생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
28(4) : 239~246(1997)

해조류 추출물과 페놀성화합물의 *in vitro* 및 *in vivo* 간보호활성

박종철,* 최재수,[1] 송상호,[2] 최명락,[2] 김광용,[3] 최종원[4]

순천대학교 한약자원학과, [1]부경대학교 식품생명과학과,
[2]여수수산대학교 생물공학과, [3]전남대학교 해양학과, [4]경성대학교 약학과

Hepatoprotective Effect of Extracts and Phenolic Compound from Marine Algae in Bromobenzene-treated Rats

Jong-Cheol Park,* Jae-Sue Choi,[1] Sang-Ho Song,[2] Myeong-Rak Choi,[2]
Kwang-Young Kim[3] and Jong-Won Choi[4]

Department of Oriental Medicine Resources, Sunchon National University, Sunchon 540-742; [1]Department of Nutrition and Food Science, Pukyong National University, Pusan 608-737; [2]Department of Biological Engineering, Yosu National Fisheries University, Yosu 550-250; [3]Department of Oceanography, Chonnam National University, Kwangju, 500-757; and [4]College of Pharmacy, Kyongsung University, Pusan 608-736, Republic of Korea

Abstract – The methanol extracts of some marine algae were tested for investigating the effects on the formation of lipid peroxide and the activities of free radical generating enzyme *in vitro* in bromobenzene-treated rats. The extracts of *Enteromorpha compressa*, *Capsosiphon fulvescens*, *Gelidium amansii*, *Hizikia fusiformis*, *Sargassum siliquastrum* and *Sargassum thunbergii* which decreased the formation of lipid peroxide, inhibited the activity of xanthine and aldehyde oxidases by adding of each extracts. Phloroglucinol isolated from *Ecklonia stolonifera* reduced bromobenzene-induced hepatic lipid peroxidation. This compound administered daily over one week before intoxication with bromobenzene did not affect the activities of aminopyrine N-demethylase, aniline hydroxylase and glu tathione S-transferase. Epoxide hydrolase activity was decreased by bromobenzene, which was restored by pretreatment of phloroglucinol. The results suggest that the bromobenzene-induced hepatic lipid peroxidation by phloroglucinol is reduced by enhancing the activity of epoxide hydrolase.

Key words – marine algae; lipid peroxidation; xanthine oxidase; aldehyde oxidase; epoxide hydrolase; bromobenzene-treated rat; *Enteromorpha compressa*; *Capsosiphon fulvescens*; *Ecklonia stolonifera*; *Gelidium amansii*; *Hizikia fusiformis*; *Sargassum siliquastrum*; *Sargassum thunbergii*; phloroglucinol.

지구상에 존재하는 전체 생물중에서 80% 이상이 해양환경에 서식하고 있는 것으로 알려져 있어 해양은 무궁무진한 자원의 보고이다. 이중 해조류는 육상생물에 없는 특유의 대사양식을 가지고 육상자원

*교신저자 : Fax 0661-52-8551

식물과는 다른 새로운 생물활성물질이 기대됨에 따라 앞으로는 신규 천연물의 탐색 가능성이 보다 관심이 높아가며 이에 대한 연구도 활성화되어 가고 있는 추세이다.[1] 해조류 활성연구 계속[2,3]으로 메타놀 추출물에 대한 간 보호효과에 대한 영향을 관찰하였다. 즉 해조류 추출물을 대상으로 bromobenzene으로 간 독성을 유발한 흰쥐의 *in vitro* 실험에서 과산화지질생성과 xanthine oxidase, aldehyde oxidase활성을, 그리고 해조류에서 분리한 페놀성 화합물의 간장중 과산화지질의 함량의 변화와 약리기전도 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 해조류는 *Capsosiphon fulvescens*(매생이, 표본번호: SAM-9), *Carpopeltis affinis*(참까막살, AG-9), *Carpopeltis cornea*(붉은까막살, AG-5), *Chondrus crispus*(주름진루발, AG-4), *Dilophus okamurae*(개그물바탕말, AG-11), *Enteromorpha compressa*(납작파래, SAM-5), *Gelidium amansii*(우뭇가사리, AG-18), *Hizikia fusiformis*(톳, SAM-1), *Ishige okamurae*(패, AG-3), *Lomentaria catenata*(마디잘록이, AG-12), *Myelophycus simplex*(바위수염, AG-15), *Sargassum confusum*(알쏭이모자반, AG-14), *Sargassum horneri*(괭생이모자반, AG-2), *Sargassum siliquastrum*(과배기모자반, SAM-4), *Sargassum thunbergii*(지충이, SAM-3), *Ulva pertusa*(구멍갈파래, AG-8) 등 16종이며, 1995년 6월과 1996년 11월 사이에 남해안에서 채집하여 실험에 사용하였으며, 현재 순천대 한약자원학과 표본실에 상기의 표본번호로 보관중이다. 이들 재료들을 각각 MeOH을 가하여 실온에서 냉침한 후 농축하여 추출물을 얻었다.

페놀성화합물은 해조류 *Ecklonia stolonifera*를 MeOH로 3회 추출하여 얻은 메탄올 엑스를 dichloromethane, ethyl acetate, n-butanol과 물 분획으로 각각 용매 분획하였다. Ethyl acetate분획은 $CHCl_3$-MeOH혼합용매로서 silica gel column chormatography하고 다시 MeOH용매로서 Sephadex LH-20 column chromatography하였다. 이 화합물은 IR, ^1H- 및 ^{13}C-NMR분석에 의하여 phloroglucinol로 결정하였다.

실험동물 - 일정한 조건으로 사육한 Sprague-Dawley계 숫쥐(200±50 g)를 사용하여 고형사료 및 일정한 조건(온도: 20±2℃, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle) 하에서 충분히 적응시킨후 사용하였다. Bromobenzene은 1% tween 80에 460 mg/kg되게 현탁시켜 12시간 간격으로 2일간 복강주사하여 *in vitro* 실험에 사용하였다.[4] *in vivo* 실험을 위해서는 전처리로 phlogroglucinol을 1주간 경구투여 하였으며, bromobenzene의 투여는 상기와 동일한 방법으로 12시간 간격, 2일간 복강주사하고, 대조군은 동량의 생리식염수와 1% tween 80을 투여하였다.

효소원의 조제 - 실험동물을 탄산가스로 마취시킨 후 복부정중선을 따라 절개하고 간을 생리식염수로 관류시켜 조직내 혈액을 제거하고 적출하여 여지로 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 평량한 다음 조직 1 g당 4배량의 0.1 M potassum phosphate buffer(pH 7.5)를 가하여 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄액을 600 g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상징액을 15,000 g에서 10분간 원심분리하여 침전물과 상징액을 얻었다. 이 상징액을 105,000 g에서 60분간 초원심분리하여 *in vitro*의 xanthine oxidase, aldehyde oxidase와 *in vivo*의 glutathione S-transferase 활성의 효소원으로 사용하였으며, 침전물은 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 현탁하여 epoxide hydrolase, aniline hydroxylase 및 aminopyrine N-demethylase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한 4℃이하에서 행하였다.

과산화지질 함량 측정 - 간 조직 1 g당 9배량의 생리식염수를 가해 마쇄하고, 이 마쇄액에 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2 ml, 20% acetate buffer(pH 3.5), 0.8% thiobarbituric acid 및 실험재료인 해조류 추출물을 가한후 95℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 실온에서 냉각시켜 n-BuOH-pyridine(15:1)을 첨가하여 15분간 원심분리한후 홍색의 n-BuOH-pyridine 층을 취하여 파장 532 nm에서 흡광도를 측정한 다음 표준곡선에서 그 함

량을 간 조직 1 g당 malondialdehyde n mole 수로 표시하였다.[5] 생체내 실험에서는 실험재료를 흰쥐에 경구투여한 후 상기와 같은 방법으로 과산화지질의 함량을 측정하였다.

단백질 정량 및 통계처리 - Lowry 등의 방법[6]에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, Fr. IV)을 표준품으로, 통계처리는 Duncan's multiple range test로 하였다.

효소활성의 측정

1) Xanthine oxidase 활성

Potassium phosphate buffer(pH 7.5) 일정량에 기질인 xanthine sodium 60 μM 및 효소원을 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 다음 20% trichloroacetic acid(TCA)를 가하여 단백질을 제거시키고 원심분리한 후 상등액을 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성하는 uric acid의 양을 nmole로 나타내었다.[7]

2) Aldehyde oxidase 활성

Potassium phosphate buffer(pH 7.5) 일정량에 기질인 N-methylnicotinamide 1.5 mM과 효소액을 첨가하여 37℃에서 20분간 반응시킨 다음 20% TCA를 가해 반응을 종료시켰다. 반응 종료후 생성된 pyridone을 파장 300 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 pyridone의 양을 nmole로 나타내었다.[8]

3) Aminopyrine N-demethylase의 활성

Nashi 등[9]의 방법을 약간 변경하여 반응액 2 ml중 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 g의 단백질)을 가해 이 반응액을 37℃에서 30분간 반응시켰다. 다음 15% $ZnSO_4$와 포화 $Ba(OH)_2$를 가하여 반응을 종료시키고 5분간 방치후 10분간 원심분리하여 여기서 얻은 상징액 5 ml에 발색의 목적으로 Nash reagent를 첨가하고 60℃에서 30분간 반응시킨 후 다시 원심분리하여 상징액을 취하여 파장 415 nm에서 그 흡광도를 측정하고 표준곡선에 준하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 mg protein이 생성한 formaldehyde n mole로서 표시하였다.

4) Aniline hydroxylase의 활성

반응액 2 ml중 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(30-400 g의 단백질)을 가하여 이 액을 37℃에서 20분간 반응시켰다. 다음 반응을 종료시킬 목적으로 20% trichloroacetic acid를 가한 후 10분간 원심분리 하여 상징액에 발색의 목적으로 10% Na_2CO_3와 0.2N-NaOH(2% phenol 함유)를 넣고 37℃에서 30분간 반응시킨 후 파장 640 nm에서 그 흡광도를 읽고 표준곡선에서 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분간에 mg protein이 생성한 p-aminophenol n mole로서 표시하였다.[10]

5) Glutathione S-transferase의 활성

0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5) 중에 기질인 1 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 1 mM glutathione을 넣고 일정량의 효소액을 함유한 반응액을 25℃에서 10분간 반응시킨 후 생성된 glutathione-2,4-dinitrobenzene conjugate를 340 nm에서 흡광도를 측정한 다음 1-chloro-2,4-dinitrobenzene의 mole흡광계수 9.6 $nM^{-1}cm^{-1}$을 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분간 mg protein이 생성한 2,4-dinitrobenzene glutathione의 n mole수로 표시하였다.[11]

6) Epoxide hydrolase의 활성

50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0)에 기질로서 trans-stilbene oxide(TSO, 3 mM)와 효소원(100-200 μg의 단백질)을 가하여 반응액이 3 ml되도록 하였다. 이 반응액을 37℃에서 20분간 반응시켰을 때 이때 소실되는 기질의 양을 229 nm에서 흡광도의 감소되는 것을 읽고 표준곡선에서 활성도를 산정하였다. 효소 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 기질인 trans-stilbene oxide의 양을 n mole수로 나타내었다.[12]

결과 및 고찰

해양생물은 식용이외에 의약자원 등으로의 이용은 제한되어 왔으나 근래 해조, 해변, 연체 및 원색동물로부터 3,000이 넘는 신규화합물이 분리되어져 항암제, 항염증제 등의 의약품개발이 임박한 화합물도 있다.[1] 해조류는 육상생물에 없는 특유의 대사양

Table I. Effect of marine algae on the hepatic lipid peroxidation content in bromobenzene-treated rats *in vitro*

Group	Conc.(mg/ml)	Content (MDA n mole/g of tissue)	% of control
Control		58.4 ± 9.68^{a}	
Capsosiphon fulvescens	10^{-3}	59.1 ± 1.19^{a}	101
	10^{-2}	$49.2\pm1.29^{b,c,d,e}$	84
	10^{-1}	$39.8\pm1.50^{f,g,h}$	68
	1	$32.0\pm8.35^{i,j}$	55
Enteromorpha compressa	10^{-3}	59.1 ± 1.41^{a}	101
	10^{-2}	$50.5\pm2.59^{b,c,d}$	86
	10^{-1}	$45.8\pm1.70^{d,e,f,k}$	78
	1	$43.0\pm4.34^{f,g,k}$	74
Gelidium amansii	10^{-3}	59.3 ± 1.23^{a}	102
	10^{-2}	$52.0\pm1.81^{b,c}$	89
	10^{-1}	$46.3\pm2.78^{c,d,e,k}$	79
	1	$43.5\pm7.39^{e,f,g,k}$	74
Hizikia fusiformis	10^{-3}	58.9 ± 1.77^{a}	101
	10^{-2}	$54.9\pm2.36^{a,b}$	98
	10^{-1}	$34.5\pm3.11^{h,i}$	59
	1	19.6 ± 4.61^{l}	34
Sargassum siliquastrum	10^{-3}	$49.2\pm2.12^{b,c,d,e}$	84
	10^{-2}	$37.5\pm2.78^{g,h,i}$	64
	10^{-1}	$27.1\pm1.92^{j,m}$	46
	1	12.1 ± 0.62^{n}	21
Sargassum thunbergii	10^{-3}	59.5 ± 1.68^{a}	102
	10^{-2}	$48.5\pm1.99^{c,d,e,k}$	83
	10^{-1}	$35.1\pm2.62^{h,i}$	60
	1	$23.7\pm1.98^{l,m}$	41

The values are mean±S.D. of three replications. [a-n]Sharing the same superscript letter are not significantly different from control($p<0.05$).

식을 가지고 육상자원식물과는 다른 새로운 생물활성물질이 기대됨에 따라 앞으로는 신규 천연물의 탐색 가능성이 해조류에서 보다 관심이 높으며 이에 대한 연구도 활성화되어 가고 있는 추세이다.

남해안에서 채집한 16종의 해조류 MeOH 추출물을 대상으로 시험관내에서 bromobenzene으로 간장독성을 유발한 흰쥐의 지질과산화 생성에 대해 관찰하였다. 이중 *Enteromorpha compressa*(납작파래), *Capsosiphon fulvescens*(매생이), *Gelidium amansii*(우뭇가사리), *Hizikia fusiformis*(톳), *Sargassum siliquastrum*(과배기모자반), *Sargassum thunbergii*(지충이)의 추출물이 10^{-1} mg/ml에서는 각각 22%, 32%, 21%, 41%, 54% 및 40% 그리고 1 mg/ml 농도에서는 26%, 45%, 26%, 66%, 79%와 59% 지질과산화의 생성을 감소시켰다(Table I). 이중 우뭇가사리와 톳은

Table II. Effect of marine algae on the hepatic lipid peroxidation content in bromobenzene-treated rats *in vitro*

Group	conc. (1 mg/ml)	content (MDA n mole/g of tissue)
Control		58.5 ± 99.68^{ns}
Carpopeltis affinis		58.2±7.09
Carpopeltis cornea		58.2±8.99
Chondrus cripus		57.4±5.49
Dilophus okamurae		57.8±8.76
Ishige okanurae		55.9±9.74
Lomentaria catenata		60.0±3.74
Myelophycus simplex		58.4±9.26
Sargassum confusum		59.0±9.50
Sargassum horneri		54.6±8.15
Ulva pertusa		59.1±6.77

The values are mean±S.D. of three replications. [ns]Not significant.

streptozotocin으로 유도한 흰쥐에서의 지질과산화억제작용은 없었으나[2] bromobenzene처리 흰쥐에서는 상기와 같은 저해활성을 보였다. 활성이 강한 *Sargassum siliquastrum* 추출물로부터 얻은 분획물을 같은 방법으로 관찰한 결과 n-BuOH 층의 억제활성이 가장 강하였다(Table III). 이에 대한 활성화합물의 분리는 계속 연구중이다. 이러한 free radical의 생성계에 관여하는 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase 활성에 대한 영향을 상기 6종 해조류 추출물에 대해 관찰하였다(Table IV, V). Xanthine oxidase와 aldehyde oxidase는 cytosole 분획에 존재하는 molybden함유 산화효소로서 생화학적 반응을 촉매하는 과정에서 반응액중의 산소분자를 전자수용체로 활용하고 있으므로 superoxide anion, hydrogen peroxide 및 최종적으로 hydroxyl radical을 생성한다.

실험에 사용한 납작파래, 매생이, 우뭇가사리, 톳,

Table III. Effects of fractions from *Sargassum siliguastrum* on the hepatic hepatic lipid peroxidation in bromobenzene-treated rats *in vitro*

Group	Conc. (mg/ml)	content
		MDA n mole/g of tissue
Control		57.3±1.22[a]
$CHCl_3$ fr.	10^{-3}	58.0±2.09[a]
	10^{-2}	57.1±1.26[a]
	10^{-1}	57.0±1.58[a]
	1	56.9±1.48[a]
EtOAc fr.	10^{-3}	57.6±1.03[a]
	10^{-2}	57.5±1.14[a]
	10^{-1}	50.3±0.85[b]
	1	20.5±1.53[c]
n-BuOH fr.	10^{-3}	43.6±0.61[d]
	10^{-2}	32.4±0.32[e]
	10^{-1}	25.0±0.31[f]
	1	21.7±0.42[c]

The values are mean±S.D. of three replications. [a-f]Sharing the same superscript letter are not significantly different from control ($p<0.05$).

Table IV. Effect of marine algae on the hepatic cytosolic xanthine oxidase activity in bromobenzene-treated rats *in vitro*

Group	Conc. (mg/ml)	Activity	% of control
		Uric acid n mole/mg protein/min	
Control		3.88±29[a,b]	
Capsosiphon fulvescens	10^{-3}	4.01±0.12[a]	103
	10^{-2}	3.93±0.15[a,b]	101
	10^{-1}	3.24±0.11[c,d]	84
	1	2.89±0.11[e,f]	74
Enteromorpha compressa	10^{-3}	4.04±0.21[a]	104
	10^{-2}	4.02±0.25[a]	104
	10^{-1}	3.66±0.12[b,g]	94
	1	3.18±0.27[c,d,e]	82
Gelidium amansii	10^{-3}	4.02±0.10[a]	104
	10^{-2}	4.00±0.13[a,b]	103
	10^{-1}	3.27±0.14[c,d]	84
	1	3.11±0.17[c,d,e]	80
Hizikia fusiformis	10^{-3}	3.95±0.12[a,b]	102
	10^{-2}	3.96±0.22[a,b]	102
	10^{-1}	2.75±0.07[f]	71
	1	2.35±0.14[h]	61
Sargassum siliquastrum	10^{-3}	3.99±0.06[a,b]	103
	10^{-2}	2.97±0.31[d,e,f]	77
	10^{-1}	2.27±0.09[h]	59
	1	1.89±0.05[i]	49
Sargassum thunbergii	10^{-3}	4.09±0.19[a]	105
	10^{-2}	3.44±0.16[c,g]	89
	10^{-1}	2.89±0.18[c,d,e]	74
	1	2.70±0.20[f]	70

The values are mean±S.D. of three replications. [a-i]Sharing the same superscript letter are not significantly different from control ($p<0.05$).

Table V. Effect of marine algae on the hepatic cytosolic aldehyde oxidase activity in bromobenzene-treated rats *in vitro*

Group	Conc. (mg/ml)	Activity: 2-Pyridone n mole/mg protein/min	% of control
Control		2.03 ± 0.13^{a}	
Capsosiphon fulvescens	10^{-3}	2.06 ± 0.14^{a}	101
	10^{-2}	2.03 ± 0.07^{a}	100
	10^{-1}	$1.69\pm0.08^{b,c,d}$	83
Enteromorpha compressa	1	$1.55\pm0.03^{d,e,f,g}$	76
	10^{-3}	2.07 ± 0.07^{a}	102
	10^{-2}	1.99 ± 0.07^{a}	98
	10^{-1}	1.73 ± 0.18^{b}	85
Gelidium amansii	1	$1.67\pm0.12^{b,c,d,e}$	82
	10^{-3}	2.03 ± 0.10^{a}	100
	10^{-2}	1.98 ± 0.05^{a}	98
	10^{-1}	$1.77\pm0.04^{b,h}$	87
Hizikia fusiformis	1	$1.67\pm0.07^{b,c,d,e}$	82
	10^{-3}	2.01 ± 0.04^{a}	99
	10^{-2}	$1.93\pm0.08^{a,h}$	95
	10^{-1}	$1.47\pm0.09^{f,g}$	72
Sargassum siliquastrum	1	$1.30\pm0.10^{i,j}$	64
	10^{-3}	2.01 ± 0.12^{a}	99
	10^{-2}	$1.612\pm0.07^{b,c,d,e,f}$	79
	10^{-1}	$1.41\pm0.09^{g,i}$	69
Sargassum thunbergii	1	1.17 ± 0.07^{j}	58
	10^{-3}	2.01 ± 0.06^{a}	99
	10^{-2}	$1.72\pm0.09^{b,c}$	85
	10^{-1}	$1.56\pm0.17^{c,d,e,f,g}$	77
	1	$1.52\pm0.15^{e,f,g}$	75

The values are mean±S.D. of three replications. [a-j]Sharing the same superscript letter are not significantly different from control ($p<0.05$).

과배기모자반 및 지충이는 1 mg/ml 농도에서 bromobenzene에 의해 유도된 xanthine oxidase 활성에서는 각각 18%, 26%, 20%, 39%, 51% 및 30%, 그리고 aldehyde oxidase 활성에서는 같은 농도에서 18%, 24%, 18%, 36%, 42% 및 25%의 억제작용이 관찰되었다. 이같은 결과에서 6종의 해조류 추출물은 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase활성을 저해하여 free radical의 생성을 방해함으로써 지질과산화의 생성이 억제되는 것으로 사료된다.

한편 해조류 *Ecklonia stolonifera*에서 분리한 페놀성 화합물인 phlologlucinol에 대한 간 해독작용도 검토하였다. 즉 이 화합물의 과산화지질 생성 및 epoxide 해독계 효소에 미치는 영향을, bromobenzene을 model약물로 한 흰쥐를 대상으로 생체내 실험에서 관찰하였다. Epoxide 독성유발 model로 bromobenzene을 흔히 사용하고 있다. Bromobenzene은 mixed function oxidation system에 의하여 독성이 강한 bromobenzene-3,4-oxide로 전환되며 이 epoxide를 대사시켜 독성이 없는 bromobenzene-3,4-dihyrodiol로 대사시키는 효소가 epoxide hydrolase이며 또 다른 계로는 glutathione S-transferase에 의하여 bromobenzene glutathione 으로 배설된다.[13]

Phloroglucinol이 epoxide생성에 어떤 영향을 주는가를 관찰할 목적으로 과산화지질의 간장중 함량을 bromobenzne 단독 투여군과 비교 관찰하였던 바 bromobenzene에 의하여 증가된 과산화지질의 함량이 감소하였다(Table VI). 이러한 결과는 bromobenzene의 중간 대사산물중 반응성이 강하

Table VI. Effects of phloroglucinol on the hepatic lipid peroxide (LPO), aminopyrine N-demethylase (AD), aniline hydroxylase (AH), cytosolic glutathione S-transferase (GST) and epoxide hydrolase (EH) acti- vities in bromobenzene-treated rats

Group	Dose (mg/kg)	LPO[1]	AD[2]	AH[3]	GST[4]	EH[5]
Control	0	21.3±3.22[a]	4.80±0.63[a]	0.47±0.09[a]	270.3±10.2[a]	11.6±2.07[a]
Bromobenzene (BB)	46	41.3±4.72[b]	6.10±0.89[a,b]	0.98±0.13[b]	283.4±12.4[a]	5.21±0.79[b]
Phloroglucinol+BB	10	30.9±4.26[c]	7.00±0.62[b]	0.87±0.15[b]	276.2±18.9[a]	8.87±0.86[a]

The values are mean±S.D. in five rats. [a-c]Sharing the same superscript letter are not significantly different from control ($p<0.05$). [1]unit: malondialdehyde nmole/ g of tissue. [2]unit: p-aminophenol nmole/mg protein/min. [3]unit: HCHO-nmole/mg protein/min. [4]unit: conjugated 1,2-dichloro-4-nitrobenzene. [5]unit: TSO nmole/mg protein/min.

여 생체에 유독한 bromobenzene-3,4-oxide의 생성이 촉진된 결과로 생각된다. 이러한 과산화지질의 생성 억제작용의 원인을 구명할 목적으로 aminopyrine N-demethylase, aniline hydroxylase 및 glutathione S-transferase 활성 변동을 검토하였다. Phloroglucinol로 전처리하고 bromobenzene을 투여한 실험군에서 활성의 변동은 나타내지 않았다. 따라서 glutathione S-transferase를 매개로 하는 대사과정에 관여하여 bromobenzene이 유도하는 epoxide를 해독시키는 효과는 없는 것으로 사료된다. 다른 해독계로서 epoxide를 가수분해하여 독성이 없는 dihydrodiol로 대사시키는 효소인 epoxide hydrolase활성에는 어떠한 영향을 주는가를 관찰하였다. Bromobenzene 단독 투여로 대조군보다 55% 억제작용이 나타났으며, 이 화합물을 전처리한 군에서는 bromobenzene에 의한 감소된 효소의 농도를 대조군의 76% 수준으로 회복시켰다. 이상의 결과로서 phlologlucinol에 의한 bromobenzene 유도 흰쥐에서 지질과산화 억제활성은 epoxide hydrolase이 관여하는 것으로 사료된다.

결 론

16종 해조류 MeOH 추출물을 대상으로 시험관내에서 bromobenzene으로 유도된 흰쥐의 지질과산화 생성에 대해 관찰하였다. 이중 *Enteromorpha compressa, Capsosiphon fulvescens, Gelidium amansii, Hizikia fusiformis, Sargassum siliquastrum, Sargassum thunbergii* 추출물이 10^{-1} mg/ml에서 각각 22%, 32%, 21%, 41%, 54% 및 40% 그리고 1 mg/ml 농도에서는 26%, 45%, 26%, 66%, 79%와 59% 지질과산화의 생성을 감소시켰다. 이중 *Sargassum siliquastrum* 추출물의 분획물은 n-BuOH층의 억제활성이 가장 강하였다. Bromobenzene에 의해 유도된 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase활성에서는 추출물의 1 mg/ml 농도에서 모두 억제하였다. 이 같은 결론은 6종의 해조류 추출물은 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase활성을 저해하여 free radical의 생성을 방해함으로써 지질과산화의 생성이 억제되는 것으로 사료된다. 해조류 *Ecklonia stolonifera*에서 분리한 phlologlucinol의 경구투여에서도 bromobenzene에 의하여 증가된 과산화지질의 함량을 감소시켰다. 약리기전 검토에서 이 화합물은 glutathione S-transferase, aminopyrine N-demethylase, aniline hydroxylase의 활성 변동은 나타나지 않았으나, epoxide hydrolase 농도를 대조군의 76% 수준으로 회복시켰다. 따라서 phlologlucinol에 의한 bromobenzene 유도 흰쥐에서 지질과산화 억제활성은 epoxide hydrolase가 관여하는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 1996년도 교육부 학술연구조성비(해양수산과학분야, KIOS-96-F-09)의 지원에 의한 것입니다.

인용문헌

1. 정지형 (1996) 해양생물로부터 생리활성물질 탐색. 김영섭 정현도 편, 수산과학의 하이테크, 219-220. 부산수산대학교 해양과학공동연구소.
2. Park, J. C. and Choi, J. W (1996) Screening of

marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn.* 27: 117-122.

3. Choi, J. W. and Park, J. C. (1996) Protective effect of marine natural products on the hepatic lipid peroxidation in acetaminophen-teated rats. *Yakhak Hoeji* 40: 574-581.
4. Zampaglione, N., Jollow, D. J., Mitohell, J. R., Manrick, M. and Gillette, J. R. (1973) Role of detoxifying enzymes in bromobenzene-induced liver necrosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187: 218-227.
5. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358.
6. Lowry, O. H., Rodebrough, N. J. Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
7. Stripe, F. and Della Corte, E. (1969) The reaction of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.* 244: 3855-3863.
8. Rajagopalan, K. V., Fridovich, I. and Handler, P. (1962) Hepatic aldehyde oxidase. I. Purification and properties. *J. Biol. Chem.* 237: 922-928.
9. Nash, T. (1953) The colorimetric estimarion of formaldehyde by means of the hentisch reaction. *J. Biol. Chem.* 55: 412-416.
10. Bidlack, W. R. and Lowry, G. L. (1982) Multiple drug metabolism: p-Nitoroanisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.* 31: 311-317.
11. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. (1974) The first step in mercapturate acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
12. Hasegawa, L. S. and Hammock, B. D. (1982) Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide hydrolase using trans-stilbene oxide as the substrate. *Biochem. Pharmacol.* 31: 1979-1984.
13. Rush, G. F. Kuo, C. H. and Hook, J. B. (1984) Nephrotoxicity of bromobenzene in mice. *Toxicol. Lett.* 20: 23-29.

(1997년 10월 1일 접수)