

## Paraquat 독성에 미치는 Glycyrrhizin의 효과

김 연 판 · 홍 사 옥

성균관대학교 약학대학

(Received September 10, 1988)

### Effect of Glycyrrhizin on Paraquat Intoxication

Yeon Pan Kim and Sa Uk Hong

College of pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon, 440-746, Korea

**Abstract**—The herbicide, paraquat, has caused numerous poisonings in man and farm animals since its interoduction. Although the lungs are the primary sites of toxicological effect, other organs are also damaged, such as liver, heart, and kidney. The biochemical mechanisms responsible for the toxicity of the herbicide are not clearly understood. The purpose of the present study was to determine the hepatotoxicity of paraquat in rats and the effects of glycyrrhizin on the paraquat toxicity.

The experimental results are the followings.

1. The values of serum AST, ALT, LDH, ALP, glucose, and cholesterol were significantly increased in the paraquat administered group.
2. The TBA values in serum and liver were also increased in the treated group.
3. The biochemical parameters of serum, such as AST, ALT, LDH and TBA values, were significantly low in the paraquat plus glycyrrhizin group in comparison with that of the paraquat only.

The above results suggest that the glycyrrhizin, somehow, detoxify the hepa to toxicity of paraquat in the experimenta-animals.

近年 除草劑인 paraquat의 使用量이 增加함에 따라 paraquat로 汚染된 飼料를 攝取한 家畜의 폐사 혹은 paraquat에 관한 知識不足과 誤用으로 인한 人命被害 等の 예가 報告되고 있다.<sup>1-5)</sup>

paraquat 中毒에 관한 임상학적 所見은 經口 攝取될 때 우선 목에 熱灼感을 느끼며 嘔吐를 일으키고 2~3日 後에는 咯血과 頻尿症을 수반 하면서 咽喉 및 식도에 潰瘍이 생기며 또한 中毒이 더욱 심한 경우는 5~8日 後에 黃疸, 發熱 및 頻搏에 이어서 呼吸시 심한 痛症이 나며 靑色症(cyanosis)를 일으킨다고 한다. 皮膚로 接觸 吸收될 경우는 腐蝕性 損傷과 肝의 障碍를 일으키며<sup>6)</sup> paraquat 1~100 $\mu$ g을 흡입할 때 急性症狀는 없으나 肺의 時限的인 纖維增殖症의 原因이 될 수 있다고 報告되어 있다.<sup>7)</sup> paraquat에 中毒된 患者의 尿에서 paraquat가 1mg/hr 以上 排泄 되거나 血漿中 濃도가 0.1 $\mu$ g/ml 以上이 되면 肺

胞動脈內的 酸素句配가 현저히 되었다고 한다.<sup>8)</sup>

paraquat의 生體內分布는 일시적으로 肺에서 高濃度로 分布되고 生物學的 半減期는 血漿과 組織內에서 20~30分이라고 報告되어 있다.<sup>9)</sup>

paraquat는 高濃度에서 DNA 合成 억제로 細胞增殖를 저해하나 低濃度에서는 별 變化가 없다고 한다.<sup>10)</sup> 또한 mixed function oxidase의 活性에 영향을 주며 細胞內 NAD-PH의 소모를 促進하여 結果的으로 毒性이 增加한다고 主張하고 있다.<sup>11)</sup>

paraquat 中毒에 관한 研究는 주로 臨床病理 組織學的인 面에서 이루어졌으며 特히 肺를 위주로 하여 研究가 進行되어 왔다. 그러나 이들의 發顯機轉에 對한 生化學的 研究는 아직 不明하며 血液相, 肝 및 腎臟에 관한 毒性學的 研究와 paraquat 解毒<sup>12,13)</sup>에 관한 研究는 稀少하였다.

따라서 著者 등은 금번에 paraquat 中毒에 의한 rat의 血液相 및 肝과 腎臟에 미치는 毒性調査와 아울러 自古로부터 解毒, 抗炎 및 抗潰瘍作用等<sup>14-16</sup>과 관련이 있음이 알려진 甘草의 主成分인 glycyrrhizin이 paraquat의 毒性에 미치는 영향을 檢討하여 興味있는 知見을 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

## 實驗 方法

1. 實驗動物 및 藥物投與方法—體重 200g 內외의 건강한 雄性 Sprague-Dawley系 흰쥐를 下記의 市販飼料로 일주간 飼育하여 實驗室環境에 적응시킨 다음 8~10마리를 一群으로 하여 다음과 같은 實驗群으로 구분하였다.

飼料組成—조단백질 22%, 조지방 30%, 조섬유 6%, 회분 9%, Ca 0.6%, P 0.4%

A) PQ反復投與群—paraquat dichloride 42% 水溶液(以下 PQ라 稱함)을 saline으로 희석하여 0.2% 용액으로 한 다음 체중 kg당 10mg<sup>17,18</sup>을 4日 간격으로 계속 4회 腹腔內에 反復投與한다.

B) PQ 用量別 1회 投與群—PQ를 saline에 용해하여 10, 20 및 30mg/kg을 각각 3群의 實驗動物 腹腔內에 投與한 後 24時間後에 관찰하였다.

C) PQ 및 glycyrrhizin 併用投與群(以下 併用投與群이라 稱함)—PQ 10, 20, 30mg/kg을 각각 腹腔內에 1回 投與한 직후 glycyrrhizin dipotassium salt(以下 GLC라 稱함) 96%를 saline에 용해하여 2% 용액으로 한 다음 체중 kg당 100mg을 각 實驗動物群의 腹腔內에 PQ 投與直後 併用 投與하였다.

2. 體重, 肝 및 腎臟의 重量測定—實驗用 rat의 體重變化를 계측한 후 腹部大動脈에서 채혈하였다. 채혈 후 肝과 腎臟을 0.9% NaCl 溶液으로 관류<sup>19-21</sup>하여 血液을 除去한 다음 적출하고 重量變化를 계측하였다.

3. 肝 및 腎臟의 microsome 分劃의 分離—적출한 肝 및 腎臟을 0.25M sucrose 溶液에 homogenizer 시켰다. 10~20%의 肝 homogenate를 Kamath等<sup>22</sup>의 方法을 改良한 Cinti 等<sup>19</sup>의 方法

에 따라 조작하여 遠心分離한 다음 그 pellet을 microsome 分劃으로 使用하였다.

4. Cytochrome P-450 含量測定—microsome 分劃內의 cytochrome P-450 含量測定은 Omura와 Sato<sup>20</sup>의 方法을 참조하고 Takashi等<sup>23</sup>의 變法에 準하여 조작한 후 difference spectrophotometry로 450nm와 500nm에서 吸光度를 測定하고 그 差異를 molar extinction difference를 104 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>로 하여 cytochrome P-450의 含量을 計算하였다.

5. NADPH-cytochrome c reductase의 活性測定—Master 等<sup>24</sup>의 方法을 참조하고 Mazel<sup>25</sup>의 方法에 準하여 조작한 後 550nm에서 1분간의 吸光度를 測定하고 molar extinction difference를 19.1mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>로 하여 NADPH-cytochrome c reductase의 活性를 計算하였다.

6. Microsomal protein의 含量測定—microsomal 蛋白質含量은 Lowry等<sup>26</sup>의 方法에 準하여 定量하였다.

## 7. 過酸化脂質의 測定

1) 肝 microsome 分劃內의 過酸化脂質 測定 rat microsome 分劃 0.2ml을 取하고 Oishi<sup>27</sup>의 方法에 準하여 조작한 後 532nm에서 吸光度를 測定하였다.

標準液은 1, 1, 3, 3, -tetramethoxy propane 5n mole을 使用하였다.

2) Serum 中の 過酸化脂質測定—rat serum 0.1ml에 0.4ml의 生理食鹽水를 加하여 Yagi<sup>28</sup>의 方法에 의하여 조작한 後 Spectrofluorophotometer로 emission 파장 515nm, excitation 파장 553nm에서 형광을 測定하였다.

8. 血液相의 生化學的 臨床檢査—채혈한 rat 血液을 실온에서 30분간 방치한 후 2,000g에서 20분간 원심분리시켜 얻은 血清을 autoanalyzer (Impact 400E, Gilford社)를 使用하여 血液相을 測定하였다.

## 實驗 結果

### 1. Paraquat 反復投與에 의한 毒性

體重 및 肝과 腎臟의 重量變化—PQ 反復投與

**Table 1.** Effect of paraquat (PQ) on body weights in rats.

Times	Control	VP(%)	PQ-treated	VP(%)
0	197.5±5.30		201.3±8.59	
1	197.9±8.69	+0.2	189.8±10.39	-5.7
2	200.3±8.47	+1.4	185.4±10.47	-7.9
3	202.7±7.65	+2.6	183.8±12.12	-8.7
4	206.4±9.15	+4.5	179.8±10.89	-10.7

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.

VP : Variation percent

**Table 2.** Effect of paraquat on the liver and kidney weights per body weight ratio(%) in rats

Times	Liver/b.w.	VP(%)	Kidney/b.w.	VP(%)
0	4.15±0.139		1.03±0.038	
1	4.13±0.134	-0.48	1.01±0.032	-1.94
2	4.07±0.142	-1.93	0.99±0.031	-3.88
3	4.02±0.113	-3.13	0.98±0.028	-4.85
4	3.92±0.132	-5.54	0.96±0.033	-6.80

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.

VP : Variation percent b.w. : Body weight

에 따른 體重變化는 table 1. 및 2. 에서 보는 바와 같다.

體重은 PQ 投與回數에 따라 점차 감소하였고 體重對 肝 및 腎臟重量의 比도 投與回數에 따라 점차 감소하는 경향을 보이고 있다.

一) 血液相의 生化學的 變化—PQ 反復投與에 따른 血液相은 table 3. 에서 보는 바와 같다.

AST 및 ALT 活性은 PQ 投與回數에 따라 점차 증가하였고 latic dehydrogenase(以下 LDH) 活性은 2회까지는 有意하게 增加하였으나 3회投與時부터 약간 감소하는 경향을 보이고 있다. alkaline phosphatase(以下 ALP) 活性은 別變化가 없었으며 blood urea nitrogen(以下 BUN) 은 PQ 投與 3회까지는 점차 완만하게 증가하나 別 有意性은 없었고 4회에서 현저히 增加하였다 Triglycerides(以下 TG)는 PQ 投與 2회數까지 別變化가 없었으나 3 및 4회에서는 有意하게 감소하였다. glucose는 2회 投與時부터 有意하게 增加하였다. cholesterol은 PQ 投與回數에 따라 약간 增加하는 경향이 있었다. total protein은 1

회 PQ 投與時는 약간 增加하였으나, 2, 3 및 4 회에는 別로 差가 없었다. albumin은 2회 PQ投與時에서는 약간 增加하는 경향이 있었으나 3회부터는 反對로 약간 감소하는 경향이 있었다. A/G ratio도 albumin과 같이 別로 變化가 없었다.

一) 肝·腎臟中の cytochrome P-450 含量, NADPH-cytochrome c reductase의 活性 및 protein 含量變化—table 4. 에서 보는 바와 같이 肝 microsome 分割中の cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 PQ 投與回數에 따라 점차 有意하게 減少하였다. 腎臟 microsome 分割中の cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 各 PQ 投與群에서 別로 有意한 差가 없었다.

一) 肝 및 腎臟 microsome 分割中の protein 含量變化 肝 및 腎臟 microsome分割中の protein 含量은 table 5. 에서 보는 바와 같이 別 變化가 나타나지 않았다.

一) 過酸化脂質의 變化—PQ 反復投與에 따른 血清 및 肝 microsome 分割中 過酸化 脂質의 變化는 table 6. 에서 보는 바와 같이 PQ 投與回數에 따라 각각 23.14%에서 41.18% 및 34.07%에서 82.96%의 현저한 增加率을 나타냈다.

## 2. Paraquat 投與量에 따른 毒性과 glycyrrhizin의 解毒效果

一) 體重, 肝 및 腎臟의 重量變化 및 體重對 比에 미치는 영향—體重, 肝 및 腎臟의 重量變化는 table 7. 에서 보는 바와 같다.

PQ 投與 24時間 後 投與量에 따라 體重이 減少하였으며 특히 PQ 30mg/kg 投與群에서 有意하게 減少하였다. GLC 100mg/kg을 併用投與한 各 實驗群은 PQ 用量別投與群에 비해 體重減少率이 鈍化되었다.

一) 血液相의 生化學的 變化—PQ 投與量에 따른 血液相의 生化學的 變化는 table 8. 에서 보는 바와 같다.

AST 및 ALT 活性은 PQ 用量別投與群에서 PQ 投與量의 增加에 따라 점차 有意하게 增加하였으나 GLC를 併用投與한 群은 PQ 用量別投與群에 비하여 AST 및 ALT 活性의 增加率이

**Table 3** Effect of paraquat on the the biochemical parameters in serum of rats.

Biochem. para.	Times	0	1	2	3	4
AST(U/L)		105.4±6.04	153.7±3.94**	163.8±7.33**	179.4±6.80**	189.5±4.62**
ALT(U/L)		52.1±3.04	79.7±3.13**	85.2±3.65**	104.2±5.29**	113.2±4.24**
LDH(U/L)		383.0±21.28	508.6±27.03**	870.3±38.60**	801.6±24.54**	780.6±25.74**
ALP(U/L)		221.2±14.67	235.4±10.66	250.4±19.18	254.0±15.65	259.2±12.62
BUN(mg/dl)		18.9±1.13	22.1±0.57	22.2±1.87	23.1±1.57	29.0±1.11**
TG(mg/dl)		70.1±3.97	60.7±2.87	59.8±2.23	52.8±3.36**	47.1±1.89**
Glucose(mg/dl)		102.0±6.37	125.0±13.67	145.3±14.24*	149.9±7.87**	169.2±9.04**
Cholesterol(mg/dl)		50.5±2.32	56.7±3.14	62.4±2.83*	56.8±1.99	55.6±2.43
TP(g/dl)		6.9±0.15	7.4±0.15*	7.2±0.06	7.2±0.07	7.1±0.19
Albumin(g/dl)		3.5±0.14	3.6±0.12	3.8±0.15	3.7±0.15	3.7±0.13
A/G ratio		1.2±0.08	1.1±0.07	1.2±0.10	1.2±0.12	1.3±0.13

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.

Significant difference between control and paraquat group. (\*, p<0.05, \*\*, p<0.01)

**Table 4.** Effect of paraquat on hepatic and renal microsomal cytochrome P-450 contents, and NADPH-cytochrome c reductase activity in rats.

Times	Items	Microsomal cytochrome P-450		NADPH-cytochrome c reductase	
		Liver	Kidney	Liver	Kidney
0		0.776±0.0343	0.235±0.0113	129.5±5.95	12.65±0.450
1		0.709±0.0414	0.274±0.0192	112.6±6.46	12.56±0.520
2		0.632±0.0318*	0.251±0.0131	93.4±5.13**	12.06±0.422
3		0.610±0.0263**	0.224±0.0138	90.6±3.97**	12.26±0.334
4		0.584±0.0253**	0.221±0.0147	81.7±5.46**	12.92±0.558

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.

Significant difference between control and paraquat group. (\*, p<0.05, \*\*, p<0.01)

Unit : cytochrome P-450(n mole/mg protein)

NADPH-cytochrome c reductase(n mole cyt. c. reduced/min/mg protein)

**Table 5.** Effect of paraquat on hepatic and renal microsomal protein concentration(mg/g wet weight) in rats.

Times	Liver	VP(%)	Kidney	VP(%)
0	21.6±0.54	—	18.9±0.47	—
1	21.3±0.63	-1.39	19.0±0.60	-0.53
2	21.1±0.58**	-2.31	18.7±0.66**	-1.06
3	20.8±0.71**	-3.70	18.6±0.50**	-1.59
4	20.5±0.68**	-5.09	18.6±0.69**	-1.59

Each value is the mean±SE 8~10 rats.

Significant difference between control and paraquat group. (\*\*, p<0.01)

VP : Variation percent

**Table 6.** Effect of paraquat on serum and hepatic microsomal TBA value in rats.

Times	serum	VP(%)	Liver	VP(%)
0	2.55±0.105	—	1.35±0.032	—
1	3.14±0.104*	+23.14	1.81±0.070**	+34.07
2	3.45±0.099**	+35.29	2.41±0.066**	+78.52
3	3.28±0.096**	+28.63	2.53±0.089**	+87.41
4	3.60±0.147**	+41.18	2.47±0.094**	+82.96

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.

Significant difference between control and paraquat group. (\*, p<0.05, \*\*, p<0.01)

Unit : Serum(n mol/ml), Liver(nmol/mg protein)

VP : Variation percent

**Table 7.** Effect of paraquat and glycyrrhizin on body weight, liver and kidney weight per body weight ratio(%) in rats.

Groups	Initial b.w.	Final b.w.	Liver/b.w.	VP(%)	Kidney/b.w.	VP(%)
Control	197.5± 5.30	197.9± 8.69	4.15±0.139	—	1.03±0.038	—
GLC(100mg/kg) only	188.0± 7.65	184.1± 5.68	4.36±0.172	—	1.05±0.035	—
PQ(10mg/kg) only	201.3± 8.59	189.8±10.39	4.13±0.134	-0.48	1.01±0.032	-1.94
PQ(10mg/kg)+ GLC(100mg/kg)	183.8±12.28	175.0±10.39	4.20±0.158	-3.67	1.05±0.031	—
PQ(20mg/kg) only	184.0± 4.47	168.4± 5.70	4.12±0.142	-0.72	0.98±0.036	-4.58
PQ(20mg/kg)+ GLC(100mg/kg)	181.9± 6.81	169.2± 6.48	4.17±0.144	-4.36	1.02±0.035	-2.86
PQ(30mg/kg) only	180.0± 3.82	157.5± 2.88	4.10±0.109	-1.20	0.97±0.030	-5.83
PQ(30mg/kg)+ GLC(100mg/kg)	213.1±10.99	191.9±13.06	4.11±0.178	-5.73	1.02±0.043	-2.86

Each value is the mean±SE of 8~10 rats. VP : Variation percent, b.w. : Body weight

**Table 8.** Effect of paraquat and glycyrrhizin on biochemical parameters in serum of rats.

Groups	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)	ALP (U/L)	BUN (mg/dl)	TG (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)	TP (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio
Control	105.4 ±6.04	52.1 ±3.04	383.0 ±21.28	221.2 ±14.67	18.9 ±1.13	70.1 ±3.97	50.5 ±2.32	7.3 ±0.27	3.5 ±0.14	1.2 ±0.08
GLC(100mg/kg) only	98.4 ±5.72	52.3 ±1.63	386.9 ±16.51	216.9 ± 8.86	19.2 ±0.94	71.2 ±3.63	42.6 ±1.08*	7.4 ±0.29	3.6 ±0.09	1.1 ±0.09
PQ(10mg/kg) only	153.7 ±3.94	79.7 ±3.13	508.6 ±27.03	235.4 ±10.66	22.1 ±0.57	60.7 ±2.87	56.7 ±3.14	7.4 ±0.15	3.6 ±0.12	1.1 ±0.07
PQ(10mg/kg)+ GLC(100mg/kg)	129.5 ±5.63*	59.3 ±1.40**	493.5 ±27.63	220.1 ± 7.40	19.3 ±0.56	62.1 ±3.04	53.3 ±2.82	8.2 ±0.35	5.7 ±0.32**	1.2 ±0.05
PQ(20mg/kg) only	171.8 ±11.20	84.6 ±2.68	618.5 ±22.00	304.8 ±53.18	23.4 ±1.01	59.6 ±2.55	67.5 ±4.57	7.5 ±0.28	3.8 ±0.17	1.2 ±0.10
PQ(20mg/kg)+ GLC(100mg/kg)	160.3 ±7.16	64.5 ±1.51**	556.1 ±38.99	243.2 ±9.09*	19.8 ±1.18*	64.8 ±1.94	57.3 ±2.56	8.2 ±0.23	6.8 ±0.24**	1.2 ±0.06
PQ(30mg/kg) only	206.3 ±5.98	93.0 ±5.29	724.9 ±12.04	322.8 ±66.56	20.4 ±1.14	53.7 ±2.68	69.8 ±2.97	7.5 ±0.16	3.6 ±0.07	1.1 ±0.02
PQ(30mg/kg)+ GLC(100mg/kg)	186.8 ±7.95	72.9 ±4.29*	588.0 ±24.53**	257.4 ±6.60*	20.4 ±1.88	62.1 ±6.07	64.7 ±2.68	8.7 ±0.29*	6.9 ±0.17**	1.3 ±0.05

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.

Significant difference between paraquat and paraquat+glycyrrhizin group. (\*, p<0.05, \*\*, p<0.01)

有意하게 減少하였다. LDH 및 ALP 活性和 BUN은 PQ 用量別 投與群에서 投與量の 増加에 따라 増加하였으나 GLC 併用投與群은 有意하게 減少하였다. TG와 cholesterol은 PQ 用量別投與時 약간 増加하나 GLC 併用投與時는 減少하는 경향이 있지만 有意性은 없었다. total protein 및 albumin은 PQ 用量別 投與群에서 投與量の 増加에 따라 増加하며 GLC를 併用投與한 群에서는 別 變化가 없었다.

Cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性變化: PQ와 GLC 併用投與에 따른 肝 및 腎臟 microsome 分割中の cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性變化는 table 9.에서 보는 바와 같다.

肝 microsome 分割中の cytochrome P-450 含量 및 NADPH cytochrome c reductase 活性에 있어서 PQ 用量別 投與群은 PQ 投與量에 따라

**Table 9.** Effect of paraquat and glycyrrhizin on hepatic and renal microsomal cytochrome P-450 contents, and NADPH-cytochrome c reductase activity in rats.

Groups	Items	cytochrome P-450		NADPH-cytochrome c reductase	
		Liver	Kidney	Liver	Kidney
Control		0.776±0.0343	0.235±0.0113	129.5±5.95	12.65±0.450
GLC(100mg/kg) only		0.910±0.0413	0.227±0.0152	132.6±6.25	12.98±0.570
PQ 100mg/kg only		0.709±0.0414	0.274±0.0192	112.6±6.46	13.01±0.507
PQ(10mg/kg)+GLC(100mg/kg)		0.791±0.0297	0.268±0.0331	114.7±6.68**	13.34±0.839**
PQ20mg/kg only		0.694±0.0361	0.552±0.0274	102.1±6.97	14.82±0.065
PQ(20mg/kg)+GLC (100mg/kg)		0.757±0.0287	0.408±0.0229**	111.2±8.38**	13.82±0.620**
PQ 30mg/kg only		0.680±0.0542	0.567±0.0192	100.4±6.28	14.01±0.690
PQ (30mg/kg)+GLC(100mg/kg)		0.745±0.0316	0.441±0.0257**	110.2±8.75**	13.01±0.792**

Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.

Significant difference between paraquat and paraquat+glycyrrhizin group. (\*, p<0.05, \*\*, p<0.01)

Unit : cytochrome P-450(n mole/mg protein)

NADPH-cytochrome c reductase(n mole cyt. c reduced/min/mg protein)

**Table 10.** Effect of paraquat and glycyrrhizin on hepatic and renal microsomal protein concentration (mg/g wet weight) in rats.

Groups	Liver	VP(%)	Kidney	VP(%)
Control	19.6±0.44		18.4±0.67	
GLC 100mg/kg only	20.2±0.99		19.8±0.86	
PQ 10mg/kg only	20.1±0.70	+2.55	19.5±0.66	+5.98
PQ(10mg/kg)+GLC(100mg/kg)	20.5±0.66	+1.46	20.4±0.42	+3.03
PQ 20mg/kg only	20.5±0.60	+4.59	20.5±1.02	+11.41
PQ(20mg/kg)+GLC(100mg/kg)	21.1±1.23	+4.46	22.3±0.79	+12.63
PQ 30mg/kg only	22.1±0.84	+12.76	21.6±0.60	+17.39
PQ (30mg/kg)+GLC(100mg/kg)	21.7±0.69	+7.43	22.6±0.69	+14.14

Each value is the mean±SE of 8-10 rats. VP : Variation percent

**Table 11.** Effect of paraquat and glycyrrhizin on serum and hepatic microsomal TBA value in rats.

Groups	Serum	VP(%)	Liver	VP(%)
Control	2.55±0.105		1.35±0.032	
GLC 100mg/kg only	2.53±0.097		1.29±0.061	
PQ 10mg/kg only	3.14±0.104	+23.14	1.81±0.070	+34.07
PQ(10mg/kg)+GLC(100mg/kg)	3.10±0.140	+22.53	1.38±0.037*	+6.98
PQ 20mg/kg only	4.41±0.132	+72.94	2.11±0.089	+56.30
PQ(20mg/kg)+GLC(100mg/kg)	3.84±0.109*	+51.77	1.42±0.033**	+10.08
PQ 30mg/kg only	4.58±0.103	+79.61	2.17±0.125	+60.74
PQ (30mg/kg)+GLC(100mg/kg)	4.10±0.135*	+62.06	1.57±0.087**	+21.71

Each value is the mean±SE of 8-10 rats.

Significant difference between paraquat and paraquat+glycyrrhizin group. (\*, p<0.05, \*\*, p<0.01)

Unit : Serum(n mole/ml), Liver(n mole/mg protein), VP : Variation percent

약간적 다같이 減少하는 경향을 보이거나 別 有意성은 없었고 GLC 併用投與群에서도 增加하는 경향은 있으나 大體的으로 有意한 變化가 없었다. 腎臟 microsome 分割中の cytochrome P-450 및 NADPH cytochrome c reductase는 PQ 用量別 投與群에서 投與量에 따라 增加하였다. GLC 併用投與群에서는 減少하는 추세가 보이며 PQ 20 및 30mg/kg와 GLC를 併用投與한 群은 用量別 投與群에 비해 各各 有意하게 減少하였다.

一) microsomal protein의 含量變化—PQ와 GLC 併用投與에 따른 肝 및 腎臟 microsome 分割中の protein含量變化는 table 10.에서 보는 바와 같이 PQ用量別投與與은 投與量에 比例하여 점차 增加하는 경향을 보였으나 有意성은 없었다. GLC 併用投與群은 肝 및 腎臟 microsome 分割中の protein 含量도 有意한 差가 나타나지 않았다.

一) 過酸化脂質의 變化—PQ 用量別 및 GLC 併用投與에 따른 血清 및 肝 microsome 分割中 過酸化脂質의 變化는 table 11.에서 보는 바와 같다.

血清의 過酸化脂質은 PQ 用量別投與群에서 投與量의 增加에 比例하여 增加하였으나 GLC 併用投與群은 PQ用量別投與群에 비해 減少하였다. 肝 microsome 分割中の 過酸化脂質도 PQ投與量의 增加에 比例하여 增加하였으며 GLC併用投與群에서는 有意한 減少를 나타냈다.

## 考 察

PQ 投與回數 및 投與量이 增加할수록 體重이 減少하였다. Ohima等<sup>18)</sup>은 rat에 PQ를 1개월간 投與한 毒性實驗에서 體重變化가 일어나지 않음을 報告하였으나 Sharp等<sup>7)</sup>은 rat의 致死原因이 投與方法에 關係없이 飼料攝取量의 減少로 인한 體重減少에 關聯이 있다고 報告하였다. Giri等<sup>29)</sup>은 rat腹腔內에 PQ를 投與한 48時間 後에 體重 이 減少하였다고 報告하였다. Tanaka等<sup>10)</sup>은 cultured mammalian cell이 PQ 40 $\mu$ M에서는 cell growth가 抑制되나 0.08~0.4 $\mu$ M에서는 別로 變化가 없다고 報告한 바 있다. 따라서 PQ 毒性

에 의한 體重減少는 飼料攝取量의 減少, 泄瀉, 肝 glycogen 分解 및 cell growth 抑制等に 起因된 것으로 사료된다. GLC 併用投與群에서 體重 減少率이 鈍化되었는데 體重減少가 抑制된 것은 GLC이 PQ 中毒에 의한 體重減少 要因에 効果的으로 作用한 것으로 사료된다.

肝 및 腎臟의 重量變化는 PQ만을 投與한 群에서 다같이 減少하는 傾向을 나타냈다. 이는 Oshima等<sup>18)</sup>이 PQ를 投與한 rat의 肝에서만은 PQ 投與量에 比例하여 어느정도 重量이 減少하는 傾向이 있었으나 肺, 心臟, 腎臟에서는 有意한 變化가 없었다는 報告와 類似하였다.

血液相의 生化學的 檢査에 있어서 AST, ALT 및 LDH는 PQ 投與群에서는 投與回數 및 投與量에 比例하여 增加하였다. Oshima等<sup>18)</sup>과 Vuska等<sup>30)</sup>은 PQ 中毒에 의해 AST와 ALT 活性이 低下됨을 報告하였고 이는 PQ를 低濃度로 장기간 投與할 때 肝障害에 關係없이 酵素活性만 低下된 것이라고 推理하고 있다. 한편 Dikshith等<sup>31)</sup>은 PQ에 中毒된 家兎에 있어서 AST는 變化가 없었으나 ALT는 增加됨을 報告하고 病理的인 組織損傷이 일어나기 이전에 膜透過性의 變化가 생긴 때문이라고 主張하였다. 또한 PQ는 生體內에서 lipid peroxidation을 일으켜 enzyme의 膜透過性에 變化를 준다고 하였다. 筒井<sup>32)</sup>은 PQ에 대한 急性毒性實驗에서 AST 및 LDH가 上昇됨을 報告하였고 1979年 Giri等은 rat에 PQ 45mg/kg을 腹腔內 投與했을 때 AST는 增加하나 ALT는 影響이 없음을 報告하였다. 또한 1982年 Giri等<sup>33)</sup>은 beagle dog에 PQ 25mg/kg을 靜脈注射한 후 血漿 AST 및 LDH가 增加됨을 報告하였다. Murray와 Gibson<sup>34)</sup>은 PQ 中毒에 있어 一般的으로 AST 및 ALT, 變化는 實驗動物의 種類와 性 및 投與方法에 따라 差異가 있다고 하며 PQ에 中毒된 사람의 血清에 있어서는 AST 및 ALT가 增加됨을 報告하였다. 또한 吳等<sup>35)</sup>도 PQ를 rat의 腹腔內에 投與했을 때 AST 및 ALT가 增加됨을 報告한 바 있다. 이는 PQ의 過酸化脂質作用에 의해 膜의 透過性에 變化를 줄 뿐만 아니라 肝障害가 일어났기 때문인 것으로 사료된다. Dikshith等<sup>31)</sup>은 male 家兎

에 PQ를 매일 11mg/kg을 經口投與할 때 ALP가 減少한다 하며 Verma等<sup>36)</sup>도 PQ에 中毒된 buffalo carves에서 serum ALP가 減少된다고 報告하였다. 그러나 Murray와 Gibson<sup>34)</sup>은 PQ에 中毒된 사람에서 ALP, BUN이 增加됨을 報告하였다. 本實驗에서는 PQ 投與回數에 따라서는 별로 變化가 없었으나 投與量을 增加할 때 上昇하였는데 이는 PQ 投與量의 增加로 因하여 肝이나 腎臟에 損傷이 일어나는데 起因한 것으로 사료된다. TG는 PQ 投與回數 및 投與量의 增加에 따라 약간씩 減少되는 傾向을 보였다. Barabas等<sup>37)</sup>도 PQ에 中毒된 mouse에서 blood TG가 減少되며 脂質過酸化에서 불포화 脂肪酸의 하나로 공급되기 때문이라고 하였다. 血中 glucose 濃도가 增加되었음은 PQ에 의해서 plasma insulin의 枯渴이 되어 肝 glycogen이 分解되어서 血中 glucose가 增加된다는 Giri等<sup>29)</sup>, Rose等<sup>33)</sup>의 報告와 類似하다. cholesterol은 PQ 投與群에서 對照群에 비해 投與回數와 量에 比例하여 약간씩 增加하였다. 이는 脂質代謝에 影響을 주는 毒物에 의하여 cholesterol值가 높아지는 것과 같은 現象이 아닌가 생각된다.

PQ와 GLC을 併用投與한 群의 血液相에서는 PQ를 用量別로 投與한 群에서 增加되었던 AST, ALT, ALP, BUN, TG, cholesterol이 GLC를 併用投與함에 따라 增加率이 抑制됨을 알 수 있었다. 이는 GLC이 解毒作用, 抗炎症作用, 抗潰瘍作用 등의 效果가 있다고 알려져 있어<sup>14-16)</sup>, PQ에 의해 損傷을 입은 肝이나 腎臟을 어느정도 回復시켜 주는데 起因한 現象이라고 사료된다.

Lipkine<sup>39)</sup>은 甘草가 粘液促進作用에 의하여 粘膜細胞의 life span을 연장시키며 粘膜上皮細胞의 增加와 分化에 作用할 가능성이 있어 Holland의 double component barrier의 제 1 방위선인 粘膜皮膜을 補強하는 동시에 제 2 방위선인 上皮細胞自體의 壽命을 연장할 수 있다고 시사한 바 있다.

Illet等<sup>40)</sup>은 PQ를 投與한 rat의 肝 microsome에 있어서 NADPH-cytochrome c reductase 活性과 cytochrome P-450 含量이 增加됨을 報告하였고 Matkovics等<sup>41)</sup>은 mouse에 PQ를 經口投

與했을 때 cytochrome P-450 含量이 肝에서는 PQ 投與量의 增加에 따라 減少하는데 腎臟에서는 이와 상반되는 傾向이 나타남을 報告한 바 있다.

本實驗에서 肝에서 PQ 投與群의 cytochrome P-450 含量이 投與回數에 따라서 減少하였다. 投與量을 일시에 增加시킬 때는 肝에서는 약간 減少하는 傾向을 보여 주었고 腎臟에서는 반대로 增加하여 Matkovics等<sup>41)</sup>의 報告와 一致하였다. Matkovics 등은 이 결과로 미루어 PQ나 methyl viologen은 직접적으로 금속함유 효소와 상호작용을 할 수 있는 redox Substance ( $E_0' = -0.44V$  at pH 7.0)이라고 하였다. 이러한 개념은 lipid peroxidation에 대해 관찰한 결과에 의해 더욱 잘 입증된다고 하며 PQ 저농도에서 PQ(aerobic electron donor로서)는  $O_2^-$ 음이온 radical의 형성을 촉진하고 반면에 고농도에서 PQ는 electron acceptor로 작용하여  $O_2^-$  anion에서 electron을 꺼집어 내게 되며  $HO_2$  radicals가 脂質過酸化作用의 역할을 한다고 하였다. 이러한 작용은 一般的으로  $CCl_4$ 와 같은 化合物이  $\cdot CCl_3$  free radical을 形成하여 過酸化脂質을 增加시키는 동시에 cytochrome P-450 含量을 抑制하는 現象과도 類似함을 알 수 있었다. 이러한 結果는 앞으로 病理組織學的 연구와 결부시켜 더 많은 연구가 요구된다. NADPH-cytochrome c reductase 活性變化도 投與量에 따라서 肝에서는 역시 減少하는 傾向이 있었으나 腎臟에서는 별 變化가 없었다. 이는 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 cytochrome P-450 含量의 消長에 比例한다는 一般的인 理論에 附合되는 結果를 보였다.

鄭等<sup>42)</sup>은 毒性物質에 의해 抑制된 藥物代謝酵素가 glycyrrhetic acid에 의해 酵素活性이 다시 增強됨을 報告하였다. 本實驗에서는 GLC併用投與에 따라 肝에서는 增加하는 傾向을 보이고 腎臟에서는 약간 減少되어 GLC이 肝 및 腎臟의 cytochrome P-450의 酵素活性을 正常으로 回復시켜주는 效果가 있는 것으로 사료된다.

肝 및 腎臟 microsome 分割中の protein 含量이 PQ 投與量에 따라 모두 增加하는 경향이 있으며 이는 rat의 腹腔內에 PQ를 投與했을 때 投

與量에 比例하여 肝의 細胞質內的 蛋白質量이 增加된다는 吳等<sup>35)</sup>의 報告와 類似하였다. GLC을 併用投與할 때는 약간 減少하는 傾向을 보여 GLC에 의한 回復作用이라 사료된다.

PQ가 lipid peroxidation을 일으키는 機轉에 관한 報告<sup>41,43-45)</sup>는 허다하다. 本實驗에서도 血清 및 肝 microsome 分劃中の 過酸化脂質이 投與回數 및 投與量의 增加에 比例하여 上昇하였다. GLC를 併用投與할 때 PQ 用量別投與時 보다 有意하게 抑制되어 GLC은 脂質代謝를 正常으로 回復시키는 效果를 가진 것으로 사료된다.

Yaska等<sup>44)</sup>은 PQ를 攝取한 사람에서 急性 肝 및 腎臟損傷이 일어났으나 hemodialysis 實施와 Vitamin E 投與로 改善되었지만 결국 肺의 fibrosis에 의해 死亡했다고 報告하였다. Matkovic等<sup>13)</sup>은 glutathion, ascorbic acid, vitamim E, catalase가 PQ 毒性防止에 重要な 役割을 합을 報告하였고 Olen等<sup>12)</sup>은 niacin 및 thiamine이 PQ 毒性을 減少시키는 效果를 報告한 바 있다. 本實驗에서 나타난 結果로 미루어 GLC도 PQ의 毒性을 減少시키는 效果를 나타내고 있음을 알았다.

### 結 論

PQ의 投與回數 및 量에 比例하여 血清中の AST, ALT, LDH, ALP, glucose, BUN, cholesterol이 增加하였으나 TG는 低下되었다. 또한 cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 肝에서는 減少하였고 腎臟에서는 投與量에 따라 增加하였다. 血清 및 肝 過酸化脂質은 投與回數 및 量에 比例하여 현저히 增加하였다.

glycyrrhizin을 併用投與한 群은 PQ 單獨投與 群에 비하여 血清中 AST, ALT, LDH, ALP, BUN, cholesterol量이 약간 低下되었으나 TG는 반대로 약간 增加되었다. 또한 腎臟 microsome 分劃中の cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 다같이 약간 減少하였고 肝 microsome 分劃中の cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 약간 增加하여 正常的으로 回復되어 감을

알았다. 血清 및 肝 過酸化脂質은 glycyrrhizin 併用投與에 의해 有意하게 低下되었다.

### REFERENCE

- 1) David Spector, Donald Whorton, James Zachary, and Richard Slavin: Fatal paraquat poisoning—Tissue concentrations and implications for treatment. *The Johns Hopkins Medical Journal* 142, 110-113 (1978).
- 2) Robert H. Cravey: Poisoning by paraquat. *Clinical Toxicology* 14(2), 195-198 (1979).
- 3) J. Keir Howard: Paraquat—A review of worker exposure in normal usage. *J. Soc. Occup. Med.* 30, 6-11 (1980).
- 4) Lisa A. Russell, Berniece E. Stone, and Pierce A. Rooney: Paraquat poisoning—Toxicologic and pathologic findings in three fatal cases. *Clinical Toxicology* 18(8), 915-928 (1981).
- 5) Vandenbogaerde J., Schelstraete J., Colardyn F. and Heyndrickx A.: Paraquat poisoning. *Forensic Science International* 26, 103-114 (1984).
- 6) Manzo L., Gregotti C., Di Nucci A., Richelmi P.: Toxicology of paraquat and related biphenyls—Biochemical, clinical, and therapeutic aspects. *Vet. Hum. Toxicol.* 21, 404 (1979).
- 7) Thomas J. Haley: Review of the toxicology of paraquat. *Clinical Toxicology* 14(1), 1-46 (1979).
- 8) Okonek S., Baldamus C.A., Hofmann A., Schuster C.J., Bechstein P.B., and Zoller B.: Two survivors of severe paraquat poisoning by continuous hemoperfusion. *Klin. Wochenschr.* 57, 957-959 (1979).
- 9) Charles Wm. Sharp, Anna Ottolenghi and Herbert S. Posner: Correlation of paraquat toxicity with tissue concentrations and weight loss of the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 22, 241-215 (1972).
- 10) Tanaka Reico and Amano Yasuji: Stimulation and inhibition of DNA synthesis and cell growth by paraquat in cultured cells. *The Journal of Toxicological Sciences* Vol. 10, 309-314

- (1985).
- 11) Mark R. Montgomery, Patricia B. Shamblin: Ascorbic acid potentiates the substrate-specific inhibition of mixed-function oxidation and the stimulation of NADPH oxidation caused by paraquat. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **13**, 69-81 (1984).
  - 12) Olen R. Brown, Michael Heitkamp and Cheng-Shu Song: Niacin reduces paraquat toxicity in rats. *Science* Vol. 212, 26, June (1981).
  - 13) Matkovics B., Barabas K., Varga Sz. I., Szabo L. and Berencsi G.: Some new data to the toxicological effects of paraquat and therapy. *Gen. Pharmacol.* Vol. 13 333-341 (1982).
  - 14) 渡迅知夫: カンゾウの薬理作用, 代謝 Vol. 10, 626-631 (1973).
  - 15) 能谷朗: カンゾウの生理作用. 代謝 Vol. 10, 632-645 (1973).
  - 16) 矢野三郎: カンゾウの臨床的應用とその背景. 代謝 Vol. 10, 659-663 (1973).
  - 17) Paul Smith, Donald Heath and J.M. Kay: The pathogenesis and structure of paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats. *The Journal of Pathology* Vol. 114, 54-67 (1974).
  - 18) Hidehiko Oshima, Hisao Nishimura and Noriko Nishimura: Experimental studies on the toxicity of herbicide paraquat (Report 1). *愛知醫科大學 醫學雜誌* **7**(2), 98-103 (1979).
  - 19) Cinti D.L., Moldeus P. and Schenkman S.: Kinetic parameters of drug metabolizing enzyme in  $Ca^{++}$  sedimented microsome from rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **21**, 3249-3256 (1972).
  - 20) Omura T. and Sato R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes, I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370-2378 (1964).
  - 21) Carson P. and Schoenig G.P.: Induction of liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase cytochrome P-450 by some new synthetic pyrethroids. *Toxicology & Applied Pharmacology* **51**, 507-512 (1980).
  - 22) Kamath S.A. Kummerow F.A. and Narayan K. A.: A simple procedure for the isolation of rat liver microsomes. *Febs Letters* **17**(1), 90-92 (1971).
  - 23) Takashi M., Mashiro K., Akira T., Yoshihiro T. and Koichi S.: Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. *Ana. Biochem.* **75**, 596-603 (1976).
  - 24) Masters B.S.S., Williams Jr. C.H. and Kumin H.: The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome c reductase from pig liver. In *Methods in Enzymology* Vol. 10, pp. 565-573, Ed. by Estabrook R.W and Pullman M.E., Academic Press, New York (1967).
  - 25) Mazel P.: Comparison of microsomes from control and phenobarbital pretreated rats as to NADPH-cytochrome c reductase activity. In *fundamentals of drug metabolism and drug disposition*, 575-577, Ed. by La Du E.N., Mandel H.G. and Way E.L. (1972).
  - 26) Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J.: Protein measurement with the folin-protein reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275 (1951).
  - 27) 大石誠子: 過酸化脂質 測定法. *最新醫學* **33**, 660 (1978).
  - 28) Kunio Yagi: Micro-determination of lipoperoxide in blood plasma or serum. *Vitamines* **49**, 10, 403 (1975).
  - 29) Shri N. Giri, Donald L. Curry, Manfred A. Hollinger and Mary Freywald: Effect of paraquat on plasma enzymes, insulin, glucose and liver glycogen in the rat. *Environmental Research* **20**, 300-308 (1979).
  - 30) Vuksa Marina, Neskovic Nesko, Vitorovic Slavojub and Karan Vesela: Subacute toxicity of paraquat in rats biochemical effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **7**(5), 475-483 (1983).
  - 31) Dikshith T.S.S., Datta K.K., Raizada R.B. & Kushwah H.S.: Effect of paraquat dichloride in male rabbits. *Indian Journal of Experimental Biology* Vol. 17, September, 926-928 (1979).
  - 32) 筒井淳平他: *農村醫學* **25**, 614-621 (1976).
  - 33) Giri Shiri N., Parker Harold R., Spangler William L., Misra Hara P., Ishizaki Goro, Schiedt Mary J. and Chandler David B.: Pharmacokinetics of [ $C^{14}$ ] paraquat and associated

- biochemical and pathologic changes in beagle dogs following intravenous administration. *Fundam. Appl. Toxicol.* 2(5), 261-269 (1982).
- 34) Ronald E. Murray and James E. Gibson: A comparative study of paraquat intoxication in rats, guinea pigs and monkeys. *Experimental and Molecular Pathology* 17, 317-325 (1972).
- 35) 오덕환, 노순백, 서용태, 경춘표, 조건국: Paraquat 투여에 의한 백서간장의 변화에 관한 연구. *The Korean Journal of Internal Medicine* Vol. 30, No. 3, 367-372 (1986).
- 36) Verma S.P. and Bahga H.S.: Acute toxicity studies on paraquat(1,1-dimethyl-4,4-bipyridinium dichloride). *Indian J. Anim. Sci.* 46(8), 408-13(1976).
- 37) Barabas K., Matkovics B. and Berencsi G.: New considerations on the time dependence of toxic changes caused by paraquat poisoning. *Gen. Pharmacol.* 14(3), 381-3 (1983).
- 38) Michael S. Rose, Helen C. Crabtree, Kenneth Fletcher and Ian Wyatt: Biochemical effects of diquat and paraquat. Disturbance of the control of corticosteroid synthesis in rat adrenal and subsequent effects on the control of liver glycogen utilization. *Biochem. J.* 138, 437-443(1974).
- 39) Lipkin M.: *Gut*, 12, 599 (1971).
- 40) Kenneth F. Ilett, Bitten Stripp, Raymond, Watson D. Reid and James R. Gillette: Studies on the mechanism of the lung toxicity of paraquat; Comparison of tissue distribution and some biochemical parameters in rats and rabbits. *Toxicology and Applied Pharmacology* 28, 216-226 (1973).
- 41) Matkovics B., Szabo L., Varga Sz. I., Novak R., Katalin Marabas and Berencsi G.: In vivo effects of paraquat on some oxidative enzymes of mice. *Gen. Pharmac. Vol.* 11, 271-174(1997).