

## Bromobenzene으로 유도된 간 손상 마우스에 대한 Microcluster수의 효과

박범호<sup>1</sup> · 백경연<sup>1</sup> · 이상일<sup>2</sup> · 김순동<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>대구가톨릭대학교 식품산업학부 식품공학전공

<sup>2</sup>계명문화대학 식품영양조리과

### Detoxification Effect of Microcluster-Water on Bromobenzene-Induced Liver Damaged Mice

Bum-Ho Park<sup>1</sup>, Kyung-Yern Back<sup>1</sup>, Sang-Il Lee<sup>2</sup> and Soon-Dong Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food Science and Technology, Food Industrial Technology,  
Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Nutrition and Culinary, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

#### Abstract

This study was conducted to investigate the hepatic detoxification effect of microcluster-water (McW). Animal experiments were divided into 4 groups: distilled water intake group (DC), distilled water intake-bromobenzene treated group (DB), McW intake group (MC), and McW intake-bromobenzene treated group (MB). There were no significant differences in alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activities between DC and MC groups, but the activities in MB group were significantly ( $p < 0.05$ ) lower than those in DB group. No apparent changes of aniline hydrolase activity were shown in all experimental groups, while glutathione S-transferase activity in MC and MB groups was higher than that in DC and DB, respectively. The content of hepatic lipid peroxide in DC group was similar to that of MC group. In addition, the contents in DB and MB groups were significantly ( $p < 0.05$ ) increased than that of DC group. The increasing rate in MB group was lower than that of DB group. Also, the electron donating activity of McW was significantly ( $p < 0.05$ ) higher than that of distilled water. From these results, it could be suggested that McW has the possibility of having detoxification effect of bromobenzene induced hepatic injury by increasing glutathione S-transferase, which is known as a kind of hepatic detoxification enzyme.

**Key words:** microcluster water, bromobenzene, liver, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, glutathione S transferase

#### 서 론

물은 생명체에 가장 많이 존재하는 물질로서 인체는 약 60%가 수분으로 구성되어 있으며, 영양소와 노폐물의 수송, 대사, 효소반응 등 필수적인 역할을 담당한다. 사람이 하루에 섭취하는 물의 양은 약 2.5 L 정도로 물이 체내를 순환하면서 세포의 형태를 유지하고, 물질의 대사에 있어서 용매로 작용하며 혈액과 조직액의 순환을 원활하게 해준다(1). 지구에 분포하는 물의 총량은  $1,459 \times 10^6 \text{ km}^3$  정도라 추정되나 음용수로 가능한 물은 약 1% 정도(2)에 불과하여 인구증가와 경제발전으로 인하여 늘어나고 있는 새로운 수요를 충족하기 위해서는 끊임없는 음용수 자원의 개발이 요구되고 있다. 그러나 산업 발달에 따른 수자원의 환경오염으로 인하여 이용 가능한 수자원은 부족한 상태에 있는 실정이다. 최근 안전한 음용수의 개발과 관련하여 이온수, 여과수, 오존수,

원적외선 처리수 등 다양한 방법에 의해 제조된 음용수(3-5)가 시판되고 있으며, electrolyzed hydrogen-saturated water가 항산화작용을 나타낸다는 보고(6)도 있다. 그 중에서도 원적외선 처리수는 물 분자의 파장대인 10  $\mu\text{m}$  전후의 원적외선을 조사하여 물 속에 함유되어 있는 용존산소를 활성화시켜, 부패 관련 박테리아를 사멸시킴으로써 식품의 신선도를 유지·연장시킬 수 있도록 만들어진 물로서 일반 음용수에 비하여 물분자의 결합수가 적은 것으로 알려져 있다(5).

물은 수소 두 분자와 산소 한 분자가 쌍극자를 이루므로써 단일분자로 존재하기 어렵기 때문에 다수의 물분자가 수소결합의 형태로 존재하며, 물분자의 쌍극자가 가지는 인력에 의하여 최소 5분자 이상의 집단(cluster)을 형성한다. 수돗물이나 지하수는 물분자가 10~13개로 된 cluster로 이루어져 있으며 청량음료는 278개의 물분자가 결합된 거대 cluster를 형성하고 있는 것으로 알려져 있다(7).

\*Corresponding author. E mail: kimsd@cu.ac.kr  
Phone: 82 53 850 3216, Fax: 82 53 850 3216

Cluster를 구성하는 물의 분자수는 직접적인 방법으로는 측정하기 어렵고  $^{17}\text{O}$ -NMR에 의하여 간접적으로 분석하고 있는데 대개 측정된 Hz의 1/10에 해당하며 빗물, 증류수, 샘물은 10~14개의 물분자가, 세라믹 및 백반석 처리수는 8~9개의 물분자가 결합되어 있다(8). 또한 cluster의 크기에 따라 물맛에 차이가 있는 것으로 알려져 있으며(7), 저분자 cluster수의 섭취로 혈당치가 감소하며, 환자의 회복속도가 빠르다는 연구보고가 있다(7).

일반적으로 생체내로 섭취된 이물질(xenobiotics)은 microsome에 존재하는 mixed function oxidase로 알려져 있는 phase I 대사효소인 cytochrome P450에 의해 산화된 다음 UDP-glucuronyltransferase, sulfotransferase 및 glutathione S-transferase 등과 같은 포합효소인 phase II 대사효소에 의해 무독화되어 체외로 배설된다(9).

한편, 산업용 유기용제로 많이 이용되고 있는 bromobenzene은 xenobiotics의 일종으로 간 조직 세포의 microsome에 존재하는 cytochrome P450에 의해 1차 대사되어 bromobenzene 3,4-oxide로 전환된 다음 glutathione S-transferase에 의해 glutathione과 포합되어 무독화된다(10-12)고 알려져 있으며, 일부는 epoxide hydrolase에 의해 무독화되는 것으로 보고(12)되고 있다. 한편, bromobenzene의 중간 대사산물인 bromobenzene 3,4-oxide는 electrophilic compound(12)로 신속하게 무독화되지 않으면 생체내의 nucleophilic compounds로 알려져 있는 DNA, RNA, 단백질 및 지질 등과 같은 물질과 결합(13-15)하여 조직의 손상을 유발시키는 것으로 잘 알려져 있다(16-20).

본 실험에서는 microcluster수의 생리학적인 기능을 구명하는 일환으로 간 해독 기전에 microcluster수가 어떠한 영향을 미치는지 검토할 목적으로 실험동물에 일정기간 증류수 대신 microcluster수를 섭취케 한 다음 간 독소로 알려져 있는 bromobenzene을 투여하여 cytochrome P450의 일종인 aniline hydroxylase와 해독효소인 glutathione S-transferase 활성 및 glutathione과 과산화지질의 함량 변동과 혈청 aminotransferase의 활성변동을 관찰함으로써 새로운 기능성식품의 개발에 대한 기초 자료를 제시코자 한다.

## 재료 및 방법

### Microcluster수 및 증류수의 제조

Microcluster-water(McW)는 특정장치(특허출원: 10-2005-0107296)를 이용하여 제조하였다. 즉, 증류한 수증기를 물의 초임계 온도(374°C)에서 가온하면서 원적외선 영역의 에너지를 처리한 후 냉각, 응축시켜 제조하였다. 일반증류수(DW)는 증류수 제조장치(C-DISI, Changshin, Daegu, Korea)를 이용하여 제조하였다.

### $^{17}\text{O}$ -NMR 분석

수질분석은  $^{17}\text{O}$ -NMR[500 MHz FT-NMR spectro-

tometer(Unity Inova, Varian, Palo Atto, USA)]로 분석하였으며, 물분자의 결합수는 측정된 Hz의 1/10 값으로 환산하였다(6).  $^{17}\text{O}$ -NMR 분석결과 본 실험에 사용한 McW의 half width는  $55.2 \pm 1.3$  Hz로  $(\text{H}_2\text{O})_{5-6}$ 의 pentamer 또는 hexamer로 된 water로 확인되었으며, 일반증류수는  $118.9 \pm 1.3$  Hz 즉,  $(\text{H}_2\text{O})_{11-12}$ 로 endecamer 또는 dodecamer임이 확인되었다(6).

### 실험동물 사육

(주)오리엔트로부터 구입한 120 g 내외의 수컷 ICR mouse를 1주일간 실험동물 사료로 적응시킨 다음 DC, DB, MC 및 MB 4군(6마리/군)으로 분류하여 기본식이(Table 1)로 3주 동안 사육하면서 DC군 및 DB군은 증류수를, MC 및 MB군은 McW를 섭취케 하였다. 간손상군인 DB군과 MB군은 Zampaglione 등(21)의 방법에 준해 olive oil에 용해시킨 bromobenzene(BB)을 460 mg/kg의 농도로 피하에 2회(회생하기 24시간 전과 4시간 전) 주사하였으며, 대조군인 DC군과 MC군은 BB 대신에 동일량의 olive oil을 주사하였다.

### 혈청의 분리와 간 post-mitochondrial fraction의 제조

실험동물을 ether 마취 하에서 복부 정중선을 따라 개복한 후 하대정맥으로부터 혈액을 채취하고, 빙냉의 생리식염수로 간장을 관류한 다음 장기를 적출하였다. 적출한 간장은 여과지로 가능한 한 물기를 제거하여 중량을 측정한 다음 간 조직 1 g당 4배량의 0.25 M sucrose를 가하여 Polytron Homogenizer(PT-1200C, Kinematica AG, Littau, Switzerland)로 균질화 하였다. 마쇄균질액을  $10,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리하여 postmitochondrial 획분(Fig. 1)을 얻었으며, glutathione S-transferase(GST) 및 aniline hydrolase(AH)

**Table 1. Compositions of basic diets** (g/kg diet)

Ingredients	Compositions
Casein	200
Corn starch	150
Sucrose	500
Cellulose	50
Corn oil	50
AIN mineral mix. <sup>1)</sup>	35
AIN vitamin mix. <sup>2)</sup>	10
DL methionine	3
Choline bitartrate	2
Total	1,000

<sup>1)</sup>AIN mineral mixture (g/kg): calcium lactate 620.0, sodium chloride 74.0, potassium phosphate di basic 220.0, potassium sulfate 52.0, magnesium oxide 23.0, manganous carbonate 3.3, ferric citrate 6.0, zinc carbonate 1.0, cupric carbonate 0.2, potassium iodate 0.01, sodium selenite 0.01, chromium potassium sulfate 0.5, finely powdered to make 1,000 g.

<sup>2)</sup>AIN vitamin mixture (mg/kg): thiamin HCl 600, riboflavin  $\pm$ 600, pyridoxine HCl 700, nicotinic acid 3,000, D calcium pantothenate 1,600, folic acid 200, D biotin 20, vitamin B12 2.5, vitamin A 400,000 IU, vitamin D3 100,000 IU, vitamin E 7,500 IU, vitamin K 75, finely powdered to make 1,000 g.

**Table 2. Effect of microcluster-water on the weight gain, feed intake, water intake and FER in bromobenzene induced liver injured mice fed for 3 weeks**

Groups <sup>1)</sup>	Final body weight (g)	Weight gain (g/week)	Feed intake (g/week)	Water intake (mL/week)	FER <sup>2)</sup>
DC	37.67±3.33 <sup>3)NS4)</sup>	4.37±1.10 <sup>NS</sup>	29.05±1.75 <sup>NS</sup>	49.9±2.47 <sup>5)</sup>	0.15±0.03 <sup>NS</sup>
DB	35.77±2.23	5.13±1.14	30.92±2.47	36.9±2.19 <sup>f</sup>	0.17±0.05
MC	37.17±2.14	5.20±0.68	29.80±2.09	47.8±2.87 <sup>a</sup>	0.17±0.04
MB	36.93±1.68	4.95±0.70	30.43±1.52	42.0±2.10 <sup>b</sup>	0.16±0.04

<sup>1)</sup>DC: distilled water intakes, DB: bromobenzene injection after distilled water intakes, MC: microcluster water (McW) intakes, MB: bromobenzene injection after McW intakes.

<sup>2)</sup>FER (food efficiency ratio): weight gain/feed intake.

<sup>3)</sup>Values are mean±SD of 6 mice.

<sup>4)</sup>NS: not significant.

<sup>5)</sup>Different superscripts within a column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

의 활성 측정용 시료로 사용하였다.

채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 다음 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 얻고 alanine aminotransferase(ALT) 및 aspartate aminotransferase(AST)의 활성 측정용 시료로 사용하였다.

#### Hepatic AH 및 GST 활성도 측정

간 조직 AH의 활성은 기질인 aniline이 효소에 의해 *p*-aminophenol로 산화되는 정도를 비색 정량하는 Bidlack과 Lowery(22)의 방법에 따라 행하였으며, GST의 활성은 효소에 의해 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 reduced glutathione(GSH)이 반응하여 생성되는 thioether의 함량을 측정하는 Habig 등(23)의 방법에 따라 측정하였다. 단백질 함량은 Lowry 등(24)의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

#### 간 조직 GSH 및 과산화지질의 함량과 혈청 ALT 및 AST 활성 측정

간 조직 GSH의 함량은 Ellman(25)의 방법에 준해 간 조직 마쇄액을 제단백한 다음 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)를 가해 발색되는 비단백 sulfhydryl group의 함량을 측정하였으며, 과산화지질(lipid peroxide, LPO) 함량은 Ohkawa 등(26)의 방법에 준해 간 조직 마쇄액을 산성 pH 하에서 thiobarbituric acid(TBA)를 가해 정색되는 TBA반응성물질을 측정하였다. 그리고 혈청 ALT 및 AST의 활성은 시중에서 구입한 kit 시약(Asan Pharm Co., Korea)을 사용하여 측정하였다.

#### 전자공여능 및 SOD 활성도 측정

전자공여능은 Blois(27)의 방법에 따라 McW와 DW를 각각 2 mL씩을 취한 다음 여기에  $4 \times 10^{-4}$  M 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) 0.8 mL 가하여 10초간 진탕하고, 상온에서 10분간 방치한 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성도는 Martin(28)의 방법에 따라 McW와 DW가 각각 hematoxylin의 산화를 억제하는 정도를 560 nm에서 측정하여 hematoxylin의 산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 나타내었다.

#### 통계처리

모든 실험결과는 실험동물 6마리의 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, Version 13.0 SPSS Inc, Chicago, IL, USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test 및 t-test를 행하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 증체량, 식이섭취량, 식이효율과 물 섭취량

실험기간 동안 증체량, 식이섭취량, 식이효율과 물 섭취량을 관찰한 성적이 Table 2이다. 증체량, 식이섭취량, 식이효율은 실험군 간의 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 물 섭취량은 모든 실험군간에 유의한 차이가 없었다.

##### 간 중량

실험 종료 4시간 전에 BB를 복강 내로 투여한 다음 체중당 간 중량의 변동을 관찰한 성적이 Table 3이다. 체중당 간 무게는 DC군과 MC군 사이에는 별다른 변동이 없었고, BB를 투여한 DB군과 MB군 모두에서는 DC군에 비해 증가하였으나 그 증가율은 DB군에서 현저하였다.

##### 혈청 ALT 및 AST의 활성

실험 종료 4시간 및 24시간 전에 BB를 복강 내로 투여한 다음 간 조직 손상의 parameter로 알려져 있는 혈청 ALT 및 AST의 활성 변동을 관찰한 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

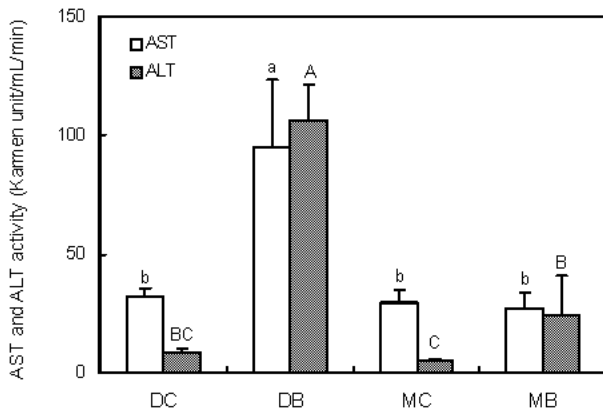
**Table 3. Effect of microcluster-water on the liver weight per body weight in bromobenzene induced liver injured mice fed for 3 weeks**

Groups <sup>1)</sup>	Liver weight (g)	Liver weight/body weight (%)
DC	1.56±0.18 <sup>2)NS3)</sup>	4.14±0.31 <sup>NS</sup>
DB	1.98±0.23	5.54±0.83
MC	1.59±0.17	4.32±0.43
MB	1.69±0.09	4.61±0.31

<sup>1)</sup>Abbreviations: See Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean±SD of 6 mice.

<sup>3)</sup>NS: not significant.



**Fig. 1. Effect of microcluster-water on activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) of the bromobenzene-induced liver injured mice fed for 3 weeks.**

Abbreviation: See Tale 1.

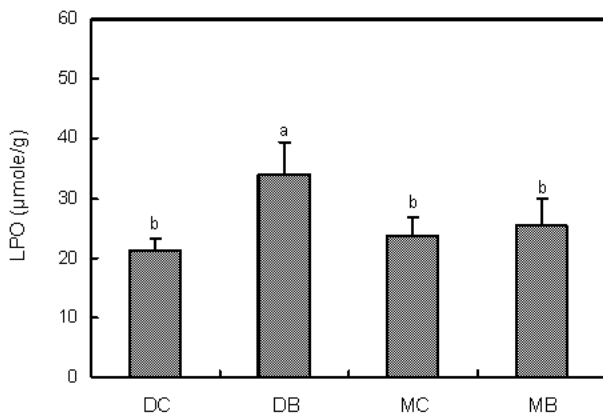
Values are mean $\pm$ SD of 6 mice.

Different superscripts on the same bar indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

정상 대조군인 DC군과 McW 대조군인 MC군에서는 정상 혈청 aminotransferase 활성을 나타내고 있어, McW의 투여에 의해 간 손상은 나타나지 않는 것으로 생각된다. 이러한 상태에서 BB를 투여하였을 때, 증류수를 투여한 DB군의 ALT 및 AST의 활성은 DC군에 비해 현저하게 증가하였다. McW 섭취군에서 간독소인 BB투여에 의해 증류수 섭취군 (DC 및 DB군)에 비해 간 중량과 aminotransferase의 활성 증가율이 낮게 나타나는 것으로 보아 간 조직 손상이 경미하거나 간 조직 손상이 예방된 것으로 생각된다.

#### 간 조직 과산화지질 함량

실험 종료 전에 BB를 복강 내로 투여한 다음 간 조직 LPO



**Fig. 2. Effect of microcluster-water on lipid peroxide (LPO) content in hepatic tissue of the bromobenzene-induced liver injured mice fed for 3 weeks.**

Abbreviation: See Tale 1.

Values are mean $\pm$ SD of 6 mice.

Different superscripts on the bar indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

의 함량 변동을 관찰한 결과는 Fig. 2와 같다. DC 및 MC군의 간에는 LPO 함량이 별다른 변동을 보이지 않았으나, BB의 투여에 의해 DB군은 정상대조군인 DC군에 비해 유의하게 증가하였으며, McW를 투여한 MB군은 DB군에 비해 감소하는 경향을 보였다.

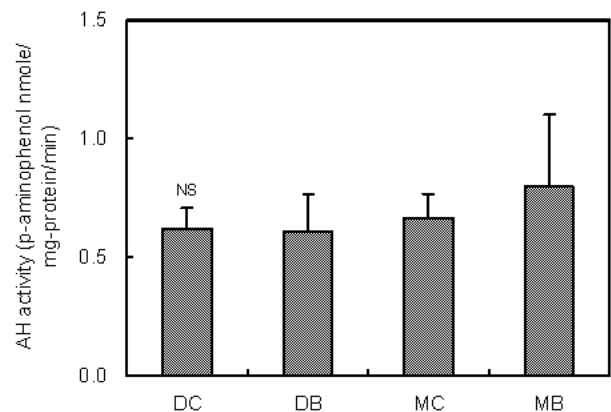
이러한 결과는 BB의 투여에 의해 조직의 GSH가 결핍되어 LPO 함량이 증가한다는 보고(29,30)와 LPO는 생체막 손상의 지표물질(31,26)이라는 사실 및 McW 섭취군에서 BB의 투여에 의한 혈청 ALT의 활성이 증류수 섭취군에 비해 감소한 결과와 정도의 차이는 있으나 일치하는 것으로 McW의 섭취로 간 조직의 손상이 예방될 수 있음을 암시하고 있다.

#### 간 조직 AH 활성

AH는 xenobiotics의 phase I 대사효소인 microsomes의 cytochrome P450(CYP)의 일종이며, CYP2E1의 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(32-34). 따라서 본 실험에서도 동물실험 종료 4시간 전에 BB를 복강 내로 투여한 다음 간 조직 AH의 활성 변동을 관찰하였다(Fig. 3). 그 결과, AH의 활성은 McW 및 BB 투여군 사이에 유의한 변동은 없었으나, DB군에 비해 MB군에서 약간 증가하는 경향을 나타내었다. BB의 투여에 의해서 AH의 활성이 증가된다는 보고(35)와 본 실험결과가 일치하지 않은 것은 BB의 투여 횟수, 투여량 및 투여 후 처치한 시간의 차이에 기인되어 나타난 것으로 생각된다.

#### 간 조직 GST 활성

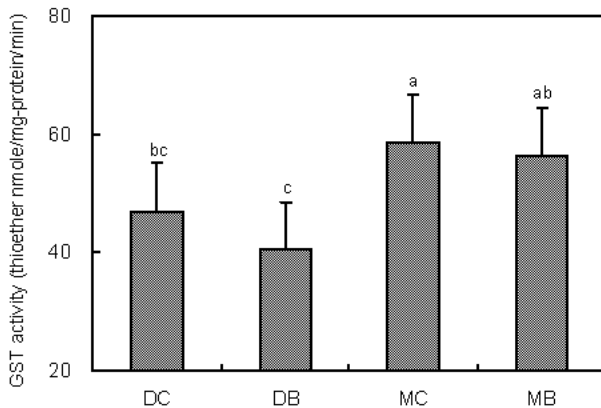
실험 종료 4시간 전에 BB를 복강 내로 투여한 다음 간 조직 GST의 활성 변동을 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 증류수를 투여한 DC에 비해 McW를 투여한 MC군에서는 GST의 활성이 유의하게 증가하였다. 그리고 BB를 투여하였을 때, DC군에 비해 DB군에서는 GST의 활성이 감소하는 경향



**Fig. 3. Effect of microcluster-water on aniline hydroxylase (AH) activity of the bromobenzene-induced liver injured mice fed for 3 weeks.**

Abbreviations: See Tale 1.

Values are mean $\pm$ SD of 6 mice. NS: not significant.

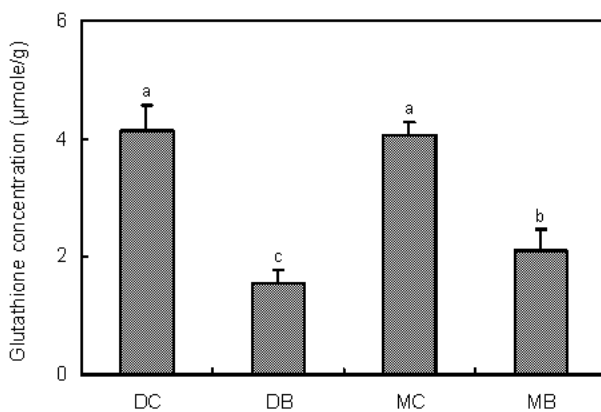


**Fig. 4. Effect of microcluster-water on glutathione S-transferase (GST) activity in hepatic tissue of the bromobenzene-induced liver injured mice fed for 3 weeks.**

Abbreviation: See Table 1.

Values are mean  $\pm$  SD of 6 mice.

Different superscripts on the bar indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.



**Fig. 5. Effect of microcluster-water on glutathione concentration in hepatic tissue of the bromobenzene-induced liver injured mice fed for 3 weeks.**

Abbreviation: See Table 1.

Values are mean  $\pm$  SD of 6 mice.

Different superscripts on the bar indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

을 보였으나, McW를 섭취케 한 MB군에서는 MC군과의 사이에 유의한 변동은 없었으며 또한 증류수를 섭취케 한 DB군에 비해 간 GST의 활성이 유의하게 높게 나타났다.

GST는 포합효소의 일종으로서 electrophilic compounds를 glutathione과 포합시켜 무독화시키는데 관여하는 효소(36,10-12)로 GST 자체가 GSH를 이용하지 않고도 electrophilic compound와 직접 결합한다는 보고(37,23,15)도 있다. 이러한 점들을 고려해 볼 때, McW의 섭취에 의해 GST의 활성이 증가됨으로써 BB의 중간대사산물에 의한 독성이 경감되는 것으로 추측된다.

#### 간 조직 GSH 함량과 전자공여능 및 SOD 활성

BB를 복강 내로 투여한 다음 간 조직 GSH의 함량 변동을

**Table 4. Effect of microcluster-water on the electron donating activity**

Groups	Electron donation activity (%)	SOD (unit)
DW <sup>1)</sup>	3.61 $\pm$ 0.86 <sup>3)4)</sup>	72.64 $\pm$ 0.96 <sup>NS5)</sup>
McW <sup>2)</sup>	11.87 $\pm$ 5.56 <sup>a</sup>	73.65 $\pm$ 0.29

<sup>1)</sup>DW: distilled water. <sup>2)</sup>McW: microcluster water.

<sup>3)</sup>Values are mean  $\pm$  SD of triplicate determinations.

<sup>4)</sup>Different superscripts within a column indicate significant difference ( $p < 0.05$ ) by Duncan's multiple range test.

<sup>5)</sup>NS: not significant.

관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. 간 조직 GSH의 함량은 DC군과 McW를 섭취케 한 MC군 사이에는 별다른 변동이 없었으나, 각 대조군에 비해 BB를 투여함으로써 DB군에서는 60%, MB군에서는 약 40% 정도 감소하였으며, 감소의 정도는 MB군에 비해 증류수를 투여한 DB군에서 유의하게 나타났다.

BB의 간독성은 1차 대사산물인 BB 3,4-oxide와 같은 electrophilic compounds에 의해 조직의 nucleophilic compound인 GSH가 고갈되어 나타나는 것으로 알려져 있다(38). 본 실험에서 BB의 투여에 의해 간 조직 GSH의 함량이 감소한 것은 BB의 독성 중간 대사산물에 의해 야기된 것으로 생각된다. 한편, 증류수를 투여한 다음 BB를 투여한 DB군에 비해 McW를 투여한 실험군인 MB에서 BB에 의한 GSH의 감소현상이 개선되는 것은 McW의 지속적인 섭취로 증가된 GST의 활성과 관련이 있을 것으로 사료된다.

그리고 GST의 포합반응에 필수적으로 요구되는 GSH의 함량이 McW의 투여(MC)에 의해서도 증류수를 투여한 DC군과 유의한 변동이 없었으나, BB의 투여에 의해 DB군에 비해 MB군에서 높게 유지된 것은 Table 4에서 보듯이와 같이 McW가 SOD의 유사활성은 미약하지만 전자공여능이 일반증류수에 비하여 유의적으로 높게 나타나고 있어 McW의 항산화작용에 의해 나타난 결과로 생각된다.

이상의 모든 실험결과와 문헌상의 지견을 종합해 볼 때, McW는 간 해독효소인 GST의 활성증가와 미약하나마 지속적인 섭취로 인한 항산화 작용에 의하여 BB의 독성 중간 대사산물의 무독화를 촉진시킴으로써 간 조직 손상을 예방해 주는 것으로 생각된다.

#### 요 약

McW의 간 해독효과를 조사하였다. 실험군은 총 4개군 즉, 증류수급여군으로 대조군(DC)과 증류수를 3주간 섭취케 한 후 희생직전에 BB를 처리한 군(DB), McW 급여군으로는 McW 대조군(MC)과 McW를 3주간 섭취케 한 후 희생직전에 BB를 처리한 군(MB)의 4개 군으로 구분하였다. DC군과 MC군의 혈청 ALT 및 AST 활성은 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나 MB군에서는 DB군에 비하여 유의하게 낮았다. 간 AH 활성은 모든 실험군에서 유의한 변동이 없었으나 GST 활성은 MC군이 DC군에 비하여, MB군이 DB군에 비

하여 각각 높았다. 간 조직의 LPO 함량은 DC 및 MC군이 유사하였으며, DB 및 MB군 모두 DC군보다 유의하게 증가하였으나 그 증가율은 MB군이 DB군에 비하여 낮았다. McW의 전자공여능은 DW에 비하여 유의하게 높았다. 이상의 결과 McW는 간 해독효소의 일종인 GST의 활성을 증가 시킴과 동시에 McW의 지속적인 섭취에 의한 항산화 작용에 의해 해독작용을 나타내는 것으로 생각되나 추후 계속적인 연구검토가 행해져야할 것이다.

### 감사의 글

본 연구는 대구가톨릭대학교 해양바이오연구센터의 지원에 의한 연구결과이며, 이에 감사드립니다.

### 문헌

- Hwang SY. 2004. A study on the mineral water in Europe partial area. *Kor J Sanitation* 19: 76 81.
- Kang SW. 1985. The water status in cell. Proceedings of The Botanical Soc. of Korea Conference, Workshop and Symposium on Plant and Water. The Botanical Society of Korea. p 51 57.
- Kim TW. 1989. *Mystery of Water*. Hongikdang, Seoul. p 87 88.
- Kwon SP. 1989. *Water*. Doserchulphan Gonbubang, Seoul. p 85 95.
- Paek UH, Jeong ED, Yun CK. 2000. The characteristics of water quality of tap water and far infrared rays mineral water. *J Korean Envir Sci Soc* 9: 423 428.
- Yanagihara T, Arai K, Miyamae K, Sato B, Shudo T, Yamada M, Aoyama M. 2005. Electrolyzed hydrogen saturated water for drinking use elicits an antioxidative effect: a feeding test with rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 1985 1987.
- 松下和弘. 1990.  $^{17}\text{O}$  NMR 分光法による水の状態評価. 月刊フドケミカル 4: 42 46.
- Mun SS. 2002. The new evaluation basis of potable water. *J Korean Soc Gisulsa* 35: 24 28.
- Hodgson E. 1987. Metabolism of toxicants. In *A Textbook of Modern Toxicology*. Hodgson E, Levi PE, eds. Elsevier Science Publishing Co., New York. p 51 84.
- Monks TJ, Lau SS, Gillette JR. 1984. Diffusion of reactive metabolites out of hepatocytes: Studies with bromobenzene. *J Pharmacol Exp Ther* 228: 393 399.
- Lee SI, Yoon CG, Huh K. 1990. Protective effect of diallyl disulfide on the bromobenzene induced hepatotoxicity in mice. *Kor J Pharmacol* 26: 185 192.
- Heijne WHM, Slitt AL, van Bladeren PJ, Groten JP, Klaassen CD, Stierum RH, van Ommen B. 2004. Bromobenzene induced hepatotoxicity at the transcriptome level. *Toxicol Sci* 79: 411 422.
- Colacci A, Arfellini G, Mazzullo M, Prodi G, Grilli S. 1986. The covalent binding of bromobenzene with nucleic acids. *Toxicol Pathol* 13: 276 282.
- Bambal RB, Hanzlik RP. 1995. Bromobenzene 3,4 oxide alkylates histidine and lysine side chains of rat liver proteins *in vivo*. *Chem Res Toxicol* 8: 729 735.
- Koen YM, Williams TD, Hanzlik RP. 2000. Identification of three protein targets for reactive metabolites of bromobenzene in rat liver cytosol. *Chem Res Toxicol* 13: 1326 1335.
- Reid WD, Christie B, Krishna G, Mitchell JR, Moskowitz J, Brodie BB. 1971. Bromobenzene metabolism and hepatic necrosis. *Pharmacology* 6: 41 55.
- Brodie BB, Reid WD, Cho AK, Sipes G, Krishna G, Gillette JR. 1971. Possible mechanism of liver necrosis caused by aromatic organic compounds. *Proc Natl Acad Sci USA* 68: 160 164.
- Zannoni VG, Marker EK, Lau SS. 1982. Hepatic bromobenzene epoxidation and binding: prevention by ascorbyl palmitate. *Drug Nutr Interact* 1: 193 204.
- Ricao AG, Burgat Sacaze V. 1984. Toxicological significance of covalently bound residues. *Food Addit Contam* 1: 157 161.
- Zheng J, Hanzlik RP. 1991. Premercapturic acid metabolites of bromobenzene derived via its 2,3 and 3,4 oxide metabolites. *Xenobiotica* 24: 535 546.
- Zampaglioni N, Jollow DJ, Mitchell JR, Hamrick M, Gillette JR. 1973. Role of detoxifying enzymes in bromobenzene induced liver necrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 187: 218 227.
- Bidlack WR, Lowery GL. 1982. Multiple drug metabolism: p nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem Pharmacol* 31: 311 317.
- Habig WH, Pabst MJ, Fleischner G, Gattmaitan F, Aris IM, Jacoby WB. 1974. The identification of glutathione S transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 71: 3879 3882.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL. 1951. Protein measurement Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265 275.
- Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82: 70 77.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 248 254.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199 2000.
- Martin JP, Dailey M, Sugarman E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329 336.
- Casini AF, Pompella A, Comporti M. 1984. Glutathione depletion, lipid peroxidation, and liver necrosis following bromobenzene and iodobenzene intoxication. *Toxicol Pathol* 12: 295 299.
- Wang RS, Nakajima T, Honma T. 1999. Different change patterns of the isozymes of cytochrome P450 and glutathione S transferases in chemically induced liver damage in rat. *Ind Health* 37: 440 448.
- Cotran RS, Kurma V, Collin T. 1999. Cellular pathology I. In *Robbins Pathologic Basis of Diseases*. 6th ed. WB Saunders, Philadelphia. p 1 29.
- Peng RX, Lei SB, Gao P. 1990. The capacity of drug metabolism in Chinese fetal livers: II. Metabolism of ethyl morphine, aminopyrine and aniline. *Asian Pac J Pharmacol* 5: 13 18.
- Franyothin P, Jarthasoot W, Pongnimitgrasert N, Phukuudom S, Ruangrunsi N. 2004. Hepatotoxic effect of (+)usnic acid from *Usnea siamensis* Wainio in rats, isolated rat hepatocytes and isolated rat liver mitochondria. *J Ethnopharmacol* 90: 381 387.
- Zanelli U, Longo V, Paolicchi A, Gervasi PG. 2000. Stabilization of cytochrome P4502E1 protein by ethanol in primary hamster hepatocyte cultures. *Toxicol In Vitro* 14: 69 77.

35. Park JC, Kim SC, Hur JM, Choi SH, Lee KY, Choi JW. 2004. Anti hepatotoxic effects of *Rosa rugosa* root and its compound, rosamultin, in rats intoxicated with bromobenzene. *J Med Food* 7: 436-441.
36. Jakoby WB. 1978. The glutathione S transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 46: 383-414.
37. Litwack G, Ketterer B, Aris IM. 1971. Ligandin: a hepatic protein which binds steroids, bilirubin, carcinogens, and a number of exogenous anions. *Nature* 234: 466-467.
38. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. 1986. Lipid peroxidation and cellular damage in extra-hepatic tissues of bromobenzene intoxicated mice. *Am J Pathol* 123: 520-531.

(2006년 11월 23일 접수; 2007년 2월 23일 채택)