

## 1,2-디아미노프로판을 배위자로 한 백금(II) 착체의 선택적 세포독성

노영수<sup>‡</sup> · 이경태 · 장성구\* · 정지창\*

경희대학교 약학대학, \*의과대학

(Received June 29, 1998)

### Selective Cytotoxicity of New Platinum (II) Complex Containing 1,2-Diaminopropane

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

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

**Abstract**—As part of a drug discovery program to discover more effective platinum-based anticancer drugs, a series of platinum complexes of 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane(1,2-diaminopropane) platinum(II)dinitrate (KHPC-070) has been evaluated in vitro against various tumor cell lines and normal kidney cells. The structure of this new compound was determined by elemental analysis, infrared spectroscopy (IR) and <sup>13</sup>carbon nuclear magnetic resonance (NMR). With the use of nine tumor cell lines, KHPC-070 exhibited a comparable cytotoxic to cisplatin. The cytotoxicity of KHPC-070 in normal cells was quite less than that of cisplatin using 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) and [<sup>3</sup>H]-thymidine uptake tests in rabbit renal proximal tubular cells and human renal cortical cells. Based on these results, KHPC-070 is considered to have more selective cytotoxicity toward cancer cells than normal human/rabbit kidney cells.

**keywords** □ Platinum complex, cytotoxicity, thymidine uptake, proximal tubular cells, renal cortical cells.

현재 임상에서 사용되는 화학요법제 중에서 가장 효과가 높은 약제중의 하나인 cis-dichlorodiamminoplatinum(II)(cisplatin, CDDP)은 제1세대 백금착체로서 1964년 Rosenberg등<sup>1)</sup>에 의해 우연히 발견되었다. CDDP는 고환암, 난소암, 방광암, 전이된 호즈킨병과 악성 림프종, 갑상선암등에 사용되고 있으며 그 외에도 골육종, 식도암, 전립선암, 신경모세포종 등에서도 효과가 인정되고 있다.<sup>2-4)</sup> 이러한 탁월한 항암 작용에도 불구하고 신장, 소화기, 청각기 및 말초신경계등에 심한 독성을 야기시키며, 투여후 혈중단백질과의 높은 결합률로 생체이용률이 낮으며, 반복투여시 내성발현

등의 문제점을 안고 있다.<sup>5-7)</sup> 이러한 부작용 중에서도 가장 문제시되는 것은 신장독성인데, 신피질의 직접적인 독성과 원위세뇨관과 집합관에도 손상을 주나, 가장 심한 영향은 근위세뇨관의 괴사에 기인한 것으로 여겨지고 있다.<sup>8-10)</sup>

제 2세대 항암성 백금착체인 carboplatin등은 신장독성이 감소되고 생체내 이용률이 높으며 수용성의 증가등으로 CDDP의 단점을 보완하였으나 CDDP에 비해 상대적으로 항암 효과가 낮고 항암 범위가 좁으며 CDDP 내성암에 대하여 교차 내성을 갖는 단점을 가지고 있다.

저자들은 생체내에서 배위자 교환반응을 지연시키고, 표적부위에 물질의 도달비율을 높여 보다 강한 항암효과와 신독성이 낮은 항암성 백금착체를 개발하기 위하여

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

1,2-diaminopropane(DAP)을 carrier ligand로 하고 비교적 soft한 배위자로 알려져 있는 diphosphine으로서 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane(DPPE)를 leaving group으로 하는 백금착체를 합성하여 *in vitro*에서 P-388 백혈병 세포등 여러 암세포와 토끼 근위 세뇨관 정상 상피세포 및 인체 정상 신피질세포에 대한 세포 독성을 CDDP와 비교 검토하였다.

### 실험방법

**시험재료** - PtCl<sub>2</sub>, DAP와 DPPE는 Aldrich사의 특급 시약을 사용하였으며, DMEM, soybean trypsin, fetal bovine serum(FBS), penicillin G(100 IU/ml), streptomycin(100 g/ml), Ham's F<sub>12</sub> 및 RPMI 1640 배지는 Gibco BRL(Grand island, NY)사의 제품을 <sup>3</sup>H-Thymidine은 Dupont NEM products(Boston, MA)에서 구입 하였다. Insulin, transferrin 및 hydrocortisone, MTT, CDDP, transferrin 및 기타 시약은 Sigma(St Louis, MO)사의 제품을 사용하였다. P-388(mouse leukemia), N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>(rat hepatoma), MH<sub>1</sub>C<sub>1</sub>(rat hepatoma)은 미국의 National Cancer Institute에서 냉각상태로 공급받아 사용하였으며 PC-14(human pulmonary adenocarcinoma), PC-14/ADM(adriamycin-resistant human pulmonary adenocarcinoma), PC-14/CDDP(cisplatin-resistant human pulmonary adenocarcinoma), MKN-45(human gastric adenocarcinoma) MKN-45/ADM(adriamycin-resistant human gastric adenocarcinoma), MKN-45/CDDP(cisplatin-resistant human gastric adenocarcinoma)세포는 한국 원자력병원으로부터 공급받아 사용하였다.

**실험동물** - 실험에 사용한 동물은 체중 1.8~2.0 kg의 토끼를 사용하였다. 사료는 삼양유지 사료(株)의 고형사료로 사육하고, 충분한 물을 공급하면서 온도와 습도가 조절된 사육실에서 2주간 실험환경에 순응시킨 후 사용하였으며, 실험은 23±2°C에서 실시하였다.

### 백금(II)착체의 합성

**1,2-bis(diphenylphosphino) ethane dichloroplatinum (II) : [Pt(DPPE)Cl<sub>2</sub>]** - PtCl<sub>2</sub> 1 g(3.76 mmol)와 DPPE 1.50 g(3.76 mmol)를 chloroform 150 ml에 가하고 수욕에서 3시간 반응시킨 후 자연 여과하여 잔사는

앞의 조작을 5회 반복 실시하고, 여액은 40 ml 정도로 감압농축한 후 n-hexane 40 ml를 가하여 생성하는 백색침전을 3G4규격의 glass filter로 감압여과한 후 acetone으로 수회 세척하여 [Pt(DPPE)Cl<sub>2</sub>](M.W.664.5) 2.12 g(84.8%)를 얻었다.

**1,2-bis(diphenylphosphino) ethane dinitrateplatinum (II) : [Pt(DPPE)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]** - [Pt(DPPE)Cl<sub>2</sub>] 1 g(1.50 mmol)과 AgNO<sub>3</sub> 0.5 g(2.94 mmol)을 차광한 용기에 넣고, dichloromethane 100 ml와 ethanol 100 ml의 1:1 혼합액을 가한 후 4시간 교반반응 시켰다. 차광하에 자연여과하고 잔사를 제거한 후 여액을 감압농축하여 생성한 백색결정을 methanol로 재정제하여 [Pt(DPPE)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](M.W 717.6) 545 mg(51.2%)을 얻었다.

**1,2-bis(diphenylphosphino) ethane(1,2-diaminopropane) platinum(II)dinitrate : [Pt(DAP)(DPPE)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] · 2H<sub>2</sub>O** - [Pt(DPPP)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] 488 mg(0.68 mmol)과 DAP 0.68 mmol에 해당하는 양을 반응용기에 넣고 200 ml의 증류수를 가한 후 4시간 교반 반응시켰다. 자연 여과하여 잔사를 제거한 후에 여액을 감압농축하여 생성한 백색결정을 증류수로 재 정제하여 반응목적물 [Pt(DAP)(DPPE)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] 2H<sub>2</sub>O(M.W. 823.73) 125 mg(수득율 25.6%)을 얻었다.

**토끼의 근위세뇨관 상피세포의 배양** - Jung<sup>등</sup><sup>11)</sup>의 방법에 준하였으며 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 사구체만을 제거하였다. 그 직후 trypsin inhibitor와 collagenase(10 mg/ml)를 넣어 2분간 실온에서 배양한 후 insulin(5 μg/ml), transferrin(5 μg/ml) 및 hydrocortisone(5×10<sup>-8</sup> M)를 첨가한 DME/F<sub>12</sub> 배지에 부유시켜 일정량씩 배양접시에 접종하고, CO<sub>2</sub> incubator에서 37°C로 2주간 배양하였다.

**인체의 정상 신피질 세포의 배양** - Jung 등<sup>12)</sup>의 방법을 변형하여 실험하였다. 먼저, 신장암 절제수술을 받은 암환자로부터 신장을 적출 하여 정상조직부위를 취

하고, penicillin G 및 streptomycin을 함유하는 DME/F<sub>12</sub>(pH 7.4)배지로 수회 세척하여 준 다음, renal capsule을 제거하고 mess를 사용하여 신피질만을 얇게 잘라준 다음 무균 상태에서 균질화하여 일정량의 DME/F<sub>12</sub>(pH 7.4)에 부유시키었다. Trypsin inhibitor와 collagenase(10 mg/ml)를 0.2 ml씩 넣고 2분간 실온에서 배양한 후, insulin(5 µg/ml), transferrin(5 µg/ml) 및 hydrocortisone(5×10<sup>-8</sup> M), prostaglandin E<sub>1</sub>(5×10<sup>-8</sup> M), triiodothyrosine(5 g/ml) 및 1% FBS을 함유한 동일 배지에 부유시키어 배양접시에 접종하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 2주간 배양하였다.

**MTT assay** - 각각의 암세포를 각각 10<sup>6</sup> cell/ml농도로 희석하고, 합성한 백금(II)착체를 5 µM에서 500 µM농도로 조제하였다. 96 well titer plate에 세포 희석액 0.1 ml 및 각종 농도의 검체 0.1 ml을 가하고 48시간 동안 배양하였다. 배양액 속에 5 mg/ml농도의 MTT용액 50 µl씩을 가하여 4시간 배양한 후 상등액을 제거하고 DMSO 50 µl을 가하여 침전물을 용해시킨 다음 ELISA Reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**<sup>3</sup>H-Thymidine uptake assay** - 일차 배양하여 7일에서 10일이 경과된 토끼 신장의 근위 세뇨관 상피세포 및 인체의 정상 신피질세포를 24 well 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 동안 배양하고 trypsin처리하여 모은 세포를 10% trichloroacetic acid 및 인산완충용액으로 세척한 다음, 0.5 M-NaOH를 가하여 37°C에서 2시간 동안 용해시키고 0.5 M-HCl로 중화시킨 후 scintillation cocktail 10 ml이 함유된 scintillation vial에 0.1 ml씩 옮겨 β-counter로 측정하였다. 비교약물로는 CDDP를 사용하였으며 검체없이 동일한 조건으로 배양한 세포를 대조군으로 하여 100% thymidine섭취

율로 하였고, 각 검액에 따른 thymidine섭취율로 부터 세포의 생존율을 구하였다.

## 결 과

CDDP의 항암효과를 처음 발견한 후로 많은 금속 착체화합물들의 항암효과를 검색해오고 있으며 CDDP의 amine ligand의 성질을 변화시키거나 leaving group인 chloride를 대체하는 방법을 사용하여 여러 유도체들을 합성하였다. 본 논문에서는 새로운 백금(II) 착체 화합물의 구조를 확인하였으며 CDDP을 대조 약물로 사용하여 *in vitro*에서 세포독성을 MTT 및 <sup>3</sup>H-thymidine 방법을 사용하여 토끼 신장의 근위 세뇨관 상피세포 및 인체 정상 신장의 신 피질 세포에서 독성을 검토하였다.

**백금(II)착체의 합성** - PtCl<sub>2</sub>에 비교적 soft한 배위자로 알려져 있는 및 1, 2-bis(diphenylphosphino)ethane(DPPE)을 결합시킨 다음 수용성을 증가시킬 목적으로 Cl<sup>-</sup>부분을 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>기로 치환하여 {Pt(DPPE)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>}를 합성하였다. 여기에 carrier ligand로서 1, 2-diaminopropane(DAP)을 결합시켜 diamine류와 diphosphine류를 함유하는 혼합배위자로서 [Pt(DAP)(DPPE)]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>(KHPC-070)을 합성하였으며 원소분석치는 Table I에 나타내었다.

IR spectra의 중요한 관능기에 따른 흡수파수는 Table II에 표시하였다. [Pt(DAP)(DPPE)]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>는 phenyl기에서 유래되는 P-C의 흡수파수가 1435 cm<sup>-1</sup>에서, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>에서 유래되는 흡수파수는 1384 cm<sup>-1</sup>에 강하게 나타나고 있으며 그 외 NH<sub>2</sub>의 흡수파수는

**Table I**— Elemental analysis of KHPC-070

Compounds	Calculated			Found (%)		
	H	C	N	H	C	N
[Pt(DAP)(DPPE)] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	4.57	46.	6.74	4.34	43.	6.47

DAP: 1,2-diaminopropane, DPPE: 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane.

**Table II**— IR spectra of KHPC-070

Compounds	νNH <sub>2</sub>	νCH (phenyl)	αNH	νP-C (phenyl)	νNO <sub>3</sub>	Overtone/combination
[Pt(DAP)(DPPE)] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	3421, 3165	3060	1637	1436 (Vs)	1384 (Vs)	2363

DAP: 1,2-diaminopropane, DPPE: 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane.

**Table III**—<sup>13</sup>C-NMR spectra of KHPC-070

Compounds	Phenyl group			Bridging CH <sub>2</sub>		Diamine moiety	
	δC <sub>1</sub>	δC <sub>2,6</sub>	δC <sub>3,5</sub>	δC <sub>4</sub>	δC(CH <sub>2</sub> )	δC(P-CH)	δC(CH)
[Pt(DAP)(DPPE)] <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	a	133.0(t.)	129.6(t.)	134.2(s)		16.8(s)	54.6(s) 50.7(s)

DAP: 1,2-diaminopropane, DPPE: 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane. a: Resonance not observed, δ: ppm from TMS.

3421과 3165 cm<sup>-1</sup>, overtone/combination의 0-위치 치환 phenyl기는 2363 cm<sup>-1</sup>에서 확인할 수 있었다.

<sup>13</sup>C-NMR의 분석은 Table III에 나타난 바와 같이, [Pt(1,2-DAP)(DPPE)] 2NO<sub>3</sub>는 phenyl위에 C는 133.0, 129.6과 134.2 ppm의 peak에서, bridging CH<sub>2</sub>의 P와 결합된 2개의 탄소는 중복에 따라 16.8 ppm에서 확인되었으며 DAP의 C는 각각 54.6, 50.7 ppm에서 확인할 수 있었다. 이상의 결과들을 종합해 볼 때 DAP와 diphosphine류는 Pt(II)와 배위결합하여 질산염으로 존재하고 있음을 알 수 있었다.

**MTT에 의한 항암 활성 및 신독성** - 합성한 화합물의 여러 암세포 및 정상 토끼 신장세포 및 인체 신장세포에 대한 세포독성결과를 Table IV에 나타내었으며 대조물질로서는 CDDP를 사용하였다. 여러 암세포주에 대한 항암 활성은 CDDP와 유사하였으며 IC<sub>50</sub>는 17

μM~43 μM로서 세포주에 따른 예민성의 차이는 뚜렷하지 않았다. KHPC-070의 토끼근위세뇨관 상피세포에 대한 독성(IC<sub>50</sub>: 32.2 μM)은 비교 약물인 CDDP(IC<sub>50</sub>: 0.4 μM)와 비교해본 결과 현저히 낮은 독성을 나타내었으며 인체 정상 신장 신피질에 대해서는 새로운 화합물이 CDDP에 비해 약 2배정도 낮은 신독성이 관찰되었다.

**<sup>3</sup>H-Thymidine uptake assay에 의한 신독성** - 토끼 근위세뇨관 상피세포에 대하여 새로 합성한 백금(II)착체 화합물인 KHPC-070는 50 μM에서 thymidine 섭취율이 CDDP에 비해 유의하게 높은 것으로 관찰되었으며(Table V) CDDP보다 새로운 백금(II)착체에서의 세포 생존율이 현저하게 높았다.

인체의 정상 신피질세포에서도 CDDP에 비하여 섭취율이 현저하게 높은 것으로 나타나 새로운 백금(II)착체가 인체의 신피질세포에 대한 독성이 CDDP에 비

**Table IV**—Sensitivity of cultured cells to cisplatin and KHPC-070

Cell lines	IC <sub>50</sub> (μM)	
	CDDP	KHPC-070
P-388	17.6±1.6	19.3±1.5
N <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	23.4±2.3	31.6±2.8
MH <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	24.4±2.7	24.9±2.3
PC-14	28.8±3.1	27.6±2.2
PC-14/ADM	24.9±2.6	26.6±2.3
PC-14/CDDP	42.9±3.2	31.5±2.9
MKN-45	22.1±2.3	26.0±1.8
MKN-45/ADM	24.0±2.2	31.3±2.5
MKN-45/CDDP	43.3±3.9	27.8±3.2
Rabbit kidney	0.4±0.02	32.2±2.9
Human kidney	8.5±0.9	17.4±1.0

\* IC<sub>50</sub>: Mean inhibitory concentration. Results are the mean±S.D of three independent experiments performed with MTT assay

\*\* Cells: P-388(mouse leukemia), N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>(rat hepatoma), MH<sub>1</sub>C<sub>1</sub>(rat hepatoma), PC-14(human pulmonary), MKN-45 (human gastric), PC-14/ADM (adriamycin-resistant human pulmonary), PC-14/CDDP(cisplatin-resistant human pulmonary), MKN-45/ADM (adriamycin-resistant human gastric), MKN-45/CDP (cisplatin-resistant human gastric), rabbit kidney (proximal tubular), human kidney(cortical).

**Table V**—Effect of Pt(II)complexes on <sup>3</sup>H-Thymidine incorporation into primary cultured proximal tubular cells of rabbit kidney

Group	<sup>3</sup> H-Thymidine uptake	Uptake rate (%)
Control	598.3±75.15	100.0
Cisplatin	9.0±3.46	1.5
KHPC-070	268.0±25.93	44.8

Concentration of Pt(II)complexes in culture medium: 5×10<sup>-5</sup>M. Values are means±S.E. and the data were determined in triplicate.

**Table VI**—Effect of Pt(II)complexes on <sup>3</sup>H-Thymidine incorporation into primary cultured renal cortical cells of human kidney

Group	<sup>3</sup> H-Thymidine uptake (cpm/10 <sup>5</sup> cells)	Uptake rate (%)
Control	621.33±56.01	100.0
Cisplatin	8.7±5.14	1.4
KHPC-070	281.3±62.69	45.3

Concentration of Pt(II)complexes in culture medium: 5×10<sup>-5</sup> M. Values are means±S.E. and the data were determined in triplicate.

하여 유의있게 낮았다(Table VI).

## 고 찰

백금착체의 항암활성과 항암 spectrum을 결정짓는 carrier ligand는 DAP를, 수용성 및 안정성에 관여하는 leaving group으로서는 DPPE를 사용하여 수용성인 혼합배위자 백금(II)착체를 합성하였다. 일반적으로 백금(II)착체는 생체내에서 투여하면 세포막을 통과한 후 carrier ligand가 가수분해를 받아 platinum과 carrier ligand 부위가 DNA의 복제를 억제하여 세포독성을 일으키게 된다. 따라서 백금(II)착체의 항암활성은 carrier ligand와 leaving group을 변화시킴에 따라 항암활성 및 안정성에 큰 영향을 주게 된다.<sup>13)</sup>

CDDP는 세포안의 DNA염기 외에 -SH기를 가지는 metallothionein과 같은 정상단백질과도 쉽게 결합할 수 있는데<sup>14-15)</sup> 이와같은 작용은 항암활성과는 관계없이 독성만을 나타내는 것으로 알려져 있다. 따라서, carrier ligand의 이탈능력이 너무 적은 경우에는 항암효과를 발휘하지 못하며 반대로 너무 큰 경우에는 백금착체의 항암효과 target site인 DNA와 결합하기 전에 다른 정상단백질과 결합하여 독성만을 초래할 것이다. 합성된 백금(II)착체의 항암활성을 조사하기 위하여 여러 암세포를 사용하여 세포독성을 조사한 결과 Table IV에 나타난바와 같이 P-388 leukemia, rat hepatoma cell인  $N_1S_1$ 과  $MH_1C_1$ 세포에서 거의 비슷한 세포독성을 나타내었다. Human pulmonary adenocarcinoma 세포인 PC-14와 human gastric adenocarcinoma 세포인 MKN-45의 wild type 세포에서는 CDDP의  $IC_{50}$ 가 28.8, 22.1  $\mu M$ 인 반면 KHPC-070은 27.6 및 26  $\mu M$ 로서 거의 유사하였으며 CDDP 내성세포인 PC-14/CDDP와 MKN-45/CDDP에서 CDDP과 KHPC-070의  $IC_{50}$ 는 각각 42.9  $\mu M$ , 24  $\mu M$ 과 31.5  $\mu M$ , 27.8  $\mu M$ 로서 역시 비슷한 세포독성을 나타내었다.

CDDP에 대한 내성발현 및 활성저하의 원인으로는 세포 내로의 약물의 도입이 저하되어 세포내의 약물의 축적률이 감소되고 결국 항암활성이 저하되기도 하며, CDDP 자체에 의한 세포내의 glutathione 혹은 GST (glutathione-S-transferase)의 활성증가로 약물의 체외배설률이 증가와 metallothionein의 유도에 의한 CDDP 내성발현에 의한 항암활성의 저하등으로 알려

져 있다.<sup>16)</sup> 따라서 백금착화합물의 목적부위인 DNA와 백금의 결합능력의 저하, 혹은 증가된 DNA-repair 효소로 인해 intrastrand adduct가 증가되고 결국 Pt-DNA adduct 저하도 그 내성발현에 깊은 연관이 있는 것으로 추정되어지고 있다. 그러나 adriamycin resistant 세포인 MKN-45/ADR에서는 CDDP이 43.3  $\mu M$ 인데 반하여 KHPC-070은 31.3  $\mu M$ 로서 다소 강한 세포독성을 확인하였다.

CDDP의 가장 큰 문제점으로 지적되어오고 있는 신장독성은 근위세뇨관 상피세포의 괴사에 그 원인이 있는 것으로 추측되어지고 있다. 따라서 일차 배양된 토끼 근위세뇨관 정상 상피세포와 인체 정상 신피질세포에 대한 새로운 백금착체(KHPC-070)의 세포독성을 MTT 분석에 의한  $IC_{50}(\mu M)$  및  $^3H$ -thymidine uptake(%)로서 검토하였으며 토끼 근위세뇨관 상피세포에서 CDDP는 0.4  $\mu M$ , 1.4%에 비하여 KHPC-070은 32.2  $\mu M$ , 44.8% 그리고 인체정상 신장세포에서 CDDP는 8.5  $\mu M$ , 1.4%인 반면 새로운 화합물은 17.4  $\mu M$ , 45.3%로서 현저히 낮은 신장세포 독성을 나타내었다.

## 결 론

Carrier ligand로서 DAP를 leaving group으로 DPPE를 결합시켜 수용성 혼합배위자 백금착체인  $[Pt(II)(DAP)(DPPE)]_2NO_3$ 을 합성하여 MTT-assay에 의한 P-388 leukemia,  $N_1S_1$  rat hepatoma, PC-14 pulmonary adenocarcinoma 그리고 MKN-45 gastric adenocarcinoma 등 암세포들에 대한 각각의 세포독성을 조사하고, 토끼의 근위세뇨관 상피 정상세포와 인체의 신피질 정상세포에 대한 세포독성과  $^3H$ -thymidine uptake 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 새로 합성한 백금(II)착화합물인  $[Pt(II)(DAP)(DPPE)]_2NO_3$ (KHPC-070)은 원소 분석, IR spectra 및  $^{13}C$ -NMR 분석을 통해 확인하였다.
2. KHPC-070은 P-388,  $N_1S_1$  및  $MH_1C_1$ 세포에 대하여 대조 약물인 CDDP와 대등한 세포독성을 나타내었다.
3. KHPC-070은 PC-14 및 MKN-45 wild type과 adriamycin 내성 세포에 대하여 CDDP와 비슷한 세포독성을 보였으나, CDDP 내성 PC-14과 MKN-45 세포주에 대하여는 CDDP보다 강한 활성을 나타내었다.

4. KHPC-070의 토끼근위세뇨관 상피 정상세포와 인체 신피질 정상세포에 대한 세포독성은 대조약물인 CDDP에 비하여 현저히 적었다.

이상의 결과에서 DAP와 DPPE를 배위자로 하는 백금(II)착체는 CDDP과 비슷하거나 CDDP 내성세포에서는 보다 강한 세포독성을 보인 반면 토끼와 인체의 신피질 세포에 대한 신독성은 CDDP에 비하여 현저히 저하되어 새로운 백금(II)착체인 KHPC-070은 앞으로 *in vivo* 항암 활성실험등 다각적인 검토가 필요한 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 1998년도 경희대학교 교수 연구비 및 보건복지부 연구비지원으로 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

### 문헌

- 1) 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).
- 2) 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).
- 3) 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).
- 4) Connors, T. A. "Antitumor effects of platinum complexes in experimental animals In." Connors T. A., Roberts J. J., 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 Kradof, I. H. f. : 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) 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).
- 9) Ward, J. M., Young, D. M., Fauvie, D. M., Wolpert, M. K., Davis, R. and Guarino, A. M. : Comparative nephrotoxicity of platinum cancer chemotherapeutic agent. *Cancer Chemother. Rep.*, **60**, 1975 (1976).
- 10) Leonard, B. J., Eccleston, E. and Jones, D. : Antileukemic and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature*, **234**, 43 (1971).
- 11) Jung, J. C., Lee, S. M., Kadakia, N. and Taub, M. : Growth and function of primary rabbit kidney proximal tubule cells in glucose and glucose-free medium. *J. Cell Biol.*, **150**, 243 (1992).
- 12) Rho, Y. S., Lee, K. T., Chung, J. C. and Chang, S. G. : *In vitro* cytotoxicity of Pt(II) complexes containing ethylenediamine in rabbit kidney proximal tubular and human renal cortical cells. *Yakhak Hoeji* **40**, 218 (1996).
- 13) 손연수 : 백금착물 항암제의 개발현황, 화학세계, **36**, 16 (1996).
- 14) Odenheimer, B. and Wolf, W. : Reactions of cisplatin with sulfur containing amino acids and peptides(I) : Cytosine and glutathione. *Inorg. Chem. Acta.*, **41**, 66 (1982).
- 15) Appleton, T. G., Cocors, J. W., Hall, J. R. and Prenzler, P. D. : NMR study of the reactions of the cis-diaminedichloroplatinum(II) cation with glutathione and amino acids containing a thiol group. *Inorg. Chem.*, **28**, 2030 (1989).
- 16) Alden, M. W. and Repta, A. J. : Exacerbation of cisplatin-induced nephrotoxicity by methionine. *Chem. Biol. Interact.*, **48**, 121 (1984).