

# Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB)가 Ethanol 유발 간독성 흰쥐에서의 지질 과산화와 Oxygen Free Radical 제거 효소 활성도 및 간기능에 미치는 영향

한양대학교 의과대학 약리학교실

송호연 · 하경란 · 고현철 · 신인철 · 서대규

= Abstract =

## Effects of Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB) on the Lipid Peroxidation, Oxygen Free Radical Scavenging Enzymes Activities and Hepatic Functions in Ethanol-induced Hepatotoxic Rats

Ho-Yeon Song, Kyung-Ran Ha, Hyun-Chul Koh, In-Chul Shin and Tae-Kyu Suh

*Department of Pharmacology, College of Medicine, Han Yang University*

In an attempt to define the effects of Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB) on the lipid peroxidation, oxygen free radical scavenging enzymes activities and hepatic functions in ethanol-induced hepatotoxic rats, we studied malondialdehyde(MDA) level and the activities of catalase, superoxide dismutase(SOD), glutamic-oxaloacetic transaminase(GOT) and glutamic-pyruvic transaminase(GPT) in liver of the rats at 24, 48 and 72 hr after the injection of ethanol and DDB.

Sprague-Dalwey albino rats weighing 250 to 280gm were injected intraperitoneally with ethanol(2.5 gm/kg) only and ethanol plus DDB(300mg/kg).

The result obtained can be summarized as follows:

- 1) The group treated with ethanol showed significantly higher MDA level and lower catalase and SOD activities at 24, 48 and 72hr after the injection as compared with that of control group.
- 2) The group treated with ethanol showed significantly higher GOT and GPT activities at 24, 48 and 72hr after the injection as compared with that of control group.
- 3) The group treated with ethanol plus DDB showed significantly lower MDA level and higher catalase and SOD activities at 24, 48 and 72 hr after the injection as compared with that of ethanol group.
- 4) The group treated with ethanol plus DDB showed significantly lower GOT and GPT activities at 24, 48 and 72 hr after the injection as compared with that of ethanol group.

These results suggest that the excessive oxygen free radicals resulting from the depression of the activities of catalase and superoxide dismutase is an important determinant in pathogenesis of ethanol-induced hepatotoxicity and DDB has antioxidant effects.

---

**Key Words:** Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB), Ethanol, Catalase, Malondialdehyde (MDA), Superoxide dismutase(SOD)

## 서 론

호기성 세포에서는 superoxide radical( $O_2^-$ ), hydroxyl radical(OH.) 및 hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )가 발생될 수 있으며, 어떤 유해물질이나 약물등에 폭로되었을 때나 병적상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(Goldberg and Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody and Hassan, 1982; Junqueira 등, 1986).

Ethanol은 간장의 지방합성을 증가시켜 지방간을 형성할 뿐 아니라 간접적으로도 말초조직으로부터 지방이동을 촉진시켜 지방간을 유발한다. 이러한 현상은 정상인에서 소량의 ethanol 섭취로도 생길 수 있으며 장기간 복용하더라도 지방간은 ethanol 섭취 중단으로 회복될 수 있다. 그러나 알콜성 간염이 발생하면 이는 간경변증으로 이행될 수 있다. 알콜로 인한 간장질환은 영양부족으로 심해질 수 있으나 충분한 영양을 공급하더라도 알콜성 간염과 간경변증을 일으킬 수 있다고 보고되어 있다. 그러나 한편으로는 알콜성 간질환이 모든 사람에게서 나타나지 않고 일부에서만 나타나며 이같은 선택성이 어떻게 나타나는지는 아직 모른다. 일정량 이상의 알콜을 주기적으로 마시는 사람에서는 acetaldehyde의 축적을 볼 수 있으며 이는 acetaldehyde dehydrogenase 활성 저하에 일부 기인한다. Acetaldehyde는 반응성이 강하고 독성이 강하여 지질 과산화 촉진, mitochondria 손상, glutathione 결핍, vitamins과 금속결핍(특히 pyridoxine, vitamins A, zinc 및 selenium) 및 tubulin 중합억제를 통한 단백질의 이동과 분비 감소를 초래하며 결과적으로 간경변증에서 볼 수 있는 간세포의 괴사와 섬유화를 일으킨다(Gilman 등, 1990). Acetaldehyde는 cysteine이나 cysteine을 함유하는 glutathione과 결합하여 간장내 glutathione을 감소시켜 유해한 free radicals의 제거를 감소시키며 이러한 glutathione의 감소는 지질 과산화를 유발시킨다(Lieber, 1988).

근래에 중국에서는 한방생약제인 북오미자(*Schizandrae chinensis*)의 열매에서 분리된 활성 성분인 Schizandrin C의 합성동속체의 하나인 Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB)를 주성분으로 한 제제를 간질환의 치료제로서 개발하여(Wang, 1984) 동물실험에서  $CCl_4$ 나 thioacetamide에 의한 간손상으로 상승된 SGPT치를 저하시켰고(Wang 등, 1983), 임상적으로 만성간염과 간경변환자의 상승된 SGPT치, 혈청 bilirubin 및 transpeptidase치를 감소시켰으며, 간경변에 의한 여러증상도 일부는 호전케 하였으며, 부작용도 일과성인 위장장애외에는 별다른 것을 관찰할 수 없었다(Wang, 1984). 그러나 DDB의 항산화효과에 대한 보고는 거의 없는 실정이므로 이에 oxygen free radicals에 의한 손상과 관련이 있는 ethanol-유발 간독성 흰쥐에서의 DDB의 지질 과산화와 oxygen free radical 제거효소 활성도 및 간 기능에 미치는 영향을 관찰하여 DDB의 항산화효과를 규명하고자 본 실험을 시도하였다.

## 재료 및 방법

실험동물은 체중 250~280 gm의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 사료와 물은 임의로 섭취하게 하였다. 흰쥐 7마리씩을 한군으로 하여 실험군을 DDB 투여군, ethanol 투여군 및 ethanol-DDB 병합투여군으로 구분하였고, 동량의 생리식염수를 주사한 동물을 대조군으로 하였다. 공시약은 투약을 체중 kg당 ethanol은 2.5 gm, DDB는 300 mg을 각각 복강내로 주사하였다. 투약 후 24시간에 동물을 단두도살, 개복하여 phosphate buffered saline(PBS)을 복부동맥을 통해 간장내로 관류시킨 후 간장을 떼어내어 간조직을 pellet pestle tube에 넣고 potassium phosphate buffer(pH 7.3)로 균질화(homogenization)시킨 후 초음파 세포막 분쇄기(ultrasonic cell membrane disruptor, Sonics & Materials Co., Danbury, USA)로 세포막을 파괴하여 thiobarbituric acid를 이용한 Shah 등(1983)의 방법으로

bovine serum albumin(BSA)을 표준으로하여 534nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 지질 과산화 정도를 malondiadehyde(MDA) 함량으로 측정하였고, KMnO<sub>4</sub> 적정을 이용한 Cohen등(1970)의 방법으로 480nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 catalase 활성도를 측정하였다. Catalase활성도는 1차등급 반응상수인  $k$ 로 표현될 수 있으며 그식은 다음과 같다.

$$k = \log(S_0/S_t) \times 2.3/t$$

여기서  $t$ 는 반응시간(minutes)이고,  $S_0$ 는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 초기 농도,  $S_t$ 는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의  $t$ 분때의 농도를 의미한다. 그리고 pyrogallol의 autoxidation 억압을 이용한 Marklund와 Marklund(1974)의 방법으로 bovine kidney SOD를 표준으로 하여 420nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 superoxide dismutase(SOD) 활성도를 측정하였다.

MDA 함량과 catalase와 SOD 활성도의 분석은 mg단백질에 대한 함량과 활성도로 표현되며, 단백질은 Lowry등(1951)의 방법으로 측정하였다.

혈청 glutamic-oxaloacetic transaminase(GOT)와 glutamic-pyruvic transaminase(GPT) 활성도는 자동화학 분석기(Gilford SBA-300, Ohio, USA)로 측정하였다.

통계처리는 Student's t-test를 이용하였고, 각 데이터는 평균 ±표준편차로 나타내었다.

## 결 과

### 1) MDA 함량(nmol/mg protein)

대조군에서는 0.85±0.14이였으나, DDB 투여군에서는 0.90±0.13(대조치의 106%), ethanol 투여군에서는 1.71±0.16(대조치의 201%), ethanol-DDB 병합투여군에서는 1.15±0.07(대조치의 135%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게( $P<0.005$ ) 증가되었으나, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 증가가 유의하게( $P<0.005$ ) 억제되었다(Table 1, Fig. 1).

### 2) Catalase 활성도( $k$ /mg protein)

대조군에서는 141.78±26.26이였으나, DDB 투여군에서는 135.24±28.35(대조치의 95%), ethanol 투여군에서는 45.26±14.36(대조치의 32%), ethanol-DDB 병합투여군에서는 101.56±29.16(대조치의 72%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게( $P<0.005$ ) 감소되었으며, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 감소가 유의하게( $P<0.005$ ) 억제되었다(Table 1, Fig. 2).

**Table 1.** Effects of DDB(300mg/kg, I.P.) on the malondialdehyde(MDA) level(nmol/mg protein), catalase activity( $\kappa$ /mg protein) and superoxide dismutase(SOD) activity(unit/mg protein) in liver of the ethanol(2.5gm/kg, I.P.)-induced hepatotoxic rats

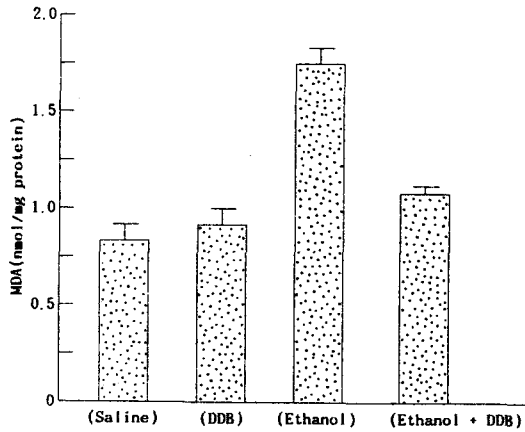
	Saline	DDB	Ethanol	Ethanol+DDB
MDA level	0.85±0.14	0.90±0.13	1.71±0.16*	1.15±0.07**
Catalase activity	141.78±26.26	135.24±28.35	45.26±14.36*	101.56±29.16**
SOD activity	21.99±1.39	20.88±1.51	16.13±2.23*	20.92±2.74**

The  $\kappa$  is the first-order rate constant.

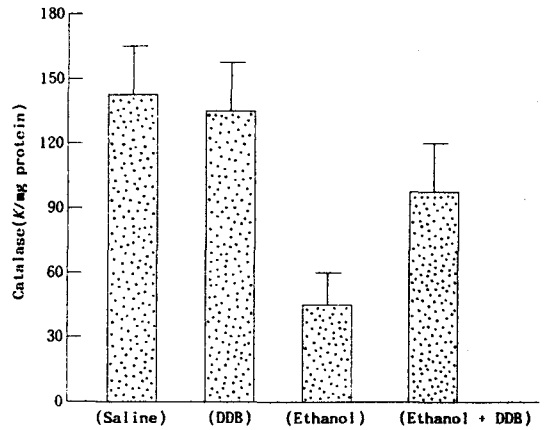
The data represent the means ±S.D.

\*:  $p<0.005$ (N=7) vs Saline

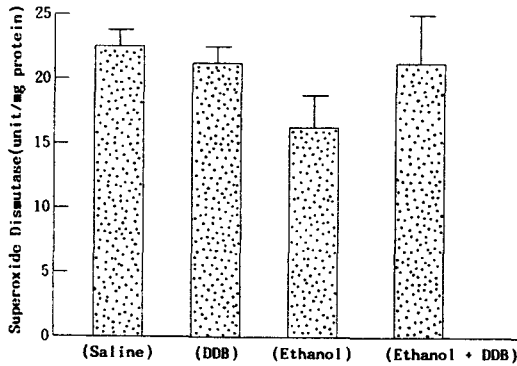
\*\* :  $p<0.005$ (N=7) vs Ethanol



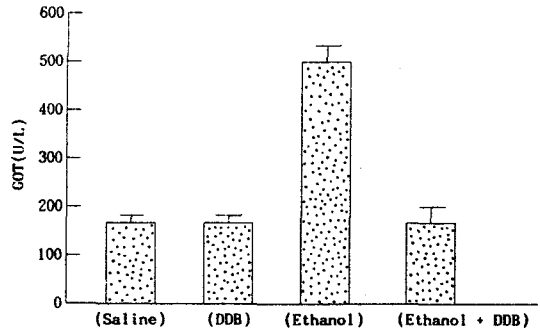
**Fig. 1.** Malondialdehyde(MDA) level in liver of the ethanol-treated group and ethanol+DDB-treated group compared with saline-treated (control) group.



**Fig. 2.** Catalase activity in liver of the ethanol-treated group and ethanol+DDB-treated group compared with saline-treated (control) group.



**Fig. 3.** Superoxide dismutase activity in liver of the ethanol-treated group and ethanol+DDB-treated group compared with saline-treated (control) group.



**Fig. 4.** Glutamic-oxaloacetic transaminase(GOT) activity in liver of the ethanol-treated group and ethanol + DDB-treated group compared with saline-treated (control) group.

### 3) Superoxide dismutase 활성도 (unit/mg protein)

대조군에서는  $21.99 \pm 1.39$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $20.88 \pm 1.51$  (대조치의 95%), ethanol 투여군에서는  $16.13 \pm 2.23$  (대조치의 73%), ethanol-DDB 병합투여군에서는  $20.92 \pm 2.74$  (대조치의 95%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의

하게 ( $P < 0.005$ ) 감소되었으며, ethanol-DDB 병합 투여군에서는 ethanol 투여로 인한 감소가 유의하게 ( $P < 0.005$ ) 억제되었다 (Table 1, Fig. 3).

### 4) Glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) 활성도 (U/L)

대조군에서는  $161.03 \pm 21.62$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $157.21 \pm 21.44$  (대조치의 98%), etha-

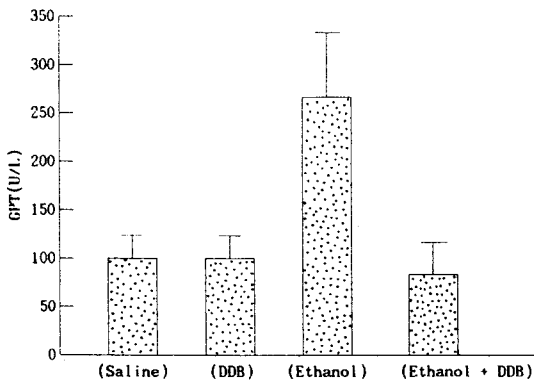
**Table 2.** Effects of DDB(300mg/kg, I.P.) on the glutamic-oxaloacetic transaminase(GOT) activity(U/L) and glutamic-pyruvic transaminase(GPT) activity(U/L) in liver of the ethanol(2.5gm/kg, I. P)-induced hepatotoxic rats

	Saline	DDB	Ethanol	Ethanol+DDB
GOT activity	161.03 ± 21.62	157.21 ± 21.44	489.50 ± 39.74*	171.20 ± 36.53**
GPT activity	88.21 ± 20.96	92.46 ± 18.72	259.64 ± 74.83*	73.63 ± 28.31**

The data represent the means ± S.D.

\*: P < 0.005 (N=7) vs Saline

\*\* : P < 0.005 (N=7) vs Ethanol



**Fig. 5.** Glutamic-pyruvic transaminase(GPT) activity in liver of the ethanol-treated group and ethanol +DDB-treated group compared with saline-treated(control) group.

nol 투여군에서는 489.50 ± 39.74(대조치의 304%), ethanol-DDB 병합투여군에서는 171.20 ± 36.53(대조치의 106%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게(P < 0.005) 증가되었으나, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 증가가 유의하게(P < 0.005) 억제되었다(Table 2, Fig. 4).

### 5) Glutamic-pyruvic transaminase (GPT) 활성도(U/L)

대조군에서는 88.21 ± 20.96이였으나, DDB 투여군에서는 92.46 ± 18.72(대조치의 105%), etha-

nol 투여군에서는 259.64 ± 74.83(대조치의 294%), ethanol-DDB 병합투여군에서는 73.63 ± 28.31(대조치의 83%)로 ethanol 투여군에서는 대조군보다 유의하게(P < 0.005) 증가되었으나, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 증가가 유의하게(P < 0.005) 억제되었다(Table 2, Fig. 5).

## 고찰

호기성 세포에서는 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide와 같은 oxygen free radicals이 발생될 수 있으며 어떤 유해물질이나 약물등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 지질 과산화반응, 단백질 파괴, 염색체 이상 및 적혈구 파괴등 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있으며(Goldberg and Stern, 1977; Simon등, 1981; Moody and Hassan, 1982; Junqueira등, 1986), 정상적으로 조직은 내인성 제거제(endogenous scavengers)를 함유하고 있어 oxygen free radicals 손상에 대해 방어적으로 작용한다(Chance등, 1979; Wendel and Feuerstein, 1981). 이러한 제거제로서는 superoxide radical 제거제로는 superoxide dismutase, hydroxyl radical 제거제로는 alpha-tocopherol(vitamin E), dimethylthiourea, dimethylsulphoxide, ascobate, histidine 및 tryptophan등, hydrogen peroxide 제거제로는 catalase와 gluta-

thione peroxidase 등이 있고 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때에는 oxygen free radical 제거체의 공급이 고갈된다(Paller 등, 1984; Wasil 등, 1987)고 하며, 이러한 oxygen free radicals는 sulfhydryl oxidation을 통하여 단백질 손상을 야기시킬 수 있다(Freeman and Crapo, 1982; Baud and Ardaillou, 1986)고 한다. 이러한 oxidative stress는 DNA 손상과 그결과 생기는 치명적인 nicotinamide nucleotide 고갈을 초래케 하는데 그 주요기전은 금속이온 의존성 hydroxyl radical의 생성이므로 deferoxamine 같은 착화제(chelating agents)의 투여는 금속이온 의존성 hydroxyl radical 생성을 억압할 수 있다(Halliwell and Grootveld, 1987; Rehan 등, 1984). Halliwell과 Gutteridge(1984)는 금속이온이 oxygen free radicals에 의해 자극된 지질 과산화반응에 필수적이며 지방 과산화물의 세포독성물질인 aldehydes로의 분해를 촉진시킨다고 하였다. Catalase는 다수의 과산화수소 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisomes에 주로 분포하여(Chance 등, 1979) 과산화수소를 물과 산소로 분해함으로써 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 하였고(Frank and Massaro, 1980), 방사선 조사, 약물투여 및 환경의 변화등 생체내에서의 oxygen free radicals 생성을 증가시키는 조건에서 catalase 활성도가 증가되며, 또한 catalase를 투여하면 oxygen free radicals의 과다생성으로 인한 조직손상을 방어할 수 있다고 하였다(Gutteridge 등, 1983; Yoshikawa 등, 1983).

Ethanol은 간장의 지방합성을 증가시켜 지방간을 형성할 뿐만 아니라 간접적으로도 말초조직으로부터 지방이동을 촉진시켜 지방간을 유발하며, 이러한 것은 ethanol의 대사물질인 acetaldehyde에 기인된다. Acetaldehyde는 반응성이 강하고 독성이 강하여 지질 과산화 촉진, mitochondria 손상, glutathione 결핍, vitamins와 금속결핍(특히 pyridoxine, vitamin A, zinc 및 selenium) 및 tubulin 중합억제를 통한 단백질의 이동과 분비 감소를 초래하며 결과적으로 간경변증에서 볼 수

있는 간세포의 괴사와 섬유화를 일으키며(Gilman 등, 1990), 특히 glutathione의 감소는 지질 과산화를 유발시킨다(Ledber, 1988). Ethanol에 의한 oxygen free radical의 생성에 대해서는 여러사람들이 보고한 바 있는데(Bautista and Spitzmer, 1992; Puntarulo and Cederbaum, 1988; Step 등, 1993; Knecht 등, 1990; Kawase 등 1989), 특히 Lieber와 DeCarli(1970)는 ethanol 투여로 미소체 내 NADPH oxidase 활성도가 증가되어 superoxide와 hydrogen peroxide가 증가되어 지질 과산화가 생긴다고 하였고, Krikun 등(1984)과 Shaw 등(1984)은 장기간의 ethanol 투여로 hydroxyl radical이 증가된다고 하였으며, ethanol 투여로 xanthine oxidase에 의한 purine 대사에 의해 oxygen free radicals가 생성되며 xanthine oxidase의 기질인 hypoxanthine, xanthine 및 adenosine-5'-monophosphate등이 증가되며 NADH는 xanthine dehydrogenase 활성도를 억압하여 xanthine oxidase 활성도를 향진시키고(Kato 등, 1988), ferritin은 지질 과산화의 개시에 필요한 iron을 제공해 준다(Shaw 등, 1988; Valenzudla 등 1983). Kato 등(1990)과 Sultatos(1988)는 ethanol 투여에 의해 지질 과산화가 생기며 그 결과 간장내의 MDA 함량이 증가되며 xanthine oxidase 억제제인 allopurinol 전처치시 xanthine 대사가 억압되어 ethanol-유발 지질 과산화가 감소하므로 지질 과산화 과정에 xanthine oxidase에 의한 oxygen free radicals 생성이 관여한다고 하였고, ethanol 투여로 간장내 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)가 증가되며 NAD 상승은 xanthine dehydrogenase 활성도를 감소시켜 상대적으로 xanthine oxidase 활성도가 증가하게 되는데 이것이 ethanol에 의한 oxygen free radicals 생성의 기전이라고 하였다.

근래에 중국에서는 한방생약제인 북오미자(*Schizandrae chinesis*)의 열매에서 분리된 활성성분인 Schizandrin C의 합성동속체의 하나인 Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB)를 주성분으로한 제제를 간질환의 치료제로서 개발하여

(Wang, 1984) 동물실험에서  $CCl_4$ 나 thioacetamide에 의한 간손상으로 상승된 SGPT치를 저하시켰고(Wang등, 1983), 임상적으로도 만성간염과 간경변환자의 상승된 SGPT치, 혈청, bilirubin 및 transpeptidase치를 감소시켰으며, 간경변에 의한 여러 증상도 일부는 호전케 하였으며, 부작용도 일과성인 위장장애외에는 별다른 것은 관찰할 수 없었다(Wang, 1984). Qing과 Liu(1992)는 carcinogen에 의한 흰쥐 간장의 DNA손상에 대한 DDB의 방어효과를 보고하였고, Fu와 Liu(1992)는  $CCl_4$ 와 D-galactosamine에 의해 유발된 적출흰쥐 간세포의 손상에 대한 DDB의 방어효과를 보고하였다. 그러나 DDB의 항산화효과에 대한 보고는 거의 없는 실정이므로 본 연구는 ethanol 투여로 지질 과산화를 일으킨 흰쥐에서 DDB의 항산화효과 유무를 관찰하였던 바 ethanol 투여로 MDA 함량은 증가되었고 catalase와 SOD 활성도는 감소되었으며, GOT와 GPT 활성도가 증가되었는데, ethanol과 DDB 병합투여군에서는 ethanol 단독투여군 보다 MDA 함량은 감소되었고, catalase와 SOD 활성도는 증가되었으며, GOT와 GPT 활성도가 감소되었다. DDB 투여군에서 MDA함량이 감소된 것은 지질 과산화 감소를 의미하며, catalase와 SOD 활성도가 증가된 것은 ethanol에 의해 생성된 oxygen free radicals를 방어적으로 제거하기 위한 것으로 사료되므로 DDB는 항산화효과가 있는 것으로 예측된다.

## 결 론

Oxygen free radicals에 의한 손상과 관련이 있는 ethanol-유발 간독성 흰쥐에서의 DDB의 지질 과산화와 oxygen free radical 제거효소 활성도 및 간기능에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

### 1) MDA 함량(nmol/mg protein)

대조군에서는  $0.85 \pm 0.14$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $0.90 \pm 0.13$ (대조치의 106%), ethanol 투

여군에서는  $1.71 \pm 0.16$ (대조치의 201%), ethanol-DDB 병합투여군에서는  $1.15 \pm 0.07$ (대조치의 135%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게( $P < 0.005$ ) 증가되었으나, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 증가가 유의하게( $P < 0.005$ ) 억제되었다.

### 2) Catalase 활성도(k/mg protein)

대조군에서는  $141.78 \pm 26.26$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $135.24 \pm 28.35$ (대조치의 95%), ethanol 투여군에서는  $45.26 \pm 14.36$ (대조치의 32%), ethanol-DDB 병합투여군에서는  $101.56 \pm 29.16$ (대조치의 72%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게( $P < 0.005$ ) 감소되었으며, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 감소가 유의하게( $P < 0.005$ ) 억제되었다.

### 3) Superoxide dismutase 활성도(unit/mg protein)

대조군에서는  $21.99 \pm 1.39$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $20.88 \pm 1.51$ (대조치의 95%), ethanol 투여군에서는  $16.132.23$ (대조치의 73%), ethanol-DDB 병합투여군에서는  $20.92 \pm 2.74$ (대조치의 95%)로 ethanol 투여군에서는 대조군보다 유의하게( $P < 0.005$ ) 감소되었으며, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 감소가 유의하게( $P < 0.005$ ) 억제되었다.

### 4) Glutamic-oxaloacetic transaminase(GOT) 활성도(U/L)

대조군에서는  $161.03 \pm 21.62$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $157.21 \pm 21.44$ (대조치의 98%), ethanol 투여군에서는  $489.50 \pm 39.74$ (대조치의 304%), ethanol-DDB 병합투여군에서는  $171.20 \pm 36.53$ (대조치의 106%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게( $P < 0.005$ ) 증가되었으나, ethanol-DDB 병합투여군에서는 ethanol 투여로 인한 증가가 유의하게( $P < 0.005$ ) 억제되었다.

## 5) Glutamic-pyruvic transaminase (GPT) 활성도(U/L)

대조군에서는  $88.21 \pm 20.96$ 이였으나, DDB 투여군에서는  $92.46 \pm 18.72$ (대조치의 105%), ethanol 투여군에서는  $259.64 \pm 74.83$ (대조치의 294%), ethanol-DDB 병합투여군에서는  $73.63 \pm 28.31$ (대조치의 83%)로 ethanol 투여군에서는 대조군 보다 유의하게( $p < 0.005$ ) 증가되었으나, ethanol-DDB 병합 투여군에서는 ethanol 투여로 인한 증가가 유의하게( $P < 0.005$ ) 억제되었다.

본 실험에서는 ethanol 투여로 MDA 함량은 증가되었고 catalase와 SOD 활성도는 감소되었으며, GOT와 GPT 활성도는 증가되었고, ethanol을 DDB와 병합투여했을 때에는 ethanol 투여로 인한 상기 각항의 증감이 유의하게 억제되었다. DDB 투여군에서 MDA 함량이 감소된 것은 지질 과산화 감소를 의미하며, catalase와 SOD 활성도가 증가된 것은 ethanol에 의해 생성된 oxygen free radicals를 방어적으로 제거하기 위한 것으로 사료되므로 DDB는 항산화효과가 있는 것으로 예측된다.

## 참 고 문 헌

- Baud L and Ardaillou R: *Reactive oxygen species: Production and role in the kidney. Am J Physiol* 251: F765-F776, 1986
- Bautista AP and Spitzer JJ: *Acute ethanol intoxication stimulates superoxide anion production by in situ perfused rat liver. Hepatology* 15: 892-898, 1992
- Chance B, Sies H and Boveris A: *Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol Rev* 59: 527-605, 1979
- Cohen G, Dembiec D and Marcus J: *Measurement of catalase activity in tissue extracts. Analyt Biochem* 34: 30-38, 1970
- Frank L and Massaro D: *Oxygen toxicity. Am J Med* 69: 117-126, 1980
- Freeman BA and Crapo JD: *Free radicals and tissue injury. Lab Invest* 47: 412-426, 1982
- Fu T and Liu G: *Protective effect of DDB on damages of isolated rat hepatocytes induced by carbon tetrachloride and D-galactosamine. Biomed Environ Sci* 5: 185-194, 1992
- Gilman AG, Theodore WR, Alan SN and Taylor P: *The pharmacological basis of therapeutics. 8th ed. Macmillan publishing Co, 1990, pp372-373*
- Goldberg B and Stern A: *The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. Arch Biochem Biophys* 178: 218-225, 1977
- Gutteridge JMC, Beard APC and Quinlan GJ: *Superoxide-dependent lipid peroxidation. Problems with the use of catalase as a specific probe for Fenton-Derived hydroxyl radicals. Biochem Biophys Res Commun* 117: 901-907, 1983
- Halliwell B and Grootveld M: *The measurement of free radical reactions in humans. Febs Letters* 213: 9-14, 1987
- Halliwell B and Gutteridge JMC: *Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. Lancet* 23: 1396-1397, 1984
- Junqueira VBC, Simiz K, Videla LA and Barros SB de M: *Dose-dependent study of the effects of acute lindane administration on rat liver superoxide anion production, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation. Toxicology* 41: 193-204, 1986
- Kato S, Alderman J, Kawase T and Lieber CS: *Ethanol induced lipid peroxidation is inhibited by allopurinol and result from increased NADH and purine degradation. Gastroenterology* 94: A533. abstract, 1988
- Kawase T, Kato S and Lieber CS: *Lipid peroxidation and antioxidant defence systems in rat liver after chronic ethanol feeding. Hepatology* 10: 815-821, 1989
- Kato S, Kawase T, Alderman J, Inatomi N and Lieber CS: *Role of xanthine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. Gastroenterology* 98: 203-210, 1990
- Knecht KT, Bradford BU, Mason RP and Thurman RG: *In vitro formation of a free radical metabolite of ethanol. Molecular Pharmacology* 38: 26-30, 1990



- Krikum G, Lieber CS and Cederbaum AI: *Increased microsomal oxidation of ethanol by cytochrome P-450 and hydroxyl radical-dependent pathway after chronic ethanol consumption. Biochem Pharmacol* 33: 3306-3309, 1984
- Liber CS: *Biochemical and molecular basis of alcohol-induced injury to liver and other tissues. New Eng J Med* 319: 1639-1650, 1988
- Liber CS and DeCarli LM: *Reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase activity enhanced by ethanol consumption. Science* 170: 78-80, 1970
- Marklund S and Markloun G: *Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem* 47: 469-474, 1974
- Moody CS and Hassan HM: *Mutagenicity of oxygen free radicals. Proc Natl Acad Sci* 79: 2855-2859, 1982
- Pallor MS, Hoidal JR and Ferris TF: *Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. J Clin Invest* 74: 1156-1164, 1984
- Rehan A, Johnson KJ, Wiggins RC, Kunkel RG and Ward PA: *Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. Lab Invest* 51: 396-403, 1988
- Puntarulo S and Cederbaum AI: *Effect of oxygen concentration on microsomal oxidation of ethanol and generation of oxygen radicals. Biochem J* 251: 787-794, 1988
- Qing W and Liu G: *Protective effect of DDB against carcinogen-induced rat liver nuclear DNA damage. Biomed Environ Sci* 5: 201-207, 1992
- Shah SV, Cruz FC and Baricos WH: *NAPH-induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsomes. Kidney International* 23: 691-698, 1983
- Shaw S, Jayatilke E and Lieber CS: *The effect of chronic alcohol feeding on lipid peroxidation in microsomes: lack of relationship to hydroxyl radical generation. Biochem Biophys Res Commun* 118: 233-238, 1984
- Shaw S, Jayatilke E and Lieber CS: *Lipid peroxidation as a mechanism of alcoholic liver injury: role of iron mobilization and microsomal induction. Alcohol* 5: 135-140, 1988
- Simon RH, Scoggin CH and Patterson D: *Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. J Biol Chem* 256: 7181-7186, 1981
- Sultatos LG: *Effects of acute ethanol administration on the hepatic xanthine dehydrogenase/oxidase system in the rats. JPET* 246: 946-494, 1988
- Wang XL: *Clinical effect of DDB pilules on 56 cases of chronic viral hepatitis B. New Drugs Clinic* 3: 13-15, 1984
- Wang XL, Qiang ZY and Min LC: *Absorption, distribution, metabolism and excretion of DDB. Acta Pharmaceutica Sinica* 18: 892-897, 1983
- Wasil M, Halliwell B, Grootveld M, Moorhouse CP, Hutchison DCS and Baum H: *The specificity of thiourea, dimethylthiourea and dimethylsulphoxide as scavengers of hydroxyl radicals. Biochem J* 243: 867-870, 1987
- Valenzuela A, Fernandez V and Vdela LA: *Hepatic and biliary level of glutathione and lipid peroxides following iron overload in rat: effect of simultaneous ethanol administration. Toxcol Appl Pharmacol* 70: 87-95, 1983
- Wendel A and Feuerstein S: *Drug-induced lipid peroxidation in mice-1. Modulation by monooxygenase activity, glutathione and selenium status. Biochem Pharmacol* 30: 2513-2520, 1981
- Yosikawa T, Murakami M, Yoshida N, Seto O and Kondo M: *Effects of superoxide dismutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. Thromb Haemostas* 50: 869-872, 1983