

Buprofezin과 Carbaryl의 복합독성에 관한 연구

洪 思 澳·李 鍾 雨

성균관대학교 약학대학

Toxic Effect of Combination of Buprofezin and Carbaryl in Rats

Sa Uk Hong and Jong Woo Lee

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

ABSTRACT

In this study, it was examined the toxic effects of combination of buprofezin and carbaryl on hematological, biological and enzymetic parameters in rats.

The administration of buprofezin or carbaryl both induced the tissue content of cytochrome P-450 and furthermore, the combination of the both increased significantly the liver content of cytochrome P-450 in rat. But cytochrome P-450 and NADPH-cytochrome c reductase activities in kidney were slightly increased.

Administration of carbaryl and combination of the both also significantly increased hepatic aniline hydroxylase activity. In addition, in the combination group, glucose-6-phosphatase and lipid peroxidase activities were changed in the rat liver.

Furthermore, cholinesterase was inhibited in rats treated with carbaryl or the combination of buprofezin and carbaryl.

The above results suggested that the combined administration of buprofezin and carbaryl can induce more toxic effects than the single administration of buprofezin or carbaryl.

서 론

Buprofezin(2-tert-butylimino-3-isopropyl-5-phenyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazin-4-one)은 최근에 개발된 살충제로서 thiadiazin계 유도체의 살충제이며 멸구약이나 흑명나방약으로

carbamate계 살충제와 혼합하여 사용하고 있다. 또한 합성 pyrethroid계 살충제에 내성을 갖는 일부 해충에 대해서도 살충효과를 나타낸다고 보고되어 있다^{1~4)}. 따라서 buprofezin이 기존 살충제의 단점을 보완하여 병용하여 사용하였을 경우 우수한 살충효과를 나타낸다. 실제로 우리나라에서도 멸구약이나 흑명나방약으로 carbamate 살충제와 혼합하여

사용하고 있다. 벼농사 및 과수, 채소농업분야에서 유해한 곤충류와 해충류에 대해서 매우 선택적인 독성작용을 나타낸다고 보고된 바 있다^{1~4)}. 즉 whiteflies 및 homoptera류, 특히 brown planthoppers(BPH) 등에는 매우 독성이 강하며^{5~9)} 그 살충효과의 범위가 coleoptera류 및 acarina류까지 확장된다¹⁰⁾. 또한 거미, wasps, honey bee, silk-worm 등 natural enemies에서는 매우 독성이 약하다고 한다¹⁰⁾.

그뿐만 아니라 수생생물인 어류 등에도 독성이 약하여^{2,10)} 최근에 일고 있는 농약의 과잉사용으로 인한 환경 및 수질오염면에서도 기존의 살충제에 비하여 보다 문제되지 않을 것이므로 앞으로 그의 사용량이 점점 더 증가되리라고 본다.

Buprofezin은 직접적으로 해충을 사멸하는 것이 아니라 성충의 egg generation이나 instars의 molting 단계에서의 발달을 억제하여 다음 세대의 유충의 수를 감소시키는 살충제라고 보고되어 있다^{1~3,11)}. 또한 잔류성이 높아 살충작용 시간이 매우 길다고 한다²⁾.

Buprofezin은 반지목에 속하는 해충에 대하여 선택적으로 특이한 살충작용을 나타내는 해충방지제이다. 이외에 초지목과 진드기목의 수종에 달하는 해충에도 활성을 보인다고 전술한 바 있다⁹⁾. 이 농약은 멸구와 해충의 유충에 대하여 탈피, 부전 또는 불능상태를 일으켜 살충효과를 나타내주고 있다. 또한 성충에 대해서는 수명을 단축시켜 주고 산란억제작용을 나타내는 살충제라고 한다^{1~3,12)}.

급성경구독성은 male rats에서 LD₅₀치가 2,198 mg/kg이며 경피독성은 rats에서 5,000 mg/kg 이상이라고 보고되어 있다^{2,10)}. 아급성 시험에서도 rats에 1개월간 연속투여할 때 무작용 용량은 약 4,000 ppm이며 자극성시험에 있어서도 mormort와 사람에 대해서도 피부자극성이 없었으며 변이원성 및 발암성 시험에서도 모두 나타나지 않았다고 보고되어 있다^{2,10)}.

이와같이 buprofezin은 포유동물에 대하여 매우 독성이 약하며 해충에 대해서도 높은 선택적인 독성을 갖는 살충제이지만 아직까지 포유동물에 대한 안

전성평가에 대하여 발표된 연구보고가 미비한 상태이다.

Carbaryl은 N-methylcarbamate계 살충제이며 cholinesterase를 가역적으로 저해하는 작용이 있으며^{13~16)} 그 기전은 acetylcholinesterase의 esteric site의 carbamylation에 의한 것이며 그 작용시간은 짧다고 한다^{17,18)}. 중독증상은 Murphy 등¹⁹⁾이 보고한 바 있으며 최루, 타액분비과다, 축농, 경련 그리고 나아가서는 사망에 이르게 하는 cholinergic 작용을 나타낸다. Neskovic 등²⁰⁾은 carbaryl를 rat에 경구투여하였을 때 cytochrome P-450의 함량은 증가되나 NADPH-cytochrome c reductase의 활성은 감소한다고 보고하였으며 Dikshith 등²¹⁾은 carbaryl를 경구투여한 rat의 간에서 ATPase 및 glucose-6-phosphatase의 활성 증가를 관찰하였으나 유의성이 없었으며 carbaryl에 의해서 병리적인 조직학적 변화를 일으키지 않는다고 보고하였다.

따라서 본 저자는 해충의 motality를 증가시키는 carbamate계 살충제인 carbaryl과 해충의 moulting를 억제하는 신살충제인 buprofezin을 선택하여 독성기전이 서로 상이한 살충제를 혼합사용하여 각각 단독사용할 때와 비교할 때 포유동물에 미치는 영향을 조사하여 이에 보고하고자 한다.

실험 방법

1. 실험동물 및 약물투여 방법

체중 200 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 rats를 삼육축산에서 분양(경기도 화성군 소재) 받아 1주일간 실험실 환경에서 적응시킨 후 1개군을 10마리로 하여 polycarbonate cage 내에서 사육하였다. 사료는 시판배합 고형사료(삼양 유지 사료 주식회사)를 급식하였으며 급수는 수도수를 사용하였다.

실험군은 다음과 같이 구분하여 약물을 1일 1회씩 1~5주간 각각 경구투여하였으며 희생전 24시간 동안 물만 공급하고 절식시켰다. 사료의 조성은 조단백질 22.1% 이상, 조지방 3.5% 이상, 조섬유

5.0% 이하, 조희분 8.0% 이하, Ca 0.6% 이상, P 0.4% 이상이였다.

① 대조군

Corn oil를 5.0 ml/kg씩 경구투여하였다.

② Buprofezin 단독투여군

Buprofezin(순도 85%) 분말을 corn oil에 현탁하여 균일화시킨 후 250 mg/kg을 대조군과 동일한 방법으로 투여하였다.

③ Carbaryl 단독투여군

Carbaryl(순도 97.5%) 분말을 Corn oil에 현탁하여 균일화시킨 후 50 mg/kg을 대조군과 동일한 방법으로 투여하였다.

④ Buprofezin, Carbaryl 혼합투여군

Buprofezin 250 mg/kg와 Carbaryl 50 mg/kg을 Corn oil에 현탁하여 균일화시킨 후 대조군과 동일한 방법으로 투여하였다.

2. LD₅₀치의 측정

체중 220 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 rat에 경구투여한 다음 24시간 이후의 치사유무를 관찰하여 Behrens-Karber 법에 의해 LD₅₀치를 구하였다.

3. 체중, 간장 및 신장의 중량측정

약물투여 전의 체중과 최종약물투여 24시간 후의 체중을 측정하여 약물투여 전후의 체중증감비율을 산출하였다. 체중을 측정한 rat는 ether로 마취시키고 신속히 복부정중선을 절개하여 복부대동맥에서 채혈하였다. 채혈후 간장 및 신장을 원형을 유지하면서 saline 용액으로 관류하여^{22,23)} 혈액을 제거한 후에 적출하고 saline 용액으로 깨끗이 씻어 여지로 수분을 제거한 다음 즉시 칭량하였다.

4. 혈액학적 및 혈액생화학적 변화측정

복부대동맥에서 채혈한 혈액의 일부는 coulter counter로 혈액학적 검사를 하였으며 일부는 시험관에 넣어 30분간 방치한 후에 2,000 g에서 20분간 원심분리시켜 얻은 혈청을 blood autoanalyzer를 사용하여 혈액생화학적 검사를 하였다.

5. 간장 및 신장 microsome 분획의 분리

적출한 간장 및 신장을 잘게 썰어 Potter Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25M sucrose 용액으로 homogenize시켰다. 10~20%의 간장 homogenate를 Kamath 등²³⁾의 방법을 개량한 Cinti 등²⁴⁾의 방법에 따라 differential centrifugation을 하였다.

Homogenate를 600 g에서 5분간 원심분리하고 그 상등액을 취하여 2°C에서 12,000 g로 10분간 원심분리하고 microsome을 완전히 침전시키기 위하여 8 mM CaCl₂ 용액을 post-mitochondrial supernatant에 가한 후, 다시 2°C에서 27,000 g로 15분간 원심분리하였다. 여기서 얻은 pellet을 동량의 0.15M KCl을 가하여 세척한 후 재현탁시키고 다시 27,000 g에서 15분간 원심분리한 다음 그 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다.

① Cytochrome P-450 함량측정

Microsome 분획중의 cytochrome p-450 함량측정은 Omura와 Sato²⁵⁾의 방법을 참조하고 Matsubara 등²⁶⁾의 변법에 준하여 differential spectrophotometry로 측정하였다. Microsomal pellet에 0.2M 인산염완충액(10⁻³M EDTA, pH 7.4)을 넣어 microsomal suspension을 만든 후 그 일정량을 취해 CO gas를 1분간 bubbling시킨 다음 2개의 cuvette에 양등분하였다. 3분간 방치 후 소량의 sodium dithionite를 sample cuvette에 가하고 1분 후에 450 nm와 500 nm에서 흡광도를 측정하고 그 차이를 molar extinction difference를 104 mM⁻¹로 하여 cytochrome P-450의 함량을 계산하였다.

② NADPH-cytochrome c reductase 활성 측정

Masters 등²⁷⁾의 방법 및 Mazei²⁸⁾의 방법에 준하여 인산염완충액(10⁻³M EDTA, pH 7.6)을 사용하여 NADPH-cytochrome c reductase 활성측정용 suspension 시액으로 사용하였다.

Incubation medium은 Table 1과 같은 조성으로 제조하였다. Sample cuvette에는 2 ml의 solu-

tion I을, reference cuvette에는 solution III를 가하여 25°C에서 8분간 incubation시킨 다음 각각의 cuvette에 solution II를 0.5 ml씩 가하였다. 이 혼합물을 다시 25°C에서 2분간 incubation시키고 5에서 만든 microsomal suspension 0.5 ml씩을 각 cuvette에 가하여 총량을 3 ml로 한 다음 신속히 혼합하고 25°C를 유지하면서 reaction rate가 linear하게 되는 3~4분 사이에 550 nm에서 1분간의 흡광도차를 측정하고 molar extinction difference를 $19.1 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하여 NADPH-cytochrome c reductase의 활성을 계산하였다.

③ Microsomal protein 함량측정

Microsome 분획중 단백질 함량은 Lowry 등²⁹⁾의 방법에 준하여 bovin serum albumin을 표준용액으로 사용하여 정량하였다.

④ Aniline hydroxylase 활성측정

간 microsome 분획중 aniline hydroxylase의 활성측정은 Kato와 Gillete³⁰⁾의 방법에 준하여 incubation medium은 Table 2와 같은 조성으로 제조하고 이 반응액을 37°C에서 20분간 반응시킨 후 20% trichloroacetic acid 2 ml를 가하여 반응을 종료시키고 원심분리하여 상등액 2 ml에 10% Na

2CO_3 1.0 ml와 2% phenol 함유 0.2N-NaOH 용액 2.0 ml를 가하여 37°C에서 30분간 정색시켜 얻어진 청색의 반응생성물을 파장 640 nm에서 흡광도를 측정하여 산정하였다³³⁾.

⑤ 간장 microsome 분획중 과산화지질측정

Oishi³¹⁾의 방법에 준하여 측정하였다. Microsome 분획 0.2 ml에 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2 ml를 넣어 용해시킨 후, pH 3.5인 20% 초산완충액 1.5 ml 및 0.8% 2-thiobarbituric acid (TBA) 시액 1.5 ml를 넣어 4.0 ml가 되게 하였다. 이 액을 95°C에서 60분간 가열한 후 증류수 1.0 ml 및 n-butanol-pyridin 혼합액 (15:1) 5.0 ml로 추출하여 1.1.3.3-tetraethoxypropane 5 nmole을 사용하였다.

6. 간장 Glucose-6-phosphatase의 활성측정

적출한 간장을 냉각된 0.1M pH 6.2 Tris-maleate 완충액으로 세척하여 닦아낸 다음 무게를 칭량하고 homogenizer를 사용하여 냉각된 pH 6.2 Tris-maleate 완충액으로 20% (w/v) 간장 homogenate를 조제한 후 다시 냉각된 pH 6.2 Tris-maleate 완충액으로 단계적으로 희석하여 농도가

Table 1. Compositions of the incubation medium for the assay of NADPH cytochrome c reductase.

Components	Solution I		Solution II	Solution III	
		NADPH	5.7 mg	cytochrome c	KCN
	KCN	9.75 mg		Nicotinamid	366 mg
	Nicotinamid	366 mg			
Total volume	100 ml with 0.05M phosphate buffer (10 ⁻³ M EDTA, pH 7.6)		1 ml with water	100 ml with 0.05M phosphate buffer (10 ⁻³ M EDTA, pH 7.6)	

Table 2. Compositions of the incubation medium for the assay of aniline hydroxylase.

Components	Glucose-6-phosphate	50 μ mole
	NADP	1.5 μ mole
	Nicotinamid	50 μ mole
	MgCl ₂	50 μ mole
	Glucose-6-phosphate dehydrogenase	0.5 unit
	Aniline	5.0 μ mole
Total volume	5 ml with 0.2M Na-K phosphate buffer (pH 7.4) 1.5 ml and microsomal suspension 3 ml.	

20 mg/ml가 되도록 하였다.

Traiger와 Plaa³²⁾의 변법에 따라 pH 6.2 Tris-maleate 완충액 0.4 ml와 glucose-6-phosphate 용액 0.5 ml를 시험관에 넣어 metabolic shaking incubator에서 37°C로 20분간 반응시켰다. 이 반응을 10% trichloroacetic acid(TCA) 5.0 ml를 넣어 중지시킨 다음 원심분리하고 그 상등액을 2.0 ml 취하여 Fiske-Subbarow³³⁾ 방법에 따라 무기인산을 측정하였다.

7. 간장 및 혈청 cholinesterase 활성측정

간장 cholinesterase의 활성은 간 1g에 0.036M phosphate buffer (pH 7.6) 10 ml를 homogenizer에 넣고 저온에서 충분히 마쇄한 후 동일 buffer로 10 mg/ml로 희석한 다음 검체로 사용하였고 혈청은 증류수로 50~100배 희석한 다음 검체로 사용하였다. 이 검체를 Ellman 등³⁴⁾의 방법에 따라 실험하였다.

DTNB buffer (0.421 mM/l, pH 7.6) 3 ml를 blank test tube와 sample test tube에 넣고 37°C에서 5분간 preincubation시켰다. Sample test tube에 substrate로 propionylthiocholine iodide 용액 (10 mM/l) 1.0 ml를 넣고 37°C에서 정확히 3분간 incubation 시킨 후 반응을 정지시키기 위해 quinidine-용 (14 mM/l) 1.0 ml를 가하였다. Blank test tube에는 quinidine 용액, 검체, substrate 순서로 가한 다음 blank를 대조로 하여 5분 이내에 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 간장 및 혈청 carboxylesterase 활성측정

간장 carboxylesterase 활성은 간 1g에 0.25M sucrose 10 ml를 homogenizer에 넣고 저온에서 충분히 마쇄한 후 1,500 g에서 수분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상등액을 검체로 하였으며, 혈청은 증류수로 50~100배 희석하여 검체로 하였다. 이 검체를 Nachlas 등³⁵⁾의 방법에 따라 실험하였다. 1 ml의 검체에 substrate 6 ml를 가하고 37°C에서 20분간 incubation시킨 후 Naphthanil Diazo Blue B 용액 1 ml (4 mg poeder/물 1 ml)를 가하

고 교반하였다. 3분후 40% trichloroacetic acid 1.0 ml, ethyl acetate 10 ml를 가한 다음 교반, 원심분리하였다.

Ethyl acetate층을 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며 따로 β -naphthol을 사용한 표준곡선을 이용하여 검체에서 생성된 β -naphthol의 양을 계산하여 활성을 측정하였다. Substrate는 β -naphthyl acetate 10 mg을 2 ml의 acetone에 녹인 후 veronal buffer (pH 7.4) 50 ml와 48 ml의 증류수를 넣어 조제하였으며, veronal buffer는 58.1 ml의 barbital 용액 (sodium barbital 10.3 g을 증류수에 녹여 500 ml로 한 액)과 41.9 ml의 0.1N HCl을 혼합하여 조제한 용액이다.

실험 결과

Buprofezin을 rat에 단독 (250 mg/kg)으로 1주~5주간 경구투여하였을 때 외관상의 특별한 증후를 관찰할 수 없었다.

Carbaryl을 단독 (50 mg/kg)으로 투여하였을 때 타액분비과다 및 전신적 경련을 일으키는 것을 알 수 있었다. Buprofezin (250 mg/kg)과 carbaryl (50 mg/kg) 혼합투여에 의해서는 이와같은 현상이 더욱 현저하였으며 투여기간이 증가할수록 그 증상은 더욱 심화됨을 알 수 있었다. 이것은 buprofezin이 비록 포유동물에 대한 독성이 적다고는 하나 carbaryl과의 혼합투여에 의해서는 독성을 더욱 증가시키는 것으로 사료된다.

1. LD₅₀치의 측정

Buprofezin과 carbaryl를 rat에 경구투여하고 24시간 후의 치사유무를 관찰하여 Behrens-Karber법에 의하여 각각의 LD₅₀치를 구한 결과 buprofezin의 LD₅₀치는 3,215 mg/kg이었고 carbaryl의 LD₅₀치는 580 mg/kg이었다.

Carbaryl과 Buprofezin 혼합투여 (1:5)에 의한 LD₅₀치는 각각 350 mg/kg 및 1,500 mg/kg으로 나타났다. Buprofezin의 급성 경구독성은 Kanno 등¹⁰⁾의 보고에 의하면 male rat에서 8,740 mg/kg이

라고 보고하였으며 Masahiro 등²⁾에 의하면 male rat에서 2,198 mg/kg이라고 하였다. 또한 Ames test에 의해서도 negative를 나타내며 발암성 및 변이원성도 나타내지 않았다고 보고하였다^{2,10)}.

본 실험에서도 buprofezin과 carbaryl의 LD₅₀치가 모두 이와같은 범위에 속하였다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량변화

① 체중의 변화

Buprofezin과 carbaryl의 단독 및 혼합투여에 의한 체중의 변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. 대조군에서는 1주에 2.0%, 5주에 38.3%의 증가율을 나타내었으며 buprofezin 투여군에서는 1주에 3.5%이고 5주에는 33.5%가 증가하였으며 carbaryl 단독투여에서는 1주에 약간 감소하는 경향을 보이고 있으나 2주에는 점차 증가하였으며 5주에서는 31.7%로 대조군에 비해 감소하였다. Buprofezin

Table 3. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on body weight in rat.

Group	Weeks	Initial b.w	Final b.w	Gained (%)
Control	1	210.7±2.95	214.9±3.54	2.0
	2	219.6±4.78	239.6±6.43	9.1
	3	215.6±5.06	260.7±4.59	20.9
	4	210.4±4.98	279.6±5.72	32.9
	5	205.6±4.99	284.3±6.43	38.3
Buprofezin (250 mg/kg)	1	212.2±6.18	219.7±4.54	3.5
	2	212.9±9.18	230.9±5.76	8.5
	3	205.8±5.14	245.9±6.43	19.4
	4	208.3±8.43	264.9±6.62	27.1
	5	210.6±3.24	280.7±4.39	33.3
Carbaryl (50 mg/kg)	1	214.2±5.30	208.6±4.64	-2.6
	2	210.4±5.83	230.2±3.89	9.4
	3	213.5±4.33	247.5±5.94	15.9
	4	206.7±3.29	260.5±7.24	26.0
	5	209.5±6.24	275.9±5.62	31.7
Buprofezin + carbaryl (5:1)	1	215.4±6.24	212.9±3.24	-1.2
	2	209.5±7.25	228.4±5.72	9.0
	3	208.6±3.95	239.5±6.24	14.8
	4	214.9±4.75	270.5±5.75	25.9
	5	208.6±5.94	275.9±7.25	32.3

Each value is mean±SE of 8~10 rats

과 carbaryl의 혼합투여군에서는 carbaryl 단독투여군과 유사한 경향을 나타내었다.

② 간장 및 신장의 중량변화

간장 및 신장의 중량변화는 Table 4에서 보는 바와 같다.

Table 4. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on liver or kidney weight.

Groups	Weeks	Liver W. (g)	Liver W./b.w (%)	Kidney W. (g)	Kidney W./b.w (%)
Control	1	6.58±0.22	3.12±0.09	1.62±0.07	0.74±0.05
	2	7.29±0.27	3.04±0.07	1.79±0.09	0.75±0.03
	3	7.89±0.26	3.14±0.09	1.85±0.04	0.75±0.06
	4	8.85±0.37	3.17±0.06	1.96±0.05	0.74±0.05
	5	9.25±0.19	3.16±0.09	2.11±0.05	0.73±0.03
Buprofezin 250 mg/kg)	1	7.25±0.39	3.32±0.09	1.63±0.15	0.73±0.05
	2	8.19±0.43	3.34±0.05	1.70±0.04	0.73±0.06
	3	9.14±0.73	3.32±0.03	1.84±0.05	0.74±0.05
	4	9.54±0.45	3.41±0.04	2.02±0.05	0.75±0.09
	5	9.98±0.78	3.46±0.07	2.13±0.19	0.74±0.07
Carbaryl (50 mg/kg)	1	6.50±0.24	3.20±0.08	1.62±0.07	0.73±0.04
	2	7.01±0.29	3.19±0.09	1.68±0.06	0.73±0.03
	3	7.82±0.24	3.26±0.05	1.89±0.05	0.74±0.06
	4	8.92±0.53	3.44±0.06	1.96±0.06	0.79±0.04
	5	9.49±0.27	3.46±0.05	2.11±0.05	0.76±0.07
Buprofezin + Carbaryl (5:1)	1	7.54±0.43	3.45±0.06	1.66±0.09	0.75±0.03
	2	7.99±0.61	3.49±0.07	1.76±0.04	0.74±0.05
	3	9.30±0.84	3.51±0.08	1.84±0.03	0.75±0.03
	4	9.96±0.45	3.55±0.07	1.96±0.05	0.74±0.06
	5	10.56±0.62	3.53±0.09	2.07±0.05	0.76±0.04

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

W; weight b.w; body weight

Buprofezin단독투여군에서는 대조군에 비해 약간 증가하는 경향이 있었으며 carbaryl 단독투여에 의해서는 더욱 증가하였으나 유의성은 없었다. Buprofezin과 carbaryl 혼합투여군에서 각 약물의 농도 및 투여 횟수의 증가에 따라 간장의 중량대 체중에 대한 비율은 증가하는 경향이 있었으며 신장의 체중에 대한 비율은 거의 변화가 없었다.

각 군에서 1~5주간의 평균사료섭취량은 Table 5에서 보는 바와 같다.

Table 5. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on feed efficacy in rats.

Groups	Weeks	Total intake (g)	Net gain (g)	Efficacy (%)
Control	1	815	101	13.4
	2	1927	240	11.1
	3	3114	389	11.1
	4	4326	530	11.9
	5	5672	690	10.7
Buprofezin (250 mg/kg)	1	810	91	9.6
	2	1936	218	10.5
	3	2847	370	11.0
	4	4226	449	11.5
	5	5349	588	10.1
Carbaryl (50 mg/kg)	1	825	90	11.1
	2	1976	212	11.0
	3	3008	376	12.5
	4	4369	469	11.1
	5	5479	598	10.7
Buprofezin + Carbaryl (5 : 1)	1	801	89	7.9
	2	1890	189	8.8
	3	2842	316	10.2
	4	4002	445	11.1
	5	5198	577	10.3

Efficacy (%); Net gain (g)/Total intake (g)×100

각 약물의 투여가 증가할수록 사료섭취량이 감소하였으며 특히 체중의 감소와 유사한 경향을 나타내었다.

3. 혈액학적 및 혈액생화학적 변화

① 혈액학적 변화

Buprofezin 및 Carbaryl 투여에 따른 혈액학적 변화는 Table 6에서 보는 바와 같다.

Buprofezin 단독투여시 WBC값이 투여기간이 증가할수록 점차 감소하였으며 carbaryl 단독투여군에서는 별 변화가 없었다.

혼합투여군에서는 WBC, LYMPH(%)치가 약간 감소하는 경향을 나타냈으나 기타의 항목에서는 모두 대조군과 유사한 경향을 나타내고 있다.

② 혈청상의 생화학적 변화

혈청상의 생화학적 변화는 Table 7에서 보는 바와 같다.

Aspartate aminotransferase(이하 AST)의 활성은 buprofezin, carbaryl 단독투여군 및 혼합투여군에서 투여기간이 증가할수록 약간씩 증가하였으나 통계학적으로 유의성은 없었다.

Alanine aminotransferase(이하 ALT) 활성은 buprofezin과 carbaryl의 혼합투여군에서 4주 이후부터는 유의성 있는 증가를 나타내었으며 각 약물의 단독투여군에서는 모두 대조군과 유사한 경향을 나타내고 있다.

Alkaline phosphatase(이하 ALP) 활성은 buprofezin과 carbaryl 단독투여군 및 혼합투여군에서는 대조군과 거의 유사하였다.

Lactic dehydrogenase(이하 LDH) 활성은 buprofezin 단독투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 3주 이후부터는 점차 감소하였으나 carbaryl 단독투여군에서는 증가하는 경향이 있었다. 또한 혼합투여군에서는 carbaryl 단독투여군에서보다 더욱더 증가하는 경향을 나타내었다. LDH의 활성은 실험동물에서 조직손상에 의하여 유도된다고 한다.

Glucose량의 변화는 buprofezin 단독투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 점차 감소하였으며 carbaryl과의 혼합투여에 의해서는 LDH의 활성과 유사하게 증가하였다. 이는 glucose 대사를 억제하는 반면 LDH가 증가하는 것으로 사료된다.

Triglyceride(이하 TG)는 대조군과 비교할 때 각 실험군에서 변화가 없었으며 cholesterol, blood urea nitrogen(이하 BUN) 및 total protein량은 투여횟수가 증가함에 따라 각 약물투여군에서 모두 약간씩 증가하였으나 통계학적인 유의성은 없었다.

4. 간장 및 신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화

간장 및 신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화는 Table 8에서 보는 바와 같다.

① 간장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase

Table 6. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on blood parameters in rats.

Groups	Weeks	WBC [10 ³]	RBC [10 ⁶]	Hgb [g/dL]	Hct [%]	MCV [μ m ³]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	RDW [%]	PLT [10 ³]	MPV [μ m ³]	LYMPH [%]
Control	1	11.8±1.23	7.3±0.09	14.4±1.23	41.6±2.71	56.9±1.17	19.6±1.14	34.5±3.11	15.8±0.91	798±23.4	7.9±0.23	81.6±5.43
	2	11.5±0.97	7.4±0.04	14.4±1.09	42.0±3.04	56.9±2.92	19.5±0.98	34.3±2.01	16.1±0.87	801±37.2	7.7±0.41	81.1±7.21
	3	11.7±0.85	7.6±0.05	14.9±1.31	43.5±2.09	56.8±3.45	19.4±1.36	34.2±2.43	16.2±1.01	771±19.6	7.5±0.09	82.5±6.66
	4	11.6±0.12	7.5±0.12	15.0±0.99	42.8±4.01	57.9±4.15	19.7±1.92	35.1±1.11	15.7±1.31	725±30.4	7.8±0.27	84.3±5.72
	5	11.9±0.43	8.0±0.93	14.9±1.71	43.7±3.72	57.4±2.63	18.9±1.93	34.3±3.54	15.1±1.04	755±28.5	7.7±0.14	85.4±6.06
Buprofezin (250 mg/kg)	1	12.0±1.26	7.8±0.05	14.1±2.12	43.7±4.06	59.8±3.64	19.2±1.43	32.2±2.15	16.4±0.98	796±29.6	7.4±0.92	85.4±4.72
	2	11.9±0.92	7.6±0.24	14.5±2.09	42.5±3.69	60.0±2.92	18.6±1.96	33.4±3.09	17.1±1.01	800±40.2	7.6±0.43	83.2±2.95
	3	11.4±0.82	7.4±0.32	15.1±1.63	43.6±2.95	62.4±3.75	19.2±2.05	35.4±2.14	17.5±0.43	797±24.5	7.7±1.05	81.4±3.76
	4	11.7±0.95	7.6±0.43	14.9±1.72	45.4±3.69	60.9±4.02	18.7±3.41	32.1±1.96	18.4±0.97	804±23.6	7.8±1.14	80.5±2.69
	5	11.2±1.25	7.5±0.29	15.7±2.65	47.2±2.96	63.7±2.69	18.4±2.74	34.9±2.15	18.0±3.01	810±30.1	7.9±0.98	81.5±3.48
Carbaryl (50 mg/kg)	1	12.1±1.36	7.6±0.04	13.2±1.72	42.8±4.05	58.4±2.76	19.5±2.01	30.2±4.01	16.9±0.92	774±30.5	7.5±0.26	86.1±3.25
	2	12.6±1.25	7.4±0.05	13.9±2.01	43.5±3.64	60.5±3.19	20.7±1.64	31.4±2.72	15.4±0.81	726±25.6	7.6±0.31	84.2±4.25
	3	12.0±0.95	7.5±0.38	13.7±1.43	46.0±2.65	60.4±4.05	19.8±2.09	33.9±3.04	16.1±0.96	759±30.6	7.8±0.43	83.9±3.27
	4	11.7±1.21	7.4±0.04	14.0±1.96	45.4±3.26	62.4±4.17	20.1±2.32	30.2±2.65	17.1±0.43	781±17.1	7.9±0.91	84.1±4.92
	5	11.4±1.43	7.3±0.09	14.6±2.43	49.1±2.96	61.5±3.34	18.1±2.72	29.6±2.15	16.5±0.96	801±27.7	8.0±0.54	83.6±5.22
Buprofezin +Carbaryl (5:1)	1	12.3±1.23	7.6±0.09	14.6±1.75	44.5±3.29	59.2±3.49	19.0±1.14	36.8±2.92	16.4±1.02	804±36.2	7.8±0.32	82.4±2.61
	2	12.5±1.43	7.2±0.05	14.5±1.93	42.7±4.09	57.5±2.64	18.6±2.71	35.7±3.24	16.9±0.95	816±19.5	7.4±0.12	84.2±3.49
	3	11.7±1.52	7.4±0.12	15.1±2.02	47.5±2.06	59.9±3.02	19.4±1.25	36.2±3.95	17.2±1.23	832±34.5	7.9±0.85	80.9±5.56
	4	11.5±1.40	7.2±0.14	14.7±1.84	45.6±3.44	58.6±2.24	19.9±2.72	34.1±2.41	16.5±0.59	829±20.2	7.6±0.32	81.6±6.22
	5	11.4±2.01	7.5±0.17	15.0±1.17	49.6±4.09	54.4±4.09	20.5±1.84	32.9±2.63	17.9±1.42	835±27.3	7.7±0.29	80.5±3.94

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

Table 7. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on biochemical parameters in rat serum.

Groups	Weeks	AST [U/L]	ALT [U/L]	LDH [U/L]	ALP [U/L]	Glucose [mg/dL]	TG [mg/dL]	Cholest. [mg/dL]	BUN [mg/dL]	Protein (g/dL) Total	Albumin
Control	1	115.7±4.75	47.0±3.21	569.5±29.65	192.5±17.63	95.0±8.39	56.6±4.75	56.8±6.24	16.2±1.05	6.9±0.15	2.8±0.09
	2	113.9±5.41	47.9±2.98	577.4±31.43	195.7±19.32	96.4±7.51	58.7±5.21	59.4±5.78	17.3±1.27	6.7±0.17	2.9±0.14
	3	118.4±4.05	49.5±3.43	570.7±24.51	186.4±17.49	98.2±8.47	57.5±3.72	57.6±4.96	17.1±1.09	6.5±0.21	2.8±0.12
	4	117.3±7.21	49.2±4.01	572.4±31.54	190.2±16.72	97.6±7.05	57.4±6.05	57.2±3.47	17.9±1.65	6.8±0.14	2.9±0.14
	5	119.6±5.44	49.7±7.21	581.4±29.72	192.5±15.44	98.4±8.76	59.2±4.73	59.4±6.05	17.6±0.98	6.9±0.15	2.9±0.09
Buprofezin (250 mg/kg)	1	118.7±9.85	43.4±3.25	572.4±30.43	180.6±12.44	94.9±8.72	54.7±2.75	59.9±3.24	18.1±0.77	7.4±0.19	3.2±0.14
	2	117.5±4.65	45.9±4.01	593.6±27.65	187.5±19.62	98.6±4.09	57.3±3.49	61.2±4.17	19.6±1.24	7.5±0.12	3.1±0.13
	3	124.9±6.69	47.6±3.24	581.5±29.45	195.4±17.65	84.6±4.72	51.3±4.11	63.4±3.46	19.5±0.98	7.4±0.24	3.4±0.09
	4	125.6±9.84	49.2±4.25	547.6±31.22	190.9±11.04	90.4±3.42	58.3±4.07	60.4±2.19	18.9±0.27	7.6±0.12	3.3±0.20
	5	126.1±6.09	48.1±3.45	601.2±29.45	180.7±15.43	92.4±8.45	53.6±3.72	66.8±5.01	19.5±0.85	7.5±0.47	3.2±0.12
Carbaryl (50 mg/kg)	1	119.5±3.49	45.9±3.95	590.6±29.82	184.5±13.63	98.5±6.94	59.4±3.25	59.4±8.42	17.4±0.95	7.2±0.14	2.9±0.02
	2	120.4±7.25	47.2±2.64	572.6±30.94	189.9±20.41	96.4±8.43	62.7±2.14	60.1±9.24	17.9±1.04	7.3±0.15	3.0±0.11
	3	123.6±4.09	48.1±3.26	584.5±27.63	199.6±31.43	90.6±8.22	60.4±3.43	58.4±3.09	18.1±2.09	7.0±0.17	2.9±0.08
	4	123.5±4.21	47.9±3.92	562.4±37.25	180.7±21.09	95.2±9.62	57.6±4.09	62.7±4.75	18.4±1.43	7.2±0.12	3.1±0.09
	5	126.9±5.43	50.6±4.09	605.2±34.45	201.4±19.64	94.5±8.78	54.4±3.24	65.4±3.49	19.0±3.15	7.5±0.09	3.0±0.12
Buprofezin +Carbaryl (5:1)	1	112.5±9.03	43.2±4.07	549.6±30.44	190.6±12.51	92.6±7.92	60.7±3.24	59.4±4.72	17.4±1.72	6.9±0.07	3.0±0.09
	2	120.6±5.65	46.5±2.49	586.2±25.96	196.2±15.43	96.4±8.45	61.9±5.19	58.6±5.21	18.0±2.64	7.1±0.14	3.1±0.12
	3	126.2±7.45	50.6±6.25	599.7±32.64	205.9±20.15	104.6±6.25	65.7±3.54	61.4±4.03	17.6±3.25	7.4±0.15	3.3±0.15
	4	119.7±9.26	52.4±5.15	614.2±20.12	201.7±22.35	109.5±8.76	62.9±4.95	65.4±5.21	19.0±2.44	7.3±0.09	3.4±0.49
	5	128.6±7.76	55.9±3.72	620.1±31.46	212.1±12.45	120.1±5.44*	64.7±3.09	62.3±4.31	19.6±1.76	7.5±0.14	3.6±0.21

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

Significant difference between control & treated groups (* ; P<0.05)

Table 8. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic and renal microsomal cytochrome P-450 contents and NADPH-cytochrome c reductase activity in rats.

Groups	Weeks	Liver		Kidney	
		P-450	Cyto. c red	P-450	Cyto c red
Control	1	0.749±0.08	118.1±9.54	0.352±0.02	10.96±0.67
	2	0.743±0.07	120.9±8.92	0.359±0.03	10.52±0.54
	3	0.759±0.04	120.6±9.25	0.362±0.05	10.98±0.43
	4	0.772±0.05	121.4±8.67	0.349±0.10	10.96±0.42
	5	0.779±0.06	116.9±7.44	0.342±0.04	10.05±0.24
Buprofezin (250 mg/kg)	1	0.789±0.08	110.9±9.32	0.333±0.04	8.04±0.78
	2	0.820±0.08	112.4±8.63	0.325±0.04	9.32±1.02
	3	0.824±0.07	124.9±8.29	0.349±0.03	10.95±0.63
	4	0.841±0.04	125.7±6.72	0.363±0.05	10.77±0.75
	5	0.849±0.09	123.6±9.25	0.372±0.07	12.92±0.75
Carbaryl (50 mg/kg)	1	0.765±0.09	125.4±9.69	0.361±0.04	10.01±0.61
	2	0.772±0.07	120.4±8.47	0.355±0.08	9.98±0.63
	3	0.794±0.08	116.4±9.98	0.369±0.05	9.84±0.53
	4	0.822±0.07	126.4±8.43	0.386±0.06	10.90±0.72
	5	0.859±0.10*	124.9±9.54	0.339±0.07	11.09±0.65
Buprofezin + Carbaryl (5 : 1)	1	0.793±0.11	115.6±7.43	0.356±0.09	10.24±0.98
	2	0.829±0.07	126.2±8.65	0.372±0.24	11.35±0.82
	3	0.849±0.04	128.6±9.02	0.374±0.12	11.92±0.63
	4	0.937±0.06**	127.4±7.79	0.384±0.04	11.54±0.72
	5	1.153±0.09**	125.4±8.92	0.415±0.08*	11.39±1.09

Each value is the SE of 8~10 rats.

Significant difference between control & treated group. (* ; p<0.05 **p<0.01)

unit : cytochrome p-450 (n mole/mg protein).

NADPH-cytochrome c reductase (Cyt. c red) (n mole cyt. c. reduced/min/mg protein).

활성변화

간 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량은 buprofezin 단독투여군 및 carbaryl 단독투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 대조군에 비해 증가하였으며 특히 carbaryl은 5주에 유의성있게 증가하였다. Buprofezin과 carbaryl을 혼합투여할 때는 투여횟수가 증가할수록 점차 증가하였으며 4주 이후에는 유의성있게 증가하였다.

간 microsome 분획중의 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 carbaryl 단독투여군에서는 대조군과 유사하였으나 buprofezin 단독투여군과 혼합투여군에서는 간 cytochrome P-450 함량과 유사하게 증가하는 경향을 나타내었으나 유의성은 없

었다.

본 실험에서는 carbaryl 단독 및 buprofezin 단독투여에서는 cytochrome P-450 함량을 약하게 유도하였으나 buprofezin과 carbaryl 혼합투여에 의해서는 매우 유의성있는 증가를 나타내었다. NADPH-cytochrome c reductase는 대조군에 비해 증가하는 경향이 있었으나 유의성있는 변화는 없었다.

② 신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화

신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량은 carbaryl, buprofezin 단독투여군에서 약간

씩 증가하였으나 대조군에 비해 유의성은 없었으며 혼합투여군에서는 투여횟수에 따라 점차 증가하여 5주에서 매우 유의성있는 증가를 나타내었다. NADPH-cytochrome c reductase의 활성은 buprofezin 투여군과 buprofezin과 carbaryl 혼합 투여군에서는 증가하는 경향은 있었으나 대조군과 별 차이가 없었다.

5. 간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량변화

간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량 변화는 Table 9에서 보는 바와 같다.

Table 9. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic and renal microsomal protein concentration.

Groups	Weeks	Liver (mg/g wet weight)	VP (%) ^a	Kidney (mg/g wet weight)	VP (%) ^a
Control	1	23.21±0.97	—	18.49±0.51	—
	2	23.54±0.91	—	18.96±0.71	—
	3	22.49±0.43	—	18.21±0.48	—
	4	23.95±0.92	—	19.09±0.72	—
	5	24.17±0.72	—	18.57±0.24	—
Buprofezin (250 mg/kg)	1	24.89±6.43	7.24	18.84±1.76	1.89
	2	24.27±2.77	3.10	19.52±1.50	2.95
	3	25.39±3.66	12.89	19.04±1.14	4.56
	4	26.76±3.26	11.73	20.11±1.09	5.34
	5	26.92±2.96	11.38	20.09±0.94	8.16
Carbaryl (50 mg/kg)	1	25.01±0.78	7.76	19.54±0.85	5.96
	2	25.54±0.82	8.50	20.31±0.76	7.12
	3	26.14±0.70	10.14	20.92±0.65	14.90
	4	26.45±0.85	10.45	20.96±0.54	9.80
	5	26.77±0.96	10.76	21.01±0.52	13.13
Buprofezin +Carbaryl (5 : 1)	1	24.80±1.68	6.85	19.90±1.76	7.63
	2	28.50±4.54	21.07	20.18±0.82	10.82
	3	28.42±2.36	20.98	21.84±1.45	14.41
	4	29.05±1.25*	21.29	21.93±2.72	14.98
	5	29.65±2.73*	22.67	22.01±1.49	18.52

Each value the mean±SE of 8~10 rats.
 Significant difference between control & treated groups (* ; P<0.05)
 a; variation percent

간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량은 carbaryl 단독투여군과 buprofezin 단독투여군에서는 모두 투여횟수가 증가할수록 점점 증가하는 경향은 있었으나 대조군에 비해 별로 유의성은 없었다. 그러나 buprofezin과 carbaryl 혼합투여에 의해서는 투여횟수가 증가함에 따라 약간씩 증가하였으며 특히 4주 이후 매우 유의성있게 증가하였다. 신장 microsome 분획중의 protein 함량은 각 실험군에서 약간씩 증가하는 경향은 보이나 대조군에 비해 유의성이 없었다.

일반적으로 microsome 분획중의 protein 함량은 약물대사효소의 활성과 관계가 있으며 본 실험에서도 cytochrome P-450 활성 및 NADPH-cyto-

Table 10. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic microsomal aniline hydroxylase activity.

Groups	Weeks	Anilin hydroxylase	VP (%) ^a
Control	1	8.73±0.13	—
	2	8.72±0.25	—
	3	8.68±0.27	—
	4	8.75±0.31	—
	5	8.69±0.22	—
Buprofezin (250 mg/kg)	1	8.85±0.73	1.37
	2	8.97±0.65	2.87
	3	8.94±0.79	2.96
	4	8.96±0.55	2.40
	5	9.04±0.96	4.02
Carbaryl (50 mg/kg)	1	8.97±0.26	2.75
	2	9.11±0.55	4.47
	3	9.45±0.41	8.87
	4	9.48±0.54	8.34
	5	9.62±0.66*	10.70
Buprofezin +Carbaryl (5 : 1)	1	8.96±0.85	2.62
	2	9.14±0.85	4.82
	3	9.26±0.92	6.69
	4	9.59±0.32*	9.60
	5	9.96±0.29*	14.61

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.
 Unit; p-aminophenol formed nM/mg protein/20 mins.
 Significant difference between control & treated groups (*; P<0.05)
 a; variation percent

chrome c reductase 활성변화와 유사한 경향을 나타내었다.

6. 간장 microsome 분획중의 aniline hydroxylase 활성변화

간장 microsome 분획중의 aniline hydroxylase 활성변화는 Table 10에서 보는 바와 같다.

Buprofezin과 carbaryl 단독투여군에서 모두 투여횟수가 증가함에 따라서 점점 이 효소의 활성이 증가하였으며 특히 carbaryl 투여군에서 5주에 유의성있는 증가를 보였다. buprofezin과 carbaryl의 혼합투여군에서는 투여횟수가 증가함에 따라 점차 증가하였으며 4주, 5주 투여에 의해 매우 유의성있

는 증가를 나타내었다.

7. 간장 microsome 분획중 과산화지질의 변화

간장 microsome 분획중의 과산화지질의 변화는 Table 11에서 보는 바와 같다.

Buprofezin 단독투여군과 carbaryl 단독투여군에서는 대조군에 비해 약간씩 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었으며 buprofezin과 carbaryl 혼합투여군에서는 3주 이후 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다.

8. 간장 glucose-6-phosphatase의 활성변화

간장 homogenate중의 glucose-6-phosphatase

Table 11. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic microsomal TBA-values.

Groups	Weeks	TBA-value	VP (%) ^a
Control	1	1.762±0.014	—
	2	1.743±0.029	—
	3	1.747±0.084	—
	4	1.754±0.096	—
	5	1.752±0.087	—
Buprofezin (250 mg/kg)	1	1.784±0.085	1.25
	2	1.821±0.047	4.48
	3	1.799±0.096	2.98
	4	1.899±0.104	8.27
	5	1.902±0.121	8.56
Carbaryl (50 mg/kg)	1	1.842±0.045	4.54
	2	1.893±0.124	8.60
	3	1.856±0.092	6.24
	4	1.897±0.084	8.15
	5	1.915±0.095	9.30
Buprofezin +Carbaryl (5:1)	1	1.802±0.095	2.27
	2	1.964±0.048	12.68
	3	2.154±0.078*	23.29
	4	2.172±0.062*	23.83
	5	2.395±0.032*	36.70

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

Unit; nM/min/mg protein.

Significant difference between control & treated groups (*; P<0.05)

a; variation percent

Table 12. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic glucose-6-phosphatase activity.

Groups	Weeks	G-6-Pase	VP (%) ^a
Control	1	66.45±7.21	—
	2	67.43±6.25	—
	3	68.73±4.26	—
	4	67.92±3.69	—
	5	68.09±5.24	—
Buprofezin (250 mg/kg)	1	68.43±2.96	2.98
	2	69.27±4.92	2.73
	3	69.07±5.43	0.49
	4	64.44±3.72	-5.12
	5	64.81±5.96	-4.82
Carbaryl (50 mg/kg)	1	67.56±.50	1.67
	2	69.73±5.54	3.41
	3	69.96±3.58	1.76
	4	65.22±6.75	-1.42
	5	67.89±3.69	-1.01
Buprofezin +Carbaryl (5:1)	1	64.55±6.59	-4.91
	2	62.56±3.45	-5.14
	3	62.08±.12	-6.11
	4	58.47±6.36	-8.19
	5	55.08±5.01*	-9.02

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

Significant difference between & treated groups

(*; P<0.05)

Unit; nM Pi/min/mg protein.

a; variation percent

의 활성변화는 Table 12에서 보는 바와 같다.

Carbaryl 단독투여군에서는 대조군과 거의 유사하였으며 buprofezin 단독투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 약간씩 감소하였으나 유의성은 없었다. buprofezin과 carbaryl의 혼합투여군에서는 각 약물의 단독투여시보다 이 효소의 활성이 점차 감소하였으며 5주에는 유의성있게 감소하였다.

9. 간장 및 혈청 cholinesterase 활성변화

간장 및 혈청중의 cholinesterase 활성변화는 Table 13에서 보는 바와 같다.

간장 cholinesterase 활성변화는 buprofezin 단독투여군에서 투여횟수가 증가함에 따라 대조군에

Table 13. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic and serum cholinesterase activity.

Groups	Weeks	Liver	VP (%) ^a	Serum	VP (%) ^a
Control	1	1.20±0.11	—	2.81±0.15	—
	2	1.18±0.08	—	2.86±0.13	—
	3	1.17±0.09	—	2.84±0.15	—
	4	1.22±0.04	—	2.79±0.25	—
	5	1.19±0.09	—	2.83±0.19	—
Buprofezin (250 mg/kg)	1	1.24±0.17	- 3.33	2.62±0.09	- 6.76
	2	1.22±0.19	- 3.39	2.59±0.14	- 9.44
	3	1.09±0.21	- 6.84	2.60±0.25	- 8.45
	4	1.07±0.22	- 8.55	2.54±0.11	- 8.96
	5	1.10±0.24	- 7.56	2.39±0.17	-15.54
Carbaryl (50 mg/kg)	1	1.03±0.07	-14.17	2.53±0.12	- 9.96
	2	0.97±0.06	-17.81	2.35±0.14	-17.83
	3	0.93±0.14*	-20.51	2.03±0.14*	-28.53
	4	0.92±0.07*	-24.59	2.01±0.15**	-27.96
	5	0.85±0.13**	-28.57	1.96±0.09**	-30.74
Buprofezin +Carbaryl (5:1)	1	1.16±0.25	-10.93	2.68±0.09	- 4.46
	2	1.09±0.42	-13.26	2.39±0.07	-10.63
	3	0.96±0.35	-19.79	2.14±0.15*	-12.17
	4	0.92±0.14*	-20.32	2.01±0.09*	-17.83
	5	0.81±0.25**	-20.98	1.84±0.11**	-28.57

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

Unit; liver μM/min/g (wet wt.), Serum; μM/min/ml

Significant difference between control & treated groups (*; P<0.05, **; P<0.01)

a; variation percent.

비해 감소하는 경향을 보여주었으나 carbaryl 단독투여군은 3주부터, buprofezin과 carbaryl 혼합투여군에서 4주 이후부터 매우 유의성있는 감소를 나타내었다.

혈청 cholinesterase 활성변화는 간장 cholinesterase 활성변화와 유사한 경향을 보여주었으며 특히 carbaryl 단독투여군 및 혼합투여군에서는 3주 이후 매우 유의성있게 감소하였다.

Carbaryl은 대표적인 methylcarbamate계 살충제로 가역적으로 cholinesterase 활성을 저해하여 독성을 나타낸다고 알려져 있다^{21~25}).

Table 14. Effect of combination of Buprofezin and Carbaryl on hepatic and serum carboxylesterase.

Groups	Weeks	Liver	VP (%) ^a	Serum	VP (%) ^a
Control	1	28.44±1.75	—	112.34±8.30	—
	2	28.11±1.57	—	109.85±4.42	—
	3	28.65±1.08	—	108.87±4.13	—
	4	29.04±2.11	—	110.96±5.72	—
	5	28.76±1.94	—	109.65±7.96	—
Buprofezin (250 g/kg)	1	27.26±1.09	- 1.15	104.43±7.62	- 2.38
	2	27.43±1.09	- 1.14	105.25±4.37	- 2.41
	3	26.07±1.24	- 2.02	101.76±7.55	- 3.78
	4	27.48±1.72	- 3.52	96.69±8.25	- 4.24
	5	25.76±1.95	- 5.48	94.76±7.22	- 6.08
Carbaryl (50 mg/kg)	1	28.03±1.01	- 1.44	111.78±5.30	- 0.50
	2	27.54±1.05	- 2.03	109.08±5.98	- 0.70
	3	27.04±1.37	- 5.62	107.12±5.72	- 1.61
	4	25.43±1.17	- 6.14	102.36±5.01	- 2.98
	5	23.11±1.54	- 8.31	98.65±6.78	- 3.01
Buprofezin +Carbaryl (5:1)	1	24.25±1.72	- 7.85	96.62±5.56	- 5.98
	2	22.96±0.98	- 8.12	95.04±7.42	- 5.69
	3	19.44±1.05	-15.12	92.88±6.47	- 8.54
	4	19.12±1.42	-19.02	81.05±5.38	-12.98
	5	18.74±1.09*	-22.01	80.34±4.25*	-16.47

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

Unit; Liver μM β-naphthol/g (wet wt.)/hr.

Serum μM β-naphthol/ml/hr.

Significant difference between control & treated groups (*; P<0.05)

a; variation percent.

10. 간장 및 혈청중의 carboxylesterase 활성 변화

간장 및 혈청중의 carboxylesterase 활성변화는 Table 14에서 보는 바와 같다.

간장 homogenate 중의 carboxylesterase 활성변화는 buprofezin 단독투여군에서는 약간 증가하는 경향을 나타내고 있으나 유의성은 없었다.

Carbaryl 단독투여에 의해서는 반대로 약간 감소하는 경향을 나타냈으나 모두 대조군에 비해 유의성은 없었다. Buprofezin과 carbaryl 혼합투여군에서는 carbaryl 단독투여군과 유사하게 약간 감소하는 경향이 있었으며 특히 5주에는 유의성있게 감소하였다.

혈청중의 carboxylesterase 활성변화도 간장 carboxylesterase 활성변화와 유사한 경향이 있었으며 buprofezin과 carbaryl의 혼합투여군에서는 혈청 carboxylesterase 활성변화가 간장에서보다 더욱 감소하는 경향을 보여주었으며 5주에는 유의성있게 감소하였다.

고 찰

Buprofezin은 반지목에 속하는 해충에 대하여 선택적으로 특이한 살충작용이 있는 해충방지제이다. 이외에 초지목과 진드기목의 수중에 달하는 해충에도 효과를 보인다고 보고한 바 있다. 이 농약은 멸구와 해충의 유충에 대하여 탈피, 부전 또는 불능상태를 일으켜 살충효과를 나타내주고 있다. 또한 성충에 대해서는 수명을 단축시켜주고 산란억제작용을 나타내는 살충제라고 한다.

살충작용의 기전은 chitin으로 생합성되는 과정에 매우 강한 inhibitor로 작용하지만 UDP-NAGA (UDP-acetyl-D-glucosamine)로 합성되는 과정은 저해를 받지 않는다고 한다. 따라서 UDP-NAGA에서부터 chitin으로 합성되는 과정을 저해한다고 알려져 있다.

성충에서 산란억제 및 부화억제가 일어나는 원인은 산란자극 물질이라고 알려져 있는 prostaglan-

in의 생합성을 저해하는 것이 원인이라고 알려져 있다. 급성경구독성은 male rats에서 LD₅₀치가 2,198 mg/kg이며 경피독성은 rats에서 5,000 mg/kg 이상이라고 보고되어 있다. 아급성 시험에서도 rats에 1개월간 연속투여할 때 무작용 용량은 약 4,000 ppm이며 자극성시험에 있어서도 mormort와 사람에 대해서도 피부자극성이 없었으며 변이원성 및 발암성 시험에서도 모두 음성이었다고 보고되어 있다.

이와같이 buprofezin은 포유동물에 대하여 매우 독성이 약하며 해충에 대해서는 높은 선택적인 독성을 갖는 살충제이지만 아직까지 포유동물에 대한 독성평가에 대하여 발표된 연구보고는 미미한 상태이다.

Carbaryl은 N-methylcarbamate계 살충제이며 cholinesterase를 가역적으로 저해하는 작용이 있으며 그 기전은 acetylcholinesterase의 esteric site의 carbamylation에 의한 것이며 그 작용시간은 짧다고 한다. 중독증상은 Murphy 등이 보고한 바 있으며 최루, 타액분비과다, 축농, 경련, 그리고 나아가서는 사망에 이르게 하는 cholinergic 작용을 나타낸다.

1. LD₅₀치의 측정

Buprofezin의 급성경구독성은 Kanno 등³⁶⁾의 보고에 의하면 male rat에서 8,740 mg/kg이라고 보고하였으며 Masahiro 등³⁷⁾의 보고에 의하면 male rat에서 2,198 mg/kg이라고 하였다. 또한 Ames test에 의해서도 negative를 나타내며 발암성 및 변이원성도 나타나지 않았다고 보고하였다.

본 실험에서도 buprofezin과 carbaryl의 LD₅₀치가 모두 이와같은 범주에 속하였다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량변화

① 체중의 변화

Buprofezin 단독투여군에서는 대조군에 비해 감소하는 경향은 있으나 체중변화가 없었으며 혼합투여에 있어서는 각 약물의 단독투여군에 비하여 체중의 증가율이 carbaryl 단독투여군과 유사하게 감소

하였으나 역시 유의성이 없었다.

② 간장 및 신장의 중량변화

Buprofezin 단독투여군과 혼합투여군에서 각 약물의 농도 및 투여횟수의 증가에 따라 간장, 신장의 중량대 체중에 대한 비율은 증가하는 경향이 있었다.

Neskovic²⁰⁾은 2,000 ppm의 carbaryl을 함유한 사료를 60일간 rat에 투여하였을 때 대조군에 비해 통계학적으로 유의성있는 체중변화를 관찰할 수는 없었지만 웅성에서 간 중량의 증가를 관찰하였다. 또한 Cecil 등³⁷⁾은 100 ppm의 carbaryl을 함유한 사료를 rat에 2개월간 투여시 female에서 간중량의 증가를 관찰하였다.

각 약물의 단독투여군과 혼합투여군에서의 사료 섭취량은 약물 투여횟수의 증가에 따라 점차 감소하는 경향을 보였으며 이것은 체중의 감소와 유사한 경향을 나타내었다.

3. 혈액학적 및 혈액생화학적 변화

① 혈액학적 변화

Buprofezin 단독투여시 WBC값이 투여기간이 증가할수록 점차 증가하였으며 carbaryl 단독투여군에서는 별 변화가 없었다.

기타의 항목에서도 각 약물의 단독투여에 의하여 모두 대조군과 유사한 경향을 나타내고 있다. 혼합투여군에서도 WBC를 제외한 타항목에서 대조군과 유사하였다.

② 혈청상의 생화학적 변화

Diksnith 등³⁸⁾은 독성의 초기단계에 병리적인 조직손상이 일어나기 이전에 막 투과성의 변화가 생길 경우 AST의 활성이 변화없이 ALT의 활성이 증가된다고 보고하였는데 본 실험에서도 혼합투여에 의해서는, 서로 약물의 상승작용을 유발하여 간에 손상을 일으키는 것이 아닌가 사료된다.

본 실험에서도 혼합투여군에서 LDH의 활성이 증가하였는데 이는 두약물의 복합투여에 의해서는 어느정도 조직손상을 유발하는 것이 아닌가 사료된다. 홍 등³⁹⁾에 의하면 carbaryl 100 mg/kg을 rat에 경구투여시 이 효소의 활성이 매우 유의성있게 증가

하였다고 보고하였으며 Lock 등은 rat 정맥내에 cypermethrin을 투여할 때 혈중 lactate 함량이 증가된다고 보고하였다. LDH는 glucose에서 생성된 pyruvate를 lactate로 환원하는데 관여하는 효소이며 혼합투여에 의해서도 혈중 lactate의 양이 증가하는 것은 주로 carbaryl의 영향이라고 사료된다.

Glucose량의 변화는 buprofezin 단독투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 점차 감소하였으며 carbaryl과의 혼합투여에 의해서는 LDH의 활성과 유사하게 증가하였다. Buprofezin은 곤충의 chitin 생합성을 억제하는 물질로서^{7~10)} glucose가 chitin의 전구물질로 작용을 하는데 glucose 함량의 감소가 이와 관련이 있는 것이 아닌가 사료된다. Carbaryl과의 혼합투여에 의해서는 Cremer 등⁴⁰⁾의 보고에서와 같이 두 약물이 adrenal medulla에서 adrenaline의 분비에 영향을 주어 지속적인 혈중 glucose 함량이 증가되는 것이 아닌가 사료된다.

Triglyceride(이하 TG)나 cholesterol 등은 증가하는 경향이 있었으나 유의성이 없으므로 lipid 대사에 별 영향을 미치지 않는 것으로 사료되며 또한 BUN이나 protein 등의 증가가 유의성이 없는 것으로 볼 때에도 신장에 영향이 적은 것으로 사료된다.

4. 간장 및 신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화

홍 등³⁹⁾에 의하면 carbaryl(100 mg/kg)을 rat에 3주간 경구투여할 때 대조군에 비해 유의성있는 증가를 나타내었다고 보고하였으며 Neskovic²⁰⁾은 2,000 ppm의 carbaryl을 함유한 사료를 rat에 60일간 경구투여할 때 cytochrome P-450의 함량은 증가하였으나 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 감소되었다고 보고하였다.

또한 홍 등⁴¹⁾은 carbaryl이 초기단계에는 간장 약물대사효소를 저해하나 시간이 경과함에 따라 효소 활성을 유도하는 biphasic response가 있는 약물이란 것을 입증하였다.

한편 Berand 등⁴²⁾은 Carbaryl이 monoox-

xygenase 활성에 영향을 주지 않는다고 보고하였다. 본 실험에서는 Carbaryl 단독 및 buprofezin 단독 투여에서는 cytochrome P-450 함량을 약하게 유도하였으나 buprofezin과 carbaryl 혼합투여에 의해서는 매우 유의성있는 증가를 나타내었다.

NADPH-cytochrome c reductase는 대조군에 비해 증가하는 경향이 있었으나 유의성있는 변화는 없었다.

Buprofezin과 carbaryl은 모두 간에서 대사되어 신속하게 신장을 통해서 배설되는데 buprofezin과 carbaryl을 병용하여 투여할 때 두 약물의 복합작용으로 인하여 간에서 미대사된 대사산물이 신장의 약물대사효소를 약하게 유도하는 것으로 사료되며 아직까지 buprofezin의 포유동물에서의 대사과정이 명확하게 규명되어 있지 않기 때문에 앞으로 이에 대한 연구가 더욱 더 필요하다고 본다.

5. 간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량변화

일반적으로 microsome 분획중의 protein 함량은 약물대사효소의 활성과 관계가 있으며 본 실험에서도 cytochrome P-450 활성 및 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화와 유사한 경향을 나타내었다.

洪 등⁴¹⁾에 의하면 carbaryl 투여에 의해서 간장 microsome 분획중의 protein 함량이 증가되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 carbaryl과 buprofezin의 혼합투여에 의해서 protein 함량의 증가율이 각 약물의 단독투여군에 비해 더욱 더 컸다.

6. 간장 microsome 분획중의 aniline hydroxylase 활성변화

Stevens 등⁴³⁾은 LD₅₀치 반량의 carbaryl을 아급성(3~5일)으로 투여하였을 때 hexobarbital oxidation과 aniline metabolism의 증가를 관찰하였으나 Lechner 등⁴⁴⁾은 carbaryl 25 mg/kg를 7일 투여한 후 aniline hydroxylase 활성이 약간 감소하였다고 보고하였다. 洪 등³⁹⁾에 의하면 carbaryl 100 mg/kg를 3주간 rat에 투여할 때 이 효소의 활

성이 유의성있게 증가하였다고 보고한 바 있다.

본 실험에서도 aniline hydroxylase 활성은 carbaryl과 buprofezin 혼합투여군에서는 각 약물의 단독투여에서 보다는 더욱 더 유의성있는 증가를 나타내었다. 따라서 두 약물의 투여할 수 aniline hydroxylase 활성은 투여량 및 투여횟수에 따라 증가하는데 영향을 받는 것으로 사료된다.

7. 간장 microsome 분획중 과산화지질의 변화

Buprofezin과 carbaryl이 체내 대사과정에서 free radical을 생성시키지 않는 이 화합물이므로 생체 세포막의 주성분인 인지질 등의 불포화지방산이 과산화지질로 변화되는데 작용을 하지 않는 것으로 사료되나 buprofezin과 carbaryl의 혼합투여에 의해서는 두 약물의 상호작용에 의하여 생체 세포막에 대하여 다소 영향을 미치는 것으로 사료된다.

8. 간장 glucose-6-phosphatase의 활성변화

Glende 등⁴⁵⁾에 의하면 glucose-6-phosphatase의 활성은 endoplasmic reticulum과 관련이 있고 이 효소의 활성저하에 의해서 organelle의 손상을 특이적으로 반영한다고 한다. Grice⁴⁶⁾는 glucose-6-phosphatase의 활성변화는 초기 간손상의 지표로 제공되며 조직학적으로 검출되는 장기손상에 앞서서 일어난다고 보고하였다.

Dikshith³⁸⁾는 rat에 carbaryl을 경구투여하였을 때 glucose-6-phosphatase의 활성변화를 보고하였는데 이는 간장에서 glucose 대사에 의한 영향이라고 보고하였다.

본 실험에서는 buprofezin과 carbaryl을 혼합하여 투여하였을 때 이 효소의 활성이 저하된 것으로 보아 Grice 등⁴⁶⁾의 보고에서와 같이 어느 정도 간손상이 일어나는 것으로 사료된다.

9. 간장 및 혈청 cholinesterase 활성변화

유기인계 살충제를 비롯한 대부분의 살충제가 cholinesterase 활성을 저해하며 benzoylphenylurea 계통의 buprofezin도 cholinesterase 활성을 약하게 억제하는 것으로 사료된다. 특히 carbaryl과

의 병용에 의하여 이 효소의 활성이 더욱더 저해되는 것을 볼 수 있었다.

10. 간장 및 혈청중의 carboxyesterase 활성변화

Carbamate계 살충제나 유기인계 살충제가 esterase를 저해하여 살충작용을 증가시킨다고 보고되어¹³⁻¹⁷⁾ 있는데 본 실험에서도 carbaryl이 buprofezin의 대사에 관계되는 esterase를 저해하여 buprofezin의 작용을 증가시키고 독성을 증가시키는 것으로 사료된다.

결 론

혈액학적 변화에서는 buprofezin 단독투여군에서는 WBC 및 RBC값이 대조군에 비해 투여기간이 증가할수록 점차 감소하였으며, 기타의 타항목에서는 대조군과 거의 유사하였다. 혈청 생화학적 변화에서는 ALP 값이 투여기간 및 약물투여 농도가 증가할수록 더욱 감소하였으며 ALT 및 AST의 활성은 점차 증가하였다.

Buprofezin 단독 및 carbaryl 단독투여군에서는 모두 간장의 cytochrome P-450 함량이 투여기간이 증가할수록 점차 증가하였으며 혼합투여에 의해서는 4주 이후부터 매우 유의성 있는 증가를 나타내었다. 신장 cytochrome P-450 함량 및 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화는 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었다.

간장 aniline hydroxylase 활성은 carbaryl 단독투여군과 혼합투여군에서는 유의성있게 증가하였으며 buprofezin 단독투여군에서는 약간의 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다.

간장에서 glucose-6-phosphatase 활성 및 과산화지질의 활성변화는 각각의 약물의 단독투여군에서는 투여용량이 증가할수록 과산화지질은 증가하였으며 glucose-6-phosphate 활성은 감소하는 경향을 보였다. 특히 4주 이후에는 유의성 있는 변화를 나타내었다.

간장 및 혈청의 cholinesterase 활성은 carbaryl 단독투여군과 혼합투여군에서 유의성 있는 저해가

관찰되었으며 carboxylesterase 활성은 각 약물의 단독투여군에서는 변화가 없었으나 혼합투여군에서는 점차 감소하였다.

이상의 실험결과 buprofezin과 carbaryl를 병용하여 rat에 경구투여할 때 두 약물의 상호작용에 의하여 각각 단독투여시 발현하는 독성을 더욱 증가시켰음을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Masahiro, Shibura, Applaud; A new selective Insecticide, Nihon Nohyaku Co., Ltd., *Jpn. Pest. Inf.*, **44**, 17-21 (1984)
2. Nakamura, Eizo, *etc.*; Buprofezin with prolonged activity, *Fr. Demande*, patno; 277759, date; 86/8/29, adate; 86/2/24, 13
3. Nakamura Eizo, *etc.*; Long-lasting insecticidal compositions containing buprofezin granules, patno; 88227505, date; 88/9/21, adate; 87/3/13, 5
4. Kilin, D.; Development of carbamate resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera Delphacidae), *J. of appl. Entomol. and zool.*, **16**, 1-6 (1981)
5. Yarom, Ilan, *etc.*; Effects of buprofezin on california red scale (Homoptera; Diaspididae) and Mediterranean blackscale (Homoptera; Coccidae), *J. Econ. Entomol.*, **81**(6), 1581-1585 (1988)
6. 前川定文, 深田, 井俊郎; アプロード(トビイロウンカ)に対する殺蟲特性) 新殺蟲制, 農藥 **31**, **41**, (1984)
7. Deacon, Valerie F., *etc.*; A further comparison of chitin synthesis inhibitors for the control of *Trioza erytreae* (Homoptera; Triozidae) in South Africa, *Ann. Appl. Biol.*, **14**, 6-7 (1989)
8. Izawa Y., *etc.*; Inhibition of chitin biosynthesis by buprofezin analogs in relation to their activity controlling *Nilaparvata Lugens* Stal., *Pest, Biochem. Physiol.*, **24**(3), 247-7 (1985)
9. Uchida, M., *etc.*; Inhibition of cuticle deposition and chitin biosynthesis by a new insect growth

- regulator buprofezin., *Inst. Life Sci. Res.*, **49**(4), 1233-4 (1985)
10. Nicolas D. Hajjar; Chitin synthesis inhibitors as insecticides, *Insecticides*, **7**, 275-310 (1985)
 11. Wilson D., *etc.*; Development of buprofezin for the control of white fly *trialeurodes vaporariorum* and *bemesia tabaci* on glass house crops in the netherlands and the UK., **1**, 175-180 (1988)
 12. Hondacho, Kawachinoyuno; Mode of action of on insect gross regulate, buprofezin, **61**(12), 1609-11 (1987)
 13. Carpenter, C.P., *etc.*; Mammalian toxicity of 1-naphthyl-N-methyl carbamate, *J. Agric. Food Chem.*, **9**, 30-9 (1961)
 14. Baron, R.L., *etc.*; Specificity of carbamate-induced esterase inhibition in mice., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **6**, 402-410 (1964)
 15. Baron, R.L., *etc.*; In vivo effects of carbamate insecticide on mammalian esterase enzymes, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **9**, 6-16 (1966)
 16. Wills, J.H., *etc.*; Effects of oral doses carbaryl on man, *CLIN. toxicol.*, **1**, 265-71 (1968)
 17. Vandeker, M., *etc.*; Toxicity of carbamate of mammals, *Bull. WHO*, **44**, 241-9 (1971)
 18. Kurts, P.J., *etc.*; In principles and methods of toxicology, esticides, *Raven press. New York*, 137-167 (1989)
 19. Murphy, S.D.; Toxic effects of pesticide. In Casarett and Dull's toxicology, *Macmillan Pub. Co. New York*, 519-81 (1986)
 20. Neskovic, N.K.; Effects of subacute feeding of carbaryl on mixed function oxydase and on the acute toxicity of parathion and propoxur in rats. *Environ. Reas.*, **20**, 148-53 (1979)
 21. Dikshith, T.S.S., *etc.*; Ninety day toxicity of carbaryl in male rats, *Environ. Reas.*, **12**, 161-70 (1976)
 22. Carson, G.P., *etc.*; Introduction of liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase and cytochrome P-450 by some new synthetic pyrethroid, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 507-12 (1980)
 23. Kamath, S.A., Kummerow, F.A. and Narayan, K.A.; A simple procedure for the isolation of rat liver microsomes. *FEBS Letters*, **17**, 90-92 (1971)
 24. Cinti, D.L., Moldeus, P. and Schenkman, J.B.; Kinetic parameters of drug metabolizing enzymes in Ca^{2+} -sedimented microsomes from rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, **21**, 3249-3256 (1972)
 25. Omura, T. and Sato, R.; The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370-2378 (1964)
 26. Matsubura, T., Koike, M., Touchi A., Tochino, Y. and Sugeno, K.; Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. *Analytical Biochemistry*, **75**, 596-603 (1976)
 27. Masters, B.S.S., Willism, Jr., C.H. and Kamin, H.; The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome c reductase from pig liver. In *enzymology* (edited by Estabrook, R.W. and Pullman, M.E.). *Academic Pres. New York*. **10**, pp. 565-573 (1967)
 28. Mazel, P.; Comparison of microsome from control and phenobarbital treated rats as to NADPH-cytochrome c reductase activity. In *fundamentals of Drug Metabolism and Drug Disposition* (edited by La Du, E.N., Mandel, H. G. and Way, E.L.), pp. 575-577 (1972)
 29. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.; Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, pp. 265-275 (1971)
 30. Kato, R. and Gillette, J.R.; Sex differences in the effects of abnormal physiological states on the metabolism of drugs by rat liver microsomes. *J. Pharmac. Exp. Ther.*, **150**(2), 285-291 (1965)
 31. Oishi, 過酸化脂質 測定法, *最新醫學*, **33**, 660

- 663 (1978)
32. Traiger, G.J. and Plaa, G.L.; Differences in the potentiation of carbon tetrachloride in rats by ethanol and isopropanol pretreatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **20**, 105-112 (1971)
 33. Fiske, C.H. and Subbarow, Y.; The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-400 (1925)
 34. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Ander, Jr., V. and Featherstone, R.M.; A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 88-95 (1961)
 35. Nachlas, M.M. and Seligman, A.M.; Evidence for the specificity of esterase and lipase by the use of three chromogenic substrates.
 36. H., Kanno, *etc.*; 2-tert-butylimino-3-isopropyl-5-phenylperhydra-1,3,5-thiadiazine-4-one (NNI750) A new insecticide, *British crop protection conference-Pests and disease*, 59-66 (1981)
 37. Cecil, H.C., *etc.*; Effect of nonpersistent pesticides on liver weight, lipid and Vt. A of rats and quail, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **11**, 496-99 (1974)
 38. Dikshith, T.S.S., Datta, K.K., Raizada, R.B. and Kushwah, H.S.; Effects of paraquat dichloride in male rabbits. *Indian Journal of Experimental Biology*, **17**, 926-928 (1979)
 39. 洪思澳, 李相基; Fenvalerate의 毒性에 미치는 carbaryl의 影響, 環境毒性學會誌 (1990)
 40. Cremer, J.E., *etc.*; Comparative effects of two pyrethroid, deltamethrin and cismethrin on plasma catecholamins and on blood glucose and lactate, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **59**, 508-14 (1981)
 41. 洪思澳, 李完求; Toxicological study of carbaryl in rats. *Archives of Pharmacol Reas.*, **8**, 119-132 (1985)
 42. Beraud, M., *etc.*; Interaction of carbaryl and N-nitrosocarvaryl with microsomal monooxygenase activity. *Toxicology Letters*, **45**, 251-60 (1989)
 43. Stevens, J.T., *etc.*; The effect of subacute administration of anticholinesterase insecticides on hepatic microsomal metabolism. *Life Sci.*, **11**, 423-31 (1972)
 44. Lechner, D.W., *etc.*; Alteration in liver microsomal enzyme following exposure to carbaryl and malathion in combination, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **14**, 451-7 (1985)
 45. Glende, E.J. Jr.; Carbontetrachloride hepatotoxicity: an example of lethal cleavage, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **2**, 263-297 (1973)
 46. Grice, H.C.; The changing role of pathology on modern safety evaluation. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **1**, 119-152 (1972)