

유기게르마늄(GE-132)이 Bromobenzene의 대사계에 미치는 영향

김석환* · 조태현 · 최종원†

*동아대학교 식품영양학과
경성대학교 약학대학

Effect of GE-132 on the Hepatic Bromobenzene Metabolizing Enzyme System in Rats

Seok-Hwan Kim*, Tae-Hyun Jo and Jong-Won Choi†

*Dept. of Food and Nutrition, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea
College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

The study was attempted to elucidate the mechanism of GE-132 (100mg/kg, p.o. for 6 weeks) on the metabolism of bromobenzene (460mg/kg, i.p. bid, for 2 days), which has potent carcinogenicity, mutagenicity and hepatotoxicity. It showed that activities of cytochrome P-450, aminopyrine demethylase and aniline hydroxylase, which have epoxide generating property, were not changed by GE-132 treatment. On the other hand, epoxide hydrolase was not changed but that glutathione S-transferase was significantly increased by GE-132 treatment. And also γ -glutamylcysteine synthetase was not changed following the GE-132 treatment, but the activity of glutathione reductase was significantly increased. The level of hepatic glutathione which was decreased by bromobenzene recovered markedly by GE-132 pretreatment. It is concluded that the mechanism for the observed effect of GE-132 on bromobenzene metabolism is due to the induction of glutathione S-transferase.

Key words : GE-132, bromobenzene, glutathione S-transferase, glutathione content, glutathione reductase

서 론

게르마늄은 금속으로 전기공학 분야에서 널리 사용되었으나 최근에 와서 organometallic compound 형태 및 organic chelating agents로 합성되어 병리적 작용을 감소시키며 radiation에 의한 돌연변이 활성을 저해하는 것으로 알려진 이후 의학적인 치료 영역에서 널리 이용되고 있다.

GE-132는 1967년에 Asai Germanium Research Institute에서 합성되어¹⁾ 다년간 연구 결과 interferon 생성에 기인한 항 종양 효과²⁾, 항 돌연변이 작용³⁾, 면역강화 작용⁴⁾ 및 virus 감염 치료와 rheumatitis성 질환의 치료 효과^{5,6)} 이외에 해열, 진통 작용^{7,8)} 그리고 중금속 해독

작용⁹⁾ 등의 다양한 약리 작용이 밝혀진 이후 임상 및 영양학적 측면에서 널리 적용되고 있는 실정이다.

Epoxide는 독성 물질로 그 생성원은 자연환경 및 산업의 공정 과정에서 생기는 외인성인 것과 생체내 생합성에 의해 존재하는 내인성인 것으로 구분할 수 있다. Epoxide류는 탄소간의 불포화 결합대에 하나의 산소가 삽입되어 만들어지는 물질¹⁰⁾로서 여러 종류의 효소 활성을 억제¹¹⁻¹³⁾하여 독성을 유발하므로 때로는 돌연변이원, 또는 발암물질로 작용한다¹⁴⁻¹⁶⁾.

실험실적으로 epoxide의 생성 물질로서 bromobenzene을 많이 사용하고 있는데 이 물질은 생체내에서 microsomal mixed function oxidase system에 의하여 활성화되어 독성이 강한 epoxide성 물질로 전환된 다음 간 손상을 유발시키는 점^{17,18)}을 감안하여 본 연구에서는 GE-132가 세포의 산소 공급을 증가시키는 작용

† To whom all correspondence should be addressed

과 세포 손상을 유발하는 free radical의 제거 효과가 있어서 생체의 기능을 개선하여 방어 기전에 기여할 것이라는 연구 보고¹⁹⁾를 토대로 하여 모델 약물로 bromobenzene을 투여하여 간 대사계를 관찰함으로써 대사성 질환의 예방 및 치료에 GE-132의 사용 가능 여부를 추구하고자 한다.

재료 및 방법

동물 및 처치

동물은 체중 150g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley종의 웅성 흰쥐를 사용하여 고정사로 및 일정한 조건(온도: $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)하에서 충분히 적응 시킨 후 사용하였다.

유기게르마늄 (carboxyethyl germanium sesquioxide: GE-132, Lot No. 6013B15, Weinstein Chemicals Inc., U.S.A.)은 생리 식염수에 용해하여 100mg/kg을 6주간 oral needle를 사용하여 경구 투여하였으며, bromobenzene의 투여는 Zampaglione 등의 방법²⁰⁾에 준하여 1% tween 80에 460mg/kg of body wt되게 현탁시켜 12시간 간격으로 2일간 복강 주사하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수와 1% tween 80을 투여하였다. 동물의 처치는 CO₂ gas로 마취시켜 복부 정중선을 따라 개복한 다음, 복부 대동맥으로부터 채혈하였으며, 채혈 직후 4°C이하의 생리 식염수로 간을 관류하여 간내에 남아있는 혈액을 제거한 후 간장을 적출하였다. 적출한 간은 생리 식염수로 세척한 다음 여과지로 생리 식염수를 제거한 후 간 조직 1g당 0.1M potassium phosphate buffer (K.P. pH 7.5) 4배량을 넣고 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 얻고 이 액을 다시 15,000×g에서 5분간 원심분리하여 상정액을 얻었다. 이 상정액을 105,000×g에서 60분간 원심분리하여 상정액을 cytosolic fraction으로, 침전물을 소량의 K.P. buffer에 현탁시켜 microsomal fraction으로 아래의 효소원으로 사용하였다. 상기의 조작은 0~4°C에서 행하였다.

효소 활성의 측정

Cytochrome P-450의 함량

Omura와 Sato의 방법²¹⁾에 준하여 시험관에 microsomal suspension (1mg/ml의 단백질)을 넣고 환원제로 sodium dithionite를 넣어 잘 혼합한 다음 19K needle를 통해 1분간 4°C이하에서 CO gas를 bubbling시

켰다. Bubbling이 끝난 후 즉시 파장 400~500nm에서 microsomal suspension에 sodium dithionite만을 가한 reduced microsomal suspension과 CO-bound microsomal 간의 difference spectrum을 얻어 400~490nm에서 흡광도의 차이를 cytochrome P-450 CO complex에 의한 흡광량으로 하고 cytochrome P-450 CO complex에 91mM⁻¹cm⁻¹를 이용하여 cytochrome P-450의 양을 계산하였다. Cytochrome P-450의 함량은 microsomal protein 1mg당 nmole로 표시하였다.

Aminopyrine demethylase의 활성 측정

Nash의 방법²²⁾을 약간 변경하여 반응액 2ml중에 0.1 M Na⁺/K⁺ phosphate buffer (pH 7.5)에 2mM aminopyrine · HCl, 0.5mM NADPH, 10mM MgCl₂, 150mM KCl, 1mM semicarbazide 및 효소액 (300~400μg의 단백질)을 가해 이 반응액을 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 15% ZnSO₄ 2ml와 포화 Ba(OH)₂ 2ml를 가하여 반응을 종료 시키고 5분간 방치후 10분간 원심 분리하여 여기서 얻은 상정액 5ml에 발색의 목적으로 Nash reagent 2ml를 첨가하고 60°C에서 30분간 반응시킨 후 다시 원심 분리하여 상정액을 취하여 파장 415nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준 곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분간에 mg protein이 생성한 formaldehyde nmole로서 표시하였다.

Aniline hydroxylase의 활성 측정

Bidlack와 Lowery의 방법²³⁾에 준하여 반응액 2ml 중에 10mM MgCl₂와 150mM KCl이 함유된 50mM Tris · HCl 완충액 (pH 7.4)에 1mM aniline · HCl, 0.5mM NADPH 및 효소액 (300~400μg의 단백질)을 가해 이 액을 37°C에서 20분간 반응시킨 다음 반응을 종결할 목적으로 20% trichloroacetic acid 2ml를 가한 후 10분간 원심 분리하여 상정액 2ml를 취하고 발색의 목적으로 10% Na₂CO₃ 1ml와 0.2N-NaOH (2% phenol 함유) 2ml를 넣고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 파장 640nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준 곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1시간에 mg protein이 생성한 *p*-aminophenol nmole로서 표시하였다.

Epoxide hydrolase의 활성 측정

Hasegawa와 Hammock의 방법²⁴⁾에 준하여 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 기질로서 3mM *trans*-stilbene oxide (TSO, 3mM)와 효소원 (100~200 μg의 단백질)을 가하여 반응액이 3.0ml가 되도록 하였

다. 이 반응액을 37°C에서 20분간 반응시키고 이때 소실되는 기질의 양을 파장 229nm에서 흡광도의 감소를 읽고 표준 곡선에 의하여 산정하였다. 효소 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 기질인 *trans*-stilbene oxide (TSO)의 양을 nmole수로 나타내었다.

Glutathione S-transferase의 활성 측정

Habig 등의 방법²⁵⁾에 준하여 0.1M potassium phosphate buffer (pH 6.5) 중에 0.04M reduced glutathione 0.075ml를 가한 후 효소액을 0.1ml 넣고 blank에는 20% trichloroacetic acid 0.5ml를 가해 600×g에서 원심 분리하여 단백질을 제거하고 시료는 25°C에서 5분간 반응시킨 후 blank와 시료 각각에 기질로써 0.12M 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 0.025ml 가하여 25°C에서 2분간 반응시킨 후 시료에 20% trichloroacetic acid를 가해 반응을 완결시킨 후 blank와 시료 각각을 원심 분리하여 얻은 상정액을 340nm에서 흡광도를 측정한다. 다음 1-chloro-2,4-dinitrobenzene의 mole 흡광계수 $9.6\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 을 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분간 mg protein이 생성한 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 nmole수로 표시하였다.

γ -Glutamylcystein synthetase의 활성 측정

Meister와 Richman의 방법²⁶⁾에 준하여 반응액 1ml 중에 0.1M Tris HCl buffer (pH 8.0) 에 8.9mM L-glutamic acid, 0.94mM EDTA · Na, 3.2mM MgCl₂, 1.35mM ATP · Na 및 1mM L- α -aminobutyric acid에 효소원 (100~200 μg 의 단백질)을 가한 후 37°C에서 10분간 반응한 후 10% TCA로 반응을 완료시키고 상정액에 유리되는 Pi를 molybdic acid와 aminonaphthol sulfonic acid를 가하여 생성되는 황색을 600nm에서 흡광도를 읽고 표준 곡선에 의하여 산정하였다.

효소 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 생성하는 Pi의 양을 nmoles로서 표시하였다.

Glutathione reductase의 활성 측정

Mize와 Langdon의 방법²⁷⁾에 따라 반응액 3ml중에 0.1M K.P. buffer (pH 7.5) 에 0.94mM EDTA · Na, 4.6mM oxidized glutathione, 0.16mM NADPH 및 효소원 (400~600 μg 의 단백질)을 가한 후 30°C에서 10분간 반응시켜 340nm에서 NADPH의 감소율을 측정하여 표준 곡선에서 glutathione의 생성량으로 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 생성하는 glutathione의 양을 nmole로 표시하였다.

조직중 glutathione의 함량 측정

Ellaman의 방법²⁸⁾에 준하여 효소원 (400~600 μg 의 단백질)에 제단백시약으로 4% sulfosalicylic acid를 가하여 단백질을 제거한 상정액에 disulfide reagent (0.1M sodium phosphate buffer (pH 8.0) 에 5.5'-dithiobis (2-nitro benzoic acid)를 녹임) 2.7ml를 가하여 생성되는 청색을 412nm에서 흡광도를 측정하고 표준 곡선에 의하여 산정하였으며, 단위는 조직 1g당 glutathione μmole 로 표시하였다.

급성독성 시험

20g 내외의 ICR계 생쥐 20마리를 한군으로 GE-132의 전처리군과 대조군으로 나누어 bromobenzene (1,000mg/kg)²⁹⁾으로 1회 복강주사하여 24, 48, 72시간 관찰하였다.

단백질의 정량

단백질의 함량은 Lowry 등의 방법³⁰⁾에 준하여 bovine serum albumin (Sigma, Fr. V)을 표준품으로 하여 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계적 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

Bromobenzene이 급성 독성에 미치는 GE-132의 효과

GE-132의 해독 기능을 관찰하기 위하여 GE-132를 전처리하고 bromobenzene (1,000mg/kg)을 1회 복강내 주사하고 3일간 생쥐의 사망률을 측정한 성적은 Table 1이다. Bromobenzene 단독 투여군의 사망률을 24시간, 48시간 및 72시간 관찰하였을 때 63.2%, 78.

Table 1. Effect of GE-132 on the mortality of mouse after bromobenzene treatment^{1,2)}

Treatment	Mortality (%)		
	24	48	72 (hr)
Bromobenzene (BB)	63.2±2.06 ^{2,3)}	78.3±3.94 ²	88.3±4.27 ²⁾
GE-132+BB	26.8±3.21 ^c	34.7±2.76 ^d	42.7±4.60 ^c

Mice were administered GE-132 (100mg/kg of body wt) p.o. daily for 6 weeks and given bromobenzene (1,000mg/kg of body wt) 24hr after the last dosing of GE-132

¹⁾ The assay procedure was described in the experimental methods

²⁾ Each value are the mean ± S.D. (n=3)

³⁾ Values followed by the same letter are not significantly different (p<0.05)

3% 및 88.3%인데 비해 GE-132를 전처리한 실험군은 사망률이 26.8%, 34.7% 및 42.7%로 bromobenzene 단독 투여군에 비해 시간이 경과될수록 사망률이 감소 ($p < 0.05$)하였다. 이의 결과로 GE-132에는 bromobenzene을 해독시킬 수 있는 활성 물질이 함유되어 있음을 확인하고서 GE-132가 bromobenzene의 대사에 어떠한 영향을 미치는가를 관찰하기 위해 아래 실험을 행하였다.

Cytochrome P-450, aminopyrine demethylase 및 aniline hydroxylase활성에 미치는 GE-132의 효과

GE-132자체의 작용을 관찰할 목적으로 정상 동물에 GE-132를 전처리하고 간 microsomal cytochrome-450, aminopyrine demethylase(AD) 및 aniline hydroxylase(AH)의 활성 변동에 미치는 영향을 관찰한 결과 (Table 2)으로서 cytochrome P-450의 함량 변화나 AD 및 AH의 활성에는 GE-132투여가 대조군과 활성의 변동에는 별다른 영향이 없었다. 이로 보아 oxidative 및 nonsynthetic 과정을 조절하는 mixed function oxidation system 및 aminopyrine을 기질로 하여 formaldehyde를 생성하는 type I 계와 aniline을 기질로하여 *p*-aminophenol을 생성하는 type II 계 효소 활성²¹⁾에는 GE-132의 투여는 관여하지 않는 것으로 생각된다.

Epoxide hydrolase 및 glutathione S-transferase 활성에 미치는 GE-132의 효과

정상 동물에서 GE-132의 전처리 여부가 간 microso-

mal epoxide hydrolase 및 cytosolic glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과 (Table 3) 생리식염수를 투여한 대조군이나 GE-132의 전처리 투여군에서는 epoxide hydrolase 활성은 다소 감소되는 경향은 있었으나 통계적인 유의성은 없었다. 그러나 glutathione S-transferase 활성에서는 GE-132를 전처리하므로 epoxide hydrolase와는 반대로 대조군보다 약 30%정도의 활성 증가를 관찰할 수 있었다.

이러한 결과는 GE-132가 epoxide를 가수분해하여 독성이 없는 dihydrodiol로 대사시키는 효소인 epoxide hydrolase^{17,18)}의 활성에는 별다른 영향이 나타나지 않았으나 glutathione S-transferase를 활성화 시키는 물질이 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

Bromobenzene 투여시 glutathione S-transferase 활성에 미치는 GE-132의 영향

Table 3에서 GE-132의 단독 투여시 glutathione S-transferase의 활성이 증가됨이 bromobenzene 투여시 어떠한 영향을 주는가를 관찰하기 위하여 본 효소를 측정하여 본 결과 (Table 4)로서 bromobenzene투여군에서는 생리식염수를 투여한 대조군에 비해 약 40%정도 억제되었던 것이 GE-132를 전처리하고 bromobenzene을 투여함으로써 대조군 수준에는 미치지 않으나 증가되었다. 이는 bromobenzene을 투여하면 phase I 단계에 의하여 독성이 강한 bromobenzene 3,4-oxide로 전달되며 이 epoxide로 전달되며 이 epoxide를 대사²²⁾시켜 독성이 없는 bromobenzene-3,4-dihy-

Table 2. Influence of GE-132 on the hepatic microsomal cytochrome P-450, aminopyrine demethylase and aniline hydroxylase activities in rat

Treatment	Cytochrome P-450	Aminopyrine demethylase	Aniline hydroxylase
	(nmole/mg protein)	(formaldehyde formed nmole/mg protein/min)	(<i>p</i> -aminophenol formed nmole/mg protein/min)
Saline	0.37±0.037 ^{NS}	2.95±0.21 ^{NS}	0.78±0.06 ^{NS}
GE-132	0.40±0.061	3.95±0.24	0.88±0.10

Rats were orally administered GE-132 (100mg/kg of body wt) daily for 6 weeks, and killed 24hr after the last dose. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. for 10 experiment. N.S.; not significant

Table 3. Effect of GE-132 on the hepatic cytosolic epoxide hydrolase and glutathione S-transferase activities in rat

Treatment	Epoxide hydrolase	Glutathione S-transferase
	(<i>trans</i> -stilbene oxide decreased nmole/mg protein/min)	(nmole*/mg protein/min)
Saline	8.06±0.56 ^{NS}	980.8±43.2 ^a
GE-132	7.19±0.80	1287.3±52.4 ^b

Rats were orally administered daily with GE-132 (100mg/kg of body wt) for 6 weeks, and decapitated 24hr after the last feeding. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. for 6 animals. Values followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

*Conjugated 2,4-dinitrobenzene-glutathione. N.S.; not significant

droxydiol로 대사시키는 epoxide hydrolase이외에 또 다른 계의 하나로 endogeneous reactant인 glutathione을 매개로 하여 bromobenzene-glutathione으로 포함되어 체외로 배설되는 phase II 단계의 효소인 glutathione S-transferase²³⁾를 활성화시켜 bromobenzene의 독성을 경감시킬 것이라는 가능성을 추측할 수 있었다.

Bromobenzene 투여시 glutathione 농도 및 glutathione생성계에 미치는 GE-132의 효과

생리식염수와 GE-132를 투여한 실험동물에 bromobenzene을 주사하였을때 간 조직중 glutathione함량 변동, γ -glutamylcystein synthetase 및 glutathione reductase의 영향을 관찰한 성적이 Table 5로써 glutathione의 함량은 대조군에 비해 bromobenzene을 투여한 군은 약 61%정도 감소($p < 0.05$)한데 비하여 GE-132를 전처리한 다음 bromobenzene을 투여한 군은 대조군 수준에는 미치지 않으나 bromobenzene을 투여한 군보다 약 2배 정도 높은 수준을 유지하였다.

γ -Glutamylcystein synthetase의 활성은 대조군보다 GE-132의 투여로 다소 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었으며, glutathione reductase의 활성은 대조군보다 bromobenzene을 투여함으로써 현저

히 억제되던 것이 GE-132를 전처리하고 bromobenzene을 투여한 군은 대조군 수준으로 증가되고 있음을 관찰할 수 있었다. 활성산소 및 지질과산화 물질과 친전자성 물질들은 최종 대사과정에서 glutathione이 요구되어지며^{24,25)}, glutathione의 함량 유지에는 합성계 효소²⁶⁾와 산화형 glutathione의 재환원 효소²⁷⁾가 관여하고 있음은 주지의 사실이다.

GE-132의 투여시 glutathione 함량의 증가 현상을 구명할 목적으로 γ -glutamylcystein synthetase의 활성과 glutathione reductase의 활성 변동을 GE-132를 투여하고서 관찰하였을때 γ -glutamylcystein synthetase활성에는 별다른 변동을 보이지 않으나 glutathione reductase의 활성은 증가하였다.

이러한 성적은 bromobenzene의 투여로 인한 간 glutathione함량이 감소되던 것이 GE-132의 전처리로 증가되는 것은 glutathione reductase의 유도 작용에 의하여 나타나는 결과로 사료된다.

요 약

Bromobenzene투여시 GE-132의 해독기전을 추구할 목적으로 epoxide생성계와 해독계 효소 및 glutathione

Table 4. Effect of GE-132 on the hepatic glutathione S-transferase activity in bromobenzene-treated rat

Treatment	Activity	
	2,4-dinitrobenzene-glutathione nmole/mg protein/min	
Saline	980.8±43.2 ^a	100
Bromobenzene (BB)	578.5±32.4 ^b	59
GE-132+BB	897.6±52.3 ^{ac}	91

Rats were orally administered GE-132 (100mg/kg of body wt) daily for 6 weeks, and bromobenzene (460mg/kg of body wt) i.p. twice a day for 2 days. Rats were decapitated 4hr after the last dose of bromobenzene. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. of 10 experiments. Values followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

Table 5. Influence of GE-132 on the hepatic glutathione level, γ -glutamylcystein synthetase(γ -GT) and glutathione reductase activities in bromobenzene-treated rats

Treatment	Glutathione level	γ -GT	Glutathione reductase
	μ mole/g of tissue	pi formed nmole/mg protein/min	glutathione formed nmole/mg protein/min
Control	4.75±0.29 ^a	12.98±1.37 ^{N.S.}	23.25±2.59 ^a
Bromobenzene (BB)	1.81±0.45 ^b	10.87±2.30	12.37±1.98 ^b
GE-132	6.19±0.54 ^c	14.29±2.15	32.50±2.54 ^c
BB+GE-132	3.70±0.21 ^d	13.36±1.08	20.37±3.21 ^{cd}

Rats were orally administered GE-132 (100mg/kg of body wt) daily for 6 weeks, and bromobenzene (460mg/kg of body wt) i.p. for 2 days. Rats were sacrificed 4hr after the last dose of bromobenzene. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean±S.D. for 10 experiments. Values followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$). N.S. : not significant

관련 효소계의 활성화에 GE-132가 어떤 영향을 주는가를 검토하여 다음과 같은 실험 결과를 얻었다. GE-132 (100mg/kg)의 전처리로 cytochrome P-450, aminopyrine demethylase 및 aniline hydroxylase와 해독계 효소인 epoxide hydrolase활성에는 영향을 미치지 않았으나, glutathione S-transferase활성은 증가하였다. Bromobenzene (460mg/kg)을 주사하였을때 glutathione S-transferase의 활성이 현저히 감소되던 것이 GE-132의 투여로 대조군 수준으로 증가되었다. 조직내 glutathione의 함량변동도 bromobenzene 투여로 감소되던 것이 GE-132의 전처리로 bromobenzene단독 투여군보다 증가되었으며 γ -glutamylcystein synthase의 활성은 각 실험군에서 별다른 영향이 없는데 비해 glutathione reductase의 활성화는 bromobenzene투여로 억제 되던 것이 GE-132의 전처리로 대조군 수준으로 활성을 유지하고 있었다.

감사의 글

본 연구는 1992년도 동아대학교 학술연구 조성비에 의한 연구 결과의 일부이며 이를 감사드립니다.

문헌

- Oikawa, H. and Kakimoto, N. : *Synthesis of carboxyethylgermanium sesquioxide compound*. Proceedings of the 21st Annual Meeting of Japan Chemical Society, p.1946 (1968)
- Ishida, N., Suzuki, F. and Hayashi, Y. : *Antitumor effects of organogermanium compound(GE-132) in mouse tumors*. Proc. Jpn. Cancer Assoc. II, Annual Meeting, p.193 (1979)
- Mochizuki, H. and Kada, T. : *Antimutagenic effect of GE-132 on γ -ray-induced mutation in Escherichia coli B/r WP2 trp-*. Int. J. Radiat. Biol., **42** (6), 653 (1982)
- Suzuki, F., Brutkiewicz, R. R. and Pollard, R. B. : *Cooperation of lymphokine (s) and macrophages in expression of antitumor activity of carboxyethylgermanium(GE-132)*. Anticancer Res., **62** (2), 177 (1986)
- DiMartino, M. J. : *Antiartihritic and immunoregulatory activity of spirogermanium*. J. Pharmacol. Exp. Ther., **236** (1), 103 (1986)
- Aso, H., Suzuki, F., Ebina, T. and Ishida, N. : *Antiviral activity of carboxyethylgermanium sesquioxide(GE-132) in mice infected with influenza virus*. J. Biol. Respose Mod., **8** (2), 180 (1989)
- Komuro, T., Kaimoto, N., Katayama, T. and Hazato, T. : *Inhibitory effects of GE-132 derivatives on enkephalin-degrading enzymes*. Biotechnol. Appl. Biochem., **8**, 379 (1986)
- Harisch, G. : *Glutathione and glutathione-dependent enzymes of the rat liver after different doses of Sanumgerman*. In "1st Int. Conf. on germanium" Hanover, Oct. 1984. Lekin & Samochowicz(eds.), Semmelweis-Verlaa(1985)
- Lee, H. M. and Chung, Y. : *Effect of organic germanium on metallothionein induction in liver and kidney of cadmium and mercury intoxicated rats*. Yakhak Hojei, **35** (2), 99 (1991)
- Rosowsky, A. : *Heterocyclic compounds with three and four-membered rings*. Weissberger(ed.), Interscience Publishers, New York, Part one, p.523 (1964)
- Legler, G. : *Labelling of the active center of a beta-glucosidase*. Biochem. Biophys. Acta., **151**, 728 (1968)
- Thomas, W. E., Mekeluy, J. F. and Shorn, N. : *Specific and irreversible inhibition of lysozyme by 2', 3'-epoxypropyl-beta-glycosides of N-acetyl-O-glucosamine oligomers*. Nature, **22**, 485 (1969)
- Milewski, C. H., Dzieduszycska, M., Smulkowski, M., Sawiewicz, P. and Borowski, E. : *Epoxy peptides, a novel group of metabolic inhibitors in prokaryotic and eukaryotic micro-organisms*. Drugs Exp. Clin. Res., **8**, 11 (1982)
- Conney, A. H. : *Induction of microsomal enzymes by foreign chemical and carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons*. Cancer Res., **42**, 4875 (1982)
- Bolt, H. M., Laib, R. J. and Filser, J. G. : *Reactive metabolism and carcinogenicity of halogenated ethylenes*. Biochem. Pharmacol., **31**, 1 (1982)
- Jones, R. B. and Machrodt, W. C. : *Structure-genotoxicity relationships for aliphatic epoxides*. Biochem. Pharmacol., **32**, 2359 (1983)
- Brodie, B. B., Reid, W. D., Cho, A. K., Sipes, G. and Gillette, J. R. : *Possible mechanism of liver necrosis caused by aromatic organic compounds*. Proc. Nat. Acad. Sci., **68**, 160 (1971)
- Reid, W. D., Cristie, B., Krishma, G., Mitchell, J. R. and Brovie, B. B. : *Bromobenzene metabolism and hepatic necrosis*. Pharmacology, **6**, 41 (1971)
- Levine, S. A. and Kidd, P. M. : *Oxygen-nutrition for super health*. J. Orthomol. Medicine, **1** (3), 145 (1986)
- Zampaglione, N., Jallow, D. J., Mitchell, J. R., Manrick, M. and Gillette, J. R. : *Role of detoxifying enzymes in bromobenzene-induced liver necrosis*. J. Pharmacol. Exp. Ther., **187**, 218 (1973)
- Omura, T. and Sato, R. : *The carbon monoxide bindings pigments of liver microsomes. 1. Evidence for its hemoprotein nature*. J. Biol. Chem., **239**, 2370 (1964)
- Nash, T. : *The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hantzsch reaction*. J. Biol. Chem., **55**, 416 (1953)
- Bidlack, W. R. and Lowery, G. L. : *Multiple drug metabolism in p-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation*. Biochem. Pharmacol., **31**, 311 (1982)
- Hasegawa, L. S. and Hammock, B. D. : *Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide*

- hydrofase using trans-stilbene oxide as the substrate. *Biochem. Pharmacol.*, **31** (11), 1979 (1982)
25. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase. The first step in mercapturate acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**, 7130 (1974)
 26. Meister, A. and Richman, P. G. : Regeneration of γ -glutamylcystein synthetase by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. *J. Biol. Chem.*, **250**, 1422 (1975)
 27. Mize, C. E. and Langdon, R. G. : Hepatic glutathione reductase. : I. purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.*, **237**, 1589 (1962)
 28. Ellman, G. L. : Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70 (1959)
 29. Doris, V. S. : *Registry of toxic effects of chemical substance*. U. S. Department of Health and Human Service, p.803 (1987)
 30. Lowry, O. H., Rosebrough, N. H., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
 31. Bertram, G. K. : *Basic and clinical pharmacology*, a Lange medical book, 5th ed., Prentice-Hall International Inc., p.55 (1992)
 32. Rush, G. F., Kuo, C. H. and Hook, J. B. : Nephrotoxicity of bromobenzene in mice. *Toxicol. Lett.*, **20**, 23 (1984)
 33. Monks, T. J., Lau, S. S., Highet, R. J. and Gillette, J. R. : Glutathione conjugates of 2-bromohydroquinone are nephrotoxic. *Drug Metab. Dispos.*, **13**, 553 (1985)
 34. Burk, R. F., Trumble, M. J. and Lawrence, R. A. : Rat hepatic cytosolic glutathione dependent enzyme protection against lipid peroxidation in the NADPH-microsomal lipid peroxidation system. *Biochem. Biophys. Acta.*, **618**, 35 (1980)
 35. Reddy, C. C., Tu, C. P. D., Burgess, J. R., Ho, C. Y., Scholz, R. W. and Massaro, E. J. : Evidence for the occurrence of selenium-independent glutathione peroxidase activity in rat liver microsome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **101**, 970 (1981)
 36. Meister, A. : Selective modification of glutathione metabolism. *Science*, **220**, 472 (1983)

(1993년 8월 27일 접수)