

2.4-Dichlorophenoxyacetic Acid의 毒性에 對한 Ethanol의 影響

安榮根 · 鮮于演 · 鄭鍾甲 · 金正勳

圓光大學校 藥學大學

Effect of Ethanol on the Toxicity of 2.4-Dichlorophenoxyacetic Acid

Young Keun Ahn, Yeun Sunwoo, Jong Gab Chung
and Joung Hoon Kim

College of Pharmacy, Won Kwang University

ABSTRACT

The effects of ethanol on the toxicity of 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid in ICR mice were examined.

The results were summarized as follows;

1. The LD₅₀ of 2.4-dichlorophenoxyacetic acid sodium injected intraperitoneally in mice was approximately 367 mg/kg. When the animals were administered with ethanol, 2 ml/kg or 4 ml/kg the LD₅₀ of 2.4-D sodium were decreased to 338 mg/kg or 32 mg/kg, respectively.

2. In the acute experimental group, spontaneous motor activity in the ANIMEX system exhibited dose-dependent decrease in mice administered with 2.4-D sodium and ethanol.

3. However, in subacute experimental group, spontaneous motor activity in the ANIMEX system exhibited dose-dependent increase in mice treated with ethanol.

緒 論

2.4-Dichlorophenoxyacetic acid (以下 :
2.4-D)는 植物의 生長 hormone으로 作用하며 그

結果 植物이 異常發育을 일으켜 貯藏物質을 消費하
여 枯死시키는 物質로서 1944年 Zimmerman에 依
해 合成된 以來 雜草의 除草劑, 樹木의 落葉劑, 果
實의 早期落下 防止劑 등으로 廣範圍하게 利用되고
있다¹⁾. 合成 2.4-D는 Auxin樣 除草劑로 널리 쓰여

지고 있으며 動物에 對한 主 毒作用은 아직 잘 알려지지 않았다.

Bucher는 一時的인 筋硬直現狀만 나타날 뿐 特徵있는 中毒症狀의 發現은 없었다고 報告하고 있다²⁾. 그러나 2.4-D에 依한 中毒事例는 繼續하여 發生되고 있으며 또한 2.4-D의 毒性에 對한 實驗的 報告도 繼續되어지고 있다. Hill等은 2.4-D의 LD₅₀을 測定하여 mouse에 있어서 經口投與時 LD₅₀이 375 mg/kg이라고 報告하였으며 또한 肝損傷 및 白血球減少症이 나타난다고 報告하였고³⁾, Drill은 dog에 對한 2.4-D의 LD₅₀이 經口投與時 100 mg/kg이라고 報告하였으며⁴⁾, Bjorn等은 2.4-D를 chick에 長期投與하면 成長障害가 나타난다고 報告하였다⁵⁾. 實驗動物을 利用한 毒性實驗症狀는 全般的으로 볼때, 筋硬直, 運動障害, 四肢麻痺와 嘔吐, 泄瀉와 같은 胃腸症狀外에 過量投與時 白血球減少症, 運動失調, 昏睡等이 있음이 報告되고 있다⁶⁾.

한편 이러한 動物實驗外에 人體에 對한 中毒症狀의 例도 報告되어지고 있는바, Goldstein은 雜草除去를 爲해 2.4-D를 使用한 사람이 심한 麻痺症狀이 나타난다고 報告하였으며⁷⁾, Berkley等은 2.4-D가 經皮吸收에 依해 感覺 및 運動障害等 神經障害를 일으켰다고 報告하였고⁸⁾, Nielson等은 2.4-D의 Dimethylamine鹽을 먹고自殺한 사람의 組織檢査에서 腦의 神經節細胞에 뚜렷한 退行性變化를 나타내었다고 報告하였다⁹⁾. 또한 Berwick는 事故로 2.4-D를 攝取했을 때 늑간筋肉의 麻痺와 骨格筋의 損傷이 있었다고 報告하였고¹⁰⁾, Kolberg는 2.4-D가 細胞의 成長을 用量依存的으로 抑制한다고 報告하였다¹¹⁾. Dudloy는 2.4-D를 攝取한 노인인 剖檢에서 腦全體에 廣範圍하게 퍼져있는 急性脫髓의 斑點을 發見하였고 2.4-D와 그 代謝物質이 脫髓를 일으킬 수 있다고 하였으며, Myelin 疾患의 實驗 model로 할 수 있다고 報告하였고¹²⁾, Elo等은 2.4-D에 中毒時 腦中の 2.4-D 濃도가 增加된다고 報告하였다¹³⁾. 또한 Todd는 2.4-D에 暴露됨으로써 多發性 神經炎이 發生한다고 報告하고 있으며¹⁴⁾ Erne는 2.4-D가 肝, 腎臟, 肺 및 脾臟에 主로 分布

한다고 하였다¹⁵⁾. 이와 關聯하여 Kohli는 사람의 경우에 2.4-D가 迅速히 吸收되어 主로 腎臟을 통하여 排泄된다고 하였다¹⁶⁾. Way는 2.4-D의 中毒症狀이 사람에게 있어서는 主로 神經組織과 中樞神經系에 나타나며 2.4-D를 분무한 農夫에게서 筋無力症, 嘔吐等이 發生한다고 報告하였다¹⁷⁾. 이 외에도 2.4-D에 관한 많은 研究가 進行되어 왔다. 따라서 著者等은 이러한 2.4-D의 實際 使用에 있어서 2.4-D 살포전 후에 飲酒하는 傾向이 있으므로 ethanol이 2.4-D의 神經組織과 中樞神經系의 中毒性, 體重의 增加 및 生化學的 所見等에 影響이 있을 것으로 期待되어, 本實驗에 착수하였던바, 有意한 結果를 얻었기에 이를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

實驗動物은 生後 5~6週齡 體重 15~20 g의 雄性 ICR male mouse를 경남축산(경기도 화성)에서 분양받아 室溫에서 一週間 實驗動物用第一飼料를 供給하면서 周圍環境에 適應시킨 뒤에 實驗에 使用하였다.

2. 2.4-Dichlorophenoxyacetic acid(2.4-D)의 Sodium Salt 溶液의 調製

2.4-D는 蒸溜水 2000 ml에 NaOH 7 g을 加하여 녹인후 2.4-D 40 g을 서서히 교반하면서 加하여 溶解한 후 NaCl 7.6 g을 加하였다. 이 溶液은 2.4-D sodium 20 mg/ml saline 溶液이다.

3. 急性毒性試驗

LD₅₀ 測定은 Litchfield-Wilcoxon法에 依하여 다음과 같이 實施하였다¹⁸⁾.

1) 2.4-D Sodium鹽의 LD₅₀의 測定

Mouse 50마리를 가지고 1群에 10마리씩 5群으로 하여 各群에 2.4-D Sodium鹽을 300 mg/kg, 330 mg/kg, 363 mg/kg, 399 mg/kg, 439 mg/kg씩 1回 腹腔投與한 후 48時間 觀察하여 計算하였다.

2) Ethanol 2 mg/kg을 併用投與時 2,4-D Sodium의 LD₅₀ 測定

Mouse 50마리를 가지고 1群에 10마리씩 5群으로 하여 各 群當 2,4-D sodium을 300 mg/kg, 330 mg/kg, 363 mg/kg, 399 mg/kg, 439 mg/kg씩 1回 腹腔投與한 후 48時間동안 觀察하여 計算하였다.

3) Ethanol 4 ml/kg을 併用投與時 2,4-D Sodium의 LD₅₀ 測定

Mouse 50마리를 가지고 1群에 10마리씩 5群으로 하여 全 mouse에 ethanol 4 ml/kg씩 1回 經口投與한 후 即時 各群當 2,4-D sodium을, 273 mg/kg, 300 mg/kg, 330 mg/kg, 363 mg/kg, 399 mg/kg씩 1回 腹腔投與한 후 48時間동안 觀察하여 計算하였다.

4. 自發運動量の 測定

1) 急性暴露時의 自發運動量 測定

2,4-D sodium의 用量에 따른 自發運動量 및 ethanol 併用投與時의 自發運動量を 測定하기 爲한 群의 分類 및 投與量은 Table 1과 같다.

Table 1과 같이 Mouse 5마리씩을 1群으로 하고 各群에 該當하는 用量의 2,4-D sodium을 腹腔에 1回 注射한 다음 1時間 經過후 該當하는 ethanol量を 蒸溜水로 희석하여 1回 經口投與한 후, MK-ANIMEX (MUROMAC KIKAI CO.)를 利用하여 感度 35에서 24時間 自發運動量を 測定하였다.

Table 1. Exposure schedule for motor activity test.

Groups	Dose	
	2,4-D Sodium (mg/kg)	Ethanol (ml/kg)
A (Normal)	—	—
B	100	—
C	200	—
D	—	2
E	—	4
F	100	2
G	100	4
H	200	2
I	200	4

5. 亞急性 毒性試驗

亞急性 毒性試驗을 爲하여 mouse 10마리를 1群으로 하고 各群에 대하여 Table 2와 같이 2,4-D와 ethanol을 投與하였다. 卽 實驗群에 2,4-D sodium의 LD₅₀에 該當하는 量を 28日에 나누어 投與하고 卽 實驗群에 2,4-D sodium을 13.14 mg/kg씩 每日 腹腔內 投與하였으며, ethanol은 各各 2% 및 4% ethanol 溶液으로 하여 飲用水대신 制限없이 供給하면서 28日間 飼育한 후 다음과 같이 實驗하였다.

Table 2. Exposure schedule for subacute toxicity test.

Groups	No. of Animals	Dose	
		2,4-D sodium (mg/kg/day)	Ethanol (%)
I (Normal)	10	—	—
II	10	13.14	—
III	10	13.14	2
IV	10	13.14	4

1) 生體計測

28日 동안의 藥物投與期間이 끝난 후 體重의 增加率을 測定하고, liver, kidney, spleen 및 brain의 무게를 測定하여 이로부터 各 臟器의 體重對比를 求하였다.

2) 生化學的 檢査

28日 동안의 藥物投與가 끝난후 各 mouse의 頸動脈을 絶斷하여 血液을 採取하여 실온에서 30分間 정치한 후 다음과 같이 各各 測定하였다.

a) s-GPT 測定 : s-GPT 測定은 Reitman-Frankel 變法을 利用하여 測定하였다¹⁹⁾.

b) s-Triglyteride 測定 : s-triglyceride 測定은 酵素法을 利用하여 測定하였다²⁰⁾.

c) 血清遊離 Cholesterol의 測定 : s-遊離 cholesterol은 酵素法을 利用하여 測定하였다²¹⁾.

3) 自發運動量の 測定

Mouse를 處置하기 24時間前에 各 群에서 5마리씩 無作爲로 抽出하여 MK-ANIMEX를 利用하여 感度 35에서 自發運動量を 記錄하였다.

6. 통계분석

모든 data의 유의성 검정은 student's-test로 검정하였다.

實驗 結果

1. LD₅₀의 測定結果

1) 2.4-D sodium의 LD₅₀ 測定結果

Litchfield—Wilcoxon法에 依하여 mouse에 있어서 腹腔內投與時 2.4-D sodium의 LD₅₀을 求한 結果는 다음과 같다¹⁸⁾.

Table 3. Data of LD₅₀ of 2.4-D Sodium.

Dose (mg/kg)	Mortality	Observed	Expected	Observed/Expected	X ² (ci)
300	0/10	0 (0.23)	0.8	0.57	0.036
330	1/10	10	10	0	0
363	5/10	50	47.5	2.5	0.0025
399	8/10	80	78	2	0.0028
439	10/10	100 (99.4)	98.2	1.2	0.0088

(∑ ci) = 0.0501

위의 結果에 따라 計算하면,

$$X^2 = \sum ci) \times \frac{\text{총시용동물수}}{\text{濃度段階數}}$$

$$= 0.0501 \times \frac{50}{5} = 0.501 \text{ 이고,}$$

$$n = K - 2 = 5 - 2 = 3$$

$$\text{그러므로 } X_0^2(n) = 7.81473$$

따라서 X² < X₀²이므로 用量作用直線은 適合하다.

用量作用直線에 依해

$$LD_{16} = 338$$

$$LD_{50} = 367$$

$$LD_{84} = 400 \text{ 이므로 이를 대입하면,}$$

$$S = \frac{(400/367 + 367/3388)}{2} = 1.09$$

$$f LD_{50} = S^{2.77/\sqrt{20}} = 1.09^{2.77/\sqrt{20}} = 1.057$$

따라서 LD₅₀의 信賴限界(p=0.05)는

$$\text{上限} = LD_{50} \times f \quad LD_{50} = 367 \times 1.057 = 387.9$$

$$\text{下限} = LD_{50} \div f \quad LD_{50} = 367 \div 1.057 = 347.2$$

위와 같은 計算에 依해 2.4-D Sodium을 mouse에 腹腔投與했을 때의 LD₅₀=367 mg/kg이었으며 95% 信賴限界는 347.2~387.9 mg/kg이었다.

2) Ethanol 2 ml/kg 併用投與時 2.4-D Sodium의 LD₅₀ 測定結果

Ethanol 2 ml/kg을 併用投與時 2.4-D Sodium의 LD₅₀을 求한 結果는 다음과 같다.

Table 4. The effect of ethanol 2 ml/kg on LD₅₀ of 2.4-D sodium.

Dose (mg/kg)	Mortality	Observed	Expected	Observed/Expected	X ² (ci)
300	2/10	20	10	10	0.118
330	4/10	40	36	4	0.0075
363	9/10	90	70	20	0.18
399	10/10	100 (98)	94	4	0.026
439	10/10	100 (99.8)	99.3	0.5	0.0035

(∑ ci) = 0.335

위의 資料로부터 앞서와 같은 計算에 依해 LD₅₀ = 338 mg/kg 信賴限界는 319.5~357.6 mg/kg (p=0.05)이었다.

3) Ethanol 4 ml/kg 併用作用時 2.4-D Sodium의 LD₅₀ 測定結果

Ethanol 4 ml/kg을 併用投與時 2.4-D Sodium의 LD₅₀을 求한 結果는 다음과 같다.

Table 5. The effect of ethanol 4 ml/kg on LD₅₀ of 2.4-D Sodium.

Dose (mg/kg)	Mortality	Observed	Expected	Observed/Expected	X ² (ci)
273	1/10	10	9	1	0.00125
300	2/10	20	25	5	0.015
330	2/10	20	48	28	0.34
363	6/10	60	72	12	0.079
399	10/10	100 (96.8)	90	6.8	0.048

(∑ ci) = 0.48325

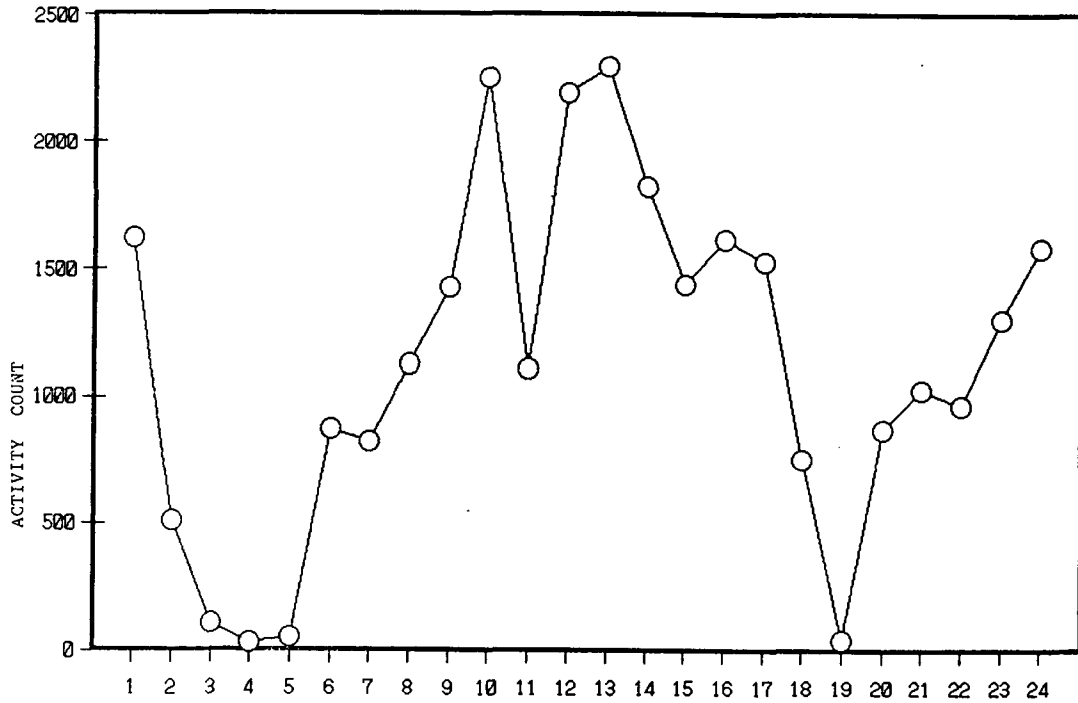


Fig. 1. Motor activity count in normal group.

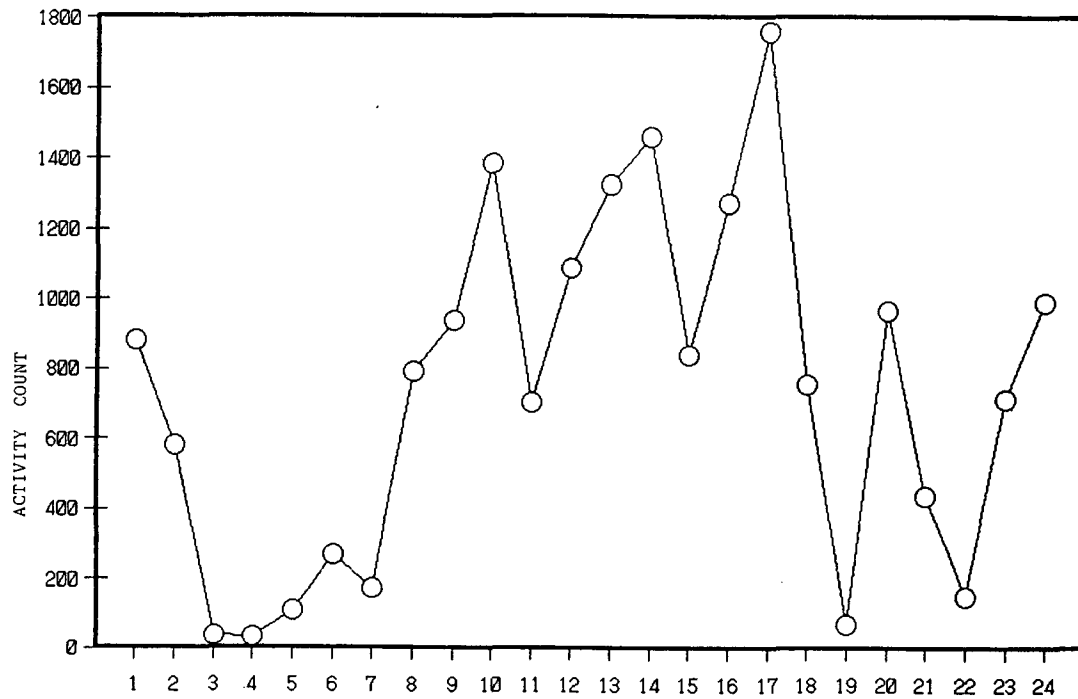


Fig. 2. Motor activity count in the group treated with 2,4-D (100 mg/kg).

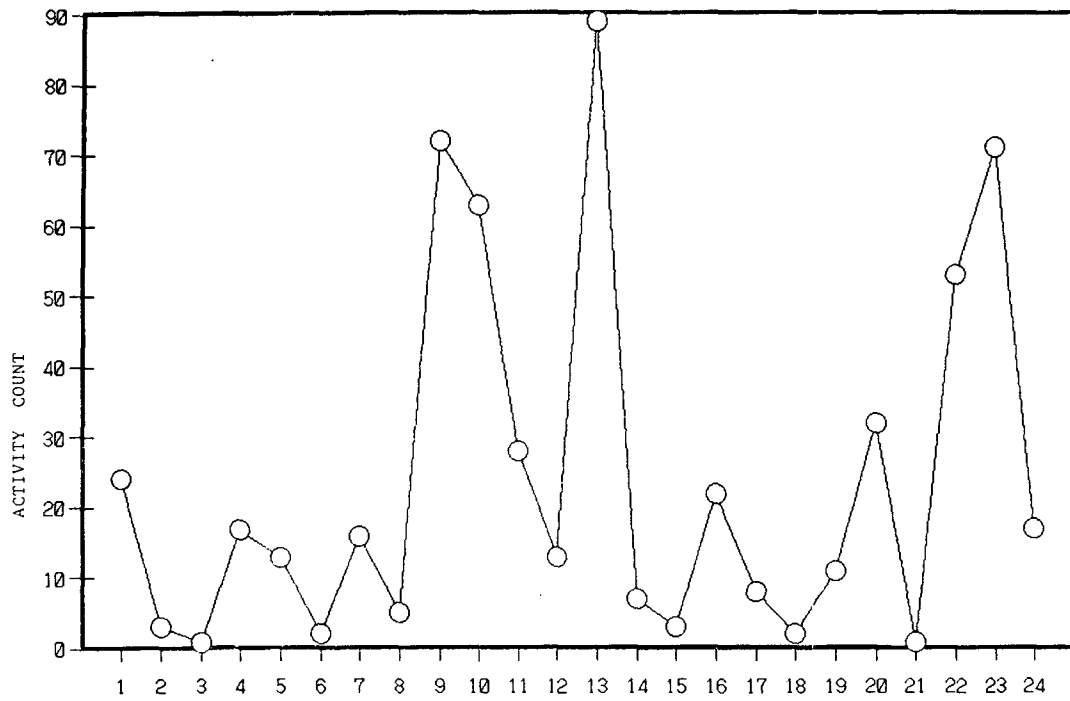


Fig. 3. Motor activity count in the group treated with 2.4-D (200 mg/kg).

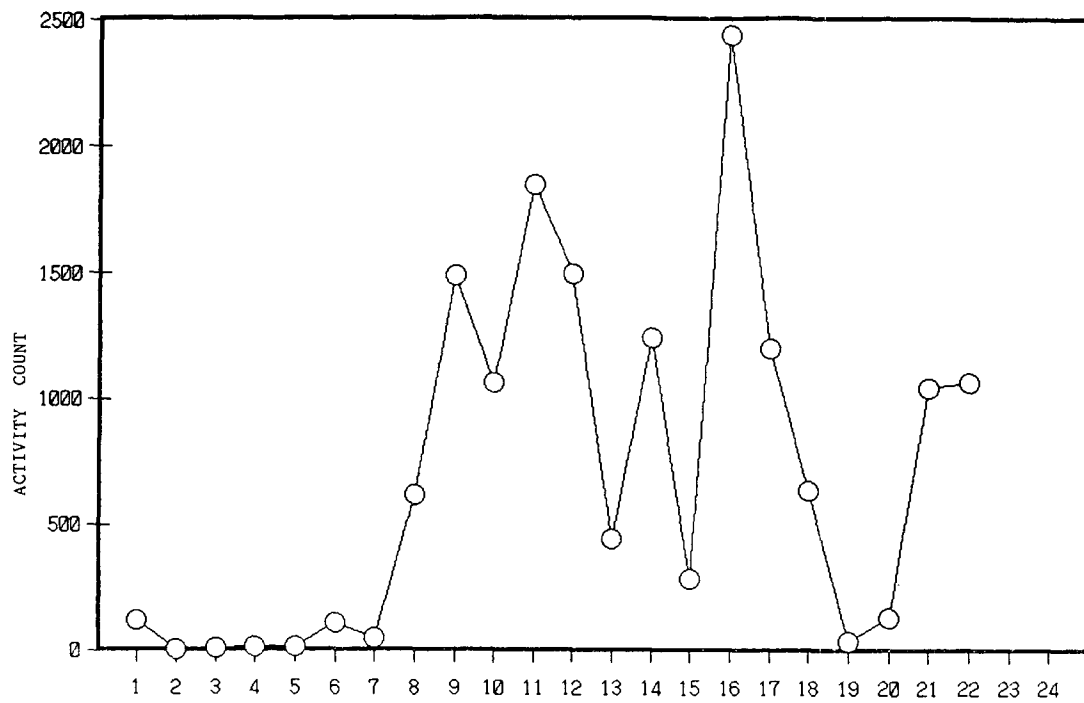


Fig. 4. Motor activity count in the group treated with ethanol (2 ml/kg).

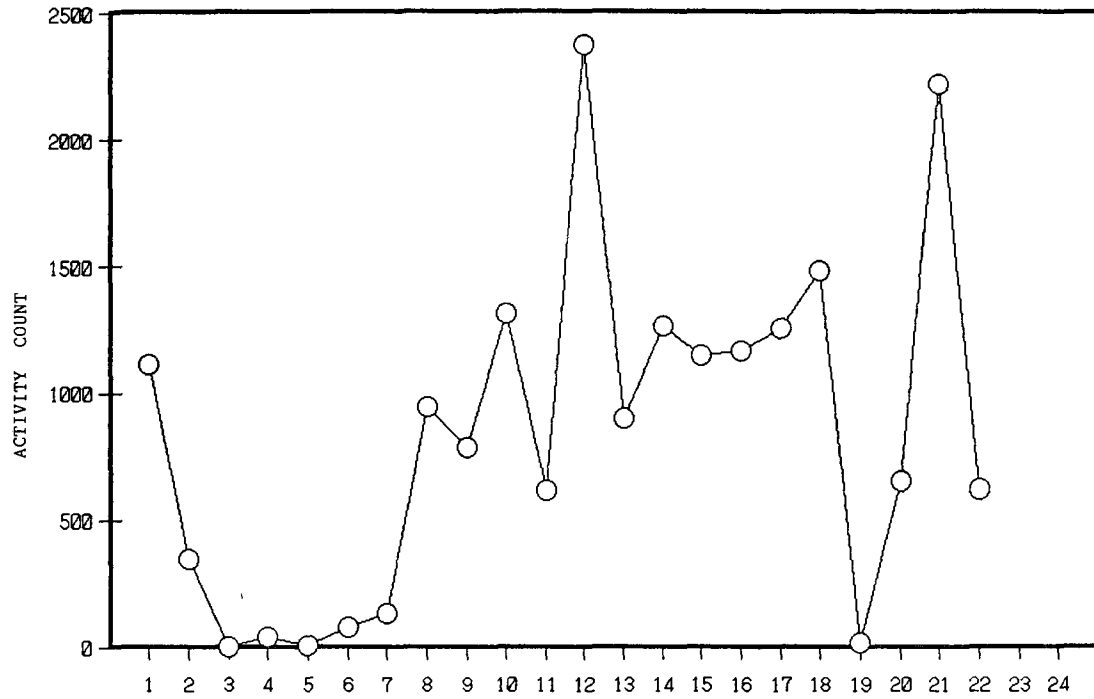


Fig. 5. Motor activity count in the group treated with ethanol (4 ml/kg).

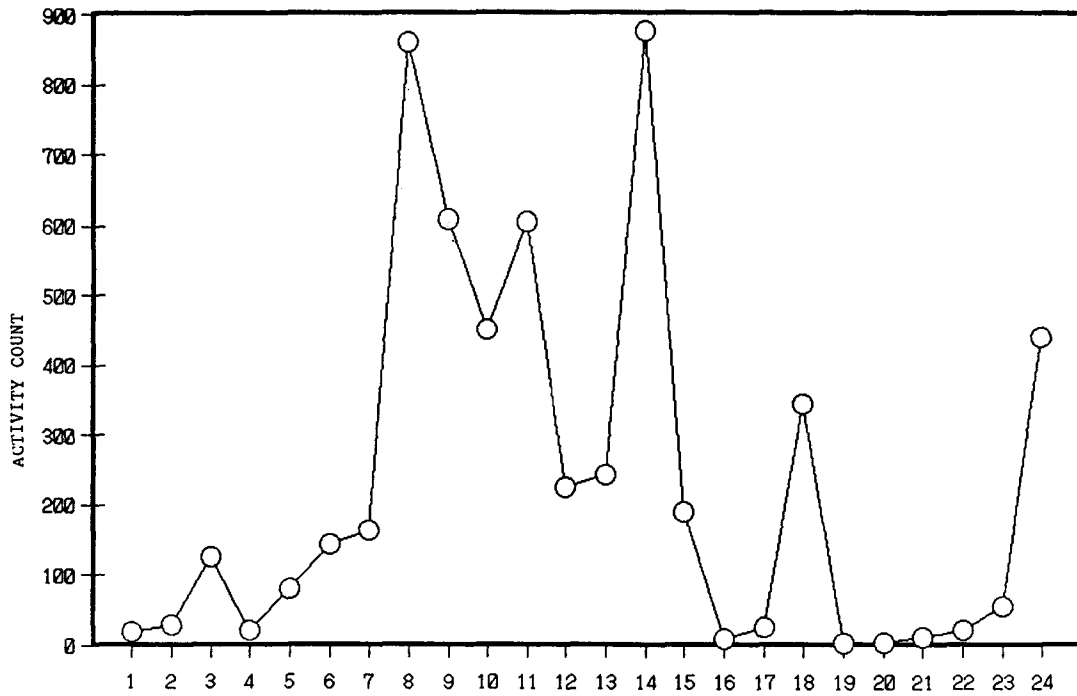


Fig. 6. Motor activity count in the group treated with 2,4-D (100 mg/kg) and ethanol (2 ml/kg).

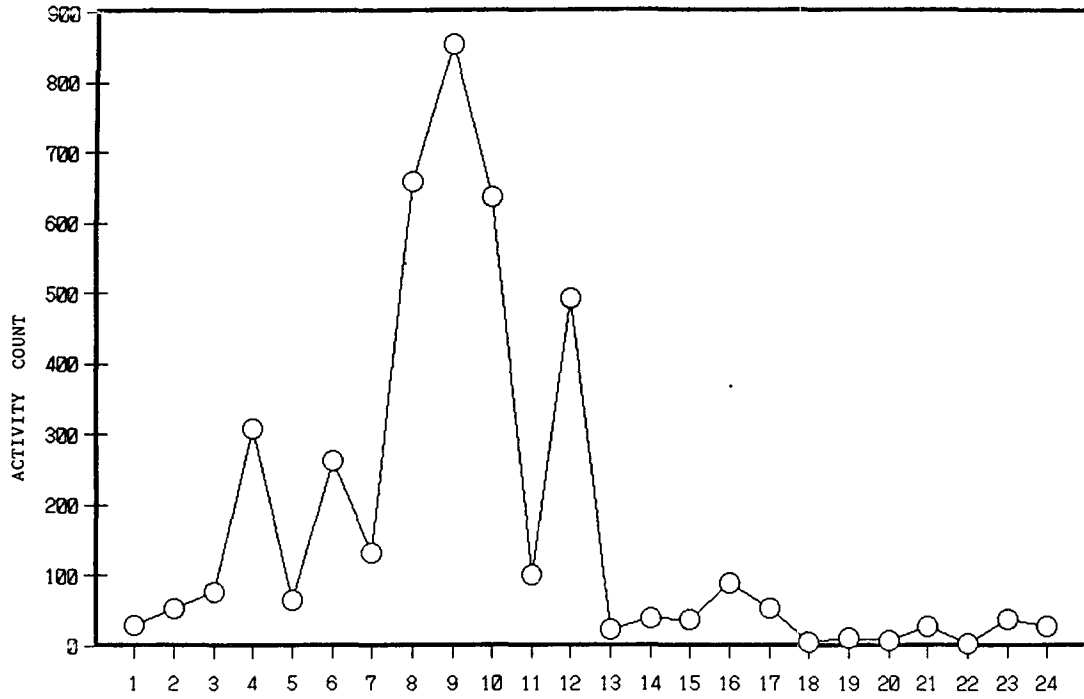


Fig. 7. Motor activity count in the group treated 2.4-D (100 mg/kg) and ethanol (4 ml/kg).

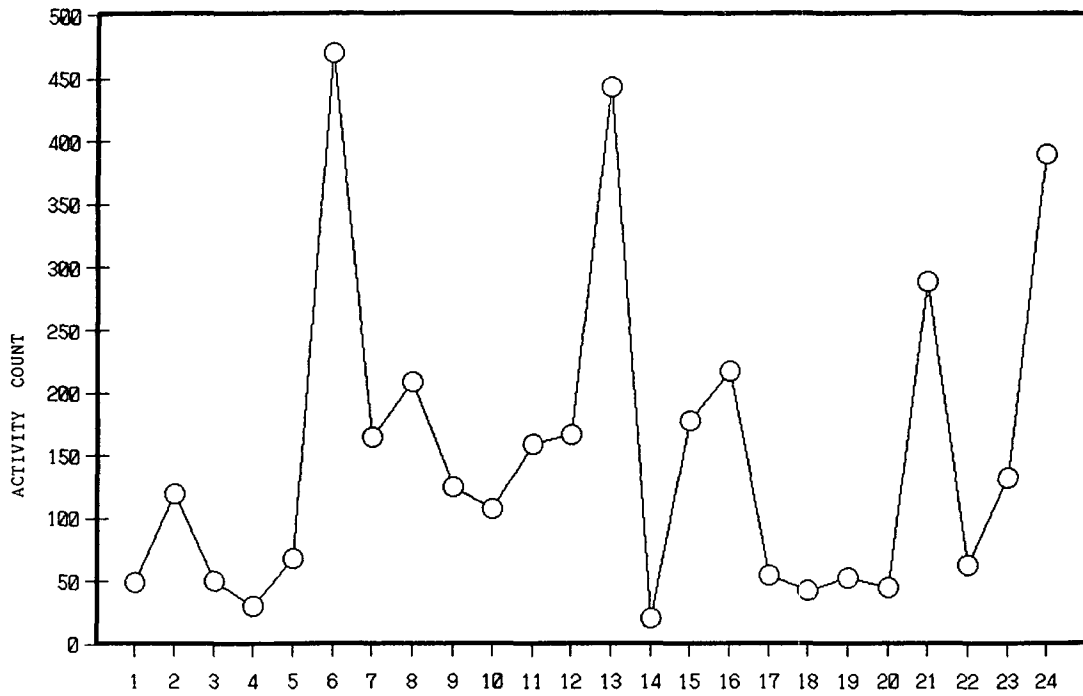


Fig. 8. Motor activity count in the group treated with 2.4-D (200 mg/kg) and ethanol (2 ml/kg).

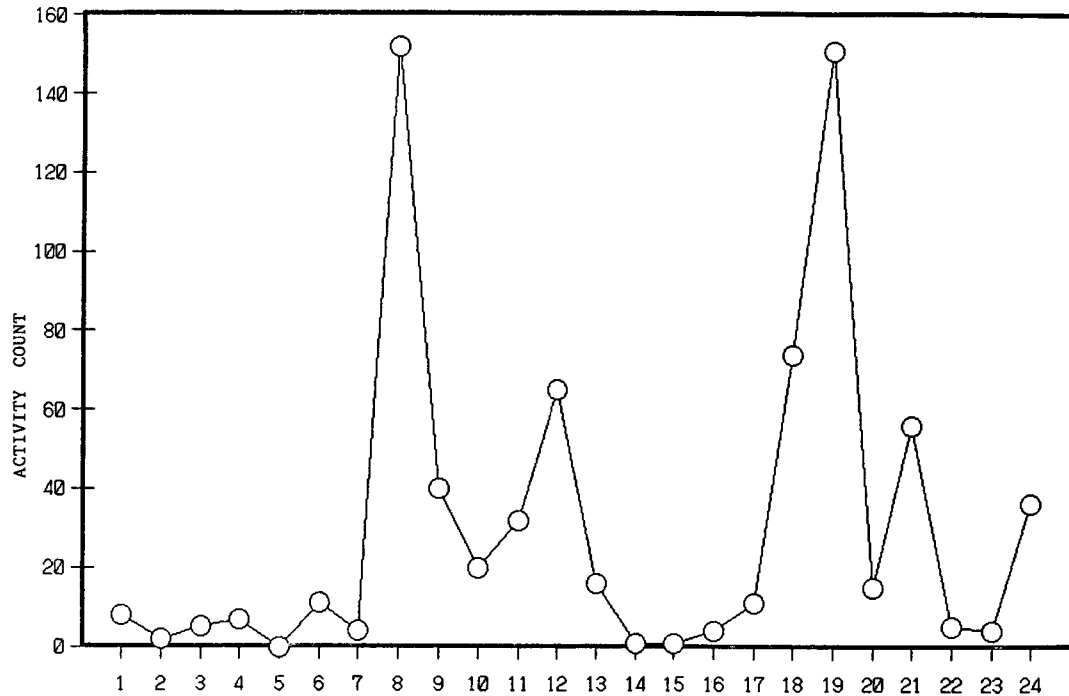


Fig. 9. Motor activity count in the group treated with 2.4-D (200 mg/kg) and ethanol (4 ml/kg).

위의 자료로 봐 앞서와 같은 계산에 의해 LD₅₀= 332 mg/kg 信賴限界는 308.7~357.1 mg/kg (p= 0.05) 이었다.

2. 急性中毒時 自發運動量 測定結果

各群에 對하여 記錄된 自發運動量を 24時間 運動量으로 나타낸 結果는 Table 6과 같다.

Table 6에서 볼때 normal, ethanol 4 ml/kg, 2.4-D 100 mg/kg, ethanol 2 ml/kg, 2.4-D sodium+ethanol 2 ml/kg, 2.4-D Sodium+ethanol 4 ml/kg, 2.4-D 200 mg/kg+ethanol 2 ml/kg, 2.4-D 200 mg/kg+ethanol 4 ml/kg, 2.4-D 200 mg/kg 투여군 順으로 運動量이 減少하였다.

한편 各 實驗群에 對하여 藥物投與후 自發運動量を 每時間別로 記錄한 結果를 Fig. 1에서 Fig.9까지 표시하였다.

이들 內容을 綜合하여 볼때 2.4-D Sodium 100 mg/kg投與時 自發運動量の 增加時間은 7時間이 지난후에 增加되어 17時間 지난후 부터 減少되었으

며, ethanol 2 ml/kg 併用投與時에는 7時間후 增加된뒤 16時間째부터 減少되었으며, ethanol 4 ml/kg 併用投與時는 7時間後 增加된뒤 13時間째 부터 急速하게 減少되었다.

2.4-D Sodium 200 mg/kg投與時에 自發運動量の 變化는 ethanol併用投與群에 關係없이 모두 8時間後에 增加되어 13時間後에 減少되는 傾向을 보였다.

3. 亞急性 暴露試驗에 對한 結果

1) 生體計測 結果

28日間の 投與期間이 끝난後 體重增加率을 測定한 結果는 Table 7과 같다.

Table 7에서 보는바와 같이 Normal이 群 33.59±9.61%인데 比하여 全群에서 體重增加가 鈍化되었으나 2.4-D와 4% Ethanol 併用投與群에서는 25.16±5.99%로 약간 회복되는 傾向을 보였다. 또한 各 臟器의 體重對比를 測定한 結果는 Table 8과 같다.

Table 6. Motor activity count in the acute experimental groups treated with 2,4-D and ethanol.

Time	Control	2,4-D 100 mg/kg	2,4-D 200 mg/kg	Alcohol 2ml/kg	Alcohol 4 ml/kg	2,4-D 100 mg/kg AIC. 2 ml/kg	2,4-D 100 mg/kg AIC. 4 ml/kg	2,4-D 100mg/kg AIC. 2 ml/kg	2,4-D 200 mg/kg AIC. 4 ml/kg
	11 : 24	11 : 24	11 : 10	12 : 20	12 : 20	11 : 25	11 : 25	12 : 10	12 : 10
01 : 00	1620	883	24	116	1113	18	29	49	8
02 : 00	512	581	3	5	348	29	53	120	2
03 : 00	109	37	1	7	2	126	77	50	5
04 : 00	29	33	17	14	40	20	309	30	7
05 : 00	54	109	13	12	7	81	65	68	0
06 : 00	880	267	2	109	81	143	262	471	11
07 : 00	829	173	16	49	135	164	132	165	4
08 : 00	1125	791	5	620	946	861	759	209	152
09 : 00	1426	938	72	1489	784	609	855	125	40
10 : 00	2253	1384	63	1063	1311	460	738	108	20
11 : 00	1111	706	28	1848	622	605	100	159	32
12 : 00	2192	1087	13	1494	2373	225	493	167	65
13 : 00	2298	1527	89	444	1001	242	24	443	16
14 : 00	1823	1460	7	1248	1263	776	39	20	1
15 : 00	1440	838	3	283	1147	189	36	178	1
16 : 00	1618	1273	22	2439	1167	10	92	218	4
17 : 00	1529	1762	8	1204	1252	26	52	55	11
18 : 00	756	754	2	638	1477	343	6	42	74
19 : 00	42	71	11	36	19	3	12	52	151
20 : 00	874	965	32	131	652	3	7	45	15
21 : 00	1025	433	1	1043	2215	12	27	288	56
22 : 00	966	150	53	1064	620	20	4	72	5
23 : 00	1301	712	71			54	36	132	4
24 : 00	1585	990	71			439	28	389	36
Total	27379	17924	573	15356	18575	5458	4235	3655	720

Table 7. The changes of body weight in the normal and experimental groups.

		Initial (g)	Final (g)	Increasing rate (%)
Normal		18.00±1.25	23.96±3.58	33.59±9.61
2,4-D	Sodium	18.20±1.63	22.39±3.66	21.32±7.76
2,4-D	Sodium+Ethanol 2%	18.50±1.10	22.34±2.67	20.28±9.08
2,4-D	Sodium+Ethanol 4%	18.20±1.02	22.68±2.13	25.16±5.99

Values are Mean±S.D.

Table 8에서 보는바와 같이 肝臟對體重重量比에서는 正常群이 $5.59 \pm 0.83\%$ 인데 비해 2,4-D와 4% Ethanol 併用投與群은 $4.83 \pm 0.73\%$ 로 有意性 있게 減少하였다. 腎臟對體重重量比 역시 正常群이

$1.48 \pm 0.23\%$ 인데 비해 2,4-D와 4% Ethanol 併用投與群은 $1.42 \pm 0.17\%$ 로 顯著히 減少하였다. 또한 脾臟對體重重量比는 正常群이 $0.76 \pm 0.20\%$ 인데 비해 2,4-D와 2% Ethanol 併用投與群은 $0.66 \pm$

Table 8. The weight changes of the various organs in the normal and experimental groups.

	Liver (%)	Kidney (%)	Spleen (%)	Brain (%)
Normal	5.59±0.83	1.48±0.23	0.76±0.20	1.97±0.33
2.4-D	6.04±1.19	1.59±0.12	1.09±0.27	2.04±0.38
2.4-D+Ethanol 2%	5.76±1.11	1.56±0.24	0.66±0.23**	1.85±0.24
2.4-D+Ethanol 4%	4.83±0.73*	1.42±0.17**	0.73±0.32*	1.99±0.24

Values are Mean±S.D.

Significant difference from the normal group. (*p<0.05, **p<0.001)

Table 9. The changes of a few biochemical values in the normal and experimental groups.

	GPT (unit/l)	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/dl)
Normal	66.55±10.06	113.6 ±25.18	96.98±3.07
2.4-D	76.37± 8.04	114.8 ±21.88	120.09±6.40
2.4-D+Ethanol 2%	87.28± 5.98	97.42±22.81	110.82±8.34
2.4-D+Ethanol 4%	87.66± 3.35	126.25±25.48	117.87±3.79

Values are Mean±S.D.

Significant difference from the normal group.

0.23%로 顯著한 減少를 보였으며, 2.4-D와 4% Ethanol 併用投與群은 0.73±0.32%로 有意性있는 減少를 보였다. 한편 腦對体重重量比는 正常群인 1.97±0.33%에 비해 약간의 增減이 있었다.

2) 生化學的 檢査結果

28日間の 飼育期間이 지난後 各 mouse의 血清을 分離하여 測定한 生化學的 檢査結果는 Table 9와 같다.

Table 9에서 보는 바와 같이 GPT는 正常群이 66.55±10.06 mg/dl인데 비해 各實驗群에서 各各 76.37±8.04 mg/dl, 87.28±5.98, 87.66±3.35 mg/dl로 有意性없는 增加를 보였다. triglyceride 値에서는 正常群이 113.6±25.18 mg/dl인데 비해 2.4-D와 2% ethanol 併用投與群만이 97.42±22.81 mg/dl로 有意性없는 減少를 보였다. Cholesterol 値는 正常群이 96.98±3.07 mg/dl인데 비해 實驗群에서 各各 120.09±6.40 mg/dl, 110.82±8.34 mg/dl, 117.87±3.79 mg/dl로 有意性없는 增加現狀을 보였다.

3) 自發運動量 測定結果

28日間の 飼育이 끝난 후 自發運動量을 測定한 運動數를 Table 10, Fig. 10 및 Fig. 11에 나타내었

다.

亞急性 實驗群 自發運動量은 2.4-D Sodium群은 normal 群에 비해 거의 變化가 없었으나, 2% 및 4% ethanol 併用投與群에서는 현저한 增加를 보이고 있으며, 특히 4% Ethanol 併用投與群에서 매우 현저하게 增加하였다.

夜間行動性的 變化는 2.4-D 投與群이 normal 投與群에 비해 약간 增加하였으나 ethanol 併用投與群에서는 減少되는 傾向을 보이며, 특히 4% ethanol 併用投與群에서 현저한 減少現狀을 보였다.

考 察

2.4-D Sodium의 LD₅₀은 367 mg/kg으로서 信賴 限界는 347.2~387.9 mg/kg으로 Hill等の 報告와 一致하였으며³⁾, ethanol 2 ml/kg 併用投與時, 2.4-D Sodium의 LD₅₀은 338 mg/kg이었으며, ethanol 4 ml/kg 併用投與時의 LD₅₀은 332 mg/kg로서 ethanol의 分量을 增量하여 2.4-D Sodium과 같이 併用投與했을때 2.4-D Sodium의 LD₅₀은 減少되었으며 相對的으로 2.4-D Sodium의 毒性發現에

Table 10. Motor activity count on treated 2.4-D and ethanol on subacute test.

TIME	Countol	2.4-D Alcohol 2%	2.4-D	2.4-D Alcohol 4%
	10 : 20	10 : 20	10 : 40	10 : 40
01 : 00	945	1908	1069	4021
02 : 00	356	451	78	1468
03 : 00	184	195	288	925
04 : 00	65	145	667	943
05 : 00	221	132	146	401
06 : 00	273	308	582	34
07 : 00	72	172	829	705
08 : 00	518	287	1101	2380
09 : 00	498	874	780	1984
10 : 00	1069	2390	1751	2388
11 : 00	1620	2828	1177	2536
12 : 00	1572	1337	763	3202
13 : 00	1609	873	1086	2931
14 : 00	1291	984	682	680
15 : 00	735	424	299	476
16 : 00	555	394	142	684
17 : 00	317	159	161	83
18 : 00	366	514	339	352
19 : 00	778	961	1221	583
20 : 00	385	1514	858	991
21 : 00	966	1224	234	842
22 : 00	129	321	81	1335
23 : 00	139	317	210	1194
24 : 00	247	322		
Total	14910	19034	14544	31141

ethanol이 작용하고 있음을豫想할 수 있었다.

24時間동안의 急性毒性試驗에서 Normal群, 2.4-D 投與群, ethanol 投與群 및 2.4-D와 ethanol 併用投與群의 自發運動量을 測定한 結果를 比較할 때 2.4-D와 ethanol 併用投與群이 기타群에 비해 顯著하게 運動量이 減少하고 있음을 알 수 있었으며, 併用投與群間에서도 ethanol의 量에 따라 運動量이 增減하고 있었으며 2.4-D의 量에 따라서도 運動量이 增減됨을 볼 때 ethanol의 影響을 推測할 수 있었다.

亞急性毒性實驗은 28日間 實施하였으며 normal 群, 2.4-D Sodium 投與群, 2.4-D Sodium과 2%

ethanol 併用投與群 및 2.4-D Sodium과 4% ethanol 併用投與群으로 分類하여 實施하였다.

各群의 體重變化를 測定한 結果는 ethanol 投與群이 normal群에, 比하여 약간 增加하였으며, 其他 全群에서는 體重增加가 둔화 되었음을 보여주고 있었으며, 또한 ethanol 併用投與群에서는 회복되는 경향을 보였다. 肝臟, 腎臟, 비장 및 腦의 重要한 臟器에 對한 體重比는 4% ethanol 併用投與群에서는 有意性있게 減少하고 있음을 알 수 있었다. 各 投與群에 對한 生化學的 檢査結果 GPT는 各 實驗群에서 增加함을 보여주고 있다.

亞急性實驗이 끝난후에 各群에서 mouse 5마리씩을 選擇하여 24時間 MK-ANIMEX를 利用 自發運動量을 測定한 結果를 比較해 보면, 2.4-D Sodium 投與群과 normal 群의 運動量에서 別로 差異가 없었으나, 2% 및 4% ethanol 併用投與群에서 自發運動量이 매우 顯著하게 增加하였음을 나타내었으며, ethanol 併用投與群肝에서도 ethanol의 量에 따라 거의 倍에 가까운 運動量變化가 있음을 보여 주었다. 이것으로 미루어 보아 2.4-D Sodium에 ethanol 用量依存的으로 作用하고 있을 것으로 思料된다. 夜間行動性 變化는 4% ethanol 併用投與群에서 顯著하게 減少하는 傾向을 나타냈다.

結 論

Mouse에 있어서 2.4-D Sodium에 對한 ethanol이 影響에 對하여 實驗한 結果는 다음과 같다.

- 1) 2.4-D Sodium의 LD_{50} 은 367 mg/kg이었다.
- 2) Ethanol 2 ml/kg 投與後의 2.4-D Sodium의 LD_{50} 은 332 mg/kg이었다.
- 3) Ethanol 4 ml/kg 投與後의 2.4-D Sodium의 LD_{50} 은 332 mg/kg이었다.
- 4) 急性毒性實驗에서는 自發運動量은 2.4-D sodium과 Ethanol 併用投與群에서 用量依存的으로 減少되었으며, LD_{50} 量을 28일에 나누어 飼育한 亞急性實驗에서는 Ethanol 併用投與群에서 自發運動量은 增加되었다.

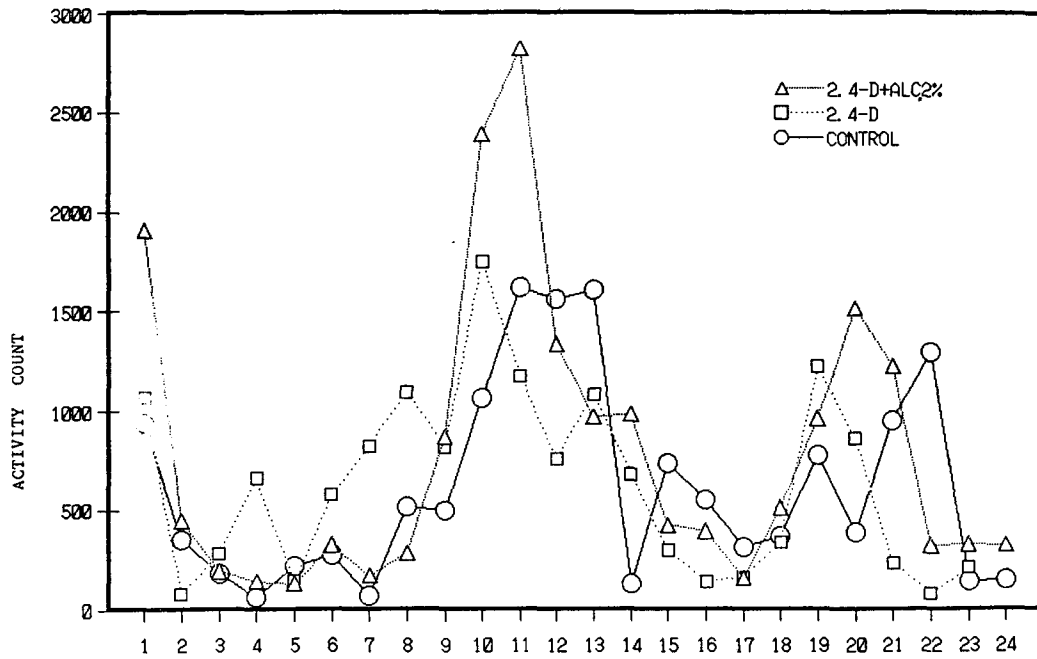


Fig. 10. Motor activity count in the group treated with 2,4-D (13.14 mg/kg/day) and ethanol (2%) 2% ethanol was used in situ for drinking water for 28 days.

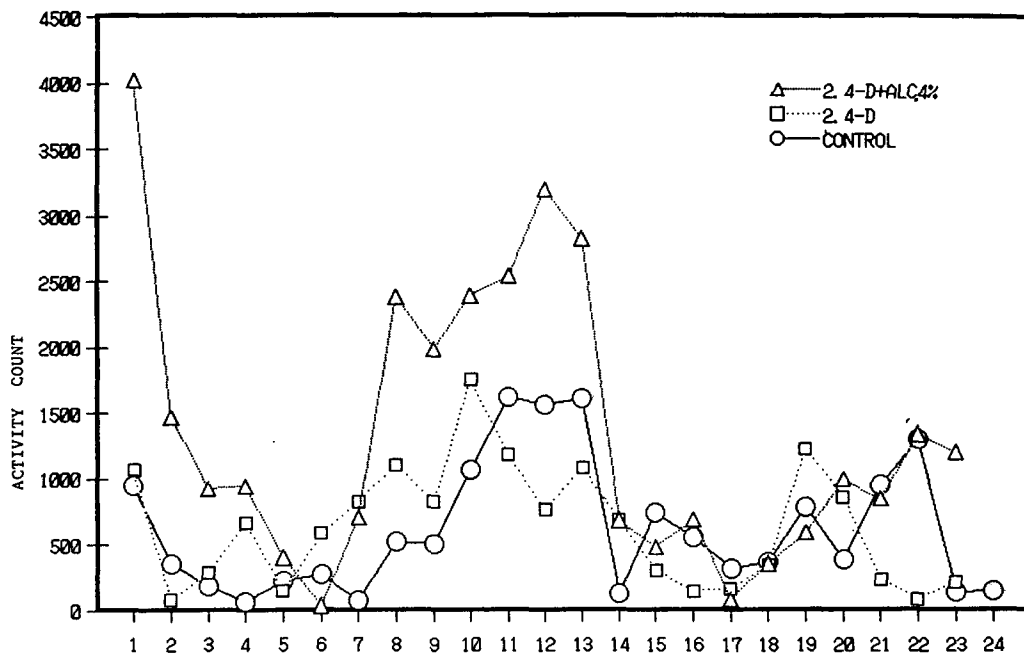


Fig. 11. Motor activity count in the group treated with 2,4-D (13.14 mg/kg/day) and ethanol (4%) 4% ethanol was used in situ for drinking water for 28 days.

参 考 文 献

1. 洪思澳 外：最新衛生化學(1984)
2. Bucher, N.L.R.: Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid on experimental animals. *proc. Soc. Exp. Biol., N.Y.*, **63**, 204 (1964)
3. Hill, E.V. and Carlisle, H.: Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid for experimental animals. *J. Industr. Hyg.* **29**, 85 (1947)
4. Drill, V.A. and Hiratzka, T.: Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4-trichlorophenoxyacetic acid. A report on their acute and chronic toxicity in dogs. *Arch. Industr. Hyg.* **7**, 61, (1953)
5. BJorn, M.K. and Northen, H.T.: Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on chicks. *Science, October* **108**, 29 (1948)
6. Desi I, Sos J. Olasz, F. Sule & V. Markus: Nervous system effects of a chemical herbicide. *Arch. Environ. Health*, **4**, 95 (1962)
7. Goldstein, N.P., P.M. Jones & J.R. Bronw: Peripheral neuropathy after exposure to an ester of dichlorophenoxyacetic acid. *JAMA.*, **171**, 1306 (1959)
8. Berkley, M.C. and McGee, K.R.: Neuropathy following exposure to a dimethylamine salt of 2,4-D. *Arch. Int. Med.* **111**, 351, (1963)
9. Nielsen, K, Kaempe B, Jensen. Holm, J.: Fatal poisoning in man by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D): Determination of the agent in forensic materials. *Acta. Pharmacol.*, **22**, 224 (1965)
10. Berwick P.: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid poisoning in man. *J.A.M.A.*, **214**, 1114 (1970)
11. Kolberg, J. Helgeland, K. Jonsen J. Tjeltueit O.: The Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, **29**, 81 (1971)
12. Dudey, A.W., and Thapar, N.T.: Fatal human ingestion of 2,4-D, a common herbicide. *Arch. Pathol.*, **94**, 270 (1972)
13. Elo, H., and Ylitalo, P.: Substantial increase in the levels of chlorophenoxyacetic acids in the CNS of rats as a result of severe intoxication. *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, **41**, 280 (1972)
14. Todd, R.L.: A case of 2,4-D intoxication. *J. Iowa Med. Sci.*, **52**, 663 (1962)
15. Erne, K.: Distribution and elimination of chlorinated phenoxyacetic acids in animals. *Acta. Vet. Scand.*, **7**, 240 (1966)
16. Kohli, J.D., Khanna, R.N., Gupta, B.N. and M. M. DHAR, J.S., Tandon, K.P. Sircar: Absorption and excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in man. *Xenobiotica*, **4**(2), 97 (1974)
17. Way, J.M.: Toxicity and hazards to man, domestic animals, and wildlife from some commonly used auxin herbicides. *Residue Rev.*, **26**, 37 (1969)
18. Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F.: Simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **96**, 99 (1949)
19. Reitman, S. Frank, S: *Am. J. Clin. Path.*, **28**, 56 (1957)
20. Fletcher, M.J.: A colorimetric method for estimation of serum triglycerides. *Clin. Chim. Acta.*, **22**, 393 (1968)
21. Allain, C.C. al: *Clin. Chem.*, **20**, 470 (1974)