

## 랫드에 있어서 주·야 시차가 Bromobenzene 대사에 미치는 영향

김광진·신중규<sup>1</sup>·윤종국\*

계명대학교 공중보건학과  
<sup>1</sup>경산대학교 보건과학과

### Effect of Circadian Rhythms on the Bromobenzene Metabolism in Rats

Kwang-Jin Kim, Joong-Kyu Shin<sup>1</sup> and Chong-Guk Yoon\*

Dept. of Public Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

<sup>1</sup>Dept. of Health Science, Kyungsan University, Kyungsan 713-715, Korea

(Received November 5, 1997)

(Accepted December 5, 1997)

**ABSTRACT** : To investigate the circadian variation in the bromobenzene metabolism, bromobenzene(400 mg/kg body weight) was intraperitoneally administered to the rats every other day for 6 days both in the night; 24:00 and the day; 12:00. Each group of animals was sacrificed at 8hr after last injection of bromobenzene. The contents of hepatic CYP were more increased in control rats of night phase than those of day phase but in case of bromobenzene treatment there were no differences in hepatic CYP between rats of the night phase and those of day phase and the injection of prednisolon inhibited the hepatic CYP content in rats. Furthermore, the decreasing rate of hepatic glutathione contents to the control was higher in rats of day phase than those of night phase by the bromobenzene treatment. And the hepatic glutathione S-transferase activities were increased both in control and bromobenzene treated rats of the night phase than those of day phase. On the other hand, liver weight per body weight(%), hepatic lipid peroxide content, serum levels of alanine aminotransferase were more increased both in bromobenzene-treated and control rats of the night phase than those in the day phase. These results indicate that the rats of night phase may induce more accelerated formation of bromobenzene 3,4-oxide from bromobezene than those of day phase in rats.

**Key Words** : Circadian rhythm, Bromobenzene metabolism.

#### I. 서 론

생체는 일정한 생리적 조절 작용에 의해 체내 항상성이 유지되고 있다. 이러한 생체의 항상성 작용에 의해 일중 생리적 변동 현상이 나타나고 있으며, 이로 인하여 정상상태에서도 시차에 따라 여러가지 다양한 생리적 현상이 나타나고 있을 뿐만 아니라, 비정상적인 질병상태에서도 그 증상의 정도가 질병의 종류에 따라 주·야 간에 큰 변동이 있다는 것(Reinberg, 1983)은 잘 알려진 사실이다. Halberg 등(1959)은 주·야 시차(circadian rhythm)에 따라 약물의 대사가 영향을 받는다고 보고한 이래 많은 연구자들에(Marte와 Halberg, 1961; Davis, 1962; Lutsch와 Morris, 1967; Rad-

zialowski와 Bousquet, 1968; Bélanger 등, 1985) 의하여 xenobiotics 대사와 주·야 시차의 상호 관련성에 대하여 많은 연구가 행해져 왔다. Critchlow 등(1963)은 약물대사효소의 활성 변동이 부신피질 호르몬의 영향 따라 시간적, 주기적으로 나타난다고 보고한 바 있다. 그리고 Kato와 Gillette(1965)는 부신 적출시 약물대사효소의 활성이 감소한다고 하였고, Radzialowski(1968) 등은 흰쥐에 있어서 혈중 corticosterone 치가 야간에 감소된다고 하며, 또한 이 hormone은 약물대사효소의 활성을 억제시킨다고 하였다. 그러므로 생체리듬과 유해물질의 대사는 상호 관련성이 있을 것으로 생각되며 이는 산업유해물질의 독성현상이 생체리듬에 상당한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 따라서 산업공해물질인 xenobiotics의 중독현상과 생체리듬과의 상호관련성에 대한 연구는 독성학적 측면에서 상당한 의의가 있을

\*To whom correspondence should be addressed

것으로 생각된다.

한편 생체 이물질(xenobiotics)의 일종이며, 산업장에서 유기용제 및 방향성 유기화합물 합성에 이용되는 bromobenzene은 생체에 폭로시 간 독성을 야기시키는 것(Ried 등, 1971; Brodie 등, 1971)으로 알려져있다. 생체 내로 흡수되어진 bromobenzene은 세포의 다기능 복합산화기구(mixed function oxidase system)에 의하여 bromobenzene 3,4-oxide로 전환되며, 이 친전자성 물질이 여러가지 생체독성을 야기시킨다(Zheng과 Hanzlik, 1991)고 한다. 그리고 이 물질은 주로 생체 내에서 glutathione S-transferase(GST)에 의하여 포합인자인 glutathione(GSH)과 결합하므로서 무독화 된다(Boyland와 Chassend, 1969; Thor 등, 1979; Lee 등, 1990)고 알려져 있으나 bromobenzene의 대사 및 중독현상과 주·야 시차와의 상호관련성에 대해서는 아직까지 연구된 바는 없다.

이에 본 연구에서는 주·야 시차에 따라 bromobenzene의 투여 및 처치를 달리한 후 bromobenzene 대사에 관련된 간 조직 GSH 함량과 이의 포합효소인 GST 활성도를 측정하는 한편 간 손상의 parameter인 체중당 간 무게, 간 조직 중 과산화지질 함량과 혈청중 alanine aminotransferase(ALT) 활성도를 측정함과 동시에 병리조직검사를하여 이들 성적을 주·야별로 상호 비교 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 동물의 사육 및 처치

실험동물은 체중 100 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 웅성 랫드(계명대학교 의과대학 사육실)를 시중에서 구입한 동물 사료(삼양사 제품)로 약 1개월간 성장시킨 체중 200g 내외의 것을 두 군으로 나누어 실험에 사용하였다.

실험군은 주·야로 나누고 각각 대조군과 bromobenzene 투여군 및 주간 prednisolone 투여군으로 나누어 각각 6마리씩을 한 군으로 하였다. 그리고 각 실험군은 개별 분리 수용하였고 물과 사료의 양은 제한없이 공급하였다.

Bromobenzene은 olive oil로 희석한 다음 체중 kg당 400mg씩 주·야(낮 12시, 밤 24시)로 나누어 1일 1회 2일 간격으로 3회 복강내로 투여하였고, 대조군은 bromobenzene 투여에 병행하여 동량의 olive oil만 투여하였다. 그리고 부신피질호르몬인 prednisolone은 체중 100 g 당 0.1 ml(0.8 mg/kg)씩 주간 처치군에 병행하여 1일 1회 대퇴근육내로 투여하였다. 각 실험군은 주·야로 나누어 마지막 주사 한 다음 8시간 절식시킨 후 희생 시켰다.

실험동물의 처치는 ether 마취 하에서 복부정중선을 따라 개복한 다음 복부 대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시킨 후, 4°C 생리 식염수로 간 문맥을 통하여 간을 관류하여 간 내에 남아있는 혈액을 제거한 다음 간을 적출 하였다. 적출한 간은 생리 식염수로 표면에 묻은 혈액을 가볍게 씻은 후 여지로 압박하여 간 조직 내에 남아있는 생리식염수를 가능한 모두 제거한 다음 무게를 칭량하였다. 한편 간의 일부는 10% formalin에 고정시켜 병리조직검사에 사용하였으며 채취한 혈액은 실온에서 30분 방치 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 혈청을 얻어 ALT 활성도 측정에 사용하였다.

### 2. 효소시료의 조제

적출한 간 조직을 4°C에서 절편으로 만들고 그 중 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25M sucrose 용액을 가해 4°C에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하여 균질액(20% w/v)을 만들었다. 이 마쇄 균질액(20% w/v)을 600×g에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 다음, 상정액을 10,000×g에서 20분간 원심 분리하고 그 상정액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심 분리한 후 cytosol 분획과 pellet을 얻었으며, 이 pellet을 0.25M sucrose액으로 재현탁 시킨 후 105,000×g에서 1시간 초원심 분리하여 microsome 분획을 분리(Bloom과 Fawcett, 1975)하였다. Cytosol 분획은 GST 활성도 측정용 효소시료로 사용하였으며 microsome 분획은 CYP함량 측정에 사용하였다.

### 3. 효소 활성도 측정

#### 1) 혈청 ALT 활성도 측정

혈청 ALT 활성도 측정은 Reitman과 Frankel(1957)의 방법에 따라 조제된 kit시액을 사용하였다. 활성도 단위는 혈청 ml 당 Karmen (1955) 단위로 표시하였다.

#### 2) GST 활성도 측정

간 조직 GST의 활성도 측정은 Habig 등(1974)의 방법에 준하였다. 효소의 활성도 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성시킨 conjugate의 nmole로 나타내었다.

### 4. CYP 함량 측정

간조직 중 CYP 함량 측정은 Omura와 Sato (1964)의 방법에 준하여 측정하였다. Microsomal CYP 함량 단

위는 단백질 mg 당 nmole로 표시하였다.

### 5. 간 조직의 GSH 함량 측정

간 조직의 GSH 함량은 Ellman (1959)의 방법에 따라 측정하였다. GSH의 함량단위는 간조직 1g 당 mole로 나타내었다.

### 6. 간 조직의 LPO 함량 측정

간 조직 중 지질 과산화물 함량은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 준하였다. LPO 함량은 간 조직 1g 당 nmole로 표시하였다.

### 7. 간 조직 중 단백질 정량

단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

### 8. 광학현미경 관찰

간 조직의 일반적인 조직학적 변화를 관찰하기 위해 주·야 대조군, 주·야 bromobenzene 투여군에서 적출한 흰 쥐간의 중엽을 즉시 10% neutral formalin액에 고정하고 흐르는 수도물로 수세한 후 alcohol로 탈수, xy-lene으로 청명한 다음 paraffin으로 침투, 포매한 후 4  $\mu$ m의 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

### 9. 성적 검정

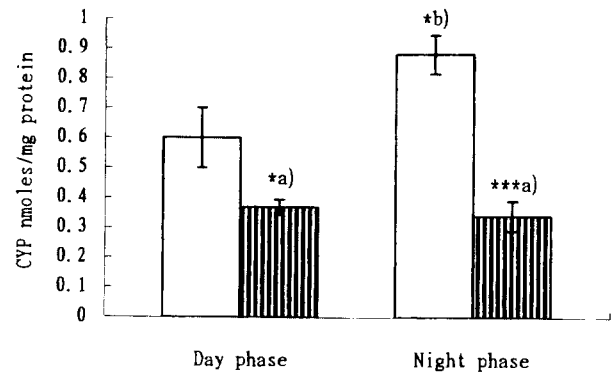
유의성 검정은 student's t-test(Scheffler, 1980)로 하였으며 유의 수준은 0.05 이하로 하였다.

## III. 결 과

### 1. 간 조직 중 CYP 함량 변동

주·야에 따른 bromobenzene 투여시 간 조직 중 CYP 함량 변동을 나타낸 성적은 Fig. 1과 같다.

간 조직 중 CYP의 함량은 대조군의 경우 day phase군에 비해 night phase이 약 45%( $P<0.05$ )의 유의하게 증가되었다. 그러나 bromobenzene 투여군의 경우 day phase군의 대조군에 비해 약 43%( $p<0.05$ ) 감소되었으며 night phase군의 경우는 약 60%( $p<0.001$ )의 유의하게



**Fig. 1.** Effect of circadian rhythms on the hepatic CYP content in bromobenzene-treated rats. The assay procedure was described in experimental methods. Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 6 rats. a) Significantly different from the each control group. b) Significantly different from the day phase control group. (\*;  $p<0.05$ , \*\*\*;  $p<0.001$ ) □ : Control, ▨ : Bromobenzene

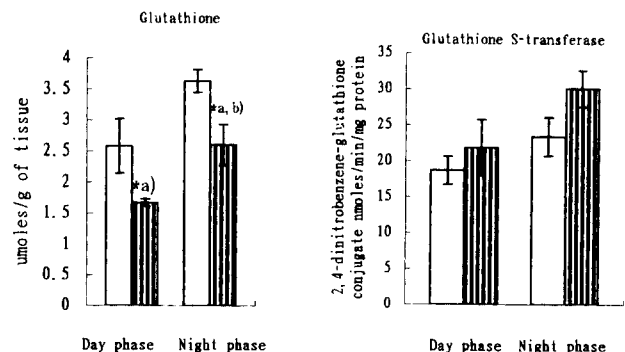
감소되었다.

### 2. 간 조직 중 GSH 함량과 GST 활성도 변동

주·야 시차에 따른 bromobenzene 투여시 간 조직의 GSH 함량과 GST 활성도를 나타낸 성적은 Fig. 2와 같다.

간 조직 중 glutathione의 함량은 day phase군과 night phase군 모두 bromobenzene 투여군이 각각 약 35%와 28% 감소되었다. 또한 bromobenzene을 투여한 경우에는 night phase군이 day phase군 보다 약 55% 증가되었다.

한편 GST 활성은 대조군에 있어서는 day phase군 보다 night phase군에서 약 25% 높게 나타났으며 bromobenzene을 투여한 경우에는 night phase군이 day phase군 보다 약 36% 증가되었다.



**Fig. 2.** Effect of circadian rhythms on the hepatic glutathione(GSH) and glutathione S-transferase(GST) activity in bromobenzene-treated rats. The assay procedure was described in experimental methods. Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 6 rats. a) Significantly different from the each control group. b) Significantly different from the day phase bromobenzene treated group. (\*;  $p<0.05$ ) □ : Control, ▨ : Bromobenzene

### 3. 체중당 간 무게(%), 간 조직 LPO 함량 및 혈청 ALT 활성도 변동

Bromobenzene 투여시 주·야 시차에 따른 체중당 간 무게(%), 간 조직 LPO 함량, 혈청 ALT 활성도 변동을 나타낸 성적은 Table 1과 같다.

대조군의 체중당 간 무게는 night phase군 day phase군 간의 별다른 차이를 볼수 없었으나 bromobenzene 투여로 인한 대조군에 대한 증가율은 day phase군에서는 약 12%( $p<0.05$ ), night phase에서는 약 27%( $p<0.001$ ) 유의하게 증가되어 night phase군이 day phase군 보다 높게 나타났다. 간 조직 중 과산화지질 함량은 night phase군이 day phase보다 약 39% 증가되었으며 bromobenzene 투여시에도 night phase군이 day phase군 보다 약 40% 증가되었다.

한편 bromobenzene 투여로 인한 ALT 활성 증가율은 day phase군에서는 약 40%( $p<0.05$ ), night phase군은 약 54%( $p<0.01$ )의 유의한 증가를 보여 night phase군이 day phase군 보다 혈청 ALT 활성도 증가율이 높게 나타남을 알수 있었다.

### 4. 간 조직의 병리조직학적 변화

간 조직의 병리조직학적 소견에 있어서는 대조군의 경우 중심정맥을 중심으로 간 세포의 배열이 정상적으로 나타났고 특기할만한 소견은 없었다(Fig. 3).

한편 bromobenzene 투여군의 경우 day phase군은 중심정맥주위에 약한 괴사와 염증세포의 침윤현상이 관찰되었으며, night phase군은 day phase군에 비해 중심정맥주위에 심한 괴사와 부분적인 swelling이 관찰되었다(Fig. 4).

### 5. 호르몬 투여에 따른 간 조직 중 CYP 와 GSH 함량 및 GST 활성도 변동

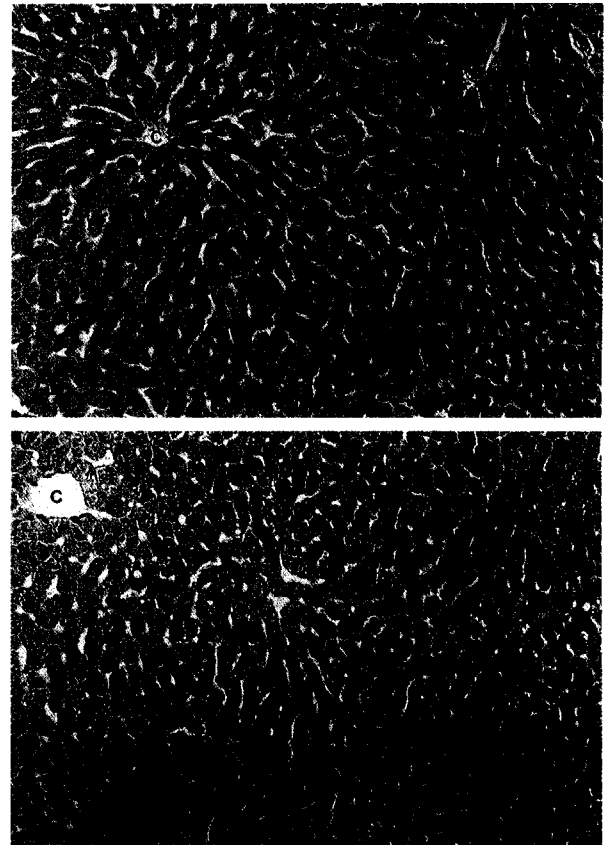


Fig. 3. Light microscopic finding of control rat liver. (Hematoxylin and eosin stain,  $\times 200$ ) A. Day phase; The lobules and central veins are intact. B. Night phase; The hepatocytes are normal and central vein is intact.

부신피질 호르몬인 prednisolone 투여에 따른 간 조직 중 CYP 와 GSH 함량 및 GST 활성도를 나타낸 성적은 Table 2와 같다.

Prednisolone 투여시 CYP의 함량은 약 47%( $p<0.01$ ) 정도 유의하게 억제되었으나, GSH 함량과 GST 활성도는 유의한 변동이 나타나지 않았다.

Table 1. Effect of circadian rhythms on the liver weight per body weight(L/B), the content of hepatic lipid peroxide(LPO) and serum activities of alanine aminotransferase (ALT) in bromobenzene-treated rats

Groups Parameters	Day phase		Night phase	
	Control	Bromobenzene	Control	Bromobenzene
L/B (%)	3.44 $\pm$ 0.07	3.84 $\pm$ 0.16 <sup>a)</sup>	3.73 $\pm$ 0.11	4.75 $\pm$ 0.06 <sup>***a,b)</sup>
LPO <sup>1)</sup>	4.34 $\pm$ 1.21	5.66 $\pm$ 0.92	6.05 $\pm$ 0.88	7.92 $\pm$ 0.86
ALT <sup>2)</sup>	46.50 $\pm$ 6.00	65.00 $\pm$ 3.58 <sup>a)</sup>	47.67 $\pm$ 1.89	73.75 $\pm$ 6.50 <sup>**b)</sup>

The assay procedure was described in experimental methods.

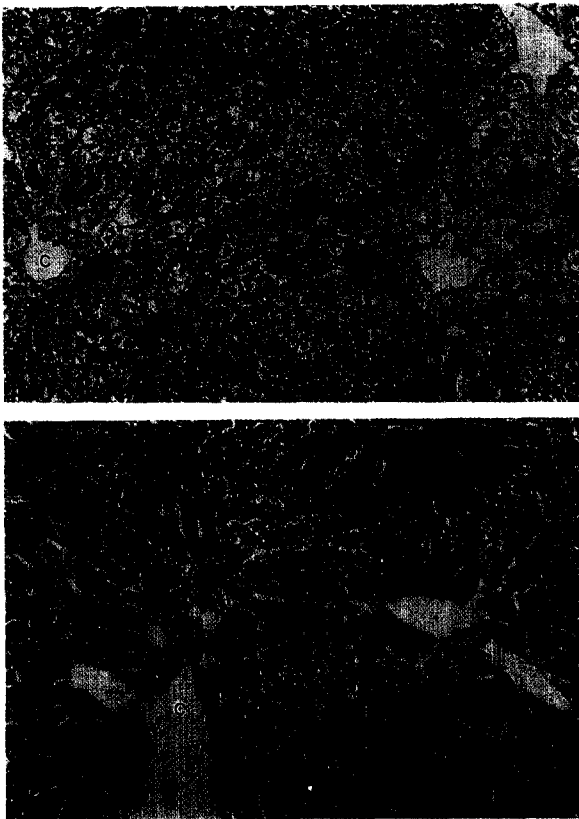
Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 6 rats.

<sup>a)</sup>Significantly different from the each control group.

<sup>b)</sup>Significantly different from the day phase bromobenzene-treated group. (\*;  $p<0.05$ . \*\*;  $p<0.01$  \*\*\*;  $p<0.001$ )

Unit : 1) MDA nmoles/g of tissue.

2) Karmen unit/ml of serum.



**Fig. 4.** Light microscopic finding of bromobenzene-treated rat liver. (Hematoxylin and eosin stain,  $\times 200$ ) C. Day phase; Weakly necrosis of central vein is demonstrated and inflammatory cells are infiltrated in areas of central vein. D. Night phase; Severe necrosis and local swelling of hepatocyte are seen in central vein.

**Table 2.** Effect of prednisolone treatment on the hepatic CYP content, glutathione(GSH), and glutathione S-transferase(GST) activities on rats

Parameters	Control	Prednisolone
CYP <sup>1)</sup>	100.00 $\pm$ 9.89	53.16 $\pm$ 10.25**
GSH <sup>2)</sup>	100.00 $\pm$ 17.05	89.47 $\pm$ 4.55
GST <sup>3)</sup>	100.00 $\pm$ 8.80	107.80 $\pm$ 4.37

Each value indicates the relative % to the control.

The assay procedure was described in experimental methods.

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 6 rats.

Significantly different from the control group (\*\*;  $p < 0.01$ )

Unit: 1) CYP nmoles/mg protein.

2)  $\mu$  moles/g of tissue.

3) 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate nmoles /min/mg protein.

#### IV. 고찰

Bromobenzene의 대사는 주로 간 조직에서 이루어지고 있으며 간세포의 소포체에 존재하는 mixed function oxydase system인 CYP에 의하여 bromobenzene 3,

4-oxide로 변화되며 이 물질이 세포상해를 유발 하는 것(Zheng과 Hanzlik, 1991)으로 알려져 있다. Bromobenzene 3,4-oxide는 glutathione과 이의 포함효소인 GST에 의하여 무독화 된다(Boyland와 Chasseud, 1969; Thor 등, 1979; Lee 등, 1990)고 한다. 본 연구에서는 주·야 시차별에 따라 bromobenzene의 대사가 어떠한 영향을 받는지 알아보기 위하여 본 실험에서 밤 12시(night phase) 및 낮 12시(day phase)에 bromobenzene을 각각 투여한 다음 8시간 후에 처치하여 bromobenzene 대사에 관여하는 생리활성물질 및 bromobenzene 대사효소활성을 관찰하였다. 본 실험에서 bromobenzene으로 부터 bromobenzene 3,4-oxide형성에 관여하는 microsomal CYP을 측정된 결과, 주·야 두군 모두 bromobenzene을 투여하므로써 CYP 함량이 감소되었다.

이는 bromobenzene으로 부터 bromobenzene 3,4-oxide free radical이 macromolecule의 단백질과 공유결합한다는 보고(Zheng과 Hanzlik, 1991)를 고려해 볼 때 bromobenzene 3,4-oxide가 CYP과 결합하여 이를 불활성화 시켰기 때문에 나타난 결과로 생각된다. 특히 night phase군에 있어서 대조군의 CYP 함량이 day phase군 보다 약 45% 증가된 것으로 보아 bromobenzene으로부터 bromobenzene 3,4-oxide 생성율은 day phase군 보다 night phase군이 높게 나타남을 시사해 주고 있다.

Radzialowski와 Bouquet (1968)는 흰쥐에 있어서 야간에 혈중 cortisone 함량이 주간에 비하여 현저히 감소되며 이때 aminopyrine N-demethylase, 4-dimethyl-aminoazobenzene reductase, p-nitroanisole 대사효소 등과 같은 약물대사효소의 활성이 야간에서 현저히 증가된다고 하였다. 이같은 보고와 본 실험결과를 비교 관찰해 볼 때 야간에 간 조직의 microsomal CYP 함량이 주간보다 높게 나타난 것은 야간에 감소된 cortisone으로 인하여 cortisone에 의한 CYP함량 억제 작용이 감소하므로써 나타난 결과로 생각된다. 이를 검토하기 위하여 부신피질 호르몬인 prednisolone을 흰쥐에 직접 투여한 결과 역시 CYP 함량이 현저히 감소됨을 확인 함으로서 이를 뒷받침 할 수 있었다.

이상 실험결과와 문헌상의 지견을 종합해 볼 때 bromobenzene으로 부터 bromobenzene 3,4-oxide 생성율이 주간보다 야간에 높게 나타날 것으로 생각되며 이는 cortisone의 영향에 기인되어 나타날 것으로 결과로 생각된다. 일반적으로 xenobiotics에 의한 중독현상은 free radical 생성계와 해독계 사이의 불균형에 의해 야기되는 것(Chow와 Tappel, 1974; Leibovitz와 Siegel,

1980)으로 알려져 있다.

그러므로 bromobenzene에 의한 간 손상은 free radical의 생성체인 CYP 함량 변동과 해독계에 관여하는 GSH 함량과 GST 활성 변동 차이에 기인될 것으로 생각된다. 본 실험에서 야간의 CYP 함량이 주간보다 높게 유지되고 있는 것으로 보아 bromobenzene 투여시 bromobenzene-3,4-oxide의 생성율이 night phase군에서 day phase군보다 높게 나타날 것으로 사료 되며, 이로 인하여 포합인자인 GSH의 함량 감소율은 night phase군에서 더 크게 나타날 것으로 생각되나 본 실험의 결과에서는 오히려 day phase 군에서 높게 나타났다. 그리고 GST 활성은 두 군에 통계학적인 차이를 볼 수 없었다. 따라서 night phase 군에서 day phase군 보다 bromobenzene 3,4-oxide free radical 생성율이 증가되었을 것으로 사료되나, 간 조직 중 GSH 이용율이 night phase와 day phase에 있어서 어떠한 차이에 기인되어 나타난 것인지는 본 실험의 결과만으로는 유추하기가 어려우므로 추후 계속적인 연구검토가 필요할 것으로 생각된다.

그리고 본 실험 조건에서 체중당 간 무게, 간조직 중 과산화지질 함량 및 혈청 ALT 활성이 day phase 군 보다 night phase 군이 높게 나타남과 동시에 병리조직검사 소견을 감안해 볼 때 night phase 군이 day phase 군 보다 간손상이 심하게 나타남을 알 수 있으며 이는 bromobenzene 투여로 인한 bromobenzene 3, 4-oxide 생성율이 night phase 군에서 day phase 군 보다 높게 나타나기 때문인 것으로 생각된다.

이상 실험성적을 종합해 볼 때 흰쥐에 있어서 bromobenzene에 의한 간 손상이 주간보다 야간에서 심하게 나타남은 야간에서 주간보다 bromobenzene으로부터 bromobenzene 3,4-oxide 생성율이 증가됨과 동시에 간 조직 중 GSH 이용율이 낮게 나타나기 때문인 것으로 생각된다.

## V. 결 론

주·야(day, night phase) 시차가 bromobenzene 대사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐에 bromobenzene을 체중 kg당 400 mg(i.p.)씩 낮 12시, 밤 12시에 각각 투여한 다음 8시간 후 처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Night phase 군의 간세포 microsomal CYP 함량이 day phase 군 보다 약 45%( $P<0.05$ )의 유의한 증가를 보였으나, bromobenzene 투여 시에는 두군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다. 또한 prednisolone 투여 시에 간조직

중 CYP 함량이 약 47%( $p<0.01$ ) 유의하게 억제되었다.

Bromobenzene 투여로 인한 간 조직 중 glutathione 감소율은 night phase군이 day phase군 보다 감소되었으며, 이의 포합효소인 glutathione S-transferase 활성도는 night phase 군이 day phase군 보다 대조군 및 bromobenzene 투여군 모두 다소 증가되는 경향을 보였으나 통계학적인 의의는 없었다. 체중당 간 무게 및 간 조직 중 과산화지질 함량은 대조군 및 bromobenzene 투여군 모두 night phase군이 day phase군 보다 높게 나타났으며, bromobenzene 투여로 인한 alanine aminotransferase 활성도 증가율 역시 night phase군이 day phase군 보다 현저히 높았다.

이상 실험 결과를 종합해 볼 때 주·야 구분하여 bromobenzene 투여시 야간에 있어서 주간 보다 bromobenzene에 의한 간 손상이 심하게 나타나며, 이는 야간에서 bromobenzene으로부터 bromobenzene 3,4-oxide 생성율이 주간보다 높게 나타나기 때문인 것으로 생각된다.

## 참고문헌

- 윤종국 (1980): 사염화탄소를 투여한 흰쥐에서의 간장 및 혈청 xanthine oxidase 활성의 변동. 과학논집(계명대학교 생활과학연구소), **6**, 75-82
- Bélanger, P. M., Lalande, M., Labrecque, G. and Dor, F. (1985): Diurnal variations in the transferase and hydrolases involved in glucuronide and sulfate conjugation of rat liver. *Drug Metabol. Dispos.*, **13**, 386-389.
- Bloom, W. and Fawcett, D. W. (1975): A Textbook of Histology, (10th ed.) Philadelphia - W. B. Saunders.
- Browning, E. (1955): Toxicology and Metabolism of Industrial Solvents. Elsevier Amsterdam.
- Boyland, E. and Chasseud, L. F. (1969): The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *Advances in Enzyme Regulation*, **32**, 173-219.
- Brodie, B. B., Reid, W. D., Cho, A. K., Sipes, G., Krishna, G. and Gillette, J. R. (1971): Possible mechanism of liver necrosis caused by aromatic organic compounds. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **68**, 160-164.
- Chow, C. K. and Tappel, A. L. (1974): Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *Journal of Nutrition*, **104**, 444-451.
- Critchlow, V., Liebelt, R. A., Bar-Sela, M., Mountcastle, W. and Lipscomb, H. S. (1963): Sex difference in resting pituitary-adrenal function in the rat. *American Journal of Physiology*, **205**, 807-815.

- Davis, W. M. (1962): Day-night periodicity in phenobarbital response of mice and influence of sociopsychological conditions. *Experientia (Basel)*, **18**, 235-237.
- Ellman, G. L. (1959): Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **82**, 70-77.
- Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. (1974): Glutathione S-transferase, The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**, 7130-7139.
- Halberg, F., Haus, E. and Stephens, A. (1959): Susceptibility to ouabain and physiological 24-hour periodicity. *Federal Process*, **18**, 63.
- Karmen, A. (1955): A note on the spectrophotometer assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. *Journal of Clinical Investigation*, **34**, 131-133.
- Kato, R. and Gillette, J. R. (1965): Effect of starvation on NADPH-dependent enzymes in liver microsomes of male and female rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **150**, 279-284.
- Lee, S. I., Yoon, C. G. and Huh, K. (1990): Protective effect of diallyl disulfide on the bromobenzene-induced hepatotoxicity in mice. *Korean Journal of Pharmacology*, **26**, 185-192.
- Leiborvitz, B. E. and Siegel, B. V. (1980): Aspects of free radical reaction in biological system. *Journal of Gerontology*, **35**, 45-56.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. L. (1951): Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265-275.
- Lutsch, E. F. and Morris, R. W. (1967): Circadian periodicity in susceptibility to lidocaine hydrochloride. *Science*, **156**, 100-102.
- Marte, E. and F. Halberg. (1961): Circadian susceptibility rhythm of mice to librium. *Federal Process*, **20**, 305.
- Martin, J. P., Dailey, M. and Sugarman, E. (1987): Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **255**(2), 329-336.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. (1979): Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, **95**, 351-355.
- Omura, T. and Sato, R. (1964): The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes-Evidence for its hemoprotein nature. *Journal of Biological Chemistry*, **239**, 2370-2378.
- Paglia, E. D. and Valentine, W. N. (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **70**, 158-169.
- Radzialowski, F. M. and Bousquet, W. F. (1968): Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in the rat and mouse. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **163**, 229-38.
- Reinberg, A. and Smolensky, M. H. (1983): *Biological Rhythms and Medicine*. New York-Springer.
- Reitman, S. and Frankel, S. (1957): A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *American Journal of Clinical Pathology*, **28**, 50-63.
- Ried, W. D., Christie, B., Krishna, G., Mitchell, J. R., Moskowitz, J. and Brodie, B. B. (1971): Bromobenzene metabolism and hepatic necrosis. *Pharmacology*, **6**, 41-55.
- Scheffler, W. C. (1980): *Statistics for the Biological Sciences*. USA, Addison-Wesley Publishing Company.
- Thor, H., Moldeus, P. and Orrenius, S. (1979): Metabolic activation and hepatotoxicity. Effect of cysteine, N-acetylcysteine and methionine on glutathione biosynthesis and bromobenzene toxicity in isolated rat hepatocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **192**, 405-413.
- Zheng, J. and Hanzlik, R. P. (1991): Premercapturic acid metabolites of bromobenzene derived via its 2,3- and 3,4-oxide metabolites. *Xenobiotica*, **21**(4), 535-546.