

Rats에 있어서 BPMC投與에 의한 毒性에 관한 研究

홍 사 욱·박 승 업*·김 형 식

성균관대학교 약학대학·성균관대학교 산업보건학과*

The toxic effect of BPMC in rats

Sa Uk Hong , Seung Yeup Park* and, Hyung Sik Kim

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

*College of health industry, Sung Kyun Kwan University**

ABSTRACT

BPMC (2-Sec-butylphenyl N-methylcarbamate) was treated at the level of 100mg/kg/day in oral administration for 12th days in rat.

It was investigated not only that the hematogram and the serological parameters, but also the content of cytochrome P-450, the activity of TBA, glucose-6-phosphatase, cholinesterase and carboxylesterase in rat.

The results were as follows: The hematogram was not found any alteration but the value of AST, ALT, LDH and the content of glucose in serum were significantly increased compare with that of control group. The content of cytochrome P-450 in liver was increased significantly on the contrary cytochrome P-450 in kidney and NADPH-cytochrome c reductase in liver and Kidney were not significantly increased. After the final 12th day, the value of TBA and the activity of glucose-6-phosphatase appeared to the tendency of increasement in the liver. The activity of cholinesterase and carboxylesterase both in serum and liver were decreased. Especially the activity of cholinesterase was more significantly decreased. It was conclusion that the function of this insecticide should be due th the inhibition of cholinesterase activity.

서 론

BPMC (2-sec-butylphenyl N-methylcarbamate)는 carbaryl과 같이 carbamate계 살충제

의 일종이며 타 carbamate살충제에 내성을 가진 해충에 대해서 우수한 살충력을 가진것으로 Masako¹⁾등은 보고한바 있다.

BPMC의 독성작용기전은 유기인계 및 기타 carbamate계 화합물과 같이 cholinesterase저해

작용이 있다.²⁻⁵⁾ 중독증상으로는 타액분비 과다, 경련등 cholinergic작용을 나타내며 최종적으로 사망에 이른다. 또한 동물실험에서도 BPMC를 투여할 때 뇌와 혈장의 cholinesterase활성이 감소한다. Nescopic등⁶⁾은 carbaryl를 투여할 때 cytochrome P-450 함량 및 NADPH-cytochrome c reductase의 활성이 증가한다고 보고하였다. Carbamate계 살충제는 주로 microsomal 약물대사 효소에 의하여 대사되며 그 대사산물은 독성이 약하거나 없다고 보고되어 있다. 한편 Masaho등⁷⁾은 BPMC를 투여할 때 DNA와 RNA를 급속하게 저해하며 단백질 합성도 억제하였다고 보고하였다. Miyaoka³⁻⁴⁾은 BPMC를 100 mg/kg를 1회 급성 또는 50 mg/kg를 매일 1회 10일간 반복하여 피하주사 할 때 자발적운동 및 체온 등은 일과성있게 증가한 반면 cholinesterase 활성은 감소하였으나 시간의 경과에 따라서 다시 평형상태를 유지하였다. 이와같이 BPMC는 cholinesterase저해작용 및 급성독성에 대해서는 많은 연구가 이루어져 있으나 일반독성이나 대사효소에 미치는 영향등에 관한 연구는 아직 미미하여 금번 저자들은 BPMC를 1일 1회 12일간 rat에 경구투여하여 나타나는 독성을 조사하였기에 이에 보고하는 바이다.

실험방법

1. 실험동물 및 약물투여 방법

체중 200 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley 계 rat를 한국실험동물센터에서 분양받아 1주일간 실험실 환경에 적응시킨후 1개군을 10마리로 하여 polycarbonate cage 내에서 사육하였다. 사료는 시판배합 고형사료(신촌 사료 주식회사)를 급식하였으며 급수는 수도수를 자유로이 섭취하도록 하였다. 실험군은 다음과 같이 구분하여 약물을 1일 1회 12일간 각각 경구로 투여 하였다.

- 1) 대조군; Corn oil를 5.0 ml/kg씩 경구투여 하였다.
- 2) 약물 투여군; BPMC를 corn oil에 현탁하여 100 mg/kg을 대조군과 동일한 방법으로 투여

하였다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량측정

약물투여 전의 체중과 최종약물투여 24시간 후의 체중을 측정하여 약물투여 전후의 체중증감비율을 산출하였다. 체중을 측정한 rat를 ether로 마취시키고 신속히 복부정중선을 절개하여 복부대동맥에서 채혈하였다. 채혈후 간장 및 신장을 원형을 유지하면서 saline용액으로 관류하여 혈액을 제거한 후에 적출하고 saline용액으로 깨끗이 씻어 여지로 수분을 제거한 다음 즉시 무게를 측정하였다⁸⁾.

3. 혈액학적 및 혈청생화학적 변화측정

복부대동맥에서 채혈한 혈액의 일부는 Coulter counter로 혈액상을 검사 하였으며 일부는 혈청을 분리하여 blood autoanalyzer를 사용하여 혈청생화학 검사를 하였다.

4. 간장 및 신장 microsome 분획의 분리

적출한 간장 및 신장을 잘게 썰어 Potter Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose 용액으로 homogenize 시켰다. 10~20%의 간장 homogenate를 Kamath등⁹⁾의 방법을 개량한 Cinti등¹⁰⁾의 방법에 따라 differential centrifugation을 하여 얻은 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다.

1) Cytochrome P-450 함량측정

Microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량측정은 Omura와 Sato¹¹⁾의 방법을 참조하고 Matsubara등¹²⁾의 변법에 준하여 differential spectrophotometry로 450 nm와 500 nm에서 흡광도를 측정하고 그 차이를 molar extinction difference를 104 mM^{-1} 로 하여 cytochrome P-450의 함량을 계산하였다.

2) NADPH-cytochrome c reductase 활성측정 Masters등¹³⁾ 및 Mazel¹⁴⁾의 방법에 준하여 조작한후 reaction rate가 linear하게 되는 3~4분 사이에 550 nm의 파장에서 1분간의 흡광도차를 측정하고 molar extinction difference를 $19.1 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

로 하여 NADPH-cytochrome c reductase의 활성을 계산하였다.

3) Microsomal분획중 protein 함량측정

Microsome 분획중 단백질 함량은 Lowry등¹⁵⁾의 방법에 준하여 bovine serum albumin을 표준용액으로 사용하여 정량하였다.

4) 간장 microsome 분획중 과산화 지질측정

Oishi의 방법¹⁶⁾에 준하여 조작한후 표준액으로 1.1.3.3.-tetrathoxy-propane 5 n mole을 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.

7. 간장 glucose-6-phosphatase의 활성측정

Traiger와 Plaa의 변법¹⁷⁾에 따라 Tris-maleate 완충액 (pH 6.2) 0.4 ml와 glucose-6-phosphate 용액 0.5 ml를 시험관에 넣어 metabolic shaking incubator에서 37°C로 20분간 반응 시켰다. 이 반응액에 10% trichloro-acetic acid(TCA) 5.0 ml를 넣어 중지시킨 다음 원심분리하고 상등액을 2.0 ml 취하여 Fiske-Subbarow방법³²⁾에 따라 무기인의 함량을 측정하였다.

8. 간장 및 혈청 cholinesterase의 활성측정

간장 cholinesterase의 활성은 Ellman등¹⁸⁾의 방법에 따라 실험하였다. DTNB{5, 5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid)} buffer (0.421 mM/l, pH 7.6) 3 ml를 blank test tube와 sample test tube에 각각 넣고 37°C에서 5분간 preincubation 시켰다. Sample test tube에 substrate로 propionyl-thiocholine iodide 용액 (10 mM/l) 1 ml를 넣고 37°C에서 정확히 3분간 incubation 시킨후 반응을 정지시키기 위해 quinidine 용액 (14 mM/l) 1 ml를 넣었다. Blank test tube에는 quinidine 용액, 검체 및 substrate 순서로 가한 blank를 대조로하여 5분 이내에 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

9. 간장 및 혈청 carboxylesterase 활성측정

간장 carboxylesterase 활성은 간장 1g에 0.25 M sucrose 10 ml를 homogenization한 후 3,000 xg에서 수분간 원심분리하여 침전물을 제거한 후

상등액을 검체로 하였으며, 혈청은 증류수로 50~100 배 희석하여 검체로 하였다. 이 검체를 Nachlas¹⁹⁾등의 방법에 따라 조작한후 분리한 ethyl acetate 층을 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며 따로 β -naphthol을 사용한 표준곡선을 이용하여 검체에서 생성된 β -naphthol의 양을 계산하여 활성을 측정하였다.

실험결과 및 고찰

1. LD₅₀치의 측정

BPMC를 corn oil에 용해하여 rat에 경구투여한후 LD₅₀치를 구한결과 425 mg/kg으로 독성이 약간 강한것으로 나타났다. BPMC의 급성경구독성 LD₅₀은 rat에서 410 mg/kg, mice에서 340 mg/kg이라고 보고되어 있으며 경피독성은 mice에서 LD₅₀이 420 mg/kg이라고 보고된바 있다²⁰⁾. 또한 LC₅₀ (48시간)치는 carp에서 12.6 mg/l라고 보고하였다. BPMC의 독성은 사람에게서도 강하며 어류에서 48시간 폭로한후의 LC₅₀치는 16 ppm이라고 보고되어 있다²⁰⁾. 본 실험에서도 BPMC의 급성 경구독성은 대략 이와 같은 범위에 속하였다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량변화

BPMC 투여할때 체중변화는 Table 1에서 보는 바와 같다. 대조군에서는 체중증가율이 3일에 0.46%, 6일에 3.39%이며 12일에는 14.25%로 나타났다. 그러나 BPMC를 3일 투여한 군에서는 1.15% 감소하였으나 12일 투여한 군에서는 12.18%로 다시 증가하여 대조군과 거의 유사한 경향을 나타내었다.

간장 및 신장의 중량 변화는 Table 2에서 보는 바와 같다. BPMC 투여군에 따른 체중에 대한 간장 및 신장의 중량변화율은 대조군에 비해 약간씩 증가하는 경향이 있으나 유의성은 없었다. Nesko-vic⁶⁾는 2,000 ppm의 carbaryl를 함유한 사료를 60일간 rat에 투여할 때 체중의 변화를 볼 수 없었으나 수컷에서는 간중량 증가가 관찰되었다고 하였으며 Ceil등²¹⁾도 100 ppm의 carbaryl를 함유한 사료

Table 1. Effect of BPMC on the body weight gain in rat.

Group	Days	Initial	Final	Gained (%)
Control	3	215.4±4.95	216.4±5.27	0.46
	6	212.6±3.65	219.8±4.95	3.39
	9	214.2±5.23	225.3±5.21	5.18
	12	210.6±4.75	240.6±4.95	14.25
BPMC	3	216.7±5.29	214.2±4.36	-1.15
	6	215.4±9.61	220.2±5.29	2.23
	9	216.6±6.49	231.5±4.05	6.88
	12	215.8±5.05	242.9±6.09	12.28

-Each value is the mean±SE
BPMC 100 mg/kg

를 rat 에 2 개월간 경구투여시 암컷에서 간 중량증가를 보고하였다. 李 등²²⁾도 carbaryl 100 mg/kg 를 fenvalerate와 혼합하여 rat 에 3주간 경구투여 할 때 유의성 있는 간 중량 증가가 나타난다고 한 것으로 보아 투여량에 따라 차이가 있음을 알수 있었다.

각 군에서 12 일간의 평균 사료 섭취량은 Table 3 에서 보는 바와 같다. 대조군에 비해 BPMC 투여군에서 체중의 감소량과 유사하게 약물투여 횟수가 증가할수록 점차 감소하는 경향을 나타내었다.

3. 혈액상 및 혈청 생화학 변화

BPMC 를 투여 할때 혈액상의 변화는 Table 4.에

Table 3. Effect of BPMC on the average feed efficacy in rats.

Groups	Days	Total Intake (g)			
		3	6	9	12
Control		349	705	1074	1394
BPMC		330	659	1021	1328

서 보는 바와 같다. WBC 및 PLT 값은 약물의 투여횟수가 증가할 수록 점차 증가하는 경향을 보이며 특히 12 일에는 WBC 값이 유의성있게 증가하였다.

Hgb, Hct, MCV 및 MCH 등의 타항목에서는 별 변화가 없었다.

혈청 생화학적 변화에서는 Table 5 에서와 같이 Aspartate aminotransferase (AST) 의 활성은 약물의 투여횟수가 증가할 수록 대조군에 비하여 점차 증가하였으며 특히 12 일에는 유의성있는 증가를 나타내었다. Alanine aminotransferase (ALT) 의 활성변화 역시 BPMC 투여횟수가 증가함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였으며 12 일에는 유의성있는 증가를 나타내었다. Srivastava 등²³⁾은 혈중 AST 및 ALT 의 증가는 cellular damage 및 plasma membrane 투과성의 변화를 의미하는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서도 이와 유사한 경향을 볼수 있었다.

Alkaline phosphatase (ALP) 활성은 3 일에서 대조군과 유사한 경향을 나타내었으나 약물의 투여횟

Table 2. Effect of BPMC on the liver and kidney weight per body weight ratio (%) in rats.

Groups	Days	Liver W.	Liver W./b.w	Kidney W.	Kidney W./b.w
Control	3	6.74±0.24	3.11±0.08	1.70±0.07	0.78±0.05
	6	6.82±0.32	3.10±0.05	1.76±0.09	0.80±0.06
	9	7.25±0.28	3.21±0.07	1.81±0.04	0.80±0.03
	12	7.46±0.33	3.10±0.09	1.84±0.05	0.78±0.05
BPMC	3	6.96±0.15	3.25±0.07	1.75±0.05	0.81±0.03
	6	7.01±0.35	3.18±0.08	1.79±0.04	0.82±0.05
	9	7.39±0.27	3.19±0.09	1.82±0.05	0.79±0.04
	12	7.59±0.35	3.21±0.04	1.95±0.04	0.80±0.06

-Each value is the mean±SE
-W; weight b.w; Body weight
-BPMC 100 mg/kg

Table 4. Effect of BOMC on blood parameters in rats.

Groups	Days	WBC [10 ³]	RBC [10 ⁶]	Hgb [g/dL]	Hct [%]	MCV [um ³]	MCH [pg]	MCHC [g/dL]	PLT [10 ³]
Control	3	9.2±2.17	7.0±0.41	13.9±0.61	39.7±1.89	54.2±1.87	20.1±0.69	32.7±0.81	729±53
	6	10.7±1.08	7.3±0.51	13.3±0.90	41.0±2.69	55.1±1.61	18.2±0.37	33.3±0.54	764±72
	9	9.7±1.86	7.4±0.47	14.1±0.52	41.8±2.91	52.9±1.21	18.0±1.21	33.5±1.87	810±59
	12	10.0±2.34	7.5±0.28	13.1±0.53	39.5±1.49	52.4±1.78	19.7±0.47	33.9±0.41	806±82
BPMC	3	9.7±2.17	7.9±0.18	14.5±0.46	42.2±1.49	54.2±1.96	18.1±2.01	33.9±2.04	745±40
	6	9.4±1.64	7.6±0.58	13.4±0.48	39.5±1.14	54.3±3.82	18.2±1.17	33.3±1.19	771±37
	9	10.3±3.51	6.4±0.32	13.1±0.91	40.0±2.30	59.8±5.10	20.7±0.98	33.3±2.00	759±15
	12	12.1±4.20	7.3±0.26	14.9±0.50	42.8±1.70	51.7±2.77	18.4±1.43	33.4±1.17	796±17

Each value is the mean±SE -BPMC 100 mg/kg
 WBC: white blood cell, RBC: red blood cell, Hgb: hemoglobin, Hct: hematocrit
 MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin,
 MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT: platelet

Table 5. Effect of BPMC on biochemical parameters in serum of rats.

Groups	Days	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	3	76.2±4.75	42.0±3.21	428.5±29.65	245.5±17.63	147.1±8.39	58.4±4.75	50.9±6.24	19.2±1.05	5.9±0.15 2.1±0.09
	6	79.7±5.41	41.9±2.98	445.4±31.43	252.7±19.32	150.8±7.51	59.5±5.21	55.4±5.78	20.3±1.27	9.4±0.17 2.3±0.14
	9	74.7±4.05	42.5±3.43	450.7±24.51	256.4±17.49	147.7±8.47	49.9±3.72	59.4±4.96	19.1±1.09	6.6±0.21 2.2±0.12
	12	78.2±7.21	45.2±4.01	464.4±31.54	236.2±16.72	152.6±7.05	55.6±6.05	51.8±3.47	17.9±1.65	6.8±0.14 2.3±0.14
BPMC	3	72.4±6.21	40.2±2.97	438.6±31.45	247.7±12.72	152.7±8.71	58.7±5.43	65.3±4.05	21.8±3.59	5.7±0.25 2.2±0.15
	6	76.6±2.75	46.8±3.21	492.4±29.72	227.7±16.49	180.8±7.09	59.5±4.97	58.5±7.21	19.0±1.91	6.2±0.29 2.2±0.24
	9	83.4±7.52	49.8±7.21	502.7±31.43*	229.5±14.51	186.5±6.59	52.3±7.21	58.7±3.75	23.6±1.65	6.1±0.73 2.2±0.06
	12	105.6±8.24*	58.7±6.43	539.9±27.65*	258.6±13.75	196.9±5.72*	63.3±7.48	56.1±6.59	19.3±1.43	6.3±0.46 2.1±0.15

Each value is the mean±SE
 Significant difference between control & treated groups (*; P<0.05)
 AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase,
 LDH: lactic dehydrogenase, ALP: alkaline phosphatase,
 TG: triglyceride, Cholest: cholesterol
 BPMC 100 mg/kg

수가 증가할수록 감소하다 12 일에는 다시 증가하는 현상을 나타내었다. Latic dehydrogenase(LDH) 활성에 있어서는 BPMC 를 투여할때 투여횟수가 증가함에 따라 증가하였으며 특히 9 일 이후에 매우 유의성있게 증가하였다. Conish 등²⁴⁾에 의하면 일반적으로 LDH 의 혈중으로의 분비는 조직손상의 지표가되며 간 손상에 의해서는 LDH isoenzyme 의 Pattern 으로 불태 혈청 LDH₅ isoenzyme 의 활성이 증가되고 신장의 손상에 의해서는 LDH₁ 과

LDH₂ isoenzyme 활성이 증가된다고 보고하였다. 본 실험에서도 LDH 의 활성이 증가하였는데 이것은 BPMC 투여에 의하여 어느정도 조직손상을 유발하는 것이 아닌가 사료된다. Glucose 량의 변화는 LDH 의 활성변화와 유사하게 유의성있는 증가를 나타내었다. 그러나李 등²²⁾에 의하면 carbaryl 50 mg/kg 및 100 mg/kg 를 rat 에 3 주간 경구투여 할 때 glucose 함량이 유의성있는 변화는 관찰할 수 없다고 보고한 바있다. 또한 Triglyceride(TG),

cholesterol, blood urea nitrogen (BUN) 및 total protein량은 투여 횟수가 증가함에 따라 약간의 증가가 있었으나 유의성은 없었다.

4. 간장 및 신장 microsome 분획중 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase 활성 변화

간장 및 신장 microsome 분획중 cytochrome P-450 함량과 NADPH-cytochrome c reductase 활성의 변화는 Table 6에서 보는바와 같다. 간장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량은 BPMC의 투여횟수가 증가함에 따라 점차 증가하는 경향을 나타내었으며 특히 12일에는 유의성있게 증가하였다. 한편 간장 microsome 분획중의 NADPH-cytochrome c reductase 활성도는 cytochrome P-450의 함량변화와 대체로 유사한 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. *李 등*²²⁾은 carbaryl 100 mg/kg를 rat에 3주간 경구로 투여할때 cytochrome P-450의 함량이 유의성 있게 증가하였으나 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 증가하는 경향은 있으나 유의성은 없었다고 보고하였다.

*Niskovic*는⁶⁾ 2,000 ppm의 carbaryl를 사료에 첨가하여 60일간 rat에 경구투여할때 cytochrome P-450의 함량은 증가하나 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 감소한다고 보고하였다. *洪 등*²⁵⁾은 carbaryl이 초기단계에는 간장 약물대사효소를 억제하나 시간이 경과함에 따라 유도하는 즉 biphasic response가 있다고 보고하였다. 본 BPMC투여에서도 약물대사효소인 cytochrome P-450의 함량이 증가하였으며 NADPH-cytochrome c reductase의 활성에는 별 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량은 간장에서와 같이 투여횟수가 증가함에 따라 점차 증가하는 경향은 있으나 유의성은 없었으며 NADPH-cytochrome c reductase의 활성도 대조군과 유의한 차이는 볼 수 없었다. BPMC는 간장에서 대사되며 신장을 통해 신속하게 배설된다¹⁾. 따라서 신장에서 BPMC 투여에 따른 약물대사효소의 미세한 활성증가는 간장에서의 미 대사산물이 신장에 도달하여 어느정도 신장의 약물대사효소에 영향을 미쳤을 것이라는 *李 등*²²⁾의 보고와 유사하였다.

Table 6. Effect of BPMC on the hepatic and renal microsomal cytochrome P-450 contents, NADPH-cytochrome c reductase activity in rats.

Groups	Days	Liver		Liver	
		P-450	Cyto. c red.	P-450	Cyto. c red.
Control	3	0.795±0.043	114.50±8.79	0.375±0.029	9.43±0.74
	6	0.790±0.072	119.45±7.94	0.396±0.034	9.16±0.65
	9	0.784±0.109	120.38±6.43	0.384±0.027	9.45±0.59
	12	0.804±0.062	117.84±7.52	0.390±0.045	9.54±0.43
BPMC	3	0.887±0.098	124.96±8.75	0.384±0.032	9.85±0.77
	6	0.893±0.095	128.43±7.69	0.372±0.094	9.96±2.10
	9	0.901±0.019	129.62±9.63	0.453±0.072	10.62±1.20
	12	0.941±0.074*	131.96±4.95	0.462±0.084	10.94±1.42

—Each value is the mean±SE

—unit: Cytochrome P-450 (n mole/protein).

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

—Significant difference between control & treated group. (*; P<0.05)

—BPMC 100 mg/kg

5. 간장 및 신장 microsome 분획중 protein 함량 변화

간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량의 변화는 Table 7에서 보는 바와 같다. 간장의 protein 함량변화는 BPMC를 투여한 모든 군에서 약물대사효소의 활성과 유사한 경향을 나타내었다.

특히 12일간 BPMC를 투여한 군에서는 유의성 있는 증가를 나타내었다. 신장 microsome 분획중의 protein 함량은 각 실험군에서 거의 변화가 없었다.

일반적으로 microsome 분획중의 protein 함량은 약물대사효소의 활성과 관계가 있으며 본 실험에서도 protein 함량 증가는 약물대사효소의 활성증가와 비례하는 경향을 보여주고 있다.

6. 간장 microsome 분획중 과산화지질의 변화

간장 microsomal 분획중의 과산화지질의 변화는 Table 8에서 보는 바와 같다. 대조군에 비해 약물의 투여횟수가 증가할수록 점차 증가 하였으며 12일 투여군에서는 유의성 있는 증가를 나타내었다. Vadhva등²⁶⁾은 fish에 DDVP를 투여할때 phospholipid의 감소와 더불어 지질 과산화비율이 유의성 있게 증가하였다고 보고하였으며 Tappel²⁷⁾ 등은 과산화지질이 생체막과 牙細胞기관에 손상을 준다

고 하였다.

본 실험에서도 BPMC를 12일간 투여시에 인지질등 불포화지방산이 과산화지질로 변화하는데 영향을 미치는 것으로 사료되며 증가된 과산화지질은 생체막과 牙細胞기관 손상의 직접적인 원인이 되는 것으로 사료된다.

7. 간장 glucose-6-phosphatase 활성 변화

간장 homogenate 중의 glucose-6-phosphatase 활성변화는 Table 9에서 보는 바와 같다. 약물투여 횟수가 증가함에 따라 이 효소의 활성이 점차 감소하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다. Glucose-6-phosphatase는 endoplasmic reticulum과 관련이 있고 이 효소의 활성저하는 특이적으로 organella의 손상을 반영한다고 한다. Grice등²⁸⁾은 glucose-6-phosphatase 활성 변화가 초기 간손상의 지표로 이용되며 조직학적으로 검출되는 장기손상에 앞서서 일어난다고 보고하였다.

Dikshith등²⁹⁾은 rat에 carbaryl을 투여할 때 glucose-6-phosphatase의 활성이 증가하였는데 이는 간장에서의 glucose대사와 유관하다고 하였다.

본 실험결과 BPMC를 투여한군에서는 간장손상에 영향을 주지 않았으나 고농도로 장시간 투여할때 간장의 손상을 일으키는 것으로 사료된다.

Table 7. Effect of BPMC on the hepatic and renal microsomal protein concentration (mg/g wet weight) in rats.

Groups	Days	Liver	VP (%) ^a	Kidney	VP (%) ^a
Control	3	21.83±0.65	—	18.96±0.45	—
	6	22.79±0.54	—	18.75±0.25	—
	9	23.15±0.87	—	18.92±0.48	—
	12	23.26±0.73	—	19.04±0.56	—
BPMC	3	23.62±0.98	5.71	19.62±0.53	3.48
	6	23.46±0.69	3.69	19.55±0.62	4.27
	9	26.43±0.45	14.17	20.63±0.54	9.04
	12	27.43±0.84*	17.93	20.96±0.41	10.08

— Each value is the mean±SE

— a; variation percent

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

— BPMC 100mg/kg

Table 8. Effect of BPMC on the hepatic microsomal TBA-value in rats.

Groups	Days	TBA-value	VP (%) ^a
Control	3	1.569±0.043	—
	6	1.604±0.016	—
	9	1.625±0.045	—
	12	1.609±0.017	—
BPMC	3	1.596±0.049	1.72
	6	1.724±0.055	7.48
	9	1.856±0.032	14.22
	12	1.895±0.042*	14.73

Each value is the mean±SE

Unit; nM/min/mg protein.

a; variation percent

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

—BPMC 100 mg/kg

Table 9. Effect of BPMC on the hepatic glucose-6-phosphatase activity in rats.

Groups	Days	G-6-Pase	VP (%) ^a
Control	3	73.394±5.25	—
	6	72.747±6.45	—
	9	73.299±3.95	—
	12	75.724±6.04	—
BPMC	3	72.196±4.72	- 2.96
	6	68.252±5.05	- 6.17
	9	64.217±7.04	-12.39
	12	65.731±7.25	-13.21

—Each value is the mean±SE

—Unit; nM Pi/min/mg protein.

—a; variation percent

—BPMC 100 mg/kg

8. 간장 및 혈청 cholinesterase 활성 변화

간장 및 혈청중의 cholinesterase 활성 변화는 Table 10에서 보는바와 같다. BPMC투여에 따른 간장 cholinesterase 활성 변화는 투여횟수가 증가함에 따라 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타냈으며 특히 12일 투여군에서는 매우 유의성있는 감소를 나타내었다. 혈청 cholinesterase 활성 변화는 간장 cholinesterase 활성 변화와 유사한 경향을 보이나 간장에서보다도 감소폭이 더욱 컸다. Carbaryl은 cholinesterase를 가역적으로 저해하여 독성을

나타낸다고 알려져있다. Kabayyashi²⁾등은 BPMC 0.5~10 ppm 농도에서 어류의 60~80%가 등이구 부러지는 현상을 나타냈으며 척추골 완골에 작용하는 기전은 운동신경을 담당하고 있는 cholinesterase작용 저해로서 이것은 근육의 경련, 강직등의 원인에 의해서 일어나는 것 이라고 보고되어있다. Kobayashi등²⁾에 의하면 BPMC를 mice에 100 mg/kg를 투여할때 6기간후의 cholinesterase의 활성이 감소하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 이들의 보고와 유사하게 cholinesterase활성을 감소시켰다.

Table 10. Effect of BPMC on the hepatic and serum cholinesterase activity in rats.

Groups	Days	Liver	VP (%) ^a	Serum	VP (%) ^a
Control	3	3.436±0.24	—	2.556±0.14	—
	6	3.529±0.21	—	2.605±0.13	—
	9	3.504±0.35	—	2.596±0.19	—
	12	3.605±0.29	—	2.543±0.25	—
BPMC	3	3.124±0.38	-9.08	2.269±0.21	-11.33
	6	3.096±0.25	-12.27	2.143±0.19	-17.74
	9	2.964±0.14	-15.41	2.017±0.41	-22.30
	12	2.852±0.25	-20.80	1.965±0.21	-22.73

-Each value is the mean±SE
 -Unit; liver $\mu\text{M}/\text{min}/\text{g}$ (wet wt), Serum; $\mu\text{M}/\text{min}/\text{ml}$
 -a; variation percent.
 -Significant difference between control & treated groups (*; $P < 0.05$)
 -BPMC 100 mg/kg

Table 11. Effect of BPMC on the hepatic and serum carboxylesterase activity in rats.

Groups	Days	Liver	VP (%) ^a	Serum	VP (%) ^a
Control	3	28.49±1.69	—	112.43±8.30	—
	6	28.72±1.57	—	109.85±7.21	—
	9	27.94±1.09	—	108.76±9.43	—
	12	28.15±1.74	—	110.64±7.92	—
BPMC	3	27.25±2.05	-4.35	111.05±7.62	-1.23
	6	27.04±1.96	-5.85	108.43±5.43	-1.29
	9	26.95±1.61	-6.31	107.63±7.95	-1.04
	12	25.05±1.92	-7.46	105.21±6.32	-4.02

-Each value is the mean±SE, BPMC 100 mg/kg
 -Unit; Liver $\mu\text{M } \beta\text{-naphthol}/\text{g}$ (wet wt)/hr.
 Serum $\mu\text{M } \beta\text{-naphthol}/\text{ml}/\text{hr}$.
 -a; variation percent.

9. 간장 및 혈청 carboxylesterase 활성 변화

간장 및 혈청중의 carboxylesterase의 활성 변화는 Table 11에서 보는 바와 같다. 간장 homogenate중의 carboxylesterase 활성 변화는 BPMC를 투여한 각 실험군에서 대조군에 비하여 점차 감소하였으나 유의성은 없었다. 혈청 carboxylesterase 활성 변화도 간장의 carboxylesterase와 유사한 경향을 나타내었다. 일반적으로 carbamate계 및 유기인계 살충제가 esterase를 저해하는 것으로 보아

본 실험에서도 BPMC가 간 및 혈청 carboxylesterase를 저해하는 것으로 사료된다.

결 론

혈액상의 변화에서는 BPMC 투여군에서 WBC 값이 대조군에 비해 감소하는 경향이 있었으며, 혈청생화학 변화는 AST, ALT, LDH의 활성 및 glucose량이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. BPMC 투여군에서 간장 cytochrome P-450

함량은 12일 투여군에서 대조군에 비해 매우 유의성있게 증가하였으나 신장 cytochrome P-450 및 간장, 신장의 NADPH-cytochrome c reductase 활성변화는 증가하는 경향은 있으나 유의성은 없었다. 간장의 과산화지질 및 glucose-6-phosphatase 활성변화는 유의성이 없었으나 BPMC를 장시간 투여할 때 약간 증가하였다. Cholinesterase의 활성변화는 BPMC 12일간 투여한 간장 및 혈청에서 유의성있게 감소하였으며 carboxylesterase 활성변화는 BPMC 12일간 투여한 간장 및 혈청에서 유의성있게 감소하였으며 carboxylesterase의 활성도 투여횟수가 증가함에 따라 대조군에 비해 약간씩 감소하였다. 따라서 BPMC는 타 carbamate 살충제와 같은 정도에서 독성이 나타났음을 알았다. 따라서 BPMC는 carbamate계 농약과 같은 정도의 독성이 나타남을 알았다.

REFERENCES

1. Masako, U., J. Kanazawa: Uptake and Translocation of O-sec-butylphenyl N-Methylcarbamate (BPMC) and O, O-Diisopropyl S-Benzyl phosphothiolate (IBP) in Rice Plants Applied as Single and Mixed Preparations. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24-210 (1980)
2. Kobayashi, H., A. Yuyama, K. Shioya and K. Sato: Effects of a Carbamate, BPMC on the central cholinergic Functions and Behavior of mice. *Jpn. J. Vet.Sci.* 51 (4), 789-795 (1989)
3. Miyaoka, T., S. Tsuda and Y. Shirasu: Effect of O, O-Dimethyl O-(3-methyl-4-methylthiophenyl) phosphorothioate (Fenthion) pretreatment on acute Toxicity of 2-sec-Butylphenyl N-Methylcarbamate (BPMC) in dogs. *Jpn. J. Vet. Sci.* 49, 173-175 (1987)
4. Miyaoka, T., H. Takahashi, S. Tsuda and Y. Shirasu: Potentiation of acute Toxicity of 2-sec-Butylphenyl N-Methylcarbamate (BPMC) by Fenthion in mice. *Fundamental and Applied Toxicology.* 4, 802-807 (1984)
5. Tsuda, S., T. Miyaoka, M. Iwasaki and Y. Shirasu: Pharmacokinetic analysis of increased toxicity of 2-sec-Butylphenyl N-Methylcarbamate (BPMC) by Fenthion pretreatment in mice. *Fund. and Applied Toxicology.* 4, 724-730 (1984)
6. Neskovic, N. K.: Effects of subacute feeding of carbaryl on mixed function oxidase and on acute toxicity of parathion and propoxur in rats. *Environmental Research.* 20, 148 (1979)
7. Masaho, U., C. Tomixawa, T. Masuda and J. Kamazawa: Resolution and Biological activity of the optical isomers of 3-tert-Butylphenyl sec-Butylcarbamate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 797-802 (1985)
8. Casida, J.E.: Mixed-function Oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergist. *J. Agric. Food Chem.* vol. 18, No. 5, pp 753-772 (1970)
9. Kamath, S.A., Kummerow, F.A. and Narayan, K.A.: A simple procedure for the isolation of rat live microsomes. *FEBS Letters*, 17, 90-92 (1971)
10. Cinti, D.L., Moldeus, P. and Schenkman, J.B.: Kinetic parameters of drug metabolizing enzymes in Ca²⁺-sedimented microsomes from rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, 21, 3249-3256 (1972)
11. Omura, T. and Sato, R.: The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.*, 239, 2370-2378 (1964)
12. 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)
13. 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 Press. New York.* 10, pp 565-573 (1963)

14. 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)
15. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275 (1971)
16. 大石誠子 : 過酸化脂質 測定法 最近醫學 33, 660 (1966)
17. 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)
18. Fiske, C.H. and Subbarow, Y.: The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400 (1925)
19. 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)
20. Nachlas, M.M. and Seligman, A.M.: Evidence for the specificity of esterase and lipase by the use of three chromogenic substrates. *J. Biol. Chem.*, 181, 343-355 (1949)
21. Cecil, H. C., Harris, S. J., and Bitman, J.: Effects of nonpersistent pesticides on liver weight, lipid and vitamin A of rats and quail. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 11, 496 (1974)
22. 李相基, 洪思澳 : Fenvalerate에 미치는 Carbar-yl의 영향. *Kor. J. Environ. Toxicol.* Vol.6, No. 3-4, 105-121 (1991)
23. Srivastava, A. K., Raina, R., Chaudhary, R. K., and Malik, J. K.: Acute toxicity and biochemical alterations in rats after single oral exposure to Dieldrin. *Pesticides*. 23(2), 35-40 (1989)
24. Cornish, H.H., Barth, M.L. and Dodson, V.N.: Isozyme profiles and protein pattern in specific organ damage. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 16, 411-423 (1970)
25. 홍사욱, 이완구 : Toxicological study of carbar-yl in rats, *Archives of Pharmacol Research*, 8, 119(1985).
26. Vadhva, P., and Hasan, M.: Organophosphate Dieldrin induced dose-related differential alteration in lipid levels and lipid peroxidation in various regions of the fish brain and spinal cord. *J. Environ. Sci. Health B* 21 (5), 413-424 (1986)
27. Tappel, A. L.: The changing role of pathology on modern safety evaluation. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 1, 119-152 (1970)
28. Grice, H.C.: The changing role of pathology on modern safety evaluation. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 1, 119-152 (1972)
29. Dikshith, T.S.S., Datta, K.K., Raixada, R.B. and Kushwah, H.S.: Effects of paraquat dichloride in male rabbits. *Indian Journal of Experimental Biology*, 17, 926-928 (1979)