

Biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB)가 염화 제2수은-유발 간독성 흰쥐에서의 지질 과산화와 Oxygen Free Radical 제거효소 활성도에 미치는 영향

신인철* · 고희철

한양대학교 의과대학 약리학교실

Effects of Biphenyldimethyl Dicarboxylate(DDB) on the Lipid Peroxidation and Oxygen Free Radical Scavenging Enzyme Activities in Mercuric Chloride-induced Hepatotoxic Rats

In Chul SHIN* and Hyun Chul KOH

Department of Pharmacology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

(Received August 17, 1995; accepted August 2, 1995)

Abstract—In an attempt to define the effects of biphenyldimethyl dicarboxylate (DDB) on the lipid peroxidation and oxygen free radical scavenging enzymes activities in mercuric chloride-induced hepatotoxic rats, we studied malondialdehyde (MDA) level and the activities of catalase and superoxide dismutase (SOD) in liver of the rats at 24 hr after the injection of mercuric chloride. Sprague-Dalwey albino rats were injected subcutaneously with mercuric chloride (5 mg/kg) only and mercuric chloride (5 mg/kg) plus DDB (200 mg/kg/day, *p.o.*) is administered for 4 days prior to 3 days from the injection of mercuric chloride. The group treated with mercuric chloride showed significantly higher MDA level and lower catalase and SOD activities as compared with that of control group. The group treated with mercuric chloride plus DDB showed significantly lower MDA level and catalase activity and higher SOD activity as compared with that of mercuric chloride-treated group. These results suggest that the excessive oxygen free radicals resulting from the depression of superoxide dismutase activity is an important determinant in the pathogenesis of mercuric chloride-induced hepatotoxicity and DDB has antioxidant effects.

Keywords □ biphenyldimethyl dicarboxylate (DDB), mercuric chloride, hepatotoxicity, malondialdehyde (MDA), catalase, superoxide dismutase (SOD)

수은은 중금속류 중에서도 가장 광범위하게 의약품으로서 활용되어온 물질이나 유해작용이 표출됨에 따라 의약품으로서의 수은제제는 독성이 적고 더 효율적인 물질로 대체되고 수은을 함유하는 제제가 임상적으로는 거의 사용되지않고 있으나, 산업폐기물로 배출되는 고농도의 중금속에 의한 환경오염, 중금속으로된 취사도구의 사용으로 인한 노출의 위험성 등은 오히려 증대되고 있어 환경오염으로 인한 수은중독은 심각한 정도에 이르르고 있음(Klassen 등, 1986; Gilman 등, 1987; Raffle 등, 1987)이 우리의 현실이다.

간장에 대한 수은의 독작용에 대하여 Olczyk 등(1990)은 간장에서 collagen과 elastin 함량이 증가된다고 하였고 Sellinger 등(1991)과 Ballatori 등(1988)은 포유류의 간세포에서 수은은 sulfhydryl group을 필요로 하는 sodium ion 의존성 alanin 섭취와 Na⁺/K⁺-ATPase 활성도를 억압한다고 하였다.

한편 호기성 세포에서는 superoxide radical(O₂⁻), hydroxyl radical(OH[·]) 및 hydrogen peroxide(H₂O₂)가 발생될 수 있으며, 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(Goldberg와 Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody와 Hassan, 1982; Jun-

*To whom correspondence should be addressed.

queira 등, 1986). Cadmium에 폭로된 동물 실험에서는 superoxide radical과 hydrogen peroxide의 생성이 증가되고(Sajiki 등, 1983) 지질 과산화반응이 촉진되었다고 하였고(Klimczak 등, 1984; Jamall과 Smith, 1985; Hussain 등, 1987), Shin과 Koh(1994)는 수은의 간독성에 대한 한 작용기전으로서의 oxygen free radical과의 관계를 보고하였다.

근래에 중국에서는 한방 생약제인 북오미자(*Schizandrae chinensis*)의 열매에서 분리된 활성성분인 Schizandrin C의 합성동축체의 하나인 biphenyldimethyl dicarboxylate(DDB)를 주 성분으로 한 제제를 간질환의 치료제로서 개발하여(Wang, 1984) 사용하여 왔으나 DDB의 항산화효과에 대한 보고는 없는 실정이므로 이에 oxygen free radicals에 의한 손상과 관련이 있는 염화 제2수은-유발 간독성 흰쥐에서의 DDB의 지질 과산화와 oxygen free radical 제거효소 활성도에 미치는 영향을 관찰하여 DDB의 항산화효과를 규명하고자 본 실험을 시도하였다.

실험방법

실험동물은 체중 280~300 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 실험기간중 사료와 물은 임의로 섭취하게 하였다. 흰쥐 7마리씩을 한군으로 하여 실험군을 DDB(코러스 제약 주식회사) 투여군, 염화 제2수은(Sigma Chemical Co.) 투여군 및 염화 제2수은-DDB 병합투여군으로 구분하였고, 동량의 생리식염수를 투여한 동물을 대조군으로 하였다. 공시약은 투약을 체중 kg당 염화 제2수은은 5 mg을 1회 피하주사하였고, DDB는 200 mg을 염화 제2수은 투여 3일 전부터 1일 1회씩 4회 경구투여하였다. 염화 제2수은 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 534 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 지질 과산화 정

도를 malondialdehyde(MDA) 함량으로 측정하였고, KMnO₄ 적정을 이용한 Cohen 등(1970)의 방법으로 480 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 catalase 활성도를 측정하였다. Catalase 활성도는 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 H₂O₂의 초기 농도, S_t 는 H₂O₂의 t 분때의 농도를 의미한다. 그리고 pyrogallol의 autoxidation 억압을 이용한 Marklund와 Marklund(1974)의 방법으로 bovine kidney SOD를 표준으로 하여 420 nm에서 그 흡광도를 분광광도계(Gilford 260, Ohio, USA)로 측정하여 superoxide dismutase (SOD) 활성도를 측정하였다.

MDA 함량과 catalase와 SOD 활성도의 분석은 mg 단백질에 대한 함량과 활성도로 표현되며, 단백질은 Lowry 등(1951)의 방법으로 측정하였다. Student's t-test를 이용하여 통계처리하였고, 각 데이터는 평균±표준편차로 나타내었다.

실험결과

MDA 함량 (nmol/mg protein)

대조군에서는 1.01±0.12 이었으나, DDB 투여군에서는 1.15±0.28 (대조치의 114%), 염화 제2수은 투여군에서는 2.25±0.31 (대조치의 201%), 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 1.35±0.12 (대조치의 134%)로 염화 제2수은 투여군에서는 대조군 보다 유의하게($P < 0.005$) 증가되었으나, 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 염화 제2수은 투여로 인한 증가가 유의하게($P < 0.005$) 억제되었다(Table I, Fig. 1).

Catalase 활성도 (k/mg protein)

대조군에서는 127.45±22.31이었으나, DDB 투여군에서는 113.45±26.82 (대조치의 89%), 염화 제2수은 투여군에서는 80.82±25.41 (대조치의 63%), 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 34.83±11.29 (대조치의 27%)로 염화 제2수은 투여군에서는 대조군 보다 유의하게($P < 0.005$) 감소되었으며, 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 염화 제2수은 투여군 보다 유의하게($P < 0.005$) 감소

Table I. Effects of DDB on the malondialdehyde (MDA) level (nmol/mg protein), catalase activity (k /mg protein) and superoxide dismutase (SOD) activity (unit/mg protein) in liver of the mercuric chloride (HgCl₂, 5 mg/kg, s.c.)-induced hepatotoxic rats.

	Saline	DDB	HgCl ₂	HgCl ₂ +DDB
MDA level	1.01± 0.12	1.15± 0.28	2.25± 0.31*	1.35± 0.12**
Catalase activity	127.45± 22.31	113.45± 26.82	80.82± 25.41*	34.83± 11.29**
SOD activity	22.55± 1.27	19.95± 1.21	16.42± 1.52*	18.85± 1.12**

DDB (200 mg/kg/day, p.o.) is administered for 4 days prior to 3 days from the injection of HgCl₂. The k 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 HgCl₂.

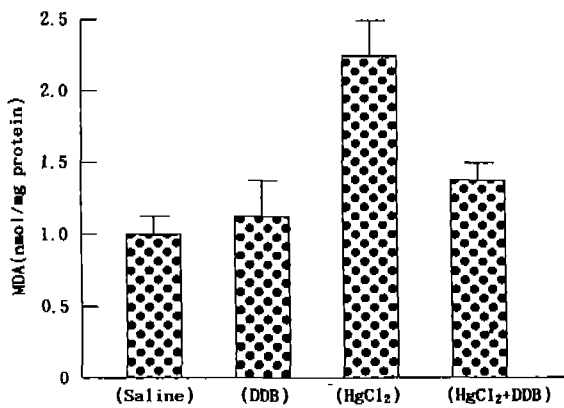


Fig. 1. Malondialdehyde (MDA) level in liver of the saline-treated (Control), DDB-treated, HgCl₂-treated and HgCl₂+DDB-treated group.

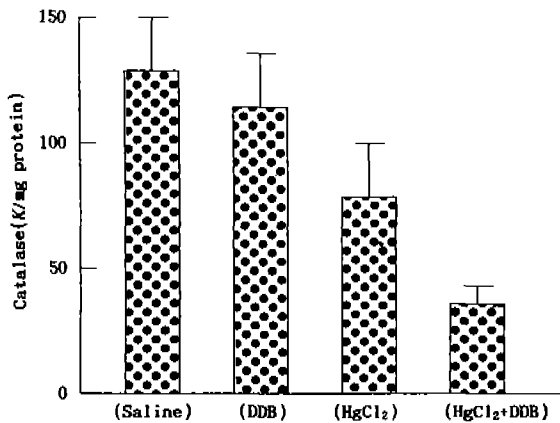


Fig. 2. Catalase activity in liver of the saline-treated (Control), DDB-treated, HgCl₂-treated and HgCl₂+DDB-treated group.

되었다(Table I, Fig. 2).

Superoxide dismutase 활성도 (unit/mg protein)

대조군에서는 22.55 ± 1.27 이었으나, DDB 투여군에서는 19.95 ± 0.72 (대조치의 88%), 염화 제2수은 투여군에서는 16.42 ± 1.52 (대조치의 73%), 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 18.85 ± 1.12 (대조치의 84%)로 염화 제2수은 투여군에서는 대조군보다 유의하게($P < 0.005$) 감소되었으며, 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 염화 제2수은 투여로 인한 감소가 유의하게 ($P < 0.005$) 억제되었다(Table I, Fig. 3).

고 찰

수은은 이뇨제, 항균제, 소독약 및 피부연고제 등의 구성성분으로서 과거 수세기동안 사용되었으나 최근에는 더욱 특이적이며 독성이 낮은 약물로 대부분이 대체되어 수은함유 제제는 임상에서는 거의 사용되지 않기 때문에

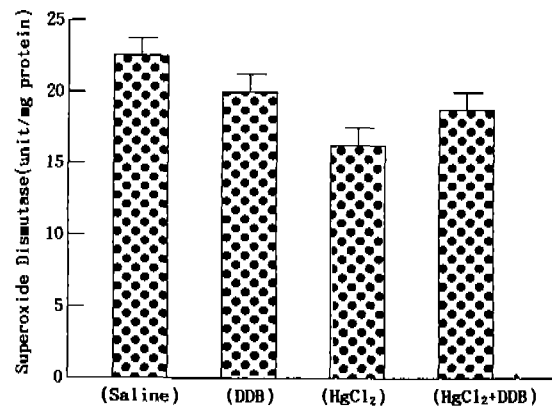


Fig. 3. Superoxide dismutase activity in liver of the saline-treated Control, DDB-treated, HgCl₂-treated and HgCl₂+DDB-treated group.

치료적 활용에서 야기되는 중독은 거의 없으나 환경오염에서 유발되는 수은중독은 건강을 위협하고 여러가지 산업재해 등 사회적 문제로까지 대두되고 있다. 자연환경으로 방출된 수은은 물속에 있는 미생물에 의해 매우 유독한 메틸수은으로 전환되어 이로 오염된 물속에 사는 생선의 섭취로 인한 집단 수은중독도 보고된 바 있어 사망율이 40% 이상이 되는 치명적인 Minamata병을 초래하였다(Raffle 등, 1987).

중금속에 노출되면 간장과 신장에서는 metallothionein이라는 단백질의 합성이 증가되며, 이 단백질은 중금속과 결합하여 중금속-단백질 복합체를 형성함으로써 중금속의 활성을 소멸하게 한다고 한다(Bremer와 Davis, 1975; Winge 등, 1975; Cherian과 Goyer, 1978; Zelazowski와 Piotrowski, 1980). Metallothionein은 해당 수용체가 포화될 때까지는 중금속 중독에 대하여 방어적으로 작용하나 포화된 후부터는 중금속의 체내축적을 일으키고 독성을 발현하게 된다(Raffle 등, 1987).

간장에 대한 수은의 독작용에 대하여 Olczyk 등(1990)은 간장에서 collagen과 elastin 함량이 증가된다고 하였는데 이러한 증가는 혈청 aminotransferase와 alkaline phosphatase 활성도 증가 및 혈청 총단백질 함량 감소와 연관되어 있다고 하였고, 염증반응과 간 섬유증도 생긴다고 하였다. Sellinger 등(1991)과 Ballatori 등(1988)은 포유류의 간세포에서 수은은 sulfhydryl group을 필요로 하는 sodium ion 의존성 alanine 섭취와 Na⁺/K⁺-ATPase 활성도를 억압한다고 하였고, Tan 등(1991)은 간세포가 수은에 노출되면 UDP-glucuronosyltransferase 활성도가 증가된다고 하였고, Nieminen 등(1990)은 수은의 간세포에 대한 독작용은 oxidative phosphorylation의 억압으로 인한 ATP 고갈, bleb 형성 및 세포사(cell death)라고 하였고, Beattie 등(1990)은 수은과 cadmium에 의한 간세포 독성의 항진은 세포질에 있는 metallothionein-like protein의 감소와 연관되어 있다고 하

였으며, Bano와 Hasan(1989)은 수은이 간장에서 총지질, 인산 및 cholesterol을 증가시키고 뇌, 간장 및 근육에서 지질 과산화를 현저히 증가시킨다고 하였다.

호기성 세포에서는 superoxide radical, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide가 발생될 수 있으며 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 지질 과산화반응, 단백질 파괴, 염색체 이상 및 적혈구 파괴 등 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있으며(Goldberg와 Stern, 1977; Simon 등, 1981; Moody와 Hassan, 1982; Junqueira 등, 1986), 정상적으로 조직은 내인성 제거제(endogenous scavengers)를 함유하고 있어 oxygen free radicals 손상에 대해 방어적으로 작용한다(Chance 등, 1979; Wendel과 Feuerstein, 1981). 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때에는 oxygen free radical 제거제의 공급이 고갈된다(Paller 등, 1984; Wasil 등, 1987)고 하며, 이러한 oxygen free radicals는 sulfhydryl oxidation을 통하여 단백질 손상을 야기시킬 수 있다(Freeman과 Crapo, 1982; Band와 Ardaillou, 1986)고 한다. Gentamicin(Walker와 Shah, 1988)과 puromycin aminonucleoside(Thakur 등, 1988)에 의한 신독성에도 hydroxyl radical이 관여되며(Halliwell과 Grootveld, 1987), 특히 cadmium에 폭로된 동물실험에서는 superoxide anion과 hydrogen peroxide의 생성이 증가되고(Sajiki 등, 1983) 지질 과산화반응이 촉진된다고 하였고(Klimczak 등, 1984; Jammal과 Smith, 1985; Hussain 등, 1987), Shin과 Koh(1994)는 수은의 간독성에 대한 한 작용기전으로서의 oxygen free radical과의 관계를 보고하였다. Catalase는 다수의 과산화수소 생성효소들과 복합체를 형성하여 peroxisomes에 주로 분포하여(Chance 등, 1979) 과산화수소를 물과 산소로 분해함으로써 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다고 하였고(Frank와 Massaro, 1980), 방사선조사, 약물투여 및 환경의 변화 등 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). SOD는 hydrogen ion과 superoxide radical이 반응하여 과산화수소로 전환시키고 과산화수소는 catalase에 의해 물과 산소로 분해됨으로써(Baud와 Ardaillou, 1986) superoxide radical과 과산화수소 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있고, superoxide radical과 과산화수소와의 반응이 생기기 않음으로 hydroxyl radical이 생기지않아 hydroxyl radical 증가에 따른 조직손상을 방어하는 효과가 있다(Frank와 Massaro, 1980).

근래에 중국에서는 한방 생약제인 북오미자(Schizandrae chinensis)의 열매에서 분리된 활성성분인 Schizandrin C의 합성동속체의 하나인 biphenyldimethyl dicarboxy-

late(DDB)를 주성분으로한 제제를 간질환의 치료제로서 개발하여(Wang, 1984) 동물실험에서 CCl₄나 thioacetamide에 의한 간손상으로 상승된 SGPT치를 저하시켰고(Wang 등, 1983), 임상적으로도 만성간염과 간경변환자의 상승된 SGPT 치, 혈청 bilirubin 및 transpeptidase치를 감소시켰으며, 간경변에 의한 여러 증상도 일부는 호전케 하였으며, 부작용도 일과성인 위장장애 외에는 별다른 것은 관찰할 수 없었다(Wang, 1984). Qing과 Liu(1992)는 carcinogen에 의한 흰쥐 간장의 DNA 손상에 대한 DDB의 보호효과를 보고하였고, Fu와 Liu(1992)는 CCl₄와 D-galactosamine에 의해 유발된 적출흰쥐 간세포의 손상에 대한 DDB의 보호효과를 보고하였다. 본 연구는 염화 제2수은 투여로 지질 과산화를 일으킨 흰쥐에서 DDB의 항산화효과 유무를 관찰하였던 바 염화 제2수은 투여로 지질 과산화가 촉진되어 MDA 함량은 증가되었고 증가된 oxygen free radicals에 의해 체내의 catalase와 SOD의 감소가 생겨 catalase와 SOD 활성도가 감소된 것으로 사료되며, 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 염화 제2수은 단독투여군 보다 MDA 함량과 catalase 활성도는 감소되었고 SOD 활성도는 증가되었다. 염화 제2수은-DDB 병합 투여군에서 MDA 함량이 감소된 것은 지질 과산화 감소를 의미하며, SOD 활성도가 증가된 것은 염화 제2수은 투여로 증가된 oxygen free radicals가 DDB 투여로 감소된 것으로 사료되므로 DDB는 항산화효과가 있는 것으로 예측된다. 한편 catalase 활성도는 염화 제2수은-DDB 병합투여군에서는 염화 제2수은 단독투여군에서 보다 증가하여 조직손상을 감소시킬 것으로 예상되나 본 실험에서는 감소하여 이에 대한 더 깊은 연구가 필요하다고 사료되며 조직손상 회복의 지표로서 catalase 활성도보다 SOD 활성도가 더 관련이 있는 것으로 예측된다.

감사의 말씀

본 연구는 1995년도 교내 연구비 지원에 의하여 수행하였기에 감사드립니다.

참고문헌

- Ballatori, N., Shi, C. and Boyer, J. L. (1988). Altered plasma membrane ion permeability in mercury-induced cell injury: Studies in hepatocytes of elasmobranch Raja erinacea. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **95**, 279-291.
- Bano, Y. and Hasan, M. (1989). Mercury induced time-dependent alterations in lipid profiles and lipid peroxidation in different body organs of cat fish *Heteropneustes fossilis*. *J. Environ. Sci. Health.* **24**, 145-166.
- Baud, L. and Ardaillou, R. (1986). Reactive oxygen species; Production and role in the kidney. *Am. J. Physiol.* **251**, F765-F776.

- Beattie, J. H., Marion, M., Schmit, J. P. and Denizeau, F. (1990). The cytotoxic effects of cadmium chloride and mercuric chloride mixtures in rat primary hepatocyte cultures. *Toxicology* **62**, 161-173.
- Bremney, I. and Davies, N. T. (1975). The induction of metallothionein in rat liver by zinc injection and restriction of food intake. *Biochem. J.* **149**, 733-738.
- Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* **59**, 527-605.
- Cherian, M. G. and Goyer, R. A. (1978). Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sciences* **23**(1), 1-10.
- Cohen, G., Dembiec, D. and Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analyt. Biochem.* **34**, 30-38.
- Frank, L. and Massaro, D. (1980). Oxygen toxicity. *Am. J. Med.* **69**, 117-126.
- Freeman, B. A. and Crapo, J. D. (1982). Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47**, 412-426.
- Fu, T. and Liu, G. (1992). Protective effect of DDB on damages of isolated rat hepatocytes induced by carbon tetrachloride and D-galactosamine. *Biomed. Environ. Sci.* **5**, 185-194.
- Goldberg, B. and Stern, A. (1977). The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. *Arch. Biochem. Biophys.* **178**, 218-225.
- Gutteridge, J. M. C., Beard, A. P. C. and Quinlan, G. J. (1983). 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.
- Halliwell, B. and Grootveld, M. (1987). The measurement of free radical reactions in humans. *Febs. Letters* **213**, 9-14.
- Hussain, T., Shukla, G. S. and Chandra, S. V. (1987). Effects of cadmium on superoxide dismutase and lipid peroxidation in liver and kidney of growing rats; *In vivo* and *in vitro* studies. *Pharmacol. Toxicol.* **60**, 355-358.
- Jamall, I. S. and Smith, J. C. (1985). Effects of cadmium and glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation in the rat heart; A possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **80**, 33-42.
- Junqueira, V. B. C., Simiz, K., Videla, L. A. and Barros, S. B. de M. (1986). 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.
- Klaassen, C. D., Amdur, M. O. and Doull, J. (1986). *Casarett and Doull Toxicology; The Basic Science of Poisons*. 3rd ed. Macmillan Publishing Co. pp605-609.
- Klimczak, J., Wisniewska-Knypl, J. M. and Kolakowski, J. (1984). Stimulation of lipid peroxidation and heme oxygenase activity with inhibition of cytochrome P-450 monooxygenase in the liver of rats repeatedly exposed to cadmium. *Toxicology* **32**, 267-276.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
- Moody, C. S. and Hassan, H. M. (1982). Mutagenicity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **79**, 2855-2859.
- Nieminen, A. L., Gores, G. J., Dawson, T. L., Herman, B. and Lemasters, J. J. (1990). Toxic injury from mercuric chloride in rat hepatocytes. *J. Biol. Chem.* **265**, 2399-2408.
- Olczyk, K., Kucharz, E. J., Wiczorek, M., Szczebara, M. and Sonecki, P. (1990). Collagen and elastin the liver of rats intoxicated with mercuric chloride. *Arch. Hig. Rada. Toksikol.* **41**, 1-6.
- Pallor, M. S., Hoidal, J. R. and Ferris, T. F. (1984). Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Invest.* **74**, 1156-1164.
- Qing, W. and Liu, G. (1992). Protective effect of DDB against carcinogen-induced rat liver nuclear DNA damage. *Biomed. Environ. Sci.* **5**, 201-207.
- Raffle, P. A. B., Lee, W. R., McCallum, R. I. and Murray, R. (1987). *Hunter's Diseases of Occupations*. 1st ed. Little, Brown. pp250-256.
- Sajiki, J., Hirai, A. and Tamura, Y. (1983). The role of radical oxygen in the mechanism of incidence of injury in rat testis administered CdCl₂. *Jap. J. Infl.* **3**, 217-221.
- Sellinger, M., Ballatori, N. and Boyer, J. L. (1991). Mechanism of mercurial inhibition of sodium-coupled alanine uptake in liver plasma membrane vesicles from *Raja erinacea*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **107**, 369-376.
- Shah, S. V., Cruz, F. C. and Baricos, W. H. (1983). NADPH-induced chemiluminescence and lipid peroxidation in kidney microsomes. *Kidney International.* **23**, 691-698.
- Shin, I. C. and Koh, H. C. (1994). Effects of mercuric chloride on the lipid peroxidation and oxygen free radical scavenging enzymes activities in the liver of rats. *The Journal of Applied Pharmacology* **2**, 298-302.
- Simon, R. H., Scoggin, C. H. and Patterson, D. (1981). Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.* **256**, 7181-7186.
- Tan, T. M., Wong, K. P. and Sit, K. H. (1991). Expression of a high-affinity form of UDP-glucuronosyl-transferase in human fetal liver cells in culture on exposure to mercuric chloride. *Biochem. J.* **278**, 99-103.
- Thakur, V., Walker, P. D. and Shah, S. V. (1988). Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria. *Kidney International.* **34**, 494-499.
- Walker, P. D. and Shah, S. V. (1988). Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J. Clin. Invest.* **81**, 334-341.
- Wang, X. L. (1984). Clinical effect of DDB pilules on 56 cases of chronic viral hepatitis B. *New Drugs Clinic* **3**, 13-15.
- Wang, X. L., Qiang, Z. Y. and Min, L. C. (1983). Absorption, distribution, metabolism and excretion of DDB. *Acta Pharmaceutica Sinica* **18**, 892-897.
- Wasil, M., Halliwell, B., Grootveld, M., Moorhouse, C. P., Hutchison, D. C. S. and Baum, H. (1987). The specificity of thiourea, dimethylthiourea and dimethylsulphoxide as sca-

- vengers of hydroxyl radicals. *Biochem. J.* **243**, 867-870.
- Wendel, A. and Feuerstein, S. (1981). Drug-induced lipid peroxidation in mice-1. Modulation by monooxygenase activity, glutathione and selenium status. *Biochem. Pharmacol.* **30**, 2513-2520.
- Winge, D. R., Premakumar, R. and Rajagopalan, K. V. (1975). Metal-induced formation of metallothionein in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* **170**, 242-252.
- Yosjikawa, T., Murakami, M., Yoshida, N., Seto, O. and Kondo, M. (1983). Effects of superoxide dismutase and catalase on disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb. Haemostas.* **50**, 869-872.
- Zelazowski, A. J. and Piotrowski, J. K. (1980). Mercury binding, copper-zinc proteins from rat kidney amino acid composition, molecular weight and metal content. *Biochim. Biophys. Acta.* **625**, 89-99.