

有機燐系 殺虫劑가 Acetylcholinesterase 活性沮害에 미치는 影響

金 政 鎬

大邱韓醫科大學 環境保健學科

Effect of Organophosphorus Insecticides on the Inhibition of the Acetylcholinesterase Activities

Jung-Ho Kim

Department of Environment Health, Taegu Oriental Medical University, Kyungsan, Korea

Abstract

The responses of brain acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activities were examined in chicken given oral doses of an organophosphorus insecticides. Acute oral LD₅₀ of terbufos was 1.82mg/kg, and terbufos sulfone was 2.85mg/kg, terbufos sulfoxide, terbufosoxon, terbufosoxon sulfone and terbufosoxon sulfoxide were about 0.30~0.79mg/kg, respectively. Acute oral LD₅₀ of phorate was 1.02mg/kg, and phorate sulfone was 1.73mg/kg, phorate sulfoxide, phoratoxon, phoratoxon sulfoxide and phoratoxon sulfone were about 0.36~0.63mg/kg, respectively. Dosages of 50% inhibition for brain AChE and plasma ChE activities in chicken at 60 mins after oral administration of organophosphorus insecticides were 35.3±6.8% and 17.4±3.6% of acute oral LD₅₀, respectively. Activities of brain AChE and plasma ChE in chicken at 60 mins after oral administration of acute oral LD₅₀ of organophosphorus insecticides were inhibited by 83.7±3.9% and 93.3±2.2%, respectively.

緒 論

殺虫劑는 作用點에 따라 神經機能沮害劑와 代謝沮害劑로 大別할 수 있으며, 오늘날 大部分의 殺虫劑는 神經機能沮害劑인 有機燐系, carbamate系 및 pyrethroid系가 主種을 이루고 있다고 볼수 있다.

Acetylcholinesterase(AChE)는 神經組織에 多量存在하며 특히 腦는 中樞神經系로서 神經組織이 密集되어 있는 곳이므로¹⁾ 有機燐系 農藥이 腦 AChE 活性의 沮害에 미치는 影響을 研究하는 것은 이들 農藥의 作用機構^{2,3)}와 聯關시켜 볼 때 매우 큰 意義가 있다. 또한 血漿 cholinesterase(ChE)는 神經傳達機構와 關係는 없으나 有機燐系 農藥에 의해 活性이 크게 沮害되므로⁴⁾ 이들 農藥에 의

한 血漿 ChE 活性 沮害를 研究하는 것도 큰 意義를 가진다.

一般的으로 生體內的 많은 酵素들이 農藥處理에 의해 影響을 받는다고 報告^{5,6)}되어 왔으며 특히 神經傳達系에 關聯되는 AChE의 有機燐系⁷⁾ 農藥에 의한 沮害는 毒性學的인 側面에서 많은 研究의 對象이 되고 있는 實情이다.

Wing 등⁸⁾은 *in vivo* 條件에서 1日齡 鳴아리를 使用하여 phosphorothiolate型 殺虫劑를 腹腔 投與한 後 AChE 活性에 對한 投與量反應을 調査하였으며, Pickering 등⁹⁾도 鳴아리에 azodrin과 bidrin을 經口投與한 後 赤血球 AChE와 血漿 ChE에 미치는 影響을 보고한 바 있다. Fleming 등¹⁰⁾은 鳥類를 使用하여 dicrotophos를 投與한 後 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性을 調査하였으며, Gray 등¹¹⁾은 rat에서 methamidophos를 投與한 後 各組織別藥劑의 移動과 AChE 活性沮害는 密接한 關係가 있

다고 하였으며, Aly 等¹¹⁾은 귀뚜라미에서 phorate 가 AChE 活性을 阻害한다고 하였다. 또한 Robinson 等¹²⁾은 rat에 methamidophos를 經口投與 하였을 때 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性阻害가 일어나며 時間이 經過함에 따라서 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性이 漸次的으로 回復된다고 하였으며, Davison¹³⁾과 Westlake 等¹⁴⁾도 各種 有機磷系에 依한 rat의 AChE 活性阻害와 回復되는 傾向을 調査하였다. Weiss¹⁵⁾는 各種 有機磷系가 물고기의 AChE 活性阻害에 미치는 影響을, Voss 等¹⁶⁾은 사람을 비롯한 各種 動物에 對한 AChE 活性에 미치는 影響을 報告한 바 있다.

이와같이 農藥을 開發하여 實用化하기 前에 毒性作用에 關한 研究가 充分히 이루어 져야하며 특히 AChE 活性阻害에 對한 研究가 同時에 이루어 져야 할 것이다. 지금까지 各種 有機磷系 殺虫劑에 대한 AChE 및 ChE 活性阻害에 미치는 影響에 關해서는 많은 研究가 報告⁷⁻¹⁶⁾되어 왔으나 AChE 및 ChE 活性阻害와 LD₅₀과의 關係를 다룬 報文은 거의 없는 實情이어서 이에 對한 體系的인 研究가

要望되고 있다.

따라서 本 研究에서는 有機磷系 殺虫劑에 속하는 terbufos와 phorate 및 그 代謝物들의 急性經口毒性 LD₅₀을 求하고, 이들 化合物의 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性阻害에 對한 投與量反應을 調査하여 이것과 急性經口毒性 LD₅₀과의 關係를 糾明하였다.

材料 및 方法

供試農藥

本 實驗에 使用된 有機磷系 農藥의 一般名과 構造式은 Table 1과 같다.

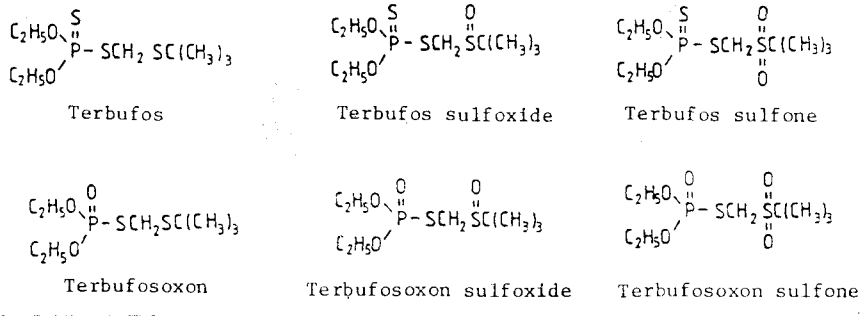
供試農藥(純度 99.9% 以上)은 American Cyanamid社로 부터 分讓받았으며 이를 acetone에 溶解하여 使用하였다.

供試動物

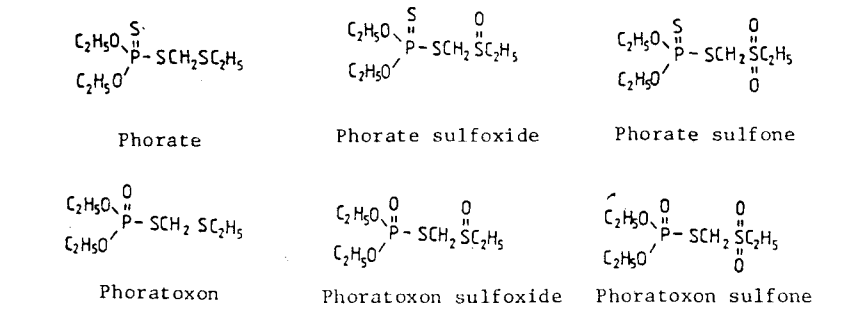
1日齡된 병아리(Hy-Line W-77, ♂)中에서 43~47g되는 健全한 個體를 選別하여 使用하였다.

Table 1. Common name and chemical structure of pesticides

A) Terbufos and its metabolites



B) Phorate and its metabolites



酵素活性度 測定

AChE 및 ChE 活性度 測定은 Ellman 方法¹⁷⁾을 變形한 金等^{18,19)}의 方法에 準하였다.

急性經口毒性 半數致死量 測定

經口用 注射器로 經口投與하고 24時間 後에 致死率을 調査 하였으며, 急性經口毒性 LD₅₀의 計算은 probit 分析方法²⁰⁾에 準하였다.

投與量反應

供試農藥을 各各 0.14, 0.29, 0.58, 1.17 및 2.35mg/kg 經口投與하고 投與 60分 後에 병아리의 頸部를 切斷하고 腦와 血漿을 各各 취하여 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性을 測定하였다. 對照群은 acetone를 同一量 經口投與하였으며, 供試動物數는 投與量 別로 各各 10마리씩 配定하였다.

結果 및 考察

急性經口毒性 半數致死量

*In vivo*에서는 沮害劑가 그대로 作用點에 到達하는 境遇도 있으나, 沮害劑가 生體內 여러가지 酵素에 依해 分解, 代謝되어 作用點에 到達하였을 때는 *in vitro*에서의 化學構造와는 相當한 差異를 가져오는 境遇도 있기 때문에 *in vivo* 조건에서 活性沮害를 檢討하여야하며, 代謝物에 對한 急性經口毒性 LD₅₀을 檢討할 必要가 있다고 하겠다.

Terbufos와 그 代謝物 對한 急性經口毒性 LD₅₀은 Fig. 1 및 Table 2와 같았다.

Terbufos의 急性經口毒性 LD₅₀은 1.81mg/kg이었다. Terbufos sulfone은 terbufos 보다 조금 높은 2.85mg/kg 이었으며, terbufos sulfoxide, terbufo-

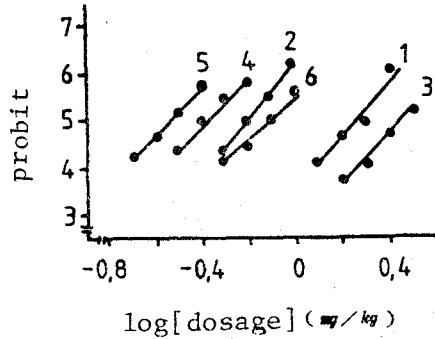


Fig. 1. Acute oral LD₅₀ of Terbufos and its metabolites

- 1. Terbufos 2. Terbufos sulfoxide 3. Terbufos sulfone 4. Terbufosoxon 5. Terbufosoxon sulfoxide 6. Terbufosoxon sulfone

soxon, terbufosoxon sulfone 및 terbufosoxon sulfoxide는 terbufos 보다 조금낮은 0.30~0.79mg/kg 範圍이었다.

한편 phorate와 그 代謝物인 phorate sulfoxide, phorate sulfone, phoratoxon, phoratoxon sulfoxide 및 phoratoxon sulfone에 對한 急性經口毒性 LD₅₀

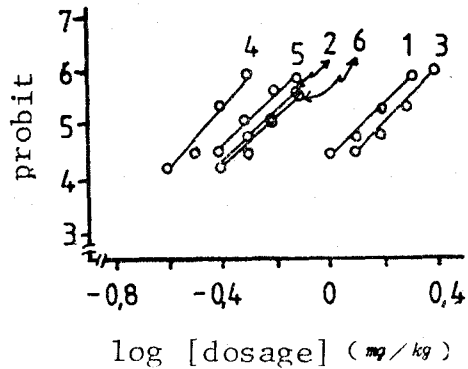


Fig. 2. Acute oral LD₅₀ of phorate and its metabolites

- 1. Phorate 2. Phorate sulfoxide 3. Phorate sulfone 4. Phoratoxon 5. Phoratoxon sulfoxide 6. Phoratoxon sulfone

Table 2. Acute oral LD₅₀ values of Terbufos and its metabolites

Compounds	LD ₅₀ (mg/kg)	Regression equation	r ²
Terbufos	1.82	Y=5.31X+3.62	0.98
Terbufos sulfoxide	0.63	Y=6.15X+6.23	0.99
Terbufos sulfone	2.85	Y=5.23X+2.62	0.99
Terbufosoxon	0.42	Y=4.97X+6.87	0.98
Terbufosoxon sulfone	0.30	Y=4.98X+7.58	0.98
Terbufosoxon sulfoxide	0.79	Y=4.34X+5.43	0.99

Table 3. Acute oral LD₅₀ values of Phorate and its metabolites

Compounds	LD ₅₀ (mg/kg)	Regression equation	r ²
Phorate	1.02	Y=4.30X+4.96	0.98
Phorate sulfoxide	0.61	Y=4.13X+5.88	0.98
Phorate sulfone	1.73	Y=4.96X+3.81	0.98
Phoratoxon	0.36	Y=5.59X+7.42	0.98
Phoratoxon sulfoxide	0.51	Y=4.31X+6.29	0.99
Phoratoxon sulfone	0.63	Y=4.34X+5.87	0.99

은 Fig. 2 및 Table 3과 같았다.

phorate의 急性經口毒性 LD₅₀은 1.02mg/kg이였으며, phorate sulfoxide, phoratoxon, phoratoxon sulfoxide, phoratoxon sulfone은 phorate보다 조금 낮은 0.36~0.63mg/kg 範圍이었다.

phorate와 그 代謝物에 對한 急性經口毒性 LD₅₀

이 rat(male)에서 各各 8~10, 2~4, 1.8~2.0, 0.6~0.8, 1.4~1.6 및 0.6~0.8mg/kg라는 Bowman²³의 報告와, phorate의 急性經口毒性 LD₅₀이 rat(male)에서 1.6~3.7mg/kg이며, terbufos의 急性經口毒性 LD₅₀이 rat(male)는 1.6mg/kg이며, mouse(female)는 5.4mg/kg이라는 報告²² 들이 있

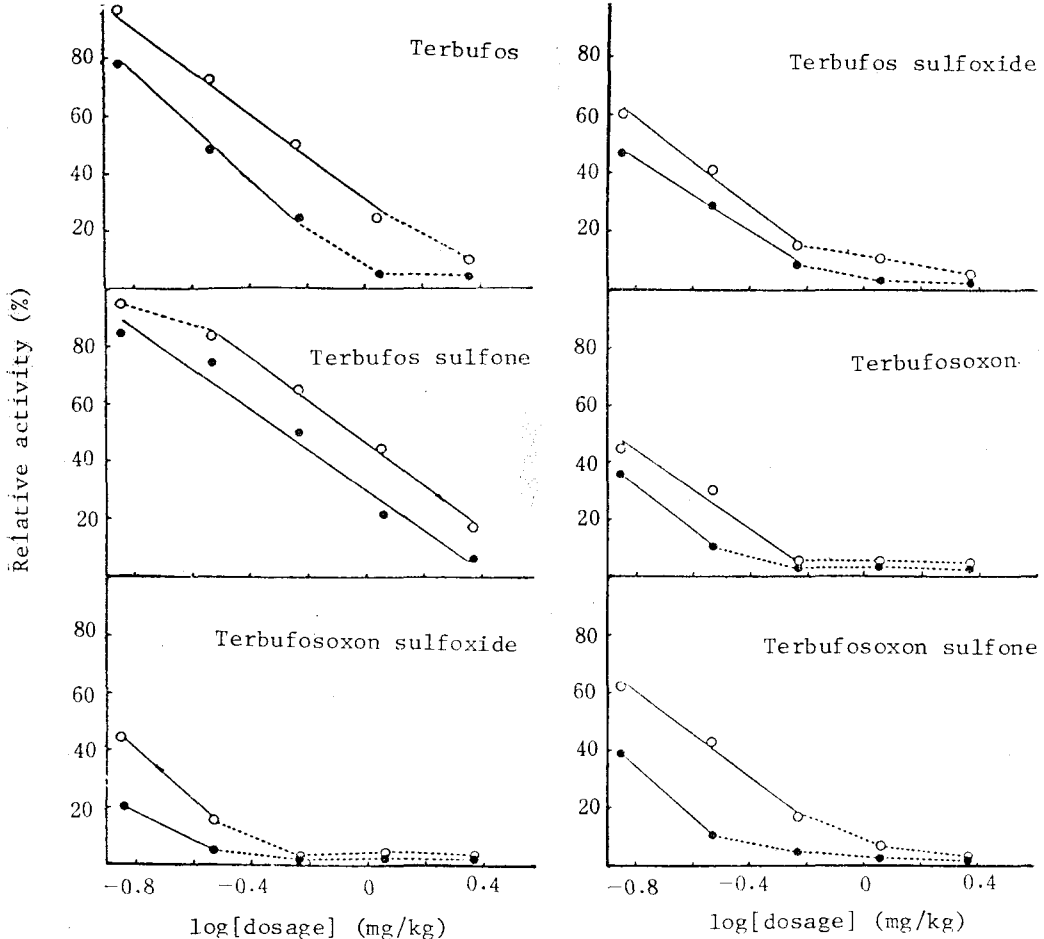


Fig. 3. Brain Acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activities in chicken at 60 mins after oral administration of Terbufos and its metabolites (Brain AChE ○, plasma ChE ●)

다. 이와같은 報告들과 比較하여 보면 병아리에 對한 急性經口毒性 LD₅₀은 rat의 急性經口毒性 LD₅₀과 비슷하거나 조금 낮은 水準이었다. 한편 terbufos 및 phorate와 그 代謝物에 있어서 各各의 化合物에 對한 急性經口毒性 LD₅₀은 *in vitro*에서 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性阻害와 比較하여 볼 때¹⁸⁾ 큰 差異를 보이지 않았다. 이는 藥劑가 體內에서 代謝되어, 分解, 蓄積, 排泄 등의 여러가지 過程을 거치는 동안 中毒症狀이 複合적으로 나타나기 때문일 것으로 思料된다.

投與量 反應

藥劑 間에 酵素活性 阻害率을 比較하기 위해서 一定한 時間에서 酵素活性의 阻害率과 投與量과의 關係를 調査할 必要가 있다. 따라서 terbufos와 그 代謝物을 經口 投與하고 60分 後에 腦 AChE와 血漿 ChE 活性을 測定한 結果는 Fig. 3과 같았다.

投與量反應曲線에서 一定한 投與量 區間中에 $Y=a+b(-\log X)$ [Y=酵素活性(%), X=投與量] 式에 適用되었다.

이는 Wing 等²⁰⁾이 phosphorothiolate을 1~2日齡 된 병아리에 여러量으로 腹腔 投與하여 投與 30分 後에 AChE 活性을 測定한 結果를 $Y=a+b(-\log X)$ [Y=酵素活性(%), X=投與量] 式에 適用시켰으며, Robinson 等¹²⁾이 methamidophos을 rat에 投與한 24時間 後에 腦 AChE와 血漿 ChE 活性阻害率은 $-\log[\text{dosage}]$ 와 直線式이 成立 된다고 한

報告와 잘 일치하였다.

Fig. 3에서 腦 AChE와 血漿 ChE 活性의 50%를 阻害하는데 必要한 投與量과 이들 各各 化合物의 急性經口毒性 LD₅₀에 對한 %로 나타낸 結果는 Table 4와 같았다.

腦 AChE 活性을 50% 阻害 시킬 수 있는 投與量을 살펴보면 terbufos, terbufos sulfoxide, terbufos sulfone, terbufosoxon, terbufosoxon sulfoxide, terbufosoxon sulfone이 各各 0.56, 0.22, 0.88, 0.12, 0.12 및 0.21mg/kg 이었으며, 이들 量을 各各의 化合物에 對한 急性經口毒性 LD₅₀에 對한 %로 나타내면 各各 30, 34, 30, 28, 40 및 26% 이었다. 따라서 腦 AChE 活性을 50% 阻害 시킬 수 있는 投與量은 急性經口毒性 LD₅₀의 31±5% 인 것으로 나타났다.

한편 血漿 ChE 活性을 50% 阻害 시킬 수 있는 投與量을 살펴보면 terbufos, terbufos sulfoxide, terbufos sulfone, terbufosoxon, terbufosoxon sulfoxide 및 terbufosoxon sulfone이 各各 0.30, 0.13, 0.51, 0.09, 0.03 및 0.10mg/kg이었다. 이들 量을 各各의 化合物에 對한 急性經口毒性 LD₅₀에 對한 %로 나타내면 各各 16, 20, 17, 21, 12 및 12% 이었다. 따라서 血漿 ChE 活性을 50% 阻害 시킬 수 있는 投與量은 急性經口毒性 LD₅₀의 16±4% 이었다.

한편 各 化合物의 急性經口毒性 LD₅₀에 該當하는 量을 投與 했을 때 腦 AChE 및 血漿 ChE 活

Table 4. Dosage of 50% inhibition of brain acetylcholinesterase (AChE) and plasma cholinesterase (ChE) from chicken 60min after oral administration of Terbufos and its metabolites

Compounds	Enzyme	Dosage of 50% inhibition (mg/kg)	Dosage of 50% inhibition/LD ₅₀ (%)	Regression equation	r ²
Terbufos	AChE	0.56	30	Y=-74.7X+31.6	0.95
	ChE	0.30	16	Y=-90.9X+3.05	0.98
Terbufos sulfoxide	AChE	0.22	34	Y=-73.2X+2.30	0.96
	ChE	0.13	20	Y=-62.0X-4.79	0.98
Terbufos sulfone	AChE	0.88	30	Y=-74.0X+46.0	0.95
	ChE	0.51	17	Y=-69.3X+30.0	0.92
Terbufosoxon	AChE	0.12	28	Y=-68.3X-11.1	0.94
	ChE	0.09	21	Y=-78.1X-30.9	0.99
Terbufosoxon sulfoxide	AChE	0.12	40	Y=-90.0X-32.5	0.92
	ChE	0.03	12	Y=-51.5X-22.8	0.99
Terbufosoxon sulfone	AChE	0.21	26	Y=-72.4X+1.79	0.98
	ChE	0.10	12	Y=-89.0X-36.7	0.99

Table 5. Inhibition ratio(%) of brain acetylcholinesterase(AChE) and plasma cholinesterase(ChE) from chicken 60min after oral administration of LD₅₀ of Terbufos and its metabolites

Enzyme	Inhibition(%)						Mean ± SD (%)
	Terbufos	Terbufos sulfoxides	Terbufos sulfone	Terbufos oxon	Terbufos oxon sulfoxides	Terbufos oxon sulfone	
AChE	87.1	83.1	87.3	85.9	86.3	91.0	86.7±2.5
ChE	95.0	93.0	92.0	95.0	94.0	95.0	94.0±1.3

性 阻害率은 Table 5와 같았다.

急性經口毒性 LD₅₀에 該當하는 量을 投與했을 때 腦 AChE 活性이 86.7±2.5% 阻害되며, 血漿 ChE 活性은 94.0±1.3% 阻害된다.

Terbufos와 代謝과정 이 類似한 Phorate와 그 代謝物을 經口投與하고 60分 後에 腦 AChE와 血漿 ChE 活性을 測定한 結果는 Fig. 4와 같았으며, 腦 AChE 活性을 50% 阻害 시킬 수 있는 投與量은

Table 6과 같았다.

한편 各 化合物의 急性經口毒性 LD₅₀에 該當하는 量을 投與 할 境遇 酵素活性 阻害率은 Table 7과 같았다. 이들 結果도 terbufos 및 그 代謝物에 對한 結果와 類似하였다.

위의 結果를 定理하여 보면 이들 各 化合物에 對한 腦 AChE 活性을 50% 阻害시킬 수 있는 投與量은 急性經口毒性 LD₅₀의 39±6%이고 血漿

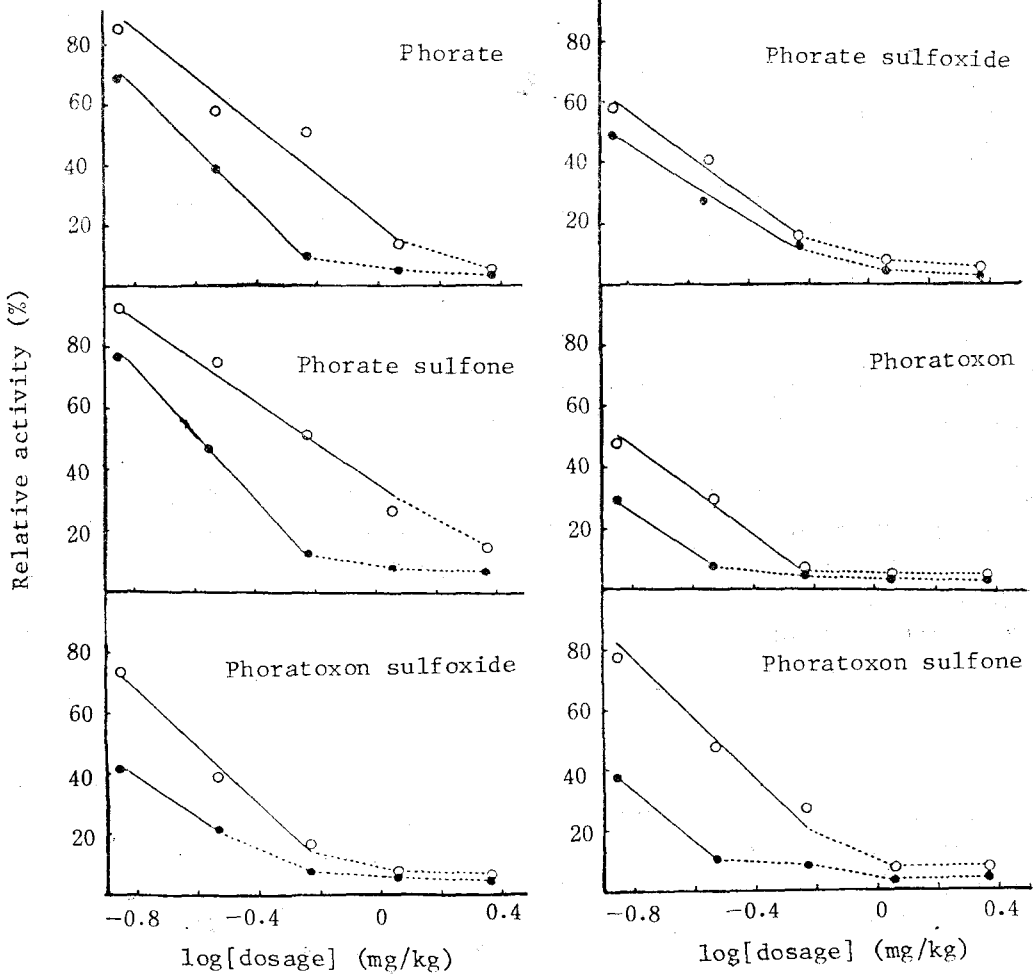


Fig. 4. Brain acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activities in chicken at 60 mins after oral administration of Phorate and its metabolites(Brain AChE ○, plasma ChE ●)

Table 6. Dosage of 50% inhibition of brain acetylcholinesterase(AChE) and plasma cholinesterase (ChE) from chicken 60min after oral administration of Phorate and its metabolites

Compounds	Enzyme	Dosage of 50% inhibition (mg/kg)	Dogage of 50% inhibition/LD ₅₀ (%)	Regression equation	r ²
Phorate	AChE	0.42	41	Y=-79.7X+20.7	0.86
	ChE	0.22	21	Y=-102.3X+16.1	0.99
Phorate sxlfoxide	AChE	0.19	31	Y=-69.1X+1.20	0.96
	ChE	0.13	21	Y=-61.3X-3.93	0.97
Phorate sulfone	AChE	0.61	35	Y=-66.1X+36.1	0.95
	ChE	0.25	14	Y=-107.8X-13.3	0.98
Phoratoxon	AChE	0.14	38	Y=-71.6X-10.7	0.98
	ChE	0.06	19	Y=-68.7X-29.4	0.99
Phoratoxon sulfoxide	AChE	0.24	47	Y=-94.5X-8.39	0.96
	ChE	0.10	21	Y=-68.7X-16.4	0.86
Phoratoxon sulfone	AChE	0.28	44	Y=-87.2X+3.05	0.98
	ChE	0.10	15	Y=-85.9X-35.5	0.99

Table 7. Inhibition ratio(%) of brain acetylcholinesterase(AChE) and plasma cholinesterase(ChE) from chicken 60min after oral administration LD₅₀ of Phorate and its metabolites.

Enzyme	Inhibition(%)						Mean ± SD (%)
	Phorate	Phorate sulfoxide	Phorate sulfone	Phorate oxon	Phorate oxon sulfoxides	Phorate oxon sulfone	
AChE	80.1	84.3	79.2	79.2	81.0	79.6	80.5±1.9
ChE	95.2	90.1	90.2	96.0	94.0	90.0	92.5±2.7

ChE는 18±3%이었다. 또한 各各 化合物의 急性 經口毒性 LD₅₀ 投與量에서는 腦 AChE 活性이 80.5±1.9% 阻害되며, 血漿 ChE 活性은 92.5±2.7% 阻害된다.

이와 같은 投與量과 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性阻害率과의 相關關係는 다른 有機磷系 殺虫劑에 도 適用할 수 있을 것으로 생각되며, 또한 이들 酵素의 阻害劑에 依한 毒性 程度를 測定할 수 있는 指標로 使用될 수 있을 것으로 思料된다.

초 록

Terbufos 및 phorate와 그 代謝物에 對한 各各의 急性經口毒性 LD₅₀ 값 및 酵素活性阻害率과 投與量反應과의 關係를 糾明한 結果는 다음과 같았다. 병아리에 對한 terbufos의 急性經口毒性 LD₅₀ 은 1.82mg/kg이었으며, P=S, SO₂는 2.85mg/kg, P=S, SO, P=O, S, P=O, SO, 및 P=O, SO₂는

0.30~0.79mg/kg 範圍이었다. 또한 phorate는 1.02mg/kg 이었으며, P=S, SO₂는 1.73mg/kg, P=S, SO, P=O, S, P=O, SO 및 P=O, SO₂는 0.36~0.63mg/kg 範圍이었다. 藥劑를 經口投與하고 60分 後에 測定한 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性 阻害率과 投與用量과는 Y=a+b(-log X)(Y=酵素活性(%), X=投與量)式에 잘 適用되었다. Terbufos 및 phorate와 그 代謝物에 對한 各各의 投與反應曲線에서, 腦 AChE 活性 및 血漿 ChE 活性의 50%를 阻害시킬 수 있는 投與量은 各各 急性 經口毒性 LD₅₀의 35.3±6.8%와 17.4±3.6%이었다. 또한 各各의 化合物에 對한 急性經口毒性 LD₅₀ 投與量에서는 腦 AChE 및 血漿 ChE 活性阻害가 各各 83.7±3.9% 및 93.3±2.2%이었다.

參 考 文 獻

1. Eto, M.: Organophosphorus Pesticides: Orga-

- nic and Biological Chemistry, CRC Press, pp. 1~368(1974)
2. Agarwal, M.L., Agrawal, R. and Tayal, M. S.: Pestic. Biochem. Physiol., 22 : 32(1984)
 3. Ahn, Y.J., Shono, T. and Fukami, J.I.: Pestic. Biochem., 26 : 231(1986)
 4. Matsumura, F.: Toxicology of Insecticides, Plenum Press, New York, pp.105~164(1975)
 5. Lin, P.T., Main, A.R., Tucker, W.P., Motoyama, N. and Dauterman, W.C.: Pestic. Biochem. Physiol., 21 : 223(1984)
 6. Devanshire, A.L. and Moores, G.D.: Pestic. Biochem. Physiol., 18 : 235(1982)
 7. Wing, K.D., Glickman, A.H. and Casida, J.E.: Pestic. Biochem. Physiol., 21 : 22(1984)
 8. Pickering, C.E. and Pickering, R.G.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 39 : 229(1977)
 9. Fleming, W.J. and Grue, C.E.: Pestic. Biochem. Physiol., 16 : 129(1981)
 10. Gray, A.J., Thompson, C.M. and Fukuto, T.R.: Pestic. Biochem. Physiol. 18 : 28(1982)
 11. Aly, M.T.A. and Galley, D.J.: Pestic. Biochem. Physiol., 16 : 105(1981)
 12. Robinson, C.P. and Beiergrohlein, D.: Pestic. Biochem. Physiol., 13 : 267(1980)
 13. Davison, A.N.: Biochem. J., 60 : 339(1953)
 14. Westlake, G.E., Bunyan, P.J., Johnson, J.A., Martin, A.D. and Stanley, P.I.: Pestic. Biochem. Physiol., 18 : 49(1982)
 15. Weiss, C.M.: Sewage Industrial Wasters, 31 : 580(1958)
 16. Voss, G., and Sachsse, K.: Toxicol. Appl. Pharmacol., 16 : 764(1970)
 17. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, Jr. V. and Featherstone, R.M.: Biochem. Pharmacol., 7 : 88(1961)
 18. 金政鎬, 洪鍾旭 : 韓國環境農學會誌, 6(2) : 77 (1987)
 19. 金政鎬 : 慶北大學校, 博士學位論文(1986)
 20. Finney, D.J.: Probit Analysis, 3rd ed., Cambridge Univ. Press., pp.19~80(1971)
 21. Bowman, J.S. and Casida, J.E.: J. Econ. Entomol., 51 : 838(1958)
 22. Giang, P.A. and Schechter, M.S.: Agric. Food Chem., 8 : 51(1960)