham, N. W., Miya, T. S. and Edwards, C. D. (1957). Pharmacological activity of a series of basic esters mono and-dialkyl malonic acid. *J. Am. Pharm. Assoc.* **46**: 208-209.
- Einhorn, L. H. and Donohue, J. (1977). Cis-diamminedichloroplatinum, vinblastine and bleomycin combination chemotherapy in disseminated testicular cancer. *Ann. Intern. Med.* **87**: 293.
- Ettinger, L. T., Gaynon, P. S. and Krailo, M. D. (1994). A phase II study of carboplatin in children with recurrent or progressive solid tumors. A report from the childrens group. *Cancer* **73**, 1297.
- Fields, K. K., Zorsky, P. E. and Hiemenz, J. W. (1994). Ifosfamide carboplatin and etoposide: a new regimen with a broad spectrum of activity. *J. Clin. Oncol.* **12**: 544.
- Glover, D., Glick, J. H. and Weiler, C. (1986). Phase I/II trials of WR-2721 and cis-platinum. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **12**(8): 1509-1512.
- Gonzales-Vitale, J. C., Hayes, D. M. and Sternberg, S. S. (1977). The renal pathology in clinical trial of cis-platinum. *Cancer* **39**: 1362-1371.
- Gottlieb, J. A. and Drewinko, B. (1975). Review of the current clinical status of platinum coordination complexes in cancer chemotherapy. *Cancer Chemother. Rep.* **59**, 621.
- Hardaker, W. T., Stone, R. A. and McCoy, R. (1974). Platinum toxicity. *Cancer* **34**, 1030.
- Hill, J. M., Loeb, E. and MacLellan, A. (1975). Clinical studies of platinum coordination compounds in the treatment of various malignant disease. *Cancer Chemother. Rep.* **59**, 647.
- Hortobagyi, G., Holmes, F., Frye, D., Hug, V. and Fraschini, G. (1987). "A phase II study of CHIP in metastatic breast cancer (MBC)." *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **28**, 788.
- Inagaki, K. and Kidani, Y. (1986). Differences in binding of (1,2-diaminocyclohexane) platinum (II) isomers with d (GPG). *Inorg. Chem.* **25**, 1.
- Jacobs, C., Kalman, S. M., Tretton, M. and Weiner, M. W. (1980). Renal handling of cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Treat. Rep.* **64**, 1223.
- Jeong, K. W., Lim, J. S., Chang, S. Y., Rho, Y. S. and Choi, B. K. (1995). General toxicity of novel Pt(II) complexes in vivo. *Korean J. Environ. Toxicol.* **10**(3~4).
- Jeong, K. W., Rho, Y. S. and Chang, S. Y. (1996). Study on the subacute toxicity of anticancer platinum complexes. *Korean J. Environ. Toxicol.* **11**(3~4), 1-10.
- Jones, M. M., Basinger, M. A., Craft, W. D., Domingo, J. L. and Liobet, J. M. (1986). Control of some aspects of cis-platinum nephrotoxicity. *Arch. Toxicol.* **59**(3), 167-171.
- Jones, B. R., Bhalla, R. B., Mladek, J. (1980). Comparison of methods of evaluating nephrotoxicity of cis-platinum. *Clin. Pharmacol. Ther.* **27**(4), 557-562.
- Jung, J. C., Chu, M. H., Chang, S. G., Lee, K. T. and Rho, Y. S. (1997). [PT(II)(cis-dach)(DPPE)] · 2NO₃ A novel class of platinum complex exhibiting selective cytotoxicity to human ovarian carcinoma cell-lines and normal kidney cells. *J. Appl. Pharmacol.* **5**, 125-132.
- Jung, J. C., Lee, M. H., Chang, S. G. and Rho, Y. S. (1995). Antitumor activity and nephrotoxicity of the novel platinum(II) complex. *Korean J. Pharmacol.* **31**, 1, 103.
- Jung, J. C., Yim, S. V., Park, S. J., Chang, J. H., Ko, K. C., Chang, S. G. and Rho, Y. S. (1996). *In vitro* antitumor activity and nephrotoxicity of the novel platinum(II) coordination complex containing cis-DACH/diphosphine. *The Korean J. Pharmacol* **32**, 93-102.
- Krakoff, I. H. (1979). Nephrotoxicity of cis-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Treat. Rep.* **53**, 1523.
- Kubo, M., Nishimura, M., Moriura, T. and Arichi, S. (1983). Studies of crude drugs about its origin, process and quality. I, The preventive effects of chinese crude drug on experimental stomach ulcer and its pharmacological evaluation(1) *YAKUGAKU ZASSHI* **103**, 442-448.
- Levi, J., Jacobs, C., Kalman, S. M., McTigue, M., Winler, M. W. (1980). Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity: I. Effects of sulfhydryl group in rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **213**(3), 545-550.
- Marina, N. M., Rodman, J. H. and Murry, D. J. (1994). Phase I study of escalating targeted doses of carboplatin combined

- with ifosfamide and etoposide in treatment of newly diagnosed pediatric solid tumor. *J Natl Cancer Inst* **89**, 544.
- Rho, Y. S., Lee, K. T., Jung, J. C. and Chang, S. G. (1996). In vitro cytotoxicity of Pt(II) complexes containing ethylenediamine in rabbit kidney proximal tubular and human renal cortical cells. *Yakhak Hoeji* **40**, 218-224.
- Rosenberg, B. (1973). Platinum coordination complexes in cancer chemotherapy. *Naturwissenschaften* **60**, 399-406.
- Rosenberg, B. (1975). Possible mechanism for the antitumor activity of platinum coordination complexes. *Cancer Chemother. Rep.* **59**, 589.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Trosko, J. E. and Mansour, V. H. (1969). Platinum compounds: A new class of potent antitumor agents. *Nature* **222**, 385.
- Shibata, M., Fujii, M. and Yagi, T. (1979). Pharmacological studies on the crude drug preparation "Kyumeigan" I: Antiinflammatory effects and influence on digestive organs. *YAKUGAKU ZASSHI*, **99**, 546-550.
- Soloway, M. S., Rose, D. and Weldon, T. (1974). Single and combination chemotherapy for primary murine bladder cancer. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 7.
- 田村 豊幸, 藤井彰. (1981). 薬理学実験法, 麻酔の薬理 pp. 153-174.
- Tashiro, T. (1988). 白金錯體の抗腫瘍活成と作用機序. 日本化学會誌 **4**, 684.
- Wallace, H. J., Higby, D. J. (1974). Phase I evaluation of cis-diamminedichloroplatinum and a combination of DDP plus adriamycin. In Connors TA, and Roberts JJ eds. *Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy*. Heidelberg: Springer-Verlag 167.
- Ward, J. M. and Fauvie, K. A. (1976). The nephrotoxic effects of cis-diamminedichloro-platinum(II) (NSC-119875) in male F344 rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **38**, 535.
- Ward, J. M., Young, D. M., Fauvie, K. A., Wolpert, M. K., Davis, R. and Guarino, A. M. (1976). Comparative nephrotoxicity of platinum cancer chemotherapeutic agent. *Cancer Chemother. Rep.* **60**, 1675.
- Welsch, C. W. (1971). Effects of cis-platinumdiaminedichloride -II on growth of 7, 12-dimethyl-benzanthracene (DMBA)-induced mammary tumors in female rats. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **12**, 25.
- Zhang, J. G., Zhang, L. F., Zhang, M. and Xia, Y. X. (1992). 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.
- Zhong, L. F., Zhang, M., Ma, S. L. and Xia, Y. X. (1990). Protection against cisplatin induced lipid peroxidation and kidney damage by procaine in rats. *Arch. Toxicol.* **64**, 599-600.