

파라콰트 중독에서 항산화제
U-74389G의 치료효과에 대한 연구

연세대학교 대학원

의 학 과

오 진 호

파라콰트 중독에서 항산화제
U-74389G의 치료효과에 대한 연구

지도 민 진 식 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

1999년 12월 일

연세대학교 대학원
의학과
오진호

오진호의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 민진식 

심사위원 이한식 

심사위원 노정훈 

연세대학교 대학원

1999년 12월 일

감사의 글

본 논문이 완성되기까지 관심을 갖고 지도해 주신 외과학
교실 민진식 교수님과 노성훈 교수님, 응급의학과교실 이
한식 교수님과 김승호 교수님, 약리학교실 김혜영 교수님께
깊은 감사를 드립니다. 또 오랜 시간 함께하며 많은 도움을
주신 응급의학과 의국원 여러분께 감사드립니다. 끝으로 저
희 가족들에게도 조그만 기쁨이었으면 합니다.

저자 씀

목 차

국문요약	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	5
III. 결 과	7
IV. 고 찰	15
V. 결 론	20
참고문헌	21
영문요약	25

표 목 차

표 1. 혈장, 간, 신장, 폐 조직에서 각 군의 TBARS값9

그림 목 차

그림 1. 파라콰트 투여량에 따른 각 군의 사망률10

그림 2. 혈장에서 각 군의 TBARS값11

그림 3. 간 조직에서 각 군의 TBARS값12

그림 4. 신장 조직에서 각 군의 TBARS값13

그림 5. 폐 조직에서 각 군의 TBARS값14

국문요약

파라콰트 중독에서 항산화제 U-74389G의 치료효과에 대한 연구

파라콰트(1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylium dichloride)는 흔히 사용되는 제초제로 우리나라에서는 그라목손 또는 파라코라는 상품명으로 제조, 판매되고 있는데 자살 목적 및 사고로 인한 중독으로 매년 수 백명 이상의 사망자가 보고되고 있다.

중독 증세로는 직접 접촉된 피부나 안점막의 괴사 및 구강과 소화기 점막의 부식이 초래되고 인후두와 기관 등의 호흡기에 침범하여 급성 호흡부전을 일으키기도 한다. 또한 간독성과 신부전 등의 전신적 독성을 유발하고 여러 가지 양상으로 폐손상을 진행시켜 결국 호흡부전에 이르게 한다.

파라콰트가 독성을 일으키는 기전은 조직내에서 산화 환원의 주기적 순환을 통하여 이루어지는데, 이때 생성된 유리기로 인해 지질 과산화, 단백질 변성, DNA 분절화를 통해 세포 손상을 야기하게 된다.

파라콰트 음독시 초기 치료로 홀러스어스나 활성탄, 이뇨제 및 혈액투석, 활성탄 혈액관류(charcoal hemoperfusion) 등이 사용 중이다. 또한 해독제로서 여러 약물이 실험적으로 시도중이나 그 효과는 연구에 따라 매우 다양하다. 새로운 항산화제인 21-aminosteroid는 강력한 철의존성 지질 과산화의 억제제로 지질 과산화에 의해 야기되는 세포막 파괴를 억제하고 지질 과산화물기(lipid peroxide radical)와 산소 유리기(oxygen free radical)제거 등의 기전을 통해 항산화 작용을 나타내게 된다.

저자는 항산화제 21-aminosteroid의 일종인 U-74389G를 파라콰트에 중독된 실험쥐에 투여하여 독성의 주기전이 되는 지질 과산화를 감소 혹은 억제시

킴으로서 실험쥐의 생존률을 향상시킬 수 있는지 확인하고자 하였다.

실험 동물로 위스타(Wistar) 흰쥐를 사용하였고 파라콰트는 기질이 섞이지 않은 원액, 21-aminosteroid는 U-74389G를 사용하였다.

파라콰트 투여량을 결정하기 위하여 파라콰트 용량을 체중 kg 당 20, 35, 50mg의 3가지로 투여했을 때, 20mg을 투여한 군에서는 0%의 사망률을 보였고 35mg 투여군은 25%, 50mg 투여군은 100%의 사망률을 보였다. 이 결과를 이용하여 산출된 24시간 LD50은 40mg이었다.

U-74389G의 효과를 보기 위한 실험에서 35mg/kg의 파라콰트를 투여한 결과 파라콰트 투여군은 30%의 사망률, 파라콰트와 U-74389G를 투여한 군은 10%의 사망률을 나타냈다.

24시간 생존한 실험쥐를 희생시켜 혈장 및 간, 신장, 폐조직에 대해 지질과 산화 정도를 알아보기 위해 TBARS(thiobarbituric acid reacting substance) 검사를 시행한 결과, U-74389G 투여군의 TBARS값은 대조군과 차이를 보이지 않았다. 파라콰트 투여군의 TBARS값은 혈장, 신장, 폐조직에서 대조군에 비해 의미있는 차이를 보였으나 간 조직에서는 차이를 보이지 않았다. 파라콰트 투여와 U-74389G를 투여한 군에서는 혈장, 신장, 폐조직에서는 파라콰트 투여군에 비해 유의한 감소를 보였으나 간조직에서는 차이가 없었다.

이상의 결과로 파라콰트에 중독된 흰쥐를 이용한 실험을 통하여, 항산화제 21-aminosteroid의 일종인 U-74389G는 혈장, 신장 및 폐 조직에서 파라콰트에 의한 지질 과산화를 억제하는 효과를 보여 사망률을 감소시킬 수 있었다. 또한 파라콰트에 대해 효과가 확실히 보고된 해독제가 없는 현재 상황에서 임상적인 사용 가능성을 제시하였으나 U-74389G의 투여량과 투여방법에 대해서는 보다 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

핵심되는 말 : 파라콰트, 지질과산화, 항산화제, U-74389G

파라콰트 중독에서 항산화제 U-74389G의 치료효과에 대한 연구

< 지도 민 진 식 교수 >

연세대학교 대학원

의 학 과

오 진 호

I. 서 론

파라콰트는 세계적으로 100여 개국에서 흔히 사용되는 제초제로 우리나라에서는 그라목손 또는 파라코라는 상품명으로 제조, 판매되고 있다. 선진국에서는 파라콰트에 대한 직업적 노출과 사고 및 자살에 의한 사망이 사회적 문제가 되어 이 약물의 사용을 제한하여 왔다(Klaassen, 1996). 또한 몇 개 국가에서는 직업적인 사용자가 아닌 경우 5% 미만의 제제만 판매를 허용하고 있다. 한편 우리나라에서는 1970년에 파라콰트가 농약으로 등록된 후 24.5%의 고농도 제제만 판매되고 있어, 이로인해 매년 수 백명 이상의 사망자가 보고되고 있는 실정이다(김성중, 1998).

파라콰트는 소화기계는 물론 점막과 피부를 통해 흡수가 가능하며 중독 세로는 직접 접촉된 피부나 안점막의 괴사 및 구강과 소화기 점막의 부식을 유발하고 인후두와 기관 등의 호흡기에 침범하여 급성 호흡부전을 일으키기도 한다. 흡수된 제초제는 간독성과 신부전 등의 전신적 독성을 유발하게 되고 여러 가지 양상으로 폐손상을 진행시켜 결국 호흡부전에 이르게 한다.

파라콰트가 독성을 일으키는 기전은 조직내에서 산화 환원의 주기적 순환을 통하여 이루어 지는데, 간과 폐 및 신장의 미세소체(microsome)에서 이

루어지며 이때 생성된 유리기로 인해 단백질 효소의 불활성화, 지질 과산화 및 DNA 분절화를 통해 세포 손상을 야기하게 된다(Goldfrank 등, 1998).

파라콰트 음독시 초기 치료로는 파라콰트를 불활성화 시키거나 흡수 감소를 위해 흡착제인 홀러스어스나 활성탄을 사용하고, 흡수된 약물의 제거 목적으로 강력한 이뇨제 사용 및 혈액투석, 활성탄 혈액관류(charcoal hemoperfusion) 등이 있다(Goldfrank 등, 1998).

파라콰트의 해독제로서 임상적으로 효과가 확인된 것은 없고 단지 실험적으로(몇 가지의 경우는 임상적으로) 여러 약물에 대하여 사용 시도 중이나 연구에 따라 효과에 대해 매우 다양하게 보고되고 있다(Bateman, 1987; Bismuth 등, 1990).

21-aminosteroid 제제는 강력한 철의존성 지질 과산화(iron-dependent lipid peroxidation)의 억제제로 지질 과산화에 의해 야기되는 세포막 파괴를 억제하고 지질 과산화물기(lipid peroxide radical)의 제거와 산소 유리기 제거 등 의 기전을 통해 항산화 작용을 나타내게 된다(Braughler 등, 1987).

저자는 파라콰트 중독시 독성의 주기전이 되는 지질 과산화를 감소 혹은 억제시킴으로서 실험쥐의 생존률을 향상시킬 수 있다는 가설을 세우고 항산화제 21-aminosteroid의 일종인 U-74389G를 실험쥐에게 투여하여 지질 과산화 대사산물을 정량분석함으로서 억제정도를 확인하여 위의 가설을 검증하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

실험 동물로 체중이 250-350 그램의 위스타(wistar) 흰쥐를 2주 동안 물과 먹이에 자유롭게 접근할 수 있고 환경에 적응하도록 하였다. 파라콰트 투여량을 정하기 위한 실험군으로 각 군 당 8마리로 하여 체중 kg 당 20mg, 35mg, 50mg을 투여한 3군으로 나누었고 U-74389G의 치료효과를 보기 위한 실험군으로 대조군 4마리와 각 군 당 10마리로 U-74389G 투여군, 파라콰트 투여군, 파라콰트와 U-74389G 투여군의 4군으로 나누었다.

파라콰트는 기질이 섞이지 않은 원액(Zeneca Agrochemicals, Fernhurst, Haslemere, UK)을 생리식염수로 희석하여 0.5%의 용액을 사용하였고 U-54389G(Ujohn Company, Kalamazoo, MI, USA)는 10% intralipid 1ml에 0.1N HCl 1ml 당 U-74389G 25mg를 용해시킨 용액 0.25ml에 추가한 후 완충제를 첨가하여 pH 6.8이 되도록 하여 사용하였다.

약물 투여 방법으로 파라콰트는 복강으로 1회 투여하였고, U-74389G는 10mg/kg의 용량을 2회 투여하였으며 투여시간은 U-74389G군은 초기와 12시간 후, 파라콰트와 U-74389G 투여군은 파라콰트 투여 1시간 후와 12시간 후에 투여하였다.

파라콰트 투여량을 쥐의 체중 kg 당 20mg, 35mg, 50mg으로 다르게 하여 군 당 8마리 씩 3군에 투여한 후 각 군의 24시간 사망률을 구하고 이 결과를 이용하여 24시간 LD50를 산출하였다. U-74389G의 효과를 보기 위한 실험에서의 파라콰트 투여량은 산출된 LD50보다 적은 용량으로 저자가 임의로 정하였다.

24 시간 동안 생존한 쥐를 희생시킨 후 얻은 냉동혈장 및 폐, 간, 신장의 냉동조직을 이용하여 TBARS의 정량분석을 통하여 지질 과산화의 정도를 확인하였다.

TBARS정량검사는 Ohkawa법을 변형한 방법으로 측정하였다(Ohkawa 등, 1979). 이를 요약하면 0.1M Tris-HCl(pH 7.4) 완충용액을 가하여 조직을 균질화(homogenization)시킨 후, 균질 조직 0.2ml를 취하여 8% sodium dodecyl sulfate(SDS) 0.2ml와 혼합하여 용해하였다. 0.8% 4,6-dihydroxy-2-mercapto-pyrimidine(TBA, 2-thiobarbituric acid)와 20% acetic acid(pH 3.5)를 각각 0.4ml씩 첨가한 후 100℃수조에서 1시간 동안 가열하였다. 찬 수돗물로 반응을 정지시킨 후 원심분리하여 상층액의 발색복합체를 추출하여 분광광도계 파장 535nm에서의 흡광도를 측정하였다. 표준 물질로는 1,1,3,3-tetraethoxy propane을 사용하였고, 각 조직에 대해 Bradford 방법으로 단백질 정량을 실시하여(Bradford, 1976), TBARS의 단위는 단백질 mg 당 nmol로 표시하였다.

자료는 평균±표준편차로 표시하였으며 SPSS 8.0 프로그램을 이용하여 ANOVA와 Mann-Whitney U test로 분석하였다. p값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

III. 결 과

파라콰트 투여량을 결정하기 위한 실험에서 체중 kg 당 20, 35, 50mg의 3 가지 용량으로 투여했을 때의 각 군의 사망률은 그림1과 같다. 20mg을 투여한 군에서는 8마리 모두 생존하여 0%의 사망률을 보였고 35mg 투여군에서는 2마리가 사망하여 25%의 사망률, 50mg 투여군은 100%의 사망률을 보였다. 이 결과를 이용하여 산출된 24시간 LD50은 40mg이었다.

U-74389G의 효과를 보기 위한 실험에서 LD50보다 적은 kg 당 35mg의 파라콰트를 투여한 결과 파라콰트 투여군은 10마리 중 3마리가 사망하여 30%의 사망률을 보였고 파라콰트와 U-74389G를 투여한 군에서는 10마리 중 1마리가 사망하여 10%의 사망률을 나타냈다.

대조군과 U-74389 투여군, 파라콰트 투여군 중 24시간 생존한 7마리, 파라콰트와 U-74389G 투여군 중 생존한 9마리의 4군에서 혈장 및 조직 TBARS의 평균값은 표1과 같다. U-74389G 투여군 중 혈장에서의 TBARS 값은 실험상의 오류로 인해 구할 수 없었으나 다른 조직에서는 대조군과 차이를 보이지 않았다. 혈장에서는 그림2와 같이 파라콰트 투여군의 TBARS 값은 9.25 ± 0.72 로 대조군의 7.20 ± 0.56 와 비교하여 의미있는 차이를 보였고 파라콰트 투여후 U-74389G를 투여했을 때에는 8.14 ± 0.40 으로 파라콰트 투여군에 비해 의미있는 감소를 보였다. 신장조직에서도 그림4와 같이 파라콰트 투여군과 대조군의 값은 각각 1.61 ± 0.09 , 1.43 ± 0.02 으로 차이를 보였고 파라콰트와 U-74389G 투여군은 1.42 ± 0.09 으로 의미있는 감소를 보였다. 폐조직에서는 그림5와 같이 파라콰트 투여군, 대조군의 TBARS값이 각각 2.22 ± 0.15 , 2.02 ± 0.10 으로 차이를 보였고 파라콰트와 U-74389G 투여군은 1.95 ± 0.24 로 유의한 감소를 보였다. 그러나 간조직에서는 그림3에서 보듯이 파라콰트 투여군의 값이 1.02 ± 0.06 으로 대조군의 0.97 ± 0.02 와 차이가 없었

고, 파라콰트를 투여하고 U-74389G를 투여한 군은 0.98 ± 0.06 으로 파라콰트 투여군과 차이가 없었다.

표 1. 혈장, 간, 신장, 폐 조직에서 각 군의 TBARS값

	혈장	간	신장	폐
대조군	7.20±0.56	0.97±0.02	1.43±0.02	2.02±0.10
U-74389G 투여군	※	0.95±0.11	1.37±0.19	1.99±0.39
파라콰트 투여군	9.25±0.72*	1.02±0.06	1.61±0.09*	2.22±0.15*
파라콰트 + U-74389G 투여군	8.14±0.40 ⁺	0.98±0.06	1.42±0.09 ⁺	1.95±0.24 ⁺

1 : 단위는 nmol/mg protein이며 평균±표준편차로 표시하였음

* : 대조군과 비교하여 P<0.05

+ : 파라콰트 투여군과 비교하여 P<0.05

※: 실험상의 오류로 측정하지 못했음

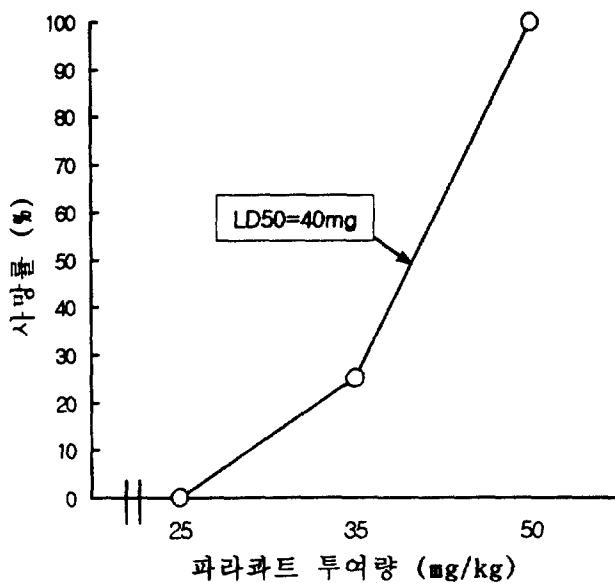


그림 1. 파라콰트 투여량에 따른 24시간 사망률
파라콰트 투여량을 다르게 한 각 군의 사망률을
나타낸 것으로 이 결과를 이용하여 산출된
24시간 LD50 용량은 40mg이었다.

혈장

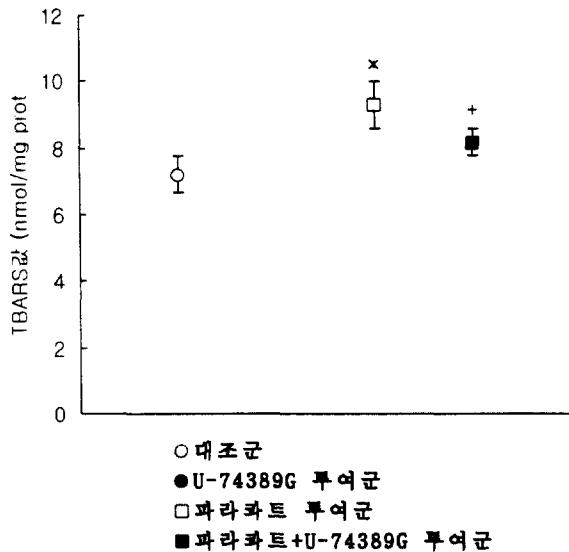


그림 2. 혈장에서 각 군의 TBARS값
파라콰트 투여군의 TBARS값은 대조군과
유의한 차이를 보였으며 (* : $P < 0.05$),
파라콰트와 U-74389G를 투여한 군의
TBARS값은 파라콰트 투여군과 유의한
차이를 보였다 (+ : $P < 0.05$). U-74389G
투여군은 실험상의 오류로 측정이 불가능
하였다.

간

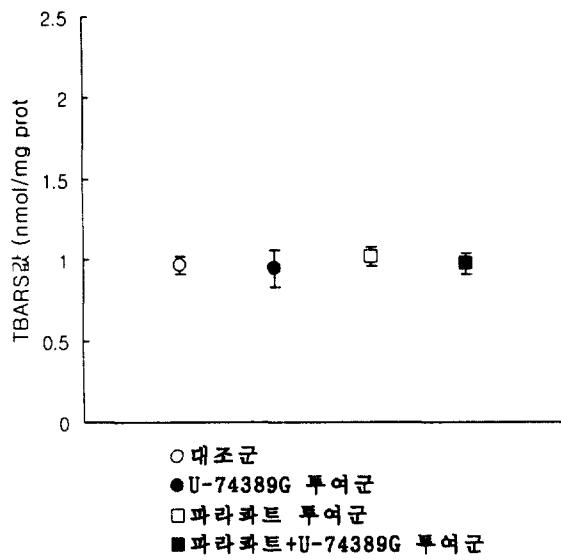


그림 3. 간 조직에서 각 군의 TBARS값
파라콰트 투여군의 TBARS값은 대조군과
유의한 차이를 보이지 않았고, 파라콰트와
U-74389G를 투여한 군의 TBARS값도
파라콰트 투여군과 유의한 차이를 보이지
않았다.

신 장

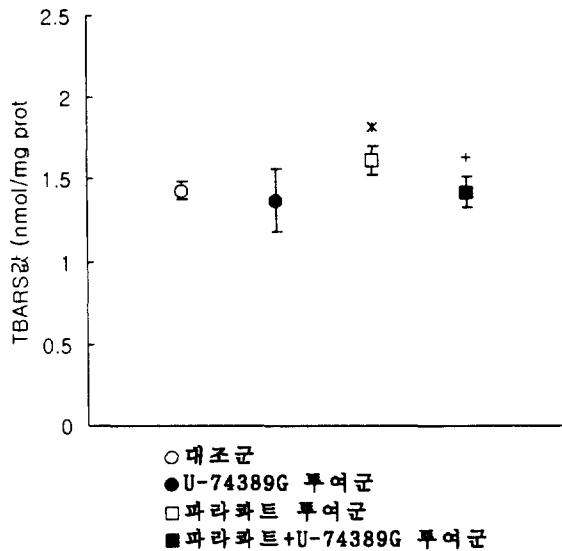


그림 4. 신장 조직에서 각 군의 TBARS값
파라콰트 투여군의 TBARS값은 대조군과
유의한 차이를 보였으며(* : P<0.05),
파라콰트와 U-74389G를 투여한 군의
TBARS값은 파라콰트 투여군과 유의한
차이를 보였다(+ : P<0.05).

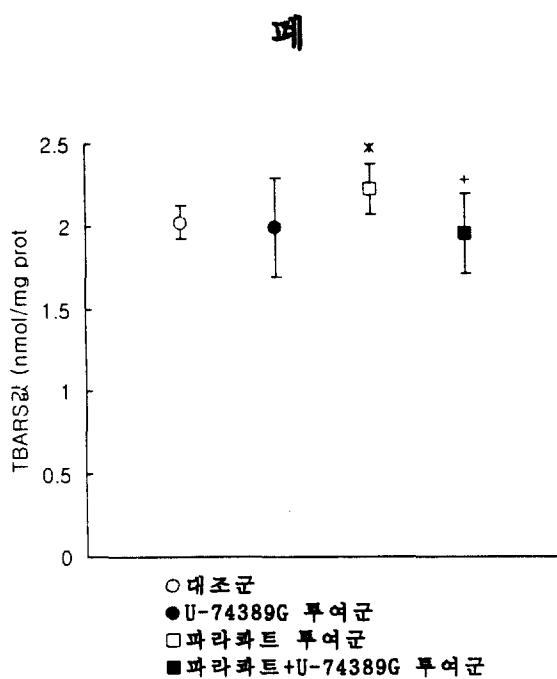


그림 5. 폐 조직에서 각 군의 TBARS값
파라콰트 투여군의 TBARS값은 대조군과
유의한 차이를 보였으며(* : $P<0.05$),
파라콰트와 U-74389G를 투여한 군의
TBARS값은 파라콰트 투여군과 유의한
차이를 보였다(+ : $P<0.05$).

IV. 고 칠

농약은 크게 살충제, 살서제, 제초제, 진균제 등으로 분류한다. 제초제는 성분별로 파라콰트, 다이콰트, 염소화 폐녹시화합물, 다이옥신, 질소화 폐놀 및 질소화 크레졸 화합물, 염소염, 황화요소계, 아트라진 등으로 나뉘며 작용기전에 의해 이행형 및 접촉형으로 분류된다. 파라콰트는 비선택적 접촉형 제초제로 1882년에 메칠 바이오로젠(methyl biogen)이라는 산화환원지시제로 합성되었고, 1958년 제초제로서의 효능이 알려져 영국에서 처음 농약으로 사용되기 시작했다(Goldfrank 등, 1998). 하지만 이 제제의 독성에 대하여 알려진 후 광범위한 연구가 진행되어 왔으며, 여러 나라에서 직업적 노출과 사고 및 자살에 의한 사망이 사회적 문제가 되어 이 제제의 사용을 제한하여 왔다(Klaassen, 1996). 일본의 경우 1980년 중반까지 매년 1,300명 가량의 파라콰트 중독으로 인한 사망환자가 발생하였다. 이후 저독성의 다이콰트 혼합 제제나 저농도 제재를 보급하고 구토 유발제와 염료를 혼합하여 쉽게 인지할 수 있도록 하는 조치를 취하였으며, 대중매체를 통한 홍보와 특정지역과 사용자에게만 판매하도록 제한하는 등의 일련의 조치를 통하여 사망자수가 급격히 감소하였다(Crome, 1986; 김성중과 이영수, 1997). 또한 미국의 경우 위와 같은 노력의 결과로 파라콰트 중독으로 인한 사망환자가 한 해 10명 미만으로 보고되고 있다(Goldfrank 등, 1998). 우리나라의 경우 1970년 파라콰트가 농약으로 등록된 후 사용량 및 중독 환자수가 증가되어 왔으나 이에 대한 대책이 전무한 형편이었으며, 최근 농약회사에서는 구토유발제 및 인지를 쉽게 하도록 하기 위하여 녹색 혹은 청색 염료를 혼합하고, 전체 생산량을 25% 감산하는 등의 노력을 취하였으나 현재까지 뚜렷한 실효를 거두지 못하고 있다.

파라콰트는 소화기계는 물론 점막과 피부를 통해 흡수가 가능하다. 중독 증세로는 직접 접촉된 피부나 안점막의 괴사 및 구강과 소화기 점막의 부식을 유발하고 인후두와 기관 등의 호흡기에 침범하여 급성 호흡부전을 일으키며 간독성과 신부전 등의 전신적 독성을 유발하게 된다(Goldfrank 등, 1998). 파라콰트는 혈중보다 폐에 10-90배 더 축적된다고 보고하고 있어(Rose 등, 1976), 산소 분압이 높고 유리기 제거 효소계가 상대적으로 적은 폐포 세포에 가장 심한 손상을 주어 결국 호흡부전에 이르게 한다.

파라콰트는 세포내에서 NADPH의존성 환원에 의해 파라콰트기(paraquat radical)를 형성하고 파라콰트기는 산소 존재하에 빠른 산화반응을 일으키며 이는 다시 쉽게 환원된다. 이와 같은 산화-환원의 주기적 반응으로 과산화유리기(superoxide free radical)가 생성되고 이는 다시 Haber-Weiss cycle과 Fenton reaction을 통해 히드록실 유리기(hydroxyl free radical)를 생성하게 된다. 이와 같은 유리기(free radical)가 지질 과산화, 단백질 및 DNA 변성의 과정을 통해 세포 손상을 초래한다(Goldfrank 등, 1998).

산소 유리기의 생성과 제거의 불균형으로 유리기가 많아질 때 세포나 조직은 산화성 스트레스(oxidative stress)를 받게 되는데 과다한 유리기의 생성은 조직 손상을 유발하여 질병을 일으키거나 악화시키는 요인으로 알려져 있다. 유리기는 파라콰트 중독외의 많은 병리적 조건하에서 세포손상을 초래하는데, 이 것은 폐 산소 독성, 성인성 호흡곤란 증후군, 패혈증 등과 관계가 있으며 특히 허혈-재관류 손상(ischemic-reperfusion injury)에서 산소 유리기는 인체의 거의 모든 장기에서 세포 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다(Halliwell 등, 1992).

유리기의 조직 손상 중 대부분은 지질 과산화에 기인한다. 지질 과산화는 지질 분자에서 두 개의 불포화 결합 사이에 위치하는 메틸렌 그룹(methylene group)으로부터 수소 원자를 추출함으로서 시작되며 결과적으로

새로운 지질 유리기가 형성되어 지질 과산화물(lipid peroxide) 혹은 지질 히드로과산화물(lipid hydroperoxide)를 만들게 된다. 반응이 지속되면 비교적 안정된 물질인 malonaldehyde(MDA)가 생성되는데 이를 측정함으로서 산소 유리기에 의한 조직 손상 정도를 확인할 수 있다(Dillard와 Tappel, 1971; Hochstein과 Jain, 1981; Nielsen, 1981; Slatter, 1984).

TBARS검사는 지질 과산화를 측정하는 방법 중 가장 자주 이용되는 방법으로 지방산의 과산화물인 MDA가 일정한 조건(산성 및 가열)에서 TBA(thiobarbituric acid)가 반응하여 발색복합체를 형성하는 것을 이용하는데 이 검사는 지질과산화 및 이에 의한 조직 손상 정도를 잘 반영하는 것으로 보고되고 있다(Jarero, 1978; Gutteridge와 Halliwell, 1990).

파라콰트의 해독제로서 임상적으로 효과가 확인된 것은 없고 단지 실험적으로 몇 가지의 약물에 대한 연구가 진행 중인데, 폐에서의 파라콰트 축적 방지제제(polyamine, D-propranolol 등), 폐로 부터의 파라콰트 배출증가(cyclophosphamide, D-propranolol 등), 폐섬유화의 억제제(corticosteroid, immunosuppressive agents, fibrinolytic agents, radiotherapy 등)가 사용 시도 중이나 연구에 따라 효과에 대해 매우 다양하게 보고하고 있는 실정이다 (Bateman, 1987; Bismuth 등, 1990). 또한 파라콰트 독성의 주된 기전인 산화-환원 주기적 순환의 예방 혹은 억제와 유리기 제거를 목적으로 항산화성 효소(superoxide dismutase 등), 유리기 제거제(N-acetylcystein 등), 철을 칼레이트화시키는 약물(deferoxamine 등)의 효과에 대한 연구도 진행 중이다(Bernard, 1991; Bolli, 1991; Halliwell 등, 1992; Fantinii와 Yoshioka, 1993).

최근 새로운 항산화제인 21-aminosteroid에 대한 연구가 진행되고 있다. 21-aminosteroid제제는 철을 칼레이트화시키고 철의존성 지질 과산화에 대한 억제 작용이 강하며 지질 과산화물기의 제거와 산소 유리기 제거 등의

기전을 통해 항산화 작용을 나타낸다고 보고되고 있다(Braughler 등, 1987). 한편 광질 코르티코이드나 당질 코르티코이드의 성상은 보이지 않고 면역억제 기능도 없는 것으로 알려져 있다(Braughler 등, 1988). 이 제제는 외상성 뇌손상시 유리기에 의한 신경 세포막의 지질 과산화를 감소시킬 목적으로 개발되어 사용이 시도되어 왔고 추가적으로 허혈-재관류 손상, 고산소혈증 치료에 의한 산소증과 연관된 병태적 과정에 사용이 가능하다고 보고되고 있다(Hall 등, 1988; McLaughlin과 Frank, 1994; Shenkar와 Abraham, 1995).

U-74389G의 투여방법과 용량은 연구마다 다양하다. 투여방법으로는 정맥주사가 가장 선호하는 방법이나 복강내 투여도 가능하다고 보고되고 있다(Awasthi 등, 1998; Fukuma 등, 1999). 투여량은 정주일 때 1.5-3mg/kg의 용량이 많이 선택되나(Lehmann 등, 1996; Remmers 등, 1996), 돼지를 모델로 하여 고용량으로 80mg/kg까지 사용한 예도 있다(Zhang 등, 1995).

U-74389G를 복강내로 투여할 경우 많은 용량을 투여해야 하나 U74389G는 pH 4.0이상에서는 용해가 되지 않으므로 산성 용매에 용해를 시킨 후 pH를 중성으로 맞추기 위해 완충제를 혼합하는데, 이러한 조작에 의해 농도가 낮아져 용적이 커지게 된다. 이와 같은 이유로 본 실험에서는 10mg/kg의 용량을 선택하였고 이 용량은 약물의 제조회사인 Ujohn Company가 권장한 복강내 투여용량이지만 복강으로 투여시 약물의 생체 이용률이 10% 정도에 불과한 점을 감안하면 적은 용량이라 할 수 있다.

Melchiorri 등은 쥐를 이용하여 파라콰트 중독시 멜라토닌의 치료효과에 대해 보고한 실험에서 파라콰트 용량을 8개의 군으로 다르게 하여 복강내로 투여했을 때 LD50는 79mg/kg이었다(Melchiorri 등, 1996). 본 실험의 전 단계로 쥐 3 마리에 같은 용량을 투여한 결과 모두 12시간 내에 사망하여, 파라콰트 투여량을 결정하기 위한 실험을 시행하였고 파라콰트 용량을 20, 35,

50mg/kg로 다르게 하여 투여한 결과, LD50는 35mg/kg에서 50mg/kg 사이에 있음을 알 수 있었고, 비록 투여량에 따른 실험군이 적었지만 그래프를 통하여 산출한 LD50은 40mg/kg 이었다.

따라서 저자는 U-74389G의 치료효과를 보기 위한 실험에서의 파라콰트 용량을 산출된 LD50보다는 적지만 중독효과를 충분히 나타낼 수 있는 35mg/kg로 하였다.

또한 LD50의 산출시기를 약물 투여 24시간 후로 정하였는데, Melchiorri 등이 보고한 바에 의하면 이 시간 이후에 발생하는 사망은 자유기 생성과 직접적인 연관이 있지 않고 각 조직 손상에 의한 기능 부전이 원인일 가능성 이 높다고 하였다.

위의 결과에서 보듯이, 항산화제 21-aminosteroid의 일종인 U-74389G는 혈장, 신장 및 폐 조직에서 파라콰트에 의한 지질 과산화를 억제하는 효과를 보여 사망률을 감소시킬 수 있었고, 파라콰트에 대해 효과가 확실히 보고된 해독제가 없는 현재 상황에서 임상적인 사용 가능성을 제시하였다. 그러나 이 실험은 몇 가지 제한점이 있다. 첫째, 파라콰트 투여량을 결정하기 위한 실험에서 실험군의 수가 적었고 U-74389G의 치료효과를 보기 위한 실험에서는 실험동물의 개체수가 적은 점을 들 수 있다. 둘째, 본 실험에서는 파라콰트와 U-74389G를 모두 복강내로 투여하였기 때문에 약물간의 상호작용이 있을 수 있다는 것이다. 셋째, 지질 과산화를 억제함으로서 사망률을 감소시킬 수는 있지만 파라콰트 중독의 사망원인으로 지질 과산화외의 다른 기전이 작용할 가능성이 있다는 점이다. 이 중 하나로 제시되는 것은, 파라콰트의 산화-환원의 주기적 순환 반응이 계속 진행함에 따라 NADPH 소모에 의한 결핍으로 세포의 물리적 혹은 생화학적 기능의 손실로 인해 세포 사망이 초래될 수 있다는 것이다(Rose 등, 1976).

그러므로 파라콰트 중독시 U-74389G의 임상적 사용을 위해서는 투여량과 투여방법에 대한 보다 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

이상의 결과에서 파라콰트에 중독된 흰쥐를 이용한 실험을 통하여 항산화제 21-aminosteroid의 일종인 U-74389G는 혈장, 신장 및 폐 조직에서 파라콰트에 의한 지질 과산화를 억제하는 효과를 보여 사망률을 감소시킴을 알 수 있었고, 파라콰트에 대해 효과가 확실히 보고된 해독제가 없는 현재 상황에서 임상적인 사용 가능성을 제시하였다. 그러나 U-74389G의 임상적 사용을 위해서는 투여량과 투여방법에 대한 보다 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

김성중: 제초제 I. 파라퀴트(Paraquat). 중독백과 128-130, 1998

김성중, 이영수: Paraquat 중독후 생존한 17례에 대한 임상적 관찰. 대한
응급의학회지 8:93-97, 1997

Awasthi S, Gyurascics A, Knight SA, Welty SE, Smith CV: Protein
oxidation biomarkers in hyperoxic lung injury in rats: effects of
U-74389. Toxicol Lett 95:47-61, 1998

Bateman DN: Pharmacological treatments of paraquat poisoning. Hum
Toxicol 6:57-62, 1987

Bernard GR: N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung
injury. Am J Med 91(suppl 3C):54-59, 1991

Bismuth C, Ganier R, Baud FJ: Paraquat poisoning. An overview of the
current status. Drug Saf 5:243-251, 1990

Bolli R: Superoxide dismutase ten years later: A drug in search of a
function. J Am Coll Cardiol 18:231-233, 1991

Bradford MM: A sensitive method for the quantitation of microgram
quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal
Biochem 72:248-254, 1976

Braughler JM, Chase RL, Neff GL: A new 21-aminosteroid antioxidant
lacking glucocorticoid activity stimulates ACTH secretion and blocks
arachidonic acid release from mouse pituitary tumor(AtT-20) cells. J
Pharmacol Exp Ther 244:423-427, 1988

Braughler JM, Pregenzer JR, Chase RL: Novel 21-aminosteroids as
potent inhibitors of iron-dependent lipid peroxidation. J Biol Chem
262:10438-10440, 1987

- Crome P: Paraquat Poisoning. *Lancet* 8:333-334, 1986
- Dillard CJ, Tappel AL: Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsome. *Lipids* 6:715, 1971
- Fantinii GA, Yoshioka T: Deferoxamine prevents lipid peroxidation and attenuates reoxygenation injury in postischemic skeletal muscle. *Am J Physiol* 246:1953-1959, 1993
- Fukuma K, Marubayashi S, Okada K, Yamada K, Kimura A, Dohi K: Effects of lazaroid U-74389G and methylprednisolone on endotoxin-induced shock in mice. *Surgery* 125:420-430, 1999
- Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS, Howland MA, Hoffman RS: Paraquat and Diquat. *Toxicologic Emergencies*. Stamford, Appleton & Lange, 6th ed. 1998, pp1475-1484
- Gutteridge JMC, Halliwell B: The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biol Sci* 15:129-135, 1990
- Hall ED, Yonkers PA, McCall JM: Effect of 21-aminosteroid U74006F on experimental head injury in mice. *J Neurosurg* 68:456-461, 1988
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE: Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 119:598-620, 1992
- Hochstein P, Jain SK: Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. *Fed Proc* 40:183-190, 1981
- Jarero DR: Malondialdehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Methods Enzymol* 12:302-310, 1978
- Klaassen CD: The basic science of poisons. *Toxicology*. New York,

McGraw-Hill, 4th ed. 1996, pp602-605

Lehmann CH, Egerer K, Georgiew A, Weber M, Kox WJ: Inhibition of tumor necrosis factor-a release in rat experimental endotoxemia by treatment with the 21-aminosteroid U-74389G. *Intensive Care Med* 22(Suppl 3):338, 1996

McLaughlin GE, Frank L: Effects of the 21-aminosteroid, U74389F, on bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats. *Crit Care Med* 22:313-319, 1994

Melchiorri D, Reiter RJ, Sewerynek E, Hara M, Chen L, Nistico G: Paraquat toxicity and oxidative damage. *Biochemical Pharmacol* 51:1095-1099, 1996

Nielsen H: Covalent binding of peroxidized phospholipid to protein III: Reaction of individual phospholipids with different proteins. *Lipids* 616:215-224, 1981

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351-358, 1979

Remmers D, Dwenger A, Grotz M: Attenuation of multiple organ dysfunction in chronic sheep model by the 21-aminosteroid U74389G. *J Surg Res* 62:278-283, 1996

Rose MS, Lock EA, Smith LL, Wyatt I: Paraquat accumulation: Tissue and species specificity. *Biochem Pharmacol* 25:419-425, 1976

Rose MS, Smith LL, Wyatt I: The relevance of pentose pathway stimulation in rat lung to the mechanism of paraquat toxicity. *Biochem Pharmacol* 25:1763-1767, 1976

Shenkar R, Abraham E: Effects of treatment with the 21-aminosteroid,

U74389F, on pulmonary cytokine expression following hemorrhage and resuscitation. Crit Care Med 23:132-139, 1995

Slatter TF: Free radical mechanisms in tissue injury. Biochemistry 222:1-8, 1984

Zhang H, Spapen H, Maikis P: Tirilazad mesylate(U-74006F) inhibits effects of endotoxin in dog. Am J Physiol 268:1847-1855, 1995

Abstract

The Effect of Antioxidant, U-74389G on Paraquat Intoxicated Rat

Jin Ho Oh

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Jin Sik Min)

Annually hundreds of people's death is reported due to suicidal abuse and accidental intoxication of Paraquat, known as Gramoxone or Paraquo(brand name). The clinical symptom of intoxication is manifested by necrosis of skin or conjunctiva from direct contact and corrosion of oral, gastrointestinal mucosa as well as involving the respiratory tract causing acute respiratory failure. Paraquat also induces systemic intoxication like hepatotoxicity and renal failure and lung injury in multiple ways resulting in respiratory failure. The pathogenesis of paraquat intoxication is cyclic oxidation and reduction in the tissues. The free radicals formed from this reaction induces cellular injury through lipid peroxidation, protein degeneration and DNA fragmentation. Initial treatment involves ingestion of Fuller's earth or activated charcoal, diuretics and hemodialysis and charcoal hemoperfusion. And many antidotes are under experiment, but the results are variably reported. 21 - aminosteroid, a new antioxidant is a strong suppressor of lipid peroxidation. It inhibits cellular necrosis and eradicates lipid peroxide and

scavenges free radical. The author therefore, tried to verify if the laboratory mortality improved by suppressing lipid peroxidation with the antioxidant, 21-aminosteroid(U-74389G) in paraquat intoxicated rat model. We used wistar rats, paraquat without any substrate as undiluted solution, and U-74389G as the antioxidant, 21-aminosteroid. In order to decide the amount of paraquat to be used in the experiment, the paraquat was injected intraperitoneally in three different amounts. The group injected 20mg/kg showed 0% mortality, 35mg/kg receiving group showed 25% mortality and none survived from 50mg/kg receiving group therefore showed 100% mortality. Calculated from this data, LD50 with 24hr was 40mg/kg.

In the experiment using U-74389G, the group injected only 35mg/kg of paraquat showed 30% mortality, and 10% mortality in the group injected both paraquat and U-74389G.

In search for the lipid peroxidation, TBARS test was done with plasma, liver, kidney and lung tissue from sacrificed rats. The U-74389G receiving group did not show any significant difference with the control group. The TBARS results of paraquat receiving group showed differences compared to the control group in plasma, kidney and lung. But there was no significant differences in the liver tissue. The results from paraquat and U-74389G receiving group showed significant differences compared to the paraquat only receiving group in plasma, kidney and lung tissue, but there was no differences in the liver. According to these results, the mortality with U-74389G as the antioxidant, was reduced through the suppression effect of lipid peroxide

in the plasma, kidney and lung tissues. Currently there are no definite antioxidant known to treat paraquat intoxication, therefore, U-74389G could be a promising drug for the future, but the amount and infusion route is yet to be studied and determined in the future.

Key Words : paraquat, lipid peroxidation, antioxidant, U-74389G