

[연구논문]

## 백금항암제 Cisplatin의 신장독성에 대한 Aspalactone의 경감작용

정 세 영

경희대학교 약학대학

### Ameliorating Activity of Aspalactone on Cisplatin Induced Nephrotoxicity

Se Young Choung

*Department of Hygienic chemistry, college of Pharmacy, Kyung Hee University*

#### ABSTRACT

Cisplatin is an inorganic complex formed by a central atom of platinum surrounded by chlorine and ammonia atoms in the cis position in the horizontal plane. Cisplatin is one of the most effective anticancer drug, widely used against various tumor such as testicular tumor, brain tumor, ovary tumor, bladder carcinoma, colon cancer etc. However its clinical use has been limited by nephrotoxicity, ototoxicity, gastrointestinal disturbances, myelosuppression and allergic reactions. In these toxicities, dose related and cumulative nephrotoxicity is the major dose limit factor. So, to evaluate the protective effect of aspalactone on cisplatin nephrotoxicity in rats, both compounds were given intraperitoneally. Protective effects of aspalactone against nephrotoxicity of cisplatin were observed when aspalactone was administered to rats 1hr before cisplatin injection. Hepatotoxicity induced by combination treatment of cisplatin and aspalactone was not observed. The present results indicate that aspalactone may provide protection against cisplatin nephrotoxicity, when it is given 1hr before cisplatin injection.

#### 서 론

Cisplatin은 탁월한 항암효과에도 불구하고 신독성(급성신부전), 이독성(이명, 청력소실), 위장관 독성(오심, 구토), 골수독성(백혈구감소증, 혈소판감소증, 빈혈), 알러지(습진, 피부염) 등의 독성이 보고되었으며, 특히 그 신독성이 매우 강하여 고용량, 장기간 투여시는 생명을 잃는 경우도 있어 그 임상적인 사용에 제한을 받고 있

다.<sup>1)-9)</sup>

Cisplatin의 특이적 신장독성 증상은 acute tubular necrosis, BUN과 creatinine의 증가, proteinuria, hyperuricemia, enzymuria, creatinine clearance의 저하, urinary N-acetylglucosaminidase, leucine aminopeptidase, alanine aminopeptidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta_2$ -microglobulin의 혈중수치상승, electrolyte disturbance, renal tubular reabsorption의 약화, hypomagnesemia, distal tubule과 collecting

duct에서의 현저한 epithelial atypia, convoluted tubule의 확장, cast의 형성 등이 있다.<sup>10)-13)</sup>

인삼의 항산화 성분연구에서 maltol, salicylic acid, vanillic acid, caffeic acid 및 ferullic acid가 그 유효성분임을 밝혔고 동시에 이들 성분은 항피로효과의 유효성분임을 밝혔다. 이들 성분들중 maltol은  $Fe^{+3}$ 과 강력히 chelation하는 mechanism에 의하여 항산화활성을 발휘함으로써 다른 phenol성 항산화활성 물질과는 작용기전이 전혀 다를 뿐만 아니라 flavonoid 등 각종 phenol성 항산화활성 물질들이 일반적으로 갖고 있는 prooxidant activity를 maltol의 경우에는 갖고 있지 않아서 인삼의 약리작용을 설명하는데 매우 유용한 항산화활성물질임이 알려져 있다.

Aspalactone은 이러한 항산화물질인 maltol과 혈소판 cyclooxygenase 효소를 비가역적으로 아세틸화하여 thromboxane의 생성을 억제하는 aspirin을 에스테르화 시킨 것이다.

Aspalactone은 위장관에 대한 부작용이 적고, cyclooxygenase 저해하여 우수한 말초순환 개선 효과를 나타내며 aspirin보다 독성은 적고 그 효과는 동등하다.

본 연구에서는 aspalactone 내의 maltol 구조에 의한 항산화작용과 aspirin 구조에 의한 항염증작용에 따른 cisplatin 유발 신장독성의 경감효과를 보고자 하였으며, 좋은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

본 실험에 사용된 female SD rat은 식품의약품안전청 독성연구소에서 분양 받은 체중이 200g 전후인 것을 사용하였다. 사료는 고품사료(삼양사)를 사용하였고 사료의 조성은 조단백 21%, 조지방 3.5%, 조셀룰로오스 5.0%, 무기질 8.0% 등이었다. 급수는 일반 상수도를 사용하였으며, 사료와 급수는 제한하지 않았다.

### 2. 동물처치

Aspalactone을 용량별(cisplatin과 molar ratio 1:1, 1:5)로 1시간 전에 복강 투여하였다. Aspalactone을 cisplatin과의 molar ratio 1:1,

1:5로 2회 연속 전투여(i.p) 또는 후투여(i.p) 하였다.

### 3. 혈청분리

Cisplatin 투여 후 4일째 되는 날에 diethyl ether로 가볍게 마취시킨 뒤 심장채혈하여 혈액을 채취한 후 실온에서 30분간 방치하였다. 방치시킨 혈액을 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액인 혈청을 분리하였다.

### 4. Creatinine 측정

영동제약의 creatinine 측정용 kit를 사용하였다. 혈청 0.1 ml을 picrate 시약 3.0 ml을 넣고 37°C에서 20분간 배양한 후 맹검을 대조로 하여 검체 및 표준의 흡광도를 515 nm에서 측정한 후, acid 시약 2방울을 가하여 37°C에서 5분간 배양시킨 후 맹검을 대조로 하여 515 nm에서 검체의 흡광도를 측정하였다.

### 5. BUN 측정

영동제약의 BUN 측정용 kit를 사용하였다.

Urease 0.1 ml을 완충액 20 ml에 섞어 만든 효소완충액 2개에 각각 혈청과 기준액(60 mg/100 ml Urea-N) 0.02 ml을 넣고 37°C에서 15분간 배양한 후 발색액을 각각 2 ml씩 넣고 37°C에서 5분간 배양하였다. 570 nm에서 흡광도를 측정한 후 BUN의 양을 구하였다.

### 6. sGPT 측정

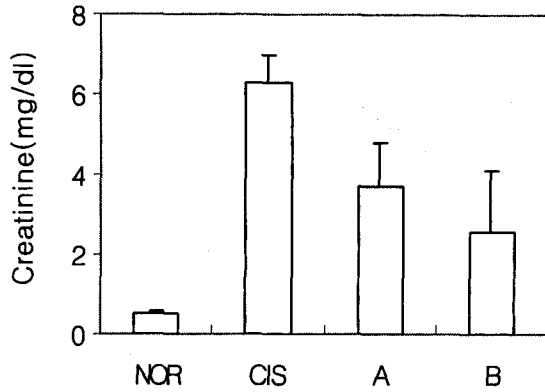
영동제약의 sGPT 측정용 kit를 사용하였다.

GPT 기질용액 1 ml을 취해 37°C에서 3분간 배양한 후 혈청 0.2 ml을 취하여 혼합하고 37°C에서 30분간 배양하였다. 여기에 2, 4-dinitrophenylhydrazine 1 ml을 가하고 상온에서 20분간 방치후 0.4 N-NaOH 10 ml을 가하고 진탕후 505 nm에서 UV 흡광도를 측정하였다.

## 결 과

### 1. Aspalactone 투여 용량변화에 따른 독성경감 효과

Aspalactone의 투여용량을 달리하여 cisplatin 5.8 mg/kg 투여 1시간 전투여 했을 때의 신장 독



● Fig. 1. Inhibitory effect of aspalactone on nephrotoxicity of cisplatin.

Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone  
 A: Cisplatin : Aspalactone=1 : 1 (molar ratio)  
 B: Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)

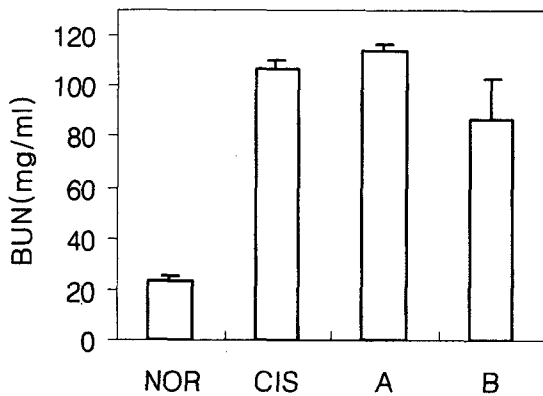


Fig. 2. Inhibitory effect of aspalactone on nephrotoxicity of cisplatin.

Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone  
 A: Cisplatin : Aspalactone=1 : 1 (molar ratio)  
 B: Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)

성 지표인 creatinine level 변화를 보았다(Fig. 1). Cisplatin과 aspalactone의 몰비가 1 : 1인 것은 약간 감소하고 1 : 5인 것은 25% 정도 감소되었다. 또 다른 신장 독성 지표인 BUN level은 1 : 1, 1 : 5 모두 약간 감소되었다(Fig. 2).

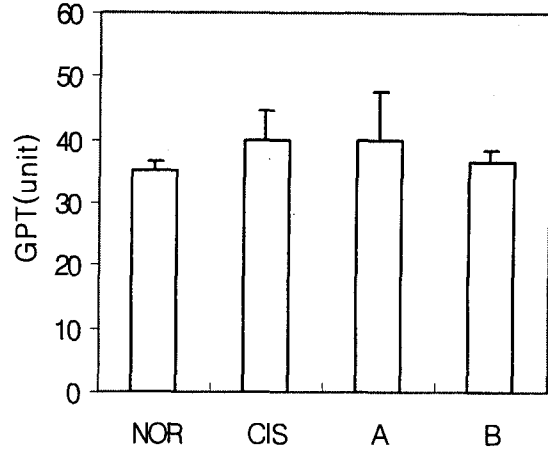


Fig. 3. Inhibitory effect of aspalactone on hepatotoxicity of cisplatin.

Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone  
 A: Cisplatin : Aspalactone=1 : 1 (molar ratio)  
 B: Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)

신장독성억제를 위해 cisplatin과 combination treatment한 aspalactone 투여 용량 증가에 따른 간독성 유발여부를 보기 위해 간독성의 임상지표인 sGPT level을 측정했다(Fig. 3). 간독성이 1 : 1, 1 : 5 모두 50% 정도 감소되었다. 이러한 결과로 보아 신장독성, 간독성 모두 억제 효과를 보였다.

## 2. Aspalactone 반복투여에 의한 신장독성 억제 효과

1시간 전투여에 효과가 있었던 aspalactone을 molar ratio로 1 : 1, 1 : 5로 2일 반복 투여하였다.

첫 번째 군은 aspalactone을 1 : 1 molar ratio로, 두 번째 군은 1 : 5 molar ratio로 cisplatin투여 3일 전 부터 2일 동안 투여하였다.

이렇게 해서 creatinine level을 측정한 결과, 첫 번째 군은 거의 신장독성이 감소되지 않았고 두 번째 군은 미미한 감소를 보였다(Fig. 4).

BUN level의 경우, 두 군 모두 약간의 감소만 나타냈다(Fig. 5).

간독성의 지표인 sGPT level의 경우 두 군 모

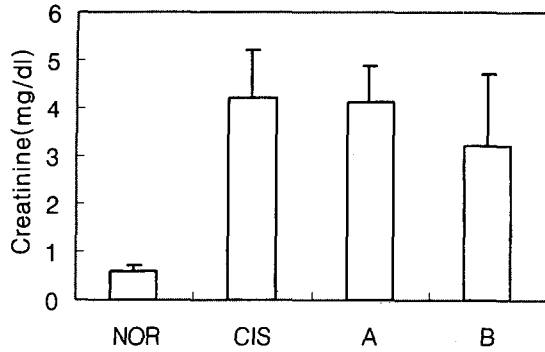


Fig. 4. Inhibitory effect of aspalactone on nephrotoxicity of cisplatin.

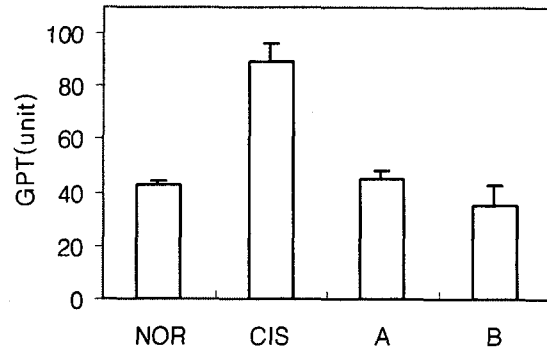
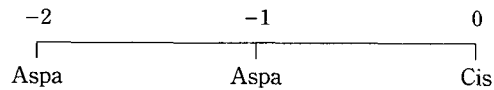
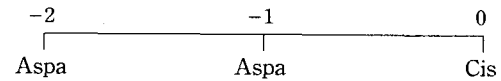


Fig. 6. Inhibitory effect of aspalactone on hepatotoxicity of cisplatin.



Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone Aspa: aspalactone  
 A: Cisplatin : Aspalactone=1 : 1 (molar ratio)  
 B: Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)



Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone Aspa: aspalactone  
 A: Cisplatin : Aspalactone=1 : 1 (molar ratio)  
 B: Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)

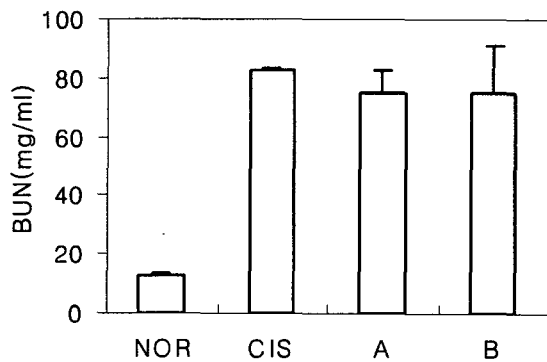
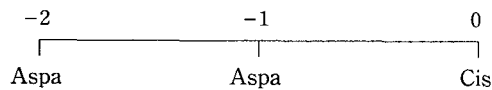


Fig. 5. Inhibitory effect of aspalactone on nephrotoxicity of cisplatin.



Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone Aspa: aspalactone  
 A: Cisplatin : Aspalactone=1 : 1 (molar ratio)  
 B: Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)

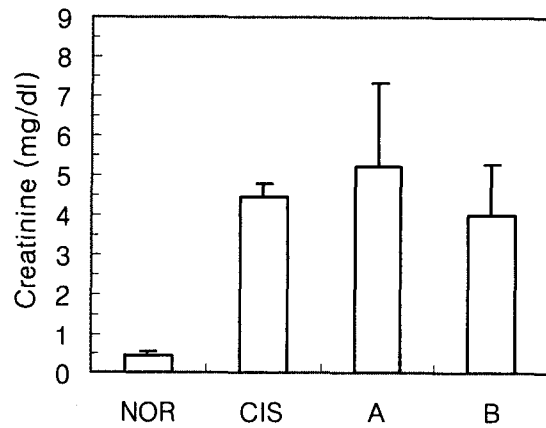
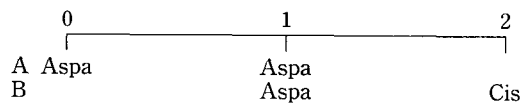


Fig. 7. Inhibitory effect of aspalactone on nephrotoxicity of cisplatin.



Data are given as means±SD (n=5)  
 NOR: Normal CIS: cisplatin alone Aspa: aspalactone  
 Cisplatin : Aspalactone=1 : 5 (molar ratio)



독성억제효과가 좋았으며, 연속투여시 보다는 단독 투여시 더 좋은 효과를 나타냈다. 이것은 aspalactone이 분해하여 maltol과 aspirin을 생성되는 데 이중 aspirin이 신장으로 이동하여 점막 손상을 일으킬 가능성이 있기 때문으로 생각된다.

Aspalactone 연속 투여시 sGPT level이 단독 투여시 보다 많은 감소를 보였는데 이것은 간에서의 분해에 의해 생성된 maltol이 간보호효과를 나타내고 있을 가능성을 보이는 것이며 실제 maltol의 간보호 효과에 대해 이미 보고된 문헌도 있다.

따라서 앞으로는 cisplatin의 항암효과를 그대로 유지시키면서 간독성, 신장독성을 가장 효과적으로 억제시킬 수 있는 용량 결정과 투여방법 결정에 중점을 두어 연구해 나가야 할 것이다.

## 결 론

Cisplatin의 신장독성 억제제 개발을 위하여 aspalactone을 사용하여 cisplatin의 신장독성 감소효과를 보았으며 또한 간장독성 유발여부를 관찰해 보았다.

실험결과를 종합해 보면 다음과 같다.

1. Aspalactone을 투여 용량을 달리하여 1회 전투여한 결과 cisplatin과 molar ratio 1:5에서 cisplatin의 신장독성을 크게 감소시켰다.

2. Aspalactone을 2회 반복 투여한 경우에는 1회 투여시보다 cisplatin의 신장독성에 대한 억제효과가 작았다.

3. Aspalactone을 2회 반복 투여한 경우에는 1회 투여시보다 간독성을 많이 억제시켰다.

4. Aspalactone의 투여시기를 달리하여 본 결과 후투여보다 전투여가 효과가 더 좋은 것으로 판명되었다.

이상의 결과로부터 aspalactone의 신장독성 억제효과가 좋았으며, aspalactone의 경우 cisplatin보다 전투여했을 때 신장독성을 감소시키는 것으로 나타났다. 간독성은 한번 투여한 경우보다 반복 투여한 경우에 많이 감소되는 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

1. Lippard J.S., New chemistry of an old molecule: Cis-[Pt(NH<sub>3</sub>)Cl<sub>2</sub>]. *Science.*, 218, 1076-1082 (1982)
2. Rosenberg M., Von Hoff D.D., Slavik M., and Muggia M.F., Cis-diamminedichloroplatinum: A new anticancer drug. *Ann. Int. Med.*, 86, 803-812 (1977)
3. Samuels M.L., Holoye P.Y., Johnson D.E., Bleomycin combination chemotherapy in the management of testicular neoplasia. *Cancer.*, 36, 318-356 (1975)
4. Yagoda A, Watson R.C. and Whitmore W.F., Adriamycin in advanced urinary tract cancer: Experience in 42 patients and review of the literature. *Cancer*, 39, 279-286 (1977)
5. Wittes R.E., Brescia F. and Young C.W., Combination chemotherapy with cis-diamminedichloroplatinum (II) and bleomycin in tumors of the head and neck. *Oncology.*, 32, 202-207 (1975)
6. Ellerby R.A., Davis H.L.Jr. and Ansifield F.J., Phase I clinical trial of combined therapy with 5-FU and cis-platinum (II) diamminedichloride. *Cancer*, 34, 1005-1010 (1974)
7. Kamalakar P, Wang J.J. and Higby D., Clinical experience with cis-DDP in children. *Proc. Am. Assoc. Cancer. Res./Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 17, 283 (1976)
8. Piel I.J., Meyer D., Perlia C.P., Effect of cis-diamminedichloroplatinum on hearing function in man. *Cancer Chemotherapy Rep.*, 58, 871-875 (1974)
9. Lippman A.J., Helson C., Helson L., Clinical trials of cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Chemother. Rep.*, 57, 191-200 (1973)
10. Robin S.G., Gilbert H.M., The nephrotoxicity of cisplatin. *Life science.*, 32, 685-690 (1983)
11. Walker E.M., Gale G.R., Methods of reduction of cisplatin. *Life science.*, 32, 685-690 (1983)
12. Robert S., Peter M. and Joseph B.G., Uptake and metabolism of cisplatin by rat kidney, Mechanism of cisplatin nephrotoxicity, Morphologic observations. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 213, 551-556 (1980)

13. David D.C., Daniel S.L. and Anthony A., rats. *Lab. Kid.*, 44, 397-402 (1981)  
Acute and chronic cisplatin nephropathy in