# 성게 부위별 및 그 추출물의 간 해독과 항산화 활성 효과

이승주·하왕현·최혜진·조순영*·최종원[1]
강릉원주대학교 식품가공유통학과, [1]경성대학교 약학대학

# Hepatic Detoxification and Antioxidant Activity in Sea-urchin Roe and Ethanol Extract of Roe

Seung-Joo Lee, Wang-Hyun Ha, Hye-Jin Choi,
Soon-Yeong Cho* and Jong-Won Choi[1]
*Department of Food Processing and Distribution, Gangneung-Wonju National University, Kangnung 210-702, Korea*
*[1]College of Pharmacy, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea*

Sea-urchins (*Anthocidaris crassispina*) are widely distributed in the East Sea of Korea. The aim of this study was to evaluate the hepatoprotective effects of sea-urchin roe on bromobenzene (BB)-induced liver damage in rats. The antioxidative and detoxifying properties of sea-urchin roe in BB-poisoned rat liver was examined by chemical analysis of serum aminotransferase (AST, ALT), glutathione S-transferase (GST), γ-glutamylcystein synthetase, glutathione reductase, epoxide hydrolase, amino-N-demethylase (AD), aniline hydrolase (AH) enzyme activity, as well as lipid peroxide and glutathione contents. Sea-urchin roe inhibited the increase of serum AST, ALT enzyme activity. Increasing lipid peroxide contents and AD and AH activities were significantly decreased in ethanol extract of sea-urchin roe. GST, γ-glutamylcystein synthetase, glutathione reductase and epoxide hydrolase enzyme activities increased in sea-urchin roe-fed group, compared with the BB-treated group. These results suggest that sea-urchin roe facilitates recovery from liver damage by enhancing antioxidative defense mechanisms and hepatic detoxication metabolism.

Key words: Sea-urchin roe, Antioxidative, Detoxication

## 서 론

성게는 극피동물문 (Phylum Echinodermata), 성게강 (Class Echinoidea)에 속하며, 주로 연안에서부터 수심이 깊은 곳까지 분포해 있다. 세계적으로는 한국 동해, 중국, 일본 연안에 분포되어 있으며, 우리나라 연근해에서 생산되는 성게류 중 식용으로 이용되고 있는 성게는 보라성게 (*Anthocidaris crassispina*), 말똥성게 (*Hemicentrotus pulcherrimus*), 분홍성게 (*Pseudocentrotus depressus*), 북쪽말똥성게 (*Strongylocentrotus internmedius*) 등이다 (Ryo and Park, 1986). 성게는 수분, 단백질, 지방, 비타민 B군과 비타민 C, 철분, 마그네슘 및 칼슘 등이 함유되어 있으며, 특히 단백질은 해삼보다 많이 함유되어 있다. 성게의 경우 식용되는 생식소 (알) 부위가 약 20%이고 나머지 80%는 성게 껍질로 구성되어 있어, 성게의 연간 평균 총생산량 2,500톤을 기준으로 약 2,000톤이 폐자원으로 버려지고 있으며, 난분해성 껍질은 대부분 그대로 방치됨으로써 환경문제로 대두되고 있는 실정이다 (Korea Agro-Fisheries Trade Corp., 2000).

성게에 대한 연구는 대부분 성게의 성분 및 생산 · 가공에 관한 것으로, Nam (1986)과 De la Cruz-Garcia et al. (2000)이 성게와 통조림 제품의 단백질, 아미노산 및 지방산 조성에 대하여, Yoo et al. (1982)이 성게의 산란 및 성장에 대해 보고하였다. 이외에 성게를 이용한 서남해역 저질 오염 검정 (Wui et al., 1992) 및 해수의 생물학적 평가 (Yu and Cho, 1999)에 관한 연구가 있으나, 성게의 항산화활성과 관련된 건강기능성에 관한 연구보고는 미흡한 편이다.

한편, 산업이 발달함에 따라 xenobiotics인 산업화학물질이 널리 이용되고 있으며, 이들의 인체 폭로로 인간의 건강문제가 제기되고 있다. 산업화학물질이 인간에 미치는 건강 위해는 주로 이들 물질에 의한 중독성 때문이며, 이러한 중독 현상의 정도는 인체의 생리적 및 식이적 조건 등에 상당한 영향을 받고 있는 것으로 알려져 있다 (Yoon et al., 1997). 이러한 xenobiotics로부터 생체를 보호하는 독성물질의 해독기구는 생체의 항상성을 유지시키려는 생리적 적응현상과 관련되어지는 것으로 생체의 내 · 외적인 환경 및 생리적 조건에 의하여 영향을 받고 있다 (Kato, 1977).

Xenobiotics의 중간대사산물이 표적 장기를 공격하여 조직손상을 일으키는 경우가 있는데 (Hayashi et al., 1984), xenobiotics의 대사는 주로 간장 중에서 이루어지며 이 과정에서 생성된 free radicals는 생화학적 연쇄반응으로 지질의 과산화, 핵산공격, 효소단백의 변성 등을 진행시키며, 궁극적으로 조직손상을 유발시킨다고 알려져 있다 (Mitchell and Hornig, 1984). 대표적인 xenobiotics의 일종인 bromobenzene은 산업화학물질로서 산업체에서 유기용제로 많이 사용되고 있으며,

*Corresponding author: csykang@gwnu.ac.kr

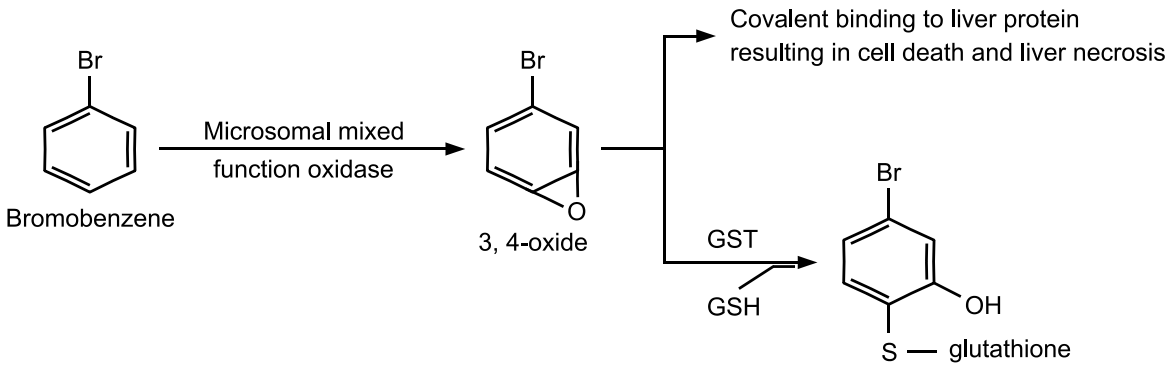


Fig. 1. The pathway of bromobenzene metabolism (Oh, 2003).

인체에 폭로 시주로 간 조직 세포의 microsome에 존재하는 다기능 복합산화효소기구 (cytochrome P450)에 의해 1차 대사되어 독성이 강한 bromobenzene-3,4-oxide (epoxides)로 전환되며, 이 친전자성 물질이 세포막 및 거대단백분자와 반응하여 생체독성을 야기 시킨다고 한다 (Zheng and Hanzlik, 1991). 그리고 이 친전자성 물질은 해독효소인 glutathione S-transferase (GST)에 의하여 glutathione (GSH)과 결합하여 무독화 됨으로서 배설되는 것으로 알려져 있으며 (Boyland and Chasseud, 1969) (Fig. 1), 일부는 epoxide hydrolase에 의해 무독화 되는 것으로 보고되고 있다 (Heijine et al., 2004). 한편, bromobenzene의 중간 대사산물인 bromobenzene-3,4-oxide는 친전자성 물질로 신속하게 무독화 되지 않으면 생체내의 친핵성 물질로 알려져 있는 DNA, RNA, 단백질 및 지질 등과 같은 물질과 결합하여 조직의 손상을 유발시키는 것으로 잘 알려져 있다 (Reid et al., 1971). 이와 같은 bromobenzene의 대사는 phase Ⅰ과 phase Ⅱ 해독기구의 구분이 뚜렷하기 때문에 간 손상시 bromobenzene 대사의 모델링으로 이용하기가 용이하다고 생각된다.

이에 본 연구는 동해안 연안에서 쉽게 구할 수 있는 패류 중 하나인 성게를 이용하여, 손상된 간 조직의 해독과 항산화 활성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 즉, 성게를 알, 내장, 껍질로 분획한 것을 쥐에 경구 투여하여 성게의 생리기능 활성을 조사하고, bromobenzene (Poulas and Raag, 1992)으로 급성 독성을 유발한 후 과산화지질과 이와 관련된 여러 효소들에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 성게는 보라성게 (*Anthocidaris crassispina*)로 동해연안에서 어획된 것을 2008년 7월에 거진항에서 구입하여 사용하였다. 시료는 깨끗이 세척하여 이물질과 염분을 충분히 제거한 후, 체에 받쳐 물기를 최소화하였다. 실험목적상 껍질, 알, 내장 각 3부분으로 분리 회수하였다. 분리 회수된 시료는 마쇄한 후 tray에 담아 얇고 평평하게 편 후 동결건조 (DFS520, Ilshin Lab Co Ltd, Korea)하였다. 이를 -50℃의 초저온 냉동고에서 24시간동안 완전히 동결시킨 후, Vacuum Freeze Dryer (PVTFD 300R, Ilshin Lab co Ltd, Korea)를 이용하여 동결건조시료를 제조하였다. 동결건조된 시료를 다시한번 마쇄 혼합하여 분석시료를 제조하였고, -30℃에서 보관하면서 실험분석에 사용하였다.

### 추출물과 추출잔사 제조

진공 동결된 시료 200 g과 시료량의 4배 (w/v)인 95% 에탄올 800 mL를 가한 후 30℃에서 30분간 초음파 추출 (sonication; power sonic 520, Hwashin, Korea)하였다. 그 추출액을 감압여과장치를 이용하여 Whatman No. 2 여과지로 여과하고, 이를 회전 감압농축기 (Rotavator R-200, Buchi, switzerland)로 40℃에서 농축, 동결 건조한 후 -40℃에 보관하였다. 시료 추출액을 여과하고 남은 잔사는 실온에서 에탄올을 제거한 후 -20℃이하에서 보관하면서 실험분석에 사용하였다.

### 일반성분

일반 성분은 AOAC법 (1990)에 따라, 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 semi-micro Kjeldahl법으로 질소를 정량한 후 질소계수 (6.25)를 이용하여 계산하였고, 회분은 600℃ 건식회화법, 조지방은 Soxthlet법으로 분석하였다.

### 실험동물 및 처치

효창사이언스 (대구)로부터 분양 받아 일정한 조건 (온도 : 20±1℃, 습도 : 55±3%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 1주간 적응시킨 체중 200±10 g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 사용하였다. 시료는 성게 [알 (원시료, EtOH추출, EtOH잔사), 내장 (원시료, EtOH추출, EtOH잔사), 껍질 (원시료, EtOH추출, EtOH잔사)]를 사용하였다.

### Bromobenzene 대사시험

Bromobenzene의 대사시험은 성게 각 추출물은 100, 200 mg/kg을 경구로 4주일간 투여하고 투여 마지막날 bromobenzene을 1% Tween 80에 현탁시켜 실험군에 460 mg/kg을 하루에 한번씩 12시간 간격으로 3일간 복강 주사하였다. 대조군은 동일 용량의 생리식염수와 1% Tween 80을 투여하였다.

### 효소원의 조제

실험동물은 $CO_2$ gas로 마취시키고 복부 대동맥에서 혈액을 채취하고 혈청을 분리하여 transaminase활성에 사용하였고 간

장은 생리식염수로 관류시켜 이물질을 제거한 후 마쇄하여 원심분리한 다음 mitochondria, cytosol 및 microsomal분획으로 분리하여 효소원으로 사용하였다.

### 혈청 중 Aminotransferase (AST, ALT) 측정

Reitman and Frankel (1957)의 방법에 준하여 조제된 kit (Asan Pharmaceutical)를 사용하여 alanine transaminase (100 mL 당 DL-alanine 1,780 mg 및 α-ketoglutamic acid 29.2 mg 함유), aspartate transaminase (100 mL 당 L-aspartic acid 2,660 mg 및 α-ketoglutamic acid 29.2 mg함유) 기질액 1.0 mL를 37℃ 에서 5분간 preincubation 시킨 후 혈청 0.2 mL를 넣어 37℃에서 alanine transami-nase는 30분, aspartate transaminase는 60분간 반응 시킨 후 정색시액 (2,4-dinitrophenylhydrazine, 19.8 mg/100 mL 함유) 1.0 mL를 첨가하고 0.4 N-NaOH 용액 1.0 mL를 가하여 혼합한 후 10분간 실온에서 방치하고 파장 505 nm에서 흡광도를 측정하여 활성도를 표준검량선에 준하여 혈청 mL당 Karmen (1955) unit로 표시하였다.

### 간 조직중의 지질과산화의 함량 측정

Ohkawa et al. (1979)의 방법에 준하여 간 조직 1 g당 9배량의 생리식염수를 가해 마쇄하고 이 마쇄액에 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid를 가한 후 95℃에서 1시간 동안 반응시킨 다음 실온에서 냉각시켜 n-BuOH : Pyridine (15:1)을 첨가하여 15분간 원심분리 시킨 후 홍색의 n-BuOH : pyridine층을 취하여 파장 532 nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 간 조직 1 g당 malondialdehyde nmole로 표시하였다.

### 간 조직중의 Glutathione의 정량

Ellman (1959)의 방법에 준하여 간조직 homogenate 0.5 mL에 4% sulfosalicylic acid 0.5 mL를 가하고 2,500 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상징액 0.3 mL를 취하여 disulfide reagent 2.7 mL를 넣고 20분간 방치 후 412 nm에서 흡광도를 측정하고 표준검량선에 준하여 산정하였다.

### Aminopyrine demethylase활성

Nash (1953)의 방법을 약간 변경하여 측정하였다. 반응액 2 mL 중 0.1 M $Na^+/K^+$phosphate buffer (pH 7.5)에 2 mM aminopyrine, HCl, 0.5 mM NADPH, 10 mM $MgCl_2$, 150 mM KCl, 1 mM semicarbizide 및 효소액 (30-400 μg의 단백질)을 가해 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이어서 반응물에 15% $ZnSO_4$와 포화 $Ba(OH)_2$를 가하여 반응을 종료 시키고 5분간 방치 후 10분간 원심분리하여 상징액을 얻었다. 이 상징액 5 mL에 발색의 목적으로 Nash reagent를 첨가하고 60℃에서 30분간 반응 시킨 후 다시 원심분리하여 상징액을 취한 다음 파장 415 nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준곡선에 준하여 활성도를 산정하였다.

### Aniline hydroxylase의 활성

Bidlack and Lowry (1982)의 방법에 준하여 측정하였다. 반응액 2 mL 중 10 mM $MgCl_2$와 150 mM KCl이 함유된 50 mM Tris-HCl 완충액 (pH 7.4)에 기질인 1 mM aniline HCl, 0.5 mM NADPH 및 효소액 (300-400 μg의 단백질)을 가하여 37℃에서 20분간 반응시킨 다음 20% trichloroacetic acid를 가하여 반응을 종료시켰다. 이어서 이를 10분간 원심분리 하여 상징액에 발색의 목적으로 10% $Na_2CO_3$ 와 0.2 N-NaOH (2% phenol 함유)를 넣고 37℃에서 30분간 반응시킨 후 파장 640 nm에서 그 흡광도를 읽고 표준곡선에서 활성도를 산정하였다.

### Glutathione S-transferase

Habig et al. (1974)의 방법에 준하여 실시하였다. 반응액 3.5 mL, 0.1 M potassiume phosphate buffer (pH 6.5)에 1 mM glutathione, 1 mM 1-chloro 2,4-dinitrobenzene 및 0.1 mL 효소액을 가하여 25℃에서 2분간 반응시킨 후 이때 생성되는 thioether를 340 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 흡광계수 9.6 $mM^{-1}cm^{-1}$을 이용하여 효소의 활성도를 산정하였다.

### γ-Glutamylcystein synthetase

Meister and Richman의 방법에 준하여 반응액 3.5 mL 중 0.1 M tris HCl buffer (pH 8.0), 8.9 mM L-glutamic acid, 0.94 mM EDTA, 3.2 mM $MgCl_2$, 1.35 mM ATP와 효소액 (100～300 μg 단백질)을 가하여 37℃에서 10분 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 흡광도 600 nm에서 효소의 활성을 측정하였다.

### Glutathiones reductase 활성

Mize and Langdon (1962)의 방법에 준하여 실시하였다. 반응액 3.0 mL 중 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5), 0.94 mM EDTA, 4.6 mM oxidized glutathione, 0.16 mM NADPH 및 효소액 (400～600 μg 단백질)을 가하여 37℃에서 10분간 반응시킨 후 340 nm에서 gluthatine의 감소되는 양을 측정하였다.

### Epoxide hydroxylase 활성

Hasegawa and Hammock (1982)의 방법에 준하여 실시하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 기질로 trans-stilbene oxide (3 mM, TSO)와 효소원 (100～200 μg의 단백질)을 가하여 반응액이 3.0 mL가 되도록 하였다. 이 반응액을 37℃에서 20분간 반응시키고 이 때 소실되는 trans-stilbene oxide (TSO)의 양을 229 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 단백질 정량

단백질의 함량은 Lowry et al. (1951)의 방법에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

### 통계처리

통계적 유의성은 Duncan's multiple rage test로서 검정하였으며, $P<0.05$일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과 및 고찰

### 시료의 수율

본 실험에 사용한 시료의 수율은 성게 알의 경우 22.28%, 내장의 경우 14.33%, 껍질의 경우 32.13%로 평균 수율은

22.92%였고, 각 부위별 무게는 전체 24,535 g에 대해 껍질이 19,295 g으로 전체 무게의 78.64%로 대부분을 차지하였으며, 그 외 알 14.82%, 내장 6.54% 순이었다.

### 성게의 일반 성분 조성

동결건조 성게의 각 부위별 일반성분은 Table 2와 같다. 수분함량은 동결 건조한 시료이므로 모두 1～3%로 낮았다. 조단백질은 알, 내장, 껍질에서 각각 50.13±0.29, 37.33±0.40, 13.25±0.76%으로 성게알이 가장 높았고, 조지방은 각각 14.18±0.03, 8.64±0.03, 1.33±0.09%로 역시 성게알이 가장 높게 나타났다. 조회분은 각각 10.89±0.36, 28.57±0.11, 51.03±1.98%로 성게껍질에서 가장 높았다.

성게의 동결건조시료를 95% ethanol로 추출한 후 그 남은 잔사에 대해 일반 성분을 분석한 결과는 Table 2과 같다. 수분함량은 동결건조시료에 비해 각 부위별로 3～12%의 범위로 증가하여 시료간의 변동폭이 큼을 알 수 있었다. 수분함량의 증가는 잔사의 지방함량 감소와 함께 ethanol 추출 시 수분흡수에 의한 것이라 생각된다. 조단백질은 동결건조시료에 비해 각 부위별로 2～5%정도의 감소폭을 보였다. Ethanol 추출물의 성분 중 지방은 동결건조시료에 비해 큰 함량의 변화를 보였고, 알, 내장, 껍질에서 지방 함량이 각각 6.14±0.02, 1.83±0.07, 0.31±0.02%로 크게 감소하였다. 이는 ethanol 추출 시 많은 지방성분들이 제거되었기 때문이라 사료된다. 조회분의 경우도 동결건조시료에 비해 각 부위별로 1～2%정도 감소하였다.

Table 1. The weight and yield in each parts of the fresh and dried sea-urchin

| | Raw weights (g) (A) | Dried weights (g) (B) | Yield (%) (B/A*100) |
|---|---|---|---|
| Roe | 3,635 | 810 | 22.28 |
| Internal organs | 1,605 | 230 | 14.33 |
| Shell | 19,295 | 6,200 | 32.13 |

Table 2. Proximate compositions in each parts of the vacuum dried sea-urchin and sea-urchin extracted by 95% ethanol

| Body section | Moisture (%) | Crude protein (%) | Crude fat (%) | Crude ash (%) | Carbohy-drate (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Roe | 2.84±0.26 | 50.13±0.29 | 14.18±0.03 | 10.89±0.36 | 21.96±0.23 |
| Internal organs | 2.55±0.33 | 37.33±0.40 | 8.64±0.03 | 28.57±0.11 | 22.91±0.22 |
| Shell | 1.31±0.23 | 13.25±0.76 | 1.33±0.09 | 51.03±1.98 | 33.08±0.77 |
| Roe ethanol extracts | 15.15±0.17 | 48.16±0.14 | 6.14±0.02 | 9.11±0.07 | 22.44±0.12 |
| Internal organs ethanol extracts | 17.94±0.32 | 35.07±0.36 | 1.83±0.07 | 26.69±0.43 | 18.47±0.29 |
| Shell ethanol extracts | 4.33±0.63 | 7.37±0.88 | 0.31±0.02 | 49.69±0.57 | 38.30±0.52 |

Table 3. The serum biochemical values of bromobenzene (BB)-treated rats

| Treatment | Dose (mg/kg) | AST | ALT |
|---|---|---|---|
| | | IU/L | |
| Normal | | 68.3 ± 1.29$^{e}$ | 25.3 ± 2.18$^{e}$ |
| BB treated control | | 183.2 ± 23.5$^{a}$ | 60.7 ± 1.83$^{a}$ |
| Original sea-urchin roe | 100 | 150.6 ± 17.6$^{bc}$ | 55.4 ± 3.25$^{b}$ |
| | 200 | 131.7 ± 19.4$^{cd}$ | 49.3 ± 2.77$^{c}$ |
| The ethanol extracts | 100 | 127.9 ± 20.5$^{cd}$ | 45.7 ± 1.98$^{cd}$ |
| | 200 | 110.3 ± 18.8$^{d}$ | 41.6 ± 2.16$^{d}$ |
| The ethanol extracted residues | 100 | 170.2 ± 21.7$^{ab}$ | 62.3 ± 3.17$^{a}$ |
| | 200 | 165.3 ± 20.2$^{ab}$ | 60.9 ± 3.33$^{a}$ |
| Original sea-urchin Internal organs | 100 | 190.6 ± 30.2$^{a}$ | 61.4 ± 2.17$^{a}$ |
| | 200 | 187.7 ± 19.7$^{a}$ | 63.9 ± 3.16$^{a}$ |
| The ethanol extracts | 100 | 180.4 ± 23.6$^{ab}$ | 60.2 ± 2.57$^{ab}$ |
| | 200 | 169.3 ± 28.5$^{ab}$ | 59.3 ± 3.39$^{ab}$ |
| The ethanol extracted residues | 100 | 185.5 ± 21.8$^{a}$ | 58.8 ± 3.16$^{ab}$ |
| | 200 | 179.3 ± 19.9$^{ab}$ | 59.7 ± 2.98$^{ab}$ |
| Original sea-urchin shell | 100 | 177.7 ± 17.6$^{ab}$ | 61.5 ± 4.17$^{a}$ |
| | 200 | 162.5 ± 18.8$^{ab}$ | 63.5 ± 5.19$^{a}$ |
| The ethanol extracts | 100 | 189.1 ± 19.5$^{a}$ | 62.6 ± 3.18$^{a}$ |
| | 200 | 179.3 ± 21.8$^{ab}$ | 60.3 ± 5.10$^{a}$ |
| The ethanol extracted residues | 100 | 193.5 ± 17.2$^{a}$ | 59.7 ± 4.77$^{ab}$ |
| | 200 | 189.6 ± 19.9$^{a}$ | 61.8 ± 3.98$^{a}$ |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.

### 혈청 중 Aminotransferase (AST, ALT)의 효소활성 결과

성게의 각 추출물을 4주간 흰 쥐에 투여하고 마지막 3일 동안 bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간 조직 손상의 parameter로 알려져 있는 혈청 AST 및 ALT의 활성 변동을 관찰한 결과는 Table 3와 같다. 정상군 간장 중의 AST (aspartate transaminase)와 ALT (alanine transaminase)의 활성은 각각 68.3±1.29, 25.3±2.18 IU/L이었으며, bromobenzene을 투여하여 간독성을 일으킨 실험군 (BB)의 경우는 각각 183.2±23.5, 60.7±1.83 IU/L로 정상군에 비해 효소 활성이 크게 증가하였다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처리한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는, AST, ALT 둘 다 성게알을 제외한 성게내장과 성게껍질의 원시료, 에탄올추출물, 에탄올 추출잔사 모두에서 BB에 비해 유의적인 감소가 나타나지 않았고, 투여 용량별로도 유의성이 없었다. 그러나 AST는 성게알의 원시료 100, 200 mg/kg 투여군에서 각각 150.6±17.6, 131.7±19.4 IU/L로 유의적인 감소를 보였으며, 성게알의 에탄올추출물 100, 200 mg/kg 투여군에서도 127.9±20.5, 110.3±18.8 IU/L로 유의적인 감소 효과를 나타내었다. 특히 성게알의 원시료와 에탄올 추출물 모두 100 mg/kg보다 200 mg/kg 투여 시 더 유의적인 감소를 나타냈다. 또한 에탄올 추출물에서 좀 더 유의적인 효과를 나타냄을 알 수 있었다. ALT는 성게알의 원시료 100, 200 mg/kg 투여군에서 각각

55.4±3.25, 49.3±2.77 IU/L로 BB의 60.7±1.83 IU/L와 비교하였을 때 유의적인 감소를 보였으며, 성게알의 에탄올추출물 100, 200 mg/kg 투여군에서도 45.7±1.98, 41.6±2.16 IU/L로 유의적인 감소 효과를 나타내었다. 또한 AST와 마찬가지로 100 mg/kg에 비해 200 mg/kg투여 시 더 유의적인 감소를 나타내었다. 성게알의 원시료와 에탄올추출물의 뚜렷한 효과와 달리, 에탄올 추출잔사에서만큼은 두 효소 모두 유의적인 감소효과가 없었으며, 투여 용량별로도 큰 차이가 나타나지 않았다.

### 간 조직중의 지질과산화 함량과 항산화작용

성게의 각 추출물을 4주간 흰 쥐에 투여하고 마지막 3일간 bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간 조직의 지질과산화 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 일반적으로 bromobenzene과 같은 생체이물질에 의한 간 손상은 여러 증상으로 나타나는데 그 중 하나가 세포막에 다량 존재하는 다가불포화지방산의 산화를 촉진시켜 과산화지질의 생성을 유도하는 것이다 (Pryor, 1977). 과산화지질은 주로 malondialhehyde (MDA)나 4-hydroxynonenal (HNE)형태로 존재하므로 이를 측정하여 과산화정도를 평가 한다 (Lee et al., 2003). 정상군의 간장 중의 과산화지질의 함량은 19.8±2.17 nmoles/g of tissue이었으며, bromobenzene을 투여하여 간독성을 일으킨 실험군 (BB)의 경우는 51.3±5.49 nmoles/g of tissue로 과산화지질이 현저하게 증가하였다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처리한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는, 성게알 시료에서 가장 유의적인 감소가 나타났다. 특히 에탄올추출물 200 mg/kg 투여군에서 31.9±3.17 nmoles/g of tissue로 과산화지질의 감소가 가장 효과적이었으며, 100 mg/kg 투여군에서도 46.7±3.49 nmoles/g of tissue로 감소하였다. 성게알의 원시료 100, 200 mg/kg 투여군에서도 각각 48.1±3.18, 45.3±2.47 nmoles/g of tissue로 유의적인 감소효과가 나타났다. 성게알의 에탄올 추출잔사에서는 투여용량별로는 각각 49.3±2.83, 48.7±2.15 nmoles/g of tissue로 별 차이가 없었으나 전체적으로 과산화지질의 감소는 보였다. 성게알 외에 성게내장의 원시료 100, 200 mg/kg 투여군에서 각각 46.5±3.16, 45.7±4.19 nmoles/g of tissue, 에탄올 추출물 100, 200 mg/kg 투여군에서 각각 48.9±3.33, 47.6±3.56 nmoles/g of tissue으로 유의적인 감소를 보였다. 성게껍질 시료에서는 투여용량별로는 100 mg/kg보다 200 mg/kg를 투여했을 때 효과를 보였으나 전체적으로 과산화지질을 유의하게 감소시키지는 못했다. 또한 성게껍질 뿐만 아니라 모든 시료에서 고농도 (200 mg/kg)였을 때 더 큰 효과를 보이는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 미루어 보아 성게에는 항산화작용을 지닌 성분이 함유되어 있어 이 성분이 간 조직 중에서 세포막의 지질 과산화반응을 저해시킴으로서 과산화지질에 의한 간 손상을 억제하거나 손상된 간을 회복시킬 수 있을 것으로 생각 된다.

Table 4. Feeding effect of sea-urchin extracts and residue on hepatic lipid peroxide content in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | Content MDA n moles/g of tissue |
|---|---|---|
| Normal | | 19.8 ± 2.17[f] |
| BB treated control | | 51.3 ± 5.49[abc] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 48.1 ± 3.18[bcd] |
| | 200 | 45.3 ± 2.47[d] |
| The ethanol extracts | 100 | 46.7 ± 3.49[cd] |
| | 200 | 31.9 ± 3.17[e] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 49.3 ± 2.83[abcd] |
| | 200 | 48.7 ± 2.15[abcd] |
| Original sea-urchin Internal organs | 100 | 46.5 ± 3.16[cd] |
| | 200 | 45.7 ± 4.19[d] |
| The ethanol extracts | 100 | 48.9 ± 3.33[abcd] |
| | 200 | 47.6 ± 3.56[bcd] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 52.3 ± 3.19[ab] |
| | 200 | 49.6 ± 4.18[abcd] |
| Original sea-urchin shell | 100 | 53.6 ± 2.57[a] |
| | 200 | 50.7 ± 3.17[abc] |
| The ethanol extracts | 100 | 49.8 ± 2.63[abcd] |
| | 200 | 51.8 ± 3.25[ab] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 48.7 ± 2.16[abcd] |
| | 200 | 47.6 ± 3.18[bcd] |

1) Values are mean ± S.D. for 6 experiments. Values followed by the same letter are not significantly different ($P$<0.05).
2) For experimental details see materials and methods.

### 간 조직중의 Glutathione의 정량

앞서 실험한 결과를 바탕으로 bromobenzene에 의해 손상을 입은 간이 성게알 (원시료, 에탄올 추출물, 에탄올 추출잔사) 시료에서 큰 해독효과 원인을 규명하고자 bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간 조직의 glutathione 함량을 측정한 결과는 Table 5과 같다. 정상군의 간 조직의 glutathione 함량은 5.73±0.85 μmole/g of tissue이었으며, bromobenzene을 투여하여 간독성을 일으킨 실험군 (BB)의 경우는 4.06±0.37 μmole/g of tissue로 glutathione 함량이 감소하였다. BB의 간독성은 1차 대사산물인 bromobenzene 3,4-oxide와 같은 electrophilic compounds에 의해 조직의 nucleophilic compound인 reduced glutathione (GSH)이 고갈되어 나타나는 것으로 알려져 있다 (Casini et al., 1986). 본 실험에서 BB의 투여에 의해 간 조직

Table 5. Feeding effect of sea-urchin roe on glutathione content of liver in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | Content (μmole/g of tissue) |
|---|---|---|
| Normal | | 5.73 ± 0.85[a] |
| BB treated control | 460 | 4.06 ± 0.37[b] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 4.17 ± 0.28[b] |
| | 200 | 4.36 ± 0.41[b] |
| The ethanol extracts | 100 | 4.25 ± 0.33[b] |
| | 200 | 4.49 ± 0.25[b] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 4.09 ± 0.47[b] |
| | 200 | 4.11 ± 0.51[b] |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.

GSH의 함량이 감소한 것은 BB의 독성 중간 대사산물에 의해 야기된 것으로 생각된다. 한편, 성게알의 각 추출물을 4주간 전처리한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우, BB에 비해 유의적인 증가는 나타나지 않았지만, 미약하지만 모든 시료에서 GSH가 증가하는 것을 볼 수 있었다. 증가순은 에탄올 추출물 200 mg/kg (4.49±0.25) 〉 원시료 200 mg/kg (4.36±0.41) 〉 에탄올 추출물 100 mg/kg (4.25±0.33) 〉 에탄올 추출잔사 200 mg/kg (4.11±0.51)으로 나타났다. 모든 시료에서 고농도 용량 (200 mg/kg)을 투여하였을 때 효과가 좋았고, 시료 종류 중에는 에탄올 추출물이 가장 우수한 효과를 보였다. 미약하나마 성게추출물을 투여한 실험군에서 BB에 의한 GSH의 감소현상이 개선되는 것은 성게추출물의 지속적인 섭취로 증가된 GST의 활성과 관련이 있을 것으로 사료된다.

Table 6. Feeding effect of sea-urchin roe on glutathione S-transferase activity of liver in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | Activity (1,2-dinitro-4-nitrobenzene nmole/mg protein/min) |
|---|---|---|
| Normal | | 218.6 ± 17.8[a] |
| BB treated control | 460 | 170.5 ± 18.3[b] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 181.6 ± 21.3[b] |
| | 200 | 190.2 ± 19.0[b] |
| The ethanol extracts | 100 | 185.7 ± 15.3[b] |
| | 200 | 195.6 ± 20.5[b] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 170.9 ± 21.8[b] |
| | 200 | 173.5 ± 22.5[b] |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 7. Feeding effect of sea-urchin roe on AD & AH activity of liver in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | AD | AH |
|---|---|---|---|
| Normal | | 4.27 ± 0.18[d] | 0.71 ± 0.105[d] |
| BB treated control | 460 | 9.38 ± 0.25[a] | 1.43 ± 0.211[a] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 9.17 ± 0.22[a] | 1.27 ± 0.137[ab] |
| | 200 | 8.66 ± 0.15[b] | 1.13 ± 0.125[bc] |
| The ethanol extracts | 100 | 8.72 ± 0.17[b] | 1.10 ± 0.148[bc] |
| | 200 | 7.43 ± 0.14[c] | 0.98 ± 0.131[c] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 9.29 ± 0.21[a] | 1.39 ± 0.213[a] |
| | 200 | 9.31 ± 0.19[a] | 1.36 ± 0.197[a] |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.
AD : Aminopyrine N-demethylase : formaldehyde nmole/mg protein/min.
AH : Aniline hydroxylase : p-aminophenol nmole/mg protein/min.

### 간 조직중의 glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향

Glutathione S-transferase (GST)는 포합효소의 일종으로 electrophilic compounds를 glutathione과 포합시켜 무독화 시키는데 관여하는 효소로 GST자체가 GSH를 이용하지 않고도 electrophilic compound와 직접 결합한다는 보고도 있다 (Litwack et al., 1971). Glutathione S-transferase 활성을 측정하는 반응액에 기질과 효소액을 첨가시켜 일정시간 반응 후 효소활성의 변화를 측정한 결과는 Table 6과 같다. 정상군의 간장 중 효소활성은 218.6±17.8 nmols/mg/protein/min이었으며 bromobenzene을 투여하여 간독성을 유발시킨 실험군 (BB)의 경우는 효소활성이 170.5±18.3 nmols/mg/protein/min으로 정상군에 비하여 현저한 활성억제 현상이 관찰되었다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는 BB와 비교하였을 때 유의적인 효소활성의 증가는 보이지 않았으나, 전체적으로 증가양상을 보이기는 하였다. 성게알 에탄올 추출물을 200 mg/kg, 100 mg/kg 투여했을 때 각각 195.6±20.5, 185.7±15.3 nmols/mg/protein/min으로 증가하였으며, 성게알 원시료를 200 mg/kg, 100 mg/kg 투여했을 때 각각 190.2±19.0, 181.6±21.3 nmols/mg/protein/min으로 증가하였다. 이와 같은 결과는 간 조직 중 GST단백의 절대량이 매우 크기 때문에 bromobenzene 투여와 같은 병태 생리조건 하에서도 본 효소의 활성 변동이 크게 나타나지 않은 것으로 사료된다.

### AD & AH 활성 측정 결과

Bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간조직의 과산화지질생성 활성화 효소인 AD (AminopyrineN-demethylase)와 AH (Aniline hydroxylase)의 활성억제를 관찰한 결과는 Table 7과 같다. 정상군의 AD 효소활성은 4.27±0.18이었으며, bromobenzene을 투여하여 간독성을 유발시킨 실험군 (BB)의 경우는 효소활성이 9.38±0.25로 정상군에 비해 크게 증가하였다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는, 성게알 원시료 200 mg/kg, 에탄올 추출물 100, 200 mg/kg에서 각각 8.66±0.15, 8.72±0.17, 7.43±0.14 nmols/mg/protein/min로 유의한 억제효과를 보였고, 성게알 원시료 100 mg/kg, 에탄올 추출잔사 100, 200 mg/kg에서도 유의성은 없었으나 활성을 억제하는 것으로 나타났다. AH 효소활성은 정상군의 0.71±0.105 nmols/mg/protein/min에 비해, bromobenzene을 투여하여 간독성을 유발시킨 실험군 (BB)의 경우 1.43±0.211 nmols/mg/protein/min로 정상군에 비해 효소활성이 증가하였다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는, 성게알 원시료 200 mg/kg, 에탄올 추출물 100, 200 mg/kg에서 각각 1.13±0.125, 1.10±0.148, 0.98±0.131 nmols/mg/protein/min로 유의한 억제효과를 보였고, 성게알 원시료 100 mg/kg, 에탄올 추출잔사 100, 200 mg/kg에서도 유의성은 없었으나 활성을 억제하여 AD의 효소활성과 같은 양상을 보였다. 해독계 1형의 약물을 대사시키는 효소로서 aminopyrine · HCl을 기질로 하여 formaldehyde를 생성하는 aminopyrine demethylase (AD)

의 활성과 해독계 2형의 약물을 대사시키는 aniline · HCl을 기질로 하여 p-aminophenol을 생성하는 anilne hydroxylase (AH)의 활성에서 성게알 원시료는 AD와 AH를 200 mg/kg 고농도에서 유의하게 억제하는 효과를 보였지만, 성게알 에탄올 추출물은 AD와 AH를 모든 농도에서 유의하게 억제하였으며, 특히 고농도 (200 mg/kg)에서 더 유의성 있는 억제를 보였다. 에탄올 추출잔사에서는 AD와 AH 모두 유의적인 억제효과가 없었다.

### 간 조직중의 γ-Glutamylcystein synthetase 활성에 미치는 영향

GSH는 γ-Glutamylcysteinglycine의 tripeptide로 이루어진 물질로 세포의 해독작용에 관여한다. 이 GSH 합성의 첫 단계에서 바로 γ-Glutamyl cystein synthetase가 작용을 하며, 이 효소에 의해 glutamate와 cysteine이 결합을 하고 여기에 다시 GSH synthetase가 작용하여 glycine이 결합함으로써 tripeptide인 GSH가 합성된다 (Kim et al., 1994). Bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간조직의 γ-Glutamylcystein synthetase의 활성을 관찰한 결과는 Table 8와 같다. 정상군의 γ-Glutamylcystein synthetase 효소활성은 19.4±1.48 Pi nmols/ mg/protein/min이었으며, bromobenzene을 투여하여 간독성을 유발시킨 실험군 (BB)의 효소활성은 14.3±1.19 Pi nmols/mg /protein/min로 정상군에 비해 감소하였다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는, 유의성은 없었으나 모든 시료에서 효소활성이 증가양상을 보였으며, 특히 200 mg/kg의 고농도 에탄올 추출물과 원시료에서 각각 15.5±1.13, 14.9±1.46 Pi nmols/mg/protein/min로 다른 시료에 비해 효소활성이 높았다.

### 간 조직중의 Glutathione (GSH) reductase 활성에 미치는 영향

GSH는 GSH peroxidase에 의해 산화되어 산화형인 GSH disulfide (GSSG)로 되며, GSH reductase에 의해 다시 GSH로 환원된다. 이 GSH와 관련된 효소인 GSH reductase는 외부 환경의 오염물 및 약제들에 민감하여 이들의 섭취와 흡입 시 독성 효과를 나타내는 표시로 사용된다 (Arrick and Nathan, 1984). Bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간조직의 GSH reductase의 활성을 관찰한 결과는 Table 9과 같다. 정상군의 GSH reductase 효소활성은 23.9±4.25 nmole/mg이었으며, bromobenzene을 투여하여 간독성을 유발시킨 실험군 (BB)의 효소활성은 16.8±1.43 nmole/mg으로 정상군에 비해 활성억제 현상이 나타났다. 반면에 성게 각 추출물을 4주간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는, 유의적인 차이를 가져오지는 않았지만 투여 용량이 100 mg/kg보다는 200 mg/kg에서 미치는 효과가 더 있었다. 200 mg/kg의 고농도에서 시료별로는 에탄올 추출물에서 18.7±1.99 nmole/mg, 원시료에서 17.6±2.36로 에탄올 추출물과 원시료에서 효소활성이 증가된 것을 볼 수 있었다.

Table 8. Feeding effect of sea-urchin roe on γ-glutamylcysteine synthetase of liver in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | Activity (Pi nmole/mg protein/min) |
|---|---|---|
| Normal | | 19.4 ± 1.48[a] |
| BB treated control | 460 | 14.3 ± 1.19[b] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 14.8 ± 1.09[b] |
| | 200 | 14.9 ± 1.46[b] |
| The ethanol extracts | 100 | 15.0 ± 1.18[b] |
| | 200 | 15.5 ± 1.13[b] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 14.6 ± 1.92[b] |
| | 200 | 14.2 ± 1.41[b] |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 9. Feeding effect of sea-urchin roe on glutathione reductase of liver in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | Activity (glutathione nmole/mg protein) |
|---|---|---|
| Normal | | 23.9 ± 4.25[a] |
| BB treated control | 460 | 16.8 ± 1.43[b] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 16.2 ± 2.11[b] |
| | 200 | 17.6 ± 2.36[b] |
| The ethanol extracts | 100 | 16.3 ± 1.89[b] |
| | 200 | 18.7 ± 1.99[b] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 15.9 ± 2.06[b] |
| | 200 | 16.0 ± 2.31[b] |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 10. Feeding effect of sea-urchin roe on epoxide hydrolase activity of liver in bromobenzene (BB)-treated male rat

| Group | Dose (mg/kg) | Activity (TSO nmle/mg protein/min) |
|---|---|---|
| Normal | | 14.2 ± 1.16[a] |
| BB treated control | 460 | 4.16 ± 0.53[e] |
| Original sea-urchin roe | 100 | 5.27 ± 0.77[de] |
| | 200 | 6.37 ± 0.92[c] |
| The ethanol extracts | 100 | 5.86 ± 0.63[cd] |
| | 200 | 7.77 ± 0.65[b] |
| The ethanol extracted residues | 100 | 4.33 ± 0.82[e] |
| | 200 | 4.52 ± 0.71[e] |

1) Values represent mean ± S.D. (n=6).
2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other ($P$<0.05) by Duncan's multiple range test.

간 조직중의 Epoxide hydrolase 활성에 미치는 영향

간 해독작용 중 epoxide 해독계는 중요한데, epoxide 독성유발 모델로는 bromobenzene을 흔히 사용하고 있다 (Park et al., 1997). Bromobenzene은 mixed function oxidation system에 의하여 독성이 강한 bromobenzene-3,4-oxide로 전환되며 이 epoxide를 대사시켜 독성이 없는 bromobenzene-3,4-oxide로 대사시키는 효소가 epoxide hydrolase인데 기타 해독계의 glutathione S-transferase에 의하여 bromobenzene glutathione으로 배설된다 (Kim et al., 1992). Bromobenzene을 복강 내로 투여한 다음 간조직의 Epoxide hydrolase의 활성을 관찰한 결과는 Table 10과 같다. 본 실험에서는 정상군의 경우, 간 조직 중 epoxide hydrolase 활성은 14.2±1.16 nmol/mg이었으나, BB의 경우 효소활성이 4.16±0.53 nmol/mg으로 정상군에 비해 현저한 활성억제 현상을 관찰할 수 있었다. 반면에 성게알의 원시료 200 mg/kg, 에탄올 추출물 100, 200 mg/kg에서 각각 6.37±0.92 nmol/mg, 5.86±0.63 nmol/mg, 7.77±0.65 nmol/mg로 BB에 비해 유의적으로 epoxide hydrolase의 농도를 회복시켰다. 특히 200 mg/kg의 고농도 에탄올 추출물에서 가장 큰 효과를 나타냈다. 그 외 나머지시료에서도 유의성은 없었으나 BB에 비해 Epoxide hydrolase 효소활성이 회복되는 것을 관찰할 수 있었다.

## 사 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2009-0083-638).

## 참고 문헌

AOAC. 1990. Official Method of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC. U.S.A. 931-943.

Arrick BA and Nathan CF. 1984. Glutathione metabolism as a determinant of therapeutic efficacy. a review. Cancer Res 44, 4224-4232.

Bidlack WR and Lowry GL. 1982. Multiple drug metabolism: *p*-nitroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. Biochemical Pharmacology 31, 311-317.

Boyland E and Chasseud LF. 1969. The role of glutathione and glutathione S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. Advances in Enzymolgy and Related Areas of Molecular Biology 32, 173-219.

Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E and Comporti M. 1986. Lipid peroxidation and cellular damage in extra-hepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. Am J Pathol 123, 520-531.

De la Cruz-Garcia C, Lopez-Hernandez J, Gonzalez-Castro M, Rodriguez-Bernaldo J, De Qiros A and Simal-Lozano J. 2000. Protein, amino acid and fatty acid contents in raw and canned sea urchin (*Paracentrotus lividus*) harvested in Galicia (NW Spain). J Sci Food Agric 80, 1189-1192.

Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl group. Arch Biochem Biophys 82, 70-77.

Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid and formation. Journal of Biological Chemistry 249, 7130-7139.

Hasegawa LS and Hammock BD. 1982. Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide hydrolase using trans-stillbene oxide as the substrate. Biochem Pharmacol 31, 1979-1984.

Hayashi O, Niki E, Kondo M and Yoshikawa T. 1984. Medical, biochemical and chemical aspects of free radicals. Elsevier Sci Pub 1-9.

Heijine WHJ, Slitt AL, van Bladeren PJ, Groten JP, Klaassen CD, Stierum RH and van Ommen B. 2004. Bromobenzene induced hapatotoxicity at the transcriptome level. Toxicol Sci 79, 411-422.

Karmen A. 1995. A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum. 1955. Journal of Clinical Investigation 34, 131-133.

Kato R. 1977. Drug metabolism under pathological and abnormal physiological states in animals and man. Xenobiotica 7, 25-92.

Kim EJ, Lee CK and Choi JW. 1992. The effect of Scoparone on the hepatic bromobenzene metabolizing enzyme system in rats. Kor J Pharmacogn 23, 81-82.

Kim SY, Jung JY, Kim JR and Kim JH. 1994. The change of glutathione metabolism in liver and kidney of cisplatin treated rats. The Yeungnam Med J 11, 2.

Korea Agro-Fisheries Trade Corp. 2000. Korea agricultural trade information : Production statistics.

Lee HJ, Kim GH and Lee EO. 2003. Hepatoprotective effect of the methanol fraction of chinese cabbage on liver injury in rats treated by bromobenzene. Korean J Oriental Physiology and Pathology 17, 1177-1181.

Litwack G, Ketterer B and Aris IM. 1971. A hepatic protein which binds steroids, bilirubin, corcinogens, and a number of exogenous anions. Nature 234, 466-467.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193,

265-275.

Mitchell JR and Hornig MG. 1984. Drug metabolism and drug toxicology. Raven press 23-25.

Nam HK. 1986. The composition of fatty acid and amino acid for sea urchin. J Korean Oil Chemists' Soc 3, 33-37.

Nash T. 1953. The colorimetric estimarion of form-aldehyde by means of the hentisch reaction. J of Biological Chemistry 55, 412-416.

Oh JD. 2003. Effect of dietary *Monascus Koji* on the liver damage induced with bromobenzene in rats. Korean Soc Food Sci Nutr 33, 965-972.

Ohkawa H, Ohish N and Yaki K. 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry 95, 351-355.

Park JC, Choi JS, Song SH, Choi MR, Kim KY and Choi JW. 1997. Hepatoprotective effect of extracts and phenolic compound from marine algae in bromobenzene-treated rats. Kor J Pharmacogn 28, 239-246.

Poulas TL and Raag R. 1992. Cytochrome 450 cam : Crystallography, oxygen activation and elecro-ntransfer. FASEB J 6, 674-679.

Pryor WA. 1977. Free radical in biology : Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicinal chemistry. Elservier and Amsterdam, 331-361.

Reid WD, Chistie B, Krishna G, Mitchell JR, Moskowitz J and Brodie BB. 1971. Bromobenzene metabolism and hepatic necrosis. Pharmacology 6, 41-55.

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, 58-63.

Ryo, YG and Park DW. 1986. Studies on artificial seeding production of sea urchin *Anthocidaris crassispina* (A.Agasiz). Bull Fish Res Dev Agency 39, 89-96.

Wui IS, Lee JB and Yoo SH. 1992. Bioassay on marine sediment pollution by using sea urchin embryo culture in the south-west island sea of Korea. Korean J Environ Biol 10, 92-99.

Yoo SK, Hur S and Ryu HY. 1982. Growth and spawning of the sea urchin *Anthocidaris crassispina* (A. Agassiz). Bull Korean Fish Soc 15, 345-358.

Yoon JK, Kim GJ and Shin JG. 1997. Effect of the equation of the equinoxes on the liver damage induced with bromobenzene in rats. J Korean Toxicol 13, 377-383.

Yu CM and Cho KA. 1999. The effects of temperature on biological evaluation of sea water with sea urchins. J Korean Environ Sci Soc 8, 160-164.

Zheng J and Hanzlik RP. 1991. Premercapturic acid metabolites of bromobenzene derived via its 2,3- and 3,4-oxide metabolites. Xenobiotica. the Fate of Foreign Compounds in Biological Systems 21, 535-546.

2010년 8월 11일 접수
2010년 8월 18일 수정
2010년 10월 4일 수리