

## Allyl alcohol 및 Ethanol 혼합투여에 의한 혈중 농도 변화 및 독성과의 상관성

이주영 · 정승민 · 이무열 · 정진호\*  
서울대학교 약학대학

### Kinetic Studies of Parent Compounds and Its Metabolite by Combined Treatment of Allyl Alcohol with Ethanol *in vivo*

Joo-Young Lee, Seung-Min Chung, Moo-Yeol Lee and Jin-Ho Chung\*

Seoul National University, College of Pharmacy, Shinrim-dong  
San 56-1 Seoul 151-742 Korea  
(Received September 6, 1998)  
(Accepted October 30, 1998)

**ABSTRACT** : Allyl alcohol is metabolized in the liver through two steps, first to reactive acrolein by alcohol dehydrogenase (ADH), subsequently to acrylic acid by aldehyde dehydrogenase (ALDH). Since ethanol could compete the same enzymes to be metabolized in the liver, we have determined the plasma concentrations of allyl alcohol and ethanol followed by combined treatment. Pretreatment of rats with 2 g/kg ethanol followed by ip administration of 40 mg/kg allyl alcohol increased the lethality significantly. Determination of *in vivo* blood concentrations revealed that ethanol pretreatment caused the apparent decrease in allyl alcohol clearance, whereas acetaldehyde level in blood increased significantly by allyl alcohol treatment, as determined by head space GC analysis. Treatment of 4-methylpyrazole, an inhibitor of ADH, delayed allyl alcohol elimination significantly and reduced its lethality. Collectively, these findings suggested that reduction of allyl alcohol clearance in the presence of ethanol was mediated through ADH competitive inhibition.

**Key Words** : Ethanol, Allyl alcohol, Lethality, Acetaldehyde, Acrolein, Alcohol dehydrogenase, Aldehyde dehydrogenase.

#### I. 서 론

공업용 용매로 널리 사용되는 allyl alcohol은 *in vivo* 에서 alcohol dehydrogenase (ADH)에 의한 대사를 거쳐, 주로 간의 periportal region에 세포 괴사를 일으켜 간독성을 유발시킨다고 보고되어 있다(Butterworth *et al.*, 1978). 간에서는 두 단계의 효소 반응을 거쳐 allyl alcohol을 무독화시킬 수 있는데, 먼저 cytosolic ADH에 의해 간독성 활성 본체인 acrolein으로 대사되고, 이는 계속해서 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에 의해 acrylic acid로 배설된다(Belinsky *et al.*, 1985). 활성 대사체로 알려져 있는 acrolein은 간의 glutathione을 고갈시켜 세포 내 산화 환원 평형을 깨뜨리고(Ohno *et al.*, 1985), 세포 내의 macromolecule과 결합하여 각종 효소의 변성 및 mitochondrial respiratory chain의 손

상을 유발하고(Wildenauer *et al.*, 1982), oxygen radical을 생성하여(Adams and Klaidman, 1993) 세포막 과산화 지질 생성을 촉진하여 결국 세포 괴사에 이르게 한다(Hormann *et al.*, 1989).

이처럼, allyl alcohol의 간독성은 주로 acrolein으로 인한 것이므로, acrolein의 생성 및 제거 속도가 간독성 정도를 좌우한다. 따라서, 생성 및 제거 단계에 관여하는 두 가지 효소인 ADH와 ALDH의 활성이 allyl alcohol의 간독성에 중요한 영향을 미칠 것이다. 실제로 pyrazole 또는 4-methylpyrazole로 ADH를 저해하거나 phenobarbital로 ALDH를 유도하면 allyl alcohol에 의한 간조직의 glutathione 고갈, 세포막 과산화 지질 생성 및 간세포 손상 등이 감소하고(Jaeschke *et al.*, 1987), cyanamide나 disulfiram으로 ALDH를 저해시 간독성이 증가한다는 보고가 있다(Pulci *et al.*, 1993).

Ethanol 역시 대부분이 간의 ADH에 의해 acetaldehyde로 대사되고 이어서 ALDH에 의해 acetic acid로 대사

\*To whom correspondence should be addressed

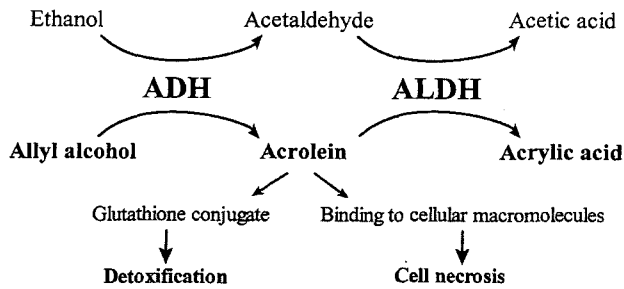


Fig. 1. Schematic diagram for metabolic interaction between ethanol and allyl alcohol.

된다. Ethanol은 같은 대사 효소를 공유하는 다른 화학물질들과의 경쟁 반응으로 화학물질의 대사를 변화시키고, 독성을 감소 또는 증가시키기도 한다. 실제로 ethanol 투여에 의해서 methanol이나 ethylene glycol처럼 독성이 감소하기도 하지만 다른 화학물질의 경우 독성이 증폭될 가능성도 배제할 수 없으므로(Bondy, 1992) 경쟁 반응에 의한 독성 증가 또는 감소 여부를 규명하는 것은 중요한 의의가 있다. 또, 지금까지는 ethanol과 화학물질간의 경쟁반응에서 ADH에 의한 대사단계만을 고려하고 ALDH에 대한 경쟁반응은 제외되어 왔는데 실제로 어떤 화학물질에서는 ALDH에 대한 대사단계가 중요할 가능성도 있다.

Allyl alcohol은 간에서의 일련의 대사 과정에 있어서 ethanol과 같은 대사 효소들을 공유하므로(Fig. 1), ethanol과 같이 노출될 경우, 각 대사 단계에서의 효소에 대한 경쟁반응 때문에 allyl alcohol 및 acrolein의 대사 속도가 변하게 된다. 즉, allyl alcohol의 acrolein으로의 산화시 ethanol의 ADH에 대한 경쟁 반응뿐 아니라 ALDH에 의해 acrolein이 무독화되는 과정에서, ethanol의 대사체인 acetaldehyde와의 경쟁 반응 등 두 단계에서 반응이 각각 어떻게 전개되느냐에 따라 독성 대사체인 acrolein의 생성 및 무독화 과정의 속도가 달라지고 이에 따라 독성도 변화할 것으로 추측된다. 최근 연구에서 allyl alcohol과 ethanol 동시 투여시 치사율이 증가하며 이는 allyl alcohol 대사체에 기인함을 보고한바 있다(Lee *et al.*, 1998).

따라서, 본 실험에서는 ethanol 및 allyl alcohol 동시 투여시 ADH와 ALDH의 두 단계에서의 경쟁 반응이 allyl alcohol 및 ethanol과 그 대사체의 대사에 어떻게 영향을 미치는지를 *in vivo*에서의 혈중 농도를 측정함으로써 연구하고 그 독성과의 상관성을 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시약

Allyl alcohol은 Aldrich Chemical Co.(U.S.A.), acrolein은 Sigma Chemical Co.(U.S.A.), acetaldehyde는 Kodak Co.(U.S.A.), ethanol은 Hayman limited(U.K.)로부터, n-propanol은 Tedia Co.(U.S.A.)의 제품을 사용하였다. 이외의 시약들은 모두 Sigma Chemical Co.(U.S.A.)의 reagent grade의 것을 사용하였다.

### 2. 실험동물 및 화학물질 투여

Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 생후 3주 후에 서울대학교 사육장에서 공급받아 본 대학 사육실에서 사료 및 식수를 제한하지 않고, 12시간을 주기로 명암을 바꾸어 주며 사육하였다. 체중 200 gm 이상 되는 동물을 실험하기 전 18시간 동안 절식한 후 실험에 사용했다.

Ethanol 2 g/kg(40% in H<sub>2</sub>O)을 복강 주사하고, 이와 동시에 또는 2시간 후에 allyl alcohol 40 mg/kg(5% in H<sub>2</sub>O)을 복강 투여했다. 정상 대조군에는 각각 H<sub>2</sub>O를 복강 주사했다.

ADH inhibitor인 4-methylpyrazole은 증류수에 용해하여 50 mg/4 ml/kg의 용량으로 ethanol 투여 15분 전에 복강 투여했고, ALDH inhibitor인 cyanamide는 증류수에 용해하여 5 mg/2 ml/kg 을 ethanol 투여 1시간 전에 복강 투여했다.

### 3. Ethanol, allyl alcohol 및 그 대사체의 혈중 농도 측정

Ethanol, allyl alcohol, 및 acetaldehyde의 혈중 농도를 head-space gas chromatography를 이용하여 측정하였다(Lee *et al.*, 1995). Ethanol 또는 allyl alcohol을 투여한 후 시간에 따라 orbital sinus로부터 혈액 0.1 ml을 취하여 internal standard(IS)인 n-propanol을 포함한 증류수 0.4 ml이 담긴 vial에 가했다. 즉시 고무 마개와 aluminum cap으로 밀봉하여 80°C에서 15분간 가온한 후 gas tight syringe로 air를 취하여 신속하게 gas chromatography(GC)에 주입하였다. GC system은 flame ionization detector를 갖춘 Varian model 3300이며, column은 길이 50 m, I.D. 0.2 mm이고 HP-FFAP(Hewlett Packard)로 충전된 capillary column을 사용했다. Injection port, column 및 detector의 온도는 각각 120°C, 90°C, 150°C이며, gas의 유속은 hydrogen 및 carrier gas인 nitrogen이 각각 30 ml/min, air는 300 ml/min으로 하였다. 분석의 결과는 Varian model integrator 4400을 사용하여 internal standard에 대한 측정하고자 하는 각 물질의 peak 면적비 (area ratio : AR)로부터 혈중농도를 산출

하였다.

4. 통계 처리

통계 처리는 SPSS/PC\* program을 이용하여 group이 두 개인 경우에는 t-test를 하였으며, 셋 이상의 경우에는 ANOVA test를 수행한 뒤 Duncan's Multiple Range test로 group간의 차이를 결정하였으며 p값이 0.05 이하인 경우만 유의성이 있다고 결정하였다.

III. 결 과

Ethanol에 의한 allyl alcohol의 치사율 증가가 각 대사 단계에서의 경쟁 반응과 어떻게 연관되어 나타나는지를 확인하기 위해서 ethanol, allyl alcohol 및 ethanol의 대사체인 acetaldehyde의 혈중 농도 변화를 측정하였다. 각 물질들의 혈중 농도측정은 문헌에 보고된 바와 같이 head-space gas chromatography(GC)방법을 이용하였다(Lee *et al.*, 1995). Allyl alcohol 단독 투여시 및 ethanol 2시간 전처리 군에서 각각 ethanol, allyl alcohol, acetaldehyde의 혈중 농도를 시간에 따라 측정했다. 먼저 allyl alcohol과 ethanol을 혼합 투여했을 때 ethanol의 혈중 농도를 보면 allyl alcohol의 투여가 4시간까지는 ethanol의 혈중농도에 별다른 영향을 미치지 못했다(Fig. 2). 4시간 이후부터는 ethanol과 allyl alcohol을 혼합 투여한 군의 실험 동물이 치사하여 혈중 농도를 측정할 수 없었다.

Fig. 2와는 반대로 ethanol 존재시 allyl alcohol의 대사 속도의 변화를 측정하면, allyl alcohol은 단독 투여

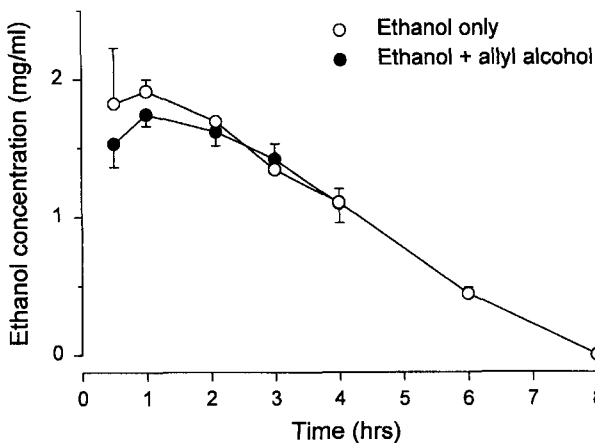


Fig. 2. Time course of blood ethanol levels in the presence of allyl alcohol. Animals were ip treated with 2 g/kg ethanol 2 hrs prior to ip injection of 40 mg/kg allyl alcohol. Data represent mean ± S.E. for 3 or 6 rats.

시 체내에서 빠르게 대사되어 투여 후 30분 내지 1시간에 이미 검출이 되지 않았다. 그러나 ethanol을 2시간 전처리한 군에서는 allyl alcohol의 대사 속도가 유의성있게 지연되고 area under the curve(AUC)는 약 6배 증가됨을 확인할 수 있는데, 이는 ethanol이 ADH에 의한 allyl alcohol 대사를 경쟁적으로 저해하기 때문인 것으로 사료된다(Fig. 3).

한편 allyl alcohol과 ethanol을 혼합 투여할 경우에 그 대사체인 acetaldehyde의 혈중 농도 변화를 측정하였다(Fig. 4). 여러 문헌에 보고된 바와 같이(Korsten *et al.*, 1975) ethanol 단독 투여시의 acetaldehyde의 혈중 농도는 매우 낮았다. 그러나 allyl alcohol을 같이 투여한 군에서는 4시간에 acetaldehyde 농도가 유의성 있게 증가함을 보여 allyl alcohol이 acetaldehyde 대사를 저

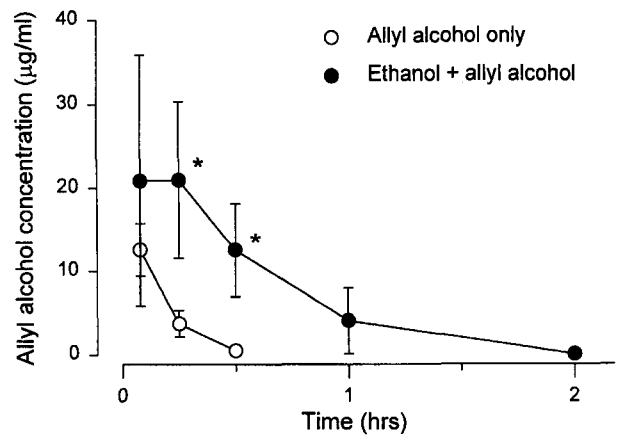


Fig. 3. Effect of ethanol pretreatment on kinetics of allyl alcohol. Treatments were the same as described in Fig. 2. Data represent mean ± S.E. for 5 or 6 rats. \*indicates significant differences between two groups (p<0.05).

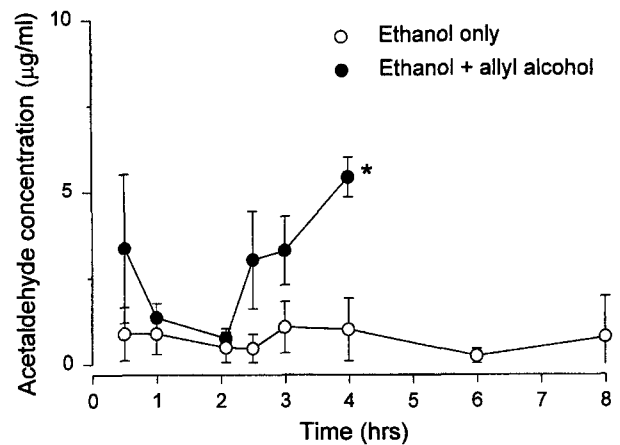


Fig. 4. Time course of blood acetaldehyde concentration in the presence of allyl alcohol. Treatments were the same as described in Fig. 2. Data represent mean ± S.E. for 3 or 6 rats. \*indicates significant differences between two groups (p<0.05).

해함을 제시하고 있다.

이상의 결과를 종합해 보면, allyl alcohol은 ethanol의 혈중 농도에는 아무 영향도 미치지 못하는 반면, acetaldehyde 농도는 유의성 있게 증가시키며, ethanol은 ADH에 대한 경쟁적 저해 반응으로 allyl alcohol의 대사 속도를 감소시킴을 확인할 수 있었다. 그러나, allyl alcohol의 독성 활성체인 acrolein의 혈중 농도를 측정할 수 없었으므로, ethanol과 혼합 투여시 allyl alcohol의 치사율이 증가하는 원인은 판단하기가 어려웠다. 따라서, 이같은 독성 증가의 원인이 parent drug인 ethanol과 allyl alcohol의 상호 작용 때문인지, 각각의 대사체간의 영향에 의한 것인지를 규명하기 위하여, ADH 저해제 및 ALDH 저해제로 각 단계의 대사를 차단한 후 시간에 따른 혈중 농도 및 치사율을 알아보았다.

ADH 저해제인 4-methylpyrazole(4-MP)를 투여하면 ethanol 대사는 거의 차단되고, allyl alcohol의 대사는 완전히 차단되지는 않으나, 상당히 지연시키고 있다 (Fig. 5). Cyanamide로 acetaldehyde 및 acrolein의 ALDH에 의한 대사를 차단한 경우에 각각의 혈중 농도 변화를 살펴 보면 ethanol의 경우 단독 처리군과 혼합 투여군 사이에 차이가 없고, allyl alcohol은 단독 처리군과 혼합 투여군 모두에서 cyanamide를 투여하지 않은 경우의 혈중 농도 곡선과 비슷한 양상을 보였다(Fig. 6). Acetaldehyde는 cyanamide를 처리하지 않았을 때보다는 크게 증가했으나 ethanol 단독 처리군과 혼합 투여군 사이에 유의적인 차이는 없었다(Fig. 7).

이를 종합해 볼때, ethanol과 allyl alcohol을 혼합 투여한 군에서 치사율이 증가하는 것은 parent drug간의 상호 작용에 기인하기보다는 ADH에 의한 대사체인

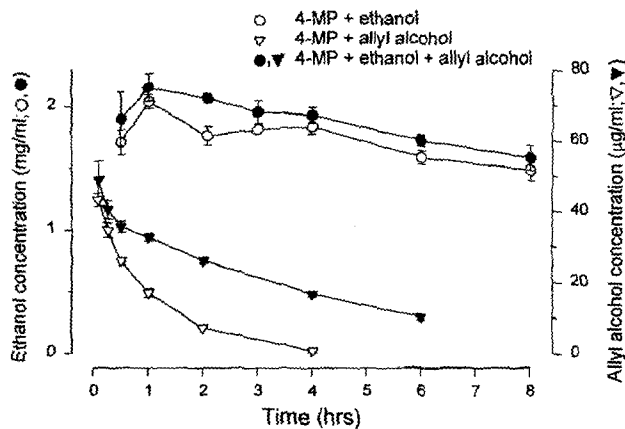


Fig. 5. Effect of ADH inhibitor, 4-methylpyrazole on kinetics of ethanol and allyl alcohol. Animals were ip injected with 50 mg/kg 4-methylpyrazole 15 min prior to ethanol administration. Data represent mean  $\pm$  S.E. for 4 or 6 rats.

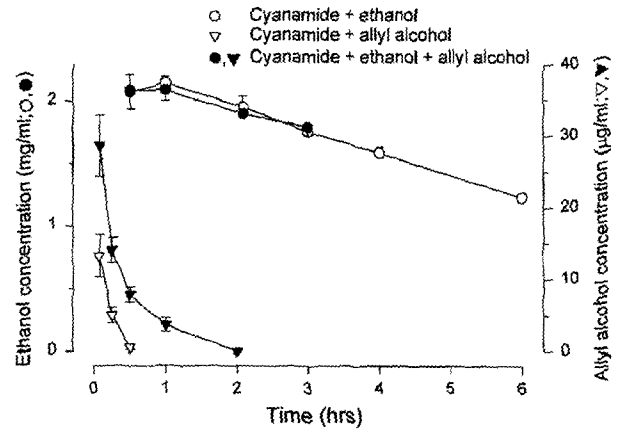


Fig. 6. Effect of ALDH inhibitor, cyanamide on kinetics of ethanol and allyl alcohol. Animals were ip injected with 5 mg/kg cyanamide 1 hr prior to ethanol administration. Data represent mean  $\pm$  S.E. for 5 rats.

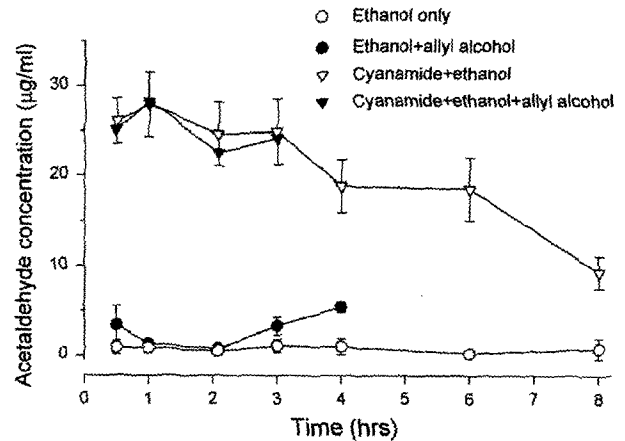


Fig. 7. Effect of ALDH inhibitor, cyanamide on the plasma level of acetaldehyde. Treatments were the same as described in Fig. 6. Data represent mean  $\pm$  S.E. for 3 or 6 rats.

acrolein과 acetaldehyde의 작용 때문이라 추측된다.

#### IV. 고 찰

Allyl alcohol은 간의 alcohol dehydrogenase(ADH)에 의해 acrolein으로 대사되며, 이어서 aldehyde dehydrogenase(ALDH)에 의해 acrylic acid로 무독화되어 배설된다. 독성이 강한 대사체인 acrolein은 간의 glutathione을 고갈시킨 후 세포 내 macromolecule과 결합하여 세포의 주요 기능을 파괴하고, 세포막에 과산화 지질 생성을 유발하여 최종적으로 세포 괴사를 일으킴으로써 간독성을 유발한다(Lam *et al.*, 1985; Pentilla, 1988). Allyl alcohol에 의한 간독성은 대사체인 acrolein에 의한 것으로 알려져 있으므로 acrolein의 생성 및 제거 속도가 간독성의 주요 변수가 될 것으로 사료된다.

Ethanol 역시 간에서 ADH에 의해 acetaldehyde가 되고, 이어 ALDH에 의해 acetic acid가 되어 배설된다. 이처럼 ethanol과 allyl alcohol이 대사 효소들을 공유하므로, ADH에 의해 대사되는 단계에서의 ethanol 및 allyl alcohol, ALDH에 의해 대사되는 단계에서의 acrolein 및 acetaldehyde 등, 두 단계에서의 경쟁 반응에 의해 acrolein의 생성 또는 제거 속도가 변화하고, 그에 따라 독성도 변화될 것이다.

Allyl alcohol 및 ethanol을 혼합 투여시 각각의 대사 속도 변화를 관찰한 결과, allyl alcohol은 ethanol 대사에 영향이 없는 반면, ethanol은 allyl alcohol 대사를 유의성있게 지연시키고 AUC도 6배 증가시킨다. 따라서 ethanol이 allyl alcohol의 대사를 경쟁적으로 억제함을 확인할 수 있었다. 반면에 치사율이 현저히 증가함으로써(Lee *et al.*, 1998) ethanol과 allyl alcohol 혼합 투여시 독성이 오히려 증가함을 보이고 있다. 이러한 결과는 다음과 같은 간독성의 결과, 즉 Schwarzmann 등(1967)에 의한 liver perfusion system에서 ethanol이 allyl alcohol에 의한 간독성을 차단한다는 보고 및 Penttila 등(1987)에 의한 *in vivo* 실험에서 ethanol과 allyl alcohol의 mixture를 경구 투여시 간독성을 감소시킨다고 하는 보고와는 상반된 결과이다. Schwarzmann 등의 실험은 *in vitro* 실험계를 이용하여 간독성 지표를 측정하는 것이어서 본 *in vivo* 연구에서의 치사율 결과와 다른 결과를 유도했을 가능성이 있다. Penttila 등은 ethanol과 allyl alcohol의 혼합액을 동시 투여한 반면 본 연구에서는 ethanol과 allyl alcohol의 흡수 과정에서의 상호 작용을 배제하고 대사과정에서만 상호 작용을 비교하기 위하여 각각의 투여 시간을 달리하였다. Penttila 등은 allyl alcohol이 ADH에 의해 대사되는 단계를 ethanol이 경쟁적으로 저해하여 독성 대사체인 acrolein의 생성 속도를 감소시켜 독성을 낮춘다고 추측하고 있다. 그러나, 실제 acrolein이 체내 축적되는 농도에는 생성 속도뿐 아니라 ALDH 및 glutathione과 같은 방어 체계에 의해 제거 및 무독화되는 속도도 중요하다. 이 무독화되는 단계에서 acetaldehyde가 ALDH를 경쟁적으로 저해하게 되면 acrolein이 체내 축적되고 세포 내 일차적인 방어 체계인 glutathione의 고갈이 더 심화되어 세포 괴사 정도도 증가할 것이다. 이로 인한 독성 증가가 치사율 증가라는 양상으로 나타날 가능성도 있다.

그래서 이를 acetaldehyde와 acrolein의 혈중 농도 곡선으로 비교해 보고자 했는데, acetaldehyde의 경우 allyl alcohol 존재시 혈중 농도가 유의적으로 증가하는 것으로 보아 allyl alcohol에 의해 대사가 저해됨을 제

시하고 있으나 acrolein은 blood에서 측정할 수 없었으므로 acetaldehyde와의 경쟁 반응을 직접적으로 확인할 수 없었다. 따라서, *in vitro* 실험을 통해 ALDH에 대한 affinity를 비교하고 경쟁 반응 유형을 알아보는 실험이 계속 수행되어야 할 것이다.

Allyl alcohol의 대사속도는 매우 빨라서 투여 후 30분에는 대부분의 실험동물에서 이미 검출되지 않는 데 이는 경구 투여시 30분 후에는 아주 소량 검출된다는 보고(Belinsky *et al.*, 1984)와도 일치한다. 그런데, ADH inhibitor인 4-methylpyrazole을 투여하여 alcohol의 산화를 차단한 경우에도 ethanol은 8시간 정도까지 거의 maximum level을 유지하는데 반해 allyl alcohol은 대사속도가 지연될 뿐 완전히 차단되지는 않고 있다(Fig. 5). 이는 allyl alcohol의 산화에 또다른 경로가 있음을 시사해 주는데 alcohol 대사에 관여하는 주된 효소로는 ADH 외에도 catalase, cytochrome P-450 등이 알려져 있다(Kathryn and Hardman, 1989).

이상의 실험을 통해 ethanol이 ADH에 대한 경쟁 반응을 통해 allyl alcohol의 대사를 지연시키는 한편 그 대사체인 acetaldehyde가 ALDH에 대해 경쟁함으로써 acrolein의 무독화를 억제하여 치사율을 증폭시킴을 알 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 1997년도 한국과학재단 핵심전문연구(과제번호; 971-0708-075-2) 지원으로 이루어진 결과로써 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Adams, J.D. and Klaidman, L.K. (1993): Acrolein-induced oxygen radical formation. *Free Radical Biol. & Med.*, **15**, 187-193.
- Belinsky, S.A., Bradford, B.U., Forman, D.T., Glassman, E.B., Felder, M.R. and Thurman, R.G. (1985): Hepatotoxicity due to allyl alcohol in deermice depends on alcohol dehydrogenase. *Hepatology*, **5**, 1179-1182.
- Belinsky, S.A., Popp, J.A., Kauffman, F.C. and Thurman, R.G. (1984): Trypan blue uptake as a new method to investigate hepatotoxicity in periportal and pericentral regions of liver lobule: studies with allyl alcohol in the perfused liver. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **230**, 755-760.
- Bondy, S.C. (1992): Ethanol toxicity and oxidative stress. *Toxicol. Lett.*, **63**, 231-241.

- Butterworth, K.R., Carpanini, F.M.B. and Dunnington, D. (1978): The production of periportal necrosis by allyl alcohol in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, **63**, 353-354.
- Hormann, V.A., Moore, D.R. and Rikans, L.E. (1989): Relative contributions of protein sulfhydryl loss and lipid peroxidation to allyl alcohol-induced cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **98**, 375-384.
- Jaeschke, H., Kleinwaechter, C. and Wendel, A. (1987): The role of acrolein in allyl alcohol-induced lipid peroxidation and liver cell damage in mice. *Biochem. Pharmacol.*, **36**, 51-57.
- Kathryn, E., and Hardman, M.J. (1989): Regulation of rates of ethanol metabolism. in *Human metabolism of alcohol* (Crow, K.E. and Batt, R.D., Eds.) Vol. 1., pp. 3-9, CRC press, N.Y.
- Korsten, M.A., Matsuzaki, S., Feinman, L. and Lieber, C.S. (1975): High blood acetaldehyde levels after ethanol administration. *N. Engl. J. Med.*, **292**, 386-389.
- Lam, C.W., Casanova, M. and Heck, H. (1985): Depletion of nasal mucosal glutathione by acrolein and enhancement of formaldehyde-induced DNA-protein cross-linking by simultaneous exposure to acrolein. *Arch. Toxicol.*, **58**, 67-71.
- Lee, J.Y., Chung, S.H., Kim, M.J. and Chung, J.H. (1995): Simultaneous quantitation of allyl alcohol, ethanol, and their metabolites in the blood by head-space gas chromatography. *Toxicol. Meth.* **5**, 153-159.
- Lee, J.Y., Chung, S.M., Lee, M.Y. and Chung, J.H. (1998): Ethanol co-exposure increases lethality of allyl alcohol in male Sprague-Dawley rats. *J. Toxicol. Environ. Health.*, in press.
- Ohno, Y., Ormstad, K., Ross, D. and Orrenius, S. (1985): Mechanism of allyl alcohol toxicity and protective effects of low-molecular-weight thiols studied with isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **78**, 169-179.
- Penttila, K.E., Makinen, J. and Lindros, K.O., (1987): Allyl alcohol liver injury: suppression by ethanol and relation to transient glutathione depletion. *Pharmacol. Toxicol.*, **60**, 340-344.
- Penttila, K.E. (1988): Allyl alcohol cytotoxicity and glutathione depletion in isolated periportal and perivenous rat hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.*, **65**, 107-121.
- Pulci, R., Moneta, D., Dostert, P., Brughera, M., Scampini, G., Castellino, S., Carminati, P. and Mazue, G. (1993): An in vivo/in vitro study of allyl alcohol toxicity using enzyme inhibitors. *ALTA-Alternatives to Laboratory Animals*, **21**, 38-42.
- Schwarzman, P.V., Infante, R., Raisonier, A. and Caroli, J. (1967): Prevention par l'alcool ethylique des hepatiques induites par l'alcool allylique. *C. R. Soc. Biol.*, **12**, 2425-2429.
- Wildenauer, D.B. and Oehlman, C.E. (1982): Interaction of cyclophosphamide metabolites with membrane proteins: an *in vitro* study with rabbit liver microsomes and human red blood cells. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 3535-3541.