

## 간의 Bromobenzene 대사계에 미치는 Scoparone의 효과(I)

김 은 주 · 이 정 규 · 최 중 원  
경성대학교 약학대학

### The Effect of Scoparone on the Hepatic Bromobenzene Metabolizing Enzyme System in Rats

Eun Ju Kim, Chung Kyu Lee and Jong Won Choi  
College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea

**Abstract**—The effects of scoparone, one of coumarin derivative on the hepatic bromobenzene metabolizing enzyme system was estimated in rats. Scoparone pretreatment revealed dose-dependently the recovery of decrease in epoxide hydrolase activity due to the bromobenzene(310 mg/kg, i.p.) treatment. And also scoparone and scopoletin (each 5 mg/kg, p.o.) pretreatments showed two times increase in the  $V_{max}$  values compared to those of bromobenzene-treated group which were calculated from tripartite reciprocal plots. The mode of protective effect of scoparone against bromobenzene induced toxicity is considered to be due to the induction of microsomal enzyme activity by scopoletin, the intermediate metabolite of scoparone. The changes in cytochrome P-450 activity, aminopyrine N-demethylation, aniline hydroxylation and glutathione S-transferation in scoparone-treated group were not significantly different from those of the control group.

**Keywords**—scoparone • scopoletin • bromobenzene • mixed function oxidase • glutathione S-transferase • epoxide hydrolase

Scoparone은 국화과(Compositae)의 사철쭉 *Artemisia capillaris*로부터 처음 분리된 coumarin 유도체<sup>1)</sup>로 여러 종류의 식물에 함유되어 있으며 Allen 등<sup>2)</sup>에 의해 합성된 물질이다. Coumarin 유도체의 약리작용은 썩은 clover를 먹은 소가 장출혈이 원인이 되어 죽은 사실<sup>3)</sup>이 밝혀진 이래 합성화학 분야의 발달로 수많은 coumarin 유도체들이 합성<sup>4,5)</sup>되고, 생물학적 작용이 검토된 결과 여러가지 약리작용이 있음이 알려졌다.<sup>6-8)</sup> 특히 coumarin 유도체의 항혈액응고 작용은 현재 임상적으로 널리 이용되어지고 있다.<sup>9,10)</sup> 한편 scoparone은 혈압강화작용, 이뇨작용, 소염작

용이 있으며<sup>11-13)</sup>, 최근에는 간에서 합성되어지는 담즙의 분비를 촉진하는 이담작용<sup>14)</sup> 및 간에서 scoparone의 해독기전에 대해서는 일부 보고<sup>15)</sup>된 바는 있으나 확실한 기전은 밝혀지지 않고 있다.

Epoxide류는 탄소간의 불포화 결합대에 하나의 산소가 삽입되어 만들어지는 물질<sup>16)</sup>로서 여러 종류의 효소 활성을 억제<sup>17-19)</sup>하여 독성을 유발하므로 때로는 돌연변이원 또는 발암물질로 작용한다.<sup>20-22)</sup> 본 연구에서는 간 기능을 개선하여 생체방어기전에 기여할 것이라는 scoparone의 약리작용을 구명할 목적으로 유독성 물질인

epoxide류의 생성 및 분해과정에 scoparone과 그의 대사산물인 scopoletin과 esculetin이 어떤 영향을 미치는지에 대하여 검토하였다.

### 실험재료 및 방법

**동물 및 처치**—실험동물로는 한국실험동물개발로부터 분양받은 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐(125~150 g)를 1주일동안 사육한 후 사용하였다. Scoparone과 그의 대사산물인 scopoletin, esculetin은 Fluka사에서 구입하여 corn oil에 현탁시켜 경구로 투여하고, 발암물질 또는 돌연변이원의 모델 약물로써 bromobenzene의 투여는 Gillette등<sup>23)</sup>의 방법을 참조하여 1% Tween 80에 310 mg/kg을 현탁시켜 5일간 투여하고 최종 투여 24시간 후 12시간 간격으로 2회 복강주사하였다. 실험동물은 실험전 24시간 동안 물만주고 절식시켰다.

**효소원의 조제**—실험 동물은 CO<sub>2</sub> gas로 마취시킨 후 복부정중선을 따라 절개하고 간을 생리 식염수로 관류시켜 조직내 혈액을 제거하고 적출하여 여지로 혈액 및 기타 이물을 제거하고 평량한 후 조직 1 g당 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 4배량을 넣고 빙냉하에서 glass-teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 homogenate를 600 g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻고, 이 액을 다시 15,000 g에서 10분간 원심분리하여 침전물과 상정액을 얻었다. 이 상정액을 105,000 g에서 60분간 원심분리하여 얻은 상정액(cytosol 분획)을 glutathione S-transferase의 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였고, 침전물은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 4배량으로 재현탁하여 epoxide hydrolase, aniline hydroxylase, aminopyrine N-demethylase 및 cytochrome P-450의 활성 측정을 위해 사용하였다.

앞에서 얻은 microsomal fraction을 DEAE cellulose column(DE 52)에 통과시켜 부분정제<sup>24)</sup>한 다음 epoxide hydrolase의 *in vitro* 및 동력학적 시험의 효소원으로 사용하였으며, 다른 규정이 없는 한 이상의 모든 실험은 0~4°C에서 행하였다.

#### 효소활성의 측정

**a) Cytochrome P-450의 함량 측정**—Omura 등의 방법<sup>25)</sup>에 준하여 시험관에 microsomal suspension (protein 1 mg/ml) 5 ml를 넣고 환원제로 sodium dithionite (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) 30 mg을 넣고 잘 혼합한 다음 19 K needle을 통해 1분간 4°C 이하에서 CO gas를 bubbling시켰다. Bubbling이 끝난 후 즉시 파장 400~500 nm에서 microsomal suspension에 sodium dithionite만을 가한 reduced microsomal suspension과 CO-bound microsomal 간의 difference spectrum을 얻어 450~490 nm에서 흡광도의 차이를 cytochrome P-450 CO complex에 의한 흡광량으로 하고 cytochrome P-450 CO complex의 mole 흡광계수 91 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>를 이용하여 cytochrome P-450의 양을 계산하였다. Microsomal cytochrome P-450의 함량은 microsomal protein 1 mg당 n mole로 표시하였다.

**b) Aminopyrine N-demethylase의 활성 측정**—Nash등의 방법<sup>26)</sup>을 약간 변경하여 반응액 2 ml 중에 0.1 M Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> phosphate buffer (pH 7.5)에 2 mM aminopyrine · HCl, 0.5 mM NADPH, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 150 mM KCl, 1 mM semicarbazide 및 효소액 (300~400 μg의 단백질)을 가해 이 반응액을 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 15% ZnSO<sub>4</sub> 2 ml와 포화 Ba(OH)<sub>2</sub> 2 ml를 가하여 반응을 종료시키고 5분간 방치후 10분간 원심 분리하여 여기서 얻은 상정액 5 ml에 발색의 목적으로 Nash reagent 2 ml를 첨가하고 60°C에서 30분간 반응시킨 후 다시 원심 분리하여 상정액을 취하여 파장 415 nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분간에 mg protein이 생성한 formaldehyde n mole로서 표시하였다.

**c) Aniline hydroxylase의 활성 측정**—Bidlack 등의 방법<sup>27)</sup>에 준하여 반응액 2 ml중에 10 mM MgCl<sub>2</sub>와 150 mM KCl이 함유된 50 mM Tris · HCl 완충액 (pH 7.4)에 1 mM aniline · HCl, 0.5 mM NADPH 및 효소액 (300~400 μg의 단백질)을 가해 이 액을 37°C에서 20분간 반응시킨 다음 반응을 종결할 목적으로 20% trichloroacetic acid 2 ml를 가한 후 10분간 원심분리하여 상정액 2 ml를 취하고 발색의 목적으로 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml와 0.2 N-NaOH (2% phenol 함유) 2 ml를

넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 파장 640 nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1시간에 mg protein이 생성한 *p*-aminophenol n moles로서 표시하였다.

**d) Glutathione S-transferase의 활성 측정**—Habig등의 방법<sup>28)</sup>에 준하여 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 중에 0.04 M reduced glutathione 0.075 ml를 가한 후 효소액을 0.1 ml 넣고 blank에는 20% trichloroacetic acid 0.5 ml를 가해 600 g에서 원심분리하여 단백질을 제거하고 시료는 25°C에서 5분간 반응시킨 후 blank와 시료 각각에 기질로써 0.12 M 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 0.025 ml 가하여 25°C에서 2분간 반응시킨 후 시료에 20% trichloroacetic acid를 가해 반응을 완결시킨 후 blank와 시료 각각을 원심분리하여 얻은 상정액을 340 nm에서 흡광도를 측정한 다음 1-chloro-2,4-dinitrobenzene의 mole 흡광계수 9.6 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>을 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분간 mg protein이 생성한 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 n mole수로 표시하였다.

**e) Epoxide hydrolase의 활성 측정**—Hammock등의 방법<sup>29)</sup>에 준하여 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 기질로써 3 mM *trans*-stilbene oxide(TSO, 3 mM)와 효소원(100~200 µg의 단백질)을 가하여 반응액이 3.0 ml가 되도록 하였다. 이 반응액을 37°C에서 20분간 반응시키고 이때 소실되는 기질의 양을 파장 229 nm에

서 흡광도의 감소를 읽고 표준곡선에 의하여 산정하였다. 효소 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 기질인 *trans*-stilbene oxide(TSO)의 양을 n mole수로 나타내었다.

단백질의 정량—단백질의 함량은 Lowry등의 방법<sup>30)</sup>에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, Fr.V)을 표준품으로 하여 측정하였다.

## 실험 결과

**Cytochrome P-450, aniline hydroxylase 및 aminopyrine N-demethylase 활성에 미치는 영향**—Scoparone을 전처리하고 bromobenzene을 투여하였을 때 간 microsomal cytochrome P-450, aniline hydroxylase 및 aminopyrine N-demethylase 활성 변동을 비교 검토한 성적이 Table I이다. Cytochrome P-450의 경우 대조군의 활성이 0.37±0.037 n mols/mg protein인데 비해 bromobenzene 투여군에서는 0.73±0.033 n mols/mg protein으로 약 218%정도 현저히 증가되던 것이 scoparone의 전처리에 의해서도 0.70±0.040 n moles/mg protein으로 bromobenzene 단독 투여군과 별다른 차이가 없었으며, bromobenzene 투여로서 aniline hydroxylase의 활성은 3.01±0.37 *p*-aminophenol n moles/mg protein·min로 대조군 0.95±0.09 *p*-aminophenol n moles/mg protein·min보다 약 316% 현저히 증가되었고 aminopyrine N-demethylase의 경우에도 aniline hydroxylase의 활성변동과 유사하다.

**Table I.** Effect of scoparone on the hepatic microsomal cytochrome P-450, aniline hydroxylase(AH) and aminopyrine N-demethylase(AD) activities in rats

Treatment	Cytochrome P-450	AH activity	AD activity
	(n moles/mg protein)	<i>p</i> -aminophenol n moles/mg protein/min)	(HCHO n moles/mg protein/min)
Control	0.37±0.037 <sup>a</sup>	0.95±0.090 <sup>a</sup>	3.35±0.24 <sup>a,*</sup>
Bromobenzene(BB)	0.73±0.033 <sup>b</sup>	3.01±0.37 <sup>b</sup>	5.48±0.37 <sup>b</sup>
Scoparone	0.41±0.048 <sup>a</sup>	0.94±0.057 <sup>a</sup>	3.51±0.20 <sup>a</sup>
Scoparone+BB	0.70±0.040 <sup>a</sup>	2.8±0.18 <sup>b</sup>	5.59±0.27 <sup>b</sup>

Rats were received scoparone (5 mg/kg, p.o.) daily for five consecutive days, and 24 hrs after the final dose of scoparone, bromobenzene (310 mg/kg, i.p.) was injected twice with 12 hrs interval. The assay procedure is described in the experimental methods.

\* Values are mean±S.D. (n=6), and of which have same letter are not significantly different at p<0.05.

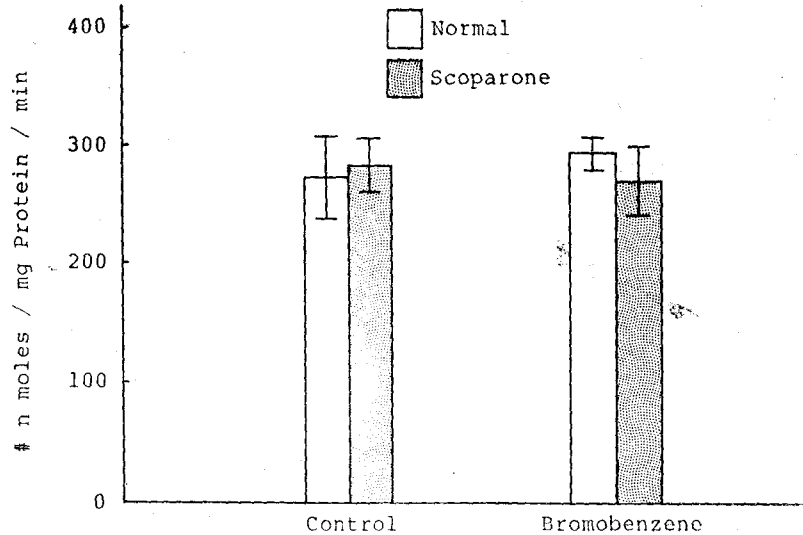


Fig. 1. Influences of scoparone pretreatments in the hepatic cytosolic glutathione S-transferase activity in bromobenzene-treated rats.

Rats were received scoparone (5 mg/kg, p.o.) daily for five consecutive days, and 24 hrs after the final dose of scoparone, bromobenzene (310 mg/kg, i.p.) was injected twice with 12hrs interval. The assay procedure is described in the experimental methods. Values are mean  $\pm$  S.D. (n=6). #; conjugated 1,2-dichloro-4-nitrobenzene.

한편, scoparone을 전처리하고 bromobenzene을 투여한 군에서도 bromobenzene 단독투여에 의한 aniline hydroxylase 및 aminopyrine N-demethylase 효소 활성 증가가 저지 되지 않았다 (Table I).

**Cytosolic glutathione S-transferase** 활성에 미치는 영향—Scoparone으로 전처리하고 bromobenzene을 투여하였을 때 간 cytosolic glutathione S-transferase 활성을 측정 한 성적은 Fig. 1에 표시하였다.

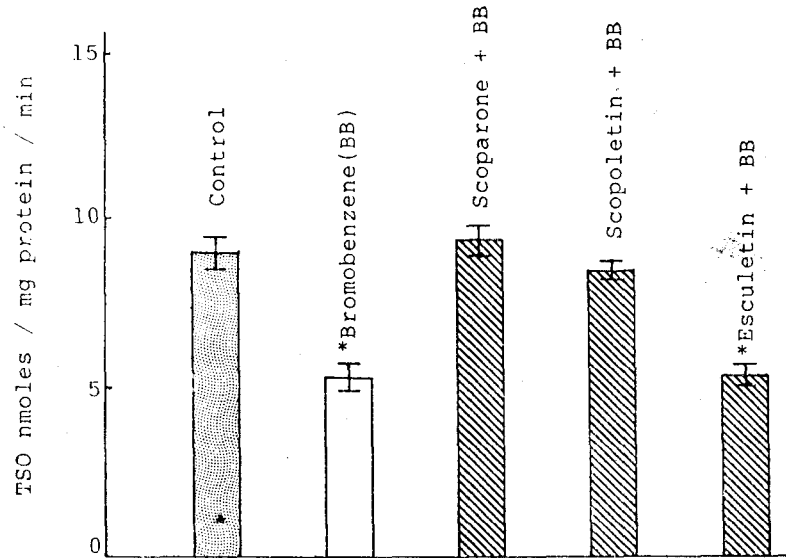
Bromobenzene을 투여한 군에서는  $292.0 \pm 12.62$  n moles/mg protein·min으로 대조군  $284.8 \pm 31.25$  n moles/mg protein·min과 비교하여 다소 증가하는 경향은 있었으나 통계적인 유의성은 없었으며 scoparone을 전처리 하고 bromobenzene을 투여한 군에서는  $246.0 \pm 26.4$  n moles/mg protein·min으로 대조군과 유사하였다 (Fig. 1).

**Scoparone, scopoletin 및 esculetin** 투여에 의한 간 epoxide hydrolase 활성 비교—Coumarin 골격에서 6번과 7번 탄소에 치환기가 있는

scoparone, scopoletin 및 esculetin을 실험동물에 전처리한 다음 간 epoxide hydrolase의 활성변동을 bromobenzene을 투여하여 비교 관찰한 성적이 Fig. 2이다.

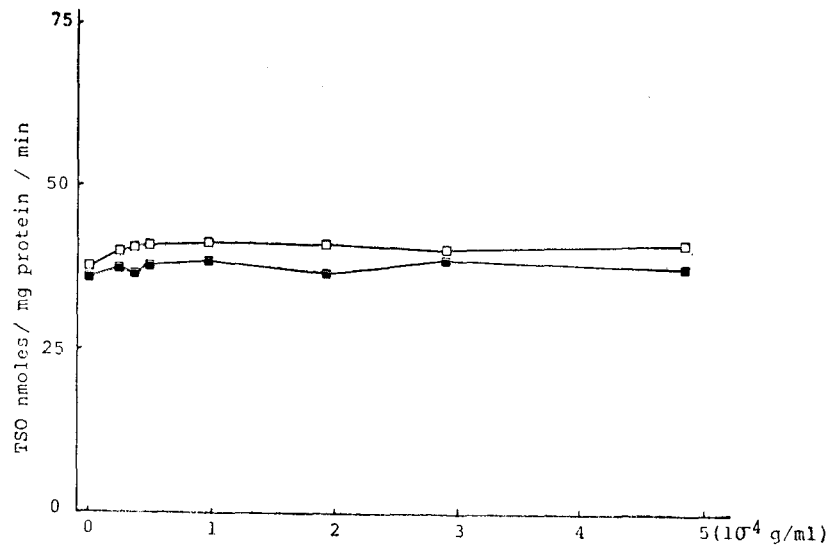
Corn oil만을 투여한 대조군의 활성이  $8.71 \pm 0.51$  TSO n moles/mg protein·min인데 비해 bromobenzene만을 투여한 실험군의 효소활성이  $5.51 \pm 0.43$  TSO n moles/mg protein·min로 현저히 억제되었으며, scoparone과 scopoletin을 투여한 실험군의 효소활성은  $9.72 \pm 0.49$  TSO n moles/mg protein·min,  $8.87 \pm 0.26$  TSO n moles/mg protein·min로 약 170% 및 161%로 유의성있게 대조군 수준으로 증가 ( $p < 0.05$ )됨을 관찰할 수 있었으나 esculetin을 전처리하고 bromobenzene을 투여한 실험군에서의 효소활성은  $5.51 \pm 0.29$  TSO n moles/mg protein·min로서 bromobenzene 단독 투여군과 별다른 효소 활성변동을 볼 수 없었다 (Fig. 2).

**Scoparone과 scopoletin**이 시험관내에서 간 epoxide hydrolase 활성 변동에 미치는 영향—



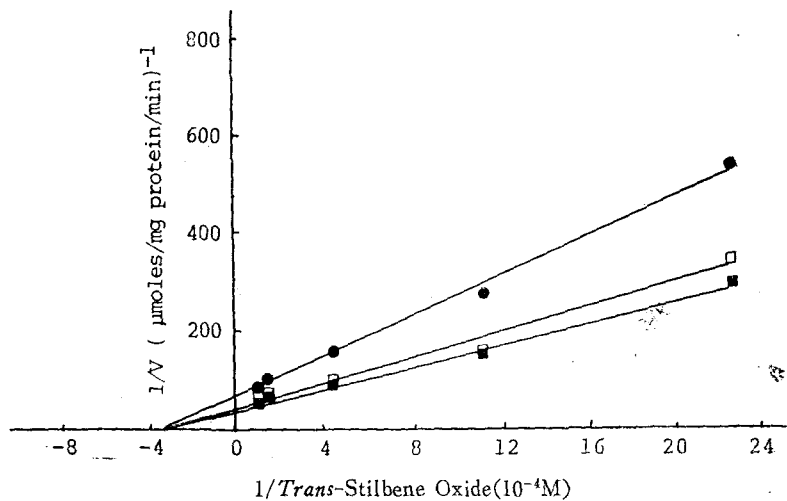
**Fig. 2.** Effects of scoparone, scopoletin and esculetin on the hepatic microsomal hydrolase activity in bromobenzene-treated rats.

Rats were received samples(5 mg/kg, p.o.) daily for five consecutive days, and 24 hrs after the final dose of samples, bromobenzene(310 mg/kg, i.p.) was injected twice with 12 hrs interval. The assay procedure is described in experimental methods. Values are mean  $\pm$ S.D. for six animals. Significantly different from control(\*:p<0.05).



**Fig. 3.** Effects of scoparone and scopoletin on the hepatic microsomal epoxide hydrolase activity in bromobenzene-treated rats *in vitro*.

Rats were decapitated 24 hrs after the last dose of bromobenzene(310 mg/kg, p.o.). The assay procedure is described in the experimental methods. Each symbol represents the mean value of three experiments. □; Scoparone, ■; Scopoletin.



**Fig. 4.** Tripartite reciprocal plots of the hepatic hydrolase activity in rats for *trans*-stilbene oxide. Rats were received scoparone and scopoletin (each 5 mg/kg, p.o.) daily for five consecutive days, and 24 hrs after the final dose of samples, bromobenzene (310 mg/kg, i.p.) was injected twice with 12 hrs interval. The assay procedure is described in experimental methods. Each symbol represents the mean value of three experiments. •; Bromobenzene, □; Scopoletin + bromobenzene, and ■; Scoparone + Bromobenzene.

*In vivo* 시험에서 scoparone과 scopoletin 투여로써 bromobenzene 단독 투여군보다 효소 활성이 유의성있게 증가됨을 관찰할 수 있었으므로 scoparone 및 scopoletin이 시험관내에서 간 epoxide hydrolase 활성에 어떠한 영향을 주는가를 bromobenzene을 투여한 효소원에서 관찰한 성격이 Fig. 3이다.

그림에서 알 수 있듯이 scoparone과 scopoletin을  $5 \times 10^{-4}$ g/ml까지 시험관에 첨가하여도 간 epoxide hydrolase 활성은 대조군과 별다른 차이가 없었다(Fig. 3).

**Scoparone과 scopoletin 투여가 간 epoxide hydrolase의 동력학적 특성에 미치는 영향**— Epoxide hydrolase와 기질간의 친화력 및 반응속도에 scoparone, scopoletin의 전처리 후 bromobenzene 투여가 어떤 영향을 주는가를 검토한 성격이 Fig. 4이다.

Scoparone과 scopoletin을 전처리하고 bromobenzene을 투여한 실험군과 bromobenzene 단독 투여군에서의 간으로 부터 얻은 효소로 반응액에 기질의 첨가 농도를 달리하면서 epoxide hydrolase의 활성을 측정하여 Lineweaver-Burk plot로 나타내었을 때 bromobenzene 단독 투여군의  $V_{max}$

치가 14.7 n moles/mg protein·min 인데 비해 scoparone과 scopoletin을 전처리하고 bromobenzene을 투여한 군의  $V_{max}$  치는 28.4 n moles/mg protein·min 및 29.7 n moles/mg protein·min로서 각각 약 2배 정도 증가됨을 관찰할 수 있었으나  $K_m$ 치는 실험군과의 별다른 차이를 알 수 있었다(Fig. 4).

## 고찰

Epoxide는 독성물질로 그 생성원은 자연환경 및 산업의 공정과정에서 생기는 외인성인 것과 생체내 생합성에 존재하는 내인성으로 구분할 수 있다. Scoparone의 간 해독기전을 구명할 목적으로 epoxide 생성 과정에 관여하는 효소계와 분해과정에 관여하는 효소인 epoxide hydrolase와 glutathione S-transferase 활성에 미치는 scoparone 및 이의 대사산물인 scopoletin, esculetin의 영향을 bromobenzene을 model약물로 한 동물을 대상으로하여 관찰하였다. Epoxide 독성 유발 model로 bromobenzene을 흔히 사용하고 있다. Bromobenzene은 mixed function oxidation system에 의하여 독성이 강한 bromobenzene-3,

4-oxide로 전환되며 이 epoxide를 대사시켜 독성이 없는 bromobenzene-3,4-dihydrodiol로 대사시키는 효소가 epoxide hydrolase이며 또 다른 계로는 glutathione S-transferase에 의하여 bromobenzene glutathione으로 배설된다<sup>31-33</sup>). 체내에 투여되어진 약물 또는 독성물질의 대사과정은 phase 1 반응과 phase 2 반응으로 나눌 수가 있다.<sup>34-36</sup> Scoparone이 epoxide 독성에 어떤 영향을 주는가를 관찰하는 과정에 bromobenzene을 분해하여 epoxide생성을 담당하는 효소계인 cytochrome P-450 및 mixed function oxidation system의 효소인 aniline hydroxylase와 aminopyrine N-demethylase에 대한 scoparone의 영향을 검토할 때 본 효소 활성계에는 별다른 영향이 없는 것으로 보아 scoparone은 epoxide의 생체내 생합성 단계에는 영향을 주지 않는 것으로 생각되어지며 phase 2단계의 epoxide해독계에서 glutathione의 포함효소인 glutathione S-transferase 활성변동을 관찰한 실험에서 bromobenzene 단독으로 투여하나 scoparone 동시 투여에서도 별다른 활성변동을 나타내지 않음으로써 scoparone은 glutathione S-transferase를 매개로 하는 대사 과정에 관여하여 bromobenzene이 유도하는 epoxide의 생성계를 해독시키는 효과를 나타낼 것이라고는 생각할 수 없었다. Scoparone이 epoxide를 가수분해하여 독성이 없는 dihydrodiol로 대사시키는 효소인 epoxide hydrolase 활성에 미치는 영향을 검토하였을 때 kg당 5 mg을 5일 이상 투여한 실험군에서 bromobenzene을 단독으로 투여한 실험군보다 유의성있는 효소활성 증가현상을 나타내었다. Scoparone 투여에 의한 epoxide hydrolase 활성증가의 작용기전을 관찰할 목적으로 scoparone의 대사산물<sup>37</sup>)로 알려진 scopoletin과 esculetin을 투여하고 관찰한 실험성적에서 esculetin은 bromobenzene에 의하여 억제된 epoxide hydrolase활성에 영향을 주지 않으나 scopoletin은 효소 활성을 유의성 있게 증가시키는 점으로 보아 scoparone중의 epoxide hydrolase의 유도작용은 scopoletin에 의해서 나타날 것으로 생각되어진다. Bromobenzene 만을 투여한 실험군에서는 epoxide hydrolase 활성이 대조군에 비해 현저히 감소되었으나 scoparone을 전처리하고 bromoben-

zene을 투여한 군에서는 대조군 수준에 가깝게 활성이 나타났으며 이와같은 효소의 활성 변동을 동력 학적인 측면에서 검토할 목적으로 기질인 *trans*-stilbene oxide의 농도를 변화시켜 가면서 관찰한 실험성적에서 Km치는 bromobenzene 투여군이나 scoparone 및 scopoletin을 전처리하고 bromobenzene을 투여한 군에서 별다른 차이를 관찰할 수 없었으나  $V_{max}$ 치가 약 2배 정도 bromobenzene 단독 투여군보다 scoparone 및 scopoletin 전처리군에서 유의성있게 증가되었다.

Scoparone 및 scopoletin이 bromobenzene 투여로 억제된 효소 활성을 증가시키는 현상이 시험관내에서도 나타나는 가를 검토하기 위하여 scoparone과 scopoletin을 시험관내에 첨가하면서 관찰한 *in vitro* 실험에서 첨가 농도를  $5 \times 10^{-4}$  g/ml가 되게 하여도 epoxide hydrolase 활성에는 영향을 미치지 못하였다. 이와 같은 실험결과로 보아 bromobenzene 투여로서 억제된 효소의 활성을 scoparone과 scopoletin의 전처리로 정상수준으로 증가시키는 것은 scoparone과 scopoletin의 직접 작용이라기보다는 본 효소 단백질의 합성 유도작용을 조절하여 나타나는 결과로 사료된다

## 결 론

Bromobenzene 투여시 scoparone의 해독기전을 추구할 목적으로 epoxide 생성계 효소인 cytochrome P-450, aniline hydroxylase와 aminopyrine N-demethylase 및 glutathione S-transferase와 epoxide hydrolase 활성에 scoparone이 어떠한 영향을 주는가를 검토하여 다음과 같은 실험결과를 얻었다.

Scoparone(5 mg/kg)의 전처리로 cytochrome P-450, aniline hydroxylase, aminopyrine N-demethylase와 해독계 효소인 glutathione S-transferase활성에는 영향을 미치지 않았다.

Scoparone과 scopoletin을 전처리하고 bromobenzene을 투여한 다음 epoxide hydrolase와 기질과의 친화력 및 반응 속도를 관찰하였을 때 Km치에는 별다른 차이는 없었으나  $V_{max}$ 치가 증가되었다.

Bromobenzene(310 mg/kg)을 주사하였을 때

epoxide hydrolase의 활성이 현저히 감소되던 것이 scoparone과 이의 중간대사산물인 scopoletin의 투여로 대조군 수준으로 활성을 유지하고 있었다.

감사의 말씀—본 논문의 일부는 1991년도 경성대학교 연구비 지원으로 이루어졌다. 이에 감사드린다.

〈1992년 3월 20일 접수 : 4월 30일 수리〉

## 문 헌

- Araki, T. and Miyashita, T.: *J. Pharm. Soc.* 48, 437 (1928).
- Allen, C.F.H. and Gates, J.W.: *Org. Synthesis Coll.* III, 14 (1955).
- Campbell, H.A. and Link, K.P.: *J. Biol. Chem.* 138, 21 (1941).
- Ikawa, M., Stahmann, M.A. and Link, K.P.: *J. Am. Chem. Soc.* 66, 902 (1944).
- Ichikawa, M. and Ichibagase, H.: *J. Pharm. Soc.* 83, 13 (1963).
- Soine, T.O.: *J. Pharm. Soc.*, 55, 231 (1964).
- Bell, R.G. and Stark, P.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 72, 691 (1976).
- Sharma M.L.: *Indian J. Pharmacol.* 17, 219 (1985).
- O'Reilly, R.A. and Aggeler, R.M.: *Circulation* 38, 167 (1968).
- Nagashima, R., O'Reilly, R.A. and Levy, G.: *Clin. Pharmacol. Ther.* 10, 22 (1969).
- Bariana, D.S.: *J. Med. Chem.* 13, 544(1970).
- Aburada, M., Sasaki, H. and Harada, M.: *Yakugaku Zasshi* 96, 147 (1975).
- Thakur, R.S., Bagadia, S.C. and Sharma, M.L.: *Experientia* 34, 158 (1978).
- Yamahara, J., Matsuda, H., Sawada, T., Mibu, H. and Fujimura, H.: *Yakugaku Zasshi* 102, 285 (1982).
- Park, J.M.: *Ph. D. Thesis*, Yeungnam University (1988).
- Rosowsky, A.: "Heterocyclic Compounds with Three and Four-membered Rings," ed. by A. Weissberger, Interscience Publishers, New York, Part One. p.1523 (1964).
- Legler, G.: *Biochem. Biophys. Acta* 151, 728 (1968).
- Thomas, W.E., Mekeluy, J.F. and Shron, N.: *Nature* 22, 485 (1969).
- Milewski, C.H., Dzieduszycka, M., Smulkowski, M., Sawlewicz, P. and Borowski, E.: *Drugs Exp. Clin. Res.* VIII, 11 (1982).
- Conney, A.H.: *Can. Res.* 42, 4875(1982).
- Bolt, H.M., Laib, R.J. and Filser, J.G.: *Biochem. Pharmacol.* 31, 1 (1982).
- Jones, R.B. and Machrodt, W.C.: *Biochem. Pharmacol.* 32, 2359 (1983).
- Zampaglione, N., Jollow, D.J., Mitchell, J.R., Manrick, M. and Gillette, J.R.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 218 (1973).
- Meijer, J. and Depierre, J.W.: *Eur. J. Biochem.* 148, 421 (1985).
- Omura, T. and Sato, R.: *J. Biol. Chem.* 239 2370 (1964).
- Nash, T.: *J. Biol. Chem.* 55, 416 (1953).
- Bidlack, W.R. and Lowry, G.L.: *Biochem. Pharmacol.* 31, 311 (1982).
- Habig, W.H., Pabist, M.J. and Jakoby, W.B.: *J. Biol. Chem.* 249, 7130 (1974).
- Hasegawa, L.S. and Hammock, B.D.: *Biochem. Pharmacol.* 31, 1979 (1982).
- Lowry, O.H., Rodebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.* 193, 265 (1951).
- Brodie, B.B., Reid, W.D., Cho, A.K., Sipes, G. and Gillette, J.R.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 68, 160 (1971).
- Reid, W.D., Cristie, B., Krishma, G., Mitchell, J.R. and Brovie, B.B.: *Pharmacology* 6, 41 (1971).
- Koch-Weser, D., de la Hugerga, J., Yessnick, C. and Poper, H.: *Metabolism* 11, 248 (1953).
- Croci, T. and Williams, G.M.: *Biochem. Pharmacol.* 34, 3029 (1985).
- Howell, S.R., Hazelton, G.A. and Klassen, C.D.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 236, 610 (1986).
- Amouyal, G., Larry, D., Letteron, P., Genve, J., Labbe, G., Belghiti, J. and Pessayre, D.: *Biochem. Pharmacol.* 36, 2349(1987).
- Jamwal, K.S., Sharma, M.L., Chandhoke, N. and Ghatak, B.J.: *Indian J. Med. Res.* 60, 763 (1987).