

Carbamate 中毒에 대한 甘草, 黑豆 抽出液의 豫防效果에 관한 研究

申一淳 · 閔庚鎭 · 姜會洋

啓明大學校 自然科學大學 公衆保健學科

A Study on the Preventive Effect of Extract of Glycyrrhizae Radix and Glycine Semen on NAC Intoxication

Il Soon Shin, Kyung Jin Min and Hoe Yang Kang

Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University

ABSTRACT

This study aimed at evaluating the preventive effect of Glycyrrhizae Radix and Glycine Semen Extract (GGE) against NAC intoxication. NAC is widely used pesticide in many countries and derivative of carbamats and GGE is well-known antidote to some kinds of toxicants which was referenced from oriental medicine text.

The results obtained were as follows :

- 1) After injecting NAC (100,140 mg/kg), determined Ch.E activities decrease 44.77~50.86% for all experimental groups at one hour after exposure, and were gradually recovered in the course of time.
- 2) In toxicity test of GGE, there were no sign of death or poisoning up to 5000 mg/kg of GGE for p.o. in mice. From this, we suggest that the LD₅₀ of GGE would be above 5000 mg/kg.
- 3) The Ch.E activity in control group was 471.43±4.85 IU/l, group I was 215.27±23.13 IU/l, group II and group III were 304.03±9.03 IU/l, 433.81±21.73 IU/l, respectively. Compare to the control group with experimental group I, remarkable difference revealed (p<0.01), but the Ch.E activities of group II and III were similar to those of control group. This is indicate that GGE possess a potent activity of recovering Ch.E. GGE had a very remarkable preventive effect on NAC toxicity, and it was able to know that Ch.E activity dramatically increased according to GGE dosage increasing.
- 4) When GGE and NAC were administered by p.o. simultaneously, LD₅₀ and confidence intervals of each group were as follows: the control group : 270 mg/kg, 234.99~310.23 mg/kg, group I and II (GGE 500 mg/kg, 1000 mg/kg by p.o.) : 310 mg/kg, 271.69~353.71 mg/kg, and 325 mg/kg, 285.09~370.50 mg/kg, respectively. In the comparison with the control group, the protective index was 1.1 and 1.2, respectively.

From the above result, GGE has reactivation effect to decreasing Ch.E activity induced by exposure to NAC. Furthermore, GGE shows a preventive effect on NAC intoxication.

Keywords : Glycyrrhizae radix, glycine semen, NAC intoxication, Ch.E activities, toxicity test

I. 序 論

人口가 增加함에 따라 農産物 自給自足を 위한

食糧増産의 必要性이 매우 커지고 있는 實情에서, 農作物을 病蟲으로부터 保護하고 農業의 生産性を 增大시키기 위해 使用되는 農藥의 消費量이 增加하

는 것은 當然한 趨勢라 하겠다.¹⁾

農藥의 使用量은 全世界의 1975년 以後 每年 5%씩 增加하여 現在 2백여만톤에 이르고 있으며, 우리나라에서는 1986년까지 급격히 增加한 後 그 水準을 維持하여 1990년 현재의 農藥 生産量은 23,317 M/T이었다.²⁾

이와 같이 農藥에서 農藥使用의 一般化는 農藥의 誤用과 過용으로 인해 食品의 汚染에서부터 人體와 生態界 등 自然環境에 미치는 影響에 關하여 많은 憂慮와 關心의 對象이 되어왔다.^{3) 5)}

1938년 Paul Muller 등에 의해 DDT의 殺蟲力이 發見된 以來, 有機鹽素系 殺蟲劑는 優秀한 殺蟲力과 廣範圍한 害蟲防除 및 低廉한 生産費와 容易한 取扱의 利點에다가 化學的인 安定性과 殘留性이 길며, 人畜에 대한 急性中毒이 比較的 낮은, 多様な 種類의 製劑를 만들 수 있다는 長點으로 多量 使用되었으나, 1960년대 初盤부터 일기 시작한 殘留毒性 問題로 1970년대 以後에는 一部를 除外하고 使用이 禁止되었다.^{2,4)}

그 以後 毒性이 比較的 약한 農藥들이 繼續 開發되어 使用되고 있으나 低毒性 農藥이라 할지라도 人體에 充分히 中毒을 일으킬 수가 있어서 실제로 1970년대 農村住民들의 農藥中毒 經驗率은 30~40%에 달했고 1980년대 調査에서도 20% 이상의 經驗率을 보이고 있다.²⁾

現在 使用되는 農藥의 用途別로는 殺蟲劑, 殺菌劑, 除草劑, 補助劑, 植物生長 調整劑, 살서제가 있으며, 殺蟲劑의 成分別로는 砒素劑, 弗素劑, 植物性 殺蟲劑, 鐵油乳劑, 알칼리제, 有機鹽素系 殺蟲劑, 浸透性 殺蟲劑, 有機磷劑, 카르바메이트제, 燻蒸劑, 殺線蟲劑, 粘着劑 등이 있다.⁴⁾

近來에는 有機磷劑 農藥과 카르바메이트제 農藥을 주로 使用하는데 이 두 種類의 農藥은 人體에 대한 毒性作用 機轉이 類似하다.²⁾

특히 카르바메이트계 殺蟲劑는 有機磷劑 및 有機鹽素劑 등이 急性 및 慢性中毒과 殘留性 등의 公害問題 때문에 그 使用이 制約되고 있는데 비해서 카르바메이트계 化合物은 溫血動物 및 魚類 등에 대한 毒性 및 人體에 대한 毒性이 작은 점과 化學的으로 安定하여 體內에서 빨리 代謝되므로 有機鹽素系처럼 家畜의 體內에 蓄積되어 慢性中毒을 일으킬 念慮가 적으며 또한 實用化된 時日이 짧으므로 抵抗性 害蟲이 아직 發見되어 있지 않은 長點으로 인해 殺蟲劑로서 脚光을 받고 있다.^{6,36)}

殺蟲劑로서 카르바메이트제의 開發은 1952년 스위스의 Gysin에 의한 것이며 Geigy社에서 Pyrolan,

Isolan, Dimetan의 商品名을 가지고 진딧물, 파리防除用으로 市販하였으나, 人畜에 대한 毒性때문에 널리 普及되지 못했고, 1958년에 美國의 U.C.C.社에서 Sevin劑를 發賣하게 되었다.^{4,6)}

이 藥의 毒性作用 機轉은 Acetylcholine을 分解시키는 Cholinesterase(以下는 Ch.E)의 作用을 阻害시켜서 神經傳達體系에 異常이 생기고 生理作用이 원활히 이루어지지 않음으로 해서 死亡까지 이를 수가 있다.^{4,7)}

카르바메이트제의 中毒症狀은 눈물, 침분비, 細胞의 감수분열, 痙攣, 死亡 등의 全形的인 콜린(Choline) 中毒을 보이며, 診斷은 血清속의 Ch.E 活性值을 測定하여 活性值 感度에 의해 中毒의 輕重을 診斷한다.^{4,8,36)}

有機磷系 殺蟲劑의 解毒劑로서 아트로핀(Atropine sulfate)과 퀴(Pyridine Aldoximes)이 使用되고 있으나 Atropine은 蓄積된 Acetylcholine을 抑制하는 程度이고 Pyridine Aldoximes은 Quaternary Salts 構造여서 中樞神經系를 쉽게 透過할 수 없는 短點을 가지고 있으며 무엇보다 아트로핀과 퀴 모두 中毒을 豫防할 수 없는 것으로 알려져 있다.^{9) 11)}

그러나 現在 많이 使用되고 있는 카르바메이트계 殺蟲劑의 解毒劑 및 中毒 豫防劑는 開發되지 않은 實情으로 이와 같이 毒性이 강한 化合物에 대한 解毒 豫防效果가 있는 藥物은 거의 없는 形勢에서¹²⁾ 低毒性이며 效果가 있는 化合物의 開發도 時急하지만, 有毒 化合物로부터 解毒效果가 있으면서 毒性이 없고 쉽게 服用할 수 있는 天然藥物 開發의 必要性이 더욱 切實하다.

따라서 本 研究은 우리 주위에서 比較的 쉽게 구할 수 있는 生藥 중에 “百藥의 毒을 解하고 諸藥을 和한다”^{13,14)}고 한 甘草와 黑豆을 利用하여 카르바메이트계 化合物의 毒性을 效果的으로 減少시킬 수 있는가를 糾明하고, 毒性이 강한 化合物 中毒의 豫防法을 모색하여 農村住民의 健康을 保護하고 解毒效果가 있는 天然藥物 研究의 一環으로 本 研究에 着手하게 되었다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物 및 材料

(1) 實驗動物

體重 20~25 g의 ICR系 雄性 mouse를 市販飼料로 2週間 飼育해서 實驗室 環境에 適應시켜 使用하였으며, 實驗期間동안 固形飼料와 물을 充分히 供給하였다.

(2) 機器 및 試藥

實驗에 使用한 機器로는 HPLC(Spectra-Physis, SP8800), UV visible Spectrophotometer(Varian, DMS200), Rotary Vacuum Evaporator(Rikakikai, NE-IS) 및 實驗室에서 使用하는 一般機器를 使用하였으며, 試藥으로는 Cholinesterase 測定用 kit (IATRON)와 그의 一般試藥들은 市販되는 特級品을 購入하여 使用하였다.

(3) 材料

1) 甘草, 黑豆 Extract

本 實驗에서 使用한 藥劑는 韓藥規格集¹⁵⁾에 의거, 市中에서 購入하여 精選한 것을 使用하였고 그 內容과 分量은 既存漢醫書^{13, 14)}에 準하였으며 조성은 다음과 같다.

| | |
|--|---------|
| 甘草 Glycyrrhizae Radix (Glycyrrhiza Uralensis Fisch) | 18.75 g |
| 黑豆 Glycine Semen (Glycine max(L.) Mean) | 18.85 g |
| 總量 | 37.5 g |

2) 實驗農藥

本 實驗에서 使用한 農藥은 現在 國內에서 市販되는 Carbamate系 NAC水和劑(한농 주식회사)로 그 조성은 1-naphthyl N-methylcarbamate 50%, 界面活性劑 및 增量劑 50%였다.

2. 實驗方法

(1) 試料(甘草, 黑豆 Extract)의 調製

甘草, 黑豆 37.5 g을 5000 ml Round flask에 蒸溜水 2000 ml를 함께 넣어 冷却器를 附着시키고 回轉減壓 蒸發機를 使用하여 100℃에서 3시간 동안 加熱하여 1300 ml를 얻었다. 上淸液 1250 ml를 取合하여 高速濃縮機를 利用하여 80℃ 水浴上에서 濃縮하여 100 ml를 얻었다. 이 濃縮된 製劑를 冷凍 보관한 後 使用할 때마다 蒸溜水에 稀釋하여 原液으로 使用하였다.

(2) NAC에 의한 Cholinesterase 活性值 變化實驗

NAC의 投與量을 設定하고 時間에 따른 Ch.E 活性의 推移를 觀察하기 위하여, NAC 100 mg/kg 및 140 mg/kg을 各各 經口投與한 後 時間의 經過에 따라 Ch.E 活性值를 測定하였다. 즉 實驗 2개군과 對照群으로 나누어 實驗群은 NAC 100 mg/kg과 140 mg/kg을 Corn oil에 溶解시켜 經口投與했고, 對照群은 Corn oil만 經口的으로 投與했다. 그리고 NAC 投與 後 各各 0.5時間, 1時間, 2時間 및 3時間에서 Ch.E 活性值를 測定하기 위해서 心臟에서 血液을 採取하였다.

(3) HPLC에 의한 試料(甘草, 黑豆 Extract)中 Glycyrrhizin 定量

甘草인 指標物質인 Glycyrrhizin 定量法으로 國立保健院의 生藥試驗 方法集¹⁶⁾이 있으며 이를 利用하여 試料 Extract 中의 Glycyrrhizin 含量을 구했다.

(4) 甘草, 黑豆 Extract의 毒性實驗

甘草, 黑豆 Extract의 毒性(LD₅₀)을 評價하기 위하여 試料投與 可能한 最大量인 5000 mg/kg을 mouse에 經口投與하였으며, 投與時 動物은 試料投與 24時間 前에 飼料의 供給을 中斷하였다.

(5) 甘草, 黑豆 Extract의 豫防效果實驗

甘草, 黑豆 Extract를 投與한 後 1時間뒤에 NAC를 投與하고 그 後 1時間뒤에 Ch.E 活性值 回復率을 測定하였다. 먼저 mouse를 實驗 3개群과 對照群으로 나누는 다음 다시 實驗群 I群은 NAC 140 mg/kg을 Corn oil에 溶解시켜 經口를 통해서 投與하고, 實驗群 II群과 III群은 各各 蒸溜水에 稀釋시킨 甘草, 黑豆 Extract 500 mg/kg과 1000 mg/kg을 먼저 投與한 後 1時間뒤에 NAC 140 mg/kg을 Corn oil에 溶解시켜 經口를 통해서 暴露시키고, 對照群은 Corn oil을 經口的으로 投與하여 1時間뒤에 心臟에서 採血하여 血清中 Ch.E 活性를 측정하였다.

(6) 甘草, 黑豆 Extract의 豫防效率實驗

NAC의 LD₅₀을 指標로 甘草, 黑豆 Extract의 Protective index¹¹⁾을 算出하기 위하여 甘草, 黑豆 Extract의 經口投與 後 NAC를 經口投與 하였으며, 實驗은 試料(甘草, 黑豆 Extract)의 急性毒性實驗 時와 같은 方法으로 實施하여 豫防效率를 測定하였다.

NAC의 LD₅₀과 信賴區間은 Litchfield Wilcoxon method¹⁷⁾에 의해서 算出하였으며 Protective index를 求하였다.

(7) Cholinesterase 活性值 分析

血清 中 Cholinesterase 活性值 分析方法으로는 Michel method^{30, 31)}의 改良法을 使用하여 測定하였다.

III. 結果 및 考察

正常的인 狀態에서 Ch.E는 神經刺戟 傳導에 의해서 遊離된 acetylcholine을 acetic acid와 Choline으로 分解시키며 이러한 acetylcholine의 生成과 分解는 瞬間的으로 이루어져 神經刺戟 傳達을 순조롭게 한다.^{18, 20)} 그러나 NAC에 中毒되었을 때는 NAC가 Ch.E의 anionic site와 esteric site에 作用하여 acetylcholine의 接近을 妨害하여 神經에 acetylcholine이 蓄積되므로 神經傳達裝置를 過度하게

Table 1. Consecutive changes of cholinesterase activity in mouse orally exposed with NAC
(Mean± S.D. (%))

| Group | Cholinesterase activity IU/l by time | | | |
|--|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 0.5 | 1 | 2 | 3 |
| Control group | 443.57 ± 15.99(100.00) | — | — | — |
| Experimental group I (NAC 100 mg/kg) | 251.43 ± 16.27(56.68) | 225.60 ± 16.43(50.86) | 257.14 ± 12.70(57.97) | 334.29 ± 8.64(75.36) |
| Experimental group II (NAC 140 mg/kg) | 238.16 ± 17.94(53.69) | 198.57 ± 11.46(44.77) | 289.05 ± 11.01(65.16) | 306.22 ± 10.09(69.04) |

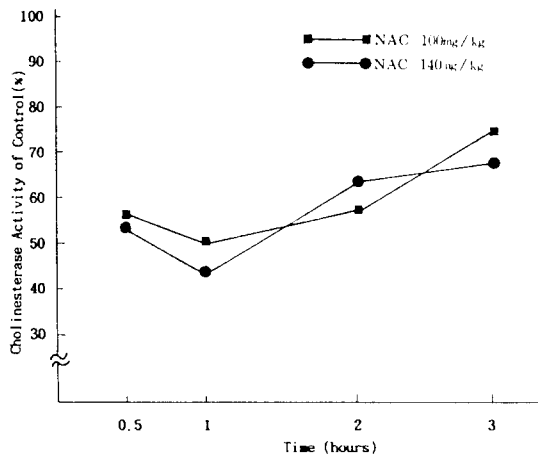


Fig. 1. Cholinesterase activity in mouse orally exposed with NAC.

刺戟하여 그 결과로 中樞神經系 및 自律神經系에 中毒症狀을 일으킨다.⁴⁾

本 研究에서 NAC 中毒의 豫防效果實驗에 使用된 甘草, 黑豆 Extract는 “水和하는 藥物로 構成되어 和毒하는 藥劑”²¹⁾라고 할 수 있으며, 이 處方은 모든 藥物과 毒物中毒에 有效한 效果를 지니고 있는 것으로 전해지고 있다.

지금까지 甘草, 黑豆 Extract에 대한 解毒作用의 研究로는 李²²⁾의 “Thioacetamide 中毒으로 인한 代謝作用에 미치는 效果에 대한 研究”와 朴²³⁾의 “附子毒素에 미치는 效果” 또 柳²⁴⁾의 “鴉片 中毒에 관한 研究” 등이 있다.

現在 밝혀진 甘草, 黑豆 Extract의 解毒作用 機轉은 黑豆의 蛋白質 沈澱效果에 甘草의 主成分인 Glycyrrhizin이 加水分解되어 生成되는 Glucuronic acid가 주된 解毒作用을 나타내는 것으로 알려져 있다.²⁵⁾

특히 甘草는 모든 藥의 解毒劑로 使用되며 肝

保護作用을 갖고 있는 것으로 되어 있으며, 甘草의 成分은 glycyrrhizine(C₄₂H₆₆O₁₈)인 甘味質을 含有하고 其他 liquiritin(C₂₁H₃₂O₉), 蔗糖, 포도당, manniate, asparagin, 樹脂 등을 含有하는 것으로 알려져 있고, 黑豆는 蛋白質, 脂肪, 炭水化物, Vit. B₁, Vit. B₂, Fe, folic acid 등을 含有하는데 蛋白質이 풍부하게 含有되어 있어 옛부터 民間藥으로 重金屬 解毒劑로 널리 쓰여왔다.²⁶⁻²⁹⁾

따라서 甘草, 黑豆 Extract의 NAC에 대한 解毒作用 機轉에 대해서는 앞으로 많은 研究가 필요할 것으로 생각된다.

1. NAC 投與 後 經時變化에 따른 Cholinesterase 活性值

NAC 100 mg/kg과 140 mg/kg을 經口로 投與한 後 時間經過에 따른 NAC가 Ch.E 活性值 變化에 미치는 影響을 實驗한 結果는 Table 1 및 Fig. 1과 같다.

對照群은 Ch.E 活性值가 443.57 ± 15.99 IU/l였고, 이에 比하여 實驗群 I의 Ch.E 活性值는 0.5時間에서 251.43 ± 16.27 IU/l, 1時間에서 225.60 ± 16.43 IU/l, 2時間에서 257.43 ± 12.70 IU/l, 3時間에서 334.29 ± 8.64 IU/l이었고 또한 實驗群 II의 Ch.E 活性值는 0.5時間에서 238.16 ± 17.94 IU/l, 1時間에서 198.57 ± 11.46 IU/l, 2時間에서 289.05 ± 11.01 IU/l, 3時間에서 306.22 ± 10.09 IU/l이였으며, 對照群에 比해 1時間에서 實驗群 I, II 모두 Ch.E 活性值가 가장 많이 低下되었고, 그 以後 점차 Ch.E 活性值가 恢復되는 것으로 나타났다. 따라서 甘草, 黑豆 Extract 豫防效果實驗에서 1時間 臨界點으로 決定했으며, 140 mg/kg 投與時 Ch.E 活性值가 가장 많이 抑制되었기 때문에 140 mg/kg 投與로 決定하였다.

아직까지 Ch.E 回復機轉이 완전히 證明되지는 못했으나 Kenley²³⁾은 排泄이나 代謝變形을 이유로 했고, Benschop²⁵⁾은 化合物의 nucleophilicity와

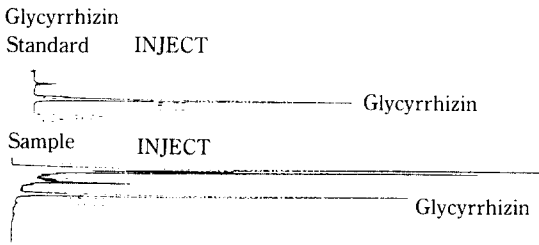


Fig. 2. Chromatogram of glycyrrhizin.

lipophilicity의 증가를, Korpela 등³⁴⁾은 Molecular structure가 Ch.E 抑制를 決定할 수 있다는 報告를 하였다.

2. HPLC에 의한 試料 中 Glycyrrhizin 含量

Fig. 2에서와 같은 條件에서 HPLC를 實施한 結果 甘草, 黑豆 Extract 中 Glycyrrhizin 含量은 7.88% 였다.

Conditions

- column : Spherisorb ODS-1(5 μ)
- detector : UV 254 nm
- mobile phase : MeOH : H₂O : HAc(78 : 19 : 3)
- flow rate : 1.0 ml/min
- injection volume : 10 μl

3. 甘草, 黑豆 Extract의 毒性(LD₅₀)

甘草, 黑豆 Extract의 毒性實驗結果는 Table 2와 같다.

經口投與 5000 mg/kg까지 死亡例를 觀察할 수 없었다. 따라서 經口投與時 LD₅₀은 5000 mg/kg 以上이었으며, 그 以上의 藥物投與는 粘性問題로 인하여 實質的으로 投與가 不可能했다.

Durham 등³⁰⁾은 2-PAM의 腹腔內에 注射時 LD₅₀

Table 2. Acute toxicity of glycyrrhizae radix and glycine semen extract by administration route

| Administration route | Dosage (mg/kg) | Death/ total-animal | LD ₅₀ (mg/kg) |
|----------------------|----------------|---------------------|--------------------------|
| P.O. | 5,000 | 0/10 | >5,000 |

은 136±6~223±10 mg/kg, 靜脈內 注射時 LD₅₀이 145±8 mg/kg이었다고 報告하였으며, Lamanna 등³⁵⁾은 마우스의 atropine sulfate의 毒性은 體重 18 g에서 LD₅₀은 수컷이 4.10 mg/kg, 암컷이 3.72 mg/kg, 雌雄 25 g에서 LD₅₀은 수컷이 5.53 mg/kg, 암컷은 4.79 mg/kg으로 報告하였다.

반면 甘草, 黑豆 Extract의 經口投與時 LD₅₀은 5000 mg/kg 以上으로 나타나서 既存의 解毒劑와 比較해볼 때 거의 毒性과 副作用이 없는 것으로 볼 수 있으므로 一般人들이 쉽게 使用할 수 있을 것으로 생각된다.

4. 甘草, 黑豆 Extract의 豫防效果

甘草, 黑豆 Extract를 投與한 後 1時間뒤에 NAC에 經口로 投與하고 그 後 1時間뒤에 Ch.E 活性值 回復率에 관한 實驗結果는 Table 3과 같다.

여기에서 보는 바와 같이, 對照群의 Ch.E 活性值는 471.43±4.85 IU/l이고 實驗群 I의 Ch.E 活性值는 215.27±23.13 IU/l로 對照群에 비해 매우 有意한 差로 떨어졌고(p<0.01) 實驗群 II와 III의 Ch.E 活性值는 各各 304.03±9.03 IU/l, 433.81±21.73 IU/l로 나타났으며 實驗群 I과 比較했을 때 有意한 差가 있었고(p<0.01), 實驗群 II와 III은 對照群에 近接해 가는 數值를 나타냈으며 甘草, 黑豆 Extract 500 mg/kg 投與보다 1000 mg/kg 投與時에 Ch.E

Table 3. Prevention effects of glycyrrhizae radix and glycine semen extract on cholinesterase activity (IU/l)

| Group | Ch.E (Mean± S.D.) | Reactivation (%) |
|---|-------------------|------------------|
| Control group | 471.43± 4.85* | 100.00 |
| Experimental group I (NAC 140 mg/kg) | 215.27± 23.13 | -- |
| Experimental group II (GGE 500 mg/kg + NAC 140 mg/kg) | 304.03± 9.03* | 34.65 |
| Experimental group III (GGE 1000 mg/kg + NAC 140 mg/kg) | 433.81± 21.73* | 85.31 |

GGE : Glycyrrhizae radix and glycine semen extract. *p<0.01.

$$\text{Percentage reaction}^{11)} = \frac{\text{Ar} - \text{Ai}}{\text{Ac} - \text{Ai}} \times 100$$

- Ar : Activity after reactivation
- Ai : Activity after inhibition
- Ac : Activity of control

Table 4. Protective efficiency of glycyrrhizae radix and glycine semen extract on LD₅₀ of NAC

| Group | LD ₅₀ (mg/kg) | Confidence interval (mg/kg) | Protective index |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------|
| NAC | 270 | 234.99~310.23 | 1 |
| I (P.O.) (GGE 500 mg/kg+NAC) | 310 | 272.69~353.71 | 1.1 |
| II (P.O.) (GGE 1000 mg/kg+NAC) | 325 | 285.09~370.50 | 1.2 |

GGE : Glycyrrhizae radix and glycine semen extract. $p < 0.05$ (95% confidence limits).

$$\text{Protective index}^{(1)} = \frac{\text{LD}_{50} \text{ of NAC treated with Antidotes}}{\text{LD}_{50} \text{ of NAC}}$$

活性値 回復率에 높게 나타났음을 알 수 있다.

本 實驗에서는 甘草, 黑豆 Extract 500 mg/kg 投與時 34.65%의 回復率을 보였으며, 甘草, 黑豆 Extract 1000 mg/kg 投與時 85.31%까지 回復되어 거의 正常水準으로 豫防效果를 나타내었다.

대체로 動物實驗 結果를 보기 위해 常用量보다 많은 量을 투여하는데 本 實驗에서는 甘草, 黑豆 Extract 500 mg/kg과 1000 mg/kg은 常用量の 2~4배에 해당하는 量이었다.

5. 甘草, 黑豆 Extract의 豫防效率

甘草, 黑豆 Extract의 NAC에 의한 Protective index는 Table 4와 같다.

實驗의 結果로는 NAC의 LD₅₀과 信賴區間은 各各 270 mg/kg 및 234.99~310.23 mg/kg이었고, 甘草, 黑豆 Extract 500 mg/kg과 1000 mg/kg 經口投與時에서는 LD₅₀이 各各 310 mg/kg과 325 mg/kg으로 Protective index는 1.1, 1.2로 나타났다.

또한 NAC의 LD₅₀에서 觀察한 成績을 根據로 하여 Litchfield Wilcoxon法에 따라서 LD₅₀을 求하였다.

LD₁₆=205, LD₅₀=270, LD₈₄=358이고 Slope function=(LD₈₄/LD₅₀+LD₅₀/LD₁₆)×0.5이므로 S=1.326이다.

Exponent=0.506, fLD₅₀을 求하면 fLD₅₀은 1.149이다. LD₅₀의 信賴限界는 上限이 LD₅₀×fLD₅₀ 즉 310.23이고 下限은 LD₅₀÷fLD₅₀ 즉 234.99이다. 따라서 LD₅₀은 270 mg/kg이 되고 信賴限界는 234.99~310.23 mg/kg이 되었다. 本 實驗에서 NAC의 LD₅₀은 270 mg/kg으로 나타나 日本藥學會編^(37, 38)에서 NAC의 LD₅₀을 283 mg/kg과 265 mg/kg으로 보고한 것과 거의 一致하였으며, Species와 實驗室 條件의 차이를 考慮할 때 NAC의 LD₅₀은 260~280 mg/kg 사이에 있는 것으로 推定된다.

그리고 NAC 中毒에 대한 甘草, 黑豆 Extract의 豫防效率이 1.1~1.2로 나타났는데, 이 結果는 甘草, 黑豆 Extract의 豫防效果를 뒷받침해 주는 것으로

생각되며 한편, NAC 中毒에 대한 甘草, 黑豆 Extract 豫防效率은 甘草, 黑豆 Extract 濃度가 增加할수록 높아지는 推移를 보여 Ch.E activity測定에서 甘草, 黑豆의 豫防效果를 더욱 뒷받침해 주는 것으로 料된다.

IV. 結 論

農藥의 多量使用으로 인한 健康과 自然環境의 危害가 해마다 增加함에 따라 이에 대한 豫防的 側面에서 研究가 切實한 實情이다.

따라서 本 研究는 東醫寶鑑에서 “百藥의 毒을 解하고 諸藥을 和한다.”고 하는 甘草와 黑豆를 使用하여 NAC 中毒에 대한 豫防效果를 400마리의 마우스를 대상으로 實驗한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

- 1) NAC 100 mg/kg과 140 mg/kg을 各各 마우스에 經口投與한 後 時間經過에 따른 Ch.E 活性値를 測定한 結果 暴露 後 1時間에서 Ch.E 活性値가 對照群의 44.77~50.86%로 가장 많이 떨어졌으며 時間이 經過함에 따라 서서히 回復되었다.
- 2) 甘草, 黑豆 Extract의 毒性을 算出하기 위해 甘草, 黑豆 Extract를 經口投與하였을 때 5000 mg/kg까지 死亡 또는 中毒症狀이 나타나지 않았다. 따라서 甘草, 黑豆 Extract의 LD₅₀은 5000 mg/kg以上임을 알 수 있었다.
- 3) Ch.E 活性値 回復率 變化에서 對照群 Ch.E 活性値는 471.43±4.85 IU/l, 實驗群 I은 215.27±23.13 IU/l, 實驗群 II는 304.03±9.03 IU/l, 그리고 實驗群 III은 433.81±21.73 IU/l로 나타났다. 對照群과 實驗群 I의 比較에서 매우 有意한 차가 있었으며($p < 0.01$) 實驗群 II와 III은 正常에 近接하는 數値를 나타냈다. 따라서 甘草, 黑豆 Extract는 NAC 中毒에 매우 有意한 豫防效果를 나타냈으며 投與量 增加에 따라 Ch.E 活性値가 크게 增加됨을 알 수 있었다.

④ NAC와甘草,黑豆 Extract를 동시에 經口投與했을 때 NAC의 LD₅₀과 信頼區間은 270 mg/kg, 234.99~310.23 mg/kg이었고 經口投與時 I, II(甘草,黑豆 Extract 500 mg/kg, 1000 mg/kg)의 LD₅₀은 각각 310 mg/kg, 325 mg/kg이었다. 따라서 對照群에 비해 Protective index는 各各 1.1, 1.2로 나타나서 NAC에 急性中毒된 마우스에서甘草,黑豆 Extract의 豫防效率이 나타났다.

以上の結果를 綜合하여 볼 때甘草,黑豆 Extract는 Carbamate系 農藥인 NAC 暴露로 誘發된 Ch.E 活性值 抑制를 回復시키는 效果가 있어서甘草,黑豆 Extract 投與로 NAC 中毒을 豫防할 수 있는 것으로 認定된다.

參考文獻

- 1) 김기홍, 노국희, 권상민, 김영규, 박정근, 김동술, 박종수, 이선동, 황성우, 황윤태 등 : 서울대학교 보건대학원 공중보건연구회, 춘성균 지역사회보건실습보고서. pp. 30-35, 70-77, 1985, 1986.
- 2) 보건사회부 : 농약사용으로 인한 농촌주민들의 인체중독 실태. pp. 3-4, 1990.
- 3) 李海根, 鄭永浩, 林英善, 朴昌奎 : 농약의 안전살포에 관한 연구. 農試報告, 23, 1981.
- 4) 李成煥, 洪鐘旭 : 改訂 農藥學. 鄉文社, p. 11, 51, 127, 187-188, 1990.
- 5) Ellin, R. I. and Wills, J. H. : Oximes Antagonistic to inhibitors of Cholinesterase. *J. Pharm. Sci.*, 53 (4) 995-999, 1964.
- 6) 徐丙天, 金碩煥, 崔鍾元 : Cholinesterase 활성화에 미치는 Carbamate 化合物의 영향. 자원문제연구, 4, 1985.
- 7) 金若洙, 金載營, 羅永嶽, 徐德攬 등 : 臨床化學實技. 高文社, p. 354, 1986.
- 8) Report of International Workshop : Epidemiological Toxicology of Pesticide Exposure. *Arch. Environ. Health*, 25, 339-404, 1972.
- 9) Namba, T., Nolte, C. T., Sackrel, J. and Grob, D. : Poisoning Due to Organophosphate Insecticide, Acute and Chronic Manifestations. *Am. J. Med.*, 50, 475-448, 1971.
- 10) Durham, W. F. and Hayes, W. J. : Organic Phosphorus Poisoning and Its Therapy. 5, 21-47, 1962.
- 11) Dube, S. N., Ghosh, A. K., Jeevara Thinam. K. and Kamar, D. : Studies on the Efficacy of Diethy-xime as an Antidote against Organophosphorus Intoxication in Rats. *Japan. T. Pharm.*, 41, 267-271,

- 1986.
- 12) Hoptt, W. H., Riggio, G. and Waser, P. G. : Blockade of Acetylcholine Synthesis in Organophosphate Poisoning. *Toxicology and Applied Pharm.*, 72, 513-518, 1984.
- 13) 黃度淵 : 對譯證脈 方藥合篇辨證增補版. 南山堂, p. 263, 1980.
- 14) 許 浚 : 原本東醫寶鑑. 南山堂, pp. 585-590, 1980.
- 15) 보건사회부 : 대한약전. 사단법인 대한보건공정서 협회, p. 813, 1987.
- 16) 國立保健院 : 生藥試驗方法集. 國立保健院 예규 제 308호, 1988.
- 17) Litchfield, J. J. and Wilcoxon, F. : Simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 96, 99-113, 1949.
- 18) Murphy, S. D. and Cheerer, K. L. : Effect of Feeding Insecticides, Inhibition of Carboxyesterase and Cholinesterase Activities In Rats. *Arch. Environ. Health*, 17, 749-758, 1968.
- 19) Hayes, W. J., Dixon, E. M., Batchelor, G. S. and Upholt, W. M. : Exposure to Organic Phosphorus Sprays and Occurrence of Selected Symptoms. *Public Health Rep.*, 72, 787-794, 1957.
- 20) Fukuto, T. R. : Relationships Between the Structure of Organophosphorus compounds and their Activity as Acetylcholinesterase Inhibitors. *Org. Mond. Sonate, Wild. Hlth. Org.*, 37, 44, 32-42, 1971.
- 21) 申正植, 蔡炳允 : 선유량탕, 자금정, 감두탕이 HgCl₂ 中毒家畜의 腎 및 肝 損傷에 미치는 影響. 월간 한의학, 1(3), 1988.
- 22) 李柱千 : 甘豆湯煎液이 Thioacetamide 中毒性으로 인한 代謝障礙에 미치는 效果에 대한 實驗的 研究. 경희한의대 논문집, 1972.
- 23) 朴鎬湜 : 附子毒素에 의한 組織變化와 甘豆湯 및 黃連解毒湯의 中和作用에 관한 研究. 원광한의대 논문집, 1985.
- 24) 柳志允 : 甘豆湯의 喃 中毒에 관한 研究. 스위스 학술대회 발표논문, 1983.
- 25) 陸昌洙 : 現代方藥合編. 癸任文化社, pp. 132-133, 1979.
- 26) 李尙仁 : 安德均, 辛民教, 漢藥臨床應用. 정보사, pp. 361-364, 1982.
- 27) 申信求 : 申氏本草學名論. 수문사, pp. 16-20, 1982.
- 28) 金長壽 : 原色臨床本草學, 進命出版社, p. 61, 1975.
- 29) 辛民教 : 原色臨床本草學, 南山堂, p. 247, 1986.
- 30) Ellin, R. I. and Vicario, P. P. : ΔpH Method for measuring Blood Cholinesterase. *Arch. Environ. Health*, 30, 263-265, 1975.

- 31) Michel, H. O. and Center, A. C. : An electrometric method for the Determination of Red Blood Cell and Plasma Cholinesterase Activity. *Lab. Chin. Med.*, **34**, 1564-1569, 1949.
- 32) Kenley, R. A., Howd, R. A., Mosher, C. W. and Winterle, J. S. : Nonquaternary Cholinesterase Reactivators Dialkylaminoalkyl Thioesters of α -Ketoaldehydic Acids, As Reactivators of Diisopropyl Phosphorfluoridate Inhibited Acetylcholinesterase. *J. Med. Chem.*, **24**, 1124-1133, 1981.
- 33) Benschop, H. P., Vanven Berg, G. R. and Van Hooijdonk, C. : Antidotes to Organophosphate Poisoning. 2. Thiadiazole 5-Carboxaldehydes. *J. Medicinal Chem.*, **22**(11), 1306-1312, 1979.
- 34) Korpela, M. H. TäHT : The effect of Selected Organic Solvents on Intact Human Redcell Membrane Acetyl-Cholinesterase *in vitro*. *Toxicology and Applied Pharm.*, **85**, 257-262, 1986.
- 35) Lamanna, C. and Hart, E. R. : Relationship of Lethal Toxic Dose to body weight of the mouse. *Toxicology and Applied Pharm.* **13**, 307-315, 1968.
- 36) 李容旭, 鄭德和 : 食品衛生學, 韓國放送通信大學, pp. 272-277, 1991.
- 37) 日本藥學會編 : 藥毒物化學試驗法注解, 南山堂, p. 303, 1958.
- 38) 日本藥學會編 : 衛生試驗法注解, 金原出版株式會社, p. 75, 1983.