

EFFECT OF PHENOBARBITAL AND / OR SKF 525-A ON THE METABOLISM AND ACUTE TOXICITY OF PARATHION IN ADULT FEMALE RATS

Jae Hwa Choi, Hye Kyung Yim and Young Chul Kim*

College of Pharmacy, Seoul National University
San 56-1 Shinrim-Dong, Kwanak-Ku Seoul 151-742, Korea

(Received June 2, 1990)

(Accepted June 20, 1990)

자성 흰쥐의 파라치온 급성독성 및 대사에 미치는 페노바르비탈 및 SKF-525-A의 영향

최재화 · 임혜경 · 김영철

서울대학교 약학대학

ABSTRACT: Effects of altering hepatic mixed-function oxidase (MFO) enzyme activities on the metabolism and acute toxicity of parathion were investigated in adult female rats. In vitro hepatic metabolism of parathion to paraoxon was increased by phenobarbital pretreatment (50 mg/kg/day, ip, for 4 consecutive days) and SKF 525-A (50 mg/kg, ip, 1 hr prior to sacrifice) decreased paraoxon formation indicating that phenobarbital induces that form(s) of cytochrome P-450 catalyzing conversion of parathion to paraoxon. Degradation of paraoxon to p-nitrophenol was increased by phenobarbital pretreatment, but not affected by SKF 525-A suggesting that MFO activities play only a minor role in the detoxification of the active metabolite of this insecticide. The phenobarbital-induced increase in paraoxon formation was partially antagonized by SKF 525-A. Significant activity for both parathion activation and paraoxon degradation was also observed in the lung preparation, however, this extrahepatic parathion and paraoxon metabolizing activity was not induced by phenobarbital or inhibited by SKF 525-A pretreatment. Phenobarbital pretreatment increased paraoxon level in livers of rats when

measured 3 hr following parathion injection (2 mg/kg, ip). SKF 525-A did not alter parathion or paraoxon levels in brain, blood and liver. Phenobarbital pretreatment decreased the toxicity of parathion (4 mg/kg, ip) or paraoxon (1.5 mg/kg, ip) as determined by decreases in lethality and inhibition of brain and lung acetylcholinesterases. An additional SKF 525-A treatment failed to decrease the protective effects of phenobarbital against parathion or paraoxon toxicity. These results suggest that some unknown factors other than hepatic MFO induction are involved in the protective action of phenobarbital against parathion and paraoxon toxicity.

Key words: Parathion, Phenobarbital, SKF 525-A, Mixedfunction oxidase (MFO), Acetylcholinesterase (AChE) activity.

서 론

Parathion(diethyl-4-nitrophenylphosphorothioate)과 같은 phosphorothioate계 유기인제 살충제는 Mixed-Function Oxidase(MFO) enzyme system에 의해 desulfuration 되어 cholinesterase(ChE)를 phosphorylation 시키는 oxon analogs로 대사된다. 그러나 MFO enzyme system은 이 계열의 organophosphates의 무독화반응에도 관여하므로(Fig. 1), 이 화합물들의 독성발현에 기여하는 간의 역할은 분명하지 않다.

몇몇 연구자들은 간에서 생성된 oxon은 간 또는 혈액내에 존재하는 여러 non-specific esterases에 의해 분해되어 sites of action인 뇌와 폐에는 도달하지 못하며 parathion의 독성은 이들 활성부위에서 생성되는 paraoxon에 기인하는 것으로 주장하였다(Neal, 1967 ; Alary and Brodeur, 1969 ; Sultatos et

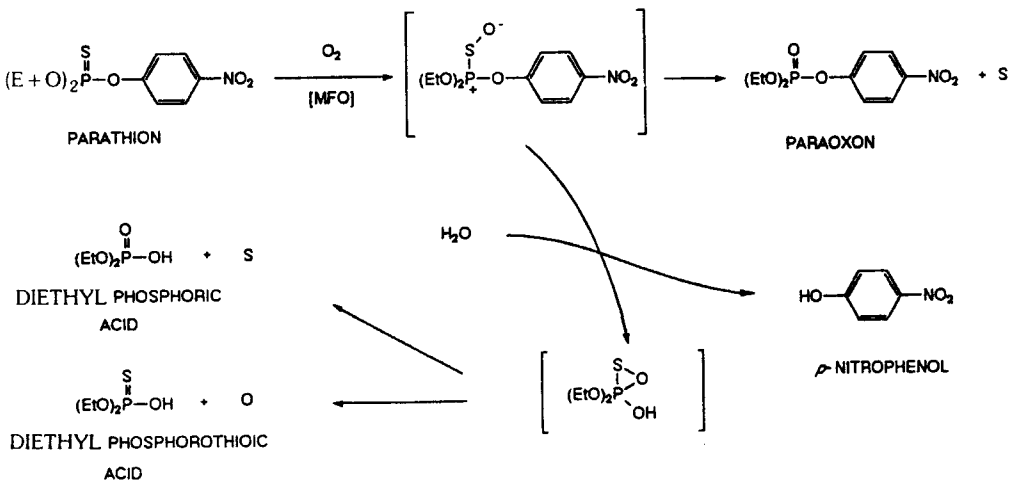


Fig. 1. Proposed pathways for the biotransformation of parathion.

al., 1985). 실제로 간 이외에 뇌와 폐 등의 조직에서도 parathion의 paraoxon으로의 대사가 일어남이 보고된 바 있다(Poore and Neal, 1972 ; Law et al., 1974 ; Normal and Neal, 1976 ; Forsyth and Chambers, 1989).

Phenobarbital 또는 chlorinated insecticides 등의 MFO system의 inducer 전처리는 parathion의 독성을 감소시키는 여러 연구자들에 의해 관찰되었다(Triola and Coon, 1966 ; DuBois and Kinoshita, 1968 ; Purshottam and Kaveeshwar, 1982 ; Sultatos, 1986). Purshottam과 Kaveeshwar(1982) 및 Sultatos(1986)는 hepatic MFO activity의 induction에 의해 간에서의 parathion 대사량 증가를 그 독성감소의 기전으로 제시하였다. 즉 간에서 parathion의 무독화반응의 증가에 의해 active sites에 도달하는 parathion 농도가 감소하는 것을 phenobarbital의 parathion 독성에 대한 보호효과의 underlying mechanism으로 추정하였다.

그러나 Kim 등(1988)은 aminopyrine 및 *p*-nitroanisole을 기질로 측정된 간대사능력의 변화와 parathion 독성발현과의 상관성을 관찰하지 못하였으며 phenobarbital에 의한 parathion 독성에 대한 보호효과는 phenobarbital의 간 MFO 활성에 주는 영향 이외의 또다른 효과에 의해 매개될 가능성을 지적하였다. 본 연구에서는 MFO 활성을 변화시키는 물질들의 *in vitro*에서의 parathion 대사에 주는 영향과 parathion의 체내대사 및 독성에 주는 영향을 측정하여 parathion 독성발현에 기여하는 간의 역할을 규명하고자 시도하였다.

재료 및 방법

동물 및 전처리

자성 Sprague Dawley rats(150-250g)를 실험동물로 사용하였다. 동물은 구입 후 온도 $21 \pm 1^\circ\text{C}$, light과 dark cycle이 12시간마다 바뀌는 동물실에(light · 0700-1900, Dark · 1900-0700) 최소한 10일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 식수와 사료는 자유롭게 섭취시켰다.

Phenobarbital sodium은 증류수에 용해시켜 매일 50 mg/kg의 용량으로 4일간 투여하고 최종 투여 24시간 경과 후 동물을 실험에 사용하였다. SKF 525-A는 parathion 투여 1시간 이전에 50 mg/kg을 복강주사하였다. Phenobarbital 및 SKF 525-A는 증류수에 용해시켰으며 parathion은 20% ethanol과 80% propylene glycol의 혼합액으로 희석하여 복강내로 주사하였다.

시약

Parathion(순도 99%)은 Chem Service(West Chester, PA, U.S.A.)로부터, paraoxon, acetylthiocholine iodide, DTNB(5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid), NADPH는 Sigma Chemical Company(St. Louis, MO, U.S.A.)로부터 구입하였다. Phenobarbital sodium은 Selectchemi AG(Swiss)의, SKF 525-A는 Smith Kline Beckman Corp.(Philadelphia, PA, U.S.A.)의 기증품을 사용하였다. 그의 본 실험에 사용된 모든 시약 및 용매는 reagent grade 또는 그 이상의 등급품을 사용하였다.

Enzyme Assays

Cholinesterase(ChE) 활성은 Ellman 등(1961)의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. 뇌 및 폐가 유기인제의 active sites로 알려져 있으므로 이들 조직의 total ChE 활성을 측정하여 acetylcholinesterase(AChE) 활성으로 표시하였다.

랫트에 parathion을 투여하고 120 min 경과시 단두한 후 뇌 및 폐를 적출하였다. Parathion 투여 후 120분간 생존하지 못한 동물의 경우 사망 즉시 위의 조직을 적출하여 실험에 사용하였다. 조직을 0.1 M phosphate buffer(pH 7.8)내에서 polytron으로 분쇄하여 뇌의 경우 1 ml/당 30 mg, 폐의 경우 70 mg을 함유토록 하였다. 조직 homogenate 0.02 ml을 DTNB 0.1 ml(10 mM), 0.1 M phosphate buffer(pH 8.0) 3.0 ml, acetylthiocholine iodide 0.02 ml(75 mM)과 섞고 혼합액의 흡광도를 412 nm에서 측정하였다. 이 혼합물을 27°C에서 30분간 incubation하고 재차 동일 파장에서 흡광도를 측정하여 1차 흡광도와와의 차이로부터 AChE 활성을 산출하였다.

간, 폐 및 뇌조직의 parathion activation 및 paraoxon degradation 활성은 Norman과 Neal(1976)의 방법을 수정하여 측정하였다. 랫트를 단두시킨 후 간, 폐, 뇌를 적출하고 0.1 ml phosphate buffer(pH 7.4) 내에서 homogenization하여 homogenates 1 ml/당 조직 0.5g이 함유되도록 하였다. Tissue homogenates의 9,000g 상등액 0.2 ml, 0.015 M phosphate buffer(pH 8.0) 1.574 ml, NADPH 0.1 ml(1.3 μmole) 및 ethanol에 희석한 parathion 26 μl(0.35 μmole)을 10분간 37°C에서 분당 100회 oscillation하여 incubation하고 dry ice로 급속히 냉각시켜 반응을 종결시켰다. Paraoxon degradation 측정실험에서는 tissue homogenates의 9,000g 상등액 0.2 ml, 증류수 0.5 ml, 0.2 M phosphate buffer 0.2 ml과 ethanol에 희석한 paraoxon 0.4 μmole을 위와 같은 방법으로 incubation 하였다. Parathion과 paraoxon의 양은 아래 방법과 같이 HPLC를 사용하여 측정하였다.

조직 중 parathion 및 대사물의 측정

뇌, 간 및 혈청 중 parathion, paraoxon, *p*-nitrophenol의 농도는 Sultatos 등(1982)의 방법을 수정하여 측정하였다. 간 및 뇌를 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4) 중에서 homogenization하여 homogenates 1 ml에 tissue 0.33g을 함유하도록 하였다. Homogenates 2 ml 또는 혈청 1 ml에 1g NaCl과 2 ml ethyl acetate를 가한 후 원심분리하여 ethyl acetate layer를 분리하였다. 여액을 동일량의 ethyl acetate를 가해 재차 추출하여 합친 후 질소로 날려보내고 HPLC로 분석하였다.

HPLC system은 Hitachi 638-50 Liquid Chromatography Solvent Delivery Unit과 Hitachi 655A Variable Wavelength UV monitor, Waters μporasil column(300×4 mm)으로 구성되었다. 측정에 사용된 파장은 290 nm이었다. Mobile phase로는 methylene chloride, acetonitrile, glacial acetic acid(93 : 7 : 0.02)를 사용하였고 flow rate는 1 ml/min이었다. Internal standard로는 *p*-dimethylaminobenzaldehyde를 사용하였다.

통계처리

실험결과는 two-tailed Student's *t*-test를 이용하여 비교하였다. 치사율 실험에서는 standard X² analysis로 각 군간의 결과를 비교하였다. 따로 기술하지 않은 한 *p*<0.05인 경우에 유의성이 있는 차이로 판정하였다.

결 과

간에서 parathion의 paraoxon과 *p*-nitrophenol로의 대사는 phenobarbital 전처리에 의해 현저히 증가하였다(Table 1). SKF 525-A는 간에서 paraoxon의 생성을 감소시켰다. 이 결과는 간에서의 parathion의 활성화반응에 MFO enzyme system이 중요한 역할을 갖고 있음을 보여주고 있다. Phenobarbital 전처리에 의해 항진된 paraoxon과 *p*-nitrophenol의 생성은 SKF 525-A에 의해 부분적으로 길항되었다. 한편 폐에서도

Table 1. Effect of phenobarbital and SKF 525-A pretreatment on the formation of paraoxon and *p*-nitrophenol from parathion *in vitro*^a

Group	Liver		Lung	
	<i>p</i> -nitrophenol	paraoxon	<i>p</i> -nitrophenol	paraoxon
Control	1.97 ± 0.03	9.78 ± 0.43	0.06 ± 0.01	0.43 ± 0.06
SKF 525-A	1.38 ± 0.30	6.48 ± 0.64	0.08 ± 0.03	0.32 ± 0.00
PB	22.47 ± 2.80	28.85 ± 4.80 ^b	0.11 ± 0.02	0.64 ± 0.00
PB ± SKF 525-A	16.47 ± 3.33	14.15 ± 1.10 ^c	0.19 ± 0.09	0.75 ± 0.16

^aRats were pretreated with phenobarbital (PB; 50 mg/kg/day, ip) for 4 consecutive days and/or a single dose of SKF 525-A (50 mg/kg, ip, 1 hr prior to sacrifice). A total of 4 rats used in each group. Metabolic activity was determined in 9,000 g supernatant of pooled tissue homogenates from 2 rats except in the experiments measuring the metabolic activity in the liver of rats treated with PB or PB + SKF 525-A where each sample was prepared from one rat. Metabolic activity was expressed as μg product formed/g tissue/min. Each value represents the mean \pm S.E.

^bSignificantly different from control (Student's *t*-test, $p < 0.05$).

^cSignificantly different from the group treated with phenobarbital only (Student's *t*-test, $p < 0.05$).

Table 2. Effect of phenobarbital and SKF 525-A pretreatment on the formation of *p*-nitrophenol from paraoxon *in vitro*^a

Group	Liver	Lung
Control	17.48 ± 0.10	1.56 ± 0.16
SKF 525-A	16.41 ± 2.53	1.26 ± 0.35
PB	23.25 ± 1.27	1.14 ± 0.31
PB + SKF 525-A	26.93 ± 2.47	0.74 ± 0.34

^aMetabolic activity was expressed as μg *p*-nitrophenol formed/g tissue/min. Significant difference was not observed either between control and SKF 525-A group, or between PB and PB + SKF 525-A group (Student's *t*-test, $p > 0.05$). For other details, see Table 1.

parathion의 paraoxon과 *p*-nitrophenol로의 대사활성이 측정되었으나 이 효소활성은 phenobarbital에 의해 항진되거나 SKF 525-A에 의해 억제되지 않았다. 뇌에서도 폐보다 낮은 parathion 대사활성이 측정되었으나 이 활성 또한 phenobarbital과 SKF 525-A 전처리에 의해 변화되지 않았다(data not shown).

Table 2는 각 조직에서 paraoxon의 무독화반응 활성을 보여주고 있다. Phenobarbital 전처리는 paraoxon 분해를 증가시켰으나 phenobarbital에 의한 paraoxon 분해능력의 증가는 paraoxon 생성능력 증가에 비해 증가율은 약 1/8에 불과하였다. SKF 525-A는 paraoxon 분해능력을 감소시키지 못하였으며, 또 phenobarbital에 의해 증가된 paraoxon 분해능력에도 영향을 주지 못하였다. 이 결과는 paraoxon 분해에 MFO 활성의 기여가 낮거나 거의 없음을 시사하고 있다. 뇌와 폐에서도 paraoxon 분해활성은 관찰되었으나 phenobarbital이나 SKF 525-A 전처리는 영향을 주지 못하였다.

Parathion을 동물에 주사하고 3시간 경과시 측정한 간, 뇌, 혈청에서의 parathion 대사물의 농도는 Table 3과 같다. Phenobarbital 전처리군의 paraoxon 및 *p*-nitrophenol의 간에서의 농도는 대조군에 비하여 현저히 높아 위의 *in vitro* 실험 결과를 지지하고 있다. 그러나 *in vitro* 실험에서의 paraoxon 생성 증가율 보다 현저히 낮은 paraoxon의 농도증가가 관찰된 이유는 생체내에서는 생성된 paraoxon은 간외부로 혈류를 통해 빠져 나가든가 또는 간내에서 분해되기 때문으로 보인다. SKF 525-A 전처리는 간에서의

Table 3. Effect of phenobarbital or SKF 525-A on the levels of parathion and metabolites in liver, serum and brain^a

Group	Liver		Serum			Brain		
	Paraoxon	<i>p</i> -Nitrophenol	Parathion	Paraoxon	<i>p</i> -Nitrophenol	Parathion	Paraoxon	<i>p</i> -Nitrophenol
Control	0.434±0.121	0.037±0.014	0.36±0.01	0.09±0.02	0.028±0.005	2.81±0.07	0.01±0.000	0.05±0.014
PB	1.039±0.102 ^b	0.069±0.005	0.46±0.10	0.09±0.03	0.026±0.004	3.21±0.20	0.01±0.006	0.06±0.003
SKF 525-A	0.395±0.006	0.049±0.006	0.39±0.03	0.19±0.10	0.018±0.003	2.72±0.20	0.02±0.006	0.04±0.006

^aRats were pretreated with phenobarbital (50 mg/kg/day, ip) for 4 consecutive days or SKF 525-A (50 mg/kg, ip) 1 hr prior to a challenge dose of parathion (2 mg/kg, ip). Three hrs following the parathion treatment rats were sacrificed and the parathion/metabolites levels were determined. Value given is μ g parathion or metabolites/g tissue or ml blood. Each value represents the mean \pm S.E. for at least 4 rats.

^bSignificantly different from control (Student's *t*-test, $p < 0.05$).

Table 4. Effect of phenobarbital and SKF 525-A on the toxicity of parathion^a

Group	AChE activity ^b		Lethality
	Brain	Lung	
Control			62% (8/13)
PB	0.61±0.28	0.29±0.10	8% (1/13) ^c
PB + SKF 525-A	0.38±0.08	0.18±0.05	8% (1/13) ^c

^aRats were pretreated with phenobarbital (50 mg/kg/day, ip) for 4 consecutive days. A group of phenobarbital-treated rats was injected with an additional dose of SKE 525-A (50 mg/kg, ip) 1 hr prior to a challenge dose of parathion (4 mg/kg, ip).

^bEach value represents the mean \pm S.E. for at least 5 rats. AChE activity was expressed as nmol substrate hydrolyzed/mg tissue/min. The effect of the additional SKF 525-A treatment on brain or lung AChE activity was not significant (Student's *t*-test, $p > 0.05$).

^cSignificantly different from control (standard X^2 analysis, $p < 0.05$).

paraoxon과 *p*-nitrophenol의 농도에 영향을 주지 않아 *in vitro* 실험과는 일치하지 않는 결과를 보였다. Parathion 투여 3시간 후에 측정된 뇌 및 혈액에서의 paraoxon과 *p*-nitrophenol의 농도에는 phenobarbital과 SKF 525-A는 아무런 변화를 나타내지 못하였다.

Parathion에 의한 치사율을 측정된 실험에서 phenobarbital 전처리하는 현저히 parathion의 독성을 감소시켰다(Table 4). 그러나 phenobarbital이 전처리된 동물군에 SKF 525-A를 추가 투여하였을 때의 parathion에 의한 치사율 및 뇌, 폐의 AChE 활성에는 유의성있는 변화가 나타나지 않아 SKF 525-A는 phenobarbital의 parathion 독성으로부터의 보호효과에 영향을 주지 않는 것으로 관찰되었다.

Parathion의 active metabolite인 paraoxon에 의한 치사율 및 AChE 활성억제를 phenobarbital은 현저히 감소시켰다(Table 5). 이 결과는 phenobarbital에 의한 paraoxon의 체내에서의 분해증가를 반영한 것으로 보인다. 그러나 SKF 525-A는 phenobarbital의 paraoxon에 대한 독성 보호효과를 경감시키지 못하여 Table 2의 *in vitro* paraoxon 분해능력실험과 일치되는 결과를 보였다.

Table 5. Effect of phenobarbital and SKF 525-A on the toxicity of paraoxon^a

Group	AChE activity ^b		Lethality
	Brain	Lung	
Control			50% (3/6)
PB	0.45 ± 0.03	0.38 ± 0.09	0% (0/6) ^c
PB + SKF 525-A	0.58 ± 0.07	0.50 ± 0.04	0% (0/6) ^c

^aRats were pretreated with phenobarbital (50 mg/kg/day, ip) for 4 consecutive days. A group of phenobarbital-treated rats was injected with an additional dose of SKE 525-A (50 mg/kg, ip) 1 hr prior to a challenge dose of parathion (4 mg/kg, ip).

^bEach value represents the mean ± S.E. for at least 5 rats. AChE activity was expressed as nmol substrate hydrolyzed / mg tissue / min. The effect of the additional SKF 525-A treatment on brain or lung AChE activity was not significant (Student's *t*-test, $p > 0.05$).

^cSignificantly different from control (standard X^2 analysis, $p < 0.05$).

고 찰

본 연구실험에서 관찰된 phenobarbital 전처리에 의한 *in vitro*에서의 parathion 간대사 증가는 여러 연구자들의 보고와 일치한다(Neal, 1972 ; Poore and Neal, 1972 ; Sultatos, 1986). Phenobarbital 전처리는 parathion 주사 3시간 경과시에 측정된 간내 paraoxon 농도를 증가시킴으로 *in vitro* parathion 대사실험의 결과와 일관성을 보이고 있다. 또 SKF 525-A 전처리는 *in vitro*에서 간의 paraoxon 생성능력을 저하시켰다. 이 결과들은 phenobarbital은 parathion의 desulfuration에 관여하는 specific cytochrome P-450 isozyme(s)을 항진시키며 이 효소활성은 SKF 525-A에 의해 억제됨을 보여주고 있다. 한편 parathion 주사 3시간 후에 측정된 뇌와 혈액에서의 parathion 및 paraoxon의 농도는 phenobarbital이나 SKF 525-A 전처리에 의해 변화되지 않았다. 그러나 이들 대사변화제의 뇌 및 혈액에서의 parathion/paraoxon 농도에 미치는 영향에 관한 최종적인 결론은 parathion 투여 후 연속적인 측정을 통해 이들 조직에서의 elimination curve를 구해야 가능할 것이다.

Phenobarbital에 의한 parathion 독성에 대한 보호효과는 많은 연구자들에 의해 보고되어 왔다(Triola and Coon, 1966 ; DuBois and Kinoshita, 1968 ; Purshottam and Kaveeshwar, 1982 ; Sultatos, 1986). 그 기전으로 Alary와 Brodeur(1969)는 parathion의 detoxification이 phenobarbital에 의해 우선적으로 항진됨을 제시하였고, Norman와 Neal(1976) 및 Sultatos(1986)는 parathion의 독성은 active sites에서의 대사활성화에 의해 매개되기 때문으로 추정하였다. 즉 MFO 활성의 항진에 의해 더 많은 양의 paraoxon이 생성되나 paraoxon은 간 및 혈액 중의 esterases에 의해 active sites인 뇌나 폐에 도달하기 전에 분해되어 증가된 MFO 활성은 parathion의 무독화반응에만 기여하게 되며 그 결과 간 대사를 거치지 않고 active sites에 도달하는 parathion의 양이 감소하여 그 독성이 감소한다는 가설을 제시하였다. 이 가설이 성립하기 위해서는 전제조건으로 parathion을 대사활성화시킬 수 있는 enzyme system이 active sites에 존재하여야 하며 실제로 뇌와 폐조직은 paraoxon을 생성시킬 수 있는 효소활성을 함유하고 있음이 본 실험에서도 관찰되었다.

Kim 등(1988)은 SKF 525-A 전처리가 parathion에 의한 치사율 및 AChE/ChE 활성억제작용에 영향을 주지 못함을 보고하였으나 그 기전은 아직 분명하지 않다. O'Brien(1961)은 *in vitro*에서 liver slice에 MFO 활성억제제인 SKF 525-A를 가할 때 parathion의 metabolism을 억제시키나 parathion의 lethality에는 영향을 주지 못함을 관찰하고 그 차이는 *in vivo*에서의 SKF 525-A의 paraoxon degradation 억제에 기인하는 것으로 추정하였다. 그러나 본 실험에서 랫트에 전처리된 SKF 525-A는 *in vitro* 대

사실험에서 paraoxon의 degradation에는 영향을 주지 못하였으며 parathion 주사 후 3시간 경과시에 측정된 간, 뇌, 혈액에서의 parathion과 paraoxon의 농도를 변화시키지 않았다. 또한 parathion의 active metabolite인 paraoxon을 주사한 실험에서 관찰된 phenobarbital의 보호효과를 SKF 525-A는 감소시키지 못하였다. 따라서 parathion 및 paraoxon의 분해에 기여하는 MFO 활성의 역할은 대단히 낮거나 거의 없는 것으로 보인다. 만일 사용된 용량에서 SKF 525-A가 간 이외의 조직에도 parathion의 paraoxon으로의 대사를 억제한다면 parathion의 독성에 변화를 주지 않을 수도 있으나 본 실험에서 SKF 525-A는 parathion의 폐 및 뇌에서의 *in vitro* 대사능력에 아무런 영향도 주지 못하였다.

Parathion은 protein-deficient diet에 의해 독성이 증가되고(Casterline and Williams, 1969), 반대로 정상 diet에 비해 단백질 함량이 높은 protein high diet에 의해 독성이 감소됨이 보고되었다(Purshottam and Srivastava, 1984). 그러나 *in vitro*에서 측정된 paraoxonase 활성은 protein high diet에 의해 변화되지 않았으므로 저자들은 기원 미상의 protein과 paraoxon과의 reversible binding을 독성감소의 기전으로 제시하였다. 또한 parathion의 paraoxon을 거치지 않는 직접적 분해에 serum albumin상의 esterase-like activity가 기여함이 Sultatos 등에 의해 관찰된 바 있다(Sultatose *et al.*, 1984; Sultatos and Minor, 1986). 한편 paraoxon은 더 용이하게 각종 enzymes 및 proteins의 serine hydroxyl기를 phosphorylation시키므로 binding에 의한 분해가 더 큰 역할을 할 것으로 추측된다. 이러한 proteins 및 tissue components와의 non-specific binding의 정도는 조직을 분쇄하여 일부 분획물을 분리하여 실시하는 *in vitro* 실험으로 적절히 반영할 수 없을 것이다. Phenobarbital 전처리는 MFO 활성의 향진 뿐 아니라 protein 합성의 증가 및 간의 enlargement를 유발함을 잘 알려져 있다. 반면 SKF 525-A는 그 자체 또는 대사물이 cytochrome P-450와 complex를 형성하여 MFO 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다(Schenkman *et al.*, 1972; Buening and Franklin, 1984). 그러므로 SKF 525-A는 phenobarbital의 MFO 활성향진효과 이외의 효과는 길항할 수 없을 것으로 추정된다. 본 실험에서 관찰된 SKF 525-A가 paraoxon의 간에서의 생성을 억제하나 parathion의 독성을 변화시키지 못한 현상은 phenobarbital의 parathion 및 paraoxon 독성에 대한 보호효과에 protein 합성증가 또는 간조직의 비대화 등에 의한 parathion/paraoxon의 분해증가가 기여함을 시사하고 있다.

참고문헌

- Alary, J.G. and Brodeur, J. (1969): Studies on the mechanism of phenobarbital-induced protection against parathion in adult female rats, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **169**, 159-167.
- Buening, M.K. and Franklin, M.R. (1974): The formation of complexes absorbing at 455 nm from cytochrome and metabolites of compounds related to SKF 525-A, *Drug Metab. Dispos.*, **2**, 386-390.
- Casterline, J.L.Jr. and Williams, C.H. (1969): Effect of pesticide administration upon esterase activities in serum and tissues of rats fed variable casein diets, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **14**, 266-275.
- DuBois, K.P. and Kinoshita, F. (1968): Influence of induction of hepatic microsomal enzymes by phenobarbital on toxicity of organic phosphorus insecticides, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **129**, 699-702.
- Ellman, G.L., Courtney, D., Andres, V.Jr. and Featherstone, R.M. (1961): A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem.*

- Pharmacol.*, **7**, 88-95.
- Forsyth, C.S. and Chambers, J.E. (1989): Activation and degradation of the phosphorothionate insecticides parathion and EPN by rat brain, *Biochem. Pharmacol.* **38**, 1597-1603.
- Kim, Y.C., Choi, J.H. and Lim, H.K. (1988): The effects of altering the hepatic drug metabolizing enzyme activity on the acute toxicity of diethyl-4-nitrophenyl phosphorothioate (parathion) in female rats, *Korean J. Toxicol.*, **4**, 107-115.
- Law, F.C.P., Eling, T.E., Bend, J.R. and Fouts, J.R. (1974): Metabolism of xenobiotics by the isolated perfused lung, *Drug Metab. Dispos.*, **2**, 433-442.
- Neal, R.A. (1967): Studies on the metabolism of diethyl 4-nitrophenyl phosphorothioate (parathion) *in vitro*, *Biochem. J.*, **55**, 415-421.
- Neal, R.A. (1972): A comparison of the *in vitro* metabolism of parathion in the lung and liver of the rabbit, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **23**, 123-130.
- Norman, B.J. and Neal, R.A. (1976): Examination of the metabolism *in vitro* of parathion by rat lung and brain, *Biochem. Pharmacol.*, **25**, 37-45.
- O'Brien, R.D. (1961): The effect of SKF 525-A (2-diethylaminoethyl 2:2-diphenylvalerate hydrochloride) on organophosphate metabolism in insects and mammals, *Biochem. J.*, **79**, 229-235.
- Poore, R.E. and Neal, R.A. (1972): Evidence for extrahepatic metabolism of parathion, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **23**, 759-768.
- Purshottam, T. and Kaveeshwar, V. (1982): Effect of phenobarbital pretreatment on regeneration of plasma cholinesterase activity inhibited by parathion or dichlorvos, *Arch. Environ. Health*, **37**, 53-58.
- Purshottam, T. and Srivastava, R.K. (1984): Effect of high-fat and high-protein diets on toxicity of parathion and dichlorvos, *Arch. Environ. Health*, **39**, 425-430.
- Schenkman, J.B., Wilson, B.J. and Cinti, D.L. (1972): Diethylaminoethyl 2,2-diphenylvalerate HCl (SKF 525-A)-*in vivo* and *in vitro* effects of metabolism by rat liver microsomes-formation of an oxygenated complex, *Biochem. Pharmacol.*, **2**, 2373-2383.
- Sultatos, L.G. (1986): The effects of phenobarbital pretreatment on the metabolism and acute toxicity of the pesticide parathion in the mouse, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **86**, 105-111.
- Sultatos, L.G., Basker, K.M., Shao, M., Murphy, S.D. (1984): The interaction of the phosphorothioate insecticides chlorpyrifos and parathion and their oxygen analogues with bovine serum albumin, *Mol. Pharmacol.* **26**, 99-10.
- Sultatos, L.G., Costa, L.G. and Murphy, S.D. (1982): Determination of organophosphorus insecticides, their oxygen analogs and metabolites by high pressure liquid chromatography, *Chromatographia*, **15**, 669-671.
- Sultatos, L.G., Minor, L.D. and Murphy, S.D. (1985): Metabolic activation of phosphorothioate insecticides: Role of liver, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **232**, 624-628.
- Sultatos, L.G. and Minor, L.D. (1986): Factors affecting the biotransformation of the pesticide parathion by the isolated perfused mouse liver, *Drug Metab. Dispos.*, **14**, 214-219.
- Triola, A.J. and Coon, M.J. (1966): Toxicologic interactions of chlorinated hydrocarbon and organophosphate insecticides, *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 549-555.