

흰쥐의 사염화탄소로 유도된 간손상에 미치는 9-Amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine의 영향

신혜순*, 조은정

덕성여자대학교 약학대학

Effect of 9-Amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine on CCl₄-Induced Liver Injury in Rats

Hea Soon Shin* and Eun Jung Cho

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

ABSTRACT

This study was done to investigate the protective effect of novel 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives on the hepatoprotective effect intoxicated rats induced by carbon tetrachloride (CCl₄). A series of currently derivatives of 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine have been prepared through the alkly substitution or the ring expansion for the treatment of the Alzheimer's disease. The activities of aminotransferase (aspartate and alanine) and contents of alkaline phosphatase, triglyceride and glutathione S-transferase in 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives pretreated rats were significantly decreased compared to the only carbon tetrachloride treated rats but the contents of cholesterol were increased compared to the only CCl₄ treated rats. The result indicated that 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives showed hepatoprotective effect in CCl₄ treated rats.

Key words : hepatoprotective effect, 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives

서론

최근 통계자료에 의하면 65세 이상 노인 인구의 구성비가 8.7%를 상회함으로써 우리 나라도 이미 유엔이 분류한 고령화 사회로 접어들었다. 인구 고령화 현상으로 인한 노령인구의 급격한 증가는 퇴행성 질환과 함께 더욱 대두되는 노인성 질환의 발병률 증가라는 새로운 사회문제로 야기되고 있

다 (Grundman *et al.*, 1998; McGeer and McGeer, 2001).

퇴행성 질환으로서 비중이 큰 노인성치매 (senile dementia)의 원인질환인 알츠하이머 질환은 환자의 약 3분의 1정도가 뇌혈관성 병변을 갖고 있으며 그 특징은 재생이 불가능한 신경세포 사멸과 신경세포 내부의 신경원섬유 덩어리 (neurofibrillary tangle)와 세포외의 신경반 (neuritic plaques) 등이다 (Selkoe, 1998; Morgan *et al.*, 2004; Iwata *et al.*, 2005). 알츠하이머 질환치료제로는 주증상인 인지 기능의 장애가 주로 대뇌 기저부의 콜린성 신경의 손상에 의해 기인된 것이라는 가설과 함께 여러

* To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-2-901-8398, Fax: +82-2-901-8386
E-mail: hsshin@duksung.ac.kr

가지 기전을 갖는 콜린성 화합물들이 개발되었다. 그 중 대표적 제제로 아세틸콜린 분해효소(acetylcholinesterase, AChE)를 억제함으로써 아세틸콜린의 농도를 조절하는 tacrine과 같은 아세틸콜린 분해효소 억제제(AChE inhibitor)를 들 수 있다.

알츠하이머질환 치료제로서 1993년 미국 FDA에서 최초 승인한 제1세대 아세틸콜린 분해효소 억제제인 tacrine (Cognex[®], Warner-Lambert)은 소수성으로 혈액뇌관문(blood brain barrier)을 쉽게 통과하는 장점이 있으나 반감기가 짧아 1일 4회 복용해야 하는 번거로운 문제점과 부작용으로서 투약 후 30% 정도가 잠재적으로 간의 alanine aminotransferase를 증가시킴으로써 간독성을 일으키기 보고되어 현재는 극히 제한적으로 사용되고 있다. 아세틸콜린 분해효소 억제제류는 아세틸콜린 농도를 증가시켜서 신경보호 작용과 신경손상을 회복시키는 작용을 가지고 있으나 기억력이 소실되는 증상의 진행을 일시적으로 지연 또는 둔화시키는 정도이며 개선효과는 나타내지 못하는 것으로 알려져 있다(Beerman, 1993; Sonne, 1996; Combs *et al.*, 2000). 또한 간독성, 구토, 설사 그리고 낮은 생체내 이용률 등이 문제점으로 지적되고 있다(Kiminobu *et al.*, 2000; Ferrera and Arias, 2005; Leon *et al.*, 2005).

본 연구에서는 기존의 알츠하이머 질환 치료제 중 임상에서 가장 현저한 효과를 보이고 있는 아세틸콜린분해효소 억제제인 tacrine의 구조를 변형한 유도체 화합물들이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간손상 실험모델에서 보호효과를 나타냄을 알아보기 위해 혈액생화학적 효과 및 조직학적 변화를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

시약은 1-chloro-2, 4-dinitrobenzencarbon, bovine serum albumin, glutathione, dimethylsulfoxide (Sigma Co., USA), carbon tetrachloride (Janssen Co., Japan)를 사용하였으며 aspartate, alanine aminotransferase, cholesterol, triglyceride, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase 등의 kit는 영동제약 제품을

사용하였으며 기타 모든 시약들은 일급 또는 특급 시약을 사용하였다. 기기는 Bruker사의 300 MHz NMR spectrometer를 사용하여 proton nuclear resonance를 측정하였고 화학 이동들은 TMS를 reference로 하여 ppm단위로 기록하였다. IR spectrum은 Perkin-Elmer FT-IR spectrometer spectrum GX를 사용하여 NaCl cell 및 nujol 용액으로 측정하였다.

2. 시험재료

McKenna (1997)의 합성방법에 따라 anthranilonitrile과 ketone체를 toluene에 용해시킨 반응혼합액에 boron trifluoride diethyl etherate를 사용하여 ketone group과 alkyl piperidone group을 치환시켜 합성하였다. 반응완료 후 toluene을 제거하고 2 M sodium hydroxide를 가해서 반응시킨 후 붉은 색이 사라지고 미황색의 결정을 얻을 수 있었다(Maurizio *et al.*, 2000; Shao *et al.*, 2004). 최종화합물은 ¹H-NMR로 확인하였고 FT-IR spectrum에서 3347 cm⁻¹의 NH, 1421 cm⁻¹의 C=N과 1264 cm⁻¹의 C-N 흡수를 확인하였다(Fig. 1).

1) 9-amino-1, 2, 3-dihydroacridine (ADA)

Formula C₁₂H₁₂N₂ (M.W. 184.24) ¹H NMR (D₂O) δ 7.43 (m, aromatic), 7.22 (m, aromatic), 6.89 (d, J=8.4, aromatic), 2.54 (s, 2H), 2.17 (s, 2H), 1.89 (s, 2H). FT-IR (KBr) cm⁻¹ 3324 (NH), 3053 (aromatic), 2986 (-CH₂-), 1421 (C=N), 1264 (C-N).

2) 11-amino-2, 3, 4, 5-tetrahydroacridine (ATA)

Formula C₁₄H₁₆N₂ (M.W. 212.29) ¹H NMR (D₂O) δ 7.44 (t, J=6, aromatic), 7.22 (t, J=4.2, aromatic), 7.11 (t, J=7.71, aromatic), 2.63 (s, 2H), 2.35 (s, 2H), 1.65 (s, 2H), 1.44 (s, 2H), 1.31 (s, 2H). FT-IR (KBr) cm⁻¹ 3444 (NH), 3054 (aromatic), 2986 (-CH₂-), 1421 (C=N), 1264 (C-N).

3) 9-amino-2-methy-dihydroacridine

Formula C₁₄H₁₇N₃ (M.W. 227.41) ¹H NMR (D₂O) δ 7.64 (d, J=1.2, aromatic), 7.36 (m, aromatic), 6.86 (m, aromatic), 3.32 (s, 2H), 2.81 (s, 3H), 2.16 (s, 4H), 3.21 (s, 2H), 1.37 (s, 3H). FT-IR (KBr) cm⁻¹ 3434 (NH), 3054 (aromatic), 2986 (-CH₂-), 1421 (C=N), 1265 (C-N).

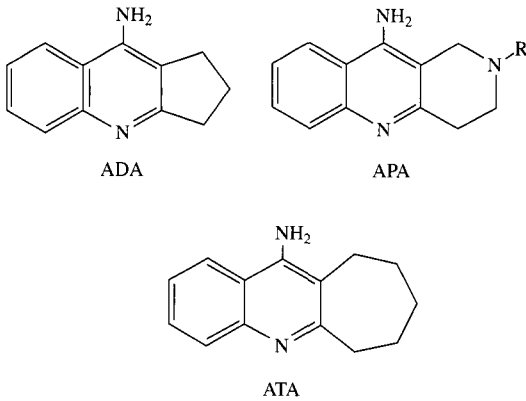


Fig. 1. Structure of 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives.

3. 시험동물

5주령의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐 (190~210 g)를 (주)대한바이오텍에서 공급받아 군당 8마리로 수용하였다. 실온에서 일주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 뒤 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 실험에 사용하였다(실험시 230~250 g). 체중을 측정하고 평균체중에 가까운 개체를 선택하여 무작위법을 이용하여 군 분리를 실시하였다. 사료는 실험동물용 고형사료를 자유로이 섭취시켰으며 물은 충분히 공급하였다.

4. 약물투여

CCl₄에 의한 간손상 유발 실험모델은 Long & Moore (1988)의 방법에 따라 CCl₄를 corn oil과 동량혼합액으로 체중 100 g당 0.1 mL (0.4 mL/kg)을 복강투여로 급성 간손상을 유발시켰으며, 정상대조군은 실험군에 CCl₄주입시 corn oil만을 복강주사하였다. 약물투여군은 약물 3종을 20 mg/kg과 40 mg/kg 용량으로 CCl₄를 주사하기 전에 경구투여로 격일로 3회 전처치하였으며, 정상대조군은 생리식염수만 경구투여하였다. CCl₄투여 후 18시간 가량 절식시키고 치사하여 적출한 간의 무게를 측정하였다.

5. 생화학적 활성 분석

실험동물을 치사시킨 후 복부 정중선을 약간 오

른쪽으로 절개하여 심장에서 채혈한 뒤, 4°C에서 30분 방치한 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청의 생화학적 활성 측정은 Reitman-Frankel (1957)의 방법에 따라 실험군에서 채취한 혈청 중 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT)을 측정하여 간세포의 사멸과 파괴정도를 검사하였다. 간장 담관과 담도계의 장애유무를 알아볼 수 있는 alkaline phosphatase (ALP) 및 cholesterol 값을 키트를 사용하여 clinical chemical analyzer (Hitachi 7600-110, Japan)로 측정하였다. 혈청 단백질량의 측정은 Bradford 등 (1976)의 방법을 사용하였다. Cytosol 분획 중의 glutathione S-transferase 활성도는 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene (CDNB)이 glutathione S-transferase에 의해 glutathione과 포합반응을 할때 황색이 탈색되는 속도를 측정하는 Habig 등 (1974)의 실험을 보완한 방법으로 활성도를 산출하였다. Blank로는 가열하여 불활성화한 cytosol을 사용하였으며 분자흡광계수를 9.6 mM⁻¹cm⁻¹로 환산하여 계산하였다. 같은 검체에 대하여 두 번이상 검사를 실시하여 평균치를 산출하였다.

6. 조직병리학적 평가

동물들을 희생시킨 즉시 간을 적출하여 무게를 기록한 후 적출한 간조직은 1 cm³ 크기로 잘라서 시험 종료 후 모든 시험 동물군의 간장을 10% 중성 완충 포르말린액에 고정하였다. 고정된 간조직을 파라핀 포매과정을 거쳐 microtome을 이용하여 4 μm 두께의 조직절편으로 제작한 다음 Masson's Trichrome 염색과 Hematoxylin과 Eosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

7. 통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 각 군간의 비교는 Student's *t*-test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 p값이 5% 미만일 때를 통계학적 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

CCl₄는 cytochrome P-450에 의해 반응성이 높은

Table 1. The effects of 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives on the levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) in CCl₄-induced hepatotoxic rats

Treatment Dose (mg/kg, p.o.)	AST (unit/L)	ALT (unit/L)	ALP (unit/L)
Vehicle	86 ± 2.63 [#]	49 ± 6.81	29 ± 1.2
CCl ₄	965 ± 9.25**	362 ± 8.71**	87 ± 3.59**
CCl ₄ +ADA 20	124 ± 30.72	163 ± 9.26*	66 ± 13.86*
CCl ₄ +APA 20	145 ± 46.47	167 ± 18.34*	59 ± 45.12*
CCl ₄ +APA 40	174 ± 56.63*	193 ± 31.12*	73 ± 41.65**
CCl ₄ +ATA 20	123 ± 16.70	159 ± 15.84*	48 ± 37.33
CCl ₄ +ATA 40	142 ± 16.70	153 ± 12.86*	62 ± 48.34*

[#] The results presented as mean ± S.D. (n=8)

* Significantly different from Vehicle group. (p < 0.05)

** Significantly different from Vehicle group. (p < 0.01)

trichloromethyl radical로 대사되어 생체막의 지질 과산화 반응을 촉진시켜 간에서 lipoprotein 합성의 억제, 혈중 transaminase가 유리되어 ALT와 AST가 높은 활성도를 나타내고, 간세포의 지방변성 및 괴사 등을 촉진하여 간장해를 유발한다고 알려져 있다 (Fabris *et al.*, 1993; Niemela *et al.*, 1995).

CCl₄투여로 간손상이 유발된 실험군의 간 중량이 정상군의 33.6%로 유의성 있게 증가되었으며 (6.68 ± 0.22 g) (p < 0.05). 예상하였던 바대로 약물투여군에서는 CCl₄에 의한 체중 증가가 현저히 둔화되었으며 간 중량도 4.5 ± 0.27 g으로 정상대조군 4.2 ± 0.62 g과 유사한 정도의 결과를 나타내었다 (p < 0.05) (data not shown).

혈청 생화학적 활성분석 결과는 Table 1에 나타난 바와 같이 CCl₄투여로 혈청 AST는 약 11배, ALT는 약 7배 효소 활성이 증가되어 간의 손상정도가 현저한 상태로 나타났다. 즉, AST 활성분석 결과는 정상군이 86.4 ± 2.63 unit/L인 것에 비하여, 간손상이 유발된 CCl₄투여군은 965.12 ± 9.25 unit/L로써 약 10.7배가 증가되어 어떠한 처치도 하지 않은 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하여 간장해가 유발되었음을 확인하였다. ALT 활성도 측정결과에서도 정상군이 48.8 ± 6.81 unit/L인 것에 비해 CCl₄투여군은 361.9 ± 8.71 unit/L로써 약 6.6배 증가하였다. 약물투여군은 20 및 40 mg/kg 용량으로 경구투여시 대조군에 비하여 유의성 있게 AST 및

Table 2. The effects of 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives on the levels of triglyceride, cholesterol and GST in CCl₄-induced hepatotoxic rats

Treatment Dose (mg/kg, p.o.)	Triglyceride (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)	GST (nmol/min/mg protein)
Vehicle	54.90 ± 19.72 [#]	89.00 ± 21.79	3.79 ± 0.24
CCl ₄	116.8 ± 19.26**	109.46 ± 6.95*	5.59 ± 3.72*
CCl ₄ +ADA 20	64.78 ± 12.27	103.43 ± 6.79*	4.69 ± 2.48
CCl ₄ +APA 20	71.45 ± 17.15	93.67 ± 18.84	4.95 ± 1.26
CCl ₄ +APA 40	80.67 ± 18.93	99.23 ± 16.90	5.23 ± 1.72
CCl ₄ +ATA 20	74.77 ± 10.90	96.50 ± 19.87	4.16 ± 0.60
CCl ₄ +ATA 40	83.44 ± 5.88*	89.33 ± 13.32	3.55 ± 1.32

[#] The results presented as mean ± S.D. (n=8)

* Significantly different from Vehicle group. (p < 0.05)

** Significantly different from Vehicle group. (p < 0.01)

GST, glutathione S-transferase

ALT 활성증가를 저하시킨 산출결과를 나타내었으나 (p < 0.05). APA 약물군에서는 AST의 경우 유의하게 감소되었지만 (p < 0.01), ALT의 경우는 유의한 차이를 나타내지 않았다.

간기능 담도계 장애의 지표인 ALP 활성은 정상군 28.9 ± 1.2 unit/L에서 CCl₄투여군에서 86.6 ± 3.59 unit/L로 약 300% 증가하였으나 유의성은 없었고, 약물투여군은 거의 정상군 수준인 (ATA 약물군, 31.3 ± 3.93 unit/L) 것으로 나타났다 (Table 1). 간담도계 질환이나 신장 및 골조직의 질환이 있을 경우 내인성 담즙은 소수성 (hydrophobicity)이 있기 때문에 담도 폐쇄로 인해 담즙이 장기간 정체되면 일차적으로 세담관에 손상을 주고 지속적으로 정체되는 경우 간세포까지 손상된다 (Fabris *et al.*, 1993; Niemela *et al.*, 1995).

Table 2에 나타난 바와 같이 혈청 triglyceride 함량변화는 CCl₄투여로 116.8 ± 19.26 mg/dL로 증가되고 약물투여군에서는 대조군과 비교하여 (ATA 약물군, 83.4 ± 5.88 mg/dL) 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. Cholesterol 함량변화는 CCl₄투여로 109.46 ± 6.95 mg/dL로 증가되고 약물투여군에서는 대조군과 비교하여 (ADA 약물군, 103.43 ± 6.79 mg/dL) 증가를 나타내었으나 유의성은 없는 정도로 나타났다. 비정상적인 지질대사는 인슐린의 결핍과 triglyceride의 가수분해가 촉진되고 결과적으로 glycerol과 free fatty acid로의 전환이 증가된 것

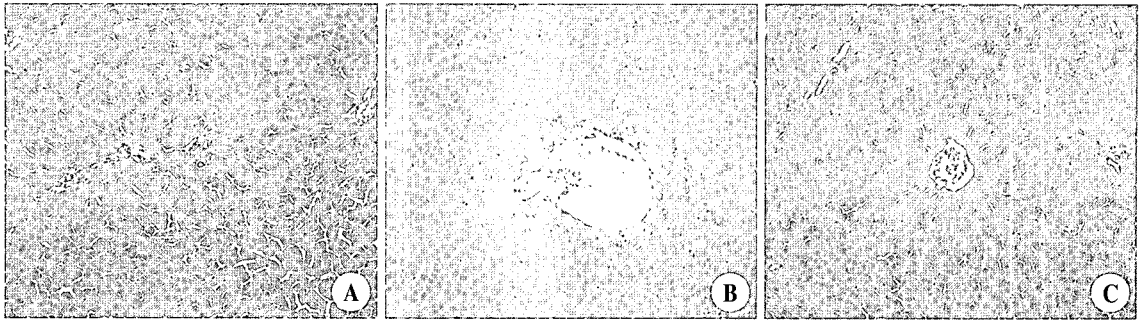


Fig. 2. Photomicrographs of liver tissue with treatment of CCl₄ and 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine derivatives. A, Vehicle; B, CCl₄-treated; C, ATA1 (Hematoxylin & Eosin Stained; original magnification × 400).

으로 사료된다. 간 손상을 일으키는 많은 물질은 triglyceride의 형태로 parenchymal cell에 지방축적을 일으킨다(Niemela *et al.*, 1995). 일반적으로 triglyceride의 축적은 parenchymal cell에 의한 triglyceride의 합성과 순환계로의 방출사이의 불균형에 의한 것이라 사료된다. Glutathione S-transferase (GST)는 세포내 해독작용을 수행하며 GST의 발현은 화학물질에 의하여 유발되는 독성물질을 체외로 배설하므로써 세포를 독성물질로부터 방어할 수 있는지를 결정하는 지표가 된다. GST를 유도하는 PAH, phenolic antioxidant (BHA, BHQ), flavonoid, thiocarbamates, dithiothiones 등은 그 자체로서 또는 대사체로서 약한 친전자성 물질을 형성하여 세포내에서 화학적 스트레스를 일으키며 GST의 기질이 되고 GSH와 포함된다. 그러므로 GST의 유도는 친전자성 물질에 의하여 일어나는 화학적 스트레스에 대한 보상기전이라고 할 수 있다. GST 측정결과 정상군 3.79 ± 0.24 nmol/min/mg protein과 비교하여 CCl₄투여군에서 5.59 ± 3.72 nmol/min/mg protein으로 유의적인 증가를 나타내었고, 약물투여군은 정상대조군과 비교하여(ATA약물군, 3.55 ± 1.32 nmol/min/mg protein) 감소를 보였으나 유의성은 없었다. CCl₄와 같은 간독성물질이 존재할 때의 생체세포가 대응하는 적응반응으로서 세포내 GSH를 증가시키는 것으로 사료된다.

Fig. 2의 조직학적 검사결과와 사진에서 보이는 바와 같이, Hematoxylin & Eosin 염색에서 정상 간 조직은 문맥역에 매우 소량의 지방성변화만 관찰되었으나(A), CCl₄투여 대조군에서는 문맥역과 문맥 주위역에 염증세포가 침윤되어 출혈 및 apopto-

tic 괴사 등 복합증상을 나타내고 세포질에 공포(vacuole)가 있음이 관찰되었다(B). 그러나 약물투여군에서는 ATA 화합물에서 문맥부에 부분적인 허혈성 변화(ischemic change)로 염색상이 비교적 흐리게만 나타났다(C). 이와 같은 결과는 CCl₄에 의해 유도된 간손상이 합성화합물 투여에 의해 상당히 호전된 것을 의미한다.

위와 같은 결과를 종합하여 볼 때 알츠하이머 질환 치료제로 임상에서 사용 중인 tacrine C환을 확대시켜 유사한 구조로 치환한 약물 3종 중 특히 ATA약물군이 CCl₄군에 비교하여 생화학적 활성분석 및 조직학적 변화분석 결과 등에서 간손상 개선효과를 보임으로써 CCl₄투여에 의해 유발된 급성 간손상 실험모델에서 보호효과를 나타냄을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 덕성여자대학교 연구비지원에 의해 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Beerman B. Side effects of long acting cholinesterase inhibitors, *Acta neurologica Scandinavica* 1993; 149: 53-54.
- Bradford MA. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry* 1976; 72: 248-254.

- Combs CK, Johnson DE, Karlo JC, Cannady SB and Landreth GE. Inflammatory mechanism in Alzheimer's disease: inhibition of β -amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPAR gamma agonists, *J. Neurosci.* 2000; 20: 558-564.
- Fabris C, Pirisi M, Panozzo M, Soardo G, Roniutto P, Hocza V and Bartoli E. Intensity of inflammatory damage and serum lipid peroxide concentrations in liver disease, *J. Clin Pathol.* 1993; 46: 346-367.
- Ferrera P and Arias C. Differential effects of COX inhibitors against β -amyloid-induced neurotoxicity in human neuroblastoma cells, *Neurochemistry International* 2005; 47(8): 589-596.
- Grundman M, Corey-Bloom J and Thal LJ. Perspectives in clinical Alzheimer's disease research and the development of antidementia drugs, *J. Neural. Transm. Suppl.* 1998; 53: 255-275.
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *J. Biol. Chem.* 1974; 249: 7130-7139
- Iwata N, Higuchi M and Saido TC. Metabolism of amyloid- β peptide and Alzheimer's disease, *Pharmacology & Therapeutics* 2005; 108(2): 129-148.
- Kiminobu S, Tolga U, Vinod K. and Hari M. New anti-inflammatory treatment strategy in Alzheimer's disease, *Jpn. J. Pharmacol.* 2000; 82: 85-94.
- Leon R, Marco-Contelles J, Garcedes AG and Villarroya M. Synthesis, acetylcholinesterase inhibition and neuroprotective activity of new tacrine analogues, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2005; 13: 1167-1175.
- Long RM and Moore L. Biochemical evaluation of rat hepatocyte primary culture as a model for carbon tetrachloride hepatotoxicity: comparative studies in vivo and in vitro, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1988; 92(2): 295-306.
- Maurizio R, Andrea D, Federica B, Lorna R, Angela R and Alessandera B. SAR of 9-Amino-1, 2, 3, 4-tetrahydro-acridine-based acetylcholinesterase inhibitors: Synthesis, enzyme inhibitor activity, QSAR and structure-based CoMFA of Tacrine derivatives, *J. Med. Chem.* 2000; 43: 2007-2018.
- McGeer PL and McGeer EG. Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease, *Neurobiology of Aging.* 2001; 22: 799-809.
- McKenna MT, Proctor GR, Young LC and Harvey AL. Novel tacrine derivatives for potential use against Alzheimer's disease: Potent and selective acetylcholinesterase inhibitors and 5-HT uptake inhibitors, *J. Med. Chem.* 1997; 40: 3516-3523.
- Morgan C, Colombres M, Nuñez MT and Inestrosa NC. Structure and function of amyloid in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* 2004; 74(6): 323-349.
- Niemela O, Parkkila S, Yla-Herttuala S, Villanueva J, Ruebner B and Hsdltded CH. Sequential acetaldehyde production, lipid peroxidation, and fibrogenesis in micropig model of alcohol-induced liver disease, *Hepatology* 1995; 22: 1208-1214.
- Reitman S and Frankel SA. Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.* 1957; 28: 56-63.
- Selkoe DJ. The cell biology of beta-amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease, *Trends in Cell Biology* 1998; 8: 447-453.
- Sonne J. Drug metabolism in liver disease: Implications for therapeutic drug monitoring, *Therapeutic Drug Monitoring* 1996; 18: 397-401.
- Shao D, Zou C, Luo C, Tang X and Li Y. Synthesis and evaluation of tacrine-E2020 hybrids as acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease, *Bioorganic & Medical chemistry Letters.* 2004; 14: 4369-4642.