

Rat의 Dichlorvos의 독성에 미치는 Synethrin의 영향

洪 思 澳 · 朴 贊 普

성균관대학교 약학대학

Effect of Synethrin on the Toxicity of Dichlorvos in Rat

Sa Uk Hong and Chan Bo Park

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

ABSTRACT

Effect of Synethrin on the Toxicity of Dichlorvos in Rats.

Hematological, biological and enzymatic effects were investigated in rats treated with DDVP and synethrin. Mutagenicity was also examined.

In serological analysis, LDH and ALP were more significantly increased in rats treated with the mixture of DDVP (10 mg/kg) and synethrin (250 mg/kg) than with either DDVP or synethrin.

DDVP alone slightly increased cytochrome P-450 in the liver while synethrin or the mixture decreased it.

Lipid peroxidation was significantly increased in the liver when rats were treated with both DDVP and the mixture.

Cholinesterase activity was significantly decreased in the liver and serum when treated with DDVP as well as with the mixture.

In mutagenicity test, DDVP was shown to be weakly positive to TA 97a, TA 100 and TA 102, but negative to TA 1537. Synethrin showed negative in all strains tested.

These results suggest that the mixture of DDVP and synethrin increased the toxicities but not the mutagenicity.

서 론

근래에 와서 사람이나 가축에는 피해가 적고 해충에 대해서 선택적으로 독성이 높은 살충제의 개발에

역점을 두어 연구가 이루어지고 있으며 이러한 목적으로 개발된 살충제 중의 하나가 유기인계 살충제이다.

유기인계 살충제로서 최초 개발된 TEPP (Tetra ethyl pyrophosphate)는 2차세계대전 당시에 독일

에서 nicotine의 대체물질로 개발되었다. 유기인계 살충제 중에서 보다 더 안정한 물질을 탐구한 결과 1947년에는 parathion이 소개되었으며 그 후 비교적 선택성이 우수한 malathion이 합성되어 오랜 기간 동안 많은 양이 사용되고 있다.

유기인계 살충제는 크게 지방족 유도체, phenyl 유도체 및 heterocyclic 유도체로 나눌 수 있다. 지방족 유기인계는 짧은 탄소쇄를 가진 비교적 간단한 구조의 인산 유도체로 광범위한 살충작용을 가지며 비교적 물에 대한 가용성이 높다. Phenyl 유도체는 일반적으로 지방족 유도체보다 더 안정하여 지속성이 있으며 parathion, methyl parathion이 그 대표적인 물질이다. Heterocyclic 유도체는 지방족 유도체 및 phenyl 유도체보다 지속성이 더욱 강하며 복잡한 분자구조를 갖는 화합물이다¹⁾.

Dichlorvos [2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate (DDVP, Vapona)]는 지방족 유기인계 살충제로 다갈색의 액체이며 특이한 냄새가 있고 휘발성이 크며 알콜 및 대부분의 비극성용매에 녹는다. 가정에서 파리 및 모기 구제용의 에어로졸 상태로 많이 사용하고 있으며 가축용 살충제로 사용되기도 한다. 또한 휘발성이 큰 성질을 이용하여 담배나 저장식품 등에 살충용 훈증제로도 사용되고 있다. 이외에도 농작물의 수확 전후의 처리 및 동물용 구충제로 쓰이고 있다.

Dichlorvos(이하 DDVP)는 모든 포유동물의 체내에서 두가지 경로를 거쳐 대사된다(Fig. 1)²⁻⁷⁾. 그 하나는 DDVP가 esterase의 작용으로 dimethylphosphate와 dichloroacetaldehyde로 가수분해되는 것이다. 이 dichloroacetaldehyde는 신속하게 dichloroethanol로 변환되어 glucuronide 포합체로 배설되거나 dehalogenated 2-carbon fragment로 변환된다^{7,8)}. 또 다른 경로는 demethylation 과정으로서 methylcarbon에 monooxygenase의 작용에 의한 산소포화가 일어나거나 S-methyltransferase의 작용에 의해 glutathione을 methylation시키는 것인데 in vivo에서는 후자가 지배적이다⁹⁾.

유기인계 살충제는 acetylcholinesterase를 억제

하여 중독증상을 나타낸다. 억제기전은 유기인계 살충제의 가수분해과정에서 생성된 인산이 acetylcholinesterase를 phosphorylation시켜 강력하고 분해되기 어려운 비가역적 bond를 가진 phosphorylated cholinesterase를 형성하여 억제하는 것이다¹⁾.

Witherup 등¹⁰⁾은 rat에 DDVP를 투여한 실험에서 조직변화 및 종양발생은 없었다고 보고하였으며 Blair 등¹¹⁾도 만성흡입 독성시험에서 DDVP의 노출에 기인한 형태학적 변화는 없었다고 보고하였다.

한편 Wild 등¹²⁻¹⁵⁾은 DDVP가 세균에서 돌연변이를 일으켰으며 효모에서도 유전자의 변환을 나타냈다고 보고하고 있다. 또 Bhan과 Kaul¹⁶⁾도 보리 씨앗을 DDVP로 처리한 결과 뿌리끝에서 염색체변이가 나타났다고 보고한 바 있다. 반면에 초파리에서는 변이원성을 일으킨다는 명확한 증거가 나타나지 않았다고 보고되어 있다¹⁷⁻¹⁹⁾. 포유동물에 대해서도 in vitro에서는 염색체변이가 나타난 것으로 보고되어 있는 반면에²⁰⁻²²⁾ Buselmaier 등²³⁻²⁶⁾은 mouse에 대한 우성치사시험을 비롯한 in vivo 시험에서는 변이원성이 나타나지 않았다고 하였다.

Ramel 등²⁾은 DDVP의 변이원성이 주로 DNA의 methylation에 의한 것으로 알려져 있으나 DDVP의 dichlorovinyl기에 의한 DNA 공격가능성은 충분히 연구되어 있지 않으므로 DDVP의 대사 측면에서의 양과 유전독성인자들간에 대해서 더욱 연구가 이루어져야 한다고 주장하였다. 또한 DDVP의 발암성 유무에 관해서도 아직 충분한 보고가 없기 때문에 발암성에 관한 연구도 더욱 진행되어야 할 것이다.

Synethrin(N-octyl bicycloheptene dicarboximide)은 1944년 소개된 살충제로서 pyrethroid계나 유기인계 살충제의 synergist로 사용되며 이들 살충제와 혼합투여하면 살충제에 내성이 생긴 해충에 대해서 독성을 증가시켜준다²⁷⁾. 이와 같은 작용은 synethrin이 해충의 생체내에서 detoxification enzymes(mixed-function oxidases 또는 esterases)의 활성을 억제함으로써 살충제의 효력이 증

강되기 때문이다²⁸⁾.

El-Guindy²⁹⁾는 유기인계 살충제에 synergist로서 piperonyl butoxide와 bucarpolate를 사용하였을 때 효력이 크게 증강된다고 하였으며 synethrin에 의해서도 그 독성이 더욱 강하게 나타난다고 보고하였다. 또한 synethrin은 *Botrytis cinerea* 감수성균주에 대한 iprodione의 독성에 길항작용을 나타낸다는 보고도 있으나 iprodione의 독성에 길항하는 여러가지 화합물들은 cytochrome P-450이 관여하는 microsomal mixed function oxidases에 대해서 억제작용을 나타내기도 하고 또한 유도작용을 나타내기도 한다³⁰⁾.

그러나 synethrin이 유기인제의 하나인 DDVP의 synergist로서 DDVP의 살충효과에 미치는 영향에 관해서는 아직 보고된 바 없으며 더우기 DDVP를 synethrin과 혼합하여 사용하였을 때 포유동물에 미치는 독성에 관해서는 별로 연구된 바가 없다.

따라서 금번 저자는 유기인계 살충제 DDVP와 synergist인 synethrin을 rat에 각각 단독투여하여 그 독성을 관찰하는 한편 DDVP의 독성에 미치는 synethrin의 영향을 관찰하기 위하여 일정비율로 혼합투여한 후 혈액상과 혈청생화학적 변화를 측정하고 동시에 cytochrome P-450 등의 약물대사효소의 활성변화를 관찰하였으며 또한 과산화지질 및 cholinesterase와 glucose-6-phosphatase 활성의 변화를 측정하였다. 한편 DDVP는 변이원성이 유발된다고 알려져 있으나 synethrin과 혼합투여할 때 이들 변이원성 유발여부는 아직 보고된 바 없다.

따라서 두 약물을 혼합투여시의 변이원성 유발여부를 검토하기 위하여 유전자복귀돌연변이시험(Ames test)도 아울러 실시하여 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

실험방법

1. 실험동물 및 약물투여 방법

체중 200 g 내외의 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 rats를 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 1개군을 10마리로 하여 polycarbonate cage

내에서 사육하였다. 사료는 조단백질 22.1% 이상, 조지방 3.5% 이상, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, Ca 0.6% 이상, P 0.4% 이상의 조성으로 된 시판배합 고형사료(신촌 사료 주식회사)를 급식하였으며 급수는 수도수를 사용하였다. 실험군은 다음과 같이 구분하여 약물을 1일 1회씩 1~5주간 각각 경구투여하였으며 희생전 24시간은 물만 공급하고 절식시켰다.

① 대조군

Corn oil을 5.0 ml/kg씩 경구투여하였다.

② 약물투여군

㉠ 단독투여군

DDVP 및 synethrin을 각각 corn oil에 용해하여 10 mg/kg 및 250 mg/kg씩을 각각 대조군과 동일한 방법으로 투여하였다.

㉡ 혼합투여군

DDVP 10 mg/kg과 synethrin 250 mg/kg을 혼합하여 대조군과 동일한 방법으로 투여하였다.

2. LD₅₀치의 측정

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

3. 체중, 간장 및 신장의 중량측정

약물투여 전의 체중과 최종약물투여 24시간 후의 체중을 측정하여 약물 투여 전후의 체중증감비율을 산출하였다. 체중을 측정한 rat는 ether로 마취시키고 신속히 복부정중선을 절개하여 복부대동맥에서 채혈하였다. 채혈후 간장 및 신장을 원형을 유지하면서 saline 용액으로 관류하여 혈액을 제거한 후에 적출하고 saline 용액으로 깨끗이 씻어 여지로 수분을 제거한 다음 즉시 칭량하였다³³⁾.

4. 혈액학적 및 혈청생화학적 변화측정

복부대동맥에서 채혈한 혈액의 일부는 coulter counter로 혈액학적 검사를 하였으며 일부는 혈청을 분리하여 blood autoanalyzer를 사용하여 혈청

생화학적 검사를 하였다.

5. 간장 및 신장 microsome 분획의 분리

적출한 간장 및 신장을 세공하여 Potter Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25M sucrose 용액으로 homogenize시켰다. 10~20%의 간장 homogenate를 Kamath 등³⁴⁾의 방법을 개량한 Citi 등³¹⁾의 방법에 따라 원심분리한 다음 그 pellet을 microsome 분획으로 사용하였다.

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 함량 측정은 Omura와 Sato³²⁾의 방법을 참조하고 Matsubara 등³⁵⁾의 변법에 준하여 differential spectrophotometry로 450 nm와 500 nm에서 흡광도를 측정하고 그 차이를 molar extinction difference를 $104 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 하여 cytochrome P-450의 함량을 계산하였다.

② NADPH-cytochrome c reductase 활성 측정

Masters 등³⁶⁾의 방법 및 Mazel³⁷⁾의 방법에 준하여 조작한 후 reaction rate가 linear하게 되는 3~4분 사이에 550 nm에서 1분간의 흡광도 차를 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 등³⁸⁾의 방법에 준하여 bovin serum albumin을 표준용액으로 사용하여 정량하였다.

④ 간장 microsome 분획중 과산화지질 측정

Oishi³⁹⁾의 방법에 준하여 조작한 후 표준액으로 1,1,3,3-tetraethoxypropane 5 nmole을 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

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 20 mg/ml가 되도록 하였다.

Triawger와 Plaa⁴⁰⁾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 가온한 다음 20 mg/ml의 간장의 균일한 현탁액 0.2 ml를 넣어 20분간 반응시켰다.

이 반응을 10% trichloroacetic acid(TCA) 5.0 ml를 넣어 중지시킨 다음 원심분리하고 그 상등액을 2.0 ml 취하여 Fiske-Subbarow⁴¹⁾ 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 등⁴²⁾의 방법에 따라 실험하여 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 간장 및 혈청 carboxylesterase 활성측정

간장 carboxylesterase 활성은 간 1g에 0.25M sucrose 10 ml를 넣어 저온에서 homogenizer한 후 1,500 rpm으로 원심분리하여 침전물을 제거한 후 상등액을 검체로 하였으며, 혈청은 증류수로 50~100배 희석하여 검체로 하였다. 이 검체를 Nachlas 등⁴³⁾의 방법에 따라 조작한 후 실험하였다.

상기의 방법에서 얻은 Ethyl acetate 층을 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며 따로 β -naphthol

을 사용한 표준곡선을 이용하여 검체에서 생성된 β -naphthol의 양을 계산하여 활성을 측정하였다.

9. 유전자 복귀돌연변이 시험(Ames test)

① 시험방법

Salmonella typhimurium TA 97a, TA 100, TA 102 및 TA 1537을 Dr. B.N. Ames(U.C. Berkeley)로부터 분양받아 Maron & Ames²⁵⁾의 방법에 따라 유지하고 그 유전자형을 확인하였다. 공급 받은 검체의 양에 제한이 있어 검출력이 우수한 것으로 알려진 TA 97a 및 TA 100에 대하여 우선적으로 시험하고 TA 102, TA 1537도 대상으로 하였다^{45~47)}.

시험농도는 DDVP의 경우 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, synethrin에 대해서는 1,250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DMSO(dimethylsulfoxide)로 하였으며 양성대조물질로는 sodium azide를 사용하였다.

한편 Maron & Ames⁴⁴⁾의 방법에 따라 동물실에서 사육한 체중 200~230 g 정도의 Sprague-Dawley계 수컷 rat에 Aroclor 1254를 복강내 투여하여 효소유도시킨 간장으로 부터 S-9 mix를 조제하였다. S-9 mix는 각 시험개시 직전에 조제하여 사용하였으며 그 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of S-mix.

Components	μmoles or $\mu\text{l}/\text{mL}$
NADP (Sodium salt)	4 μmoles
D-glucose-6-phosphate	5 μmoles
MgCl ₂	8 μmoles
KCl	33 μmoles
Sodium phosphate buffer (pH 7.4)	100 μmoles
Liver homogenate (Rat)	100 μl

시험방법은 Ames의 원법인 plate incorporation method^{44,48)}로 시험하였다. 즉 *Salmonella*의 overnight culture(0.1 mL), 검체용액(0.1 mL) 및 S-9 mix를 혼합하여 37°C에서 20분간 진탕하지 않고 배양하였다. top agar 2.0 mL를 가하여 혼합하고 minimal glucose agar plate에 부어 37°C에

서 48시간 배양한 후 복귀 colony를 세었다. 용매 대조군을 포함하여 각 농도마다 3개의 plate를 사용하였고 초회시험실시 1주후에 재시험하여 재현성을 확인하였다.

② 결과의 판정

한 균주 이상에서 용매대조군의 2배 이상으로 colony의 수가 증가하거나 용량 의존성이 보이는 경우 및 시험결과에 재현성이 인정되는 경우 양성으로 판정하였다.

실험결과 및 고찰

DDVP는 지방족 유기인계 살충제로 에어로졸 형태로 가정에서 많이 사용하고 있으며 중독증상으로는 흥분, 타액분비과다, 실뇨 및 경련 등 직접적인 cholinergic 저해작용으로 인한 죽성이 보고된 바 있는데⁴⁹⁾ 본 실험에서도 DDVP를 투여할 때 흥분, 실뇨, 경련 등의 증상을 볼 수 있었다. synethrin과의 혼합투여에 의해서는 그 증상이 더욱 심화되었으며 오래 지속되었다.

Synethrin은 현재 pyrethroid계 또는 유기인계 살충제의 synergist로 사용되며 혼합투여시 이들 살충제의 작용을 증가시키며 또한 내성이 생긴 해충에 대해서도 선택적인 작용을 나타낸다고 한다.

1. LD₅₀치의 측정

DDVP와 synethrin을 rat에 경구투여하고 24시간 후의 LD₅₀치는 각각 98 mg/kg 및 3,290 mg/kg이었다. DDVP의 oral LD₅₀은 male rat에서 80 mg/kg이고 female rat에서 56 mg/kg이며, i.p. LD₅₀은 15 mg/kg이라고 보고되어 있으며⁵⁰⁾ synethrin의 LD₅₀치는 2,800 mg/kg~3,640 mg/kg이라고 보고되어 있는데⁵¹⁾ 본 실험과 유사하였다.

DDVP와 synethrin을 1 : 25의 비율로 혼합투여한 후 LD₅₀치를 측정한 결과는 62 mg/kg : 1,550 mg/kg이었다. 이러한 결과로 볼 때 synethrin이 DDVP의 synergist로 작용하여 각각의 독성이 증가됨을 알 수 있었다.

2. 체중, 간장 및 신장의 중량변화

① 체중변화

DDVP 및 synethrin 투여에 따른 체중변화는 Table 2에서 보는 바와 같다. 투여횟수가 증가할수록 체중이 점차 증가하여 5주후에 대조군은 38.3%가 증가하였으며 DDVP 단독투여군은 36.3%, synethrin 단독투여군은 32.7%, DDVP 및 synethrin 혼합투여군은 35.3%가 각각 증가하였다.

Hussain 등⁴⁹⁾은 rat에 DDVP를 inhalation시켰을 때 체중의 감소를 나타냈다고 보고하였으며 synethrin을 200 mg/kg 투여한 군에서는 별 변화가 없으나 1,000 mg/kg을 투여할 때 체중감소가 일어난다고 보고하였다⁵¹⁾. 일반적으로 DDVP 및

synethrin을 고농도로 투여하면 체중의 감소가 일어난다는 보고가 있었으나 본 실험에서는 투여량이 저용량이기 때문에 대조군에 비해 유의한 감소는 발견할 수 없는 것으로 사료된다.

② 간장 및 신장의 중량변화

간장 및 신장의 중량변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. DDVP 및 synethrin 투여군과 혼합투여군에서 투여횟수의 증가에 따라 간장의 중량 대 체중에 대한 비율은 약간 증가하는 경향이 있었고 신장의 경우는 별 변화가 없었다.

Hussain 등⁴⁹⁾은 DDVP를 rat에 inhalation시켰을 때 체중에 대한 간장의 중량비가 약간 증가됨을 보고하였다. 본 실험에서도 각 약물의 단독투여군 및 혼합투여군에서 간장의 중량 대 체중비율은 약간씩 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다. 따라서 본 아급성독성실험에서 사용한 투여량으로 시험한 장기의 중량변화에는 별 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다.

각 군에서의 5주간 평균사료섭취량은 Table 4에서 보는 바와 같다. 대조군에 비해 각 약물의 단독투여군 및 혼합투여군에서 감소하는 경향을 나타내었다. 특히 혼합투여군에서 더욱 감소하여 식욕감퇴 등 중독증상이 나타남을 알 수 있었다.

Table 2. Effect of DDVP and synethrin on the body weight in rat.

Group	Weeks	Initial b.w. (g)	Final b.w. (g)	Gained (%)
Control	1	210.7±3.43	215.6±2.33	2.3
	2	218.9±4.78	245.3±6.43	12.1
	3	215.6±5.06	261.1±4.59	21.1
	4	210.4±4.98	279.6±5.72	32.9
	5	205.6±4.72	284.3±6.43	38.3
DDVP (10 mg/kg)	1	218.3±5.50	223.3±5.12	2.3
	2	216.9±4.59	240.2±2.40	10.7
	3	212.2±6.24	249.6±3.20	17.6
	4	208.8±4.10	262.3±2.51	25.6
	5	210.3±3.18	286.6±5.43	36.3
Synethrin (250 mg/kg)	1	212.5±6.47	210.0±4.26	-1.2
	2	215.4±5.72	229.6±7.49	6.6
	3	205.6±7.51	241.9±7.34	17.7
	4	210.4±3.29	259.4±9.26	23.3
	5	206.8±4.92	274.5±4.76	32.7
D+S (1:25)	1	211.1±4.74	216.7±3.21	2.7
	2	217.2±3.35	240.0±5.82	10.5
	3	214.0±2.98	251.4±5.87	17.5
	4	217.5±3.92	272.5±4.83	25.3
	5	211.1±2.72	285.6±4.32	35.3

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

b.w.: body weight

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

3. 혈액상 및 혈청생화학적 변화

① 혈액상의 변화

DDVP 및 synethrin 투여에 따른 혈액상의 변화는 Table 5에서 보는 바와 같다. DDVP 단독투여군에서는 WBC, Hct 및 PLT가 약간씩 증가하는 경향을 보였으나 대체로 유의성은 없었으며 synethrin 단독투여군에서는 Hct, MCV 및 PLT가 투여횟수가 증가할수록 대조군에 비해 약간 증가하는 경향을 보였으나 RBC, MCHC는 반대로 감소하는 경향을 보였다.

Snow 등⁵²⁾은 dog에 DDVP를 경구투여할 때 WBC 및 Hct가 증가하였다고 보고하였으며 Hussain 등⁴⁹⁾은 rat에서 Hgb이 감소하였다고 보고하였다. DDVP와 synethrin의 혼합투여군의 혈액상의 변화는 각 약물의 단독투여군과 유사한 경향을

Table 3. Effect of DDVP and synethrin on the weight ratio of liver and kidney to body.

Group	Weeks	Liver W. (g)	Liver W./b.w. (%)	Kidney W. (g)	Kidney W./b.w. (%)
Control	1	6.72±0.22	3.16±0.09	1.72±0.07	0.78±0.05
	2	7.25±0.31	3.12±0.05	1.79±0.09	0.77±0.03
	3	7.85±0.28	3.17±0.08	1.85±0.04	0.76±0.06
	4	8.43±0.32	3.14±0.06	2.09±0.05	0.77±0.05
	5	8.91±0.19	3.16±0.05	2.14±0.05	0.76±0.03
DDVP (10 mg/kg)	1	7.21±0.27	3.23±0.03	1.76±0.07	0.79±0.02
	2	7.83±0.18	3.26±0.05	1.89±0.04	0.78±0.02
	3	8.38±0.22	3.36±0.02	1.95±0.03	0.78±0.03
	4	8.98±0.24	3.42±0.02	2.20±0.05	0.77±0.05
	5	9.41±0.18	3.45±0.04	2.33±0.08	0.79±0.02
Synethrin (250 mg/kg)	1	6.86±0.43	3.27±0.07	1.70±0.07	0.80±0.04
	2	7.45±0.29	3.24±0.09	1.78±0.06	0.78±0.05
	3	8.14±0.47	3.26±0.05	1.91±0.05	0.79±0.06
	4	8.92±0.532	3.44±0.06	1.96±0.06	0.79±0.04
	5	9.49±0.27	3.46±0.05	2.10±0.05	0.76±0.07
D+S (1:25)	1	7.12±0.65	3.28±0.05	1.70±0.09	0.78±0.02
	2	7.72±0.29	3.22±0.04	1.83±0.06	0.76±0.03
	3	8.23±0.36	3.27±0.06	2.01±0.04	0.79±0.04
	4	9.13±0.44	3.35±0.07	2.08±0.05	0.76±0.02
	5	9.78±0.52	3.42±0.10	2.24±0.02	0.78±0.02

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

W.: weight b.w.: body weight

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

Table 4. Effect of DDVP and synethrin on the average feed intake in rats.

Group	Total intake (unit: g)					
	Week	1	2	3	4	5
Control		815	1927	3114	4326	5672
DDVP (10 mg/kg)		800	1860	2860	3950	5150
Synethrin (250 mg/kg)		801	1890	2842	4002	5198
D+S (1:25)		750	1820	2600	3770	4968

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

보였으며 PLT는 혼합투여군에서 더욱 증가하는 현상을 나타내었다.

② 혈청 생화학적 변화

혈청 생화학적 변화는 Table 6에서 보는 바와 같다. aspartate aminotransferase(이하 AST)의 활성변화는 DDVP 및 synethrin 단독투여군에서는 증가하는 경향을 보였으나 혼합투여군은 3주부터 유의성있게 증가하였다. alanine aminotransferase(이하 ALT)의 활성변화는 DDVP 단독투여군과 synethrin 단독투여군에서는 약간 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었고 혼합투여군에서는 그 활성이 더욱 증가하는 경향이 있었다.

Srivastava 등⁵³⁾은 rat에 DDVP를 투여할 때 AST 및 ALT가 모든 조직에서 유의성 있게 증가했다고 보고하였으며 혈중 AST 및 ALT의 증가는 결국 cellular damage 및 plasma membrane 투과성의 변화를 의미하는 것으로 알려져 있는데 본 실험에서도 이와 유사한 경향을 볼 수 있었다. 따라서

Table 5. Effect of DDVP and synethrin on the blood parameters in rats.

Group	Week	WBC [$\times 10^3$]	RBC [$\times 10^6$]	Hgb [g/dl]	Hct [%]	MCV [μm^3]	MCH [pg]	MCHC [g/dl]	PLT [$\times 10^3$]
Control	1	11.8 \pm 1.23	7.3 \pm 0.09	14.4 \pm 1.23	41.6 \pm 2.71	56.9 \pm 1.17	19.6 \pm 1.14	34.5 \pm 3.11	798 \pm 23.4
	2	11.5 \pm 0.97	7.4 \pm 0.04	14.4 \pm 1.09	42.0 \pm 3.04	56.9 \pm 2.92	19.5 \pm 0.98	34.3 \pm 2.01	801 \pm 37.2
	3	11.7 \pm 0.85	7.6 \pm 0.05	14.9 \pm 1.31	43.5 \pm 2.09	56.8 \pm 3.45	19.4 \pm 1.36	34.2 \pm 2.43	771 \pm 19.6
	4	11.6 \pm 0.12	7.5 \pm 0.12	15.0 \pm 0.99	42.8 \pm 4.01	57.9 \pm 4.15	19.7 \pm 1.92	35.1 \pm 1.11	725 \pm 30.4
	5	11.9 \pm 0.43	8.0 \pm 0.93	14.9 \pm 1.71	43.7 \pm 3.72	57.4 \pm 2.63	18.9 \pm 1.93	34.3 \pm 3.54	755 \pm 28.5
DDVP (10 mg/kg)	1	12.3 \pm 1.20	7.7 \pm 0.13	14.2 \pm 0.43	44.9 \pm 1.63	59.3 \pm 1.79	20.0 \pm 1.44	33.2 \pm 1.87	815 \pm 40.4
	2	13.0 \pm 1.65	7.4 \pm 0.47	14.0 \pm 1.09	45.2 \pm 2.08	58.4 \pm 1.32	19.3 \pm 2.67	32.9 \pm 1.25	826 \pm 41.8
	3	13.4 \pm 1.91	7.3 \pm 0.35	14.1 \pm 0.82	45.3 \pm 1.59	57.7 \pm 2.48	18.4 \pm 2.24	32.7 \pm 0.85	827 \pm 22.2
	4	13.6 \pm 1.85	7.2 \pm 0.16	14.1 \pm 1.19	45.3 \pm 2.76	58.0 \pm 1.36	19.0 \pm 2.05	32.1 \pm 0.60	825 \pm 31.7
	5	13.7 \pm 1.67	7.2 \pm 0.25	14.0 \pm 1.44	45.9 \pm 2.31	57.6 \pm 2.68	19.1 \pm 1.10	31.8 \pm 1.75	850 \pm 36.5
Synethrin (250 mg/kg)	1	12.1 \pm 1.36	7.6 \pm 0.04	13.2 \pm 1.72	42.8 \pm 4.05	58.4 \pm 2.76	19.5 \pm 2.01	30.2 \pm 4.01	774 \pm 30.5
	2	12.6 \pm 1.25	7.4 \pm 0.15	13.9 \pm 2.01	43.5 \pm 3.64	60.5 \pm 3.19	20.7 \pm 1.64	31.4 \pm 2.72	726 \pm 25.7
	3	12.0 \pm 0.95	7.5 \pm 0.38	13.7 \pm 1.43	46.0 \pm 2.65	60.4 \pm 4.05	19.8 \pm 2.09	33.9 \pm 3.04	758 \pm 30.6
	4	11.7 \pm 1.21	7.4 \pm 0.05	14.0 \pm 1.96	45.4 \pm 3.26	62.4 \pm 4.17	20.1 \pm 4.31	30.1 \pm 2.65	791 \pm 29.4
	5	11.4 \pm 1.43	7.3 \pm 0.09	14.6 \pm 2.43	49.1 \pm 2.96	61.5 \pm 3.43	18.1 \pm 2.72	29.6 \pm 3.15	801 \pm 27.7
D+S (1:25)	1	11.5 \pm 1.25	7.3 \pm 0.67	14.3 \pm 1.49	40.8 \pm 2.17	59.7 \pm 2.27	19.4 \pm 1.01	34.5 \pm 1.42	880 \pm 35.7
	2	11.7 \pm 1.31	7.5 \pm 0.58	14.4 \pm 1.57	42.2 \pm 2.33	59.7 \pm 1.17	19.0 \pm 1.01	34.5 \pm 0.50	971 \pm 21.8
	3	12.4 \pm 1.55	7.6 \pm 1.22	14.4 \pm 1.68	41.9 \pm 4.72	58.1 \pm 0.87	19.5 \pm 1.87	33.6 \pm 1.44	1004 \pm 34.5
	4	12.8 \pm 2.01	8.0 \pm 0.31	14.9 \pm 0.98	40.6 \pm 1.84	56.0 \pm 0.72	18.6 \pm 0.73	36.5 \pm 0.46	1014 \pm 32.2
	5	12.8 \pm 0.89	8.3 \pm 0.35	14.8 \pm 0.62	41.8 \pm 1.96	54.5 \pm 1.89	18.5 \pm 1.08	36.6 \pm 0.91	1017 \pm 26.3

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

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 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

DDVP 및 synethrin을 단독투여할 때에 비해 혼합 투여할 때에 간장이나 신장의 독성이 증가됨을 알 수 있었다. alkaline phosphatase(이하 ALP) 활성은 DDVP 단독투여군 및 DDVP와 synethrin 혼합투여군에서 모두 유의성 있는 증가를 나타냈으며 synethrin 단독투여군에서는 증가하는 경향은 있으나 유의성은 없었다. Srivastava 등⁵³⁾과 Enan⁵⁴⁾은 rat에 DDVP를 투여할 때 ALP가 유의성있게 증가하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 ALP가 증가하였는데 이는 장기의 손상, 특히 간장, 신장 및 소장 등에 손상이 일어난데 기인한 것으로 사료된다.

Lactic dehydrogenase(이하 LDH) 활성에 있어서는 DDVP 및 synethrin 단독투여군과 혼합투여군에서 모두 유의성있게 증가하였으며 특히 혼합투

여군에서는 4주 및 5주에 더욱 더 증가하였다. Cornish 등⁵⁵⁾은 특정 조직손상을 감지하는데 LDH를 이용하였으며 rat에서 간장 손상에 의해서는 혈청 LDH_s isozyme 활성이 증가되고 신장 손상에 의해서는 LDH₁과 LDH₂ isozymes의 활성이 증가한다고 보고하였다. 본 실험에서도 LDH 활성이 증가하여 조직손상 유발의 증상이 있는 것이 아닌가 사료되며 혼합투여한 군에서 더욱 상승하는 것으로 보아 synethrin에 의해 독성이 증가되는 것으로 사료된다.

Glucose량의 변화는 synethrin 단독투여군에서는 대조군과 유사하였으나 DDVP 단독 및 혼합투여군에서는 유의성있게 증가하였다. Omkar 등⁵⁶⁾은 보리새우에 DDVP를 투여할 때 glucose량이 시

Table 6. Effect of DDVP and synethrin on the biochemical parameters in serum of rats.

Group	Week	AST [U/L]	ALT [U/L]	LDH [U/L]	ALP [U/L]	Glucose [mg/dl]	TG [mg/dl]	Cholest. [mg/dl]	Protein [g/dl]
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	6.9±0.15
	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	7.0±0.17
	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	6.8±0.14
	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	6.9±0.15
	5	119.6±5.44	49.7±7.21	581.4±29.72	192.5±15.44	94.8±8.76	59.2±4.73	59.4±6.05	7.0±0.14
DDVP (10 mg/kg)	1	123.6±9.83	47.7±5.05	636.8±38.09	259.8±24.39	125.6±8.49*	57.3±3.61	56.4±1.90	6.9±0.23
	2	127.5±4.81	49.6±5.51	729.4±27.85**	277.4±27.46*	126.9±8.72*	59.8±3.25	55.7±2.39	6.8±0.51
	3	131.6±9.83	52.2±3.81	783.0±23.19**	286.0±26.38*	130.5±6.39*	63.0±4.21	52.0±7.70	6.6±0.59
	4	148.0±9.21*	52.6±6.42	826.6±15.61**	298.8±17.23**	148.0±7.82**	65.7±2.48	51.7±2.82	6.6±0.17
	5	151.8±5.60**	53.8±4.99	847.6±18.50**	312.4±20.29**	153.5±8.76**	71.5±3.71	46.3±2.16	6.5±0.48
Synethrin (250 mg/kg)	1	119.5±3.49	45.9±3.92	590.4±29.82	184.5±13.63	98.5±6.94	59.4±3.25	59.4±8.42	7.2±0.14
	2	120.4±7.25	47.2±2.64	572.6±30.94	189.9±20.41	96.4±12.5	62.7±4.97	60.1±9.21	7.3±0.15
	3	123.6±4.09	48.1±3.26	584.5±27.63	199.6±31.43	98.6±8.43	63.9±7.21	58.4±3.09	7.0±0.17
	4	123.5±4.21	47.9±3.29	562.4±37.25	180.7±21.09	102.6±9.62	61.3±7.48	62.7±4.75	7.2±0.17
	5	126.9±5.34	50.6±4.09	605.2±34.45	201.4±19.64	114.2±8.76	64.3±6.59	65.4±3.24	7.4±0.19
D+S (1:25)	1	120.5±4.12	49.5±9.40	867.4±37.74**	352.5±45.21*	111.4±9.64	58.0±7.37	51.1±4.12	6.7±0.60
	2	133.8±8.65	56.7±13.2	948.5±25.25**	403.5±30.43**	112.3±12.9	51.6±7.29	57.6±4.36	6.6±0.40
	3	147.2±9.97*	58.3±18.9	998.3±27.86**	424.0±57.60**	146.7±13.2*	56.8±8.95	68.3±9.98	6.6±0.37
	4	144.0±8.97*	59.7±8.45	1019.1±25.45**	495.0±19.52**	144.9±21.5*	56.2±7.72	60.3±7.01	6.5±0.26
	5	146.2±7.89*	59.6±7.74	1032.0±48.51**	502.5±47.70**	148.5±15.7*	56.8±9.21	61.2±5.61	6.6±0.41

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

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

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

AST: aspartate aminotrasferase, ALT: alanine aminotransferase, LDH: lactic dehydrogenase,

ALP: alkaline phosphatase, TG: triglyceride, Cholest.: cholesterol

간의 경과에 따라 점차 증가하였으나 96시간 후에는 오히려 감소하는 경향을 나타냈다고 보고하였으며 Kuliszewska 등⁵⁷⁾은 rat에 DDVP를 경구투여하였을 때 glucose량이 증가하였다고 보고하였다. Kuliszewska 등⁵⁷⁾은 DDVP가 glycogen phosphorylase를 증가시키고 아울러 UDP-glucose pyrophosphorylase를 억제하여 hyperglycemia를 일으키는 것으로 보고하고 있다. 따라서 본 실험에서 DDVP 단독 및 혼합투여에 의해서 야기되는 혈중 glucose 함량증가는 이러한 현상에 기인하는 것이 아닌가 사료된다. Total protein, cholesterol 및 triglyceride는 별로 변화가 없었다.

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

간장 및 신장 microsome 분획중의 cytochrome p-450 함량 및 NADPH-cytochrome c reductase 활성의 변화는 Table 7에서 보는 바와 같다.

간장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량변화는 DDVP 단독투여군에서는 투여횟수가 증가함에 따라 점차 증가하는 경향이 보이거나 synethrin 단독투여군에서는 약간씩 감소하는 경향이 있었다. 혼합투여군에서는 더욱 감소하는 경향이 있었는데 이는 약물대사 효소에 미치는 syneth-

Table 7. Effect of DDVP and synethrin on the hepatic & renal microsomal cytochrome P-450 contents, NADPH-cytochrome c reductase activity in rats.

Group	Week	Liver		Kidney	
		P-450	Cyto. c red	P-450	Cyto. c red
Control	1	0.75±0.03	125.91± 8.54	0.35±0.02	10.96±0.67
	2	0.74±0.07	126.91± 8.92	0.35±0.03	10.52±0.54
	3	0.75±0.04	124.63± 9.45	0.36±0.05	9.98±0.43
	4	0.78±0.05	128.45± 8.72	0.34±0.10	9.96±0.42
	5	0.77±0.06	129.92± 7.44	0.34±0.04	10.05±0.24
DDVP (10 mg/kg)	1	0.76±0.05	125.13±10.02	0.34±0.04	11.51±1.74
	2	0.78±0.12	134.87± 7.82	0.35±0.13	11.32±1.25
	3	0.0±0.04	133.54±11.05	0.37±0.14	10.92±1.09
	4	0.83±0.10	139.32±10.21	0.38±0.02	11.76±0.79
	5	0.85±0.06	135.94± 7.54	0.39±0.10	11.02±0.56
Synethrin (250 mg/kg)	1	0.71±0.04	120.65± 9.69	0.36±0.04	10.45±0.57
	2	0.71±0.09	117.54± 9.95	0.37±0.08	10.26±0.49
	3	0.70±0.03	114.21± 7.43	0.35±0.05	10.38±0.52
	4	0.69±0.04	100.22± 8.43	0.33±0.06	9.59±0.24
	5	0.68±0.15	99.61± 9.41	0.32±0.05	9.36±0.39
D+S (1:25)	1	0.76±0.13	124.99± 8.02	0.36±0.12	10.03±1.02
	2	0.71±0.10	123.00± 9.10	0.35±0.12	9.40±0.68
	3	0.69±0.12	121.47±10.04	0.35±0.07	9.12±1.15
	4	0.66±0.14	119.33±11.67	0.33±0.02	8.98±1.07
	5	0.60±0.08	114.10±10.29	0.29±0.09	8.82±0.79

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

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

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

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

rin의 영향이 DDVP보다 우세한데서 기인한 것이 아닌가사료되며 또한 DDVP의 신속한 대사속도에 따른 영향이라고도 사료된다.

간 microsome 분획중의 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 DDVP와 synethrin 단독투여군 및 혼합투여군에서 대체로 cytochrome P-450 함량의 변화와 유사한 경향을 보였다. 일반적으로 malathion 등의 유기인계 살충제는 약물대사효소인 cytochrome P-450과 NADPH-cytochrome c reductase를 유도한다고 알려져 있다. synergist로서 많이 사용되었던 piperonyl 화합물은 microsomal NADPH₂ system의 inhibitor로서 작용한다고 하며 rat에서 benzo(a)pyrene의 hydro-

xylation을 감소시키나 발암성에는 변화를 주지 않는다고 보고된 바 있다.

Hansch⁵⁸⁾와 Hennessy⁵⁹⁾ 및 Wilkinson⁶⁰⁾은 piperonyl butoxide와 같은 methylene dioxyphenyl(MDP) 화합물의 methylene group으로부터 hydride ion이나 hydrogen radical이 mixed function oxidase(MFO)-system의 어느 부위에 작용하여 살충제의 산화분해를 저해함으로써 synergist로서의 작용을 나타낸다고 하였다.

본 실험에서도 N-alkyl compounds인 synethrin이 MDP 화합물에서와 같이 MFO-system에 작용해서 cytochrome P-450의 활성을 저해하여 혼합사용한 살충제의 산화분해를 억제하므로써 syner-

gist로서 작용을 하는 것으로 사료된다⁶¹⁾.

신장 microsome 분획중의 cytochrome P-450 함량 및 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 DDVP와 synethrin 단독투여군 및 혼합투여군에서 대체로 모두 간장에서와 유사한 경향을 보여주었다. 다만 DDVP 투여군에서는 간장에서와는 달리 투여초기에는 별 변화가 없다가 4주 이후부터 증가하는 경향이 있었다. 이는 DDVP가 간에서 esterase에 의해 dichloro-acetaldehyde로 대사되어 dichloroethanol 형태로 신장을 통해 배설되는 데^{2~5)} 이들 대사산물이 초기에는 약물대사효소계에 작용하여 cytochrome P-450과 NADPH-cytochrome c reductase의 활성변화에 영향을 미치지

않으나 약물투여농도 및 투여횟수가 증가할수록 간에서의 미대사산물이 신장에 도달하여 간장에서와 같이 약물대사효소계에 영향을 미쳐 cytochrome P-450 및 NADPH-cytochrome c reductase 활성을 감소시키는 것으로 사료된다.

5. 간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량변화

간장 및 신장 microsome 분획중의 protein 함량의 변화는 Table 8에서 보는 바와 같다.

간장 microsome 분획중의 protein 함량은 DDVP 단독투여군에서 약간씩 증가하였으며 synethrin 단독투여군에서는 점차 감소하였으며 5주 투여군에서 유의성있게 감소하였다. 이것은 모두 microsomal 약물대사효소의 활성변화와 유사한 경향을 나타내고 있다. 혼합투여군에서는 감소하는 경향을 보였으며 5주투여군에서는 유의성있게 감소하였는데 이는 synethrin의 영향인 것으로 사료된다. 신장 microsome 분획중의 protein 함량변화는 모든 투여군에서 간장에서와 유사한 경향을 나타내었다.

Table 8. Effect of DDVP and synethrin on the hepatic and renal microsomal protein concentration (mg/g wet weight) in rats.

Group	Week	Liver	VP	Kidney	VP
Control	1	23.23±0.97	—	20.41±0.51	—
	2	23.59±0.91	—	20.92±0.71	—
	3	24.95±0.43	—	20.21±0.48	—
	4	24.56±0.93	—	21.40±0.56	—
	5	24.80±0.72	—	21.78±0.24	—
DDVP (10 mg/kg)	1	24.56±2.56	5.54	20.12±1.13	-1.39
	2	25.54±1.25	7.99	21.20±1.29	1.42
	3	26.83±1.92	7.19	21.91±0.90	7.80
	4	25.24±2.19	2.93	22.25±0.49	3.82
	5	25.77±2.35	3.76	22.15±0.96	1.58
Synethrin (250 mg/kg)	1	22.95±1.05	-1.20	20.21±0.75	-0.98
	2	22.71±1.07	-3.73	20.91±0.68	-0.05
	3	21.69±0.96	-11.79	19.88±0.49	-1.63
	4	20.42±1.72	-16.86	19.99±.68	-6.59
	5	20.17±1.43*	-18.67	19.92±0.54	-8.53
D+S (1:25)	1	24.34±0.61	4.91	20.68±1.01	1.37
	2	23.85±1.59	1.49	19.50±1.29	-6.70
	3	22.68±0.98	-8.29	19.41±1.05	-3.91
	4	20.18±1.79	-17.63	19.15±1.35	-10.51
	5	19.15±1.69*	-22.78	18.18±1.18*	-16.60

Each value is the mean±SE of 8~10 rats.
Significant difference between control & treated groups (* : P<0.05)
VP: variation percent
D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

6. 간장 microsome 분획중의 과산화지질의 변화

간장 microsome 분획중의 과산화지질 변화는 Table 9에서 보는 바와 같다. DDVP 단독투여군과 혼합투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 모두 유의성 있는 증가를 나타내었으며 synethrin 단독투여군에서는 대조군과 비교해서 거의 변화가 없었다.

Vadhva 등⁶²⁾은 fish에 DDVP 투여시 phospholipid 감소와 더불어 지질과 산화 비율이 유의성 있게 증가하였다고 보고하였으며 Tappel⁶³⁾은 과산화지질이 생체막과 아세포기관에 손상을 준다고 하였다.

본 실험에서도 DDVP 단독 및 혼합투여로 인해 생체세포막의 주요성분인 인지질 등의 불포화지방산이 과산화지질로 변화하는데 영향을 미치는 것으로 사료되며 증가된 과산화지질은 생체막과 아세포기관 손상의 직접적인 원인이 되는 것으로 사료된다.

Table 9. Effect of DDVP and synethrin on the hepatic microsomal TBA-value in rats.

Group	Weeks	TBA-value	VP
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	—
DDVP (10 mg/kg)	1	1.793±0.078	1.72
	2	1.805±0.025	3.40
	3	2.081±0.091*	16.61
	4	2.218±0.098**	20.92
	5	2.265±0.043**	22.60
Synethrin (250 mg/kg)	1	1.834±0.126	3.81
	2	1.892±0.145	3.82
	3	1.996±0.129	4.78
	4	1.999±0.163	6.32
	5	2.043±0.243	6.89
D+S (1 : 25)	1	1.792±0.141	1.70
	2	2.041±0.133	17.10
	3	2.194±0.154*	25.59
	4	2.231±0.152**	27.19
	5	2.520±0.180**	43.84

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

Unit: nM/min/mg protein.

Significant difference between control & treated group (* : P<0.05, ** : P<0.01)

VP: variation percent

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

다.

7. 간장 glucose-6-phosphatase 활성변화

간장 homogenate중의 glucose-6-phosphatase 활성변화는 Table 10에서 보는 바와 같다.

Glucose-6-phosphatase는 endoplasmic reticulum과 관련이 있어 이 효소의 활성저하는 organelle의 손상을 특이적으로 반영한다고 한다. Feuer 등⁶⁴⁾은 10종의 간독성물질을 rat에 투여하였을 때 모두 glucose-6-phosphatase 활성이 저해된다고 보고하였다. Grice 등⁶⁵⁾은 glucose-6-phosphatase 활성변화가 초기 간손상의 지표로 이용되며 조직학적으로 검출되는 장기손상에 앞서서 일어

Table 10. Effect of DDVP and synethrin on the hepatic glucose-6-phosphatase activity in rats.

Group	Weeks	G-6-Pase	VP
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	—
DDVP (10 mg/kg)	1	66.46±3.96	0.02
	2	66.90±5.88	- 0.79
	3	67.05±4.82	- 2.44
	4	65.36±5.16	- 3.77
	5	64.81±3.76	- 4.82
Synethrin (250 mg/kg)	1	65.52±4.93	- 1.40
	2	63.15±3.27	- 6.35
	3	60.09±3.96	-12.57
	4	60.22±6.75	-11.34
	5	58.09±3.69	-14.69
D+S (1 : 25)	1	67.05±1.56	0.90
	2	67.83±6.43	0.59
	3	62.98±9.18	- 8.37
	4	53.55±4.43*	-21.16
	5	45.65±5.90*	-32.96

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

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

Unit: nM Pi/min/mg protein.

VP: variation percent

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

난다고 보고하였다.

본 실험에서 synethrin 단독투여군에서는 투여횟수가 증가할수록 효소의 활성이 감소하였으나 유의성은 없었다. 혼합투여군에서는 4주 및 5주에 유의성있게 감소하였는데 이는 DDVP와 synethrin의 혼합투여에 의해서 간손상이 일어난데 기인하는 것으로 사료된다.

8. 간장 및 혈청 cholinesterase 활성변화

간장 및 혈청 중의 cholinesterase 활성변화는 Table 11에서 보는 바와 같다.

Table 11. Effect of DDVP and synethrin on the hepatic and serum cholinesterase activity in rats.

Group	Week	Liver	VP	Serum	VP
Control	1	1.20±0.12	—	2.56±0.15	—
	2	1.18±0.08	—	2.65±0.13	—
	3	1.17±0.09	—	2.63±0.08	—
	4	1.22±0.04	—	2.57±0.17	—
	5	1.19±0.09	—	2.53±0.11	—
DDVP (10 mg/kg)	1	0.98±0.09	-18.33	2.43±0.07	- 5.08
	2	0.92±0.02*	-22.03	2.30±0.11*	-13.21
	3	0.89±0.08*	-23.93	2.06±0.10**	-21.67
	4	0.88±0.06**	-27.87	2.02±0.11**	-21.40
	5	0.85±0.05**	-28.57	2.01±0.05**	-20.55
Synethrin (250 mg/kg)	1	1.15±0.15	- 4.17	2.43±0.12	- 5.08
	2	1.10±0.14	- 6.78	2.47±0.10	- 6.78
	3	1.05±0.14	-10.26	2.40±0.14	- 8.74
	4	1.08±0.16	-11.48	2.30±0.09	-10.50
	5	1.02±0.23	-14.29	2.31±0.09	- 8.70
D+S (1 : 25)	1	0.92±0.01*	-23.33	2.47±0.04	- 3.52
	2	0.84±0.09*	-28.81	2.34±0.16	-11.70
	3	0.80±0.11*	-31.62	2.12±0.15*	-19.39
	4	0.72±0.03**	-40.98	2.04±0.10*	-20.62
	5	0.67±0.02**	-43.72	1.98±0.05*	-21.74

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

Unit: liver $\mu\text{M}/\text{min}/\text{g}$ (wet wt.), Serum: $\mu\text{M}/\text{min}/\text{m}\ell$

Significant difference between control & treated group (* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$)

VP: variation percent

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

간장 cholinesterase의 활성변화는 DDVP 단독 투여군에서는 투여횟수가 증가함에 따라 유의성있게 감소하였으며 혼합투여군에서는 더욱 감소하였다. Ehrich 등⁶⁶⁾은 rat에 DDVP를 i.p.로 30 mg/kg 투여하였을 때간장 cholinesterase가 27% 정도 억제됨을 보고한 바 있으며 Cohen 등⁶⁸⁾도 DDVP에 의해 간장중의 cholinesterase 활성이 억제되었음을 보고하였다. 또한 El-Guindy²⁹⁾는 유기인제살충제가 cholinesterase를 phosphorylation시키는데 synergist는 그 작용부위에 상경적으로 작용하여 독성을 지속시키고 cholinesterase의 phosphorylation을 더 많이 일으킴으로써 고독성을 유발하게 된다고 하였다. 따라서 이러한 작용에 의해 혼합투여군에서 간장 cholinesterase의 활성이 더욱 억제된

것으로 사료된다.

혈청중의 cholinesterase 활성변화는 간장 cholinesterase 활성변화와 유사한 경향을 나타내었다. 유기인제 살충제를 위시하여 대부분의 살충제에 노출될 때 대체로 cholinesterase가 심하게 억제되어 신경독성을 유발시키는 것으로 알려져 있다. Snow 등⁵²⁾은 dog에 DDVP를 투여할 때 RBC 및 plasma cholinesterase를 저하시킨다고 보고하였으며 Reiner 등⁶⁷⁾은 rat에 DDVP를 i.v.로 투여했을 때 brain과 plasma의 cholinesterase가 저하되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 DDVP 단독투여할 때 간장 및 혈청의 cholinesterase 활성이 감소하여 신경독성이 유발되는 것으로 사료되며 특히 혼합투여에 의해서는 더욱 더 활성이 억제되는 것으

로 미루어 보아 이러한 독성이 더욱 증대되는 것으로 사료된다.

9. 간장 및 혈청 carboxylesterase 활성변화

간장 및 혈청중의 carboxylesterase 활성변화는 Table 12에서 보는 바와 같다.

간장 carboxylesterase의 활성변화는 DDVP 및 synethrin 단독투여군에서는 별 변화가 없었으나 혼합투여군에서는 점차 감소하여 5주투여군에서는 6.95%의 감소율을 나타내었다. 따라서 DDVP와 synethrin을 혼합투여할 때 synethrin의 효력증강 작용에 의해 간장 carboxylesterase의 활성이 억제 되는 것으로 사료된다.

Table 12. Effect of DDVP and synethrin on the hepatic and serum carboxylesterase activity in rats.

Group	Week	Liver	VP	Serum	VP
Control	1	9.69±1.35	—	74.98±5.43	—
	2	9.64±1.09	—	72.43±6.95	—
	3	9.62±0.95	—	72.92±4.76	—
	4	9.70±1.72	—	73.21±7.92	—
	5	9.54±1.95	—	74.85±5.72	—
DDVP (10 mg/kg)	1	9.65±1.12	-0.41	74.34±4.91	-0.85
	2	9.61±1.03	-0.31	72.05±5.72	-0.52
	3	9.55±1.34	-0.73	70.75±3.02	-2.98
	4	9.53±1.25	-1.75	70.68±4.38	-3.46
	5	9.49±0.91	-1.56	69.88±6.19	-6.64
Synethrin (250 mg/kg)	1	9.68±1.62	-0.10	74.46±6.22	-0.69
	2	9.63±1.73	-0.10	74.01±7.31	2.18
	3	9.60±1.04	-0.21	74.27±4.31	1.85
	4	9.56±1.17	-1.44	73.29±5.01	0.11
	5	9.51±1.53	-0.31	70.36±6.78	-6.00
D+S (1:25)	1	9.60±1.04	-0.93	74.40±5.50	-0.77
	2	9.57±1.22	-0.73	71.04±4.07	-1.92
	3	9.35±1.09	-2.81	70.88±3.99	-2.80
	4	9.10±1.80	-6.18	69.76±5.10	-4.71
	5	8.97±1.47	-6.95	69.25±5.18	-7.48

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

Unit: Liver $\mu\text{M } \beta\text{-naphthol/g (wet wt.)}/\text{hr.}$

Serum $\mu\text{M } \beta\text{-naphthol/ml}/\text{hr.}$

VP: variation percent

D+S: DDVP+synethrin (10 mg/kg+250 mg/kg)

혈청 carboxylesterase의 활성변화는 synethrin 단독투여군에서는 대체로 별변화가 없었으나 DDVP 단독 및 혼합투여군에서는 투여횟수가 증가함에 따라 감소하는 경향이였다.

Cohen 등⁶⁸⁾은 DDVP가 in vitro에서 carboxylesterase 활성을 억제하였으며 mouse에 대한 invitro 시험에서도 비슷한 결과가 얻어졌다고 보고한 바 있다. 본 실험에서도 이와 유사하게 DDVP 단독투여에 의해서는 carboxylesterase 활성이 저하되는 경향이 있었으며 synethrin과의 혼합투여에 의해서는 이 효소의 활성이 더욱 억제되는 것으로 나타났다.

10. 변이원성의 평가

DDVP는 in vitro에서 calf thymus DNA를 알킬화시키며⁶⁹⁾ 각종 세균에서 mutation을 유도하는 것으로 알려져 있고^{70~75)} 효모에서도 mitotic gene의 conversion을 일으키는 것으로 보고되어 있다⁷⁶⁾.

*Salmonella typhimurium*을 이용한 유전자 복귀 돌연변이 시험의 경우 Voogd⁷⁴⁾의 문헌에 의하면 0.1% (v/v) 및 0.05% (v/v)의 DDVP 용액에서 mutation rate가 증가하였다는 보고가 있다. 또한 Hanna 등⁷⁷⁾도 *S. typhimurium* TA 1530과 TA 1535에서 변이원성이 나타났다고 보고하고 있다.

*E. coli*를 이용한 시험에서도 WP₂와 WP₂ uvrA 및 WP₆₇에서 양성의 결과가 얻어졌다고 한다⁷⁷⁾.

한편 DDVP와 synethrin을 단독 및 혼합 사용시의 유전자복귀돌연변이 시험결과는 Table 13과 같다.

본 실험결과에서 DDVP는 *S. typhimurium* TA 97a, TA 100 및 TA 102에서 모두양성의 결과를 나타내었으며 TA 1537에서는 음성의 결과가 나타났다. 또한 DDVP와 synethrin을 혼합해서 사용했을 경우에도 TA 100과 TA 102에서 양성의 결과가 인정되었다.

Table 13. Ames test results of DDVP, synethrin and the mixture.

	Dose ($\mu\text{g}/\text{m}\ell$)	Solvent	Number of His ⁺ revertants per plate				
			TA 97a	TA 100	TA 102	TA 1537	
Control		DMSO	-(+S9)	80	72	108	12
			(-S9)	84	92	100	16
			+	124	152	128	8
DDVP	50		+S9	136 \pm 16	140 \pm 36	124 \pm 28	16 \pm 8
			-S9	124 \pm 8	116 \pm 12	160 \pm 4	8 \pm 4
Synethrin	1,250		+S9	84 \pm 4	72 \pm 12	108 \pm 8	8 \pm 0
			-S9	68 \pm 8	80 \pm 12	116 \pm 8	16 \pm 8
DDVP+ synethrin	50+1,250		+S9	92 \pm 16	148 \pm 16	140 \pm 16	12 \pm 4
			-S9	92 \pm 8	132 \pm 12	144 \pm 4	12 \pm 8

결 론

DDVP의 독성에 미치는 synethrin의 영향을 보기 위하여 DDVP와 synethrin을 rat에게 각각 단독 및 혼합투여하여 혈액상 및 혈청 생화학적 변화를 측정하는 동시에 약물대사효소, 과산화지질, glucose-6-phosphatase, cholinesterase 및 carboxylesterase 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 돌연변이 유발가능성을 보기 위하여 대사활성화법을 적용한 Ames test를 실시하였다.

1. 혈청 AST, LDH, ALP 및 glucose는 DDVP 단독투여시에 유의성있게 증가하였으며 혼합투여군에서는 더욱 현저하였다.

2. 간장 및 신장 cytochrome P-450 및 NADPH-cytochrome c reductase 활성은 DDVP 단독투여군에서는 약간 증가하는 경향을 보였으나 synethrin과의 혼합투여군에서는 약간 감소하는 경향을 나타내었다.

3. 과산화지질의 함량변화는 DDVP 단독투여군과 synethrin과의 혼합투여군에서 유의성있는 증가를 나타내었다.

4. Glucose-6-phosphatase의 활성은 DDVP 및 synethrin 단독투여군에서는 약간 감소하는 경향이 있었으며 혼합투여군에서는 4주 및 5주에 유의성있

게 감소하였다.

5. Cholinesterase 활성은 DDVP 단독 투여군에서 유의성있게 감소하였으며 synethrin과의 혼합투여로 인해 더욱 감소하였다.

6. Ames 실험에서 synethrin 단독투여군은 음성으로 나타났으나 DDVP 단독 및 혼합투여군은 양성 결과 나타났었다.

REFERENCES

1. Ware, G.W.; Chemicals used in the control of invertebrates-animals without backbones, *In Pesticides, Theory and Application*, pp. 41-46 (1983)
2. Ramel, C., Drake, J. and Sugimura, T.; An evaluation of the genetic toxicity of Dichlorvos, *Mutation Res.*, **76**, 297-309 (1980)
3. Wright, A.S., Hutson, D.H. and Wooder, M.F.; The chemical and biochemical reactivity of Dichlorvos, *Arch. Toxicol.*, **42**, 1-18 (1979)
4. Lafontaine, A., Aerts, J. and Jacques, P.; Possible toxic carcinogenic, mutagenic and teratogenic effect of Dichlorvos, *Arch. Belg. Med. Soc.*, **39**, 159-174 (1981)
5. Hodgson, E. and Casida, J.E.; Mammalian

- enzymes involved in the degradation of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate, *J. Agr. Food Chem.*, **10**, **3**, May~June, 208-214 (1962)
6. Aldridge, W.N. and Holmstedt, B.; History and scope of the conference, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **49**, suppl. v, 3-6 (1981)
 7. Hutson, D.H., Hoadley, E.C. and Pickering, B. A.; The metabolic fate of [vinyl-1-¹⁴C] Dichlorvos in the rat after oral and inhalation exposure. *Xenobiotica*, **1**, 593-611 (1971)
 8. Page, A.C., Loeffler, J.E., Henderickson, H.R., Huston, C.K. and de Vries, D.M.; Metabolic fate of Dichlorvos in swine, *Arch. Toxicol.*, **30**, 19-27 (1972)
 9. Hutson, D.H. and Hoadley, E.C.; The metabolism of ¹⁴C-methyldichlorvos in the rat and the mouse, *Xenobiotica*, **2**, 107-116 (1972)
 10. Witherup, S., Jolley, W.J., Stemmer, K. and Pfitzer, A.E.; Chronic toxicity studies with 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate (DDVP) in dogs and rats including observation on rat reproduction, (Abstract No. 40) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **19**, 377 (1971)
 11. Blair, D., Dix, K.M., Hunt, P.F., Thorpe, E., Stevenson, D.E. and Walker, A.I.T.; Dichlorvos-a two year inhalation carcinogenesis study in rats, *Arch. Toxicol.*, **35**, 281-294 (1976)
 12. Wild, D.; Mutagenicity studies on organophosphorus insecticides, *Mutation Res.*, **32**, 133-150 (1975)
 13. Carere, A., Cardamone, G., Ortali, V. Bruzzone, M.L. and Di Giuseppe, G.; Mutational studies with some pesticides in *Streptomyces coelicolor* and *Salmonella typhimurium*, *Mutation Res.*, **36**, 136 (1976)
 14. Carere, A., Ortali, V.A., Cardamone, G. and Morpurgo, G.; Mutagenicity of Dichlorvos and other structurally related pesticides in *Salmonella* and *Streptomyces*, *Chem. Biol. Interact.*, **22**, 297-308 (1978a)
 15. Carere, A., Ortali, V.A., Cardamone, G., Torracca, A.M. and Raschetti, R.; Microbiological mutagenicity studies of pesticides in vitro, *Mutation Res.*, **57**, 277-286 (1978b)
 16. Bhan, A.K. and Kaul, B.L.; Cytogenetic activity of Dichlorvos in barley, *Indian J. Exp. Biol.*, **13**, 403-405 (1975)
 17. Sobels, F.H. and Todd, N.K.; Absence of mutagenic effect of Dichlorvos in *Drosophila melanogaster*, *Mutation Res.*, **67**, 89-92 (1979)
 18. Kramers, P.G. and Knaap, A.G.A.C.; Absence of mutagenic effect after feeding to larvae of *Drosophila melanogaster*, *Mutation Res.*, **57**, 103-105 (1978)
 19. Jayasuriya, V.U. and Ratnayake, W.E.; Screening of some pesticides on *Drosophila melanogaster* for toxic and genetic effects, *Drosophila Inform. Serv.*, **50**, 184-186 (1973)
 20. Ishidate, M.; *Ann. Rep. of the Cancer Research*, Ministry of Health and Welfare (Jap.), 750 (1976)
 21. Tezuka, H., Ando, N., Suzuki, R., Terahata, M., Moriya, M. and Shirasu, Y.; Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in cultured Chinese hamster cells treated with pesticides positive in microsomal reversion assays, *Mutation Res.*, **78**, 177-191 (1980)
 22. Nicholas, A.H., Vienne, M. and van de Berghe, H.; Sister-chromatid exchange frequencies in cultures human cells exposed to an organophosphorus insecticide: Dichlorvos, *Toxicol. Lett.*, **2**, 271-275 (1978)
 23. Buselmaier, W.G., Röhrborn, G. and Propping, P.; Mutagenitätsuntersuchungen mit Pestiziden im host-mediated Assay und mit dem dominant Letaltest an der Maus, *Biol. Zbl.*, **91**, 311-325 (1972)
 24. Dean, B.J. and Blair, D.; Dominant lethal assay in female mice after oral dosing with Dichlorvos or exposure to atmospheres containing

- Dichlorvos, *Mutation Res.*, **40**, 67-72 (1976)
25. Dean, B.J. and Thorpe, E.; Studies with Dichlorvos vapour in dominant lethal mutation tests on mice, *Arch. Toxicol.*, **30**, 51-59 (1972b)
 26. Epstein, S.S., Arnold, E., Andrea, J., Bass, W. and Bishop, Y.; Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **23**, 288-335 (1972)
 27. Riskallah, M.R., Abo-Elghar, M.R., Radwan, H. S.A., Nassar, M.E. and Abd-Elghfar; Effects of different synergists on the toxicities of fenvalerate and decamethrin to susceptible and pyrethroid-resistant larvae of *Spodoptera littoralis*, *Int. Pest Control*, March-April, 38-40 (1984)
 28. Metcalf, R.L.; Mode of action insecticide synergists, *Ann. Rev. Entomol.*, **12**, 229 (1967)
 29. El-Guindy, M.A., El-Refai, A.A. and El-Sattar, M.M.; The effect of synergised insecticides on the bollworm *Heliothis armigera*, *Int. Pest Control*, March-April, 36-38 (1980)
 30. Gullino, M.L. and Sisler, H.D.; Antagonism of ipradione toxicity to *Botrytis cinerea* by mixed function oxidase inhibitors, *Pestic. Sci.*, **17**, 143-149 (1986)
 31. Cinti, D.L., Moldeus, P. and Schenkman, J.B.; Kinetic parameters of drug metabolizing enzymes in Ca⁺⁺-sedimented microsomes from rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, **21**, 3249-3256 (1972)
 32. Omura, T. and Sato, R.; The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes, *J. Biol. Chem.*, **239**, 2370-2378 (1964)
 33. Carlson, P. and Schoenig, G.P.; Induction of liver microsomal NADPH-cytochrome c reductase, cytochrome P-450 by some new synthetic pyrethroids, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 502-512 (1980)
 34. 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)
 35. Matsubara, T., Koike, M., Touchi, A., Tochino, Y. and Sugeno, K.; Quantitative determination of cytochrome P-450 in the rat liver homogenate, *Analytical Biochemistry*, **75**, 596-603 (1976)
 36. Masters, B.S.S., Williams, Jr., C.H. and Kamin, H.; The preparation and properties of microsomal TPNH-cytochrome c reductase from pig liver, *In Methods in Enzymology* (edited by Estabrook, R.W. and Pullman, M.E.), Academic Press, New York, **10**, pp. 565-573 (1967)
 37. 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)
 38. 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)
 39. 大石誠子; 過酸化脂質測定法, *最新醫學*, **33**, 660 (1966)
 40. 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)
 41. Fiske, C.H. and Subbarow, Y.; The colorimetric determination of phosphorus, *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-400 (1925)
 42. Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, Jr., V. and Featherstone, R.M.; A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 88-95 (1961)
 43. 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)
 44. Maron, D.M. and Ames, B.N.; Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, *Mutation*

- Res.*, **113**, 173-215 (1983)
45. Levin, D.E., Hollstein, M., Christman, M.F., Schwiers, E.A. and Ames, B.N.; A new *Salmonella* tester strain (TA 102) with A.T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 7445-7449 (1982)
 46. Levin, D.E., Hollstein, M., Christman, M.F. and Ames, B.N.; Detection of oxidative mutagens with a new *Salmonella* tester strain (TA 102), *In Methods in Enzymology*, **105**, 249-254 (1984)
 47. Levin, D.E., Yamasaki, E. and Ames, B.N.; A new *Salmonella* tester strain, TA 97, for the detection of frameshift mutagens, *Mutation Res.*, **94**, 315-330 (1982)
 48. Venitt, S., Crofton-Sleigh, C. and Forster, R.; *Mutagenicity Testing, A Practical Approach* (edited by Venitt, S. and Parry, J.M.), IRL Press, Oxford, pp. 48-84 (1984)
 49. Hussain, S.S., Rao, J.V., Aziz, A., Jabeen, Q. and Mustafa, M.; Acute inhalation toxicity of Dichlorvos to albino rats, *Int. Pest Control*, **24**, **3**, p. 64, 66, 74 (1982)
 50. Murphy, S.D.; Toxic effects of pesticides, *In Casarett and Doull's Toxicology* (edited by Klaassen, C.D., Amdur, M.O. and Doull, J.) Macmillan Pub. Co., New York, pp. 519-581 (1986)
 51. *Handbook of Toxicology*, Vol. III, Insecticides, National Academy of Sciences, W.B. Saunders Company (1959)
 52. Snow, D.H., B.V. Sc., B. Sc. (Vet), and Watson, A.D.J., B.V.Sc., M.R.C.V.S.; The acute toxicity of Dichlorvos in the dog, *Aust. Vet. J.*, **49**, 113-119 (1973)
 53. Srivastava, A.K., Raina, R. Chaudhary, R.K. and Malik, J.K.; Acute toxicity and biochemical alterations in rats after single oral exposure to Dichlorvos, *Pesticides*, **23**(2), 35-40 (1989)
 54. Enan, E.E.; Comparative biochemical effects of three aliphatic organophosphorus insecticides on white rats, *Int. Pest Control*, **25**, 42-44 (1983)
 55. Cornish, H.H., Barth, M.L. and Dodson, V.N.; Isozyme profiles and protein patterns in specific organ damage, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **16**, 411-423 (1970)
 56. Omkar and Shukla, G.S.; Nature of Dichlorvos intoxication in a freshwater prawn, *Macrobrachium lamarrei*, *Environ. Res.*, **37**, 349-354 (1985)
 57. Kuliszewska, K.T. and Szymczyk, T.; Changes in rat carbohydrate metabolisms after acute and chronic treatment with Dichlorvos, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **47**, 323-330 (1979)
 58. Hansch, C.; The use of homolytic, steric and hydrophobic constants in a structure-activity study of 1,3-benzodioxole synergists, *J. Med. Chem.*, **11**, 920-924 (1968)
 59. Hennessy, D.J.; Hydride-transferring ability of methylenedioxy-benzenes as a basis of synergistic activity, *J. Agr. Food Chem.*, **13**, 218-220 (1965)
 60. Wilkinson, C.F.; Insecticide synergists and their mode of action, *Proc. Int. Congr. Pestic. Chem.*, 2nd 1971, 117-159 (1971)
 61. Yamamoto, I.; Mode of action of synergists in enhancing the insecticidal activity of Pyrethrum and Pyrethroids, *In Pyrethrum-the natural insecticide* (edited by Casida, J.E.), Academic Press, New York, pp. 195-210 (1973)
 62. Vadhva, P. and Hasan, M.; Organophosphate Dichlorvos induced dose-related differential alterations 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)
 63. Tappel, A.L.; *Fed. Proc.*, **29**, 239 (1970)
 64. Feuer, G., Golberg, L. and Le pelley, J.R.; Liver response tests, I. Exploratory studies on glucose-6-phosphate and other liver enzymes, *Food*

- Cosmet, Toxicol.*, **3**, 235-249 (1965)
65. Grice, H.C.; The changing role of pathology on modern safety evaluation, *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **1**, 119-152 (1979)
66. Ehrich, M. and Cohen, S.D.; Effect of Dichlorvos on mouse liver glutathione levels and lack of potentiation by methyl iodide and TOTP, *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 997-1000 (1977)
67. Reiner, E. and Plestina, R.; Regeneration of cholinesterase activities in human and rats after inhibition by 0,0-dimethyl-2,2-dichlorovinyl phosphate, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **49**, 451-454 (1979)
68. Cohen, S.D. and Ehrich, M.; Cholinesterase and carboxylesterase inhibition by Dichlorvos and interaction with malathion and triorthotolyl phosphate, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **37**, 39-48 (1976)
69. Löfroth, G.; Alkylation of DNA by Dichlorvos, *Naturwissenschaften*, **57**, 393-394 (1970)
70. Ashwood-Smith, M.J., Trevino, J. and Ring, R.; Mutagenicity of Dichlorvos, *Nature*, **240**, 418-419 (1972)
71. Bridges, B.A., Mottershead, R.P., Green, M.H.L. and Gray, W.J.H.; Mutagenicity of Dichlorvos and methyl methanesulphonate for *E. coli* WP₂ and some derivatives deficient in DNA repair, *Mutation Res.*, **19**, 295-303 (1973)
72. Buselmaier, W., Röhrborn, G. and Propping, P.; Comparative investigations on the mutagenicity of pesticides in mammalian test systems, *Mutation Res.*, **21**, 25-26 (1973)
73. Dyer, K.F. and Hanna, P.J.; Comparative mutagenic activity and toxicity of triethylphosphate and Dichlorvos in bacteria and drosophila, *Mutation Res.*, **21**, 175-177 (1973)
74. Voogd, C.E., Jacobs, J.J.J.A.A. and van der Stel, J.J.; On the mutagenic action of Dichlorvos, *Mutation Res.*, **16**, 413-416 (1972)
75. Wild, D.; Chemical induction of streptomycin-resistant mutations in *E. coli*: dose and mutagenic effects of Dichlorvos and methyl-methane sulphonate, *Mutation Res.*, **19**, 33-41 (1973)
76. Fahrig, R.; Demonstration of genetic activity of organophosphorus insecticides, *Naturwissenschaften*, **60**, 50-51 (1973)
77. Hanna, P.J. and Dyer, K.F.; Mutagenicity of organophosphorus compounds in bacteria and drosophila, *Mutation Res.*, **28**, 405-420 (1975)