

만성사염화탄소 및 에탄올 중독간에서 Malotilate (Diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate)의 효과에 관한 혈청화학적 및 병리조직학적 관찰

강원대학교 약학대학* 및 중앙대학교 의과대학 병리학교실

김형춘* · 박언섭 · 유재형 · 송계용

서 론

Malotilate는 항균제인 Isoprothiolane의 안전성 연구 과정에서 간세포 재생효과를 나타낸 것이 동기가 되어 개발된 약물로서 그 화학명은 diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate이다¹⁾. 독성시험에서는 물론 최기형 학적으로도 안전성이 높은 약물로 평가되고 있으며²⁾, 임상용용량(10 mg/kg)에서도 중추신경계에 영향을 주지 않다고 보고되고 있다³⁾.

Malotilate의 탁월한 간 해독효과는 사염화탄소를⁴⁻⁶⁾ 비롯하여 ethionine^{5,7)}과 galactosamine등⁸⁾에 의한 간 손상에서 보고되었고, 주요 작용기전으로는 RNA 합성 촉진에 의한 단백질합성 촉진^{9,10)}, microsome 전자전달계의 유도^{11,12)}, 간의 과산화지질억제^{4-6,12)}, 간혈류량의 증가와 담즙분비증가 등을 일으키며, 병리학적으로도 지방과 섬유화 억제등^{6,7)}을 나타내는 것으로 알려져 있다.

에탄올은 임상적인 측면에서 가장 흔히 접하는 간독 소이다. 따라서 실질적인 malotilate의 임상적 응용을 위하여는 에탄올에 대한 malotilate의 안전역(margin of safety)이 확립되어야 할 것이다. 그러나, 에탄올의 간 독성에 미치는 malotilate의 영향 또는 보호효과에 관하여는 몇몇 보고¹³⁻¹⁵⁾를 제외하고는 거의 연구된 바 없으므로 사염화탄소 및 에탄올에 의한 만성 중독간에 미치는 보호효과를 관찰하기 위하여 본 연구를 실시하게 되었다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

본 실험을 위하여 동일한 조건에서 사육한 35주령 이상의 Sprague-Dawley계의 암컷 흰쥐 104마리를 사용하였다.

2. 시 약

Malotilate 순품은 삼성제약에서 제공 받았으며, 사염화탄소(Wako Pure Chem Co., Japan)와 무수에탄올(Fluka, Switzerland)이 사용되었다.

3. 실험방법

Malotilate는 1일 1회 100 mg/kg 경구투여하였으며, 에탄올은 20% 수용액으로하여 음료수 대신 마시게 하였고, 사염화탄소는 1.5 ml/kg씩 주 2회 피하주사하였다. 상기용량으로 4주 또는 8주간으로 나누어 실험군에 따라 투여하였으며, 마지막 투여 36시간 후에 각각의 간을 적출하고, 혈액은 심장에서 직접 채혈하여 다시 3,000 r. p. m에서 원심분리하여 혈청을 취하였다.

4. 4주 투여군

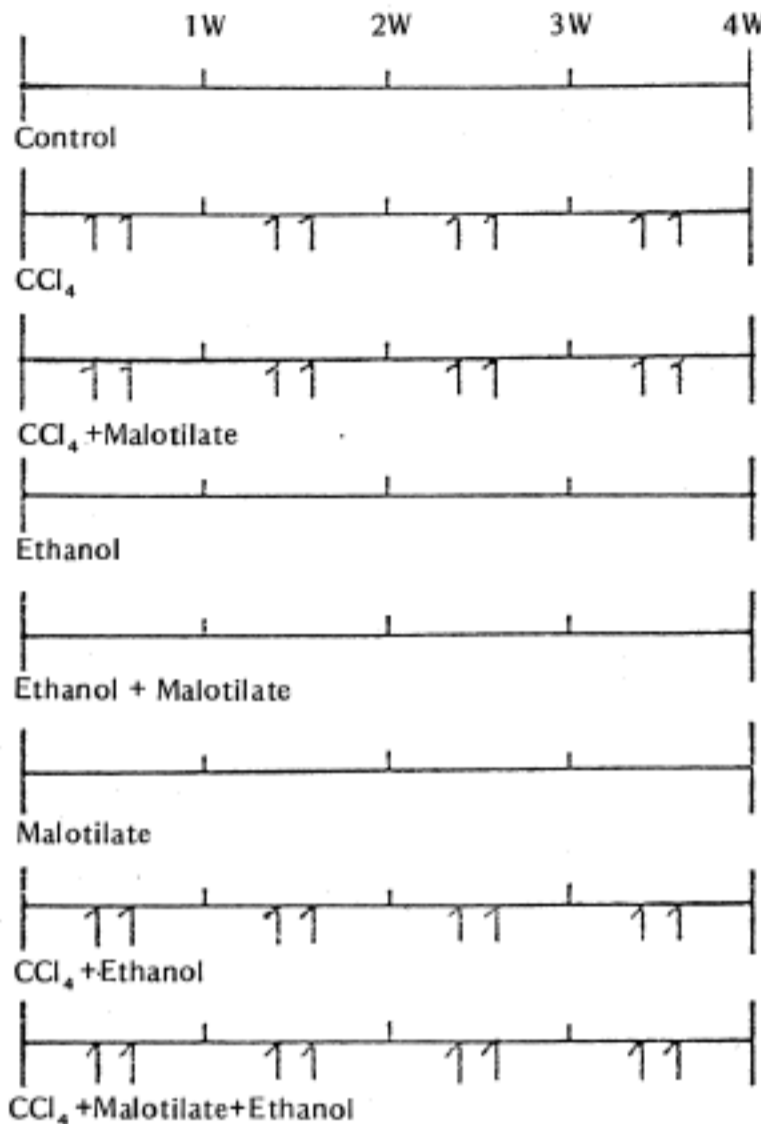
대조군, malotilate 투여군, 사염화탄소 투여군, 사염화탄소와 malotilate 병용투여군, 에탄올 투여군, 에탄올과 malotilate 병용투여군, 사염화탄소와 에탄올 병용투여군, 그리고 사염화탄소, malotilate 및 에탄올의 복합병용 투여군의 8군으로 나누었다(Table 1).

5. 8주 투여군

Malotilate 4주 투여 후 에탄올 4주 투여군, 사염화탄

*본 논문의 요지는 대한병리학회 제39차 추계학술대회에서 발표되었음.

Table 1. Experimental procedures in chronic group (4 weeks)



1 CCl₄ 1.5ml/Kg S.C., twice a week

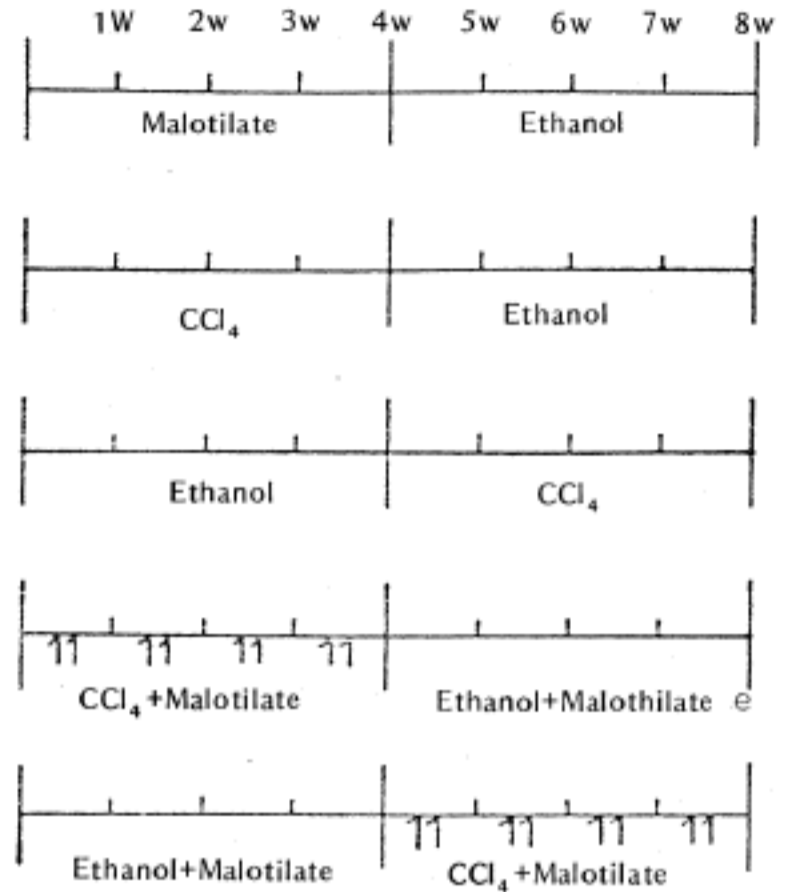
Malotilate was given to orally as a dose of 100mg/kg once a day and each group receiving ethanol, 20% aqueous ethanol was replaced by drinking water daily. Experimental animals were sacrificed 36 hours after last treatment.

소 4주 투여 후 에탄올 4주 투여군, 에탄올 4주 투여후 사염화탄소 4주 투여군, 사염화탄소와 malotilate를 4주 병용투여시킨 후 에탄올과 malotilate를 4주 병용투여한 군의 5군으로 나누었다(Table 2).

상기의 4주 및 8주 투여군에 대하여 malotilate가 그 생존율에 미치는 효과를 관찰하고 혈청 중의 GOT, GPT, alkaline Phosphatases, cholesterol, HDL-cholesterol 및 gamma glutamyltransferase (γ -GTP)치를 chemical analyzer (Gilford)로 측정하고, 통계처리는 student's t-tst로 검정하였다.

간조직은 10% 중성 포르말린에 고정시킨 후 H&E 염색을 실시하였고, 특히 섬유화가 의심되는 조직은

Table 2. Experimental procedures in chronic group (8 weeks)



1 CCl₄ 1.5ml/Kg S.C., twice a week

Malotilate was given to orally as a dose of 100mg/kg once a day and each group receiving ethanol, 20% aqueous ethanol was replaced by drinking water daily. Experimental animals were sacrificed at 36 hours after last treatment.

Masson trichrome 염색을 실시하여 그 조직변화를 광학 현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 생존율에 미치는 malotilate의 영향 (Table 3)

Malotilate는 사염화탄소나 에탄올 같은 간독소 노출에 대하여 유의하게 생존율을 증가시켰다. 특히 사염화탄소와 에탄올을 동시에 4주간 노출시킬 때는 무려 73마리의 실험동물 중 5마리만이 생존하였으나 malotilate 투여됨으로써 현저하게 생존율을 증가($p < 0.05$)시켰다. 또한 4주간 에탄올로 전처치하여 사염화탄소의 간독성을 증강시킨 실험동물에 대하여 malotilate의 병용투여는 그 생존율이 거의 대조군치에 이르게 하였다.

그러나, malotilate는 에탄올 투여 쥐 및 4주간 사염화탄소가 처리된 에탄올 투여 쥐에 대하여서는 전혀 영

Table 3. Effect of Malotilate (MLT) on survival rate in chronic injury induced by CCl₄ with or without ethanol

4 weeks group	Percentage of survival survived number ($\frac{\quad}{\text{initial number}}$)
Normal	100% (6/ 6)
MLT	86 (6/ 7)
CCl ₄	62.5 (10/16)
CCl ₄ +MLT	80 (7/10)
EtOH	100 (9/ 9)
EtOH+MLT	100 (7/ 7)
CCl ₄ +EtOH	6.8 (5/73)
CCl ₄ +MLT+EtOH	46.7 (14/30)] **
8 weeks group	
- 4 weeks - 8 weeks	
MLT, EtOH	70 (6/ 8)
CCl ₄ , EtOH	100 (13/13)
CCl ₄ +MLT, EtOH+MLT	80 (8/10)
EtOH, CCl ₄	30.8 (4/13)
EtOH+MLT, CCl ₄ +MLT	87.5 (7/ 8)] #

Each value shows mean \pm S.E.

: P < 0.025, X² value

** : P < 0.005, X² value

항을 미치지 못하였다.

2. 혈청화학적 소견 (Table 4)

SGOT : 4주간 사염화탄소를 투여한 흰쥐는 정상약 22배 활성이 증가하였다. 사염화탄소 군에 malotilate를 4주 병용시킬 때 그 활성이 현저히 억제 ($p < 0.05$)되었고, 사염화탄소 흰쥐에 에탄올을 처리한 흰쥐는 오히려, 4주간 사염화탄소를 투여한 흰쥐보다 활성이 현저히 감소 ($p < 0.01$)되었으나, malotilate가 병용될 경우, 사염화탄소와 에탄올 흰쥐의 활성을 억제하였다.

8주간 투여군에서는 에탄올 4주 투여 후 사염화탄소 4주 투여군이 높은 활성 (203.0 ± 34.9 I.U./L)을 나타내었으나, malotilate가 8주간 병용됨으로서 현저히 억제 ($p < 0.01$)되었다.

사염화탄소 4주 투여 후 에탄올을 4주 투여한 군도 malotilate를 병용시키면서 개선되는 경향을 나타내었다.

SGPT : 4주간 사염화탄소를 투여시 정상흰쥐의 약

24배로 되었으나, malotilate가 4주 병용됨으로서 현저히 감소 ($p < 0.01$)되어 정상 흰쥐의 약 2배의 활성만을 나타내었다. 4주간 사염화탄소와 에탄올을 처리한 흰쥐는 사염화탄소처리 흰쥐보다 활성이 억제되며, 사염화탄소 및 에탄올 처리 쥐에 malotilate를 4주간 병용 처리시 활성이 현저히 감소 ($p < 0.01$)되었다.

8주 투여군에서 가장 높은 활성을 나타낸 군인 에탄올 4주 투여 후 사염화탄소 4주 투여군도 8주 malotilate 병용투여로 현저히 감소 ($p < 0.01$)되었다.

Alkaline phosphatase : 4주간 사염화탄소를 투여시킨 흰쥐는 정상 흰쥐보다 활성이 약 2배 상승 ($p < 0.05$)하였으나, 4주간 malotilate 병용투여로 거의 정상치로 감소 ($p < 0.05$)하였다. 4주간 사염화탄소와 에탄올을 처리한 흰쥐가 가장 높은 활성 (28.2 ± 88.2 I.U./L)을 나타내었으나, malotilate 병용투여로 현저하게 억제 ($p < 0.05$)되었다.

8주 투여군에도 malotilate가 병용투여 됨으로서 활성이 억제되는 경향이였다.

Cholesterol : 정상 흰쥐는 37.1 ± 3.7 mg%를 나타내었고, 4주간 사염화탄소를 투여한 흰쥐에서 현저한 저하 ($p < 0.05$)를 초래하였고, malotilate를 병용시켜도 cholesterol 치는 영향을 주지 못했다.

HDL cholesterol : 4주간 사염화탄소를 투여시에 보여지는 저HDL-cholesterol혈증 (15.1 ± 1.6 mg%)은 malotilate를 병용시킬 때 현저히 개선 ($p < 0.05$)되어 정상치로 되었다.

Gamma glutamyltranspeptidase : 대조군인 정상 흰쥐, malotilate 흰쥐에서는 불규칙한 편이나, 4주간 사염화탄소를 투여할 때 정상 흰쥐보다 약 3.4배 증가하였고, malotilate를 병용시킬 때 현저히 그 활성이 억제 ($p < 0.05$)되었다.

광학현미경소견 (Table 5)

1. 4주 투여군

Malotilate 투여군의 변화로는 경도의 울혈과 문맥의 주위염이 관찰되었다. CCl₄ 투여시 중등도내지 심한 중심성 지방변성과 중등도의 울혈, 산재성괴사, 섬유화, kupffer 세포의 증가, 부동세포증등이 관찰되었다 (Fig. 1).

CCl₄와 malotilate를 병용투여시 CCl₄ 투여시보다 현

Table 4. Effects of malotilate (MLT) on values of serum in chronic injury

4 weeks group	Number of rat	GOT (I U/L)	GPT (I U/L)	ALP (I U/L)	Chol. (I U/L)	HDL-Chol. (I U/L)	Y-GTP (I U/L)
Normal	6	58.50 ± 10.65	33.38 ± 8.75	50.92 ± 8.97	37.13 ± 3.67	25.98 ± 4.13	3.27 ± 0.88
MLT	6	65.95 ± 4.24	29.83 ± 5.32	51.25 ± 6.92	40.68 ± 3.14	29.40 ± 2.71	1.18 ± 0.23
CCl ₄	6	1278.85 ± 344.42 ^a	808.28 ± 286.03 ^a	108.95 ± 14.44 ^b	22.97 ± 4.43 ^a	15.80 ± 1.64 ^a	11.20 ± 3.4
CCl ₄ + MLT	8	116.32 ± 6.52 ^c	73.03 ± 7.15 ^d	63.68 ± 3.99 ^d	24.55 ± 5.69	24.91 ± 4.0 ^c	2.17 ± 0.43 ^c
EtOH	9	75.95 ± 2.25	45.69 ± 4.24	87.70 ± 8.78	44.90 ± 3.85	36.66 ± 7.23	2.93 ± 1.09
EtOH+MLT	7	96.05 ± 8.84	57.38 ± 8.70	90.07 ± 6.80	50.02 ± 3.5	33.99 ± 3.43	1.50 ± 0.75
CCl ₄ + EtOH	5	358.41 ± 117.83 ^d	259.20 ± 68.76 ^f	282.60 ± 88.23 ^c	57.20 ± 11.5 ^d	57.20 ± 3.57 ^c	3.10 ± 0.92
CCl ₄ + MLT + EtOH	14	114.37 ± 23.88 ^e	62.76 ± 7.43 ^f	133.72 ± 16.93	49.29 ± 8.06	38.90 ± 5.90	2.05 ± 0.48

8 weeks group		GOT (I U/L)	GPT (I U/L)	ALP (I U/L)	Chol. (I U/L)	HDL-Chol. (I U/L)	Y-GTP (I U/L)
-4W							
-8W							
MLT	EtOH	72.01 ± 8.2	33.0 ± 11.0	74.20 ± 15.60	47.20 ± 6.14	27.0 ± 4.15	1.30 ± 0.76
CCl ₄	EtOH	131.10 ± 13.6	60.40 ± 8.9	84.01 ± 11.71	54.80 ± 2.46	31.89 ± 2.60	0.80 ± 0.31
CCl ₄ + MLT	EtOH+MLT	96.0 ± 8.7	36.90 ± 8.2	75.86 ± 11.0	55.70 ± 4.6	35.71 ± 3.50	1.55 ± 0.85
EtOH	CCl ₄	203.0 ± 34.9	107.5 ± 26.8	76.0 ± 13.6	50.75 ± 6.40	26.36 ± 2.51	2.07 ± 0.71
EtOH+MLT	CCl ₄ + MLT	81.30 ± 10.20 ^g	37.10 ± 7.0 ^g	57.14 ± 8.12	52.12 ± 6.10	31.14 ± 0.88	2.47 ± 0.44

Each value shows mean ± S.E

a : P < 0.05, VS. the normal group.

b : P < 0.01, VS. the normal group.

c : P < 0.05, VS. the CCl₄ group.

d : P < 0.01, VS. the CCl₄ group.

e : P < 0.05, VS. the CCl₄ + EtOH group

f : P < 0.01, VS. the CCl₄ + EtOH group

g : P < 0.01, VS. the EtOH plus CCl₄ of 8wk group.

Table 5. Histopathological findings in rat liver with chronic injury

4 Wks group	Congestion		Fatty change		Inflammation		Spotty necrosis		Fibrosis		Anisocytosis		Kupffer cells	
	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Normal	6		6		6		6		6		6		6	
MLT	5	1	6		3	3	6		6		6		6	
CCl ₄	2	8	1	5	2	5	3	5	2	6	4	4	6	5
CCl ₄ +MLT	4	2	3	3	1	3	4	2	4	2	3	3	3	5
EtOH	1	4	3	6	1	4	6	2	8		8		8	
EtOH+MLT	6		6		5	1	6		6	5	6		6	
CCl ₄ +EtOH	5		4	1	5		5		3	2	2	3	4	1
CCl ₄ +MLT+EtOH	8		2	2	1	7	4	4	2	6	4	4	4	4
8 Wks group														
-4W														
-8W														
MLT	3	2	5		5		5		5		5		5	
EtOH	7		1	3	1	6	1	6	7		6	1	2	5
CCl ₄	7		7		7		7		5	2	7		7	
CCl ₄ +MLT	7		7		4		4		1	1	2		3	1
EtOH	4		1	1	2		4		2	5		2	2	2
EtOH+MLT	7		2	5	7		2	5	2	5		7	3	4
CCl ₄ +MLT	7		2	5	7		2	5	2	5		7	3	4

+++ : severe

++ : moderate

+ : mild

- : normal

MLT : malotilate, EtOH : ethanol

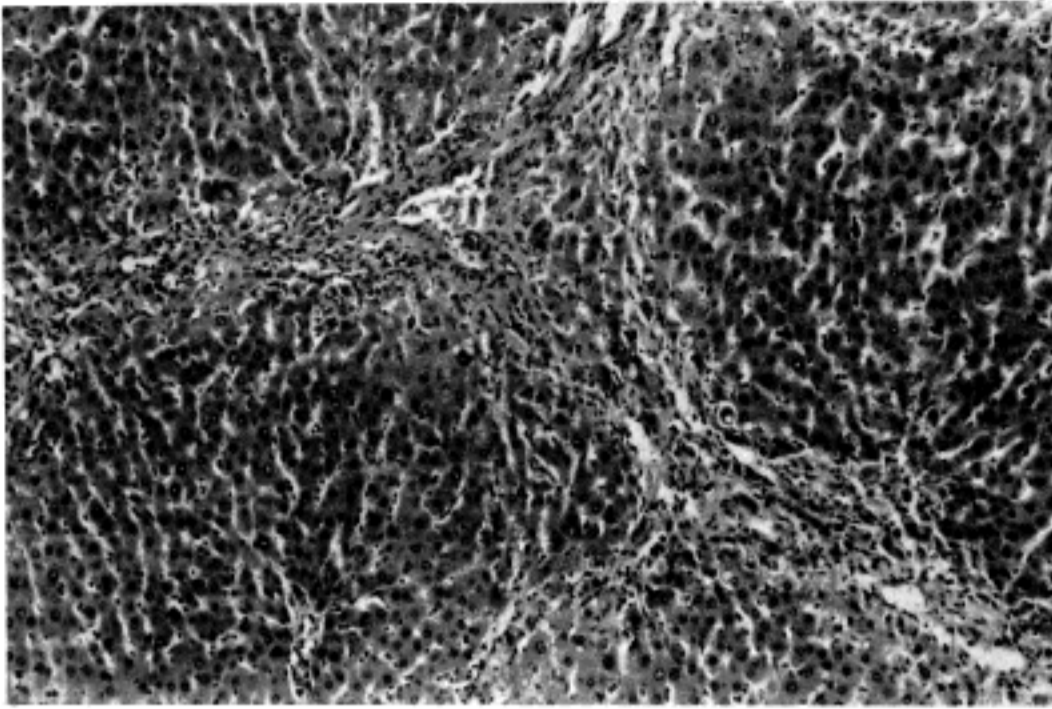


Fig. 1. Cirrhosis in the chronic group administered with carbon tetrachloride (H&E, x100, 4 weeks).

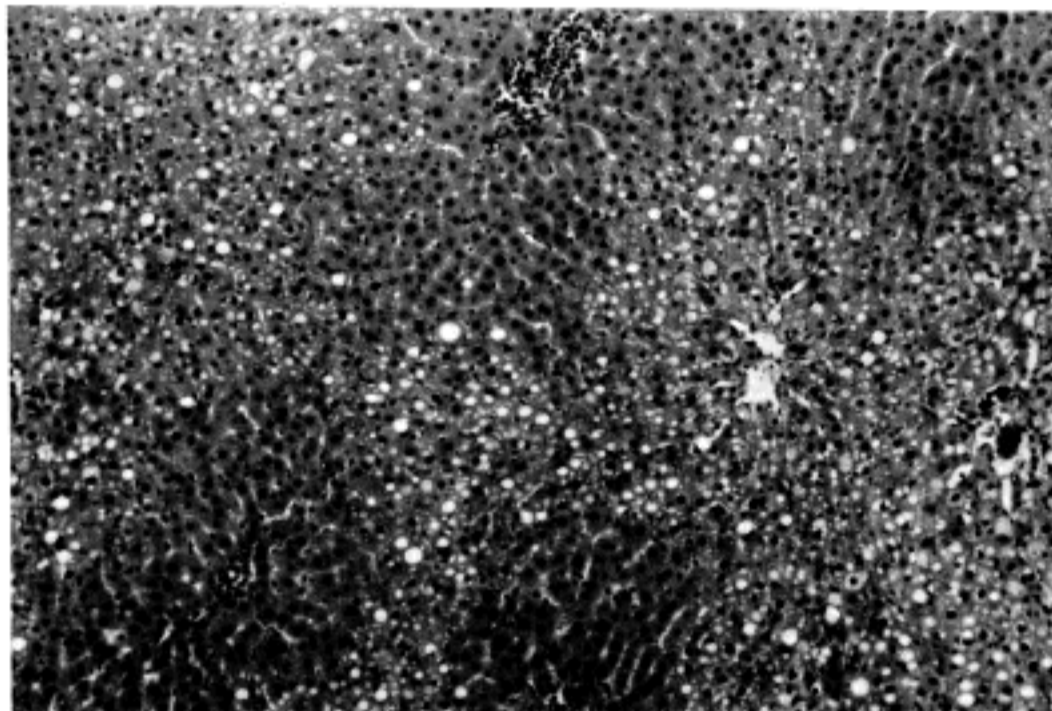


Fig. 2. Mild fatty change and no fibrosis in the chronic groups coadministered with both carbon tetachloride and malotilate (H&E, x100, 4 weeks).

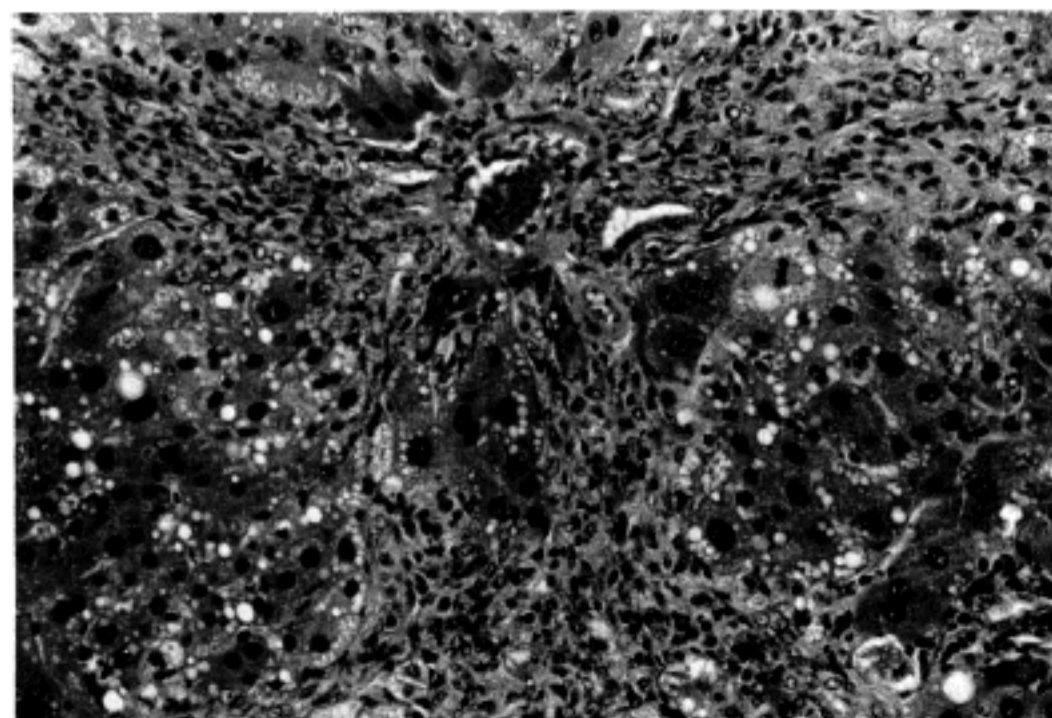


Fig. 3. Cirrhosis in the chronic groups coadministered with both carbon tetachloride and ethanol (H&E, x200, 4 weeks).

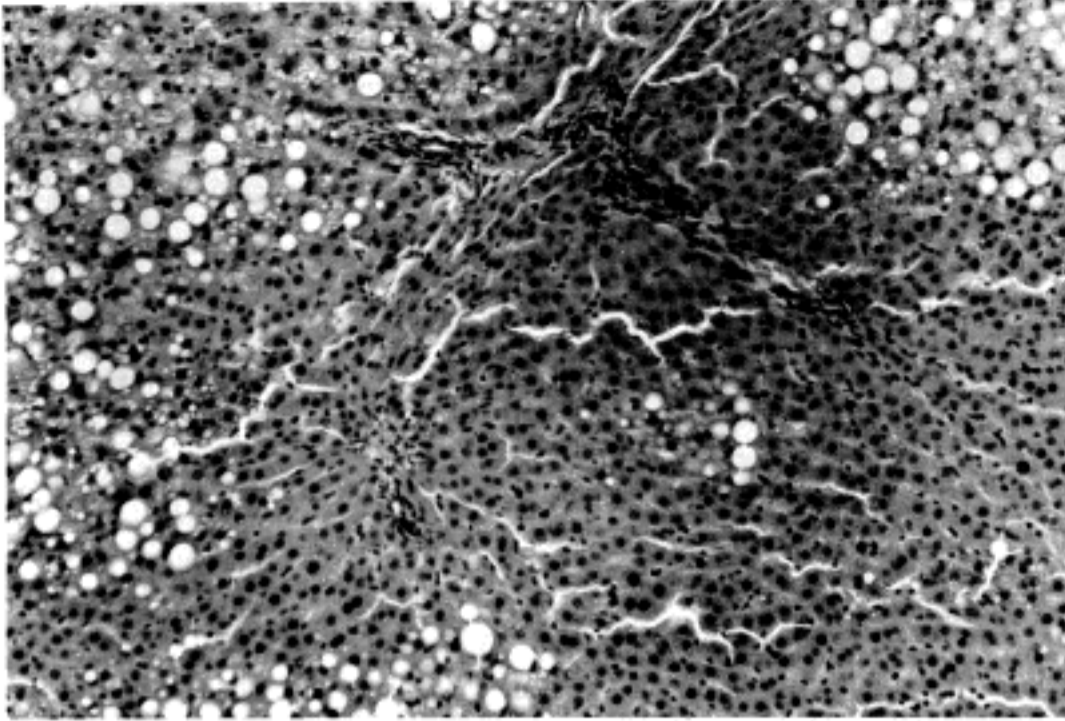


Fig. 4. Moderate fatty changes with fibrogenic activity in the chronic group administered with carbon tetrachloride, ethanol and malotilate (H&E, x100, 4 weeks).

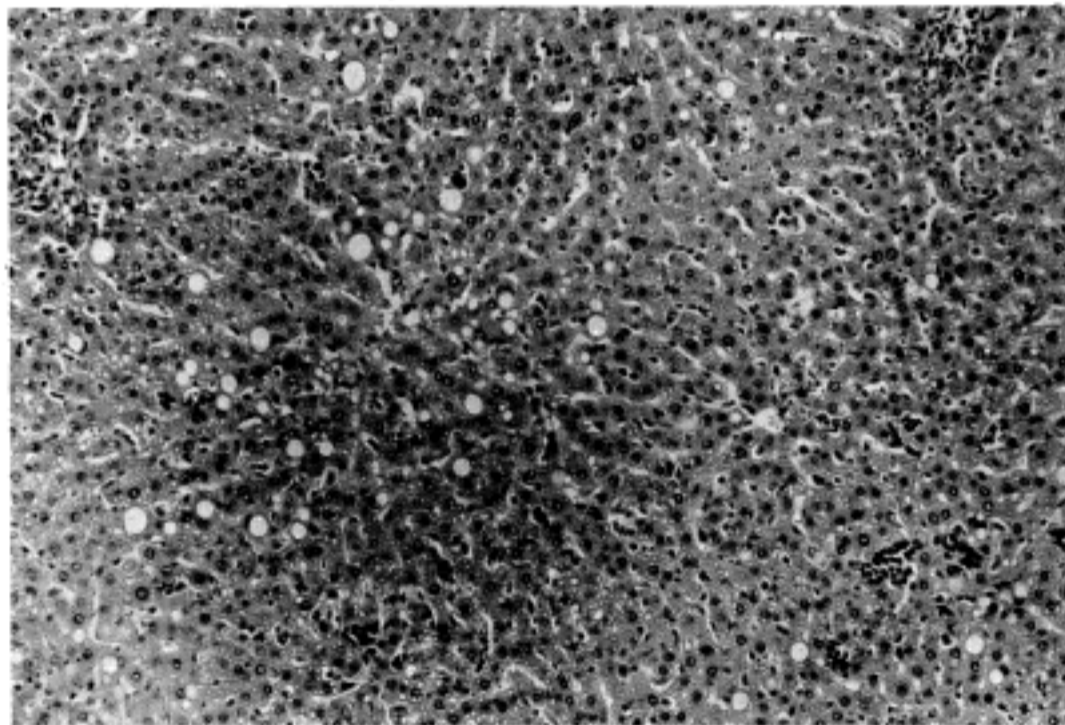


Fig. 5. Spotty necrosis of hepatocytes with mild fatty changes in the chronic group administered with CCl_4 and malotilate followed by ethanol and malotilate (H&E, 100, 8 weeks).

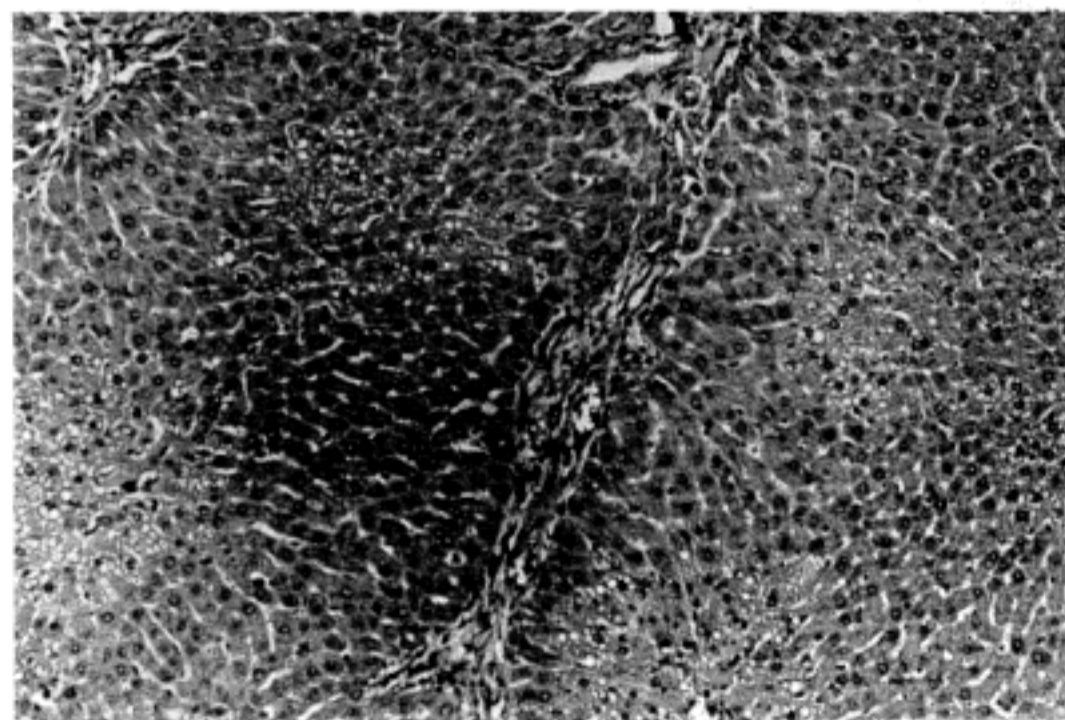


Fig. 6. Mild fatty changes and mild fibrous septation in the chronic groups administered with ethanol followed by carbon tetrachloride (H&E, x100, 8 weeks).

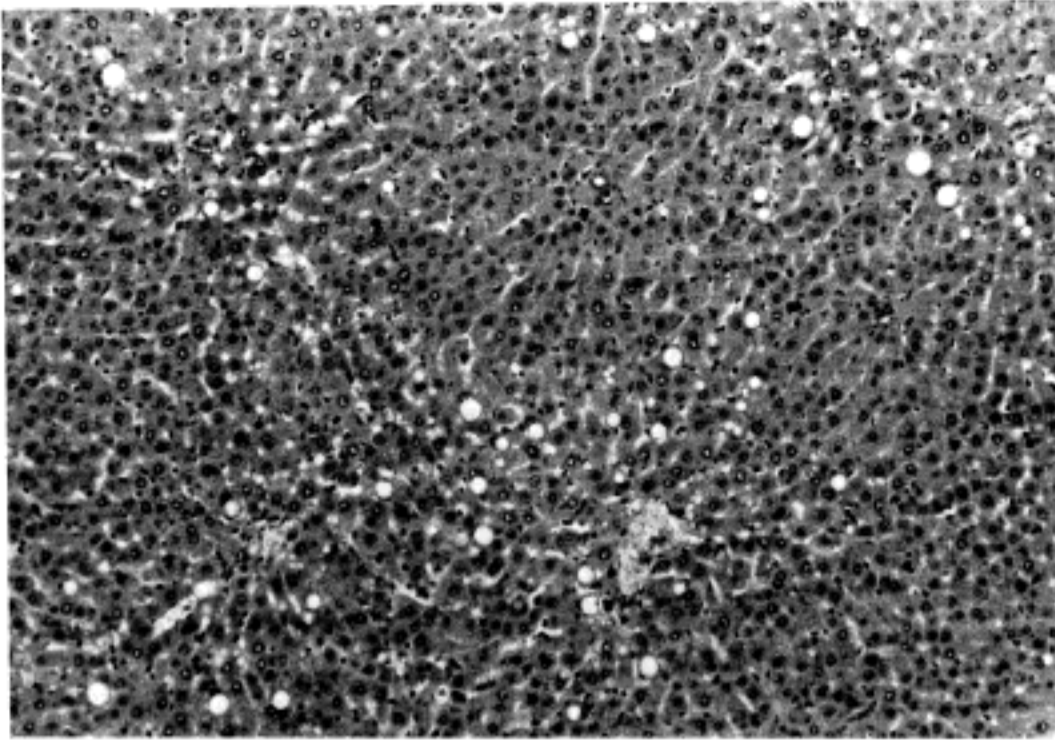


Fig. 7. Improved fatty changes and fibrogenic activity in the chronic groups administered with CCl_4 and malotilate followed by ethanol and malotilate (H&E, $\times 100$, 8 weeks).

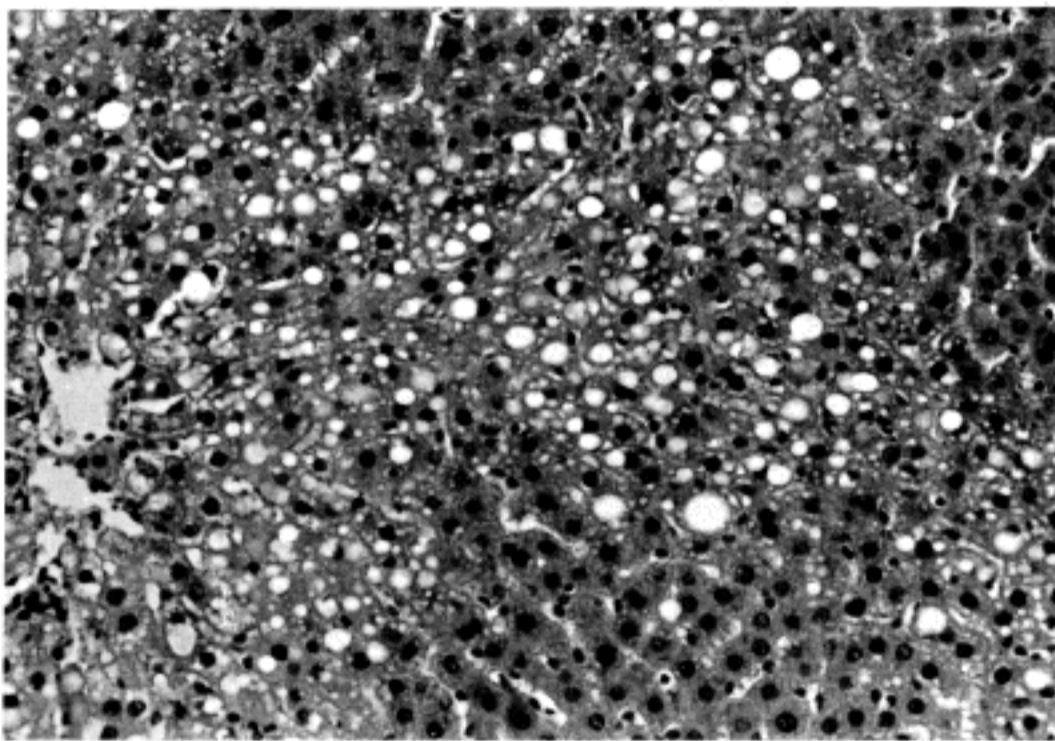


Fig. 8. Fatty changes and fibrogenic activity are improved in the chronic group administered with ethanol and malotilate followed by CCl_4 and malotilate (H&E, $\times 200$, 8 weeks).

저히 지방변성, 산재성괴사, kuppfer 세포 및 섬유화 증가를 억제하는 경향을 나타내었다(Fig. 2).

에탄올 투여시에는 경도내지 중등도의 울혈이 관찰되었다.

에탄올과 malotilate 투여시는 에탄올 단독 투여시와 유사하였다. CCl_4 와 에탄올 투여시 에탄올 단독투여시보다 지방변성, 산재성 간세포괴사 및 섬유화가 증가되었다(Fig. 3).

CCl_4 , malotilate와 에탄올을 병용투여시 CCl_4 단독 투여시 보다는 지방 변성이 감소되는 경향을 나타내었으나, CCl_4 와 에탄올을 병용시보다는 오히려 더 증가되었

다. 그러나 섬유화 및 kuppfer 세포의 증가를 현저히 억제하는 경향을 나타내었다(Fig. 4).

2. 8주 투여군

Malotilate 투여후 에탄올을 투여시 정도의 울혈만 관찰되었다.

CCl_4 투여후 에탄올을 투여시 경도내지 중등도의 지방변성과 경도의 산재성괴사와 함께 섬유화로 관찰하였다(Fig. 5).

CCl_4 및 malotilate 투여후 에탄올 및 malotilate를 투여시 지방변성 및 섬유화, kuppfer세포의 증가를 현

저히 억제하였다(Fig. 6).

에탄올 투여후 CCl_4 투여시 CCl_4 를 전처리한 군에 비해 지방변성과 섬유화가 더 증가되는 경향을 나타내었다(Fig. 7).

에탄올 및 malotilate 투여후 CCl_4 및 malotilate 투여시 에탄올이 전처리되고 CCl_4 가 후처리된 군보다 지방변성과 섬유화를 감소시키는 효과를 나타내었다(Fig. 8).

고 찰

전반적인 간기능에 미치는 malotilate의 효과는 사염화탄소 처리(투여) 때와 사염화탄소와 에탄올을 병용 투여시킬때 현저히 나타났다. 즉, 이들의 혈청 GOT, GPT, Alkaline phosphatase의 높은 활성치를 개선시켰고, 특히 실질성 간손상으로 인한 저 HDL-cholesterol 혈증을 현저히 개선시켰다.

따라서, malotilate는 손상된 간에서 지단백합성을 개선하여 간에서 혈중으로의 지질수송을 촉진시키는 지방간을 치유시키는 것으로 보인다. 본 연구에서 에탄올 중독간에 미치는 malotilate의 혈청화학적 영향은 현저히 나타나지 않았으나, 허인희 등은 주간 20% 에탄올 음료수 대용으로 섭취시켰을 때, 에탄올로 인한 저 cholesterol 혈증 및 저 HDL-cholesterol 혈증을 현저히 개선하여 에탄올 중독간에 대하여도 보호효과를 발현할 수 있음을 밝힌바 있다¹⁶⁾.

간에서 사염화탄소는 일차적으로 cytochrome P-450에 의해 CCl_3 유리기로 변화되어 중심정맥 부위에서 지방변성 및 괴사를 일으키는 간독성 물질이다¹⁷⁾. 따라서, 손상된 중심 정맥부위보다 중심 정맥부위보다 산소분압이 높은 문맥 주위에서 CCl_3 유리기는 즉시 더욱 반응성이 강한 $Cl_3COO\cdot$ 유리기로 대사되어 세포막을 직접 공격함으로써 cytochrome P-450의 활성을 파괴시키는 것으로 보인다^{18,19)}.

그 밖에도 여러 유리기가 중간대사물로서 간 손상기전에 관여함이 밝혀지고 있다. 최근에 Conner등²⁰⁾은 사염화탄소의 최종 대사물로서 superoxide(\dot{O}_2)기가 관여됨을 시사하였으며 \dot{O}_2 는 간경변의 기작과 연관될 수 있으며²¹⁾, 특정알코올 간질환 및 알콜성 간경변증환자에서 철이 침착됨으로 간의 산소 유리기 독성과 과산화 지질 형성을 촉진시킨다고 보고되고 있다^{22,23)}. 실험동물에서 에탄올은 사염화탄소의 간독성을 증가시킬 수 있으

며²⁴⁻²⁷⁾, 특정 실험조건 하에서는 사염화탄소의 간독성을 감소시키든지, 또는 사염화탄소의 독성에 영향을 주지 않는다²⁵⁻²⁹⁾. Hasumura등²⁴⁾은 만성 알콜섭취(4~5주) 후에 사염화탄소의 간독성이 증가되는 원인으로 에탄올 섭취 후의 마이크로솜 효소유도로 인해 사염화탄소의 반응 대사물이 증가되는 것이라고 하였다.

본 연구에서도 8주간에서 각 4주씩 사염화탄소(전)와 에탄올(후)을 투여시에 간에서 사염화탄소의 독성이 감소됨을 확인할 수 있었고, 에탄올(전)과 사염화탄소(후)를 투여시의 간에서는 사염화탄소의 독성이 증가됨을 알 수 있었다. Malotilate는 에탄올로만 처리한 군보다는 사염화탄소와 병용되거나 사염화탄소 단독 처리시에 더욱 보호효과를 나타내었으며, 그 기전은 유리기의 생성억제와도 관련된 것으로 보인다.

급성실험으로 사염화탄소 노출간 및 사염화탄소와 에탄올 노출간에서 관찰되는 중심정맥 주위의 지방변성은 malotilate로 처리함으로써 억제되었다. 이와같은 지방축적 억제 작용은 담즙분비 촉진 작용 및 혈류량 증가를 도모하여 간조직내의 혈액순환을 개선할 것으로 생각된다^{30,31)}.

그러나, 만성실험에서 사염화탄소와 에탄올을 4주 병용시보다 4주간 malotilate를 추가로 병용시킬 때 섬유화 및 kupffer 세포 증식을 억제하였으나, 오히려 지방변성은 증가되었다. 또한 사염화탄소를 주 2회씩 4주간 투여시 생존율은 62.5%이나, 동시에 에탄올을 섭취시킨 쥐는 생존율이 불과 6.8%이었으나, 그 생존쥐의 혈청화학적 소견과 조직학적 소견이 오히려 사염화탄소 단독 투여 쥐보다 양호한 편이었다. 이러한 작용 기전들은 앞으로 규명되어야 할 것이다. 에탄올 투여 흰쥐에 대한 조직 변화는 거의 나타나지 않았고, malotilate를 처리하여도 현저한 변화는 이루어지지 않았다. 흰쥐 간과 사람의 간 조직의 상이점을 고려하여 볼 때 에탄올 노출 후의 변화를 정밀하게 조사하기 위하여는 choline 결핍사료, 노출용량(사염화탄소에 해독효과를 나타내는 용량이 에탄올에 대하여도 해독 효과를 나타낼 것인지의 여부) 및 기간등을 연관시켜야 할 것이다³²⁻³⁴⁾. Malotilate 4주 및 8주 투여로 인하여 에탄올로 사염화탄소의 독성을 증가(에탄올 4주 전처리) 또는 저하(에탄올 4주 후처리)시킨 간과 4주간 사염화탄소를 처리시킨 간에 대하여 섬유화, 지방변성, 산재성괴사, kupffer 세포 증식등이 억제됨으로서 더욱 그 가능성이 높게 평가되고 있다.

결 론

사염화탄소, 에탄올의 단독 투여시와 사염화탄소 및 에탄올의 병용 투여시 관찰되는 만성 간손상에서 malotilate의 보호효과를 관찰하기 위하여 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 4주와 8주의 만성 실험군으로 나누어 사염화탄소는 1.5 mg/kg씩 주 2회 피하주사하였고, 에탄올은 20% 용액으로 하여 음료수 대신으로 마시게 하였으며, malotilate는 100 mg/kg씩 매일 1회 경구투여하였다.

4주투여군은 사염화탄소, 사염화탄소와 에탄올로 나누고, 8주 투여군은 사염화탄소가 4주 전처리된 에탄올 4주 투여군으로 나누어 malotilate를 4주 및 8주 병용투여하여, 그 혈청화학적 및 병리조직학적인 관찰을 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) SGOT, SGPT, Alkaline phosphatase, cholesterol, HDL-cholesterol, Gamma glutamyl transpeptidase 등의 혈청치가 malotilate 병용 투여로 통계적으로 유의성있는 보호효과를 관찰할 수 있었다.

2) 4주 투여군에서 사염화탄소와 malotilate 병용 투여시 현저히 지방변성, 산재성괴사 등을 억제하였고, 사염화탄소, malotilate 및 에탄올을 병용시에도 유사한 보호효과를 나타내었다.

3) 8주 투여군에서 사염화탄소와 malotilate 투여후 에탄올과 malotilate 투여시 지방변성 및 섬유화를 억제하였고, 에탄올이 전처리된 군보다 지방변성과 섬유화를 감소시키는 효과를 나타내었다.

그러므로, malotilate는 만성 사염화탄소 중독간 및 사염화탄소 및 에탄올을 중독간에 대하여 지방변성 및 섬유화를 감소시킴으로서 현저한 보호효과를 나타내었다.

참 고 문 헌

- 1) Ito R, Toida S, Matsuura S, Hidano T, Uchida H, Miyaxaki T, Sugimoto T, Kasai T: *Acute Toxicity of diisopropyl 1,3-dithiol-2-ylidene malonate, a new drug for liver disease. J Med Soc Toho Japan 25:387, 1978*
- 2) Ito R, Kajiwara S, Mori S, Onda T, Tanihata T, Toida S: *Teratological safety of diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate, a new drug for liver*

- disease in rabbits. J Med Soc Toho Japan 28:880, 1978*
- 3) Matsuda H, Endo T, Hayashi M, Aixawa K, Fujiwarza T, Takasu, Kikuta M, Shibuya K: *Basic studies on the pharmacological action of diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate (NKK-105). Tokyo Med JL 37:367, 1979*
- 4) Egashira T, Yamamoto T, Kuroiwa Y: *Protective effects of diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate (NKK-105) on liver injury by CCl₄: The J Toxicol Sci 7:13, 1982*
- 5) Nakayama S: *Effects of diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate (NKK-105) on the drug metabolizing enzymes and finestructure of rat liver. Folia Pharmacol Japan 75:571, 1979*
- 6) Katoh M, Sugimoto T: *Effect of malotilate on chronic liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. Folia pharmacol Japan 80:83, 1982*
- 7) 小澤啓子: *Diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate (malotilate) の ethionine 肝障害にはず影響. 昭和醫學會誌 42:301, 1982*
- 8) Hirroka S, Tanaka T, Mokata M, Katoh M, and Sugimoto T: *Effect of malotilate on hepatic injury induced by D-galactosamine in rat. Iyakuin Kenkyu 13:1046, 1982*
- 9) Imaizumi Y, Katoh M, Sugimoto T: *Effect of malotilate on the synthesis and movement of RNA in rat liver. Folia Pharmacol Japan 79:285, 1982*
- 10) Imaizumi Y, Katoh M, Sugimoto T, Kasai T: *Effect of malotilate in the protein synthesis in rat liver. Japan J. Pharmacology 32:369, 1982*
- 11) Kawata S, Sugiyama T, Seki K, Tarui S, Okamoto M, Yamano T: *Stimulatory effect of cytochrome b₅ induced by p-nitroanisole and diisopropyl-1,3-dithiol-2-ylidene malonate on rat liver microsomal drug hydroxylations. J Biochem 92:305, 1982*
- 12) Katoh M, Kitada M, Satoh T, Kitagawa H, Sugimoto T, Kasai R: *Further studies on the invivo effect of NKK-105 on the liver microsomal drug oxidation system in rats. Biochem Pharmacol 30: 2759, 1984*
- 13) Shiraishi T, Matsumiya T: *Anti-alcohol action of hepatoactyIVATOR (NKK-105) on motoricity and EEG in experimental animals and man. Tokai J Exp Clin Med 6:103, 1984*
- 14) 허인희, 김형춘, 송계용 : *NNK-105가 CCl₄ 유발 간독성 쥐의 alcohol 효과에 미치는 영향. 대한약학회 강연요지집 89, 1984*

- 15) In Hoi Hur, Sang Jun Lee, Wang Kee Jhoo, Young Heo, Hyoung Chun Kim, Kye Yong Song: *Effects of Malotilate on levels of ethanol and acetaldehyde in blood YAKHAK HOEJI 3:399, 1987*
- 16) 허인회, 이상준, 주왕기, 유재형, 김형춘 : Ethanol 만성노출 흰쥐에 미치는 malotilate (NKK-105)의 영향. 대한약학회 강연요지집 99, 1985
- 17) Recknagel RO: *A new direction in the study of carbon tetrachloride hepatotoxicity. Life Science 33:401, 1983*
- 18) Burk RF, Lane JM, Patel K: *Relationship of oxygen and glutathione in protection against CCl₄-induced hepatic microsomal lipid peroxidation and covalent binding in the rat. J Clin Invest 74:1996, 1984*
- 19) Forni LG, Packer JE, Salter TF, Wilson RL: *Reaction of the trichloromethyl and halothane-derived peroxy radicals with unsaturated fatty acids. Chem Biol Interact 45:171, 1983*
- 20) Conner HD, Thurman RG, Falizi MD, Mason RP: *The formation of a novel free radical metabolite from CCl₄ in the perfused rat liver and invivo. JI of Biol Chem 261:4245, 1986*
- 21) Lewis KO, Paton A: *Could superoxide cause cirrhosis? The lancet 24:188, 1982*
- 22) Jakobovitis AW, Morgan MY, Sherlock S: *Hepatic siderosis in alcoholics. Digest Dis Sci 24:305, 1979*
- 23) Chapman RW, Morgan MY, Bell R, Sherlock S: *Hepatic iron uptake in alcoholic liver disease. Gastroenterol 84:143, 1983*
- 24) Hasumura Y, Teschke R, Lieber CS: *Increased carbon tetrachloride hepatotoxicity, and its mechanism, after chronic ethanol consumption. Gastroenterol 66:415, 1974*
- 25) Klassen CD, Plaa GL: *Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in mice. Toxicol Appl Pharmacol 9:139, 1966*
- 26) Strubelt O, Obermeier F, Siegers CP: *The influence of ethanol pretreatment on the effects of nine hepatotoxic agents. Acta Pharmacol et Toxicol 43: 211, 1978*
- 27) Teschke R, Hauptmerier KH, Frenzel H: *Effect of an acute dose of ethanol on the hepatotoxicity due to carbon tetrachloride. Liver 3:100, 1983*
- 28) Cornish HH, Adefuin J: *Potentialiation of carbon tetrachloride toxicity by aliphatic alcohols. Arch Environ Health 14:447, 1967*
- 29) Harris RN, Abders MW: *Effects of fasting diethyl maleate, and alcohols on CCl₄-induced hepatotoxicity. Toxicol Appl Pharmacol 56:191, 1980*
- 30) Nakayama S, Kwrimato T, Hajikano M, Kano M, Sakamoto K: *Pharmacological studies of NKK-105: Report 2, Effects of NKK-105 on hepatic blood flow, irle flow and irliary components in dogs and rats. Showa Medical Journal 38:513, 1978*
- 31) Kurimoto T, Nakayama S, Nishimura T, Wada I, Sakamoto K: *Pharmacological studies of NKK-105: Reports 3, Effects of NKK-105 on the bile-expellibg mechanism. Showa Medical Journal 39:7, 1979*
- 32) Porta EA, Hartroft WS, Gomex-dumn CLA, Koch OR: *Dietary factors in the progression and regression of hepatic alterations associated with experimental chronic alcoholism. Federation Proc 26:1449, 1967*
- 33) Lieber CS, Decarli LM: *Aminal models of ethanol dependence and liver injury in rats and baboons. Fedartion Proc 35:1232, 1976*
- 34) Dobbins WO, Rollins EL, Brooks SG, Fallon HJ: *A quantitative morphological analysis of ethanol effect upon rat liver. Gastroenterol 62:1020, 1972*

— Abstract —

Serochemical and Histopathological Observations on the Effect of Malotilate in Chronic Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride with or without Ethanol

Hyoung Chun Kim,*Ph.D., Eon Sub Park, M.D.
Jae Hyung Yoo, M.D. and Kye Yong Song, M.D.

College of Pharmacy, Kang-Won National University*
Department of Pahology, College of Medicine
Chung-Ang University, Seoul, Korea

An experimental studies were carried out to observe the protective effects of malotilate, a new antihepatotoxic agent, on the chronic hepatic injury induced by CCl₄ with or without ethanol. The rats used weighed about 200 g were divided into 2 groups, 4 weeks & 8 weeks.

Each group was given by orally with malotilate, 100 mg/kg, once a day, and was injected by subcutaneously with CCl₄ 1.5 mg/kg in a mixture with olive oil twice a week. Aqueous ethanol (20%) was administered in drinking water daily.

The serochemical and histopathological studies were carried out in each experimental group.

The results were as follows:

1. The chronic liver injuries induced by CCl_4 with or without ethanol were significantly ameliorated by normalize serum values GOT, GPT, Alkaline phosphatase, Cholesterol, HDL-Cholesterol, and gamma glutamyl transpeptidase.

2. In Group of 4 weeks, malotilate manifested protective effects by significant inhibition of fatty changes,

spotty necrosis and fibrosis in CCl_4 -intoxicated liver with or without additional ethanol.

3. In group of 8 weeks, malotilate significantly improved fatty changes, fibrogenic activity in the group administered with CCl_4 followed by ethanol.

Key Words: malotilate, CCl_4 , ethanol, liver injury