

Paraquat 유도 폐독성에 대한 Hydroxycinnamic Acid계 화합물의 독성 경감 효과 (III)

최 병 기, 오 은 정, 정 세 영¹

동덕여자대학교 약학대학, ¹경희대학교 약학대학

Scavenging Effects of Hydroxycinnamic Acids on Paraquat Induced Pulmonary Toxicity (III)

Byung-Ki Choi, Eun-Jeung Oh and Sae-Young Cheung¹

College of Pharmacy, Dandong Women's University

¹College of Pharmacy, Kyunghee University

ABSTRACT

The scavenging effects of two hydroxycinnamic acids such as caffeic acid and chlorogenic acid on paraquat induced pulmonary toxicity were investigated.

The results are summarized as follows:

1. In the 5-lipoxygenase assay, caffeic acid and chlorogenic acid inhibited the enzyme activities whose inhibition concentration (IC₅₀) were 4.1 and 9.6 μM respectively.
2. To evaluate the antiinflammatory effects on mediator related to the mechanism of inflammation, ADP-induced platelet aggregation assay and histamine degranulation assay were used. Caffeic acid and chlorogenic acid inhibited on ADP-induced platelet aggregation and histamine release at a concentration dependent manners.
3. Arachidonic acid-induced ear edema were inhibited by administration of caffeic acid and chlorogenic acid.
4. Cytological analysis of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) which was the useful tool for detection of an inflammatory response in the lungs of animals intoxicated with chemicals were used. Alveolar macrophages and neutrophils in BALF, as well as the protein content and the LDH activity in BALF supernatant increased by intoxication of paraquat, but decreased by administration of caffeic acid and chlorogenic acid.

Therefore, two hydroxycinnamic acids tested were the useful candidates for scavenger and antiinflammatory agents on paraquat induced pulmonary toxicity.

서 론

Paraquat (1, 1'-dimethyl-4, 4'-bipyridium)은 매우 효과적인 제초제로 빈용되고 있으나 통상 동

물과 사람 모두에게 고독성의 물질로 알려져 있다.¹⁾

Paraquat는 노출의 경로와 관계없이 중요한 표적장기가 폐로서 노출시 폐에 다량 축적되어 폐 손상을 일으키며 중독적으로 심한 alveolar edema

의 결과로 사망에 이르는 경우가 많다.^{2), 3), 4), 5)}

이러한 폐독성의 발현기전은 아직도 여러 부분이 상세하게 규명되어 있지 않으나, 일반적으로 폐내에서 활성산소종인 superoxide anion radical의 지속적 생성으로 인하여 폐세포막의 lipid peroxidation을 포함한 다양한 기전에 의해서 손상된다고 하였다.^{6), 7), 8), 9)}

이에 대해 제시된 paraquat 폐독성의 발현 요인으로 첫째 폐 epithelial cell에 대한 활성산소종의 특이적 감수성, 둘째 폐 epithelial cell내에 paraquat의 선택적 축적, 셋째 paraquat 노출 후 폐 epithelial cell 내에 다량의 활성산소종의 생성, 넷째 neutrophil의 폭발적 증식과 이에 의한 여러 종류의 가수분해성 효소의 방출과 다량의 활성산소종 생성을 들고 있다.^{10), 11)}

폐에 대한 paraquat의 축적은 주로 Clara cell과 alveolar epithelial cell type I과 type II에 선택적으로 일어나며, paraquat 유도 폐손상의 발생 및 진전은 alveolar epithelial cell의 회실과 이로 인한 폐부종, alveolitis, 염증세포의 출현으로 특징지어지는 초기 destructive phase와 수일 또는 수주후에 나타나며 intraalveolar fibrosis를 특징으로 하는 proliferative phase의 이상성을 나타낸다.^{12), 13)}

본 연구는 paraquat 유도 폐독성의 원인이 활성산소종의 생성에 의한 지질과산화와 여러 가지 요인에 의한 염증반응에 기인함을 기초로 하여 hydroxycinnamic acid계의 페놀성 유도체 화합물인 caffeic acid와 chlorogenic acid 대해 항산화 및 항염증 효과를 검색하고 paraquat 유도 폐독성의 경감작용을 검토한 결과 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

실험동물은 체중 200~300g의 숫컷 Sprague-Dawley계 및 Wistar계 흰쥐와 ICR계 마우스 식품의약품안전본부 독성 연구소에 분양 받아 사용하였다.

2) 시료 및 시약

Caffeic acid, chlorogenic acid, Dulbecco's pho-

sphate buffered saline, lipoxigenase, linoleic acid, histamine monohydrate, arachidonic acid, o-phthalaldehyde, egg white albumin (EWA), sodium heparin, dimethyl sulfoxide (DMSO), 4-aminoantipyrine, 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid (HEPES) buffer, nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase (NADH), dimethyl formaldehyde (DMF)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였으며 백일해 사균 백신은 녹십자로부터 제공받았다. 기타 사용한 시약은 특급시약을 국내에서 구매하였다.

2. 실험방법

1) Lipoxigenase 의존성 지질 과산화의 측정

완충액 (50 mM HEPES-NaOH, 0.5 mM KH_2PO_4 , 1 mM MgCl_2 5% ethanol, pH 7.6)을 조제하였다. 시료의 DMSO 용액, 1 mM linoleic acid, 3 $\mu\text{g/ml}$ lipoxigenase을 함유한 완충액 10 ml를 실온에서 10분간 암소에서 incubation한 다음 요오드 적정법에 따라서 측정하였다.

2) 혈소판 항응집 측정

(1) 혈액 현탁액 제조

토끼를 펜토바르비탈 나트륨 주사액 (30 mg/kg, i.v)으로 마취시키고 고정 틀에 고정시킨 다음 경동맥에 카테터를 삽입하고 3.2% 구연산 염이 1/10이 들어 있는 라스틱 실린지로 채혈한다.

(2) PRP (platelet rich plasma) 분리 및 혈소판 현탁액 제조

혈액을 골고루 흔들어서 플라스틱 원심관에 넣고 150 × g (혈액량 12 ml, 높이 95 mm, 1400 rpm)에서 13분간 상온 원심 분리를 한다. 상장액 (PRP)을 취한 후 적혈구 층을 700 × g에서 30분간 원심 분리하여 platelet poor plasma (PPP)를 얻으며 PPP로 PRP를 적당히 희석하여 490 nm에서 흡광도 1.4~1.5가 되도록 한다.

(3) 비탁도 측정

피검물질은 DMSO에 녹인 후 증류수로 희석하여 DMSO 최종 농도가 0.3% 이하가 되도록 조정하였다. 혈소판 현탁액 315 μl , 피검물질 5 μl 를 섞은 후 3분간 37°C에서 배양한 후 혈소판 응집 유도 물질 (A에, 1×10^{-6} g/ml) 10 μl 를 가하여 응집을 유도한 후 aggregometer를 사용하여 비탁도를 측

정하였다.

3) Histamine 유리 측정

(1) Egg white albumin (EWA) 흰쥐 혈청 감각 비만세포 분리한 EWA 흰쥐 혈청의 조제는 Stotland 및 Share의 방법¹⁴⁾에 따라 행하였다. 1 mg EWA를 albumin hydroxide gel 20 mg 및 백일해 백신 0.5 ml와 혼합하여 체중 약 180 g의 Wistar계 수컷 흰쥐의 족부피내에 4등분하여 투여한다. 14일 후 복강 비만세포를 채취하여 실험에 사용하였다.

(2) 흰쥐 복강 비만세포로부터의 histamine 유리 억제 실험 Wistar계 수컷 흰쥐의 복강비만세포는 Uvnas 등의 방법¹⁵⁾에 따라 준비했다. 흰쥐를 단두 사혈시킨 즉시 10 U/ml의 헤파린 함유 Hank's 액 10 ml를 복강내에 삽입시킨다. 90초간 복부를 마사지한 후 복부를 절개하여 내액을 모은다. 채취액은 미리 시험관에 준비해 둔 30% Ficoll, 40% Ficoll액 (PBS로 희석) 중층에 중층시킨다. 실온에서 30분간 방치한 후 1200 rpm, 10분간 원심 분리하여 40% Ficoll층 위에 형성된 백탁층을 모은 다음, PBS (NaCl, 154 mM; KCl, 2.7 mM; CaCl₂, 0.9 mM; Na₂HPO₄, 4 mM; KH₂PO₄, 2.7 mM; glucose, 5.6 mM; BSA, 0.1%)에 3회 세척한 후 PBS에 부유시킨다. 이때 toluidine blue 염색법으로 세포내 과립 존재 유무에 따라 비만 세포를 동정하여 전체의 85~90%를 차지해야 하며, trypan blue dye exclusion test를 하여 90% 이상의 생존율을 보일 때 실험에 사용한다. 이와 같이 분리한 비만 세포는 PBS중에 1.8×10^8 cell/ml이 되도록 부유시켜서 1.8 ml를 37°C, 10분간 preincubation시킨 후, PBS에 용해한 각 농도의 시료 (caffeic acid 및 chlorogenic acid)액 0.1 ml, 항원 또는 histamine 유리 물질 0.1 ml를 가한 후 10분간 incubation시킨다. 냉수로 반응을 정지시키고 5°C, 1200 rpm, 5분간 원심 분리하여 상층과 침착물을 얻는다. 상층 및 침착물 중의 histamine 양은 Shore 등의 방법¹⁶⁾을 사용하여 형광법으로 측정하고 histamine 유리 억제율을 구했다.

4) 마우스 Ear Edema 측정

Arachidonic acid 처리의 적당한 농도와 접촉시간을 결정하기 위해서 여러 농도의 arachidonic acid 아세톤 용액을 조제하고 Tonelli 등의 방법¹⁷⁾에 따라 숫컷 마우스 (20~22 g)의 귀에 도포하였다.

마우스 귀의 두께는 일정시간 간격으로 dial thickness gauge (Lux Scientific Instrument 사제)로 측정하였다. Hydroxycinnamic acids 시료의 항염증효과를 측정하기 위해 DMSO의 최종농도가 1%가 되도록 한 시료를 증류수에 녹인 다음 경구 투여한 후 1시간 후 발염제로서 2% arachidonic acid 아세톤 용액을 마우스 귀에 도포했다. 30분, 1시간 후 부종의 두께를 측정하였다.

5) 흰쥐의 bronchoalveolar lavage fluid (BALF) 중 세포 및 비세포성 물질의 측정

(1) BALF의 채취법

SD계 흰쥐 (250~300 g)를 생리식염수 투여 대조군, paraquat 투여군 및 paraquat와 hydroxycinnamic acid계 화합물 (시료) 병용투여군으로 하였다. 병용투여군은 시료 100 mg/kg 체중씩 3일간 경구투여를 한 다음 paraquat 30 mg/kg 체중씩 복강에 투여하였다. 24시간 뒤에 다시 한 번 paraquat 30 mg/kg 체중 씩을 복강내 투여하고 투여한 후 3일째 되는 날 흰쥐에 sodium pentobarbital 150 mg/kg 체중을 정맥 주사한 후 신동맥을 절단하여 탈혈시켰다. Thoracic cavity를 열고 기관지를 절단하여 PBS (-)로 trachcannula를 사용하여 Handerson 등의 방법¹⁸⁾에 따라 BALF를 채취하고 흰쥐당의 양은 20 ml로 하였다.

BALF는 1500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상정액은 비세포성 물질인 protein의 양과 lactate dehydrogenase (LDH), acid phosphatase (ACP) 및 alkaline phosphatase (ALP)의 효소활성의 측정에, 잔사는 cell subpopulation의 측정에 사용하였다.

(2) BALF의 생화학적 측정

① 단백질의 측정

총 단백질의 양은 Lowry법¹⁹⁾에 의해 측정하였다.

② LDH의 측정법

LDH의 효소활성은 Wroblewski법²⁰⁾에 의해 측정하였다.

③ ALP의 측정법

ALP의 효소활성은 King-Amstrong법²⁰⁾에 의해 측정하였다.

④ ACP의 측정법

ACP의 효소활성은 King-Kind법²¹⁾에 의해 측정하였다.

(3) Cell subpopulation의 측정

Bronchoalveolar cell의 total cell number와 이의 differential cell counts는 Chandler 등의 방법^{22),23)}에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

1. Lipoxygenase 의존성 지질과산화의 억제

Hydroxycinnamic acid계 화합물의 lipoxygenase 의존성 지질과산화의 억제 효과를 검토하여 lipoxygenase 대한 활성 억제작용의 결과 나타내었다 (Table 1).

Caffeic acid와 chlorogenic acid 모두 lipoxygenase에 대한 억제 작용을 나타내었는데 caffeic acid는 4.1 μ M에서 chlorogenic acid는 9.6 μ M에서 50% 억제 효과 (IC_{50})를 나타내었다.

Lipoxygenase pathway를 통하여 생성된 arachidonic acid의 대사유도체는 활성산소가 관여하여 염증과정에 중요한 역할을 하기 때문에 시료의 lipoxygenase 억제 작용은 염증 반응 억제효과를 나타내리라 사료된다.

2. 혈소판 항응집 효과

염증반응에 수반되는 혈소판 응집에 대하여 hydroxycinnamic acid계 화합물의 영향을 검색해 그 결과를 나타내었다 (Table 2). ADP로 유도된 혈

Table 1. Inhibitory effects of hydroxycinnamic acids on lipoxygenase activity

Hydroxycinnamic acids	IC_{50} (μ M)
Caffeic acid	4.1 \pm 1.7
Chlorogenic acid	9.6 \pm 2.5

Table 2. Inhibitory effects of hydroxycinnamic acids on the ADP-induced rabbit platelet aggregation

Hydroxycinnamic acids	Conc. (μ M)	Inhibition (%)
Caffeic acid	12.5	7.9 \pm 2.1
	25	16.5 \pm 4.1
	50	17.3 \pm 2.7
	100	14.2 \pm 1.1
Chlorogenic acid	12.5	9.5 \pm 0.9
	25	11.5 \pm 1.2
	50	14.9 \pm 4.1
	100	22.8 \pm 2.7

Results expressed as means \pm SD (n=3)

소판 응집반응에서 caffeic acid는 50 μ M 농도에서 17.3 \pm 2.7%의 최고 억제 효과를 나타내었으며 chlorogenic acid는 12.5~100 μ M 농도 범위내에서 농도 의존적인 억제 작용을 나타내었다.

일반적으로 염증 반응시 부종, 발적과 같은 증상 외에도 혈소판 응집 반응도 수반된다. 실험결과 caffeic acid와 chlorogenic acid 모두 혈소판 응집 억제효과가 있었으나 이의 억제 기전이 염증 매개성 인자의 유리 억제에 의한 것인지, 혈소판 응집 기전의 차단에 의한 것인지에 관해서는 좀 더 검토해야 할 것으로 사료된다.

3. Histamine 유리 억제 효과

비만세포에서의 항원-유도성 히스타민 유리에 대한 hydroxycinnamic acid계 화합물의 억제 효과를 검토하기 위해 흰쥐의 복강 비만세포를 사용하여 실험한 결과를 나타내었다 (Table 3).

Caffeic acid와 chlorogenic acid 모두 히스타민 유리에 대하여 강력한 억제 작용을 나타내었으며 caffeic acid는 27 μ M에서, chlorogenic acid는 12 μ M에서 (IC_{50})를 나타내었다.

일반적으로 비만세포와 호염기구는 만성 염증 질환, 알러지성, 천식, anaphylaxis 등 많은 질환에서 중요한 역할을 하며, 과립내에 히스타민과 proteoglycan, protease과 같은 매개 인자를 저장하고 있다가 IgE, 특정 항원 또는 다양한 비면역적 자극을 받으면 세포막에 존재하는 IgE의 receptor에 대한 cross-linking을 통하여 히스타민과 기타 매개 인자를 유리하여 염증 반응을 매개한다.

Caffeic acid 및 chlorogenic acid의 히스타민 유리 억제 작용은 비만세포와 호염기구의 활성화를 억제함으로써 기인되는 효과인지 히스타민이 유리되기 위한 분자 수준적 기전을 차단함으로써

Table 3. Inhibitory effects of antigen-induced histamine release from rat peritoneal mast cell

Hydroxycinnamic acids	Conc. (μ M)	Inhibition (%)
Caffeic acid	10	31.5 \pm 2.5
	50	74.7 \pm 4.1
	100	89.1 \pm 7.5
Chlorogenic acid	10	26.6 \pm 1.2
	50	36.0 \pm 8.1
	100	46.3 \pm 4.8

Results expressed as means \pm SD (n=3)

Table 4. Anti-edematous effects of orally administered hydroxycinnamic acids on arachidonic acid-induced ear edema in mice

Group	Thickness increase	
	30 min.	60 min.
Control	0.14±0.01	0.27±0.02
Caffeic acid	0.09±0.01 (35.7)	0.15±0.02 (44.4)*
Chlorogenic acid	0.11±0.02 (21.4)	0.17±0.01 (37.0)*

a) Scale : mm
 b) All compounds were orally administered at the dose of 2 mg/mouse (n=6)
 c) All values in parenthesis represent percent inhibition from the control.
 * p<0.05, significantly different from the control group.

얻어지는 효과인지는 앞으로 더 검토해야 할 것이다.

4. Mouse ear edema 억제 효과

Hydroxycinnamic acid계 화합물의 항염증효과를 측정하기 위해 arachidonic acid 유도 mouse ear edema 억제 실험을 실시하여 그 결과를 나타내었다 (Table 4).

Arachidonic acid 도포 30분 경과의 부종에 대해 caffeic acid의 35.7%와 chlorogenic acid는 21.4%의 억제효과를, 60분 경과의 부종에 대해 caffeic acid는 44.4%와 chlorogenic acid는 37.0%의 억제효과를 나타내었다.

이러한 효과는 lipoxygenase 효소 활성을 억제하여 염증 유발물질로 대사되는 것을 차단하는 기전 이외에도 arachidonic acid 대사 과정 중 생성되는 활성 산소종에 대하여 항산화작용을 나타내기 때문이라 사료된다.

5. Paraquat 투여 흰쥐 BALF 중의 비세포성 물질의 변화

BALF는 폐독성 연구에 있어 화학물질 유도에 의한 폐의 염증반응과 폐손상을 평가하는데 유용하게 사용한다.

Paraquat 유도 폐세포독성에 대한 caffeic acid와 chlorogenic acid의 효과를 평가하기 위해서 세포가 necrosis될 때 방출 및 증가되는 지표 효소인 lactate dehydrogenase(LDH)와 세포가 사멸하거나, 이물질의 유입에 따른 alveolar macrophage가 증

Table 5. Changes of concentrations of protein, LDH, ACP and ALP in BALF from rats treated with paraquat or hydroxycinnamic acids

Treatment	Protein (mg/ml)	LDH (μ/l)	ALP (μ/l)	ACP (μ/l)
Saline	0.45±0.17	169±40	27±12	1±0
PQ	1.16±0.35 ^{a)}	428±105 ^{a)}	52±34 ^{a)}	1±0
PQ+CFA	0.71±0.20 ^{b)}	351±60 ^{b)}	48±21	1±0
PQ+CGA	0.3±0.21 ^{b)}	276±62 ^{b)}	45±23	1±0

PQ : Paraquat, CFA : caffeic acid, CGF : chlorogenic acid, BALF : bronchoalveolar lavage fluid.
 Each sample was given orally 100 mg/kg 3times for 3days before administration of paraquat (30 mg/kg, twice, ip).
 BALF was aspirated at 3 days after treatment of paraquat.
 a) Significantly different from the saline group, p<0.01
 b) Significantly different from the paraquat group, p<0.05
 Results expressed as mean±SD (n=5)

가할 때 방출 및 증가되는 lysosome 효소인 acid phosphatase(ACP)에 대해 실시하였다. 또한 화학물질 유도 폐독성에서 alveolar-capillary barrier의 침투성의 증가를 평가할 때 지표로 사용하는 총 가용성 단백질 양을 측정하여 그 결과를 각각 나타내었다 (Table 5).

실험결과에 의하면 paraquat 단독투여군 (30 mg/kg 체중)은 생리식염수 투여 대조군에 비해 LDH dir 4배, 총 단백질량이 약 2.5배로 유의성 있게 증가하였으나, caffeic acid나 chlorogenic acid의 병용 투여군은 paraquat 투여군에 대해 이들을 감소시켜 LDH 방출억제 및 protein의 침출억제 작용을 나타내어 paraquat 유도 폐손상의 destructive phase의 특징인 염증 및 침윤반응을 경감시켰다.

6. Paraquat 투여 흰쥐 BALF 중의 cell subpopulation의 변화

Paraquat 단독투여와 paraquat 및 hydroxycinnamic acid 병용투여군의 BALF 중의 total cells 및 differential cell count의 측정 결과를 비교하여 나타내었다 (Table 6).

Paraquat 단독 투여군의 total cells은 saline 대조군에 비해 4.4배 증가하였고 differential cell count에서 폐포대식세포, 호중구 임파구 및 호산구에서 현저하게 세포수가 증가하였으나 caffeic acid 및 chlorogenic acid 병용투여에 의해 폐포대식세포 및 호중구가 유의성있게 감소하였다.

Paraquat에 의해 염증반응이 활발해지면 폐포대

Table 6. Effects of hydroxycinnamic acids on cell subpopulation in BALF from rats treated with paraquat

Treatment	Total cells ($\times 10^6$)	Alveolar macrophage ($\times 10^6$)	Neutrophils ($\times 10^6$)	Lymphocytes ($\times 10^6$)	Eosinophils ($\times 10^6$)
Saline	1.34	1.29	0.05	0.02	0.02
PQ	5.91 ^{b)}	2.45 ^{a)}	2.87 ^{a)}	0.39 ^{b)}	0.20 ^{b)}
PQ+CFA	3.51 ^{b)}	1.02 ^{b)}	1.89 ^{b)}	0.34	0.26
PQ+CGA	2.90 ^{a)}	0.87 ^{b)}	1.43 ^{b)}	0.34	0.26

PQ : Paraquat, CFA : caffeic acid, CGA : chlorogenic acid, BALF : bronchoalveolar lavage fluid.

Each sample was given orally 100 mg/kg 3times for 3days before administration of paraquat (30 mg/kg, twice, ip).

BALF was aspirated at 3 days after treatment of paraquat.

a) Significantly different from the saline group, $p < 0.01$

b) Significantly different from the paraquat group, $p < 0.05$

식세포 및 호중구세포와 같은 염증매개 세포가 활성화되어 가수분해 효소 및 활성산소의 생성이 증가한다. 또한 일반적으로 폐의 섬유화 과정 중 폐포대식세포가 증가하고 폐염증반응시 폐에 호중구와 임파구의 급속한 유입이 일어나는데 caffeic acid와 chlorogenic acid의 전처리에 의해 이를 억제할 것으로 추정되며 이 기전은 앞으로 검토해야 할 것으로 사료된다.

결 론

염증반응에서 기인하는 paraquat 유도 폐독성에 대해 hydroxycinnamic acid계 화합물인 caffeic acid와 chlorogenic acid를 대상으로 염증반응의 매개 효소인 lipoxigenase의 활성, 염증매개 인자에 의한 혈소판 응집과 비만세포로부터의 히스타민 유리에 대한 영향, arachidonic acid에 의해 유도된 ear edema에 대한 항부종작용, 화학물질 유도에 의한 폐의 염증반응과 폐손상을 평가하는데 유용한 BALF를 사용하여 생화학적 parameter와 cell subpopulation을 측정된 결과는 다음과 같다.

1. Caffeic acid 및 chlorogenic acid는 $4.1 \mu\text{M}$ 및 $9.6 \mu\text{M}$ 의 IC_{50} 에서 lipoxigenase를 억제하였다.
2. Caffeic acid, chlorogenic acid는 ADP에 의한 혈소판응집 작용을 억제하였다.
3. Caffeic acid, chlorogenic acid는 비만세포로부터 히스타민 유리를 농도의존적으로 억제하였다.

4. Caffeic acid, chlorogenic acid는 arachidonic acid 유도 ear edema를 경감시켰다.

5. Paraquat을 투여군의 BALF에서 LDH 및 protein의 효소 활성과 양이 증가하였으나 caffeic acid 및 chlorogenic acid에 의해 유의성 있게 감소하였다.

6. Paraquat을 투여군의 BALF에서 cell subpopulation의 변화를 측정된 결과 alveolar macrophage 및 neutrophil이 증가하였으나 caffeic acid 및 chlorogenic acid에 의해 현저하게 감소하였다.

위의 결과를 볼 때 두 개의 hydroxycinnamic acid계 화합물은 항산화 및 항염증 작용에 의해 paraquat 유도 폐독성을 경감시킬 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

1. Brooks, R.E., Ultrastructures of lung lesions produced by ingested chemicals, 1. Effect of the herbicide paraquat on mouse lung, *Lab. Invest.*, 25; 536-545, (1971).
2. Bullivant, C.M., Accidental poisoning by paraquat : Report of two cases in man. *Br. Me. J.* 1; 1272-1273, (1966).
3. Llett, K.F., Stripp, B., Menard, R.H., Rein, W.D., and Gillette, J.R., Studies of the mechanisms of the lung toxicity of paraquat : comparison of tissue distribution and some biochemical parameters in rats and rabbits. *Toxicol. Appl. pharmacol.* 28; 216-226, (1974).
4. Rose, M.S., Lock, E.A., Smith, L.L., and Wyatt, I., Paraquat accumulation : Tissue and species specificity. *Biochem. Pharmacol.* 25; 419-423, (1976).
5. Sharp, C.W., Ottolenghi, A. and Ponsner, H.S., Correlation of paraquat toxicity with tissue concentration and weight loss in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 22; 241-251, (1972).
6. Hassan, H.M., and Fridovich, I., Superoxide radical and oxygen enhancement of the toxicity of paraquat in *Escherichia Coli*. *J. Biol. Chem.* 253; 8143-8146, (1978).
7. Misra, H.P., and Grosky, L.D., Paraquat and NADPH-dependent lipid peroxidation in lung microsome. *J. Biol. Chem.* 256; 9994-9998, (1981).
8. Talcott, R.E., Shu, H., and Wei, E.T., Dissociation of microsomal oxygen reduction and lipid peroxidation with the electron acceptor, paraquat and menadiol. 28; 665-671, (1979).
9. Hoffman, M., and Autor, A.P., Production of superoxide

- anion by an NADPH-oxidase from rat pulmonary macrophage, *FEBS Lett.* 121; 352-354.
10. Lowrie, D.B., and Aber, V.R., Superoxide production by rabbit pulmonary alveolar macrophage, *Life Sci.*, 21; 1575-1584.
 11. Yamaguchi, T., Kakinuma, K. Kaneda, M., and Shimada, K., Comparative studies on alveolar macrophages and polymorphonuclear leukocyte 1, H₂O₂ and O-2 generation by rabbit alveolar macrophage, *J. Biochem.* 87; 1449-1455.
 12. Schoenberger, C.I., Rennard, S.I., Bitterman, P.B., Fukuda, Y., Ferrans, V.J., and Crystal, R.G., Paraquat-induced pulmonary fibrosis. Role of the alveolitis in modulating the development of fibrosis. *Amer. Rev. Respir. Dis.* 129; 168-173, (1984).
 13. Waddell, W.J., and Marlowe, C., Tissue and cellular disposition of paraquat in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56; 127-140, (1980).
 14. Stotland, L.M. and Share, N.N., Pharmacological studies on active bronchial anaphylaxis in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 52(6), 1114-1125, (1974).
 15. Uvans, B. and Thon, I.L., Evidence for enzymic histamine release from isolated rat mast cells. *Exp. Cell Res.*, 23; 45-57, (1961).
 16. Shore, P.A., Burkhalter, A. and Cohn, V.H.J., A method for fluorometric assay of histamine in tissue. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 127; 182-189, (1984).
 17. Tonneli, G., Thiabault, L. and Ringler, I., A bioassay for the concomitant assessment of the antiphlogistic and thymolytic activities of topically applied corticoids. *Endocrinol.*, 77; 625-634, (1965).
 18. Handerson, R.F., Benson, J.M., Hahn, F.F., et al, New approaches for the evaluation of pulmonary toxicity : Bronchoalveolar lavage fluid analysis. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 5; 451-458, (1985).
 19. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, L.L. and Randall, R.J., Protein measurement with the folin-protein reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, 275, (1951).
 20. 田村善藏, 生化学分析法, 南江堂, (1984).
 21. 石部知行, 井亞, Acid phosphatase, *日本臨牀*, 40, 173, (1982).
 22. Chandler, D.B., Fuller, W.C., Jackson, R.M. and Fulmer, J.D., Fractionation of rat alveolar macrophages by isopycnic centrifugation, Morphological, cytochemical, biochemical and functional properties, *J. Leukoc. Biol.*, 9; 371-383, (1986).
 23. Chandler, D.B., and Fuller, W.C., Jackson, R.M. and Fulmer, J.D., studies of membrane receptors and phagocytosis in subpopulations of rat alveolar macrophages, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133; 461-467, (1986).