

꽃나무 목부로부터 분리한 Flavonoids가 Paraquat 독성의 경감기전 검색

김정수 · 조희숙 · 강혜옥 · 한갑이 · 정민화 · 최종원*

경성대학교 약학대학

Protective Mechanism of Flavonoids Isolated from *Rhus Verniciflua* on the Paraquat Toxicity Reducing Agent and its Inhibition Mechanism

Jung-Soo Kim, Hee-Sook Jo, Hye-Ok Kang, Gab-Yi Han, Min-Hwa Jung and Jongwon Choi*

College of Pharmacy, Kyungsoong University, Busan 608-736, Korea

Abstract

In this study, we investigated to elevate the modulatory effect of flavonoid(fustin, sulfuretin, 10 mg/kg) which was isolated from *Rhus verniciflua* Stokes(RVS) in male Sprague-Dawley rats for 2 weeks on the toxicity of paraquat. In the flavonoids pretreated groups, glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, blood urea nitrogen, creatinine, malondialdehyde and alkaline phosphatase activity in serum and malondialdehyde, alkaline phosphatase activity and collagen in lung tissue which was induced paraquat toxicity were slightly decrease compared to the normal group. In the lung tissue of flavonoids pretreated groups, malodialdehyde value, G-6-phosphatase activity and collagen synthesis were recovered to the normal values and alkaline phosphatase activity was increased. From these results, we concluded that flavonoids which were isolated from RVS is an effective agent to inhibit the pulmonary and internal toxicities and hence we concluded that active components of fustin and sulfuretin which were isolated from RVS might be removed free radicals induced by paraquat.

Key words – paraquat, fustin, sulfuretin, *Rhus verniciflua* Stokes

서 론

Paraquat (1,1-dimethyl 4,4'-dipyridium dichloride; PQ)는 1950년대 중반부터 제초작용이 발견되 이후 우리나라를 비롯한 전세계에서 가장 많이 사용되고 있는 속효성 제초제로써 식물, 세균 및 동물에 대한 독성작용 기전이 광범위하게 연구되어지고 있다[6]. PQ를 인체에 노출시 국소자극 작용에 의한 위장관장해, 간장해 및 신장해 등이 나타나고,

마지막에는 폐장해가 나타나 lung fibrosis라는 폐독성 및 신부전에 의해 사망에 이르게 된다[26]. PQ의 폐독성 기전은 생체내에서 NADPH 의존성 cytochrome P₄₅₀ reductase 및 xanthine oxidase와 관련된 redox cycle에 의해 생성된 paraquat radical이 분자상의 산소와 작용하여 활성산소인 superoxide anion과 hydroxy radical이 생성되고, 이로 인해 지질과 산화에 의한 세포막손상, hyaluronic acid의 depolymerization, 단백질의 불활성화, DNA의 손상 및 NADPH의 수소탈리에 의한 지방산 생합성의 저해 등이 일어난다[19]. 또한, 세포내 NADPH의 감소로 인해 환원형 glutathione의 감소가 일어나 지질과산화물 축진하여 장해

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 051-620-4883, Fax : 051-628-6540

E-mail : jwchoi@star.ks.ac.kr

를 일으킨다. 그리고, PQ는 폐에 존재하는 alveolar macrophage를 자극하여 neutrophil chemotactic factor를 내게하여 염증을 유도하며, 폐조직내 fibroblast를 자극하여 fibronectin, collagen 생합성을 촉진하고, growth factor를 분비하여 폐 fibrosis를 일키게 된다[26]. PQ의 독성에 대한 일반적인 치료법으로는 일반적으로 빈용되는 치료법과 치료제로서는 위장관 내의 PQ를 흡착제거하기 위해 흡착제 Fuller' earth, bentonite 및 활성탄 등의 투여와 함께 PQ의 배설의 촉진시킬 목적으로는 hemodialysis 및 hemoperfusion 등과 강제이뇨를 시행한다. 특히 PQ의 폐독성을 경감시킬 목적으로 PQ가 폐로 유입되는 과정에서 putrescine과 같은 amine 화합물의 receptor를 이용한다는 점에 착안하여 PQ 경쟁적 inhibitor인 spermine, spermidine 등의 polyamine 화합물을 사용하고[30], oxygen radical 생성 주대사계를 차단시킬 목적으로 NADPH cytochrome P₄₅₀ reductase inhibitor, xanthine oxidase inhibitor를 연구하고 있으며, 항염증제인 glucocorticoid등의 steroid 제제 및 면역억제제, β -blocker, vitamine C, superoxide dismutase (SOD)등이 연구되어지고 있다[3].

욱나무(*Rhus verniciflua* Stokes)는 율나무과(Anacardiaceae)에 속하는 낙엽 활엽 소교목으로 율나무의 수액을 율이라 하며 한방에서는 예로부터 건칠(乾漆)이 어혈(瘀血)을 없애고 혈액순환을 촉진시키며 구충, 복통, 위산과다, 진해, 폐결핵, 통경, 변비, 당뇨, 학질, 소염, 관절염, 방부, 건위, 여인경맥 불통 등에 효과가 있다고 알려져 있으며, 최근에는 항암효과 및 간섬유화에도 효과가 있다고 보고되고 있다. 율나무의 성분으로는 urushiol과 flavonoids 계통 및 phenol 화합물 계통인 gallic acid등이 밝혀져 있다. 세포질에서 free radical-mediated 과정은 산화-환원균형의 변화로서 oxidative stress로 알려진 산화반응과 연관성이 있으며, 간질환 환자의 혈장에서 지질과산화물의 증가가 나타났으며, 이렇게 혈장에서 증가되는 지질과산화물은 간조직 뿐만 아니라 신장, 삼장, 기타 다른 조직에서도 매우 유해하게 작용할 수 있다는 보고가 있다[16,23].

최근 지질과산화를 억제 또는 방지할 수 있는 기능, 즉 항산화 효과는 간보호 효과 및 항염증 작용이 있다고 보고되고 있고[7,17], 항산화 물질은 반응성 산소중간생성물에 의한 공격에 대해서 인체 여러장기의 보호 목적으로 사용되고 있으며, 지금까지 천연물에서 추출된 flavonoid,

silymarin 또는 vitamin E와 같은 항산화제(antioxidant agent)가 항산화효과가 탁월하다고 보고되고 있다[20,24]. 이에 본 연구에서는 율나무의 flavonoid성분인 sulfuretin과 fustin을 대상으로 새로운 약리작용을 구명할 목적으로 PQ에 독성에 대해 혈액생화학적 분석과 장기의 조직 생화학적 분석을 통하여 PQ 독성 경감 정도를 검색해 봄으로써 이들의 PQ 독성경감제로서의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

동물 및 처치

실험동물은 (주) 대한바이오텍(충북 음성)로 부터 분양 받은 웅성 Sprague - Dawley계 흰쥐 200±10g을 본대학 동물사에서 1주일 동안 적응시킨 후 일정한 조건(온도: 20±2°C, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 사육한 후 사용하며, 율나무의 각분획(Methanol, Ethylacetate, 250 mg/kg) 및 성분(fustin, sulfuretin, 10 mg/kg)의 투여는 2주간 전처리하였다. 실험동물은 실험전 24시간 물만주고 절식 시켰다. 대조군은 5% tween 80을 24시간 간격으로 2주간 경구투여하였으며 PQ 단독 투여군은 100 mg/kg을 복강내에 1회 투여 하였다. 본 실험에 사용한 율나무는 강원도 원주시 일대에서 채집한 율나무의 목질부를 세절하여 상지대학교 응용식품과학부에서 IR 및 NMR등의 방법으로 확인하여 fustin과 sulfuretin으로 명명하였다[32]. 실험동물을 이산화탄소 가스로 마취시킨 후 개복하여 복부 대동맥에서 채혈하고 실온에서 30분 방치한후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액인 serum을 분리하였다. 조직은 간동맥으로 0.9% NaCl로 perfusion 하여 혈액을 제거한 후 분리하였다.

효소활성 측정

간독성 지표 측정은 Reitman과 Frankel의 방법[25], blood urea nitrogen의 측정은 Alex와 Laverne의 방법[1], Creatinine량 측정은 Doolan의 방법[28], 혈청 alkaline phosphate 활성 측정은 Kind와 King의 방법[15], 혈장 malondialdehyde(MDA)량 측정은 Yagi의 방법[31], 조직중 MDA량 측정은 Ohkawa 등의 방법[21], 조직 Alkaline phosphatase활성 측정은 Ikehara등의 방법[12], Glucose-6-phos-

phatase 활성 측정은 Traiger와 Plaa's법[29]에 준하여 tri-maleate buffer(pH 6.2)로 세척한 폐조직의 일부를 취하여 20 mg/mL의 균질액을 만들고 여기에 glucose-6-phosphate를 가한 후 37°C에서 20분간 수조에 방치하였다. Trichloroacetic acid (TCA)를 가하여 반응을 정지시킨 후에 상등액 2.0mL을 취하여 Fiske-Subbarow법[9]에 따라 무기인을 정량하였다. 조직중 hydroxyproline의 양은 Jamall등 방법[13]에 준하였다. 검체에 0.01M CuSO₄, 2N NaOH, 6% H₂O₂를 넣고 5분간 진탕후, 80°C의 수욕에 5분간 진탕하였다. 위의 용액을 빙수중에서 냉각하여 혼합하고 1.5N H₂SO₄, p-diaminobenzaldehyde(p-DAB)를 가하여 3분간 진탕하여 80°C의 수욕에 30분간 방치하였다. 수돗물로 실온이 될 때까지 냉각하여, 560 nm에서 비색 측정하였으며 표준물질로 15 μM의 hydroxyproline을 사용하였다.

단백질 정량 및 통계처리

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법[18]에 준하여 bovine serum albumin(Siger, Fr. V)을 표준품으로 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결 과

혈청생화학적 변화

웃나무에서 분리한 추출물을 전처리하고서 PQ 유도 독

성에 미치는 혈액 생화학적 효과를 관찰한 성적이 Table 1이다. Alkaline phosphatase(ALP)는 알칼리성에서 인산결합을 제거하는 효소로서 간, 신장을 비롯한 전신 조직에 골고루 분포하고 있다. 간조직이 손상되어 세포가 파괴되면 혈액중 ALP의 활성이 증가하게 된다. 본 실험에서는 PQ투여군이 전신 독성 지표인 혈청 ALP활성은 대조군에 비하여 0.5배 증가하였다. 신장의 근위세뇨관의 손상시에 신장으로 배설되는 아미노산의 최종대사산물인 urea는 뇨로 배설되지 못하여 혈중 농도가 증가되게 된다. Creatinine도 근육조직에서 ATP와 같이 인산에너지 공급원으로 작용하다 혈중으로 유리되어 뇨중으로 100% 배설되는데 신장의 근위세뇨관이 손상될 경우 혈중 creatinine치가 증가된다. 이에 신장독성 지표인 BUN과 creatinine치는 PQ투여군이 정상군에 비하여 각각 2배 및 2.5배 정도 증가하였다. 간조직의 손상시에 아미노산 전이효소인 s-GOT과 s-GPT는 혈액으로 유리되고 단백질이므로 신장으로 배설되지 않아 혈중농도가 증가한다. 그러므로 혈액중에서 s-GOT과 s-GPT 활성변화는 간독성을 파악하는 좋은 지표가 된다. s-GPT 및 s-GOT의 활성변화는 PQ투여군이 정상군에 비하여 2.5배 정도 증가하였다. 세포막이 oxygen radical에 의해 공격을 받게되면 세포막은 지질과산화에 의해 파괴되고 최종산물인 MDA가 생성된다. 이 MDA의 혈중농도의 증가는 곧 조직중 MDA 생성량은 PQ투여군이 정상군에 비하여 2.5배 정도 증가하였으며 웃나무의 메탄올 엑스, 에틸아세테이트 엑스, fustin 및 sulfuretin을 2주간 경구로 전처리하

Table 1. Effects of radical scavengers on biochemical parameters in serum of *Rhus verniciflua* Stokes in rats treated with paraquat

Treatment	ALP(KA unit)	BUN(mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	GPT(U/L)	GOT(U/L)	MDA(ng/mL)
Normal	10.8 ± 1.39 ^d	17.9 ± 1.60 ^d	0.27 ± 0.08 ^c	28.9 ± 3.50 ^d	60.4 ± 5.20 ^d	0.24 ± 0.05 ^c
Control	20.6 ± 2.00 ^a	41.6 ± 3.29 ^a	0.73 ± 0.10 ^a	71.3 ± 8.41 ^a	185.2 ± 20.6 ^a	0.73 ± 0.14 ^a
RVM(250mg/kg)	18.2 ± 1.20 ^{a,b}	35.3 ± 2.11 ^b	0.60 ± 0.13 ^{a,b}	65.2 ± 5.19 ^{a,b}	133.2 ± 15.5 ^b	0.65 ± 0.11 ^{a,b}
RVE(250mg/kg)	16.7 ± 1.30 ^{b,c}	32.8 ± 1.90 ^{b,c}	0.52 ± 0.07 ^b	55.8 ± 3.20 ^c	121.7 ± 8.50 ^b	0.58 ± 0.05 ^{a,b}
Fustin(10mg/kg)	16.1 ± 1.11 ^{b,c}	33.6 ± 1.89 ^{b,c}	0.50 ± 0.03 ^b	56.7 ± 4.25 ^{b,c}	116.8 ± 7.59 ^b	0.60 ± 0.07 ^{a,b}
Sulfuretin(10mg/kg)	15.3 ± 1.10 ^c	29.8 ± 2.60 ^c	0.47 ± 0.09 ^b	49.2 ± 3.40 ^c	93.2 ± 9.40 ^c	0.50 ± 0.10 ^b

Rats were orally pretreated *Rhus verniciflua* Stokes(RVM, RVE, Fustin, Sulfuretin) daily for consecutive two weeks and were intraperitoneally injected paraquat(PQ, 100 mg/kg) for one day, and killed 24hr after the last treatment of fraction. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for eight experiments. Values followed by the same letter are not significantly different(p<0.05).

따라서 PQ에 의하여 현저히 증가되던 혈중 생화학적 변동이 sulfuretin, fustin, 에틸아세테이트 엑스 및 메탄올 엑스의 순으로 통계적으로 유의성 있게 정상 동물에는 미치지 않으나 억제되었다.

폐조직 생화학적 인자에 대한 개선효과

PQ의 주된 독성기전중의 하나가 oxygen radical 생성에 의한 조직 손상이므로 지질과산화의 최종 생성물인 MDA 생성량을 폐조직중에서 측정하여 보았다. in vivo에서 PQ 유도 MDA생성에 대한 옷나무에서 분리한 추출물 영향은 Fig. 1이다. PQ 투여군에서 약 2배 정도의 MDA 생성 증가가 나타났으나 옷나무에서 분리한 추출물을 2주간 전처리 하고 PQ를 투여함으로써 MDA 생성이 억제되었다. 한편 PQ투여군이 폐조직중 ALP activity는 PQ투여군에서 현저한 감소를 보였으며 옷나무에서 분리한 추출물 투여군에서 약 30% 회복되는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 조직중의 glucose-6-phosphatase(G-6-tase)활성 변화는 Fig. 3이다. G-6-tase는 endoplasmic reticulum과 관련이 있고 이 효소의 활성 저하는 특이적으로 organelle의 손상을 반영한다고 한다. 조직이 radical의 공격으로 MDA생성보다 민감하게 이 효소의 활성 저하가 나타난다는 보고가 있다. 이에 PQ투여로 폐조직에서 G-6-tase활성이 약 20% 저하되었으며 옷나무에서 분리한 추출물의 투여로 회복되었다. PQ폐독성의 최종단계가 fibrosis에 의한 호흡부전과 그로인하여 사망하므로 SD rat에 PQ를 투여하여 collagen 생성을 유도

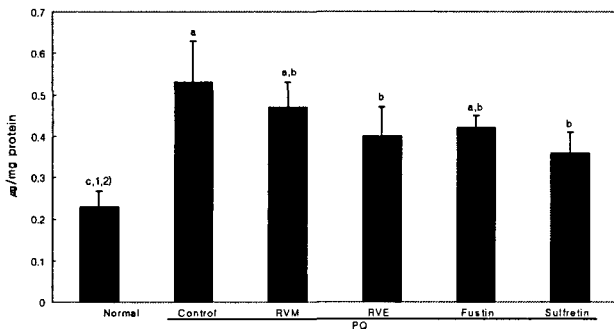


Fig. 1. Effect of *Rhus verniciflua* stokes on MDA level in lungs of PQ treated rats.

- 1) Values are mean \pm S.D. for eight experiments.
- 2) Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal ($p < 0.05$).

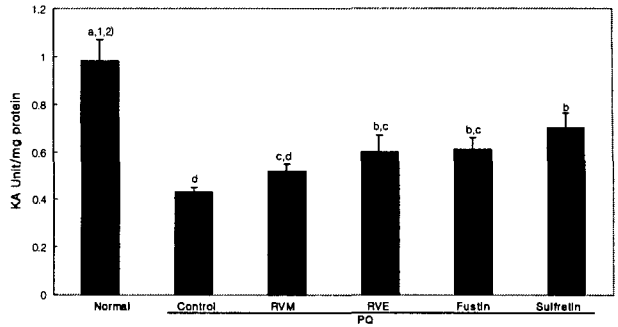


Fig. 2. Effect of *Rhus verniciflua* stokes on pulmonary ALP activity in PQ treated rats.

- 1) Values are mean \pm S.D. for eight experiments.
- 2) Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal ($p < 0.05$).

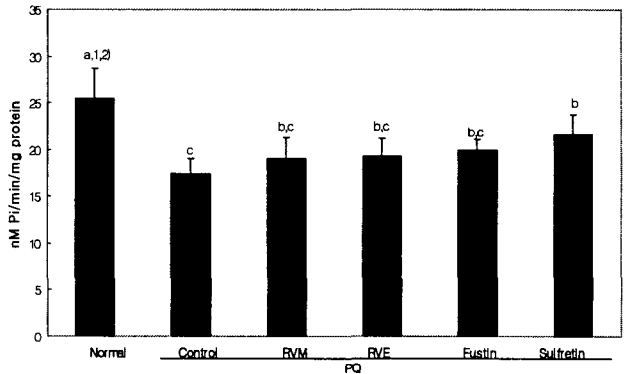


Fig. 3. Effect of *Rhus verniciflua* stokes on pulmonary glucose-6-phosphatase activity in PQ treated rats.

- 1) Values are mean \pm S.D. for eight experiments.
- 2) Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal ($p < 0.05$).

하고 옷나무에서 분리한 추출물의 투여가 collagen 생성에 미치는 영향을 살펴보았다(Fig. 4). 본 실험에서 측정된 hydroxyproline은 collagen 중에만 특이적으로 약 10% 정도 함유되어 있어 조직중 hydroxyproline을 정량함으로써 collagen의 양을 예측할 수 있다. PQ 투여군에 있어서는 정상군에 비하여 20% 정도 많은 hydroxyproline이 증가하였으며 옷나무의 메탄올 엑스, 에틸아세테이트 엑스, fustin 및 sulfuretin을 2주간 경구로 전처리하므로써 PQ에 의하여 현저히 증가되던 폐조직 생화학적 인자의 변동이 sulfuretin, fustin, 에틸아세테이트 엑스 및 메탄올 엑스의 순으로 억제되었다.

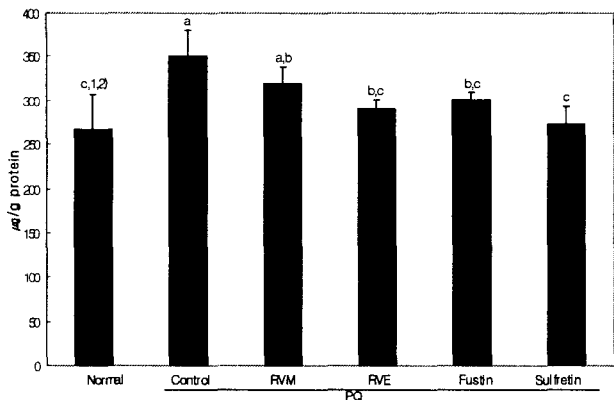


Fig. 4. Lung hydroxyproline contents of rats treated with PQ and/or *Rhus verniciflua* Stokes.

- 1) Values are mean±S.D. for eight experiments.
- 2) Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal ($p < 0.05$).

고찰

Paraquat(PQ)는 자살목적으로 복용할 경우 폐독성, 신독성으로 사망하며 또한 농약을 취급하는 과정에서 호흡기에 노출될 경우 만성적인 폐염증을 유발한다[10,22]. 그동안 세계 여러 나라에서 PQ의 독성기전 규명 및 해독제 개발 연구가 꾸준히 진행되고 있으나, 아직까지 해독제를 개발해 내지 못하고 있는 실정이다. 현재까지 밝혀진 PQ의 독성기전은 PQ의 대사과정에서 생성되는 superoxide radical과 hydroxyl radical에 의한 것과 다른 기전으로는 지방산의 조성의 변화를 유발하여 pulmonary surfactant level에 영향을 준다고 알려져 있다[2]. 이에 본 연구에서는 옷나무로부터 생리활성 물질을 검색할 목적으로 fustine과 sulfuretin을 분리하고서 실험동물에 경구로 2주간 투여하고 PQ를 처리하고서 독성억제 정도를 혈액 생화학적 인자 검색을 통하여 알아보았다.

그 결과 paraquat를 투여한 군에서 혈중 생화학적 지표 및 혈중 지질과산화의 함량이 현저히 증가되던 것이 옷나무의 분획 및 성분을 경구 투여하므로써 현저히 억제되었다. 이러한 결과로 옷나무 성분에는 paraquat에 의한 농약 중독을 예방할 수 있는 성분이 함유되어 있음을 알수 있었다. 이것은 세포내에서 PQ대사 과정중에 발생하는 superoxide radical과 hydroxyl radical을 직접적으로 또는 간접적으로 제거해 주어 각종 생체막의 지질과산화를 막아

주기 때문이라고 생각되어 진다. 실질적으로 PQ대사 효소가 풍부한 간, 신장의 독성발현이 현저히 억제되었다. 폐에서 산소가 항시 고농도로 존재하며, 폐 표피세포는 PQ를 능동적으로 끌어들이기 때문에 폐에서는 과산화지질의 생성과 염증유발, 섬유화 과정 두드러지게 일어난다[5,8,14]. 따라서, 본 실험에서는 폐 조직을 분리하여 옷나무 분획 및 성분의 과산화지질 생성 억제능을 측정하였다. PQ(100 mg/kg)을 투여하고 24시간이 지난후에 폐 조직에서의 과산화지질 생성은 정상조직에 비해 2배 증가되어 있었다. 옷나무 분획(250 mg/kg) 및 성분(10 mg/kg)을 하루에 한번씩 2주간 전투여하고 PQ를 투여한 군은 과산화지질 생성이 현저하게 억제되어 있었다.

조직이 oxygen radical의 공격으로 MDA가 생성되는 과정에서 MDA생성보다 민감하게 G-6-tase 효소의 활성저하가 나타난다는 보고[4]가 있어 G-6-phase의 활성을 측정하여 보았다. G-6-tase활성은 PQ의 투여로서 억제되던 것이 옷나무 분획 및 성분의 투여로서 회복되는 경향을 보였으나 MDA량의 변화에 비해 정상군과 현저한 차이를 보이지 못했으며 PQ의 폐조직 독성지표로는 그다지 예민한 인자가 아니라는 결론을 얻을 수 있었다. 세포의 지질 이중막이 손상되면 세포막 주변에 분포하고 있는 ALP는 혈중으로 유리되어 혈중 ALP의 활성은 증가하지만, 조직중의 ALP의 활성이 약 40%회복되어 있었으며 이것은 옷나무 분획 및 성분이 세포막을 보호하여 세포막이 파괴를 막아주기 때문인 것으로 사료된다.

손상된 폐조직은 복구되는 과정에서 섬유화가 진행되는 데, 폐 섬유화는 호흡부전을 일켜 사망에 이르게 한다[11]. 따라서 PQ에 의해 일어나는 폐 섬유화에 대한 옷나무 분획 및 성분의 억제능을 알아보기 위해 collagen 함량을 측정하였다. PQ유도 collagen 생성에 대하여 옷나무추출물의 투여로서 억제하는 경향을 나타내었다. 이것은 옷나무추출물이 염증매개인자인 NO₂, TNF- α 의 생성을 억제하고 MDA생성을 억제하기 때문이라고 생각되어진다[27]. 이상의 폐조직 실험결과로부터 옷나무 분획 및 성분을 실험동물에 전처리하여 본 결과 PQ의 폐독성을 효과적으로 억제하는 것을 확인 할 수 있었다. PQ는 정상군에 비해 간독성 지표인 혈중 s-GPT, s-GOT를 2.5배 정도 증가시켰고, 신독성 지표인 혈중 BUN, creatinine를 4배 증가시켰으며 옷나무 분획 과 성분은 s-GPT, s-GOT, BUN, creatinine를 정상

치로 회복시켰다. 이는 옷나무의 에틸아세테이트 분획중 fustine과 sulfuretine이 PQ의 간독성 및 신독성에도 효과가 있을것으로 사료된다.

요 약

옷나무(*Rhus verniciflua* Stokes)로부터 제조제인 paraquat (PQ)의 독성 경감기전을 추구할 목적으로 ethylacetate 분획에서 분리한 fustin 및 sulfuretine을 실험동물에 투여하고서 혈액학적 변화 및 간장 중 활성산소에 미치는 영향 검토한 결과 혈액 생화학적 인자 분석을 종합해 보면 옷나무의 메탄올 엑스(250 mg/kg), 에틸아세테이트 엑스(250 mg/kg), fustin(10 mg/kg) 및 sulfuretine(10 mg/kg)을 2주간 각각 경구투여 하고서 PQ를 투여하므로써 PQ의 독성이 유의성 있게 억제되었다. *in vivo*에서 옷나무의 분획 및 성분의 투여는 혈액생화학적 검사에서 PQ에 의해 유도된 간독성 지표인 s-GPT, s-GOT치, 신장독성지표인 BUN, creatinine치 및 조직손상의 지표인 ALP, MDA치를 억제하였다. 폐조직중의 MDA함량, ALP활성 및 collagen함량도 억제하였다. 이로써 옷나무에는 PQ의 폐독성 및 각 장기의 독성을 효과적으로 경감시켜 줄 수 있는 물질이 함유되어 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 경성대학교 학술연구비에 의하여 지원되었으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Alex, K. and L. S. Laverne. 1979. *Clinical chemistry : Interpretation and Techniques*. LEA & FEBIGER.
2. Adachi, J., K. Ishii, M. Tomita, T. Fujita, Y. Nurhantari, Y. Nagasaki and Y. Ueno. 2003. Consecutive administration of paraquat to rats induces enhanced cholesterol peroxidation and lung injury. *Arch. of Toxicol.* **77(6)**, 353-357.
3. Autor, A. P. 1974. Reduction of paraquat toxicity by superoxidase dismutase. *Life Sci.* **14**, 1309-1319.
4. Balevska, P. S., E. M. Russanov and T. A. Kassabova. 1981. Studies on lipid peroxidation in rat liver by

- copper deficiency. *The International Journal of Biochemistry.* **13(4)**, 489-493.
5. Bus, J. S., S. Z. Cagen, M. Olgaard and J. E. Gibson. 1976. A mechanism of paraquat toxicity in mice and rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **35**, 501-513.
6. Darr, D., S. Comb, S. Murad and S. Pinnel. 1993. Studies on the inhibition of collagen synthesis in fibroblasts treated with paraquat. *Arch. Biochem. Biophys.* **306(1)**, 267-271.
7. Das, D., P. W. Pemberton, P. C. Burrows, C. Gordon, A. Smith, R. F. McMahon and T. W. Warnes. 2000. Antioxidant properties of colchicine in acute carbon tetrachloride induced rat liver injury and its role in the resolution of established cirrhosis. *Biochem. Biophys. Acta.* **1502(3)**, 351-362.
8. Fisher, H. K., J. A. Clements, D. F. Tierney and R. R. Wrigh. 1975. Pulmonary effect of paraquat in the first day after injection. *Am. J. Physiol.* **228**, 1217-1223.
9. Fiske, G. H. and Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* **66**, 375-380.
10. Hemmati, A. A. and R. Hicks. 1999. Increased myofibroblasts contractile sensitivity in paraquat pretreated rat lung tissue. *Life Science* **65**, 2325-32.
11. Hemmati, A. A., Z. Nazari, M. E. Motlagh and S. Goldasteh. 2002. The role of sodium cromolyn in treatment of paraquat-induced pulmonary fibrosis in rat. *Pharmacological Research. The official Journal of the Italian Pharmacological Society.* **46(3)**, 229-234.
12. Ikehara, Y., K. Mansho, K. Takahashi and K. Kato. 1978. Purification and characterization of alkaline phosphatase from plasma membranes of rat ascites hepatoma. *J. Biochem.* **83(5)**, 1471-1483.
13. Jamall, I. S. and V. N. Finelli. 1981. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal. Biochem.* **112**, 70-75.
14. Kimbrough, R. D. and T. B. Gaines. 1970. Toxicity of paraquat to rats and its effect of rat lungs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **17**, 676-690.
15. Kind, P. R. N and E. J. King. 1954. Estimation of plasma phosphate by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine. *J. Clin. Pathol.* **7**, 322.
16. Kose, K., C. Yazici and O. Assioglu. 2001. The evaluation of lipid peroxidation and adenosine deaminase activity in patients with Behcet's disease. *Clin. Biochem.* **34(2)**, 125-129.
17. Lin, C. C., P. C. Huang and J. M. Lin. 2000.

- Antioxidant and hepatoprotective effects of *Anoectochilus formosanus* and *Gynostemma pentaphyllum*. *Am. J. Clin. Med.* **28(1)**, 87-96.
18. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Rendall. 1951. Protein Measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
 19. Misra, H. P. and L. D. Gorsky. 1981. Paraquat and NADPH dependent lipid peroxidation in lung microsome. *J. Biol. Chem.* **256**, 9994-9998.
 20. Mourelle, M., P. Muriel, L. Favari and T. Franco. 1989. Prevention of CCl₄-induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **3**, 183-187
 21. Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yaki. 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
 22. Onyeama, H. P. and F. W. Oehme. 1984. A literature review of paraquat toxicity. *Vet. Hum. Toxicol.* **26**, 495-502.
 23. Pancewicz, S. A., E. Skrzydlewska, T. Hermanowska-Szpakowicz, J. M. Zajkowska and M. Kondrusik. 2001. Role of reactive oxygen species(ROS) in patients with erythema migrans, an early manifestation of Lyme borreliosis. *Med. Sci. Monit.* **7(6)**, 1230-1235.
 24. Past, M. R. and D. E. Cook. 1982. Effect of diabetes on rat liver cytochrome P-450. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3329-3334.
 25. Reitman, S. and S. K. Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Amer. J. Pathol.* **28**, 56-61.
 26. Russell, L. A. 1981. Paraquat poisoning. Toxicologic and pathologic findings in three fatal cases. *Clin. Toxicol.* **18**, 915-928.
 27. Schuller, G. B., R. E. Gordon, E. Park, K. J. Pendino and D. L. Laskin. 1995. Taurine protects rat bronchioles from acute ozone-induced lung inflammation and hyperplasia. *Exp. Lung Res.* **21(6)**, 877-888.
 28. Doolan, P.D., E.L. Alpen and G.B. Theil. 1962. A clinical appraisal of the plasma concentration and endogenous clearance of creatinine. *Am. J. Med.* **32**, 65-79.
 29. Traiger, G. J. and G. L. Plaa. 1971. Differences in the potentiation of carbon tetrachloride in rats by ethanol isopropanol pretreatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **20**, 105-112.
 30. Wyatt, A. R. and M. F. Soames. 1988. The accumulation and localisation of putrescine, spermidine and paraquat in rat lung. *In vitro* and *in vivo* studies. *Biochem. Pharm.* **37**, 1909-1918.
 31. Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human disease. *Chemistry and Physics of Lipids.* **45**, 337-351.
 32. Yoon, B.J. 2001. Pharmacological Evaluation on Anti-inflammatory Effects of the Flavonoids Isolated from the Heartwood of *Rhus verniciflua* Stokes. Ph. D. Thesis, Kyungsu University, Busan.

(Received July 8, 2003; Accepted October 15, 2003)