

Xylazine과 그 대사산물의 조직내 분포

박 혜 영

이화여자대학교 약학대학

TISSUE CONCENTRATION OF XYLAZINE AND ITS METABOLITES IN RATS

Hea-Young P. Choo

Ewha Womans University, School of Pharmacy, Seoul 120-750, KOREA

(Received May 19, 1993)

(Accepted June 24, 1993)

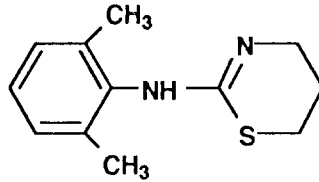
ABSTRACT: Xylazine has been used as tranquilizer for food producing animals. The concentration of xylazine and its metabolites in major organs are determined for the safety of meat. Xylazine was eliminated very rapidly as reported and not detected after 10 hrs in organs. However p-hydroxyxylazine, a main metabolite of xylazine in urine, was detected in liver in the concentration of 0.37~2.58 mg/g tissue to 48 hrs. 2,6-Dimethylisothiocyanate, another metabolite of xylazine and a possible toxicant, was detected in low concentration to 2 hrs in liver, kidney and muscle. This metabolite distributed in organs easily because of its higher lipophilicity than p-hydroxylated metabolite.

Key Words: Xylazine, p-hydroxyxylazine, 2,6-dimethylphenylisothiocyanate, tissue concentration

서 론

Xylazine (아래구조)은 소, 양 등 가축에 쓰이는 tranquilizer로서 진정, 수면, 근이완 등의 작용을 보인다. 유럽에서는 도축장으로 가축운반시 널리 쓰여지고 있으며, 국내에서는 가축 뿐만 아니라 경주용 말에도 남용되는 일이 있어 주목받는 약물이다. 육류, 우유 등에 잔류하는 xylazine의 검출이 유럽에서 많이 연구되었으나, xylazine은 대사 및 배설이 아주 빠르게 일어나므로, 감도 높은 여러가지 분석방법을 써도 24시간 이후에는 검출되지 않았다(Courtot 등, 1974; Laitem 등, 1978; Alvinerie 등, 1981; Rostard 등, 1981). 그러나 xylazine의 대사산물의 잔류 여부는 거의 알려지지 않았는데 이것은 그 대사과정이 잘 밝혀지지 않았기 때문이다. Xylazine대사물로는 2,6-dimethylaniline만이 알려졌었고(Putter와 Sagner, 1973) 최근에는 p-hydroxyxylazine

및 2,6-dimethylphenylisothiocyanate가 대사물로 확인되었다(Choo와 Choi, 1991). 특히 최근에 알려진 대사산물 중 2,6-dimethylphenylisothiocyanate는 독성을 가질 수 있으므로 xylazine 대사물의 조직 내 분포를 측정하여 육류의 안전도를 다시 한번 확인하고자 한다.



재료 및 방법

시약

Xylazine hydrochloride는 Bayer사 (서울)제품을 구입하였으며, p-hydroxyxylazine과 2,6-dimethylphenylisothiocyanate는 문헌방법으로 합성하였다(Choo와 Choi, 1991; Elliott와 Ruehle, 1986).

약물투여 및 재료채취

Xylazine hydrochloride 2% 용액을 몸무게 200~250 g의 웅성 흰쥐(Sprague-Dawley계)에게 20 mg/kg씩 경구투여하였다. 약물투여 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간, 6시간, 10시간, 24시간, 48시간 및 72 시간 뒤에 동물을 ether로 마취시킨 다음 혈액과 장기를 채취하였다. Control 군의 경우에는 약물대신 증류수를 경구투여하였으며, 모든 실험은 3회씩 반복 하였다.

조직 중 약물추출방법

약물추출방법은 Laitem 등의 방법(Laitem 등, 1978)을 변형하여 사용하였다. 신장(전체), 대퇴부 근육(2 g), 간(5 g)을 적출하여 각 조직에 internal standard로 trifluoperazine (100 ppm, 20 ml) 및 acetone: 1N H₂SO₄ (10 : 1) 용액 10 ml를 넣은 다음 분쇄시켜서 20분간 흔들어 주었다. 이 혼합액을 1500×g에서 5분간 원심분리시켜 상등액을 취하였다. 상등액의 acetone을 rotary evaporator에서 날려 보낸 다음 물 5 ml를 넣고 1N NaOH를 써서 용액의 pH를 9.6±0.1로 맞춘다. 이 용액을 n-pentane: isopropanol (97 : 3) 혼합액으로 5 ml씩 3번 추출한 다음 유기층을 날려보냈다. 남은 잔사를 20 μl methanol에 녹여서 1 ml씩 GC에서 분석하였다. 간 시료만은 마지막 과정에서 잔사를 methanol 400 ml에 녹였다.

혈액 중 약물추출법

Plasma 1 ml를 취하여 trifluoperazine (100 ppm, 10 ml)를 internal standard로 가한 다음 1N NaOH를 써서 pH 9.6±0.1로 맞춘다. 이 용액을 n-pentane: iso-propanol (97 : 3) 혼합액 2 ml씩으로 3번 추출한 다음 유기층을 취하여 용매는 날려 보냈다. 잔사에 methanol 25 μl를 넣어 잘 녹여서 1 ml씩 GC에서 분석하였다.

Calibration

Xylazine, 2,6-dimethylaniline, 2,6-dimethylphenylisothiocyanate 및 p-hydroxyxylazine 표준물질들을 조직 및 혈액에 1~100 mg/kg되게 넣어준 다음, 시료와 똑같은 방법으로 추출하였다.

분석기기

Gas Chromatograph는 Hewlett-Packard 5890으로 nitrogen-phosphorus detector를 장착하

였다. 분석은 5% phenylmethylsilicon capillary column (길이 25 m, 내경 0.2 mm, film thickness 0.33 mm)을 이용하였다. Carrier gas는 질소를 사용하였으며 유속은 1 ml/min이었다. 시료는 split mode로 주입되었으며 split ratio는 1 : 10이었다. 주입기의 온도는 280°C, 검출기의 온도는 300°C 였으며 column 온도는 100°C 에서부터 시작하여 분당 20°C 씩 올려 300°C 에서 10분간 머물렀다. GC/MS는 Hewlett-Packard 5890/5970 B를 사용하였다.

결 과

Xylazine, 2,6-dimethylaniline, 2,6-dimethylphenylisothiocyanate 및 p-hydroxyxylazine의 calibration curve는 좋은 직선성을 보여주었으며 ($R > 0.98$), 약물 추출과정에서의 회수율은 50~80%이었다.

혈액중 xylazine의 농도는 10분 시료에서 12.25 mg/g으로 가장 높게 나타났으며, 시간에 따라

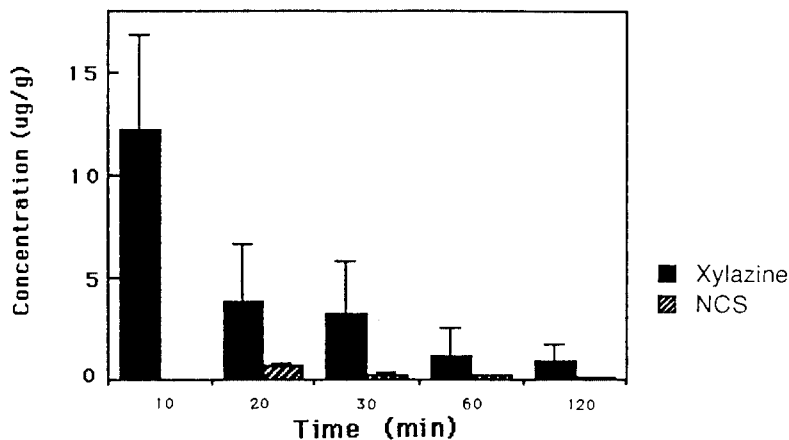


Figure 1. Concentration of xylazine and 2,6-dimethylphenylisothiocyanate (NCS) in blood.

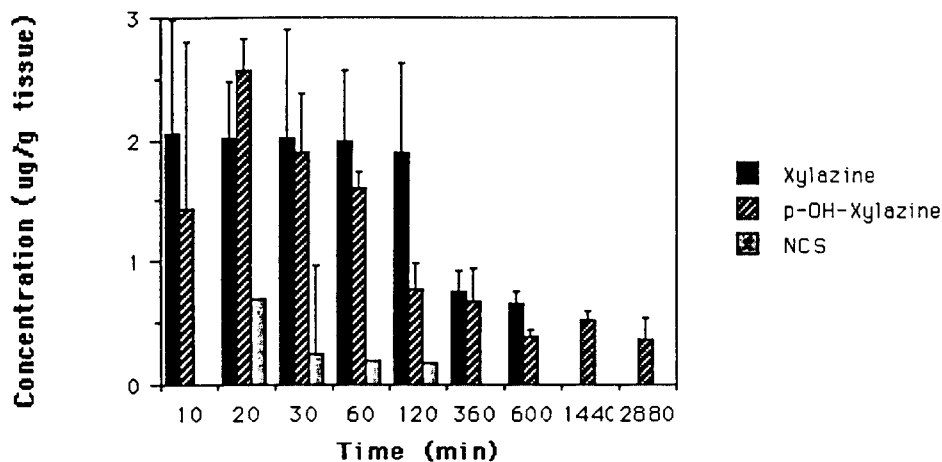


Figure 2. Concentration of xylazine, p-hydroxyxylazine and 2,6-dimethylphenylisothiocyanate in liver.

감소되어 6시간 시료부터는 검출되지 않았다.(Figure 1) 대사산물로는 0.69~0.12 mg/g의 2,6-dimethylphenylisothiocyanate가 1시간까지 검출되었으며, 그량은 시간에 따라 감소되었다. 이외에 극소량의 2,6-dimethylaniline가 20~30분 시료에서 검출되었다.

간에서 xylazine의 농도는 혈액보다 훨씬 낮았으나 10시간 시료 까지 검출되었다. 그러나 대사물인 p-hydroxyxylazine은 2.58~0.37 $\mu\text{mg/g}$ 의 농도로 48시간까지 검출되었다. 이외에 소량의 2,6-dimethylphenylisothiocyanate도 2시간까지 검출 되었다(Figure 2).

신장에서는 xylazine이 시간에 따라 점점 줄어드는 추세를 보이면서 10시간까지 검출되었고 소량의 2,6-dimethylphenylisothiocyanate도 2시간까지 검출되었다.

Figure 4에는 근육에서 검출된 xylazine과 2,6-dimethylphenylisothiocyanate의 량을 표시하였다. 근육에서도 xylazine은 10시간까지 검출되었다.

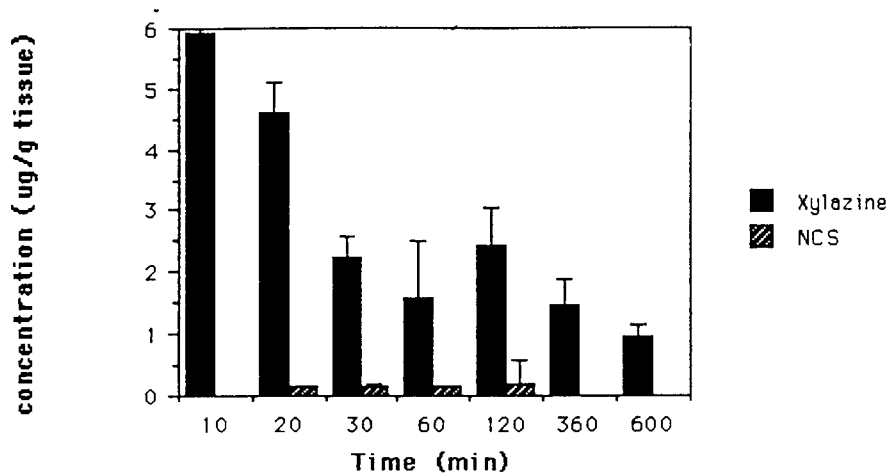


Figure 3. Concentration of xylazine and 2,6-dimethylphenylisothiocyanate in kidney.

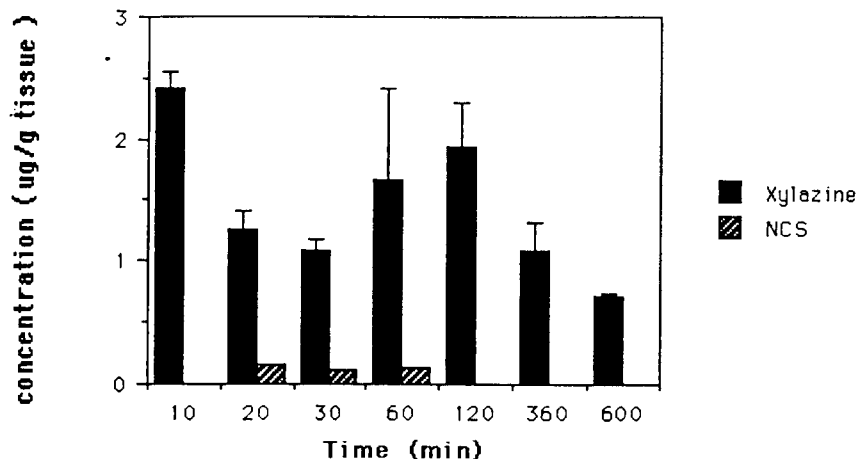


Figure 4. Concentration of xylazine and 2,6-dimethylphenylisothiocyanate in muscle.

각장기의 30분 시료 속에 존재하는 xylazine 및 대사물질은 GC/MS 에서 표준물질과 비교 확인하였다. Xylazine 대신 증류수를 투여한 control 군에서는 위의 물질들이 전혀 나타나지 않았다.

고 찰

Xylazine은 plasma에서 약물투여 12~14분 후에 최고농도에 달하며 반감기가 20~30 분으로, 흡수 및 대사가 아주 빠른 약물이다(Garcia-Villa 등, 1981). 그러므로 육류·우유를 생산하는 가축에도 xylazine의 사용이 안전한 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 xylazine은 혈액뿐만 아니라 간, 신장, 근육에서 10분 시료에서 가장 높은 농도를 보였으며, 점점 농도가 떨어져 2~10 시간 뒤에는 거의 검출할 수 없었으므로 위의 결과와 잘 일치하였다. 그러나 식품의 안전도를 확인 하기 위하여는 xylazine 이외에 그 대사물의 잔류도 확인 되어야 할 것이다. Xylazine은 체내에서 대사를 빨리, 그리고 많이 받는다는 것이 방사선 동위원소로 치환된 xylazine의 실험(Duhm 등, 1969)에서 보고 되었었는데 본 실험에서도 대사산물들이 10~20분에 이미 각 조직에 분포되어 있는 것을 볼 수 있었다. 즉 Xylazine의 대사물 중 가장 먼저 알려졌던 2,6-dimethylaniline은 혈액에서 아주 낮은 농도로 20~30분 시료에서 감지되었다. 이 물질은 뇨에서도 확인 되었으나 다른 장기에서는 확인되지 않았다. 한편 뇨에서는 p-hydroxyxylazine이 glucuronide 또는 sulfate로 포함된 다음 주된 대사산물로 배설되었다. 그러나 이 대사물은 혈액, 신장, 근육에서는 전혀 발견되지 않았으며, 간에서는 포함되지 않은 형태로 다량 48시간 시료까지 확인되었다. 그러므로 p-hydroxyxylazine이 간에서 생성된 다음 대부분 간에 잔류하고 있으면서 glucuronide나 sulfate로 포함되면 뇨로 배설되는 것으로 사료된다. 특히 이 물질은 수산화기 때문에 극성이 커져서 다른 조직으로 이동되지 못하는 것으로 추정된다. 이와는 대조적으로 또다른 대사물로 확인된 2,6-dimethylphenylisothiocyanate는 간 뿐만 아니라 혈액, 신장, 근육에서 발견 되었다. 이것은 isothiocyanate기의 지용성이 크기 때문에 여러 조직으로 용이하게 분포되어 나가는 것으로 사료된다.

그러나 체내 대사에 의하여 isothiocyanate기가 생성되는 일은 흔하지 않으므로 주목할만 하다. Isothiocyanate와 thiol과의 반응은 생체내에서 쉽게 가역적으로 일어나는 것이 알려져 있으므로(Bruggeman 등, 1986) xylazine구조의 1,3-thiazine ring이 가수분해되어 isothiocyanate가 생성되는 것으로 추정할 수 있으나 연구를 요한다. 특히 isothiocyanate기를 가진 물질에는 비교적 독성이 큰 물질이 많다. Methyl-isothiocyanate, ethylthiocyanate 등 간단한 isothiocyanates가 농약, 독가스 등으로 쓰여지고 있는 만큼 독성이 아주 강력하다(Ten Berge, 1985). 겨자씨에서 얻어지는 allylisothiocyanate도 화학무기로도 쓰여지며, 생체에서 방광암을 일으키는 것이 밝혀져 있다(Tenmink 등, 1986). Phenylisothiocyanate의 경우 hypothyroid effect가 있고 또 심장, 간, 신장 체장 부신 등에 분포되어 독성을 나타냄이 발표되었다(Speijers 등, 1985). 1-Naphthyl-isothiocyanate도 간독성을 갖는 것이 알려져 있다(Capizzo와 Roberts, 1971). 그 외에도 isothiocyanate기를 갖는 amoscanate, bitoscanate, nitroscanate 등이 동물의 구충제로 쓰여지고 있으나 mutagenicity가 있는 것으로 발표되었다(Reddy 등, 1982). 그러므로 2,6-dimethylphenyl-isothiocyanate의 독성은 아직 밝혀지지 않았으나 isothiocyanate기를 가진 만큼 독성이 있을 것으로 추정된다.

결론적으로 xylazine 와 대사물질들이 대부분 빨리 체내에서 소실되므로 가축에 투여한 다음 충분한 시간(48 시간) 후에 도살할 경우 잔존하는 xylazine과 대사물은 거의 없을것으로 확인 되었다. 그러나 간의 경우에는 48시간까지도 p-hydroxyxylazine이 다량 존재하므로 식품안전도에 문제가 될 수 있다. 또한 p-hydroxyxylazine 및 2,6-dimethylisothiocyanate 의 독성에 대한 평가도 필요하리라 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 이화여자대학교 약학연구소 연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Alvinerie, M. and Tautqin, P.C. (1981): Determination of xylazine in plasma using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* **222**, 308-310.
- Bruggeman, I.M., Temmink, J.H.M. and Van Blaaderen, P.J. (1986): Glutathion- and cystein-mediated cytotoxicity of allyl and benzylisothiocyanate. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **83**, 349-359.
- Capizzo, R. and Roberts, R.J. (1971): a-Naphthylisothiocyanate (ANIT)-induced hepatotoxicity and disposition in various species. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **19**, 176-187.
- Choo, H-Y. P. and Choi, S.O. (1991): The metabolism of xylazine in rats. *Arch. Pharm. Res.* **14**, 346-351.
- Courtot, D., Blanchard, E. and Fischer, N. (1974): Method of estimating xylazine by gas chromatography, *Ann. Rech. Vet.* **5**, 101-107.
- Duhm, B.W., Maul, W., Medenwald, H., Pitzschke, K. and Wagner, A. (1969): Untersuchungen mit radioaktiv markierten Bay Va 1470 an Ratten. *Munch. tierarztl. Wschr.* **82**, 104-109.
- Elliott, R.L. and Ruehle, P.H. (1986): Process for the production of xylazine. **U.S. Patent** 4, 614, 798.
- Garcia-Villa, R., Toutain, P.L., Alvinerie, M. and Ruckebusch, R. (1981): The pharmacokinetics of xylazinehydrochloride; an interspecific study, *J. Vet. Pharmacol. Therp.* **4**, 87-92.
- Laitem, L. Bello, I. and Gaspar, P. (1978): Gas chromatographic determination of tranquillizer residues in body fluids and in the meat of slaughtered animals. *J. Chromatogr.*, **156**, 327-329.
- Putter, J. and Sagner, G. (1973): Chemical studies to detect residues of xylazine hydrochloride. *Vet. Med. Rev.* **73**, 145-159.
- Reddy, B.S., Batzinger, R.P., Molineaux, C.T. and Beuding, E. (1982): Conversion of amoscantate to mutagenic metabolite in gnotobiotic mice implanted with streptococcus equinus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **22**, 707-708.
- Rostad, A. and Yndestad, M. (1981): Analysis of xylazine in biological material by gas chromatography using packed and capillary columns. *J. Chromatogr.* **216**, 350-354.
- Speijers, G.J., Danse, L.H.J.C., Van Leeuwen, F.X.R. and Loeber, J.G. (1985): Four-week toxicity study of phenylisothiocyanate in rats. *Fd. Chem. Toxic.* **23**, 1015-1017.
- Ten Berge, W.F. (1985): the toxicity of methylisocyanate for rats. *J. Hazard Mater.* **12**, 309-311.
- Tenmink, J.H.M., Bruggeman, I.M., Van Balderen, P.J. (1986): Cytomorphological changes in liver cells exposed to allyl and benzyl isothiocyanate and their cysteine and glutathionne conjugates. *Arch. Toxicol.* **59**, 103-110.