

백서에서 Allopurinol에 대한 Paraquat 독성의 감소효과

이병래 · 고광삼

조선대학교 의과대학 생화학교실

THE EFFECTS OF ALLOPURINOL ON THE PARAQUAT TOXICITY IN RATS

Byoung Rai Lee and Kwang Sam Koh

Department of Biochemistry, College of Medicine, Chosun University,
Kwangju 501-759, Korea

(Received February 3, 1993)

(Accepted May 8, 1993)

ABSTRACT: In the present study, the effects of allopurinol on paraquat toxicity were investigated in paraquat-treated rats. The survivals of paraquat-treated rats were increased by allopurinol treatment. The contents of glutathione in liver and kidney were significantly decreased by paraquat, but restored by allopurinol. The activity of xanthine oxidase was significantly reduced but NADH dehydrogenase was not changed by allopurinol treatment. The activities of catalase, SOD and glutathione peroxidase in liver were significantly decreased by paraquat but catalase was restored by allopurinol treatment. The activities of those enzymes in kidney were unaltered. These results suggest that paraquat toxicity may be reduced by the administration of allopurinol, in the case of liver toxicity.

Key Words: Allopurinol, Paraquat, Superoxide dismutase

서 론

광범위 제초제 paraquat(N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridilium; methyl viologen)는 독성이 강한 물질로, 세포내에서 DT-diaphorase에 의해 NAD(P)H로부터 전자를 받아 paraquat radical로 환원되고 산소가 존재하면 oxygen radicals를 형성하며 paraquat ion으로 산화되므로(Halliwell 등, 1990), paraquat 독성은 superoxide 생성 증가와 연관된 것으로 알려져 있으나(Hassan 등, 1979; Krall 등, 1988), Forman 등(1980)은 alveolar macrophage를 이용한 실험에서 paraquat의

독성이 세포내 NADPH 감소와 관련이 있다고 보고하여 paraquat의 독성기전에 대해서는 아직도 논란이 되고있다.

Paraquat에 중독된 사람에 대한 치료는 paraquat 해독제나 치료법의 개발에 대한 실험(Addo 등, 1986; Wadanabe 등, 1986)이 실시 되었으나, 아직까지 효과적인 치료제나 치료법의 개발은 미진하여 대증요법이나, 혈액투석법, 복막투석법 등의 방법으로 치료를 하고 있으나(Arena 등, 1986), 중독증상이 나타나면 대부분 치명적인 손상이 초래된다.

Purine 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 요산으로 산화시키는 효소인 xanthine oxidase는 반응과정에서 superoxide를 생성하는데(Spector 등, 1988), xanthine oxidase는 paraquat를 paraquat radicals로 전환시키고, paraquat radicals는 산소가 존재하면 superoxide를 생성하거나, paraquat radicals이 과산화수소와 직접 반응하여 hydroxyl radicals를 생성할 수 있다(Winterbourn, 1981; Winterbourn 등, 1984).

따라서 xanthine oxidase가 억제되면 paraquat radicals의 생성이 저하될 것으로 생각되어, 본 실험에서는 xanthine oxidase 억제제인 allopurinol의 paraquat 독성 억제효과를 paraquat를 투여한 백서에 allopurinol을 병합투여하여 백서 생존율과 간 및 신장에서 superoxide dismutase (이하 SOD로 약함), catalase 및 glutathione peroxidase(이하 GPx로 약함) 활성도를 측정하였으며, xanthine oxidase와 glutathione량을 정량하였고, superoxide 생성에 미치는 paraquat와 allopurinol의 영향을 시험관내에서 관찰하였다.

재료 및 방법

시 약

Paraquat, allopurinol, xanthine oxidase, xanthine, cytochrome C, butylated hydroxytoluene (BHT), thiobarbituric acid(TBA), glutathione reductase, reduced glutathione(GSH), sodium azide, reduced nicotinamide adenine dinucleotide(NADH), reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH), Tris-Cl, a-1 antitrypsin, 5,5'-dithio bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), bovine serum albumin, potassium ferricyanide, sucrose, n-butanol sulfosalicylic acid (SSA) 등은 Sigma사 제품을 hydrogen peroxide(H₂O₂)는 E. Merk사 제품을 trichloroacetic acid (TCA)는 Aldrich사 제품을 기타시약은 특급품을 구입하여 사용하였다.

Paraquat 투여백서의 생존율 측정

실험동물은 Sprague-Dawley rats로 암수구별없이 체중 120~150 g되는 것을 사용하였다. 백서 40마리에 paraquat(100 mg/kg body weight)를 복강내로 1회 주사하여 20마리씩 두 군으로 나누어, 20마리에는 allopurinol(50 mg/kg body weight)을 생리식염수에 여 경구투여하고 12 시간 간격으로 동량을 2회 더 투여하였으며, 나머지 20마리는 동량의 생리식염수를 투여하여 생존한 백서수를 14일까지 관찰하였다.

Superoxide radical 생산량 측정

Xanthine + xanthine oxidase에 의해 생성되는 superoxide radical은 cytochrome C의 환원량을 550 nm에서 측정하였다. 즉 0.1 mM EDTA를 함유한 50 mM phosphate buffer(pH 7.8) 2.3 ml에 0.5 mM xanthine 0.3 ml와 0.1 mM cytochrome C 0.3 ml를 넣고 25°C 수조에 5분간 방치한 후, xanthine oxidase 0.1 ml를 가하여 550 nm에서 1분간 증가되는 흡광도를 측정하였으며, 상기조건에서 paraquat와 allopurinol을 첨가하여 흡광도를 측정했다.

시료의 조제

실험동물은 Sprague-Dawley rats로 암수 구별없이 체중 150~200 g되는 것을 사용하였다. 실험군은 정상 대조군, allopurinol 투여군, paraquat 투여군 및 paraquat와 allopurinol 병합 투여군으로 나누어, paraquat(50 mg/kg)는 복강내로 주사하고, allopurinol(50 mg/kg)을 1회 경구 투여하였다. 24시간 경과 후 실험동물을 경추탈골로 도살하고, 간과 신장을 적출하여 미리 냉각된 250 mM sucrose를 함유한 50 mM Tris-Cl buffer(pH 7.4)를 가하고 homogenizer로 균질화시켜 malondialdehyde(이하 MDA로 약함)량을 측정하였고, 균질액은 4°C 에서 1500×g로 15분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상청액을 조효소액으로 사용하였다.

지질과산화도 측정

지질과산화도는 지질의 과산화산물인 MDA량을 Buege 등(1978)의 TBA법에 의해서 측정하였다. 즉 TBA시약(15% w/v TCA; 0.375% TBA; 0.25 N HCl) 1.0 ml에 BHT을 최종농도가 0.01%되게 가하고 조직 균질액 0.5 ml를 가하여 90°C 에서 1시간 동안 가열한 후 즉시 냉각시켜 n-butanol 5 ml를 가하고 잘 혼합시킨 후 5000 x g로 10분간 원심분리하여 n-butanol 층을 취해 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA량은 535 nm에서 MDA의 흡광계수를 $1.56 \times 10^2 / \text{mM} / \text{Cm}$ 로 간주하여 계산하였다.

효소활성 측정

Catalase 활성도는 Aebi(1983)의 방법에 따라 H_2O_2 분해량을 240 nm에서 측정했고, SOD 활성도는 Crapo 등(1978)의 방법에 의해 xanthine + xanthine oxidase를 이용하여 cytochrome C 환원량으로 측정하였으며, glutathione peroxidase 활성은 Flohe 등(1984)의 방법으로, NADH dehydrogenase 활성도는 Adachi(1972)의 방법에 의해 전자수용체로 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 를 사용하여 측정하였으며, xanthine oxidase 활성도는 Clare 등(1981)의 방법에 의해 측정하였다.

Glutathione 정량

Glutathione 정량은 Tietze(1969)의 방법에 의해 측정하였다. 간과 신장에 5배(w/v)의 5% (w/v) SSA를 가하고 균질화하여 10,000 x g로 10분간 원심분리한 후 상청액을 시료로 사용하였다. Glutathione의 정량은 반응액(2 mM EDTA, 1 mM DTNB와 0.45 U glutathione reductase를 함유한 100 mM phosphate buffer(pH 7.5) 2.9 ml에 시료액 0.025 ml를 가하여 30°C 에서 3분간 방치한 후 NADPH를 최종농도가 0.010 mM이 되게 가하여 415 nm에서 흡광도의 변화를 1분간 측정하였고, GSH로 표준곡선을 그려 정량하였다.

단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry 등(1951)의 방법에 의해서 측정했으며, 표준 단백질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

이상의 실험결과는 Student t-test에 의해서 검정하였다.

실험결과

Allopurinol이 paraquat에 중독된 백서의 생존에 미치는 영향

백서 40마리에 paraquat(100 mg/kg)를 복강내로 주사하고, 이 중 20마리에 allopurinol(50 mg/kg)을 12시간 간격으로 3회 경구투여하여 생존한 백서의 수를 관찰한 결과, paraquat 단독투여군에서는 1일 경과 후 16마리, 2일째 13마리, 3일째에 3마리가 생존했으며, 4일째에는 생존한 백서가 없었다.

Allopurinol 병합투여군에서는 1일 경과 후 18마리, 2일째는 15마리, 3일째에 11마리, 4일째에

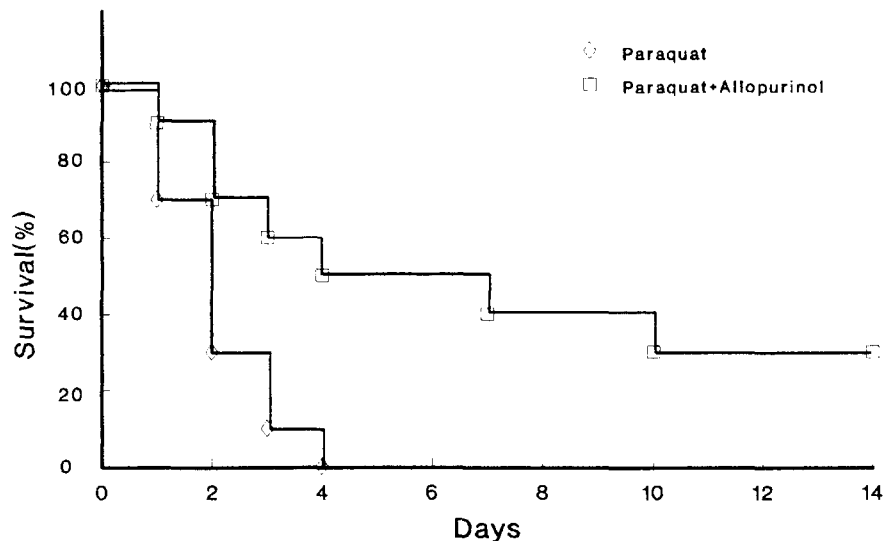


Figure 1. Effects of allopurinol on the survivals of paraquat-intoxicated rats. Allopurinol (50 mg/kg body weight) was administered orally every 12 hours for 3 times after intraperitoneal injection of paraquat (100 mg/kg body weight).

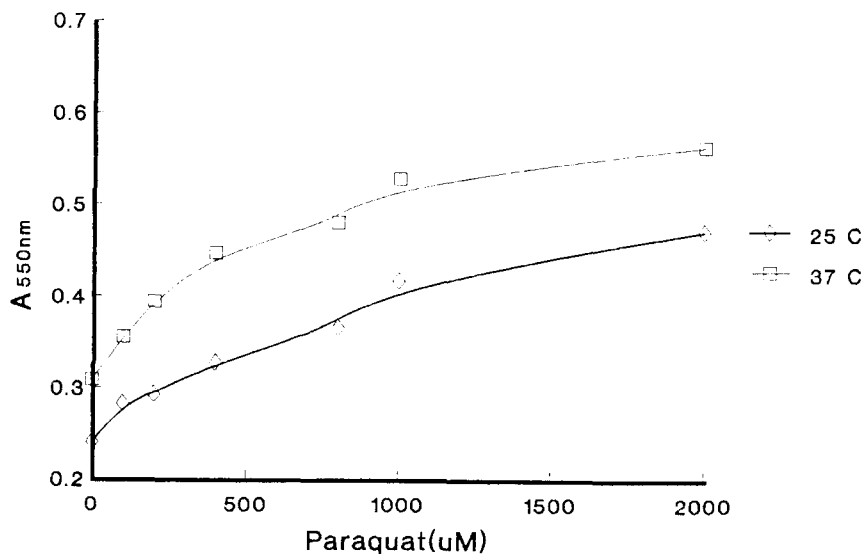


Figure 2. Effects of paraquat on superoxide production in xanthine + xanthine oxidase systems. The production of superoxide was monitored at 550 nm by reduction of cytochrome C in the presence of paraquat at 25°C or 37°C for 1 min. The reaction mixture contained 50 μ M xanthine, 50 mU xanthine oxidase and 10 μ M cytochrome C in 50 mM phosphate buffer, pH 7.8.

9마리, 7일째에는 7마리, 14일 경과 후에는 6마리가 생존해 paraquat 투여에 의한 백서 생존율이 allopurinol 투여로 증가됨을 알수 있다(Figure 1).

Xanthine + xanthine oxidase에 의한 superoxide 생성에 미치는 paraquat의 영향

Figure 2는 시험관에서 xanthine oxidase에 의한 superoxide radicals 생성량을 cytochrome C 환원량을 550 nm에서 흡광도를 측정하여 그림으로 나타낸 것이다. Paraquat를 최종농도가 각각 100, 200, 400, 800, 1000 및 2000 μM 이 되게 첨가하고 흡광도의 변화를 측정한 결과 paraquat의 농도 증가에 따라 cytochrome C 환원량이 증가됨을 보여주고 있으며, 반응액온도가 25°C에서 보다는 37°C에서 cytochrome C 환원량이 더 증가되었다(Figure 2).

Xanthine + xanthine oxidase 및 paraquat에 의한 superoxide 생성에 미치는 allopurinol의 영향

시험관에서 50 mM phosphate buffer(pH 7.8) 2.8 ml에 50 μM cytochrome C를 혼합하고 allopurinol을 최종농도가 1, 2, 4, 10, 20 및 40 μM 이 되게 각각 첨가한 후 xanthine oxidase를 첨가하여 550 nm에서 1분 동안 흡광도를 측정하였다. Allopurinol 농도가 증가함에 따라 cytochrome C 환원량은 급속히 감소하여 allopurinol 농도가 4 μM 일 때는 allopurinol을 첨가하지 않은 대조군의 cytochrome C 환원량에 비하여 25% 이하로 감소하였으며, paraquat를 최종농도 800 μM 이 되게 가해준 군에서도 allopurinol 농도가 증가함에 따라 cytochrome C 환원량이 paraquat를 첨가하지 않은 군과 유사한 유형으로 감소되었다(Figure 3).

Allopurinol과 paraquat 병합투여가 간 및 신장의 NADH dehydrogenase 및 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향

백서에 paraquat(50 mg/kg)를 복강내로 주사하고 두군으로 나누어 한군은 allopurinol(50 mg/kg)를 1회 경구투여하고, 다른 한군에는 동량임 생리식염수를 경구투여하여 24시간 경과 후에 간과 신장에서 NADH dehydrogenase 활성을 측정한 결과 paraquat나 allopurinol 투여로 인한 효소활성도의 변화는 나타나지 않았다(Figure 4).

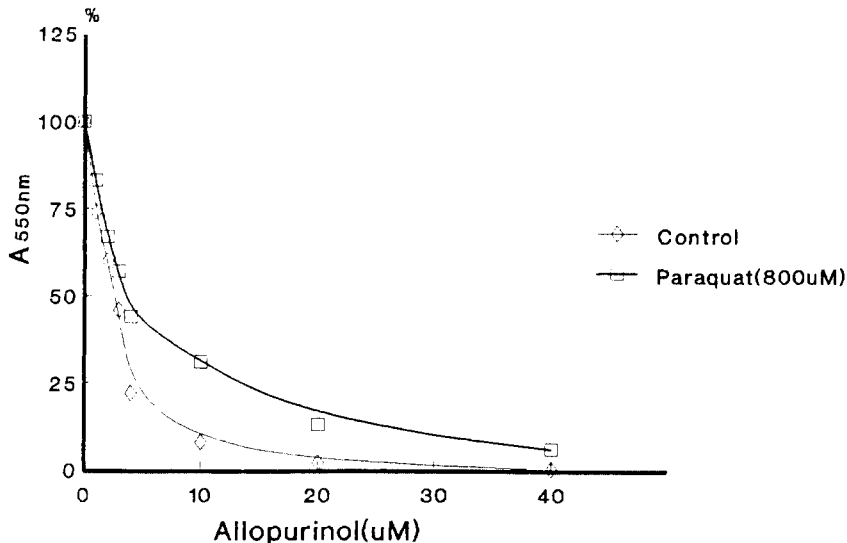


Figure 3. Effects of allopurinol on superoxide production in xanthine + xanthine oxidase systems. The production of superoxide was monitored at 550 nm by reduction of cytochrome C in the presence of 800 μM paraquat at 25°C for 1 min. The reaction mixture contained 50 μM xanthine, 50 mU xanthine oxidase and 10 μM cytochrome C in 50 mM phosphate buffer, pH 7.8. Values are means of three independent determinations.

정상대조군에서 xanthine oxidase 활성도는 간에서 신장에 비하여 약 7배 정도 높게 나타났으며, 간에서 paraquat 단독투여로 효소활성도가 33% 감소되었고, allopurinol 병합투여로 83% 감소를 나타냈으며, 신장에서는 paraquat 단독투여로 9%, allopurinol 병합투여로 68%의 효소활성도 감소를 나타내 paraquat나 allopurinol 투여로 xanthine oxidase 활성이 저하됨을 알 수 있다(Figure 4).

Allopurinol과 paraquat 병합투여가 간 및 신장 glutathione량에 미치는 영향

간장의 glutathione량은 paraquat 단독투여로 52% 감소되었으나, allopurinol 병합투여로 21%의 효소활성도 감소를 나타내, allopurinol이 glutathione량 감소억제효과를 나타냈고, 신장에서는 paraquat 투여로 35%, allopurinol 병합투여로 27%의 효소활성도 감소를 나타내, paraquat에 의한 glutathione량 감소는 간장에서 더 많았고, allopurinol의 glutathione량 감소억제 효과도 간장에서 더 유의한 효과를 나타냈다($p < 0.05$)(Table 1).

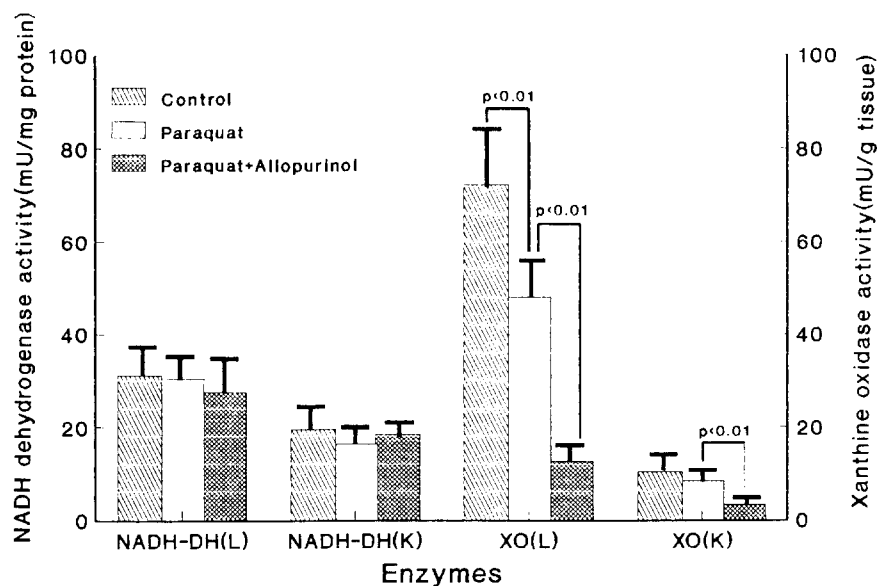


Figure 4. Effects of paraquat and allopurinol on NADH dehydrogenase (NADH-DH) and xanthine oxidase (XO) in liver (L) and kidney (K) of rats.

Table 1. Effects of allopurinol on the level of total glutathione in paraquat-treated rats (Mean \pm S.D., n=5)

Groups	Glutathione ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)	
	Liver	Kidney
Control	39.80 \pm 2.63	12.86 \pm 2.68
A	35.63 \pm 3.45	11.90 \pm 3.23
P	18.92 \pm 3.50*	8.33 \pm 3.76*
P+A	31.35 \pm 5.37**	9.36 \pm 1.10

A: Allopurinol (50 mg/kg), P: Paraquat (50 mg/kg)

* $p < 0.01$ vs. control group, ** $p < 0.01$ vs. p group.

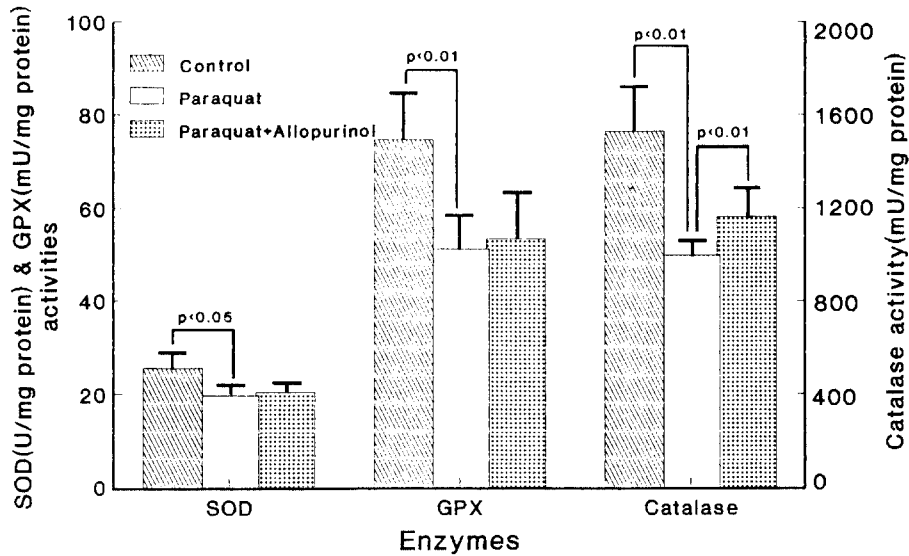


Figure 5. Effects of allopurinol on the activities of SOD, GPX and catalase in liver of paraquat treated rats. Values are Mean \pm S.D., n=5.

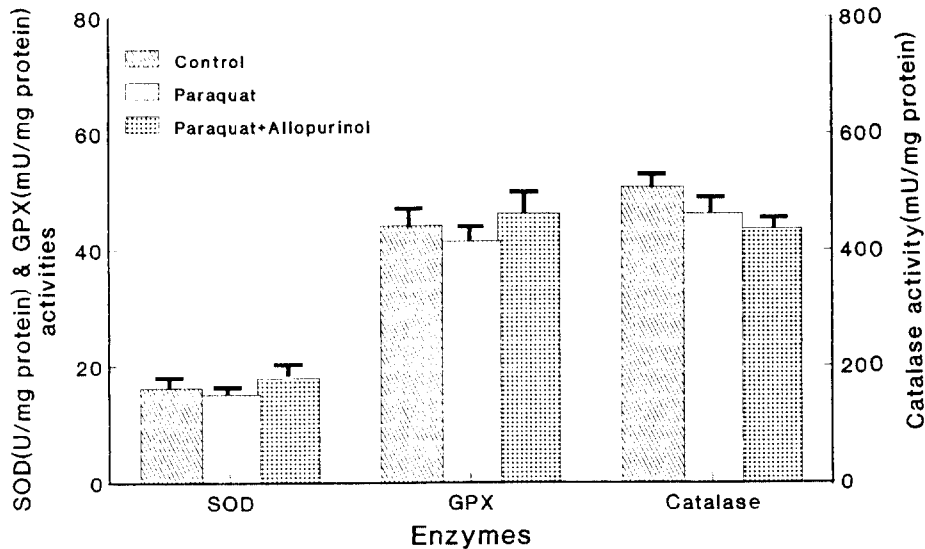


Figure 6. Effects of allopurinol on the activities of SOD, GPX and catalase in kidney of paraquat-treated rats. Values are mean \pm S.D., n=5.

Allopurinol과 paraquat 병합투여가 간 및 신장 항산화 효소활성에 미치는 영향

간장에서 catalase 활성도는 paraquat 투여로 34%가 감소되었으나, allopurinol 병합투여로 대조군활성의 76%로 회복되었으며, SOD와 GPX는 paraquat 투여로 효소활성도가 각각 23%, 31%가 감소되었으나, allopurinol 병합투여로 효소활성 변화는 없었다. 신장에서는 SOD, catalase 및 GPX 모두 paraquat나 allopurinol 병합투여로 인한 효소활성도의 변화가 감지되지 않았다(Figure 5, 6).

Table 2. Effects of allopurinol on MDA contents in paraquat-treated rats (Mean \pm S.D., n=5)

Groups	MDA (μ M/g protein)	
	Liver	Kidney
Control	88.73 \pm 13.52	108.21 \pm 12.21
A	91.34 \pm 12.21	105.13 \pm 17.11
P	101.34 \pm 17.34	132.38 \pm 14.12*
P+A	93.76 \pm 9.51	116.25 \pm 10.15**

*p<0.05 vs. control group, **p<0.05 vs. p group.

Allopurinol과 paraquat 병합투여가 간 및 신장의 MDA량에 미치는 영향

MDA량은 간장에서 paraquat 단독투여나, allopurinol 병합투여로 유의한 변화가 없었으며, 신장에서는 paraquat 단독투여로 22% 증가되었고(p<0.05), allopurinol 병합투여로 MDA 증가량이 둔화되었다(p<0.01)(Table 2).

고 찰

Xanthine oxidoreductase는 purine 염기의 대사산물인 xanthine을 요산으로 전환시키는 효소로, NAD⁻를 전자수용체로 사용하는 xanthine dehydrogenase(D type)와 산소를 전자수용체로 이용하는 xanthine oxidase(O type)가 존재하는데, 여러 조건에서 D type은 O type으로 전환된다(Halliwell 등, 1990; Clare 등, 1981). 산소를 전자수용체로 사용하는 xanthine oxidase는 반응과정에서 superoxide radical를 생성하는데(Halliwell 등, 1990; Clare 등, 1981), 허혈시 세포내 단백질해 효소의 작용으로 D type이 O type으로 전환되므로(Paller 등, 1984; Perler 등, 1990), xanthine oxidase에 의한 superoxide 생성증가는 ATP 감소와 함께 허혈성 세포손상의 주요인으로 알려져 있다(Paller 등, 1984; Perler 등, 1990).

Paraquat는 세포내에서 DT-diaphorase에 의해서(Halliwell 등, 1990), 또는 xanthine oxidase나 glutathione reductase 등에 의해서 paraquat radicals를 생성하며, paraquat radicals은 산소를 superoxide로 전환시킨다(Winterbourn 등, 1984). 본 실험에서 xanthine oxidase에 의한 superoxide 생성에 미치는 paraquat의 영향을 시험관내에서 xanthine과 cytochrome C를 함유한 효소반응액에 xanthine oxidase를 가하여 생성된 superoxide를 cytochrome C 환원량으로 측정된 결과, paraquat 첨가량에 따라 cytochrome C 환원량이 증가되므로, xanthine oxidase에 의한 superoxide 생성량이 paraquat에 의해서 증가된 것으로 나타났다. Xanthine oxidase 억제제로 알려져 있는 allopurinol(Halliwell 등, 1990; Spector 등, 1988)을 반응액에 첨가하면 xanthine oxidase에 의한 cytochrome C 환원량이 감소되었는데, paraquat가 함유된 반응액에서도 유사한 유형을 나타냈다. 이상의 실험결과 생체내에서도 paraquat는 xanthine oxidase에 작용하여 superoxide 생성을 증가시키며 allopurinol은 xanthine oxidase에 의한 superoxide 생성을 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다.

따라서 백서에 paraquat를 복강내로 투여하고 allopurinol을 경구투여하여 백서 생존율을 paraquat 투여 후 14일 까지 관찰한 결과 allopurinol 병합투여로 백서 생존율이 증가되었다. Paraquat에 의해 oxygen free radicals 생성을 증가시키는 효소로 알려진 NADH dehydrogenase(Halliwell 등, 1990; Fridovich, 1989)와 xanthine oxidase의 활성에 미치는 allopurinol의 영향을 알기 위해 paraquat나 allopurinol을 투여한 백서의 간과 신장에서 효소활성을 측정된 결과, NADH dehydrogenase는 간이나 신장에서 모두 paraquat나 allopurinol에 의한 변화가 없었으나, xanthine oxidase 활성은 간에서 paraquat에 의해서는 33%가, allopurinol과 paraquat의

병합투여로는 83%가 감소되었으며, 신장에서 paraquat에 의해서 19%가, allopurinol과 paraquat의 병합투여로는 67%가 감소되어, allopurinol에 의한 xanthine oxidase 활성이 억제되었는데, 효소활성 억제효과는 간장에서 더 강하게 나타났다. 이상의 결과로 allopurinol이 NADH dehydrogenase 활성에는 영향이 적기 때문에 allopurinol이 paraquat 독성에 대한 감소효과는 주로 xanthine oxidase를 억제함으로써 paraquat에 의한 superoxide radicals 생성을 저하시켜 나타난 결과로 추정된다.

Oxygen radicals에 의한 독성은 superoxide나 과산화수소로부터 Haber-Weiss 반응이나, Fenton 반응결과 superoxide보다 반응성이 더욱 강한 hydroxyl radicals를 형성하여, hydroxyl radicals가 DNA나 세포막 지질 및 단백질 등을 손상시킬 수 있으므로, superoxide 독성은 주로 HO 형성에 의해 나타난다(Halliwell 등, 1990; Fred 등, 1976).

Superoxide radicals를 제거하는 효소인 SOD는 superoxide을 H_2O_2 와 O_2 로 전환하고(Halliwell 등, 1990; Fridovich, 1989). H_2O_2 는 catalase와 glutathione peroxidase에 의해 소거되는데, glutathione peroxidase는 GSH를 GSSG로 산화시키면서 H_2O_2 를 제거하고 glutathione reductase에 의해 NADPH를 소모하면서 다시 GSH로 환원되므로, 이들 효소와 glutathione 및 NADPH는 세포내에서 free radicals에 의한 손상방지에 중요하다(Halliwell 등, 1990; Meister 등, 1983).

Paraquat 투여 백서에서 SOD와 catalase 활성은, 간장에서는 효소활성 감소를 나타냈으나, allopurinol 병합투여로 효소활성 감소의 둔화를 나타냈고, glutathione peroxidase는 paraquat 투여로 효소활성 감소를 나타냈으나, allopurinol 병합투여로 유의한 효소활성도 감소둔화를 나타내지는 못하였으며, 신장에서는 paraquat나 allopurinol 투여로 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase 모두 유의한 효소활성의 변화가 없었다. 이상의 결과로 allopurinol의 paraquat 독성에 대한 예방효과는 신장보다는 간장에서 더 큰 것으로 나타났는데, 이는 xanthine oxidase 활성이 간장에서 신장에 비하여 높기 때문에 항산화 효소활성의 변화나 glutathione량의 변화에 대한 allopurinol의 예방효과가 간장에서 더 큰 것으로 생각된다.

생체내에서 superoxide radicals을 제거하여 항산화 작용을 나타내는 glutathione은 cysteine과 glutamate로부터 합성된 tripeptide로 단백질의 분해나 합성, DNA 합성 및 화학약품이나 약제대사에 직접 또는 간접적으로 관여한다(Halliwell 등, 1990; Meister 등, 1983). 본 실험결과 paraquat 투여 백서의 간 및 신장 glutathione량은, 간에서는 53%가 감소되었으나, allopurinol 병합투여로 glutathione 감소량이 현저히 둔화되었으며, 신장에서는 paraquat 투여로 35%가 감소되었으나, allopurinol 병합투여로 glutathione 감소가 약간 둔화되어, allopurinol이 paraquat에 의한 glutathione량 저하에 대해 억제효과를 나타냈고, allopurinol의 효과가 신장보다는 간에서 더 큰 것으로 나타내 xanthine oxidase 활성과 연관된 것으로 생각된다.

세포막의 지질과산화는 lipid radical 형성과 이중결합 위치가 재배치되는 복합적인 과정에 의해 막 손상이 초래되는 일련의 반응으로 MDA은 지질과산화의 지표로 이용되고 있다(Halliwell 등, 1990; Buege 등, 1978). 본 실험결과 paraquat 투여백서의 간장 MDA량은 변화가 없었고, 신장 MDA량은 paraquat에 의해 증가를 나타냈고, allopurinol 병합투여로 유의한 감소를 나타냈는데, 이러한 결과는 간장에 항산화작용을 나타내는 glutathione과 같은 항산화물질이나 항산화효소의 양이 신장에 비하여 많기 때문에 신장보다 paraquat에 의한 세포막 지질과산화가 더 낮은 것으로 생각된다.

이상의 실험결과 allopurinol은 paraquat 중독백서의 생존율을 증가시키는데, allopurinol이 xanthine oxidase에 의한 superoxide radicals의 생성을 저하시키고, paraquat 투여로 인한 항산화 효소활성이나 glutathione량의 변화에 대한 allopurinol의 효과가 xanthine oxidase 활성이 높은 간에서 더 큰 것으로 미루어, allopurinol의 효과는 xanthine oxidase를 억제하여 paraquat radicals 생성이 저하됨으로서, superoxide나 hydroxyl radicals의 생성이 감소되어 나타난

결과를 추측된다.

참고문헌

- Adachi, K. (1972): Studies on reduced pyridine dehydrogenase in bovine erythrocytes, *Biochim. Biophys. Acta.*, **289**, 262-268.
- Addo, E. and King, T. P. (1986): Leukocyte suppression treatment of 72 patients with paraquat poisoning, *Lancet*, 1117-1120.
- Aebi, H. (1983): Catalase, *Methods Enzymatic Analysis*, **3**, 273-286.
- Arena, J. M. and Drew, R. H. (1986): *Poisoning*, 5th ed. Chales C Thomas publisher, Illinois, U.S.A., 239-245.
- Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978): Microsomal lipid peroxidation, *Methods Enzymol.*, **52**, 302-310.
- Bus, J. S., Aust, S. D. and Gibson, J. E. (1974): Superoxide- and singlet oxygen-catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **58**, 749-755.
- Clare, A. D., Blakistone, A. B., Swaisgood, E. H. and Horton, R. H. (1981): Sulfhydryl oxidase-catalyzed conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase, *Arch. Biochem. Biophys.*, **211**, 44-47.
- Crapo, C. H., McCord, J. M. and Fridovich, I. (1978): Preparation and assay of superoxide dismutase, *Methods Enzymol.*, **53**, 382-393.
- Flohe, L., Wolfgang, A. and Gunzler, W. A. (1984): Assay of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.*, **105**, 114-121.
- Forman, H. J., Nelson, J. and Fisher, A. B. (1980): Rat alveolar macrophage require NADPH for superoxide production in the respiratory burst, *J. Biol. Chem.*, **255**, 9879-9883.
- Fred, J., Yost, J. and Fridovich, I. (1976): Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage, *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 514-519.
- Fridovich, I. (1986): Biological effects of the superoxide radical, *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**, 1-15.
- Fridovich, I. (1989): Superoxide Dismutases, *J. Biol. Chem.*, **264**, 7761-7764.
- Hassan, H. M. and Fridovich, I. (1979): Intracellular production of superoxide radical and of hydrogen peroxide by redox active compounds, *Arch. Biochem. Biophys.*, **196**, 385-395.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1990): Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease, *Methods Enzymol.*, **186**, 1-85.
- Kaminski, Z. W. and Jezewska, M. M. (1979): Intermediate dehydrogenaseoxidase form of xanthine oxidoreductase in rat liver, *Biochem. J.*, **181**, 177-182.
- Krall, J., Bagley, A. C., Mullenbach, G. T., Hallewell, R. A. and Lynch, R. E. (1988): Superoxide mediates the toxicity of paraquat for cultured mammalian cells, *J. Biol. Chem.*, **263**, 1910-1914.
- Lowry, C. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 256-277.
- Meister, A. and Anderson, M. E. (1983): Glutathione, *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 711-760.
- Paller, M. S., John, R. H. and Thomas, F. F. (1984): Oxygen free radicals in ischemic

- acute renal failure in the rat, *J. Clin. Invest.*, **74**, 1156-1164.
- Perler, B. A., Tohmeh, A. G. and Bulkley, G. B. (1990): Inhibition of the compartment syndrome by the ablation of free radical-mediated reperfusion injury, *Surgery*, **108** (1), 40-47.
- Spector, T. (1988): Oxypurinol as an inhibitor of xanthine oxidase-catalyzed production of superoxide radical, *Biochem. Pharma.*, **37**(2), 349-352.
- Sutton, H. C. and Winterbourn, C. C. (1984): Chelated iron-catalyzes OH formation from paraquat radicals and H₂O₂, *Arch. Biochem. Biophys.*, **235**, 106-115.
- Tietze, F. (1969): Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione, *Anal. Biochem.*, **27**, 502-522.
- Watanabe, N., Shiki, Y., Morisaki, N., Saito, Y. and Yoshida, S. (1986): Cytotoxic effects of paraquat and inhibition of them by vitamin E, *Biochem. Biophys. Acta.*, **883**, 420-425.
- Winterbourn, C. C. (1981): Production of hydroxyl radicals from paraquat radicals and H₂O₂, *FEBS Lett.*, **128**, 339-342.