

혈중 Ethanol 및 Acetaldehyde의 농도에 미치는 Malotilate의 영향

허인회 · 이상준 · 주왕기* · 허문영* · 김형춘** · 송계용**
중앙대학교 약학대학 · *강원대학교 약학과 · **중앙대학교 의과대학 병리학교실

(Received August 21, 1987)

Effects of Malotilate on Levels of Ethanol and Acetaldehyde in Blood.

In Hoi Hur, Sang Jun Lee, Wang Kee Jhoo*, Moon Young Heo*,
Hyung Chun Kim** and Ke Yong Song**.

College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 150,

**Department of Pharmacy, Kang Won National University, Chun Chon 200 and*

***Department of Pathology, College of Medicine, Chung Ang University, Seoul 150, Korea.*

Abstract—A gas chromatographic utilizing procedure headspace gas analysis is performed to study effect of malotilate on levels of ethanol and its metabolite acetaldehyde in a blood sample from the rat. The concentrations of ethanol and acetaldehyde were determined simultaneously at 1, 3, and 6h after ethanol administration. Our results would suggest the malotilate could promote clearances of ethanol and acetaldehyde in blood, and could accelerate it, especially, in CCl₄ pretreated rats.

Malotilate는 항균제인 isoprothiolane의 안전성 연구 과정에서 간세포 재생 작용을 나타낸 것이 동기가 되어 개발된 약물이다.¹⁾

실험동물에서 malotilate는 CCl₄, ethionine, galactosamine 등으로 인한 간손상에 탁월한 효과가 보고되어 왔다.²⁻⁵⁾ 그러나, 더욱 유효하고 안전성이 높은 임상응용을 위해서는 보다 광범위한 간독성 물질에 적용시키는 것이 요망될 것이다.

Alcohol 남용은 사람의 간손상에 상당한 원인을 차지한다. Alcohol의 대사경로는 주로 alcohol dehydrogenase에 의하여 그 첫대사물인 acetaldehyde는 간기능을 비롯한 심혈관계, 중추 신경계, monoamine유리 및 대사 등에 모두 높은 활성을 나타낸다.⁶⁾

그러나, alcohol중독에 미치는 malotilate의 역할에 관해서는 몇몇 보문을 제외하고는 거의 보고된 바 없었다. 따라서, 저자 등은 그 기본연구로서 혈중 ethanol 및 acetaldehyde 농도에 미치는 malotilate의 작용을 조사하였다.

실 험 방 법

실험동물—동일조건에서 사육한 140~150g의 Sprague-Dawley 쥐를 실험시작전 2주일간 적응시키고 실험에 사용했다.

시약 및 기기—Malotilate순품(삼성제약), absolute alcohol(Fluka, Switzerland), carbon tetrachloride(Wako pure chem Co., Japan), olive oil(Hayashi pure Co., Japan), heparin 및 sodium azide(Sigma Chem Co., USA) 등의 시약과 그의 일반시약들은 시중의 특급을 사용하였고, gas chromatography system(Perkin Elmer), high speed refrigerated centrifuge(Beckman J 2-21) 등의 기기를 사용하였다.

실험군 전처리—50% ethanol(4g/kg, p.o) 용액이 투여되었고, 그 6시간 전에 5%-CMC 용액에 녹인 malotilate(300mg/kg, p.o)를 투여하였다. CCl₄(1일 1.5ml/kg, s.c)는 4일간 투여하고 최종 투여 72시간 후에 ethanol을 투여하였고, 전 실

혈동물은 ethanol 투여 24시간 전부터 결식시켰으며, ethanol 투여 6시간 후에 희생시켰다.

혈중 ethanol과 acetaldehyde 동시정량—

$-6\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 심장에서 채혈한 혈액을 미리 냉동시킨 heparin 처리병에 옮겨 Mendenhall⁷⁾ 등과 Steenaart⁸⁾ 등의 방법을 일부 수정하여 4°C 이하에서 정량하였다. 즉, heparin 처리혈액 1.0ml에 thiourea 0.1ml, isopropanol 0.25ml, perchloric acid(34.0mg/ml) 및 sodium azide(65.0 μg /ml) 혼액 8.65ml을 가해 5초간 Vol-tex mixer로 진탕 후 $4^\circ\text{C}\times 10000\text{g}$ 에서 5분간 원심분리후 상등액 2.0ml을 15.0ml vial에 넣고, silicone rubber septum으로 압착밀봉시키고 65°C 에서 30분간 가열후 head space gas 1.0ml를 gas tight syringe를 이용하여 column에 주입하였다. Gas chromatography조건은, ① column : Porapak Q(100~200 mesh)가 충전된 glass column, ② carrier gas : nitrogen(40ml/min), ③ detector : Flame-irradiated detector이다.

실험결과 및 고찰

본 실험에서는 제단백시에 비효소성 산화반응으로 인한 부수적인 acetaldehyde의 생성을 Eriksson 등⁹⁾의 방법에 따라 sodium azide를 추가하므로써 최소화 하려 하였다. 검량선은 각각 ethanol, acetaldehyde와 isopropanol과의 비를 구하여 작성하였다. 즉, ethanol, $y=0.1757+1.2027x$, $r=0.99$; acetaldehyde, $y=-0.0471+0.5194x$, $r=0.96$ 으로 나타났다. 전 실험군에 대한 혈중 ethanol 및 acetaldehyde의 gas chromatogram은 Fig 1과 같고, ethanol 투여후 ethanol 및 acetaldehyde의 혈중농도 변화는 Table I.과 같다. 혈중 ethanol의 경우, malotilate가 처리되므로써, ethanol투여 1시간 후에 유의성있는 감소($6.35\pm 0.83\text{mg/ml}$ 에서 $3.03\pm 0.56\text{mg/ml}$; $p<0.05$)를 보였고, 3시간 후에는 상승경향이었으나, 6시간 후에는 다시 감소추세를 나타내었다. 또한, malotilate는 CCl_4 전 처리시에도 ethanol투여 1시간 후에 유의하게 감소($6.88\pm 2.53\text{mg/ml}$ 에서 $1.70\pm 0.3\text{mg/ml}$; $p<0.05$)시키며, 3시간 후에도 감



Fig. 1—Head-space gas chromatogram of rat blood after extraction with thiourea, perchloric acid and sodium azide. Coiled glass column 1.8 \times 2mm I.D., porapak Q(100-200mesh). A=acetaldehyde, B=ethanol, C=isopropanol(internal standard).

소추세를, 6시간 후에는 현저하게 감소($4.03\pm 0.50\text{mg/ml}$ 에서 $1.88\pm 0.30\text{mg/ml}$; $p<0.01$)시켰다. 한편 혈중 acetaldehyde의 경우, malotilate가 투여되므로써, ethanol투여 1시간 후에 감소경향을, 3시간 후에는 malotilate 무처리시와 같은 양상을, 6시간 후에는 다시 감소추세를 보였다. CCl_4 가 전처리된 쥐에서도 malotilate가 처리되므로써 ethanol투여 1시간 및 3시간 후에 감소추세를 보이다가, 6시간 후에 이르러 유의성있게 감소($24.48\pm 1.71\mu\text{g/ml}$ 에서 $17.80\pm 2.36\mu\text{g/ml}$; $p<0.05$)되었다. CCl_4 의 독성발현에는 CCl_3 , CCl_2 , $\text{CO}\dot{\text{O}}$, $\dot{\text{O}}_2$ 와 같은 free radical의 영향이 크다고 한다.¹⁰⁾ 또한, ethanol대사를 disulfiram, calcium carbimide 등의 약물로 억제할 때 보여지는 간의 과산화지질형성은 acetaldehyde가 관여함을 입증해 주는 것⁶⁾이며, 증가된 acetaldehyde는 dopamine의 대사를 변경시켜 alcohol 증독의 인자로

Table I—The effects of malotilate (300mg/kg, p.o.) on blood levels of acetaldehyde and ethanol after ethanol administration(4g/kg, p.o.) with or without pretreatment of CCl₄(1.5ml/kg, s.c., day x 4) in rats.

Treatment	Ethanol level(mg/ml)			Acetaldehyde level(μg/ml)		
	1h■	3h	6h	1h	3h	6h
Ethanol only	6.35±0.83	5.03±0.52	3.47±0.51	26.85±3.31	32.72±6.60	24.24±2.30
	§6	5	7	6	5	7
Malotilate +ethanol	3.30*±0.56	5.68±0.99	2.40±0.45	22.90±5.40	33.66±3.21	19.76±5.19
	4	6	7	4	6	7
CCl ₄ +ethanol	6.88±2.53	4.83±1.63	4.03±0.50	44.11±3.99	30.92±4.60	24.48±1.71
	5	5	5	5	5	5
CCl ₄ +malotilate +ethanol	1.70*±0.30	3.25±0.51	1.88**±0.30	34.88±10.37	24.79±1.44	17.80*±2.36
	5	4	7	5	4	7

Results are expressed as mean±S.E.

The animals received malotilate 6h prior to ethanol administration.

■: time after ethanol administration.

§: number of animal.

*: p<0.05, compared to the ethanol only.

*: p<0.05, compared to the CCl₄+ethanol.

** : p<0.01, compared to the CCl₄+ethanol.

생각되는 tetrahydroisoquinoline과 그 화합물인 tetrahydropapaveroline 및 salsolinol을 생성시킬 수 있다고 한다.⁶⁾ 따라서, 본 실험결과와 같이 malotilate는 혈중 ethanol 및 acetaldehyde의 clearance를 촉진시킬 것으로 생각되며 free radical 생성, 과산화지질형성 및 alcohol 중독에 대하여 일부 방어효과가 있을 것으로 추측된다.

결 론

Gas chromatography head Space 분석법을 이용하여 malotilate가 혈중 ethanol 및 acetaldehyde에 미치는 영향을 쥐를 대상으로 조사하였다. 즉, ethanol투여 1, 3 및 6시간 후에 ethanol 및 acetaldehyde의 혈중농도를 동시정량하였다. Malotilate는 ethanol투여 쥐에서는 ethanol투여 1시간 및 6시간 후에, CCl₄가 전처리된 ethanol투여 쥐에서는 ethanol투여 1, 3 및 6시간 후에 모두 혈중 ethanol과 acetaldehyde를 감소시키는 양상을 보였다.

문 헌

- 1) Ito, R., Toida, S., Matsuura, S., Hidano, T., Uchida, H. and Miyazaki, T., Sugimoto, T. and Kasai, T.: *Jl. Med. Soc. Toho, Japan* 35, 387 (1978).
- 2) Egashira, T., Yamamoto, T. and Kuroiwa, Y.: *Jl. Toxicol. Sci.* 7, 13(1982).
- 3) Katoh, M. and Sugimoto, T.: *Folia. Pharmacol. Japan* 80, 83(1982).
- 4) 小澤 啓子, 昭和醫學會誌 42, 301(1982).
- 5) Hirooka, S., Tanaka, T., Mokata, M., Katch, M. and Sugimoto, T.: *Iyakuhin Kenky* 13, 1046 (1982).
- 6) Brien, J.F. and Loomis, C.W.: *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61, 1(1983).
- 7) Mendenhall, C.L., Macgee, J. and Green, E.S.: *J. Chromatography* 190, 197(1980).
- 8) Steenaart, N.A.E., Clarke, D.W. and Brien, J.F.: *J. Pharmacol. Method* 14, 199(1985).
- 9) Eriksson, C.J.P., Mizoi, Y. and Fukunaga, T.: *Anal. Biochem.* 125, 259(1982).
- 10) Connor, H.D., Thruman, R.G., Galizi, M.D. and Mason, R.P.: *J. Biol. Chem.* 261, 4542(1986).