

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2020.12.2.108>

ISSN 2383-5400 (Online)

국내에서 시판중인 조개류의 세포독성 평가

Cytotoxicity Assessment of Shellfishes from Domestic Fish Market

김영상¹, Thilina U. Jayawardena², Lu Yu An², 제준건², D. P. Nagahawatta², N. M. Liyanage², 전유진^{3*}Young-Sang Kim¹, Thilina U. Jayawardena², Lu Yu An², Jun-Geon Je², D. P. Nagahawatta², N. M. Liyanage², You-Jin Jeon^{3*}¹박사후연구원, 제주대학교 해양생명과학부, 제주특별자치도 제주시 제주대학로 102, 64243, 대한민국²대학원생, 제주대학교 해양생명과학부, 제주특별자치도 제주시 제주대학로 102, 64243, 대한민국³교수, 제주대학교 해양생명과학부, 제주특별자치도 제주시 제주대학로 102, 64243, 대한민국^{1,2,3}Department of Marine Life Sciences, School of Marine Biomedical Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

(Received 5 November 2020, Revised 18 December 2020, Accepted 24 December 2020)

Abstract A variety of shellfish species sold for human consumption are available for purchase in the domestic fish market. The microalgae families inhabit the ocean, where planktons supply the main nutritional resource for the growth of shellfish. Some phytoplanktons produce toxic compounds that are accumulated in shellfish and ultimately cause toxicity in humans. This article reports the cytotoxicity of commercially available shellfish species. Accordingly, hot water extract (HWE) and an aqueous fraction of 50% methanol extract (MEE-AF) showed no significant cytotoxicity on the two cell lines (i.e., HL-60 and Vero cell lines), but 50% methanol extract (MEE) in 3, 6 samples showed 50% cytotoxic effects on HL-60 cells, and 1, 4 samples showed 40%, 20% cytotoxic effects on Vero cells, respectively. In addition, their consequential dichloromethane fractions (MEE-DF) exhibited significant toxicities at the highest concentration (1,000 µg/ml) on HL-60 and Vero cells. Since the shellfish samples showed cytotoxicity in the dichloromethane fraction, it is possible that the dichloromethane fraction contains marine toxins. Further research will be needed to identify the toxic components from each sample.

Keywords : Marine toxin, Shellfish, Cytotoxicity

1. 서 론

세계 인구의 3/4이 바다에 접한 지역에 살고 있으며 다양한 문화권에서 해산물을 이용하여 대부분의 필요 단백질을 섭취하고 있다. 하지만, 전 세계적으로 1.5% 사망률로 연간 6만 건 이상의 사고가 해양

미세조류에서 생성된 독소와 연관되어 있다. 캐나다의 경우 해산물 중 어패류 관련 질병이 전체 사고의 약 7%이며, 그중 식중독은 4% 정도를 차지한다 (1). 패류 독소의 주요 공급원은 단세포 조류(원인 식물플랑크톤)이며, 독소 함유 식물플랑크톤 중의 발생 및 독성을 생성하는 조건은 아직 완전히 밝혀

* Corresponding author
Phone: 82-64-754-3475 Fax: 82-64-756-3496
E-mail: yujinj@jejunu.ac.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

지지 않았지만, 먹이사슬의 기저에 있는 식물플랑크톤들을 패류의 여과섭식(filter-feeding)을 통해 독소가 축적되며, 상위 먹이사슬로 갈수록 독소가 축적되고 최종 소비자인 인간이 섭취하게 되면서 중독증상을 나타내게 된다 (2,3).

중독증상을 일으키는 해양생물독소는 용해도에 따라 수용성과 지용성, 중독증상에 따라 마비성 패류 중독 (Paralytic Shellfish Poisoning, PSP), 기억상실성 패류 중독 (Amnesic Shellfish Poisoning, ASP), 설사성 패류 중독 (Diarrhetic shellfish Poison, DSP), 신경독성 패류 중독 (Neurotoxin shellfish Poison, NSP)으로 분류되며, 화학적 구조에 따라 Azaspiracid, Brevetoxin, Domoic acid, Pectenotoxin, Saxitoxin, Yessotoxin, cyclic imine 그룹과 palytoxin (PITX), Ciguatera toxin 그룹으로 분류된다 (4) 이들 중 cyclic imine(CI)류 독소물질은 적조 및 조개류의 독성과 관련된 ‘fast-acting’ 독소이다. 이들의 화학적 구조는 공통적으로 14~27개 탄소 원자로 구성되어 있고, 거대고리와 고리형 이민 그룹, 스피로케탈 고리 시스템 (spiroketal-ring system)을 가진 두 가지 특성을 나타낸다. Cyclic imine(CI) 독소에는 Gymnodimine (Gym), pinnatoxin (PnTX), pteriatxin (PtTX), spirolid e (SPX)로 나뉘며 이들의 유도체(analogue)가 36개 이상이 존재한다. CI류의 물질들은 여러 와편모조류 (Dinoflagellate)에서 생성되는 것으로 알려져 있는데, *Alexandrium ostenfeldii*, *Vulcanodinium rugosum*, *Karenia sp.* 등이 주요 생산종인 것으로 알려져 있다 (5,6,7). *Rhodes* 등은 CI류의 독소물질은 강염기성을 띠며, methanol(MeOH) 추출 후 Dichloromethane (DCM) 분획물에서 이들 독소가 분리된다고 보고하였다 (8).

CI류 독소와 palytoxin은 기존에 알려진 패류 독소나 tetrodotoxin보다 독성이 강하다고 알려져 있으며 아직 국내외에서 관리되고 있지 않은 독소 물질이다. 아직 이 독소 물질들에 의한 중독증상이 국내에서는 발견되지 않았지만, 이들을 생산하는 식물플랑크톤의 서식 지역이 해수면 상승으로 열대지역에서 아열대 지역으로 점차 확대되고 있어서 (9,10,11) 우리나라에서도 이들을 관리하고 대응할 방안이 필요한 실정이다.

본 연구에서는 국내 시판 중인 조개류의 조개 육질 내에 축적될 가능성이 있는 미관리 독소 물질의 유

무를 확인하기 위하여 세포독성을 평가하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

본 실험에 사용된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), Rose park memorial institute medium (RPMI 1640), Fetal bovine serum (FBS), penicillin/streptomycin (P/S), EDTA-trypsin은 Gibco-BRL (Gibco-BRL, NY, USA)에서 구매하였으며, 이 외 실험에 사용된 화학물질 및 시약은 분석 등급을 사용하였다. 본 연구에 사용된 시료인 9종의 조개 (1. 큰가리비, *Mizuhopecten yessoensis*, 일본산; 2. 개조개, *Saxidomus purpurata*, 중국산; 3. 비늘백합, *Mercenaria stimpsoni*, 중국산; 4. 동죽, *Macra quadrangularis*, 국내산(안면도); 5. 가무락조개, *Cyclina sinensis*, 국내산(안면도); 6. 바지락, *Ruditapes philippinarum*, 국내산(안면도); 7. 대합조개, *Mercenaria mercenaria*, 중국산; 8. 피조개, *Anadara broughtonii*, 국내산(대천); 9. 키조개, *Atrina pectinate*, 국내산(대천))는 2020년 6월에 충남 태안의 금양수산에서 구매하였다. 각 조개의 크기는 가장 길이가 긴 부분을 버니어 캘리퍼스 측정하였고, 조개의 무게는 패각을 분리한 후 육질 부분만 킴와이프스 (Kimwipes, 유한킴벌리)로 물기를 제거한 후 측정하였다. 모든 조개의 크기 및 무게는 종류별로 3개씩 측정하여 평균한 것이다.

2.2 패류 추출물 제조

냉장 상태로 도착한 조개들을 흐르는 수돗물에 수세하여 외부를 완벽하게 세척하고 연체부 손상을 최소화하여 패각근을 잘라 패각을 분리한 후 내부를 수돗물로 한 번 더 수세하여 이물질을 제거하였다. 탈각한 패류의 육질부위만 취하여 5분정도 체에 받쳐 물을 빼낸 후 blender로 육질을 균질화 하였다. 균질화한 육질 부위 50 g을 취하여 50% methanol 200 ml을 첨가하였다. sonicate로 30분간 3회 반복 추출하고 원심분리(12000 rpm, 5 min)하여 상층액만 취하였다 (Methanol Extract, MEE). Methanol을 evaporator로 농축하여 무게 측정 후 물과 Dichloromethane (DCM)을 동량 첨가하여 액체-액체 분획을 실시하여 물 분획물(Aqueous fraction of MEE, MEE-A

F)과 DCM 분획물(Dichloromethane fraction of MEE, MEE-DF)를 획득하였다. 열수추출물(Hot water extract, HWE)은 균질화된 육질 50 g을 취하여 distilled water (DW) 200 ml을 첨가하고 100°C로 30분간 가열 추출하였다. 추출한 시료는 12000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상층액만 취하여 농축한 후 실험에 사용하였다 (8). 모든 추출물 및 분획물은 Dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해시켜 세포실험에 사용하였다.

2.3 세포 배양

HL60 (human promyelocytic leukemia cells), Vero (monkey kidney cell) 세포를 100 units/ml의 penicillin-streptomycin (GIBCO, Grand Island, NY, USA)과 10%의 Fetal bovine serum (FBS;GIBCO, Grand Island, NY, USA)이 함유된 RPMI 1640 또는 DMEM (GIBCO, Grand Island, NY, USA)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였으며, 계대 배양은 2~3일에 한 번씩 시행하였다.

2.4 조개 추출물의 세포독성 평가

HL-60 acute promyelocytic leukemia cell과 monkey kidney fibroblasts cell인 Vero 세포를 이용하여 열수추출물 (HWE), 50% MeOH 추출물 (MEE)과 DW 분획물 (MEE-AF) 및 DCM 분획물 (MEE-DF)의 세포독성을 확인하였다. 두 세포를 96 well plate에 1 x 10⁵ cells/ml로 분주하고 24시간 배양하였다. FBS를 포함하지 않는 배지로 교체한 후 추출물과 분획물을 각 농도별로 처리하고 24시간 배양한 뒤 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma Aldrich) 용액 2 mg/ml을 처리하였다. 4시간 배양 후 MTT 용액을 제거하고 DMSO 100 µL를 각 well에 첨가하여 Wang 등의 방법에 따라 540 nm에서 흡광도를 측정하였다 (12).

2.5 통계처리

모든 data는 3회 측정 후 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 유의성 차이에 대한 통계적 비교는 SPSS 통계프로그램으로 p<0.05 수준에서 one-way ANOVA 분석법을 따라 분석하였다.

3. 결 과 및 고 찰

3.1 조개의 외형 측정

패류 독소인 PSP, NSP, ASP, DSP 등은 국내 수산 과학원 및 식품의약품안전처에서 관리되고 있지만 palytoxin, cyclic imine 류 등은 아직 국내는 물론 국외에서도 관리되고 있지 않은 독소 물질이다. 독소 물질을 생성하는 원인 식물플랑크톤이 있으며, 패류가 이들을 섭취하고 축적되며 최종적으로 사람이 이를 섭취하게 되면서 중독증상이 발현된다 (2,3). 이러한 미관리 패류독소에 대한 정보를 획득하기 위하여 국내 시판 중인 조개류를 구입하여 세포에 대한 독성평가를 수행하였다. 9종의 조개의 패각을 분리하고 패각은 길이 중 가장 긴 부분을 버니어 캘리퍼스로 측정하였고, 육질 부위를 이용하여 킴와이프스로 물기를 제거한 후 무게를 측정하였다. 한국 연근해 유용 연체동물도감을 참고하여 9종의 조개의 특징들을 확인하였다 (13).

한국 연근해 유용 연체동물도감에 따르면, 패각 부분의 가장 길이가 긴 부분의 길이는, 큰가리비는 11.4 cm이며, 개조개는 8.25 cm, 비늘백합 6.74 cm, 동죽 4.44 cm, 가무락조개 4.82 cm, 바지락 4.25 cm, 대합조개 6.35 cm, 피조개 10.37 cm, 키조개 29.62 cm로 확인되었다. 실제 9종의 패각의 크기를 측정하였을 때, 큰가리비는 11.3 cm이며, 개조개는 9.30 cm, 비늘백합 5.56 cm, 동죽 4.5 cm, 가무락조개 5.12 cm, 바지락 4.2 cm, 대합조개 6.1 cm, 피조개 6.38 cm, 키조개 27.96 cm로 확인되었다. 피조개의 경우 연체동물도감에 나온 크기보다 작았으나, 피조개를 제외한 다른 8종의 조개들은 도감에 나와 있는 크기와 비슷하거나 동일하였다 (Fig 1, Table 1).

3.2 조개로부터 추출한 열수 추출물 및 methanol 추출물의 세포독성 평가



Figure 1. Shellfish list for screening test.

Table 1. Characteristic of shellfishes (Size and Weight)

No.	Name	Origin	Scientific name	Size (Length, cm)	Weight (g)
1	큰가리비	Japan	<i>Mizuhopecten yessoensis</i>	11.3 ± 0.97	47.68 ± 9.43
2	개조개	China	<i>Saxidomus purpurata</i>	9.30 ± 0.33	71.41 ± 5.75
3	비늘떡갈	China	<i>Mercenaria stimpsoni</i>	5.56 ± 0.59	9.41 ± 4.97
4	동죽	Domestic (인연도)	<i>Macoma quekangiensis</i>	4.5 ± 0.34	6.95 ± 1.10
5	가우락조개	Domestic (인연도)	<i>Cyclina sinensis</i>	5.12 ± 0.42	7.45 ± 1.29
6	바지락	Domestic (인연도)	<i>Ruditapes philippinarum</i>	4.2 ± 0.10	4.92 ± 1.12
7	대합조개	China	<i>Mercenaria mercenaria</i>	6.1 ± 0.17	8.56 ± 2.15
8	피조개	Domestic (대전)	<i>Anadara broughtonii</i>	6.38 ± 0.58	21.56 ± 6.31
9	키조개	Domestic (대전)	<i>Arca pacificata</i>	27.96 ± 0.82	129.20 ± 22.80

Ramos 등의 연구에 따르면, Palytoxin은 물에 대한 용해성이 높아 열수 추출법을 수행하였고(14), cyclic imine류의 물질들은 Dichloromethane 층으로 분리되어 나오는 것으로 알려져 있어 (15-20) methanol 추출 후 액체-액체 (DW-DCM) 분획을 시행하여 9종의 조개의 열수추출물과 50% MeOH를 사용하여 추출물을 제조하였다 (Fig. 2).

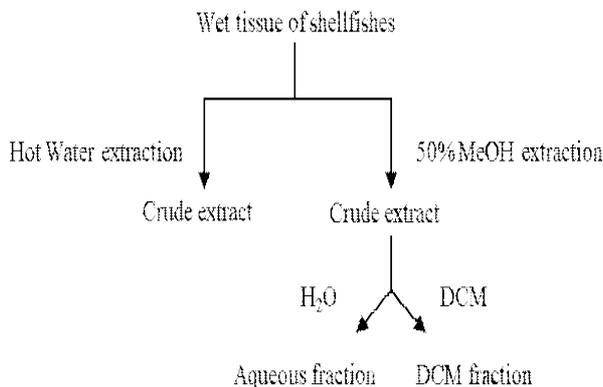


Figure 2. The procedure for the extraction of shellfish Hot water extract and 50% MeOH extract.

9종의 조개 추출물인 열수 추출물, 50% Methanol 추출물, 그리고 50% Methanol 추출물의 액체-액체 분획물인 물 분획물, Dichloromethane 분획물을 전골수성백혈병 세포와 정상세포인 원숭이 신장세포에 각각 농도별 (0.1 ~ 1000 µg/ml)로 처리하여 24시간 후 독성을 확인하였다. HL60 세포는 전골수성 백혈병 세포로서 여러 독성물질에 대한 세포독성, 면역독성의 평가에 활용되고 있다 (21). HL60 세포의 경우, 수용성 독소물질인 palytoxin이 함유될 가능성이 있는 열수 추출물에서는 독성이 관찰되지 않았으며, 50% Methanol 추출물에서 3번과 6번 시료에서 50% 정도의 세포독성이 관찰되었다 (Fig. 3). 물과 DCM 분획물의 세포독성 결과, 물 분획물에서는 심각한 독성은 보이지 않았으며, 바지락의 경우 농도 의존

적으로 세포 활성이 증가한 것을 확인할 수 있었다. 소수성 독소물질이 용해되기 쉬운 분획인 DCM 분획물에서는 피조개, 키조개, 큰가리비를 제외한 조개의 분획물에서 농도 의존적인 세포 활성 감소가 나타났으며, 1, 2, 3, 6 번 시료의 1000 µg/ml에서 60% 정도의 세포독성이 관찰되었고 4번 시료에서는 80%의 독성이 관찰되었다 (Fig. 4). HL60 세포에서 3번과 6번 Methanol 추출물에서 보였던 독성이 물과 DCM으로 분획 후 DCM 분획물에서 독성이 관찰된 것으로 보아 3번과 6번 시료에 존재하는 독소 물질이 DCM 분획물에 잘 용해되는 것으로 확인되었다.

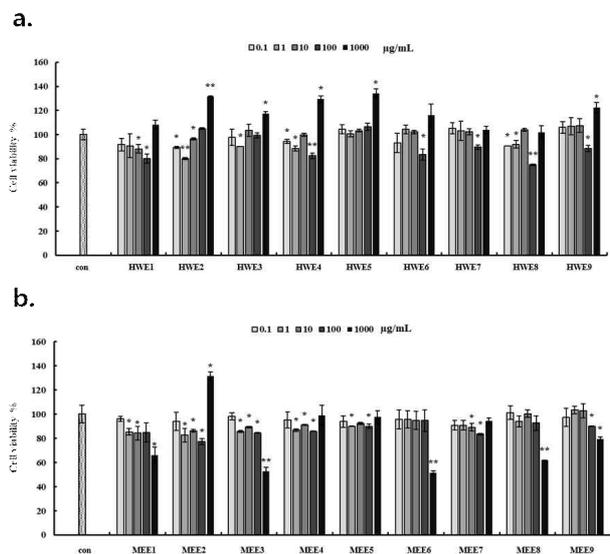


Figure 3. Cytotoxicity effect of shellfish samples on HL60 cell line. Hot Water extract (a), 50% MeOH extract (b).

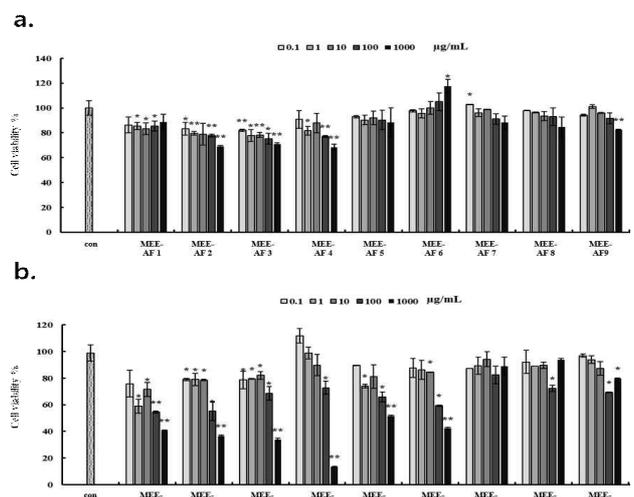


Figure 4. Cytotoxicity effect of shellfish samples on HL60 cell line. Aqueous (a) and DCM (b) fraction from 50% MeOH extract.

Vero 세포주는 원숭이의 신장 세포로서 *in vitro*에서 여러 독소 물질들의 신장독성을 평가할 때 사용되는 세포주이며, 조개 추출물과 분획물들의 신장에 대한 독성을 평가하기 위하여 Vero 세포를 사용하였다. (22,23). Vero 세포에서는 열수 추출물의 경우 세포 독성은 보이지 않았으며 Methanol 추출물에서는 1번 시료에서는 40% 정도, 4번 시료에서는 20% 정도의 독성을 나타내었다 (Fig. 5). MEE-AF의 경우에도 독성은 관찰되지 않았으며, MEE-DF에서는 1~9번까지의 모든 분획물 1000 µg/ml의 농도에서 강한 독성이 관찰되었다 (Fig. 6). 이러한 결과는 조개의 DCM 분획물이 신장독성과 면역독성을 가지는 독소 물질을 함유할 가능성을 나타낸다.

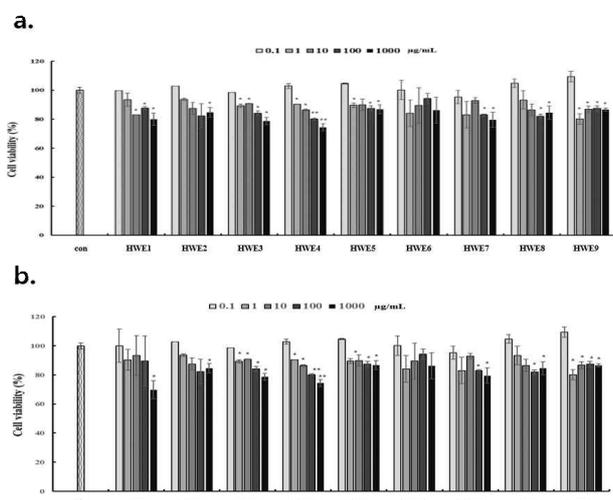


Figure 5. Cytotoxicity effect of shellfish samples on Vero cell line. Hot Water extract (a), 50% MeOH extract(b).

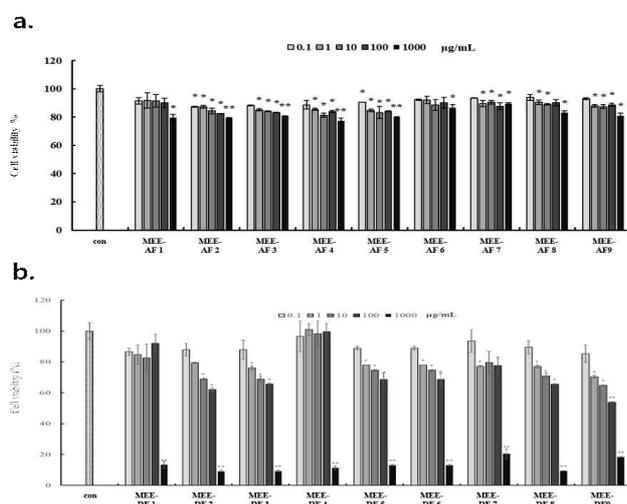


Figure 6. Cytotoxicity effect of shellfish samples on Vero cell line. Aqueous (a) and DCM (b) fraction from 50% MeOH extract.

palytoxin의 경우, 여러 암세포에서 독성이 관찰되었는데, 폐암세포인 A549 세포에서는 0.56 pM, 신경교종세포인 U373n 세포에서는 0.56 pM, 마우스 흑색종 세포인 B16F10 세포에서는 0.44 pM의 IC₅₀ 값을 가지는 것으로 보고되었다 (24). cyclic imine류 독소로 알려진 pinnatoxin G를 함유하고 있는 와편모조류인 *Vulcanodinium rugosum*의 Methanol 추출물의 독성은 신경세포인 Neuro2A 세포에서 0.38 µg/ml의 농도에서 세포 50%가 사멸하였고, 그 분획물인 DCM 분획에서 0.15 µg/ml에서 50%의 세포독성을 나타내었다 (25). 본 연구에서 사용한 패류의 열수 추출물, Methanol 추출물과 그 분획물의 세포독성과 비교하였을 때, 시중에 판매 중인 패류의 추출물과 분획물의 독성은 상대적으로 낮은 것으로 확인되었으나, DCM 분획물에서 독성이 나타난 것으로 보아 다른 독소 물질이 함유되어 있을 가능성이 있을 것으로 사료된다.

결론

본 연구에서는 조개에 축적될 가능성이 있는 독소 물질의 유무를 확인하기 위하여 세포독성을 screening test를 진행한 것이며, 우리가 흔히 섭취하는 조개에 상대적으로 독성이 낮은 독소 물질이 포함되어 있을 가능성이 있다는 것을 확인하였다. 향후 실험에서는 MEE-DF 분획물의 세포독성 결과를 바탕으로 solid phase extract 방법으로 독소 함유 가능성이 있는 분획을 더 정제하고 표준품을 이용하여 HPLC, LC/MS로 독소 물질의 종류를 비교분석 할 예정이다.

감사의 글

본 연구는 2020년도 식품의약품안전처의 연구개발비(20163MFDS641)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Todd, E. 1997. Seafood-associated diseases and control in Canada. *Revue scientifique et technique*, **16** 2, 661-672.

2. Ferreira, S. F., Carrera, C., Vilariño, N., Louzao, M. C., Santamarina, G., Cantalapiedra, A. G., & Botana, L. M. 2015. Acute Cardiotoxicity Evaluation of the Marine Biotoxins OA, DTX-1 and YTX. *Toxins*, **7**, 1030-1047.
3. Nielsen, L. T., Hansen, P. J., Krock, B., & Vismann, B. 2016. Accumulation, transformation and breakdown of DSP toxins from the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuta* in blue mussels, *Mytilus edulis*. *Toxicology*, **117**, 84-93.
4. Authority, E. F. S. 2009. Marine biotoxins in shellfish – Saxitoxin group. *EFSA Journal*, **7**, 1019.
5. Brand, L. E., Campbell, L., & Bresnan, E. 2012. *Karenia*: The biology and ecology of a toxic genus. *Harmful Algae*, **14**, 156-178.
6. Cembella, A. D., Lewis, N. I., & Quilliam, M. A. (2000). The marine dinoflagellate *Alexandrium ostrofeldii* (Dinophyceae) as the causative organism of spirolide shellfish toxins. *Phycologia*, **39**, 67-74.
7. Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., Munday, R., Suda, S., . . . Hallegraeff, G. (2011). Dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* identified as the causative organism of pinnatoxins in Australia, New Zealand and Japan. *Phycologia*, **50**, 624-628.
8. Geiger M, Desanglois G, Hogeveen K, Fessard V, Leprêtre T, Mondeguer F, Guitton Y, Hervé F, Séchet V, Grovel O, Pouchus YF, Hess P. 2013. Cytotoxicity, fractionation and dereplication of extracts of the dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum*, a producer of pinnatoxin G. *Mar Drugs*. **11**, 3350-3371.
9. Cembella, A. D. 2018. Chapter 16 Harmful Algal Species Fact Sheets: *Alexandrium*.
10. Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., van Ginkel, R., Holland, P., & Munday, R. 2010. Production of pinnatoxins by a peridinioid dinoflagellate isolated from Northland, New Zealand. *Harmful Algae*, **9**, 384-389.
11. Selwood, A. I., Miles, C. O., Wilkins, A. L., van Ginkel, R., Munday, R., Rise, F., & McNabb, P. 2010. Isolation, Structural Determination and Acute Toxicity of Pinnatoxins E, F and G. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 6532-6542.
12. Wang, L., Ryu, B., Kim, W.-S., Kim, G. H., & Jeon, Y.-J. 2017. Protective effect of gallic acid derivatives from the freshwater green alga *Spirogyra* sp. against ultraviolet B-induced apoptosis through reactive oxygen species clearance in human keratinocytes and zebrafish. *Algae*, **32**, 379-388.
13. 최병래, 박미선, 전임기, 박승열, & 김희태. 1999. 한국 연근해 유용 연체동물도감. 부산, 구덕출판사.
14. Ramos, V., & Vasconcelos, V. 2010. Palytoxin and analogs: biological and ecological effects. *Marine drugs*, **8**, 2021-2037.
15. Chain, E. P. o. C. i. t. F. 2010. Scientific Opinion on marine biotoxins in shellfish – Cyclic imines (spirolides, gymnodimines, pinnatoxins and pteriatoxins). *EFSA Journal*, **8**, 1628.
16. Chou, T., Haino, T., Kuramoto, M., & Uemura, D. 1996. Isolation and structure of pinnatoxin D, a new shellfish poison from the okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Tetrahedron Letters*, **37**, 4027-4030.
17. Hess, P., Abadie, E., Hervé, F., Berteaux, T., Séchet, V., Aráoz, R., . . . Amzil, Z. 2013. Pinnatoxin G is responsible for atypical toxicity in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and clams (*Venerupis decussata*) from Ingril, a French Mediterranean lagoon. *Toxicon*, **75**, 16-26.
18. Molgó, J., Marchot, P., Aráoz, R., Benoit, E., Iorga, B. I., Zakarian, A., . . . Servent, D. 2017. Cyclic imine toxins from dinoflagellates: a growing family of potent antagonists of the nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Neurochemistry*, **142**, 41-51.
19. Takada, N., Umemura, N., Suenaga, K., Chou, T., Nagatsu, A., Haino, T., Uemura, D. 2001. Pinnatoxins B and C, the most toxic components in the pinnatoxin series from the Okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Tetrahedron Letters*, **42**, 3491-3494.
20. Takada, N., Umemura, N., Suenaga, K., & Uemura, D. 2001. Structural determination of pteriatoxins A, B and C, extremely potent toxins from the bivalve *Pteria penguin*. *Tetrahedron Letters*, **42**, 3495-3497.
21. Bingnan He, Xia Wang, Lai Wei, Baida Kong, Yua

- nxiang Jin, Xiaoxian Xie, Zhengwei Fu, 2018. β -Cypermethrin and its metabolite 3-phenoxybenzoic acid induce cytotoxicity and block granulocytic cell differentiation in HL-60 cells, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, **50**, Pages 740–747.
22. Chen, L., & Xie, P. 2016. Mechanisms of Microcystin-induced Cytotoxicity and Apoptosis. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **16**, 1018-1031.
23. Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S. 1977. Vero response to a cytotoxin of Escherichia coli. *Infect Immun.* **18**, 775-779.
24. Sawelew, L., Gault, F., Nuccio, C., Perez, Y., & Lorquin, J. 2018. Characterisation of palytoxin from an undescribed Palythoa (Anthozoa: Zoantharia: Sphenopidae) with significant in vitro cytotoxic effects on cancer cells at picomolar doses. *bioRxiv*. 292219.
25. Geiger, M., Desanglois, G., Hogeveen, K., Fessard, V., Leprêtre, T., Mondeguer, F., ... & Pouchus, Y. F. 2013. Cytotoxicity, fractionation and dereplication of extracts of the dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum*, a producer of pinnatoxin G. *Marine drugs*, **11**, 3350-3371.