

수증 생약 수증기 증류물이 유기인제 농약에 의하여 저해된 Acetylcholinesterase 활성에 미치는 효과

신국현 · 이은방 · 송영진 · 김운자
서울대학교 천연물과학연구소

Effect of Steam Distillate from Some Medicinal Plants on Acetylcholinesterase Activity Following Intoxication by Organophosphate Pesticides in Animals

Kuk Hyun Shin, Eun Bang Lee, Young Jin Song and Oon Ja Kim
Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—The acute toxicity and the effect of steam distillate obtained from several plant mixtures (G-3) on the reactivation of brain, lung, and blood acetylcholinesterase (AChE) activity, and recovery from other toxic symptoms following intoxication by organophosphate pesticides were investigated in mice and mudfish. Administration of G-3 (50~100 ml/kg, i.p.) immediately or 30 min prior to Diazinon or Sumithion treatments, respectively, resulted in a significant reactivation of AChE activity in brain, lung, and blood, their potencies being almost equipotent to those of 2-PAM, one of well-known antidotes. G-3 itself exhibited almost no acute toxicity even at the highest dose employed, and without effect on the inhibition of hepatic drug metabolism function following organophosphate administrations. G-3 showed a significant diminution of the death rate in mudfish as well as in mice intoxicated by Diazinon.

Keywords—Steam distillate from medicinal plants · AChE activity · antidote · organophosphate pesticides

유기인제 농약은 인체나 동물의 각종 장기의 AChE 활성의 저해를 초래하며 이들 농약들의 중독 증상을 대표하는 현상의 하나임은 주지의 사실이다. 이 효소의 억제로 cholinergic synapses 나 신경근 접합부에서 acetylcholine이 불활성화 하며 이로 말미암아 acetylcholine이 축적되면 결과적으로 유기인제에 의한 중독 내지는 치사의 원인이 된다.^{1,2)}

최근 우리나라 농약의 사용빈도를 약제계통별로 볼 때, 유기인제가 19.1%, 카바마이트계가 13.0%, 합성 피레스로이드계가 15.3%로서 유기인제가 수위를 차지하며 농약에 의한 중독 증

상도 cholinesterase 활성이 정상치 이하로 저하 되는 비율이 약 23%에 달하여 이에 대한 예방내지는 치료를 위한 해독제의 개발의 필요성이 점고되고 있다. 농약 해독제로서는 활성탄과 같은 물리적 탈취제나 아트로핀 또는 oxime계 cholinesterase 부활제로 알려진 2-PAM과 같은 화학적 해독제 등이 알려져 있으나³⁾ 동물실험에서 유기인제에 따라서는 유효한 경우도 있고 무효한 경우도 있어서 그 보호효과나 기전에 불분명한 점이 있을 뿐 아니라 화학적 해독제 자체의 부작용이나 독성 등을 배제할 수 없다.

최근 수증 생약 혼합물의 수증기 증류물이 유

기인제 농약으로 중독된 미꾸라지에 대하여 회생시키는 작용이 있다는 결과⁴⁾에 착안하여, 저자 등은 이들 생약 증류물들의 유기인제 해독제로서의 작용과 그 기전을 구명키 위한 일차적인 시도로서 마우스를 실험동물로 하여 유기인제 독성 발현의 target 효소인 각종 장기에 있어서의 AChE 활성 저해에 대한 회복능의 유무와 그 안전성의 일단을 검토한 바, 새로운 지견을 얻었기에 보고한다.

실험재료 및 방법

실험재료 및 실험동물

유기인제 농약으로서 다이아지논[Diazinon, O, O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl 4-pyrimidinyl) phosphorothioate] 함유제제 및 수미치온[Sumithion, O, O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitro-phenyl) phosphorothioate] 함유제제를 사용하였고 acetylcholinesterase 활성 측정시약으로써 acetylthiocholine iodide(ATCh), dithiobisnitrobenzoic acid(DTNB)와 기타 hexobarbital, 2-PAM 등 다른 시약들은 미국 Sigma회사 시약 또는 시판품을 구입하여 사용하였다. 실험용 해독제로서는, 수중 생약(상실, 동청, 감초, 진피, 송지, 갈근, 창출 및 애엽)을 혼합하여 가압, 수증기 증류하여 얻은 액[G-3, 한일(주)에서 제조하여 공급]⁴⁾을 사용하였다.

실험동물로서는 dd계 웅성 마우스(체중 18~25 g)와 길이 7~9 cm의 미꾸라지를 사용하였다. 마우스는 실험전 일정한 온도 및 습도의 조건하에서 1주일 이상 사육한 후 실험에 사용하였으며 미꾸라지는 24시간동안 공기 주입장치로 산소를 공급하여 주었다.

실험방법

급성 독성 및 자발운동의 측정

체중 18~25 g 내외의 웅성 마우스에 G-3시료 일정량을 복강주사 또는 경구 투여하고(1군 6마리) 시료 투여후 4시간까지 일정한 간격으로 마우스의 자발운동(general behavior)을 관찰하고 72시간까지 사망하는 동물 수를 측정하여 급성 독성 여부를 판정하였다.

마우스에서 Diazinon의 급성독성에 미치는

효과의 측정

체중 20~25 g 내외의 웅성마우스에 체중 10 g 당 34% Diazinon 용액이 1.8, 2.2, 2.9 및 4.7 μ l씩 투여되도록 물로 희석하여 각각 6마리의 마우스에 경구투여한 후 72시간 동안에 사망하는 마우스의 수를 관찰하였다. G-3의 효과를 관찰하기 위해 G-3를 경구투여하는 경우에는 0.4 ml/10 g씩, 복강내 투여의 경우에는 1 ml/10 g씩 투여하고 30분 후에 Diazinon을 위와 동일한 용량을 투여하여 72시간 동안의 마우스의 사망률을 대조군 값과 비교하였다. 대조약물로서 2-PAM을 0.9 mg/10 g씩을 Diazinon 투여하기 30분전에 경구로 투여하였다.

미꾸라지에서 Diazinon의 독성에 미치는 효과의 측정

길이 7~9 cm가량인 미꾸라지 40마리를 5×10^{-3} % Diazinon용액에 1.5시간동안 넣어서 중독시킨 후 15°C의 상수, G-3 10%용액, G-3 30%용액 및 대조약물인 2-PAM용액(0.2%) 500ml씩에 각각 10마리의 미꾸라지를 넣어두고 24시간 후에 사망한 미꾸라지의 수를 관찰하였다.

유기인제 농약의 간 대사 기능 억제에 미치는 효과의 측정

유기인제 농약인 Diazinon과 Sumithion들에 의해 유발되는 간 대사 기능 저해에 대한 G-3의 억제 또는 경감의 여부를 검토하기 위하여 Winter의 방법⁵⁾에 준하여 마우스를 실험동물로 하고 G-3를 투여후 즉시 또는 일정시간 후 Diazinon 및 Sumithion을 투여하고, 마지막 시료 투여후 30분만에 hexobarbital-Na 70 또는 50 mg/kg을 복강내 투여하여 정향반사가 소실되는 시각으로부터 회복되는 시각까지의 수면시간을 지표로 검토하였다. 이 때 대조군은 0.9% NaCl 용액을 투여하였다.

유기인제 농약의 AChE 활성억제에 미치는 효과의 측정

유기인제로 유발되는 뇌, 혈액 및 폐 등의 AChE 활성 저해에 미치는 G-3의 억제 또는 경감 효과의 유무를 검토하기 위하여 Ellman 등에 의해 개발된 spectrophotometric assay법⁶⁾에 의하여 실시하였다. 즉 마우스를 실험동물로 하고 G-3를 일정시간 전 또는 동시에 투여하고 유기

인제 시료의 일정량 액을 투여한 다음 일정시간 후에 마우스를 희생시키고 뇌, 혈액 또는 폐를 적출 또는 채취하여 다음과 같이 AChE 활성을 측정하였다.

뇌 및 폐는 그 전량을 취하여 무게를 달고 일정한 비율의 완충액(0.1 M phosphate buffer, pH 8.0)을 가한 다음 glass-teflon homogenizer로 homogenate를 만든 후, 이것을 UV 측정용 시료로 하였고 혈액은 정동맥으로부터 채취한 후 1/500의 suspension이 되도록 완충액(0.1 M phosphate buffer, pH 8.0)으로 희석한 것을 UV 측정용 시료로 하였다. UV 측정은 silica cell내에, 위에서 얻은 UV 측정 시료 3 ml를 취하고 0.01 M DTNB의 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)용액을 가한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하여 더 이상 흡광도가 증가하지 않는 때를 0점으로 놓았다. 이때 즉시 0.075 M ATCh 용액을 가한 후 흡광도의 증가를 최소한 7분간, 1분간격으로 측정하고 흡광도의 증가율로부터 AChE의 활성을 환산하였다.

실험 결과

G-3의 급성 독성 및 자발운동에 미치는 효과

G-3의 급성 독성을 검토하기 위하여 마우스를 실험동물로 하고 원액 1 ml~2 ml를 피하주사하고 72시간까지 사망여부를 관찰한 결과 시료투여한 모든 동물이 전부 생존하였으며 general behavior의 변화나 아무런 독성 증상도 나타내지

않았다.

마우스에서 Diazinon의 급성 독성에 미치는 G-3의 효과

34% Diazinon 용액을 마우스에 체중 10 g당 경구로 1.8, 2.2, 2.9, 3.7 및 4.7 μ l씩 투여하였을 때 72시간 후의 사망률은 각각 0/6, 2/6, 1/6, 6/6 및 5/6이었다. Diazinon을 투여하기 30분전에 G-3용액을 0.4 ml/10 g씩 경구투여하고 Diazinon을 투여하였을 때의 사망률은 2/6, 4/6, 5/6, 6/6 등으로 사망률이 저하하지 아니하였으나 G-3용액을 30분전에 1 ml/10 g씩 복강주사하였을 때 동일용량의 Diazinon 투여로 인한 사망률은 0/6, 1/6, 1/6, 2/6, 1/6 등으로 저하되었다. 대조약물인 2-PAM의 경우에는 0.9 mg/10 g을 경구투여하고 Diazinon 3.7 μ l/10 g을 경구투여하였을 때에 대조군에 비하여 유의성 있는 사망률의 감소를 나타내었다(Table I).

미꾸라지에서 Diazinon 독성에 미치는 G-3의 효과

Diazinon 5×10^{-3} %용액에 미꾸라지를 넣어 중독시킨 후 상수에 24시간 방치시켰을 때 사망률은 8/10이었으나 G-3 10%용액과 30%용액에 미꾸라지를 넣었을 때 사망률이 5/10, 1/10 등으로 감소되었다. 즉, 30% G-3용액의 경우에 Diazinon으로 인한 사망률을 대조군에 비하여 유의성 있게 감소시켰다. 대조약물인 2-PAM용액(0.2%)에 미꾸라지를 넣었을 때에도 사망률이 2/10로서 대조군에 비하여 유의성 있는 억제 효과를 나타내었다(Table II).

Table I. Effect of G-3 on the acute toxicity of Diazinon in mice

Dose of Diazinon (μ l/10 g, p.o.)	No. of animals	No. of died/No. of treated mice			
		Control	G-3(0.4 ml/10 g, p.o.)	G-3(1 ml/10 g, i.p.)	2-PAM(0.9 mg/10 g, p.o.)
1.8	6	0/6		0/6	
2.2	6	2/6	2/6	1/6	
2.9	6	1/6	4/6	1/6	
3.7	6	6/6	5/6	2/6*	1/6*
4.7	6	5/6	6/6	1/6*	

The concentration of Diazinon solution used was 34%.

G-3 was administered 30 minutes before Diazinon treatment.

The number of mice died was counted 72 hrs after Diazinon treatment.

Significantly different from the control group at $p < 0.05$ (*) in χ^2 -test.

Table II. Effect of G-3 on the acute toxicity of Diazinon in mudfish

Group	Conc. of Diazinon(%)	Conc. of antidote(%)	No. of fish	No. of ataxic fish	No. of dead fish	Death rate (%)
Control	5×10^{-3}	—	10	8	8	80
G-3	5×10^{-3}	10	10	8	5	50
G-3	5×10^{-3}	30	10	6	1*	10
2-PAM	5×10^{-3}	0.2	10	2	2*	20

The number of mudfish died was counted 24 hrs after exposure to Diazinon. Significantly different from the control group at $p < 0.01$ (*) in χ^2 -test.

G-3가 유기인제 농약의 간 대사기능 억제에 미치는 효과

마우스를 실험동물로 하고 hexobarbital 투여로 야기되는 수면시간을 지표로 유기인제가 간의 약물대사효소기능에 미치는 효과를 검토하였으며 그 결과를 Table III 및 IV에 표시하였다. G-3를 50 ml/kg씩 마우스의 복강내 투여하고 30분 후에 hexobarbital Na 50 ml/kg을 투여하여 수면시간을 측정할 결과 27.5분으로서 생리식염액만 투여한 대조군의 수면시간 32분과 거의 유

사하여 G-3 투여로 수면시간의 증가를 관찰할 수 없었다. 한편 유기인제 농약인 Sumithion을 2.5~25 ml/kg씩 피하주사하였을 경우는 수면시간이 대조군에 비하여 340~500% 현저히 증가함을 알았다.

한편 Sumithion 투여 1시간 전(Exp. 1), Sumithion 투여와 동시(Exp. 2) 및 Sumithion 투여 전 2일간 24시간 간격으로 2회 경구투여하고 각각 hexobarbital 수면시간을 측정할 결과 Sumithion만을 투여했을 때의 수면시간과 유의성 있는 차

Table III. Effect of G-3 on the inhibition of hepatic drug metabolism function after the administration of Sumithion

Treatment	Dose (ml/kg)	Route	Hexobarbital-induced sleeping time (min±S.E.)	% of Control
Control(Non-treated)			32.0±2.0	100
G-3	50	i.p.	27.5±1.5	86
Exp. 1				
Sumithion	2.5	s.c.	156±20*	488
Sumithion+G-3	100	p.o.	151±9	472
Exp. 2				
Sumithion	50	s.c.	192±16*	600
Sumithion+G-3	100	p.o.	179±14	559
Sumithion+G-3	50	i.p.	174±53	544
Exp. 3				
Sumithion	50	s.c.	141±29**	440
Sumithion+G-3	100/day	p.o.	143±48	447

Five mice per group were used.

Thirty minutes after the Sumithion treatment, the duration of sleep was measured with i.p. injection of sodium hexobarbital (50mg/kg).

Exp. 1; G-3 treatment, 1hr prior to Sumithion.

Exp. 2; G-3 treatment, concomitantly.

Exp. 3; G-3 two consecutive pretreatment, 24hr prior to Sumithion.

Significantly different from non-treated control; * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$.

Table IV. Effect of G-3 on the inhibition of hepatic drug metabolism function after the administration of Diazinon

Treatment	Dose (ml/kg)	Route	Hexobarbital-induced sleeping time (min±S.E.)	% of Control
Control(Non-treated) ^{a)}			31.6±1.0	100
Exp. 1				
Diazinon	0.14	p.o.	150±17*	475
Diazinon+G-3	100	p.o.	141±16	446
Exp. 2				
Diazinon	0.14	p.o.	144±20*	456
Diazinon+G-3	50	i.p.	185±13	585
Exp. 3				
Non-treated control ^{b)}			38.8±2.3	100
Diazinon	0.14	p.o.	175±11*	451
Diazinon+G-3	100/day	p.o.	206±8	531

Five mice per group were used.

Thirty minutes after the Diazinon treatment, the duration of sleep was measured with i.p. injection of sodium hexobarbital (a. 50mg/kg or b. 70mg/kg).

Exp. 1; G-3 treatment, 1hr prior to Diazinon.

Exp. 2; G-3 treatment, concomitantly.

Exp. 3; G-3 two consecutive pretreatment, 24hr prior to Diazinon.

* Significantly different from non-treated control; $p < 0.001$.

를 인정할 수 없었다(Table III).

이와 유사하게 유기인제의 하나인 Diazinon을 투여했을 경우도 Table IV에서 보는 바와 같이 Diazinon만을 0.14 ml/kg 경구 투여시 대조군에 비하여 351~375% 증가함을 관찰할 수 있었으며 G-3를 Diazinon 투여 1시간 전, 동시 및 2일간 연속 투여 후 수면시간을 측정할 결과 Diazinon만을 투여했을 때의 수면시간과 차이를 나타내지 않았다.

G-3가 유기인제 농약의 AChE 활성억제에 미치는 효과

마우스에 대하여 유기인제인 Sumithion과 Diazinon의 투여로 유발되는 각종 장기의 AChE 활성 저해에 대한 G-3의 효과를 검토한 결과를 Table V 및 VI에, 대조로서 시판 농약 해독제인 2-PAM의 효과를 검토한 결과를 Table VII 및 VIII에 종합하여 표시하였다. Table V에서 보는 바와 같이 정상 마우스의 뇌, 폐 및 혈액의 AChE 활성은 각각 8.66, 1.13 n moles/mg tissue, 1.32 n moles/ μ l blood로서 뇌의 AChE 활성이 다른 장기에 비하여 매우 높다는 것을 알

수 있다.

뇌의 경우 Sumithion 2.5 ml/kg 피하투여로 AChE 활성이 2.92 n moles로서 정상 대조군에 비하여 66% 감소함을 알 수 있으며 이 때 G-3를 50 ml/kg씩 Sumithion 투여와 동시에 또는 30분 전에 투여시 AChE 활성이 4.7 및 4.58 n moles로서 Sumithion 단독 투여시보다 약 20% 유의성있게 증가한다는 사실을 관찰하였다.

또한 폐의 경우는 G-3 동시 투여로 비교적 약하지만 약 13%의 유의성 있는 AChE 활성 증가를 관찰하였다.

혈액의 경우 Sumithion만을 투여후 30분 및 1시간 후 AChE 활성이 0.34 및 0.28 n moles/ μ l blood로서 각각 정상 AChE 활성치보다 74% 및 78% 감소하였으나 G-3를 100 ml/kg씩 복강내 동시 투여후 30분만에는 약 20%의 활성증가를 나타냄을 알았으며 1시간 만에는 활성증가가 약화되었다. G-3 50 ml/kg 투여시는 Sumithion에 의한 AChE 활성저해에 대한 회복 효과가 나타나지 않음을 알았다.

한편, 시판 농약 해독제인 2-PAM이 Sumithion

Table V. Effect of G-3 on acetylcholinesterase (AChE) activities inhibited by Sumithion

Tissue	Treatment	Dose(ml/kg)	Route	AChE activities ^{a)}	% of Control
Brain	None			8.66±0.15	100
	Sumithion	2.5	s.c.	2.92±0.22	34
	Sumithion+G-3	50	i.p.	4.70±0.34*	54
	Sumithion+G-3 ^{b)}	50	p.o.	4.58±0.56***	53
Lung	None			1.13±0.08	100
	Sumithion	2.5	s.c.	0.27±0.04	24
	Sumithion+G-3	50	i.p.	0.42±0.05***	37
Blood	None			1.32±0.22	100
	Sumithion	5	s.c.	0.34±0.01	26
	Sumithion ^{c)}	5	s.c.	0.28±0.01	22
	Sumithion+G-3	100	i.p.	0.60±0.07**	45
	Sumithion+G-3 ^{c)}	100	i.p.	0.33±0.01***	25
	Sumithion+G-3 ^{c)}	50	i.p.	0.36±0.05	27
	Sumithion+G-3 ^{d)}	50	i.p.	0.29±0.03	22

a) AChE activities were expressed as n moles substrate hydrolyzed/ μ l blood or mg tissue/min. Data were mean of 3 or 5 determinations.

G-3 were treated with Sumithion concomitantly, and mice were killed 30 min after the Sumithion administration.

b) G-3 treatment, 30 min prior to Sumithion. Mice were killed 30 min after the Sumithion administration.

c) G-3 treatment, concomitantly. Mice were killed 1 hr after the Sumithion administration.

d) G-3 treatment, 30min prior to Sumithion. Mice were killed 1hr after the Sumithion administration.

Significantly different from the Sumithion-treated group; * $p < 0.02$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.1$.

Table VI. Effect of G-3 on acetylcholinesterase (AChE) activities inhibited by Diazinon

Tissue	Treatment	Dose(ml/kg)	Route	AChE activities ^{a)}	% of Control
Brain	None			8.66±0.15	100
	Diazinon	0.85	p.o.	1.08±0.36	12
	Diazinon+G-3	50	i.p.	6.14±0.90**	71
	Diazinon+G-3	25	i.p.	3.04±0.51***	35
	Diazinon+G-3 ^{b)}	50	p.o.	6.49±0.49*	75
Lung	None			1.13±0.08	100
	Diazinon	0.17	p.o.	0.04±0.01	4
	Diazinon+G-3	50	i.p.	0.14±0.01**	12
Blood	None			1.32±0.22	100
	Diazinon	0.85	p.o.	0.17±0.04	13
	Diazinon ^{c)}	0.85	p.o.	0.18±0.01	14
	Diazinon+G-3 ^{d)}	50	i.p.	0.13±0.02	10
	Diazinon+G-3 ^{b)}	50	i.p.	0.41±0.03**	31

a) AChE activities were expressed as n moles substrate hydrolyzed/ μ l blood or mg tissue/min. Data were mean of 3 or 5 determinations.

G-3 were treated with Diazinon concomitantly, and mice were killed 1 hr after the Diazinon administration.

b) G-3 treatment, 30 min prior to Diazinon. Mice were killed 30 min after the Diazinon administration.

c) G-3 treatment, concomitantly. Mice were killed 30 min after the Diazinon administration.

d) G-3 treatment, 30 min prior to Diazinon. Mice were killed 1hr after the Diazinon administration.

Significantly different from the Diazinon-treated group; * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.05$.

Table VII. Effect of 2-PAM on acetylcholinesterase (AChE) activities inhibited by Sumithion

Tissue	Treatment	Dose(ml/kg)	Route	AChE activities ^{a)}	% of Control
Brain	None			8.66±0.15	100
	Sumithion	5	s.c.	2.79±0.14	32
	Sumithion+2-PAM	100 mg/kg	i.p.	4.59±0.46**	53
Lung	None			1.13±0.08	100
	Sumithion	5	s.c.	0.11±0.01	10
	Sumithion+2-PAM	50 mg/kg	i.p.	0.52±0.09*	46
Blood	None			1.32±0.22	100
	Sumithion	5	s.c.	0.39±0.01	30
	Sumithion+2-PAM	100 mg/kg	i.p.	0.30±0.03***	23

a) AChE activities were expressed as n moles substrate hydrolyzed/ μ l blood or mg tissue/min. Data were mean of 3 or 5 determinations.

2-PAM were treated with Sumithion concomitantly, and mice were killed 30 min after the Sumithion administration.

Significantly different from the Sumithion-treated group; * p <0.02, ** p <0.05, *** p <0.1.

Table VIII. Effect of 2-PAM on acetylcholinesterase (AChE) activities inhibited by Diazinon

Tissue	Treatment	Dose(ml/kg)	Route	AChE activities ^{a)}	% of Control
Brain	None			8.66±0.15	100
	Diazinon	0.34	p.o.	3.87±0.21	45
	Diazinon+2-PAM	50 mg/kg	i.p.	2.46±0.55***	29
Lung	None			1.13±0.08	100
	Diazinon	0.34	p.o.	0.09±0.02	8
	Diazinon+2-PAM	50 mg/kg	i.p.	0.54±0.06*	47
Blood	None			1.32±0.22	100
	Diazinon	0.17	p.o.	0.25±0.05	19
	Diazinon+2-PAM	50 mg/kg	i.p.	0.39±0.02**	29

a) AChE activities were expressed as n moles substrate hydrolyzed/ μ l blood or mg tissue/min. Data were mean of 3 or 5 determinations.

2-PAM were treated with Diazinon concomitantly, and mice were killed 1 hr after the Diazinon administration.

Significantly different from the Diazinon-treated group; * p <0.01, ** p <0.05, *** p <0.1.

에 의하여 유발되는 AChE 활성 저해에 미치는 효과는 Table VII에서 보는 바와 같다. 즉 2-PAM 100 mg/kg을 복강내 Sumithion과 동시에 투여후 30분만에 뇌의 AChE 활성은 Sumithion 단독투여시보다 약 21% 증가하였으며 폐의 경우는 약 36% 회복되었으나 혈액의 경우는 오히려 약간 감소함을 관찰하였다.

뇌의 경우, Table VI에 표시한 바와 같이 유기인제 농약의 하나인 Diazinon을 마우스에 0.85 ml/kg씩 경구 투여시 AChE 활성이 1.08 n

moles/mg tissue로서 정상 대조군의 그것에 비하여 88%의 활성저하를 보였으나 G-3를 50 ml/kg 복강내 동시투여하고 1시간 후에 AChE 활성은 6.14 n moles/mg tissue로서 Diazinon 단독 투여시보다 약 60% 활성증가를 보였으며 G-3의 투여량을 1/2로 줄였을 때에도 23%의 유의성 있는 증가를 보였다. G-3를 Diazinon 투여 30분 전에 경구투여하였을 때에도 약 63%의 효소활성회복을 보였다.

폐의 경우, Diazinon 0.17 ml/kg 경구투여시

독성이 강하여 약 96%의 AChE 활성저해를 나타내었으며 G-3 50 ml/kg 투여로 약 8%의 유의성 있는 활성 증가를 나타내었다.

혈액의 경우는 Diazinon 투여 후 30분 및 1시간 후의 AChE 활성이 각각 0.17 및 0.18 n moles로서 약 86% 활성저해를 나타내었으나 G-3를 30분 전에 투여하고 Diazinon 투여 후 30분만에 약 17% 효소 활성 증가를 나타내었으나 1시간 후에는 그 회복 효과가 소실되었다.

한편, 대조약물인 2-PAM 투여의 경우는 Table VIII에 표시한 바와 같이 뇌의 경우 50 mg/kg 복강내 투여시에는 오히려 AChE 활성이 Diazinon 단독 투여시보다 감소하였으나 폐의 경우는 약 40% 증가를 보였으며 혈액의 경우는 Diazinon 단독 투여시보다 10% 활성 회복을 하였다.

고 찰

탈취 및 농약해독작용 검토대상 제제로서 제공된 G-3는 수종의 생약들의 혼합물을 증류한 것을 다시 농축한 것으로서 그 원액은 특유의 향기를 나타내는 액체이다. 먼저 G-3 용액의 투여량을 결정하고 일반적인 behavior를 관찰하기 위하여 마우스에 G-3 원액을 5 ml까지 투여 최대량을 피하주사하고 그 general behavior를 관찰한 결과 특별한 이상 행동을 관찰할 수 없었으므로 G-3에는 급성 독성을 나타내는 성분이 존재하지 않을 것으로 사료되며 존재하더라도 극히 미약할 것으로 추측된다. 또한 중추신경계, 자율신경계 등에도 변동을 초래하는 증상을 관찰할 수 없었다.

유기인제제로 말미암아 유발되는 급성 독성에 대한 해독 효과를 관찰함에 있어서 제 1차적으로 시도하여야 할 점은 유기인제제와 같은 독성 물질들의 투여에 의해 얻어지는 사망률에 대한 억제 효과의 유무를 검토함에 있다. 우선 마우스에 대하여 G-3가 Diazinon 단독 투여로 나타나는 사망률을 현저히 감소시켰으며 (Table I), 이는 G-3에 Diazinon과 같은 유기인제 농약으로 유발되는 독성에 대한 해독효과가 있음을 암시하고 있다. 물론 사람에게 있어서는, 본 실험에

서 투여했던 정도의 많은 양의 유기인제제가 투여되는 경우는 거의 없으며, 농약을 분무할 때에 흡입하는 정도의 양이라면 G-3가 나타내는 해독 효과는 더 확실할 것으로 사료된다.

냉혈 동물의 하나인 미꾸라지를 실험동물로 하여 유기인제에 노출시켰을 때에 사망률에 미치는 G-3의 효과를 검토한 결과에서도 마우스의 경우와 유사하게 Diazinon에 노출시켰을 때의 사망률은 약 70% 이상 감소하였다.

유기인제 농약을 포함한 외인성 독성물질들에 의해서 나타나는 독성의 지표의 하나는 간기능의 감소이며 이때 간의 약물대사효소계의 저해가 일어난다는 것은 이미 생화학적 정설로 되어 있으며 이때 간 대사효소 저해를 측정하는 약물로서 hexobarbital의 수면시간을 이용하고 있다. Hexobarbital은 간에서 대사되며 그 수면시간의 증가는 대사효소의 억제와 간기능 감소를 의미하게 된다. Table III에서 보는 바와 같이 마우스에 G-3 단독 투여시는 전혀 hexobarbital 수면시간이 대조군에 비해 증가하지 않은 것으로 미루어 보아 G-3는 간 대사 효소계나 간 기능에 전혀 영향이 없음을 알 수 있으며 특히 중추신경 억제 작용도 없음을 알 수 있고⁵⁾ 이는 G-3가 급성 독성이 거의 없다는 결과와도 부합된다.

유기인제인 Sumithion 투여로 hexobarbital 수면시간이 매우 현저하게 증가하였으며 이 물질의 투여량은 독성이 나타나는 양이므로 간기능에 현저한 저해가 일어났음을 시사한다. G-3를 전처리, 동시 또는 연속 투여하였을 때 Sumithion 투여로 유발된 수면시간 증가를 억제하지 않았으며 이는 G-3가 일단 체내로 흡수된 다음 간에 도달하였을 때 2차적인 작용을 나타내기에는 부족하든지 간기능이나 효소계와는 무관한 것으로 사료되며 이 점에 대해서는 G-3의 유효성분 level에서 앞으로 더 검토할 과제로 사료된다. Table IV에서 보는 바와 같이 Diazinon 투여의 경우도 Sumithion의 경우와 유사하였다.

사람이나 조류 및 곤충들에 있어서 유기인제 농약에 노출되면 우선 각종 장기의 신경절 등에 존재하는 cholinesterase 효소활성의 현저한 저해를 초래하며 특히 뇌 또는 혈액 등에 존재하는 효소의 저해를 일으킴으로써 독성을 나타낸다는

것이 많은 연구자들에 의해 보고되었다.^{7,8)}

따라서, 본 연구에서도 유기인제 농약에 노출시 각종 장기의 AChE 활성에 미치는 효과를 검토하며 만일 효소 저해가 일어난다면 G-3에 의해서 이를 회복시킬 수 있는가를 검토하는 것을 실험의 초점으로 하였다. 과연 Diazinon이나 Sumithion의 투여로 중요장기로 알려진 뇌, 폐 및 혈액의 AChE 활성이 현저히 저해됨을 관찰할 수 있었으며 G-3를 전처리, 동시 투여시 AChE 활성이 현저히 회복된다는 것을 알았다. G-3의 전처리 시간과 유기인제 투여후 AChE 활성 측정 시간과의 간격이 길어질수록 G-3의 효과가 감소하며 또한 G-3는 암모니아, 초산 또는 초산에철에 기인하는 취기에 대한 우수한 탈취효과를 나타내나 시간이 경과하면 탈취효과가 감소⁹⁾하는 것으로 보아 G-3의 유효성분들이 비교적 일과성으로 단시간 작용하거나 그유효 성분 함량이 비교적 소량 함유되었거나 하는 가능성을 배제할 수 없으며 앞으로 각 생약들에 존재하는 유효성분과 그 작용을 구명하는 것이 중요과제의 하나로 사료된다.

결 론

1. 수종 생약 수증기 증류물인 G-3는, 유기인제인 Diazinon 및 Sumithion의 투여로 유발되는 마우스의 뇌, 폐 및 혈액의 AChE 활성의 저해를 유의성 있게 회복시키는 작용이 있었다.
2. G-3는 경구 또는 피하로 투여가능한 최대량을 마우스에 투여하였으나 전혀 급성 독성을 나타내지 않는 것으로 보아 독성이 거의 없는 것으로 인정된다.
3. G-3에는 중추신경 억제작용이나 기타 간효소에 대한 영향을 미치지 않았으며 유기인제 투여로 유발되는 간 대사효소 저해의 억제작용은 없었다.

4. G-3는 미꾸라지를 유기인제 농약에 노출시키거나 마우스에 투여하였을 때의 사망률의 증가를 현저히 감소시켰다.

이상의 결과로 미루어 보아, G-3는 급성 독성이 없는 물질로서 유기인제 농약에 노출되었을 때 우수한 해독 효과가 있는 것으로 사료되며, 그 작용기전의 하나는 각종 신경절이나 신경근절에 나타나는 유기인제 독성의 감소에 기인하는 것으로 사료된다.

〈1992년 5월 28일 접수 : 6월 8일 수리〉

문 헌

1. Clement, J.G., Rosario, S., Bessette, E. and Erhardt, N.: *Biochem. Pharm.* 42, 329 (1991).
2. Maxwell, D.M., Lenz, D.E., Groff, W.A., Kaminskis, A. and Froelich, H.L.: *Toxicol. Appl. Pharm.* 88, 66 (1987), and references therein.
3. Hayes, Jr., W.J. and Laws, E.R.: *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 1, pp.385-399, Academic Press (1991).
4. 김용은 : 대한민국 특허공보 제573호(공고번호 81-614), p.143 (1981).
5. Winter, C.A.: *J. Pharm. Exp. Ther.* 94, 1 (1948).
6. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, Jr., V. and Fatherstone, R.M.: *Biochem. Pharm.* 7, 88 (1961).
7. Thompson, H.M., Mackness, M.L., Walker, C.H. and Hardy, A.R.: *Biochem. Pharm.* 41, 1235 (1991).
8. Westlake, G.E., Bunyan, P.J., Martin, A.D., Stanley, P.I. and Steed, L.C.: *J. Agric. Food Chem.* 29, 772 (1981).
9. Shin, K.H. *et al.*: Manuscript, in preparation.