

In vitro 시험에 의한 잉어체내 ^{14}C -endosulfan의 대사

이강봉·심재한·서용택*

전남대학교 농과대학 농화학과

초록 : ^{14}C - α -Endosulfan(100 nM, 41 μg)을 공시어의 각 조직(간, 신장, 소화관) 추출액에 처리하여 대사물질의 생성과 이에 미치는 cofactor의 영향을 시험관내 반응으로 비교한 결과, 105,000 g soluble fraction에서 phase I system에 해당되는 cofactor의 첨가시 공시어의 간 조직에서 가장 높은 대사물질 생성율을 보였고 phase II system에서는 NADPH를 cofactor로 첨가하였을 때 간과 신장조직에서 높은 대사물질 생성율을 보였다. 하지만 소화관 조직에서는 GSH 단독처리나 GSH+NADPH의 혼합처리시 높은 대사물질 생성율을 보였다. 또한 microsomal fraction에서는 phase I system에 해당되는 cofactor의 첨가시 공시어의 소화관 조직에서, phase II system의 경우 NADPH 단독처리나 NADPH+GSH 혼합처리시 대사물질의 생성이 가장 많았다. 이러한 결과로 보아 공시어의 간과 신장에서는 MFO에 의한 대사작용이, 소화관에서는 GST에 의한 대사작용이 활발하다고 할 수 있었다. 공시어의 각 조직에서 높은 생성율을 보인 대사물질은 EA(endosulfan alcohol), EE(endosulfan ether), EHE(endosulfan α -hydroxyether)이었으며 *in vivo* 시험에서와 마찬가지로 endosulfan sulfate는 검출되지 않았다. 이 실험에서 α -endosulfan은 잉어체내에서 β -endosulfan으로 이성화되었다가 EA로 가수분해되거나 직접 EA로 가수분해되어 다시 EE나 EHE로 산화되며 EHE는 EL(endosulfan lactone)로 산화되는 것으로 제안할 수 있었다(1994년 5월 12일 접수, 1994년 6월 21일 수리).

서 론

농업에 사용되는 농약들의 표적외 이동은 일반적으로 피하기 어려운 실정이다. 이러한 농약들은 자연수로 침투되어 어류에 상당한 조직손상 및 독성효과를 야기시킬 수 있다.^{2,3} Endosulfan을 비롯한 cyclodiene계 살충제는 간독, 신장독, 신경독 등을 유발하고 동물체내의 간과 신장에서 glutathione 함량의 감소와 더불어 lipid peroxidation 반응을 유발시킬 뿐만 아니라 glutathione peroxidase의 활성도 저해 한다고 보고되었다.⁷ 비록 cyclodiene 유기염소계 화합물들의 정확한 독 작용부위와 작용기작이 밝혀지지 않았지만 최근의 연구에서는 이들의 독성은 산화적인 스트레스 때문일지도 모른다고 제안되어 왔다.⁷ 이 산화적인 스트레스의 원인인 활성 산소나 자유기의 원천은 아직 알려지지 않았지만 일반적으로 cyclodiene 약제는 친핵기가 활성화되어 결과적으로 superoxide 음이온의 방출을 상당히 증가시킨다고 알려져 있다.⁶ 또한 cytochrome P₄₅₀ 효소계는 cyclodiene 살충제의 산화적인 대사

물질을 생성시키거나 반응성 산소를 형성시킬 수 있다고 보고되었다.⁸ 어류체내에서 농약과 같은 외부독성물질들을 무독성물질이나 저독성물질로 전환시키는 효소계의 존재에 대하여도 최근의 몇몇 보고에 잘 나타나 있다.^{9,10,12,13} 이 분야에서의 연구는 다양한 간조직의 microsomal monooxygenase(Phase I)의 *in vitro* 활성에 초점을 맞춘 것들 이었다. 어류의 간조직에서 cytochrome P₄₅₀ 효소들의 활성은 PCB나 방향족 탄화수소와 같은 수질오염원들에 의해 유도될 수 있고 그 결과 몇몇 monooxygenase의 활성이 10~50배 정도 상승된다.¹ 농약에 노출된 어류의 조직을 분석하면 많은 농약이 monooxygenation된 후 epoxide hydrolase에 의하거나 glucuronic acid, sulfate, mercapturic acid와 conjugation되어 2차적인 대사가 진행된다(Phase II). 무지개 송어에서 몇몇 방향족 탄화수소들의 *in vivo*와 *in vitro* 시험을 실시한 결과 대부분의 방향족탄화수소들은 hydroxylation되거나 glucuronide 물질로 분비되고 반면에 sulfate 물질은 아주 없거나 소량만이 존재한다고 알려져 있다.¹ Endosulfan의 경우도 포

Key words : ^{14}C -endosulfan, *in vitro*, metabolism, carp

*Corresponding author : Y.-T. Suh

유류나 식물체에서는 endosulfan sulfate가 다량 검출되었지만 어류에서는 검출되지 않았다는 보고가 있고⁹⁾ 본 연구(*in vivo*)에서도 endosulfan sulfate는 검출되지 않았다. 본 연구에서는 endosulfan의 잉어체내 대사과정을 *in vivo* 시험에 이어서 *in vitro* 시험으로 추적하고 endosulfan 대사에 미치는 phase I 및 phase II 대사체계의 영향을 조사하고자 하였으며 최종적으로 endosulfan 대사물질의 conjugate 생성반응을 추적하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

¹⁴C-Endosulfan α -isomer(2.96 MBq/mg, 99% up)는 International Isotopes München(Germany)로부터 구입하였고 reduced glutathione, glutathione, Florisil, glucose-6-phosphate(G-6-P), nicotineamide adenine dinucleotide phosphate(NADP), G-6-P dehydrogenase(G-6-PDH), fructose adenine dinucleotide(FAD), NADP reduced form(NADPH), uridine 5'-diphosphoglucuronic acid(UDPGA)는 Sigma 제품을 사용하였고 thin layer chromatography(TLC) plate는 Merck 제품을, 그밖의 시약은 특급용, 용매(methanol, acetone, chloroform, hexane)는 농약잔류분석용 또는 HPLC용을 사용하였다.

High performance liquid chromatograph는 Waters 510 pump와 486 tunable UV detector를 사용하였으며 liquid scintillation counter(LSC)는 LKB제품을, Ultracentrifuge는 Kontron T-2070을 TLC autoradiograph scanner는 Trace master 20 모델을 사용하였다.

방법

1) *in vitro* 대사시험

공시어의 간, 신장, 소화관조직(10마리)을 신속하게 절취하여 0.01 M EDTA와 0.25 M sucrose를 함유한 0.2 M 인산 완충용액(pH 7.4) 10 ml로 glass homogenizer에서 마쇄한 후 이증가제로 여과하였다. 여액은 10,000 g에서 20분 동안 원심분리하고 다시 105,000 g에서 1시간 동안 초원심분리하였다. 최종 침전물인 microsome은 0.2 M의 인산 완충용액으로 재회석하여 microsomal suspension을 만들고 이때 단백질 함량은 1 mg/ml가 되게 회석하였다. 또한 상징액도 단백질 함량을 동일하게 조정하여 시험에 즉시 사용하였다. 단, 여기까지의 과정은 모두 4°C에서 신속하게 수행하였다. 시험에서의 배양혼합액중 phase I 체계에 의한 대사산물 확인 시험에서는 1 ml의 cofactor 용액(0.25 mM의 NADP와 2.5 mM G-6-P, 1 unit의 G-6-P

dehydrogenase의 혼합액)과 2 ml의 각 조직의 상징액 또는 microsomal suspension을 혼합하고 여기에 ¹⁴C-endosulfan(100 nM, 41 μ g/10 μ l ethanol)을 처리한 후 37°C에서 2시간 동안 암조건으로 진탕배양하였다. Phase II 체계에 의한 대사물질 확인시험에서는 cofactor인 5 mM의 FAD, 5 mM의 NADPH, 10 μ M의 GSH를 교호적으로 첨가하여 어떠한 효소체계에 의한 공시약제의 분해가 활발한지를 구명하고자 하였다. 이 과정에서는 cofactor의 첨가 후 질소가스로 30초간 반응액을 강하게 혼합한 후 마개를 밀봉하여 phase I 체계에서와 같은 조건으로 배양하였다. 배양반응은 chloroform(10 ml)으로 2회 추출하면서 종결되고 chloroform 추출액은 농축하여 TLC 분석한 후 liquid scintillation counter(LSC)로 계측하였다. 추출하고 남은 수용액은 동결건조하여 MeOH로 재회석하고 HPLC 분석과 LSC 계측을 실시하였으며 conjugate 실험재료로 사용하였다. 이때 HPLC 분석은 Waters 510 pump와 486 UV absorbance tunable detector를 사용하였고 Column은 Lichrosorb RP8 10 μ m, stainless column(4×250 mm)를 사용하였다. 이동상 용매는 66% MeOH이 함유된 탈이온수를 1.4 ml/min의 유속으로 흘려보냈으며 UV 검출기의 파장은 215 nm로 하여 실온에서 분석을 실시하였다.

2) Cytochrome P₄₅₀ 효소계에 의한 endosulfan의 대사

Cytochrome P₄₅₀ 효소계에 의한 endosulfan 대사시험은 Steven 등¹¹⁾의 방법에 준하여 단백질 1.8 mg/ml에 해당하는 microsome을 1.0 mM의 EDTA, 0.25 mM의 NADP, 2.5 mM의 G-6-P, 1.0 unit의 G-6-P dehydrogenase와 2.5 mM의 NAD⁺가 함유된 100 mM Na/K phosphate buffer (3 ml)에 현탁시켜 37°C 진탕수조에서 3분 동안 배양한 후 acetone에 녹인 endosulfan 20 μ g을 첨가한 다음 microsome 함유액에 공기를 넣어 주면서 37°C 진탕수조에서 30분 동안 배양시켰다. 배양이 끝난 후 반응액에 95% ethanol 3 ml를 가해 반응을 중지시키고 대사물질들을 hexane 10 ml로 3회 추출한 다음 농축 후 benzene에 재용해하여 GLC/ECD 분석을 행하였다.

Endosulfan 대사의 저해를 확인하기 위한 시험은 상기 방법에 의해 얻은 배양액에 acetone에 녹인 endosulfan 20 μ g과 piperonyl butoxide 0.5 nM을 첨가한 다음 대사물질의 분석을 행하였다.

3) Endosulfan-conjugate의 추적

Endosulfan-glucuronide의 인위적 합성을 위해서 ¹⁴C-endosulfan(비방사능; 1,204 GBq/mole) 100 nmol을 DMSO(20 μ l)에 용해하여 UDP-glucuronic acid(0.5 mM)와 β -glucuronidase를 함께 0.2 M 인산 완충용액(pH 7.4)

에 회석(1 mg/ml 단백질 농도)되어 있는 microsomal suspension에 첨가하여 암조건에서 2시간 동안 진탕배양하였다. 배양액은 동량의 MeOH을 첨가하여 RP-HPLC로 분석하였으며 시료와 비교 후 분취하여 LSC로 측정하였다.

결과 및 고찰

공시어의 liver, kidney, gut로부터 microsomal fraction과 105,000 g soluble fraction을 조제하여 ¹⁴C-endosulfan에 대한 in vitro 시험을 실시하여 각 분획에서 cofactor가 미치는 대사물질 생성비율을 조사하였다(Table 1). 초원심분리기 상에서 각 조직의 상정액을 취하여 cofactor로써 Phase I system에 해당하는 NADP + G-6-P + G-6-PDH와 phase II system에 해당하는 GSH, NADPH, FAD를 단독 또는 혼합처리하여 대사물질 생성을 조사한 결과, 간 조직에서 phase I system에서의

대사물질 생성은 신장이나 gut에서의 대사물질 생성보다 많았고 phase II system에서는 NADPH만을 cofactor로서 단독으로 처리하였을 때 가장 높은 대사물질 생성율을 보였다. 신장 조직에서도 마찬가지로 NADPH를 첨가한 경우에 가장 높은 대사물질 생성율을 보였다. 하지만 gut에서는 GSH를 첨가한 경우와 GSH+NADPH를 혼합처리한 경우에 높은 대사물질 생성율을 보였다. 한편, FAD 단독처리나 FAD+NADPH 혼합처리의 경우에는 전반적으로 낮은 생성율을 보였지만 그 중에서도 FAD+NADPH 혼합첨가 시료에서는 다소 높은 생성율을 보였다. 이 실험에서 지용성 대사물질이나 수용성 대사물질은 그 구분이 정확치 않았는데 그것은 Table 1과 2에서 보듯이 수용성 대사물질이 유기용매에도 용해되어 chloroform 추출물에 포함되어 있기 때문이었다. 하지만 대부분의 대사물질은 수용성 추출물에 포함되어 있었고, 이 수용성 분획에서의 대사물질만을 기준으로 결과를 평가하여도 그 비율은 유사했다. Cofactor의 사용에 따른

Table 1. Effect of various cofactors added to the 105,000 g soluble subcellular fraction of carp on the formation of metabolites of endosulfan

Subcellular source	Cofactor added	Chloroform fraction (%)		Water-soluble fraction (%)	
		Total	Metabolites	Total	Metabolites
Liver	NADP + G6P + G6PDH	73.42	8.25	17.16	16.74
	FAD	81.50	11.32	10.85	10.54
	NADPH	24.76	12.50	70.15	68.58
	FAD + NADPH	63.26	7.16	27.71	25.11
	GSH	25.42	7.64	63.80	63.78
	GSH + NADPH	25.60	10.20	67.78	66.24
	None	68.90	6.60	14.22	13.10
Kidney	NADP + G6P + G6PDH	81.74	10.96	13.55	10.24
	FAD	74.12	8.14	18.10	17.92
	NADPH	68.27	10.93	30.85	30.78
	FAD + NADPH	68.74	6.52	26.35	24.36
	GSH	79.44	8.37	5.22	2.04
	GSH + NADPH	66.50	9.37	30.12	28.90
	None	63.21	8.46	24.15	14.80
Gut	NADP + G6P + G6PDH	71.14	4.34	16.81	15.52
	FAD	79.70	5.15	14.23	14.10
	NADPH	45.65	7.29	44.10	38.66
	FAD + NADPH	66.54	5.04	24.12	23.47
	GSH	47.76	8.14	43.12	40.24
	GSH + NADPH	46.22	6.87	42.67	40.75
	None	74.10	6.06	16.31	15.59

Table 2. Effect of various cofactors added to the microsomal fraction of carp on the formation of metabolites of endosulfan

Subcellular source	Cofactor added	Chloroform fraction (%)		Water-soluble fraction (%)	
		Total	Metabolites	Total	Metabolites
Liver	NADP+G6P +G6PDH	74.63	6.30	17.11	16.52
	FAD	62.16	4.22	24.20	24.05
	NADPH	54.70	29.10	37.50	36.28
	FAD+NADPH	61.42	3.18	27.53	26.13
	GSH	55.26	12.65	33.18	33.08
	GSH+NADPH	46.32	21.83	47.11	46.40
	None	78.12	7.22	13.79	13.43
Kidney	NADP+G6P +G6PDH	80.93	10.14	10.58	9.24
	FAD	76.14	8.77	13.72	12.14
	NADPH	61.60	24.37	31.53	30.65
	FAD+NADPH	70.40	3.54	19.64	18.36
	GSH	59.41	20.30	26.62	22.14
	GSH+NADPH	63.15	78.24	8.64	22.46
	None	63.21	8.46	22.46	19.03
Gut	NADP+G6P +G6PDH	62.18	4.18	23.71	22.10
	FAD	70.51	7.21	20.10	18.95
	NADPH	51.36	31.21	40.31	38.98
	FAD+NADPH	68.80	7.34	20.44	18.82
	GSH	42.12	25.40	47.22	45.12
	GSH+NADPH	46.22	27.83	42.10	41.25
	None	64.10	5.62	22.80	17.50

대사물질의 생성 결과에서 간과 신장에서는 MFO에 의한 대사가 이뤄지며 gut에서는 주로 GST에 의해 해독작용이 이뤄진다고 추측할 수 있었다.

또한 microsome 분획에 대하여 동일한 cofactor의 효과를 시험한 결과는 Table 2에 나타냈는데 phase I system에 의한 대사물질 생성은 gut에서 가장 많았고 각 조직별 대사물질 생성은 간 조직에서 가장 활발하였다. 모든 조직에서 cofactor의 첨가에 따른 대사물질 생성은 NADPH 단독첨가와 NADPH+GSH 혼합첨가의 경우에 높게 나타났다. 수용성 대사물질의 생성율은 간 조직에서는 GSH+NADPH 혼합첨가시, 신장에서는 NADPH 단독처리시, gut에서는 GSH 단독처리시 가장 높았다. 반면에 FAD나 FAD+NADPH 첨가의 경우에는 105,000 g soluble fraction에서와 마찬가지로 비교적 낮은 대사물질 생성율을 보였다. 이 결과에서도 역시 gut에서는 GST에 의해 대사가 촉진되며 신장과 간에서

는 MFO에 의한 대사작용이 활발한 것으로 보였다.

이상의 결과와 유사하게 공시어의 간 조직에서 cofactor 첨가 후 반응시간별 수용성 대사물질의 생성량을 살펴보면(Fig. 1) GSH의 첨가에 의한 것보다 NADPH의 첨가에 의한 대사물질의 생성이 높음을 알 수 있었다. 이 때 반응시간 1시간 까지는 그 생성량이 크게 증가하다가 1시간 이후로는 큰 변화를 보이지 않았으며 2시간 이후로는 거의 변화가 없었다.

이같이 NADPH 첨가에 의해 endosulfan 대사물질 생성이 높은 것을 기초하여 각 조직기관에서 대사물질의 생성율을 조사하여 Table 3에 나타냈다. 여기서도 GC-ECD 분석에서 나타난 결과와 마찬가지로 EE와 EA가 가장 높은 생성율을 보였으며 ES는 검출되지 않았다. 또한 105,000 g 상정액에서는 간 조직에서, microsome에서는 gut 조직에서 가장 높은 대사물질 생성율을 보였는데 어느 조직이나 EE와 EA의 생성이 가장 많았다.

Cytochrome P₄₅₀에 의한 endosulfan의 대사 확인시험에서 endosulfan은 Cyt. P₄₅₀ 효소계에 의해 EE, EHE, EL, EA가 생성되었다. 하지만 Cyt. P₄₅₀ 효소계의 inhibitor로 알려진 piperonyl butoxide를 함께 처리할 경우에는 대사물질의 생성이 극히 감소되었다(Fig. 2). 이러한 결과는 endosulfan이 잉어 체내에서 Cyt. P₄₅₀ 효소계에 의해 강한 대사작용을 받는다는 것을 나타낸다. ¹⁴C-Endosulfan을 공시어의 간 조직 microsome과 함께 배양하며 여기에 UDP-glucuronic acid와 β-glucuronidase를 첨가하고 반응이 완결된 후 HPLC로 분석하면서 이를 분획별로 채취하여 LSC 계측한 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 그림에서 보는 바와 같이 EA와 Rt 2.0에서 검출된

peak가 conjugation 반응에 의해 생성된 것으로 판단되었다. 이로 미루어 보아 EA가 UDP-glucuronic acid와 반응하여 endosulfan-glucuronide conjugate를 형성하였음을 잠정적으로 제안할 수 있었다. ¹⁴C-Endosulfan과 그 대사물질들의 시료에서의 생성을 확인하는 대표적 TLC chromatogram을 Fig. 4에 나타냈다. α-Endosulfan은 βE와 EE, EA, EHE, EL 등으로 대사되었음을 알 수 있다.

이상의 결과로부터 잉어(*C. carpio*)에서 α-Endosulfan의 대사과정을 제안하면 Fig. 5에 나타낸 바와 같다. αE는 βE로 전환되기도 하고 전환된 βE와 αE는 모두 EA로

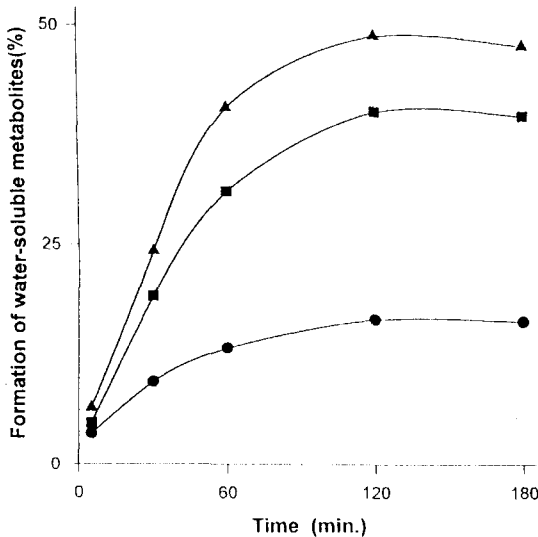


Fig. 1. Formation rate of water-soluble metabolites of endosulfan by the 105,000 g supernatant of the carp liver homogenate; (●) without cofactor, (■) GSH added, and (▲) NADPH added.

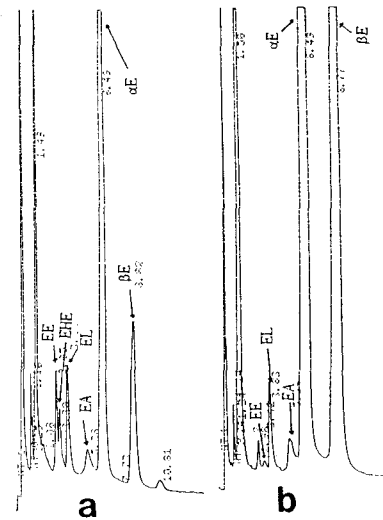


Fig. 2. Chromatograms of endosulfan and its metabolites produced by cytochrome P-450 reaction (a), and cytochrome P-450 inhibited by piperonyl butoxide (b); αE, βE, EE, EHE, EL, and EA is abbreviated from α-endosulfan, β-endosulfan, endosulfan ether, endosulfan hydroxyether, endosulfan lactone, and endosulfan alcohol respectively.

Table 3. The *in vitro* metabolites in carp tissues supplemented with NADPH

Compounds	105,000 g supernatant (%)			Microsomes (%)		
	Liver	Kidney	Gut	Liver	Kidney	Gut
α-Endosulfan	54.43	60.24	57.76	68.41	79.66	73.12
Endosulfan ether	9.72	13.00	5.01	13.27	8.02	1.39
β-Endosulfan	6.72	8.00	4.66	9.79	1.37	2.63
Endosulfan alcohol	11.82	10.28	29.70	2.64	1.09	14.60
Endosulfan α-hydroxyether	7.31	8.48	2.87	5.89	9.86	14.60
Endosulfan lactone	3.92	2.12	2.41	3.26	2.63	2.94
Endosulfan sulfate	—	—	—	—	—	—

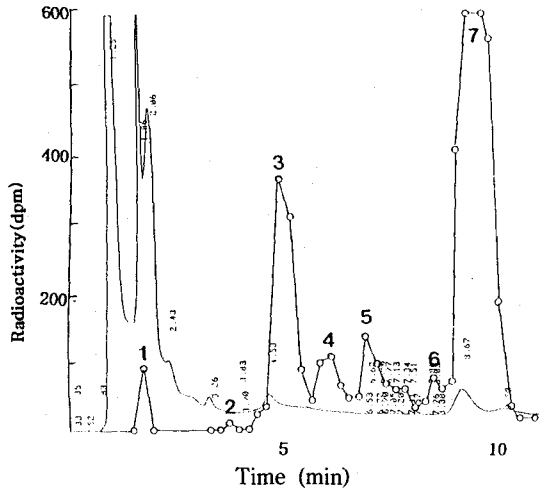


Fig. 3. Representative Chromatogram of the liver microsome after endosulfan and UDP-glucuronidase treatment. Peaks 2, 3, 4, 5, 6, and 7 are endosulfan and its metabolites EL, EA, ES, EHE, βE, and αE, respectively (—; HPLC, -o-; radioactivity).

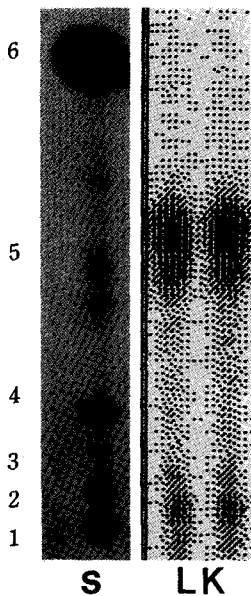


Fig. 4. thin-layer chromatograms in the liver and kidneys showing isomers and metabolites of endosulfan in *in vivo* test: S, authentic compound L, liver extract K, kidney extract a; EL, 2; EHE, 3; EA, 4; βE, 5; EE, 6; αE.

가수분해 대사되고 이 EA는 다시 EHE나 EE로 대사된다. 생성된 EE와 EHE는 상호 전환되거나 EHE를 거쳐

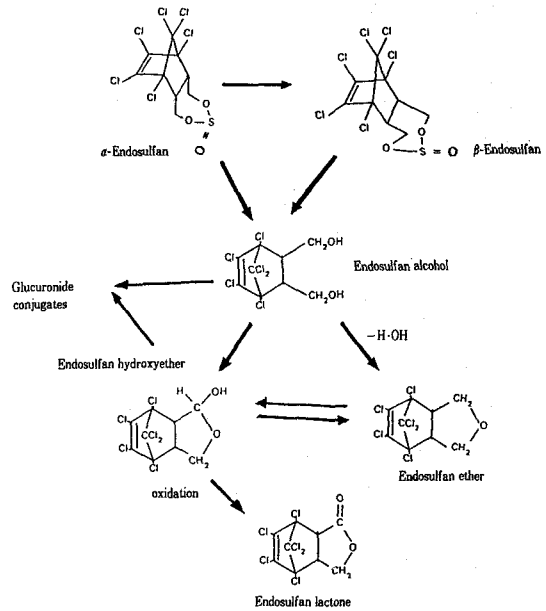


Fig. 5. Proposed metabolic pathway of endosulfan in *Cyprinus carpio*.

EL로 산화되지만 공시어에서 주된 대사물질은 EE와 EA로 나타났다. 또한 EA나 EHE는 glucuronide conjugate를 형성하여 체외로 배설되는 것으로 추측할 수 있었다.

감사의 말

본 연구는 한국학술진흥재단의 1992년도 자유공모과제 연구비 지원으로 수행하였기에 당 재단에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Andersson, T. and L. Förlin (1985) Spectral properties of substrate-cytochrome P₄₅₀ interaction and catalytic activity of xenobiotic metabolizing enzymes in isolated rainbow trout liver cells, *Biochem. Pharmacol.*, 34(9), 1407-1413
2. Dikshith, T. S. S. and K. K. Datta (1978) Endosulfan: lack of cytogenetic effects in male rats, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 20, 826-833
3. Haider, S. and M. R. Inbaraj (1988) In vitro effect of malathion and endosulfan on the LH-induced oocyte maturation in the common carp, *Water, Air, and Soil Pollution*, 39, 27-31

4. Haux, C. and L. Förlin (1988) Biochemical methods for detecting effects of contaminants on fish, *Ambio*, 17(6), 376-380
5. Maija, P. and A. Tommy (1987) Subcellular location and properties of cytochrome P₄₅₀ and UDP-glucuronyltransferase in the rainbow trout kidney, *Biochem. Pharmacol.*, 36(10), 823-829
6. Murty, A. S. and A. P. Devi (1982) The effect of endosulfan and its isomers on tissue protein, glycogen, and lipids in the fish, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 17, 280-286
7. Numan, I. T., M. Q. Hassan and S. J. Stohs (1990) Protective effects of antioxidants and lethality in rats, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19, 302-306
8. Rao, D. M. R. (1989) Studies on the relative toxicity and metabolism of endosulfan to the indian major carp *Catla catla* with special reference to some biochemical changes induced by the pesticide, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 33, 220-229
9. Siddiqui, M. K. J., F. Anjum and S. H. S. Qadri (1987) Some metabolic changes induced by endosulfan in hepatic and extra hepatic tissues of rat, *J. Environ. Sci. Health*, B22(5), 553-564
10. Srebocan, V., P. G. Jelena and M. Plazonic (1978) Effect of pesticidal chlorinated hydrocarbons on the enzymatic regulation of carbohydrate metabolism in poultry, *Veterinarski Arhiv*, 48(3), 111-121
11. Steven, K., E. L. Patrica and H. Ernest (1990) Relative contributions of the cytochrome P₄₅₀ and flavin containing monooxygenase to the microsomal oxidation of phorate following treatment of mice with phenobarbital, hydrocortisone, acetone and piperonyl butoxide, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 37, 174-181
12. Tyagi, S. R., K. Sriram, S. Narayan and U. K. Misra (1985) Induction of cytochrome P₄₅₀ and phosphatidylcholine synthesis by endosulfan in liver of rat: Effects of quality of dietary proteins, *J. Environ. Sci. Health*, B20(6), 651-664
13. Venugopal, N. B. R. K. and S. L. N. Reddy (1991) Effect of endosulfan 35 EC on glycogen metabolism in the hemolymph and tissues of a freshwater field crab *Barytelphusa guerin*, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 40, 176-180

***In vitro* Metabolism of Endosulfan in Carp (*Cyprinus carpio*)**

K. B. Lee, J. H. Shim, and Y. T. Suh* (Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

Abstract : When ¹⁴C- α -endosulfan was incubated with carp liver, kidney and gut preparations, it was metabolized to water soluble and organosoluble metabolites. In an *in vitro* test, endosulfan was converted to endosulfan α -hydroxyether (EHE), endosulfan alcohol (EA) and endosulfan ether (EE). The addition of NADPH resulted in rapid conversion of endosulfan to the metabolites in 105,000 g soluble fraction and microsomes. However, the rate of metabolism of endosulfan in liver, kidney and gut supplemented with NADPH as a cofactor was higher in the 105,000 g soluble fraction than that in the microsomes of carp under incubation conditions. The enzymes probably involved in the metabolism of endosulfan include the glutathione S-transferase (GST) and the mixed function oxidases (MFO), based on the evidence that addition of either GSH or NADPH increased the degradation of endosulfan.