

## Captafol이 血液像 및 藥物代謝酵素에 미치는 影響

박귀례·홍사옥

성균관대학교 약학대학

(Received November 25, 1988)

### Effect of Captafol on the Serum Parameter and Drug Metabolizing Enzyme in Rats

Kui Lea Park and Sa Uk Hong

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

**Abstract**—Examination of the subacute toxicity of captafol showed that.

- 1) In the captafol administered group, the body weight was significantly decreased but the amounts of AST, ALT, LDH, BUN, TG in serum were remarkably elevated in comparison to those of the control group.
- 2) In captafol treated animals, the amount of cytochrome P-450 and the activity of NADPH-cytochrome c reductase in liver and in kidney were decreased, but TAB value in serum and in liver and total ATPase activity in liver and in kidney were found to be remarkably elevated.
- 3) When captafol administered with ethanol to the group, the group showed elevated serum levels of AST, ALT and BUN but the amount of cytochrome P-450 and the activity of NADPH-cytochrome c reductase in liver and in kidney were decreased as the group which was treated with captafol only.

N-sulfenylphthalimide系 fungicide인 captafol, captan 및 folpet은 用途가 광범위해지고 使用頻度도 많아 人體에 노출되어 우리 健康에 害를 미칠 기회도 적지않다. 이들의 殺菌作用機轉은 細胞內 dehydrogenase의 活性을 抑制하고 단백질변성을 誘發하여 發芽真菌細胞子の 菌絲成長을 억제하는 것으로 알려져 있다.<sup>1)</sup>

이들 농약에 의한 급성중독의 예는 적으나 만성중독 때에는 피부 allergy 및 呼吸器에 대한 過敏反應 등을 일으키고 특히 captafol에서 현저한 것으로 보고되고 있다.<sup>2-6)</sup> 이들 fungicide는 構造上 thalidomide와 유사하므로 催畸性,<sup>7-12)</sup> 發癌性<sup>13,14)</sup>과 變異原性<sup>15-18)</sup>에 관해서 許多히 보고하고 있으나 서로 상반되는 論理,<sup>15,18,19)</sup>를 전개하여 아직 명확한 結論은 얻지 못하고 있다.

한편 Seider 等<sup>20)</sup>은 captan을 rat에 經口投與하고 간, 신장을 위시한 各種器官內的 分布相과 排泄에 관하여 보고하였다. Peeples 等,<sup>21)</sup> Ashley 等<sup>22)</sup>은 captan과 folpet을 경구 및 복강투여하여

吸收, 排泄 및 代謝에 관하여 보고하는 한편 肝毒性을 비교한 바 있다. WHO에서는 captafol에 인한 rat의 간 및 신장의 병리조직학적 소견을 보고<sup>23)</sup>한 바 있다. captan이나 folpet의 독성은 代謝產物인 thiophosgen에 의한 作用<sup>24-26)</sup>인지 分子自體의 직접작용<sup>22,27,28)</sup>인지는 명확하지 않으나 毒性發現은 體內 sulfhydryl group에 대한 化學的 親和性<sup>1,29,30)</sup>에 기인하며 肝 glutathione의 감소<sup>31)</sup>로 肝毒性은 더욱 증가할 것이라고 하였다. Nelson<sup>32)</sup>은 captan이 ATPase를 상승시키며 반복투여할 때 細胞膜의 SH group과 반응하여 膜의 구조가 변화한다고 보고하였다. 또한 peeples 等,<sup>21)</sup> Ashley 等<sup>22)</sup>은 captan이나 folpet을 rat에 투여할 때 benzphetamine N-demethylase와 aniline hydroxylase 활성이 억제되고 cytochrome P-450 함량도 감소한다고 하였다. 또한 peeples 等<sup>21)</sup>과 Dalvi 等<sup>27)</sup>은 captan과 folpet의 過酸化脂質作用을 CCl<sub>4</sub>와 구조가 유사한 trichloromethylthio moiety와 관련지어 설명하고 있다.

이와같이 그간 captan과 folpet에 대한 毒性學的 研究는 이루어지고 있으나 captafol의 毒性에 관한 研究는 희소하다. 따라서 著者 등은 captafol이 rat의 血液像과 간 및 신장에 미치는 毒性學的 變化를 追究하는 동시에 ethanol에 대한 影響도 관찰하였기에 이에 보고하는 바이다.

## 實驗方法

### 1. 實驗動物 및 藥物投與 方法

體重 200g 내외의 건강한 雄性 Sprague-Dawley系 흰쥐를 삼육축산(경기도 화성군)에서 분양받아 市販飼料(제일제당)로 1주간 사육하여 實驗室 環境에 適應시켜 使用하였다.

飼料組成은 組蛋白質 22%, 組脂肪 3.5%, 組纖維 6%, 灰分 9%, Ca 0.6%, P 0.4%이다.

Rat 8~10마리를 1群으로 하여 아래와 같은 實驗群으로 구분하였다.

**對照群**—Dimethylsulfoxide (DMSO) 5ml/kg을 腹腔內 投與한 直後에(2日 간격으로 계속 5回) saline 5ml/kg을 經口投與하였다.

**Captafol 單獨投與群**—Captafol(순도 92%) 粉末을 DMSO에 溶解하여 3mg/kg을 2日 간격으로 5回 腹腔內에 投與하였다.

**Ethanol 單獨投與群**—Ethanol 1g/kg을 2日 간격으로 5回 經口投與하였다.

**Captafol 및 ethanol 併用投與群**—Captafol 3mg/kg을 腹腔內 投與한 直後에 ethanol 1g/kg을(2日 간격으로 5回) 經口投與하였다.

### 2. 體重, 肝 및 腎臟의 重量測定

實驗用 rat의 體重變化를 계측한 후 腹部大動脈에서 채혈하였다. 채혈 후 肝과 腎臟을 0.9% NaCl 용액으로 灌流<sup>33-35)</sup>하여 血液을 除去한 다음 摘出하여 重量變化를 계측하였다.

### 3. 肝 및 腎臟의 microsome 分割의 分離

摘出した 肝 및 腎臟을 잘게 썰어서 0.25M sucrose 溶液을 넣어 homogenize한 homogenate를 10~20% 取하여 Kamath 등<sup>36)</sup>의 方法을 改良한 Cinti 등<sup>37)</sup>의 方法에 따라 조작하여 얻은 pellet를 microsome 分割으로 使用하였다.

**Cytochrome P-450의 含量測定**—Microsome 分割內의 cytochrome P-450 含量은 Omura와

Sato의 方法<sup>35)</sup>을 참조하고 Takashi 등<sup>37)</sup>의 變法에 準하여 difference spectrophotometry로 450 nm와 500 nm에서 吸光度를 測定하고 그 差異를 molar extinction difference를  $104 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 로 하여 計算하였다.

**NADPH-cytochrome c reductase의 活性測定**—Master 등<sup>38)</sup>의 方法을 參照하고 Mazel 등<sup>39)</sup>의 方法에 準하여 550 nm에서 1分間의 吸光度를 測定하고 molar extinction difference를  $19.1 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 로 하여 microsome 分획내에 존재하는 NADPH-cytochrome c reductase의 活性를 計算하였다.

**Microsomal protein의 含量測定**—Microsome 分割中의 蛋白質 含量은 Lowry 등<sup>40)</sup>의 方法에 準하여 定量하였다.

### 4. 肝 및 腎臟의 heavy microsomal membrane 分割의 分離

摘出した 肝 및 腎臟을 homogenize하고, Katz 등<sup>41)</sup>의 方法에 따라 heavy microsomal membrane fraction을 分離하여 使用하였다.

**Total ATPase 活性 測定**—Microsome 分割內의 ATPase 活性 測定은 Boyer와 Reno<sup>42)</sup>의 方法에 準하였다. incubation medium은 150 mM NaCl, 5mM KCl, 20 mM imidazole buffer (pH 7.5) 4.85 ml에 heavy microsomal membrane suspension 50  $\mu$ l를 넣어 조작한 후 蛋白質을 除去 處理한 上澄液 2 ml를 取하여 Fiske-Subbarow 方法<sup>43)</sup>으로 無機磷(Pi)을 測定하였다.  $\mu$ M Pi/mg protein/hr로 total ATPase 活性를 表示하였다.

### 5. 過酸化脂質의 測定

**肝 microsome 分割中의 過酸化脂質의 測定**—肝 microsome 分割中 過酸化脂質의 양은 Oishi<sup>44)</sup>의 方法에 依하여 spectrophotometer로 532 nm에서 吸光度를 測定하여 求하였다. 標準液으로는 1, 1, 3, 3-tetramethoxy propane 液을 使用하였다.

**Serum 中の 過酸化脂質**—Serum 中の 過酸化脂質은 Yagi<sup>45)</sup> 方法에 따라 spectrofluorometer로 emission 波長 515 nm, excitation 波長 553 nm에서 螢光을 測定하여 계산하였다.

### 6. 血液像의 生化學的 檢査

採血한 rat의 血液에서 分離한 血清을 autoanal-

zyzer(Impact 400E Gilford Co., Ltd.)로測定하였다.

**實驗結果**

**1. 體重變化**

體重變化 등은 Table I에서 보는 바와 같다.

Captafol 單獨投與群은 對照群에 비해 投與回數가 增加할수록 體重이 減少하였다. Captafol과 ethanol을 併用投與群은 captafol 單獨投與群과 類似하나 5回 投與時에는 captafol 單獨投與群보다도 더욱 減重이 減少하였다.

**2. 肝 및 腎臟의 對體重量 變化**

肝과 腎臟의 重量對 體重에 對한 比率은 Table II에서 보는 바와 같이 各 實驗群에서 多같이 若干 減少하는 傾向이 있었으나 有意性은 없었다.

**3. 血液像의 生化學的인 變化**

血液像의 生化學的인 變化는 Table III과 같다.

血清 AST 및 ALT 活性은 captafol 單獨投與群에서 投與回數가 增加할수록 有意性있게 增加하였으며 captafol과 ethanol 併用投與群에서는 더욱 增加하였다.

血清 LDH 活性도 captafol 單獨投與群 및 captafol과 ethanol 併用投與群에서 投與回數가 增加함에 따라 점차 增加하는 傾向을 보였으며 4回 투여 때부터 有意性있게 增加하였다.

血清 ALP 活性은 captafol 單獨投與群은 投與回數에 따라 減少하는 傾向을 보이며 5回에는 有意性이 있었다. Captafol과 ethanol 併用投與群은 captafol 單獨投與群보다도 減少率이 鈍화된 듯 하나 別 差異는 없었다.

BUN은 captafol 投與群에서 5回에서부터, captafol 및 ethanol 投與群은 4回에서부터 有意性있게 상승하였다.

**Table I— Effect of captafol and ethanol on body weight in rats.†**

Group	Times						unit: %
	0	1	2	3	4	5	
Control	100	100.8 ± 0.76	102.2 ± 1.21	105.3 ± 1.13	107.5 ± 1.00	108.1 ± 0.87	
Captafol <sup>a</sup>	100	90.9 ± 1.39*	90.8 ± 0.74*	87.9 ± 0.77*	87.6 ± 1.61*	83.9 ± 2.80**	
Ethanol <sup>b</sup>	100	98.0 ± 1.14	98.4 ± 1.76	98.5 ± 1.21	100.8 ± 1.36	100.9 ± 0.73	
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	100	90.2 ± 1.30*	98.5 ± 1.34*	86.5 ± 1.64*	86.7 ± 2.64*	78.1 ± 2.56**	

† Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.  
Significant difference from control group (\*P<0.05, \*\*P<0.01)  
<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1g/kg

**Table II— Effects of captafol and ethanol on liver and kidney weight per body weight ratio (%) in rats.**

Group	Times Organ					
		1	2	3	4	5
Control	Liver	2.98 ± 0.112	2.98 ± 0.110	2.95 ± 0.098	2.96 ± 0.095	2.95 ± 0.103
	Kidney	0.79 ± 0.031	0.79 ± 0.038	0.80 ± 0.030	0.78 ± 0.035	0.77 ± 0.032
Captafol <sup>a</sup>	Liver	2.89 ± 0.105	2.89 ± 0.117	2.83 ± 0.108	2.82 ± 0.103	2.77 ± 0.101
	Kidney	0.79 ± 0.033	0.78 ± 0.041	0.77 ± 0.039	0.75 ± 0.035	0.74 ± 0.029
Ethanol <sup>b</sup>	Liver	2.97 ± 0.105	2.96 ± 0.108	2.94 ± 0.098	2.89 ± 0.103	2.87 ± 0.115
	Kidney	0.78 ± 0.036	0.79 ± 0.029	0.77 ± 0.034	0.77 ± 0.032	0.76 ± 0.027
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	Liver	2.94 ± 0.108	2.93 ± 0.099	2.90 ± 0.118	2.87 ± 0.120	2.81 ± 0.103
	Kidney	0.79 ± 0.039	0.75 ± 0.031	0.75 ± 0.033	0.73 ± 0.043	0.72 ± 0.040

† Each value is mean ± SE of 8-10 rats.  
<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1g/kg

Table III— Effects of captafol and ethanol on some biochemical parameters in rats.

Group	Items Times	AST	ALT	LDH	ALP	BUN	TG	TP
		(U/L)	(U/L)	(U/L)	(U/L)	(mg/dl)	(mg/dl)	(g/dl)
Control	1	96.4 ± 4.67	38.4 ± 2.26	341.8 ± 20.07	189.6 ± 3.37	18.7 ± 0.94	64.3 ± 2.90	4.7 ± 0.27
	2	95.8 ± 6.11	39.7 ± 2.48	347.6 ± 23.45	188.3 ± 16.23	18.8 ± 0.98	64.1 ± 2.24	4.7 ± 0.23
	3	98.9 ± 5.75	38.6 ± 1.43	343.2 ± 21.02	195.3 ± 12.76	18.5 ± 0.87	63.4 ± 2.73	4.7 ± 0.26
	4	100.3 ± 5.41	39.5 ± 1.94	351.3 ± 26.95	190.7 ± 20.88	18.6 ± 0.82	63.7 ± 3.28	4.7 ± 0.29
	5	101.2 ± 6.44	40.1 ± 2.90	358.7 ± 30.15	197.3 ± 10.90	18.4 ± 0.84	66.2 ± 3.61	4.8 ± 0.20
Captafol <sup>a</sup>	1	122.6 ± 11.30	40.8 ± 2.92	396.5 ± 31.45	185.3 ± 17.61	18.5 ± 0.89	71.2 ± 4.09	4.8 ± 0.27
	2	129.4 ± 8.21*	44.9 ± 2.23	418.3 ± 27.97	179.6 ± 24.74	19.0 ± 0.71	83.8 ± 4.33*	4.9 ± 0.32
	3	138.4 ± 12.79*	45.8 ± 2.79	439.6 ± 32.34	175.3 ± 19.74	19.3 ± 0.85	75.4 ± 3.29	5.3 ± 0.40
	4	156.7 ± 11.69**	51.0 ± 3.65*	451.2 ± 24.23*	166.8 ± 21.23	20.7 ± 0.96	73.6 ± 4.28	5.6 ± 0.27
	5	161.0 ± 10.14**	53.2 ± 3.22*	493.1 ± 35.80**	150.7 ± 14.83*	21.0 ± 0.82*	73.2 ± 3.85	5.6 ± 0.31
Ethanol <sup>b</sup>	1	95.9 ± 6.15	38.1 ± 9.09	343.1 ± 21.96	193.2 ± 16.08	18.9 ± 0.83	65.4 ± 3.32	4.8 ± 0.21
	2	96.2 ± 6.53	38.9 ± 3.59	355.4 ± 19.40	205.6 ± 23.04	19.2 ± 0.83	66.3 ± 2.55	5.0 ± 0.22
	3	100.7 ± 7.43	38.7 ± 2.47	372.3 ± 27.31	203.7 ± 13.85	19.6 ± 1.06	67.2 ± 3.92	5.4 ± 0.20
	4	100.4 ± 6.89	40.0 ± 2.75	398.5 ± 24.50	228.9 ± 14.50	19.3 ± 1.04	68.9 ± 2.79	5.5 ± 0.28
	5	117.4 ± 10.56	43.2 ± 1.67	405.9 ± 26.67	243.5 ± 13.88	19.2 ± 0.95	68.5 ± 4.25	5.4 ± 0.29
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	1	134.1 ± 6.99**	44.6 ± 3.92	387.7 ± 26.74	194.3 ± 37.98	19.0 ± 0.82	76.9 ± 4.67	5.3 ± 0.24
	2	144.2 ± 10.59**	48.7 ± 2.92*	410.0 ± 32.18	187.6 ± 17.26	19.7 ± 0.83	85.2 ± 5.06*	5.4 ± 0.29
	3	146.9 ± 13.47**	55.5 ± 2.85**	417.1 ± 23.44	183.0 ± 19.59	20.2 ± 0.98	81.0 ± 4.87*	5.5 ± 0.21
	4	166.0 ± 11.79**	57.9 ± 3.76**	444.6 ± 27.71*	179.8 ± 18.06	21.9 ± 0.93*	80.8 ± 3.88*	5.6 ± 0.29
	5	175.8 ± 9.30**	65.7 ± 2.69**	481.9 ± 38.92*	170.4 ± 13.05*	22.3 ± 0.83*	79.4 ± 4.04	5.7 ± 0.23*

† Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.

Significant difference from control group. (\*P<0.05, \*\*P<0.01)

<sup>a</sup>Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1 g/kg

Table IV— Effects of captafol and ethanol on the amount of hepatic and renal microsomal cytochrome P-450 in rat.  
unit: n mole/mgprotein

Group	Times Organ	1	2	3	4	5
		Control	Liver	0.712 ± 0.170	0.707 ± 0.0171	0.713 ± 0.0150
	Kidney	0.239 ± 0.0062	0.243 ± 0.0051	0.237 ± 0.0059	0.242 ± 0.0070	0.241 ± 0.0055
Captafol <sup>a</sup>	Liver	0.680 ± 0.0162	0.664 ± 0.0173	0.676 ± 0.0124	0.654 ± 0.0144	0.637 ± 0.0130*
	Kidney	0.242 ± 0.0064	0.232 ± 0.0052	0.230 ± 0.0071	0.226 ± 0.0070	0.217 ± 0.0049
Ethanol <sup>b</sup>	Liver	0.713 ± 0.0155	0.743 ± 0.0152	0.760 ± 0.0165	0.810 ± 0.0171	0.816 ± 0.0168*
	Kidney	0.245 ± 0.0061	0.247 ± 0.0070	0.259 ± 0.0079	0.286 ± 0.0068*	0.291 ± 0.0052*
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	Liver	0.698 ± 0.0178	0.642 ± 0.0167	0.636 ± 0.0153	0.626 ± 0.0156*	0.615 ± 0.0130*
	Kidney	0.235 ± 0.0063	0.233 ± 0.0417	0.228 ± 0.0050	0.225 ± 0.0053	0.220 ± 0.0050

† Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.

\*, \*\* Significant difference from control group (\*P<0.05, \*\*P<0.01)

<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1 g/kg

Triglyceride(TG)는 captafol 投與群과 時 상승하였다가 다시 감소하였다.  
captafol과 ethanol 併用投與群에서 2回, 3回 投與 Total protein(TP)의 양은 各群에서 別 變化를

**Table V**—Effects of captafol and ethanol on the activity of hepatic and renal microsomal NADPH-cytochrome c reductase in rats.†

		unit; n mole cytochrome c reduced/min/mg protein				
Group	Times	1	2	3	4	5
	Organ					
Control	Liver	109.2 ± 3.25	102.9 ± 3.04	108.3 ± 2.99	110.7 ± 3.43	114.9 ± 2.83
	Kidney	12.46 ± 0.270	12.03 ± 0.250	11.78 ± 0.263	11.99 ± 0.283	11.63 ± 0.273
Captafol <sup>a</sup>	Liver	100.1 ± 2.92	100.8 ± 3.06	92.1 ± 2.45	90.7 ± 2.55*	90.2 ± 2.18**
	Kidney	12.38 ± 0.258	11.30 ± 0.320	11.06 ± 0.287	10.62 ± 0.238	10.48 ± 0.215
Ethanol <sup>b</sup>	Liver	104.7 ± 3.15	110.6 ± 2.54	109.8 ± 2.78	116.3 ± 3.38	117.8 ± 2.35
	Kidney	12.40 ± 0.285	12.68 ± 0.280	12.85 ± 0.312	12.73 ± 0.298	13.04 ± 0.305
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	Liver	102.5 ± 3.06	106.4 ± 2.52	95.3 ± 2.46	88.9 ± 2.23	84.2 ± 1.97**
	Kidney	11.81 ± 0.289	11.52 ± 0.233	10.85 ± 0.251	10.27 ± 0.264*	10.20 ± 0.241*

†Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.

Significant difference from control group. (\*P<0.05, \*\*P<0.01)

<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1 g/kg.

**Table VI**— Effects of captafol and ethanol on concentrations of hepatic and renal microsomal protein in rats.†

		unit; mg/g wet weight				
Group	Times	1	2	3	4	5
	Organ					
Control	Liver	22.2 ± 0.85	22.0 ± 0.67	22.5 ± 0.71	22.7 ± 0.51	23.0 ± 0.64
	Kidney	19.1 ± 0.53	19.0 ± 0.45	19.4 ± 0.50	19.3 ± 0.59	19.5 ± 0.55
Captafol <sup>b</sup>	Liver	22.1 ± 0.53	21.4 ± 0.67	21.5 ± 0.42	21.2 ± 0.55	20.8 ± 0.60*
	Kidney	19.3 ± 0.50	19.1 ± 0.43	18.9 ± 0.51	18.7 ± 0.61	18.5 ± 0.44
Ethanol <sup>b</sup>	Liver	22.4 ± 0.66	21.7 ± 0.72	21.9 ± 0.65	22.8 ± 0.57	23.4 ± 0.72
	Kidney	19.2 ± 0.54	19.4 ± 0.58	19.7 ± 0.59	19.9 ± 0.49	20.3 ± 0.44
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	Liver	21.3 ± 0.89	21.0 ± 0.88	20.6 ± 0.56	20.8 ± 0.68	20.1 ± 0.53*
	Kidney	19.4 ± 0.56	19.2 ± 0.52	19.2 ± 0.57	18.8 ± 0.47	18.7 ± 0.59

†Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.

Significant difference from control group (\* P<0.05)

<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol 1 g/kg

가져오지 않았다.

#### 4. 肝 및 腎臟 microsome 分割 中の cytochrome P-450 含量變化

各 藥物投與群의 肝 및 腎臟의 microsome 分割 中の cytochrome P-450 含量變化는 Table IV에 서 보는 바와 같다.

肝 microsome 分割 中の cytochrome P-450의 含量은 captafol 投與群은 投與回數에 따라 점차 減少하는 傾向이 있었고 5回 投與 後에는 有意性있게 減少하였다. Captafol과 ethanol 併用投與群은 captafol 單獨投與群보다 더욱 減少하였다. 腎臟 microsome 分割 中の cytochrome P-450 含量은

captafol 投與群 및 captafol과 ethanol 併用投與群에서 약간 減少하는듯 하나 有意性은 없었다.

#### 5. 肝 및 腎臟 microsome 分割 中の NADPH-cytochrome c reductase 活性變化

肝 및 腎臟 microsome 分割 中の NADPH-cytochrome c reductase의 活性變化는 Table V에서 보는 바와 같다. 肝 microsome 分割 中の NADPH-cytochrome c reductase 活性變化는 captafol 單獨投與群 및 captafol과 ethanol 併用投與群에서 投與回數에 따라 점차 減少하는 傾向을 보이다 各各 4回 및 5回 투여후에는 有意性있게 減少하였다. 腎臟의 NADPH-cytochrome c

Table VII—Effects of captafol and ethanol on the activity of hepatic and renal microsomal total ATPase in rats.†  
unit;  $\mu$ Mpi/mg protein/hr

Group	Times Organ	1	2	3	4	5
Control	Liver	0.241 ± 0.0068	0.238 ± 0.0053	0.245 ± 0.0067	0.246 ± 0.0054	0.243 ± 0.0052
	Kidney	0.640 ± 0.0146	0.643 ± 0.0127	0.644 ± 0.0126	0.647 ± 0.0162	0.646 ± 0.0138
Captafol <sup>a</sup>	Liver	0.284 ± 0.0073	0.293 ± 0.0068*	0.232 ± 0.0064*	0.210 ± 0.0051*	0.178 ± 0.0052**
	Kidney	0.675 ± 0.0160	0.683 ± 0.0181	0.737 ± 0.0205*	0.754 ± 0.0178*	0.749 ± 0.0162*
Ethanol <sup>b</sup>	Liver	0.229 ± 0.0061	0.243 ± 0.0073	0.256 ± 0.0066	0.274 ± 0.0072	0.265 ± 0.0069
	Kidney	0.712 ± 0.0176	0.724 ± 0.0199	0.743 ± 0.0156*	0.739 ± 0.0165*	0.736 ± 0.0143*
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	Liver	0.257 ± 0.0060	0.268 ± 0.0063*	0.245 ± 0.0076	0.226 ± 0.0056	0.191 ± 0.0048**
	Kidney	0.687 ± 0.0149	0.691 ± 0.0155	0.711 ± 0.0138	0.720 ± 0.0169	0.720 ± 0.0126*

†Each value is the mean ± SE of 8-10 rats.  
Significant difference from control group (\*P<0.05, \*\*P<0.01)  
<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1 g/kg

Table VIII—Effects of captafol and ethanol on serum and hepatic microsomal TBA value (malondialdehyde formation) in rats.†

Group	Times Organ	1	2	3	4	5
Control	Serum	1.78 ± 0.078	1.74 ± 0.079	1.72 ± 0.070	1.73 ± 0.073	1.70 ± 0.069
	Liver	1.05 ± 0.056	1.07 ± 0.057	1.08 ± 0.053	1.08 ± 0.061	1.09 ± 0.063
Captafol <sup>a</sup>	Serum	2.04 ± 0.090	2.43 ± 0.137**	2.72 ± 0.135**	2.90 ± 0.138**	3.19 ± 0.143**
	Liver	1.17 ± 0.067	1.30 ± 0.064	1.54 ± 0.065*	1.86 ± 0.068**	2.30 ± 0.065**
Ethanol <sup>b</sup>	Serum	1.67 ± 0.071	1.71 ± 0.080	1.70 ± 0.081	1.72 ± 0.078	1.74 ± 0.083
	Liver	1.15 ± 0.070	1.18 ± 0.058	1.19 ± 0.063	1.20 ± 0.061	1.21 ± 0.060
Captafol <sup>a</sup> + Ethanol <sup>b</sup>	Serum	2.02 ± 0.093	2.36 ± 0.129**	2.81 ± 0.136**	3.01 ± 0.144**	3.32 ± 1.151**
	Liver	1.24 ± 0.064	1.37 ± 0.071	1.65 ± 0.067*	1.99 ± 0.069*	2.41 ± 0.073**

†Each value is mean ± SE of 8-10 rats.  
Significant difference from control group (\*P<0.05, \*\*P<0.01)  
<sup>a</sup>: Captafol: 3 mg/kg, <sup>b</sup>: Ethanol: 1 g/kg

reductase는 captafol 單獨投與群과 captafol과 ethanol 併用投與群에서 다같이 若干 低下하는 경향이 보이나 肝보다는 낮았다.

6. 肝 및 腎臟 microsome 分割 中の protein 含量

肝 및 腎臟 microsome 分割 中の protein 含量 變化는 Table VI에서 보는 바와 같다.

肝 microsome 分割 中の protein 含量은 captafol 單獨投與群은 5회에 有意性 있게 減少하였고 captafol과 ethanol 併用投與群은 captafol 單獨投與群과 類似하게 減少하였으나 有意性은 없었다. 한편 腎臟 microsome 分割 中の protein 含量

도 captafol 單獨 및 captafol과 ethanol 併用投與群에서 다같이 減少하는 傾向을 보였다.

7. Total ATPase 活性變化

肝 및 腎臟의 heavy microsomal membrane fraction 中の total ATPase 活性變化는 Table VII에서 보는 바와 같다.

肝 heavy microsomal membrane fraction 中の total ATPase 活性는 captafol 單獨投與群은 2회 投與時 顯著히 增加하였으나 3회 以後에는 減少하였다. Captafol과 ethanol 併用投與群에서도 類似한 傾向은 보였으나 增加率은 鈍化되었다. 腎臟에서는 肝에서와는 달리 captafol 單獨投與群은 投與

回數가 增加함에 따라 점차 有意性 있게 增加하였다. Captafol과 ethanol 併用投與群은 增加하는 경향은 보이나 增加率은 매우 鈍化하였다.

### 8. 過酸化脂質의 變化

血清 및 肝 microsome 分割 中の 過酸化脂質의 變化는 Table VIII에서 보는 바와 같다.

血清 및 肝 microsome 分割 中の 過酸化脂質은 captafol 單獨投與群 및 captafol과 ethanol 併用投與群 다같이 有意性 있게 增加하였으며 특히 血清에서 顯著히 上昇하였다.

## 考 察

Captafol 單獨投與群에 비해 captafol과 ethanol 併用投與群에서 體重이 더욱 감소하는 경향이 보였는데 이는 사료섭취량에 기인하는 것으로 思料된다. 즉, 實驗動物에서 對照群의 사료섭취량을 100% (17g/day)로 하여 비교할 때 captafol 單獨投與群은 70%로, ethanol과 captafol 併用投與群은 57%로 감소함을 보아 알 수 있다. 이는 Mikol 등<sup>46)</sup>과 Peebles 등<sup>21)</sup>이 rat에 captan 20 mg/kg을 腹腔內 投與했을 때 食欲減退에 기인하여 體重이 감소하였다는 보고와도 유사한 경향을 보여주고 있다.

간과 신장의 重量對 體重比는 captafol 單獨投與群에서 감소하는 경향을 보여 captan을 投與할 때 간의 對體重比가 감소하였다는 Peebles 등<sup>21)</sup>의 보고와 유사하였으나 有意性이 없었다. 이는 投與藥物 및 投與量의 차이에 기인하는 것으로 思料되며 體重減少率에 비하여 간과 신장의 重量減少率이 더욱 높은 경향이 있기 때문이라 思料된다.

血液像의 生化學的 變化에 있어서 AST, ALT 및 LDH는 captafol 單獨 및 ethanol 併用投與群에서 投與回數가 증가함에 따라 증가하였다. 이는 Peebles 등<sup>21)</sup>, Asheley 등<sup>22)</sup>이 captan과 folpet을 腹腔內에 投與할 때 服水現況과 아울러 肝細胞內 AST가 증가하여 肝機能異狀이 일어남을 알 수 있다는 보고와 유사하였다. 또한 Karłowska<sup>46)</sup>도 captan을 投與할 때 AST 및 ALT值가 상승하였다고 보고한 바 있다. Traiger 등<sup>48)</sup>은 CCl<sub>4</sub> 0.1 ml/kg과 ethanol 5.0 ml/kg을 각각 단독으로 投與할 때보다 併用投與時 AST 活性이 현저히 增加한다고 報告하고 이는 ethanol에 의한 CCl<sub>4</sub>의 肝毒

性的 촉진작용으로 설명하였다. 本實驗에서도 Traiger 등<sup>48)</sup>의 報告와 같이 ethanol이 drug metabolizing enzyme을 유도하며 captafol 代謝를 促進시켜 肝毒성을 增加시킨 것으로 思料된다. Captafol에 依한 血中 AST, ALT, LDH 變化는 captafol 代謝產物이 肝實質變化와 더불어 過酸化脂質에 의한 膜透過性에 變化를 준 것으로 思料된다. ALP는 captafol 單獨投與群에서 減少하여 Karlowska 등<sup>49)</sup>이 captan을 投與할 때 肝 ALP가 減少하였다는 報告와 類似하였다. Captafol과 ethanol 併用投與群에서는 captafol 單獨投與群에 비해 減少率은 鈍化되는 경향이 있으나 有意性은 없었다. BUN은 captafol 單獨投與群 및 captafol과 ethanol 併用投與群에서 다같이 증가하는 경향을 보여 腎臟機能에 영향을 미친 것으로 思料된다. TG는 captafol 投與初期에 증가하였다가 다시 약간 감소한 후에는 별 변화가 없었다. Ethanol과의 併用投與群에서는 captafol 單獨投與群보다 약간 더 증가하는 추세이나 거의 類似한 경향을 보이고 있다. Barabas 등<sup>50)</sup>은 blood TG가 過酸化脂質을 증가시키는데 필요한 source 中の 하나라고 주장하고 있어 captafol이 脂肪代謝에 관여하는 것으로 思料된다. Blood TG가 captafol에 의해 일시적으로 증가하였다가 감소함은 아마도 증가한 TG가 時間경과에 따라 captafol에 의해 過酸化脂質로 전환되는데 動員되기 때문이 아닌가 思料된다. 일반적으로 AST, ALT, LDH, BUN 및 TG가 captafol 單獨投與群보다 captafol과 ethanol 併用投與群에서 增加하는 것으로 미루어 보아 captafol 毒性에 ethanol이 영향을 미치는 것으로 思料된다.

Rat의 간 및 신장 microsome 分割에 있어서 cytochrome P-450 含量 및 NADPH-cytochrome C reductase 活性은 captafol 單獨投與群에서 投與回數의 增加에 따라 점차 減少하는 경향을 보였다. Dalvi 등<sup>27)</sup>은 captan이 cytochrome P-450과 같은 metal 含有 酵素와 直接相互作用을 일으키는 성질로 인하여 肝에서 cytochrome P-450 含量이 減少한다고 주장하고 있다. 한편 Peebles 등<sup>21)</sup>과 Ashley 등<sup>22)</sup>은 folpet과 captan을 腹腔內 投與時 cytochrome P-450 含量이 減少됨은 captan과 folpet의 구조中 trichloromethylthio moiety가 CCl<sub>4</sub>의 구조와 유사한 것으로 그 이유

를 설명하고 있다. 일반적으로  $CCl_4$ 와 같은 化合物이  $\cdot CCl_3$  free radical을 형성하여 過酸化脂質을 增加시키는 동시에 cytochrome P-450 含量을 減少시키는 현상과 유사하여 本 實驗에서도 captafol中 tetrachloroethylthio moiety에 의해 일어나는 현상이 아닌가 思料된다. Captafol과 ethanol 併用投與群의 肝 cytochrome P-450 含量은 captafol 單獨投與時보다 減少하는 경향이 있었다. 이는 ethanol이 hepatic microsomal drug metabolizing enzyme의 inducer로서 肝에서 代謝가 촉진되어 tetrachloroethylthio moiety의 生成속도가 촉진된데 기인한다고 思料된다. 本 實驗에서 NADPH-cytochrome c reductase 活性의 감소는 cytochrome P-450 含量의 消長에 比例한다는 일반적인 이론에 부합하였다.

肝과 腎臟 microsome 分割 中の protein 含量은 captafol 單獨投與群 및 captafol과 ethanol 併用投與群에서 다같이 감소하는 경향을 보였다. 이는 cytochrome P-450 含量減少, NADPH-cytochrome c reductase 活性抑制 등으로 인하여 protein 含量이 減少한다는 Fukuhara 等<sup>51)</sup>의 보고와 유사하였다.

肝 microsomal membrane fraction 中の total ATPase의 活性이 captafol을 投與할 때 2회까지 증가하고 3회 以後에는 증가폭이 鈍化되어 Nelson<sup>32)</sup>의 captan에 대한 實驗結果와 유사하였으며 Kumar 等<sup>30)</sup>의 주장과도 유관한 것으로 思料된다. Nelson<sup>32)</sup>은 captan을 mitochondria에 *in vitro*로 作用시킬 때 초기 폭로에서는 ATPase가 活性化되나 再次 노출할 때 活性이 鈍化되었다고 報告하고 이는 captan이 uncoupler로서 초기에 ATPase를 活性化하나 captan을 계속 投與할 때 膜透過性에 영향을 주어 ATPase가 감소하며 呼吸抑制도 유발한다고 주장하고 있다. 또한 Kumar 等<sup>30)</sup>은 captafol과 captan이 인체 赤血球膜의 sulfhydryl기 및 amino acid와 반응하여 膜의 構造에 變化를 주어 膜透過性에 영향을 미친다고 보고하였다. 신장에서는 captafol 單獨投與時 ATPase가 계속 증가하는 경향을 보였다. 그러나 아직 그 원인에 대한 究明은 하지 못했다. 간과 신장에서 captafol과 ethanol 併用投與時의 ATPase 活性이 다같이 單獨投與群과 유사하나 增加率은 약간 鈍化

하는 경향을 보여 ethanol의 영향을 암시하고 있다.

血清 및 肝microsome 分割 中の 過酸化脂質은 captafol 單獨投與群 및 ethanol과 captafol 投與群이 모두 현저히 증가하는 경향을 보여주고 있다. 이는 Peebles 等<sup>21)</sup>과 Dalvi 等<sup>27)</sup>이 folpet과 captan 구조중  $CCl_4$ 와 유사한 trichloromethylthio moiety가 脂質過酸化作用에 관여하여 過酸化脂質을 증가시킨다는 주장과 같이 captafol도 구조중의 tetrachloroethylthio moiety의 脂質過酸化作用에 의한 것이며 ethanol에 의해 더욱 촉진되었다고 思料된다.

## 結 論

Captafol이 rat의 血液像과 肝 및 腎臟의 cytochrome P-450 含量, NADPH-cytochrome c reductase 活性, total ATPase 活性 및 혈청과 간의 과산화지질에 미치는 變化에 관하여 추구하고 있다.

Captafol을 單獨投與할 때 血清中 AST, ALT, LDH, BUN은 增加하였으나 TG는 초기에는 增加後 減少하였고 ALP는 減少하였다. 또한 肝 및 腎臟의 microsome分割 中 cytochrome P-450 含量과 NADPH-cytochrome c reductase 活性은 減少하였으며 肝의 total ATPase는 增加後 若干 減少하였으며 신장의 total ATPase는 증가한 後 減少하지 않았다. 血液 및 肝의 過酸化脂質量도 增加하였다. Captafol과 ethanol을 併用投與할 때 captafol 單獨投與할 때에 比하여 captafol 毒性이 若干 增加하는 傾向이 있었다.

## 문 헌

- 1) Makolm, R. Siegel: Reaction of the fungicide folpet [N-(trichloromethylthio) phthalimide] with a thiol protein. *Pesticide Biochem. and Physiol.*, 1, 225 (1971).
- 2) J.C.R. Stock: Captafol dermatitis in the timber industry. *Contact Dermatitis*, 5, 284 (1979).
- 3) Toshio Matsushita, Shigeru Nomura and Toshikazu Wakatsuki: Epidemiology of contact dermatitis from



- pesticides in Japan. *Contact dermatitis*, **6**, 255 (1980).
- 4) Shigeru Hirano and Kunihiko Yoshikawa: Patch testing with European and American standard allergens in Japanese patients. *Contact Dermatitis*, **8**, 48 (1982).
  - 5) R.E. Grissom, J.R.C. Brownie and F.E. Guthrie: Dermal absorption of pesticides in mice. *Pesticide Biochem and Physiol.* **24**, 119 (1985).
  - 6) H.E. Stockinger: Documentation of the threshold limit values. 3rd ed. 1971-1977.
  - 7) James F. Vondruska, Otis E. Fancher, and J.C. Calandra: An investigation into the teratogenic potential of captan, folpet and difolatan in nonhuman primates, *Toxicology and applied pharmacology* **18**, 619 (1971).
  - 8) Gerald Kennedy, Otis E. Fancher, and J.C. Calandra: An investigation of the teratogenic potential of Captan, Folpert and Difolatan. *Toxicology and Applied Pharmacology* **13**, 420 (1968).
  - 9) Alnot M.: Preliminary observations on the toxicity and teratogenic power of captan in the female Wistar rat. *C.R. SOC. Biol.* **168**, 173 (1976).
  - 10) Dan H. Martin, Roger Lewis and F. Donald Tibbitts: Teratogenicity of the fungicides Captan and Folpet in the chick embryo. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **20**, 155 (1978).
  - 11) Jane F. Robins: Teratogenic activity of several phthalimide derivatives in the golden hamster. *Toxicology and Applied Pharmacology* **16**, 24 (1970).
  - 12) J. McLaughlin, JR, E.F. Reynaldo, J.K. Lamar and J.P. Marliac: Teratology studies in rabbits with captan folpet and thalidomide, Abstracts Annual meeting (641).
  - 13) Nobuyuki Ito, Tadashi Ogiso, Shoji Fukushima, Michiko Shibata and Akihiro Hagiwara: carcinogenicity of captafol in B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> mice. *Gann* **75**, 853 (1984).
  - 14) Bioassay of captan for possible carcinogenicity "Carcinogenesis Technical Report series No. 15, CAS No. 133-06-2 National Cancer Institute 1977.
  - 15) Y. Shirasu, M. Miriga, K. Kato, A. Furuhashi and T. Kada: *Mutation Res.* **40**, 19 (1976).
  - 16) M. Bignami, F. Aulicino, A. Velcich, A. Carere and G. morpurgo: Mutagenic and Recombinogenic action of pesticides in *Aspergillus Nidulans*. *Mutation Research.* **46**, 395 (1977).
  - 17) Thomas F.X. Collins: Effect of captan and triethylenetriamine (TEM) on reproductive fitness of DBA/2J mice. *Toxicology and applied pharmacology* **23**, 277 (1972).
  - 18) A. Carere, V.A. Ortaii, G. Cardamone, A.M. Torracca and R. Raschetti: Microbiological mutagenicity studies of pesticides *in vitro*, *Mutation Research* **57**, (1978).
  - 19) G. L. Kennedy, Jr. D.W. Arnold and M.L. Keplinger, *Food Cosmet Toxicol.* **13**, 55 (1975).
  - 20) H. Seideler, H. Hartig, W. Schnaak, U.R. Engst: Studies on the metabolisms of certain insecticides and fungicides in the rat. part III. Excretion and distribution and degradation of sulfur 35-labelled captan, *Die Nahrung* **15**, 177 (1971).
  - 21) Peeples and R.R. Dalvi: Toxicology studies of captan its metabolism by rat liver drug metabolizing enzyme system. *Toxicology* **9**, 341 (1978).
  - 22) W.M. Ashley, R.E. Smith, R.R. Dalvi: Hepatotoxicity of orally and intraperitoneally administered folpet in male mice, *Journal of Toxicology and Environmental Health* **9**, 867 (1982).
  - 23) 1969 Evaluation of some pesticide Residues in food, food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health organization (1970).
  - 24) R.J. Lukens, H.D. Sisler: Chemical Reaction involved in fungitoxicity of captan. *Phytopathology* **48**, 235 (1958).
  - 25) R.J. Luken, H.D. Sisler: 2-Thiazolidinethione-4-carboxylic acid from the reaction of captan with cysteine. *Science* **127**, 650 (1958).
  - 26) R.J. Debaun, J.B. Miaullis, J. Knart, A. Mihailovski and Menn: *Xenobiotica* **2**, 101 (1974).
  - 27) R.R. Dalvi and W.M. Ashley: protective effect of glutathione on the *in vitro* inhibition of hepatic cytochrome P-450 by captan. *Drug and chemical Toxicology* **2**, 245 (1979).
  - 28) Couch Ranald Chalmer: Distribution and excretion of the trichlormethylsulfenyl fungicides in rats and their effects on isolated liver Nuclei, Histones, non-histone nuclear protein and DNA. *Pharmacology* **2749** (1975).
  - 29) Jiri, Davidek and Josef shifert: The interaction of folpet with the glutathione-dependent demethylation enzyme system of rat liver. *Pesticide Biochemistry*

- and *physiology* **5**, 552 (1975).
- 30) S.S. Kumar, H.C. Sikka, J. Saxena and G. Zweig: Membrane Damage in Human erythrocytes caused by captan and captafol pesticide. *Biochemistry and Physiology* **5**, 338 (1975).
  - 31) J.R. Mitchell, D.J. Jollwo, W.Z. Potter, R.J. Gillette, and B.B. Brodie, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **187**, 211 (1973).
  - 32) B. Dean Nelson: Action of the fungicides captan and folpet on rat liver mitochondria. *Biochemical pharmacology* **20**, 737 (1971).
  - 33) Cinti D.L. Moldeus P. and Schenkman S.: Kinetic parameters of drug metabolizing enzyme in  $Ca^{+2}$  sedimented microsome from rat liver. *Biochem. Pharmacol* **21**, 49 (1972).
  - 34) Omura T. and Sato R.: The caron monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature, *J. Biol. Chem.* **239**, 2370 (1964).
  - 35) Carson P. and Schoenig G.P.: Induction of liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase, cytochrome P-450 by some new synthetic pyrethroids. *Toxicology and Applied pharmacology* **52**, 507 (1980).
  - 36) Kamath S.A. Kummerow F.A. and Narayan K.A.: A simple procedure for the isolation of rat liver microsomes. *Febs. Letters* **17**, 90 (1971).
  - 37) Takashi M., Mashiro K., Akira T., Yoshihiro T., and Koichi S.: Quatitative determination of cytochrome p. 450 in rat liver homogenate, *Ana. Biochem.* **75**, 596 (1976).
  - 38) Masters B.S.S., Williams Jr.C.H. and Kamin H.: The preparation and properties of microsomal NADPH-cytochrome c reductase from pig liver. In *Methods in Enzymology*. Vol. X, 565—573. Ed. by Estabrook R.W. and Pullman M.E., *Academic Press*. New York. (1967).
  - 39) Mazel P.: Comparison of microsomes from control and phenobarbital pretreated rats as to NADPH-cytochromec reductase activity. In *fundamentals of drug metabolism and drug disposition*. 575-577. Ed. by La Du E.N. Mandel, H.G. and Way E.L. (1972).
  - 40) Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J.: Protein measurment with the folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
  - 41) Katz A.I. and Epstein F.H.: The role of  $Na^{+}-K^{+}$ -activated ATPase in the reabsorption of sodium by kidney. *J. Clin. Invert.* **46**, 1999 (1967).
  - 42) Boyer, J.L. and Reno, D.: Properties of  $(Na^{+}-K^{+})$ -activated ATPase in rat liver plasma membranes enriched with bile canaliculi, *Biochem. Biophys. Acta.* **401**, 59 (1975).
  - 43) Fiske, C.H. and Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorous. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925).
  - 44) 大石誠子: 過酸化脂質測定法. *最新醫學*, **33**, 660 (1978).
  - 45) Kunio Yagi: Micro-determination of lipoperoxide in blood plasma or serum. *Vitamines* **49**, 403 (1975).
  - 46) Y.B. Mikol, F. Roux, F. Decloitre, E.P. Fourmier: Liver enzyme induction in lindane and captan-treated rats. *Food Cosmetics Toxicology* **18**, 377 (1980).
  - 47) B. Urbanek-Karlowska: Effect of protein deficiency in rats on captan toxicity, Part III. The activity of selected enzymes in rat serum and liver depending on the dietary level of protein and captan. *Roczn. PZH.* **28**, 121 (1977).
  - 48) George Traiger and Babriel L. Plaa: Differneces in the potentiation of carbon tetrachloride in rats by ethanol and isopropanol pretreatment. *Toxicology and applied pharmacology*, **20**, 105 (1971).
  - 49) B. Urbanek-Karlowska, M. Fonberg-broczek: Effect of protein deficiency and captan on the activity of alkaline phosphatase and UDP-glucuronyl transferase in rat liver. *Roczn. PZH.* **28**, 345 (1977).
  - 50) Barabas, K., Matkovics B. and Berencsig.: New considerations on the time-dependence of toxic changes caused by paraquat poisoning, *Gen. Pharmal.*, **14**, 381 (1983).
  - 51) Fukuhara, M. Takabatake E.: Comparative study of liver enlargement induced by various chemicals. *J. Pharm. Dyn.* **1**, 153 (1978).