

Endosulfan이 흰쥐체내의 Cytochrome P-450 효소계에 미치는 영향

김인선 · 이강봉 · 심재한 · 서용택*

전남대학교 농화학과

초록 : Endosulfan이 흰쥐(*Balb c.*) 체내의 cytochrome P-450 효소계에 미치는 영향을 조사하기 위해 endosulfan을 7.5 mg/kg 수준으로 복강주사하였다. Endosulfan을 복강주사 처리하여 48시간 후 적출한 흰쥐의 간에서는 cytochrome P-450 함량이 3.3~4.2배, cytochrome b₅ 함량이 2.3~3.8배, NADPH cytochrome P-450 reductase 활성이 5.3~6.4배 그리고 총 haem 함량이 3.1~3.6배씩 대조구의 그것들에 비해 증가하였다. Endosulfan은 대조구 흰쥐 간의 cytochrome P-450 효소계와 상호작용하여 파장 387와 389 nm에서 흡광도의 증가를 보였으며 파장 407 nm에서 넓은 흡수대를 형성하였다. 환원형 P-450-CO spectrum은 대조구의 경우 파장 451 nm에서 흡광도의 극대를 보인 반면 endosulfan으로 처리된 흰쥐 간의 그것은 파장 449와 450 nm에서 흡광도의 극대를 보였다. Endosulfan 처리로 흰쥐 간과 신장의 aldrin epoxidase 활성이 각각 2.8배와 2.1배씩 증가하였으며 7-ethoxyresorufin dealkylase 활성은 각각 1.7배와 1.8배씩 증가하였다(1995년 2월 20일 접수, 1995년 3월 21일 수리).

서 론

병해충으로부터 작물을 보호하기 위해서는 농약의 사용 및 개발이 불가피하다고 할 수 있다. 하지만 농약은 원래의 목적인 병해충 방제 후에도 계속 잔류되어 동식물을 포함하여 인류환경에 피해를 줄 수 있으며 그 피해는 인간에게까지 이를 수 있다.

농약으로 인한 동식물의 피해는 농약의 독성에서 생기며 이는 체내의 해독효소계가 지닌 약제에 대한 해독능력의 결핍에서 비롯될 수 있다. 농약의 해독 및 분해에 있어서 해독효소계가 매우 중요하다는 의미이다. 이에 관련된 해독효소계로는 약제를 가수분해시키는 esterase와 산화 및 환원시키는 mixed function oxidase (MFO)계¹⁾ 등이 대표적이다. 이 중에서 cytochrome P-450 효소계에 의한 MFO계는 약제에 대한 체내의 해독에 관여하는 매우 중요한 대사체계로서 주로 간의 microsome에 국재한다.²⁾

Cytochrome P-450 효소계의 약제에 대한 적응은 이의 구성원이라 할 수 있는 P-450의 함량이나 cytochrome b₅의 함량, 그리고 NADPH cytochrome P-450 reductase의 활성 및 총 haem의 함량과 관련이 깊으며 일부 약제에 의한 이들의 상승효과³⁾는 체내의 해독능력에 영향을 미친다. 한편으로 piperonyl butoxide나 aminobenzotriazole 같은 화합물은 cytochrome P-450 효소계를 강력히 저해하는 것으로 알려져 있으며³⁾ 그 결과 약제에 대한 해독능력도 떨어지게 된다. 이는 약제에 대한 독성 및 대사 연구에 있어서 cytochrome P-450 효소계가 매우 중요한 역할을 하고 있음을 암시해주고 있다.

본 실험에 사용된 공시약제 endosulfan은 cyclodiene 유기염소계 살충제로서 어류에 대한 독성은 매우 높고 포유류에 대한 독성은 낮은 것으로 알려져 있으나⁴⁾ 이 약제가 미치는 해독효소계의 영향에 관한 연구는 미비한 실정이다. 이에 본 실험에서는 endosulfan을 흰쥐에 처리하여 흰쥐 간과 신장의 cytochrome P-450 효소계의 구성원 및 일부 monooxygenase 활성의 변화를 관찰함으로써 cytochrome P-450 효소계에 미치는 endosulfan의 영향을 조사하여 포유류에서 endosulfan이 갖는 독성적 평가에 기초자료를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

공시약제 및 시약

공시약제 endosulfan([1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en 2,3-ylenebismethylene]sulfite)과 aldrin(1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4:5,8 dimethanonaphthalene), dieldrin(3,4,5,6,9,9-hexachloro-1a,2,2a,3,6,6a,7,7a,-octahydro 2,7:3,6-dimethanonaphth[2,3-b]oxirene)등의 표준품(95 % 이상)은 농약연구소에서 분양받아 사용하였고 glucose-6-phosphate(G-6-P)와 G-6-P dehydrogenase(G-6-P DH), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP), NADP reduced form(NADPH), bovine serum albumin(BSA), sodium hydrosulfite, glycerol, piperonyl butoxide, 7-ethoxyresorufin, resorufin 등은 Sigma(USA) 제품을 사용하였으며 그 밖의 시약은 Junsei 특급(Japan)을 사용하였다. 그리고 CO(carbon monooxide, 99.99 % 이상) gas는 한국표준과학 연구원에서

찾는말: Endosulfan, Cytochrome P-450 enzymes, Mouse(*Balb/c.*)

*연락처자

제공받아 사용하였다.

공시동물 및 약제처리

공시동물은 전남대학교 수의과대학에서 분양 받은 *Balb/c* male 흰쥐(4주령, 20~27 g)로서 실험실 조건으로 2주 이상 순화시킨 후 공시하였으며 28×43×18 cm(가로×세로×높이) 쥐 사육용 stainless 상자에 5마리씩 분양하여 24시간 절식시킨 다음 공기중에 녹인 공시약제 endosulfan을 7.5 mg/kg 수준으로 1회 복강주사하였다. 먹이는 약제를 처리하지 않고 2.5 g/마리 수준으로 1일 3회 공급하였으며 물 공급은 정상적으로 하였다. 대조구에는 약제가 처리되지 않은 공기room만을 상기 과정과 같이 처리하였다.

Microsome의 조제

Microsome의 조제는 공시동물중 상태가 양호한 흰쥐의 간과 신장을 4℃ 저온실에서 채취한 후 William 등⁵⁾의 방법을 변형하여 이들을 1 mM EDTA가 함유된 1.15 % KCl 용액으로 세척한 후 동 용액 15 ml를 이용하여 glass homogenizer로 완전히 균질화시켰다. 균질액은 이중 가제를 이용하여 여과한 후 10,000×g에서 10분간 원심분리한 다음 그 상정액을 다시 105,000×g에서 1시간동안 원심분리하여 microsome pellet를 얻었다. Microsome pellet는 1 mM EDTA가 함유된 1.15 % KCl 용액 3 ml로 3회 세척 후 1 mM EDTA와 20 % glycerol이 함유된 0.1 M 인산 완충용액(pH 7.4) 20 ml를 이용하여 glass homogenizer로 균질화시켜 효소액으로 사용하였으며 microsome 단백질 함량은 BSA를 표준품으로 하여 Lowry⁶⁾ 방법에 의해 계산하였다.

Endosulfan에 의한 cytochrome P-450 효소계의 변화

Endosulfan이 흰쥐 간과 신장의 cytochrome P-450 효소계에 미치는 영향을 알아보기 위해 Omura와 Sato⁷⁾ 그리고 Shim⁸⁾의 방법을 변형하여 cytochrome P-450의 함량, cytochrome b₅의 함량, NADPH cytochrome P-450 reductase의 활성, 총 haem의 함량, aldrin epoxidase 및 7-ethoxyresorufin dealkylase 활성의 변화를 조사하였다.

Cytochrome P-450 함량의 측정

Cytochrome P-450의 함량 측정은 단백질 함량이 0.8~1.0 mg/ml가 되게 0.1 M 인산 완충용액(pH 7.4)으로 microsome을 현탁시킨 후 microsome 현탁액을 분광광도계(Uvikon 930, Kontron, USA) cuvette에 넣고 10 mg의 sodium hydrosulfite를 가하여 분광광도계의 흡광도를 영점 조정하였다. 영점조정 후 시료 cuvette에 CO gas를 30초간 20 방울을 불어넣고 파장 450 nm와 490 nm에서 흡광도를 측정한 후 그 차이를 계산하여 함량을 계산하였다.

Cytochrome b₅ 함량의 측정

Cytochrome b₅의 함량은 측정 바로전에 조제된 0.1 M 인산 완충용액(pH 7.4)에 현탁시킨 microsome 현탁액을

분광광도계 cuvette에 넣어 영점조정 후 시료 cuvette에 최종농도 0.2 mM이 되게 NADPH 결정체를 넣고 뚜껑을 재빨리 막아 잘 섞은 다음 1분 후에 파장 424 nm와 409 nm에서 흡광도 차이를 측정하여 함량을 계산하였다.

NADPH cytochrome P-450 reductase 활성의 측정

NADPH cytochrome P-450 reductase의 활성 측정은 0.1 M 인산 완충용액(pH 7.4)에 녹인 0.125 mM cytochrome C 용액 1 ml와 15 mM KCN 용액 0.2 ml, microsome 현탁액 0.1 ml를 분광광도계 cuvette에 넣고 시료 cuvette의 총 부피와 기준 cuvette의 총 부피가 각각 2.4 ml와 2.5 ml가 되게 완충용액을 가한 다음 parafilm으로 마개를 하여 37℃의 항온기에서 3분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 시료 cuvette에 동일한 완충용액에 녹인 10 mM NADPH 용액 0.1 ml를 가하고 파장 550 nm에서 30초 간격으로 5분 동안 reductase의 활성을 측정하였다.

총 haem 함량의 측정

총 haem 단백질 함량은 0.1 M 인산 완충용액(pH 7.4)에 현탁된 microsome 현탁액의 단백질을 1% sodium deoxychlorate로 용해시켰다. 이 용액 1 ml를 취해 0.5 N NaOH 용액 0.1 ml, 25 % pyridine 용액 0.5 ml와 함께 분광광도계 cuvette에 넣고 1분 후 시료 cuvette에는 10 mg sodium hydrosulfite를 기준 cuvette에는 12.5 mM ferrocyanide 용액 10 μl를 각각 넣어 잘 섞은 다음 파장 557 nm와 575 nm에서 흡광도 차이를 구해 함량을 계산하였다.

Aldrin epoxidase 활성의 측정

Aldrin epoxidase의 활성 측정은 상기 방법으로 얻은 microsome 현탁액(0.58 mg/ml protein)에 1 mM EDTA, 0.3 mM NADP, 3 mM G-6-P, 1 unit G-6-P DH가 함유된 0.1 M 인산 완충용액(pH 7.4)을 5 ml용 시험관에 넣고 최종 부피를 2 ml로 맞춘 후 37℃ 수조에서 2분간 반응시킨 다음 acetone에 녹인 20 mg의 aldrin을 반응액에 가하여 다시 37℃ 수조에서 30분간 배양시켰다. 배양이 끝난 후 에탄올 2 ml를 첨가하여 반응을 중지시킨 후 반응산물 dieldrin을 10 ml hexane으로 3회 추출하여 Florisil 정제를 한 다음 분석을 행하였다. 시료의 정제는 유리 column(2.2 cm i.d.×50 cm length)에 Florisil 10 g을 hexane으로 습식 충전한 후 1% acetone이 함유된 hexane 140 ml로 용출시켜 행하였다. 분석기기는 GLC(Pye Unicam series 304 gas chromatograph)로서 검출기는 ⁶³Ni-ECD였으며 분석용 column은 내경 4 mm 및 길이 2 m인 유리 column에 충전된 3% OV-17(on diatomite) 이었다. 분석기기의 온도는 column이 210℃, injector 250℃ 그리고 detector가 270℃이었으며 이동상 N₂ gas의 유속은 51 ml/min이었다.

7-ethoxyresorufin dealkylase 활성의 측정

7-Ethoxyresorufin dealkylase의 활성 측정은 cytochrome P-450 효소계의 monooxygenase에 의한 7-ethoxy-

resorufin의 대사물질인 resorufin의 생성을 조사하여 실시하였다. Microsome 현탁액에 5 mM의 G-6-P와 1 unit의 G-6-P DH 및 0.5 mM의 NADP를 가한 후 37°C 항온기에서 2분간 배양시킨 다음 2 μ M의 7-ethoxyresorufin를 가하여 다시 같은 조건의 항온기에서 30분 동안 배양시켰다. 배양이 끝난 후 2 ml의 methanol를 가해 반응을 중지시킨 다음 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 침전물을 제거하고 그 상정액을 취해 UV/VIS spectrophotometer 상에서 resorufin의 생성을 확인하였다.

결과 및 고찰

Endosulfan 처리에 의한 cytochrome P-450 함량, cytochrome b₅ 함량, NADPH cytochrome P-450 reductase 활성 및 총 haem 함량의 변화

Endosulfan 처리에 의한 흰쥐의 간 cytochrome P-450 효소계의 변화를 Table 1에 나타냈다. Endosulfan 처리에 의해 cytochrome P-450 효소계의 P-450 함량이 3.3~4.2배, cytochrome b₅의 함량이 2.3~3.8배, NADPH reductase의 활성이 5.3~6.4배 그리고 총 haem의 함량이 3.1~3.6배 증가하였다. 특히 endosulfan은 NADPH reductase의 활성을 현저하게 증가시키기를 알 수 있었다. 이러한 결과는 endosulfan이 흰쥐 체내에서 cytochrome P-450 효소계를 유도함을 의미하였으며 rat에서 시험한 Tyagi 등³⁾의 보고와 유사하였으나 어류에서 시험한 이⁴⁾의 보고와는 달랐다. Endosulfan을 처리하여 시간별로 cytochrome P-450 효소계의 변화를 보아도 Fig. 1에서 보여준 것처럼 약제를 처리한 후 2시간 이내에는 현저하게 증가하다가 그 이후에는 거의 일정함을 알 수 있었으며 이는 endosulfan의 흰쥐 간에서 흡수 및 대사 정도와 관련이 깊을 것으로 생각되었다. 즉, 흰쥐 간에서 약제의 분포율이 낮은 처리 2시간 이전에는 cytochrome P-450 효소계의 유도 현상이 점점 증가하는 경향을 보이다가 약제의 흡수 및 분포율이 최대로 높은 처리 2시간째에는 약제에 대한 해독능력이 유도됨으로서 현저한 증가경향을 그리고 처리 2시간 이후에는 유도된 해독효소에 의해 약제가 점점 간에서 대사되어 제거되므로서 그 유도경향이 일정한 결과를 가질 수 있다는 추측을 할 수 있었다. 특히 endosulfan이 간에 많이 축

적된 약제 처리 후 2시간에는 약제를 해독 및 분해하기 위해 cytochrome P-450 효소계가 유도됨을 알 수 있었으며 약제처리 후 2시간에는 endosulfan 처리에 의한 cytochrome P-450 효소들의 유도 및 활성의 증가로 인해 endosulfan의 대사 및 분해가 잘 이루어지는 시기로서 약제에 대한 적응이 확립된 시간이라 생각되었다. 이러한 이유로 인해 약제처리 2시간 이후부터는 이전의 경우보다 cytochrome P-450 효소의 유도 및 활성의 증가가 두드러지지 않은 결과가 나타났을 것이라는 추측이 가능했다. 또 간에 흡수된 endosulfan은 특히 NADPH cytochrome P-450 reductase의 활성에 영향을 미치는 것을 볼 때 P-450 효소계 haem 단백질의 중심 ligand에 간접적으로 영향을 미쳐 전체적인 P-450 효소계의 구조를 변화시키므로 효소활성이 증가되도록 할 것이라고 생각되었다.

이는 endosulfan의 P-450과 상호작용한 spectrum을 조사하여도 동일한 추측을 할 수 있었는데 endosulfan은 cytochrome P-450 효소계와 상호작용하여 파장 387~389 nm에서 흡광도의 증가를 보였으며 파장 407 nm 부근에서 넓은 흡수대를 형성하여 약제가 cytochrome P-450

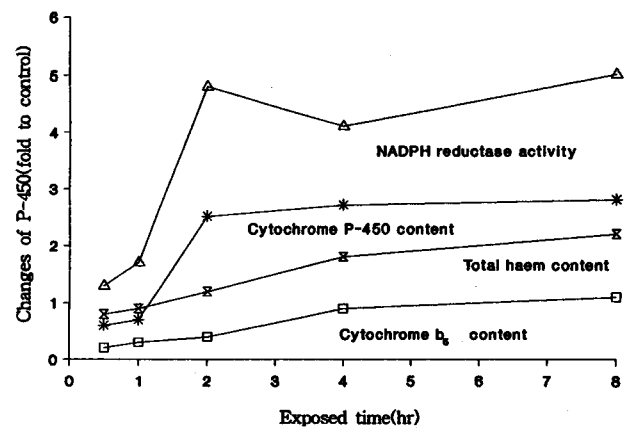


Fig. 1. Plot for changes of cytochrome P-450 components from the mouse liver microsomes exposed to endosulfan. The Components were represented as follows: cytochrome P-450 content; nmol/mg protein, cytochrome b₅ content; nmol/mg protein, NADPH cytochrome P-450 reductase activity; nmol/min/ml, total haem content; nmol/mg protein. All values were means \pm S.E. of 4 replicates.

Table 1. Properties of cytochrome P-450 from the liver microsome following endosulfan treatment^a

λ_{max} of CO-P-450		Content and specific activity of cytochrome P-450				Endosulfan-P-450 absorption spectrum ^b	
Control	Induced	P-450 content (nmol/mg protein)	Cytochrome b ₅ content (nmol/mg protein)	NADPH reductase activity (nmol/min/ml)	Total haem content (nmol/mg protein)	λ_{max}	λ_{min}
451	449,450	1.92 \pm 0.13 (0.58 \pm 0.07) ^c	0.78 \pm 0.17 (0.34 \pm 0.02) ^c	4.89 \pm 0.34 (1.32 \pm 0.17) ^e	2.72 \pm 0.19 (0.87 \pm 0.13) ^f	387 389	407

^aMeans \pm SE of triplicates. ^bThe microsomal protein was 0.52 mg/ml and 10 μ l of acetone and 10 μ l of acetone containing 24.5 mmole to 36.7 mmole of endosulfan were added to reference and sample cuvettes respectively. The absorption was scanned from 350 nm to 550 nm after the base line was adjusted to zero. ^{c,d,e,f}control values.

효소계에 간접적인 영향을 미치는 type I spectrum 형태를 가짐을 알 수 있었다. Endosulfan의 이러한 spectrum은 P-450 활성 중심 ligand에 약제의 구조가 직접 영향을 미쳐 그 효소계를 저해하는 type II¹⁰⁾와는 달리 다른 부위에서 P-450 활성화에 간접적인 영향을 미치는 형태로 생각되었다. Endosulfan은 살충제가 일반적으로 갖는 전형적인 type I spectrum과 유사함으로서 type II spectrum과는 달리 UV의 energy 준위가 높은 파장에서 spectrum이 나타나 energy 준위가 낮고 안정된 P-450의 중심 ligand가 아닌 다른 부위에서 P-450 효소계의 활성화에 영향을 미침을 알 수 있었다.

Cytochrome P-450 효소계의 환원형 CO spectrum도

대조구의 간에서 Fig. 2에 보여준 것처럼 파장 451 nm에서 흡광도의 극대를 보인 반면 endosulfan이 처리된 흰쥐 경우에는 환원형 CO spectrum이 간에서는 파장 449와 450 nm에서 흡광도의 극대를 보여 endosulfan이 간에서 cytochrome P-450 효소계의 새로운 동위효소를 유도하였음을 알 수 있었다. 이는 endosulfan이 cytochrome P-450 효소계의 구성원에 미치는 영향에서와 일치한 결과를 보여 endosulfan은 P-450 효소계의 유도자로 작용함을 알 수 있었다. 이렇게 유도된 효소들은 endosulfan을 체내에서 제거하는데 중요한 역할을 할 것으로 생각되었다.

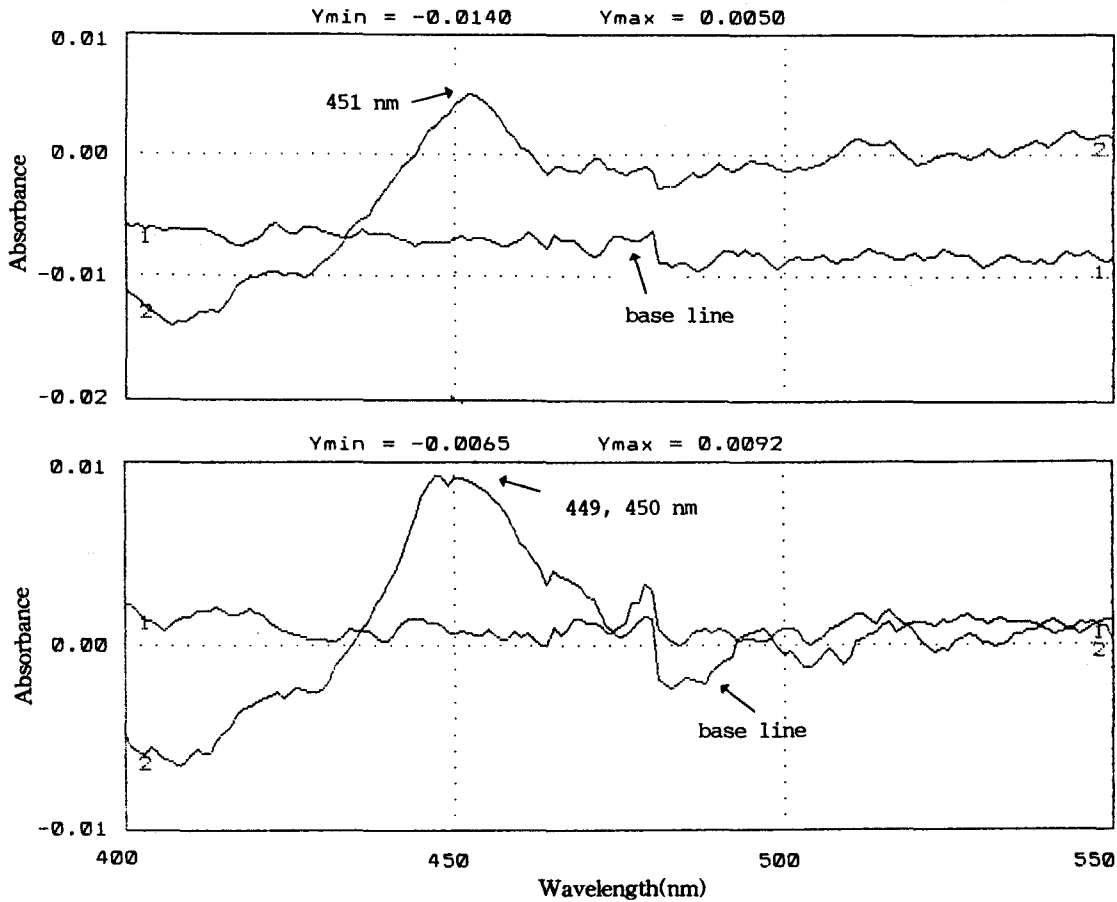


Fig. 2. Reduced P-450-CO absorption spectra of control (upper) and induced liver (below) by the treatment of endosulfan. The liver microsomal suspension (0.56 mg/ml protein) was reduced with 8~10 mg of sodium hydrosulfite and the reduced P-450-CO absorption spectra were obtained from CO(20 bubbles/30 sec) gas addition to sample cuvette after base line was recorded. All results had reproducibility for 4 replicates.

Table 2. Changes in aldrin epoxidase and 7-ethoxyresorufin dealkylase activity in the liver and kidney of the mouse*

Enzymes	Tissues	Activities(nmol/min/mg protein)			
		Control	Endosulfan	P.B.	Endosulfan + P.B.
Aldrin epoxidase	Liver	38.4 ± 4.1	106.7 ± 7.2	12.3 ± 2.0	140.85 ± 12.7
	Kidney	20.6 ± 3.2	43.2 ± 8.2	4.1 ± 1.8	57.7 ± 6.2
7-ethoxyresorufin dealkylase	Liver	18.7 ± 3.2	33.1 ± 4.7	8.4 ± 1.8	54.95 ± 2.9
	Kidney	25.6 ± 7.3	46.7 ± 4.5	12.8 ± 3.2	84.9 ± 13.0

*Mean ± SE of 4 replicates.

Aldrin epoxidase 활성의 변화

Endosulfan의 처리에 따른 흰쥐 간의 aldrin epoxidase 활성을 조사하여 그 결과를 Table 2에 나타냈다. Aldrin epoxidase의 활성은 대조구의 활성이 38.4 nmol인데 비해 endosulfan 처리구에서는 106.7 nmol로서 2.8배 증가하였다. 또한 신장의 aldrin epoxidase의 활성도 대조구의 20.6 nmol에 비해 endosulfan 처리구에서는 2.1배 증가된 43.2 nmol이었다. 이러한 결과는 endosulfan이 흰쥐 간과 신장에서 cytochrome P-450 aldrin epoxidase의 활성을 유도함을 시사하였다. Aldrin epoxidase의 활성은 신장에서보다 간에서 높게 나타났으며 cytochrome P-450 효소계의 유도효과에서 나타난 결과처럼 간에서는 2가지 새로운 동위효소를 유도함으로써 endosulfan은 간에서 높은 효소효과를 가짐을 시사하였고 여기서 유도된 효소들은 aldrin epoxidase의 활성에 관계될 수 있다는 생각을 할 수 있었다. 한편 이러한 aldrin epoxidase 활성에 미치는 piperonyl butoxide와 endosulfan과의 관계를 조사한 결과 piperonyl butoxide만을 처리한 간의 이 효소의 활성이 12.3 nmol 그리고 신장에서는 4.1 nmol로서 32%와 22%로 감소하여 piperonyl butoxide는 aldrin epoxidase의 활성을 강력히 저해함을 알 수 있었다. 하지만 piperonyl butoxide와 endosulfan을 동시에 처리하였을 경우에는 이 효소의 활성이 간에서는 140.8 nmol 그리고 신장에서는 57.7 nmol로 나타났다. 이 때의 활성은 무처리구에 비해 간에서는 3.7배까지 신장에서는 2.9배까지 증가하였다. 이는 endosulfan이 cytochrome P-450 효소계에 대해 유도자로 작용한다는 결과로 비추어 볼 때 piperonyl butoxide가 세포질과 막 사이의 endosulfan의 투과성을 증가시켜 endosulfan으로 하여금 cytochrome P-450 효소계의 활성을 더욱 증가케 하는데서 비롯되는 것이라 생각되었다. Kamienski 등¹²⁾은 piperonyl butoxide가 약제의 대사에 있어서 초기에는 저해하는 경향을 나타내나 나중에는 효소활성을 증가시키므로써 대사를 오히려 촉진시킨다고 보고한 바 있다. 이에 본 실험의 결과도 이와 같으리라 생각되었다.

7-Ethoxyresorufin dealkylase 활성의 변화

Endosulfan의 처리에 따른 흰쥐 간과 신장의 7-ethoxyresorufin dealkylase 활성의 변화는 Table 2에 나타낸 것처럼 흰쥐 간의 경우 endosulfan 처리구가 33.1 nmol로서 대조구의 18.7 nmol 보다 1.7배 증가하였으며 신장의 경우 또한 대조구의 25.6 nmol에 비해 약제 처리구에서 46.7 nmol로서 1.8배 증가하였다. 이 결과 또한 endosulfan이 cytochrome P-450 효소계를 유도함을 의미하였으며 7-ethoxyresorufin dealkylase의 활성에 미치는 piperonyl butoxide의 영향도 이 효소활성이 piperonyl butoxide 처리구에서 대조구에 비해 간에서는 45% 그리고 신장에서는 50%로 감소함을 알 수 있었다. 하지만 endosulfan과 piperonyl butoxide를 동시에 처리하였을 때에는 7-ethoxyresorufin dealkylase의 활성이 간에서는 2.9배까지 신장에서는 3.3배까지 증가하여 aldrin epoxi-

dase 활성의 변화와 유사한 결과를 보였다. 이러한 결과들은 모두 endosulfan의 cytochrome P-450 효소계에 미치는 영향이 이 약제가 흰쥐 체내에 유입된 양과 깊은 관련이 있을 것으로 생각되었으며 piperonyl butoxide의 처리에 의해 나타날 수 있는 cytochrome P-450 효소계의 저해도 체내에서 점차적으로 유도자 역할을 하는 endosulfan의 영향으로 충분히 극복되어 효소활성이 더욱 증가되었을 것이라는 추측이 가능했다.

감사의 글

본 논문은 1994년도 한국학술진흥재단의 연구비(02G 0163) 지원으로 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Hayes, A. W. (1989) In 'Metabolism: A Determinant of Toxicity', Principles and Methods of Toxicology, 2nd Ed., Chap. 2, Revin Press, New York.
- Shewen, H. and G. G. Gibson(1971) Differential induction of cytochrome P-450 and cytochrome P-450-dependent arachidonic acid metabolism by 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl in the rat and the guinea pig. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **108**, 86-95.
- Cabanne, F., D. Huby, D. Gallardon, R. Scalla and F. Durst (1987) Effects of the cytochrome P-450 inactivator 1-aminobenzotriazole on the metabolism of chlortoluron and isoproturon in wheat. *Pestic. Biochem. Physiol.* **28**, 371-380.
- 이강봉 (1994) 잉어(Cyprinus carpio L.) 체내 endosulfan의 대사와 radioimmunoassay(RIA)에 의한 잔류분석법의 개발. 전남대학교 박사학위 논문.
- William, P. N. and E. L. Patrica and E. M. Donald (1989) Selective inhibition of cytochrome P-450 isozymes by the herbicide synergist tridiphane. *Pestic. Biochem. Physiol.* **35**, 42-49.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough and R. J. Randell (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Omura, T and R. Sato (1964) The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370-2378.
- 심재한 (1988) 살충제 분해에 관여하는 골벌의 효소활성에 관한 연구. 전남대학교 박사학위 논문.
- Tyagi, S. R., K. Sriram, S. Narayam and U. K. Misra (1985) Induction of cytochrome P-450 and phosphatidylcholine synthesis by endosulfan in liver of rat: Effects of quality of dietary proteins. *J. Environ. Sci. Health Bull.* **20**, 651-664.
- Toshiyaki, K. (1988) Structural studies of the vinyltriazole fungicide diniconazole(ER Pure) related to its binding to cytochrome P-450. *J. Agric. Food. Chem.* **36**, 344-349.
- Kamienski, F. X. and S. P. Murphy (1971) Biphasic effects of methylenedioxyphenyl synergists on the action of hexobarbital and organophosphate insecticides in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **18**, 883-889.

Effects of Endosulfan on Cytochrome P-450 Enzymes in Mouse(*Balb/c*.)

In-Seon Kim, Kang-Bong Lee, Jae-Han Shim and Yong-Tack Suh*(*Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea*)

Abstract: To investigate the effects of endosulfan on cytochrome P-450 enzymes in mouse(*Balb c.*), endosulfan was given by an intraperitoneal dose of 7.5 mg/kg. The treatment of endosulfan increased the cytochrome P-450 content by 3.3 to 4.2 fold, cytochrome b₅ content by 2.3 to 3.8 fold, NADPH cytochrome P-450 reductase activity by 5.3 to 6.4 fold and total haem content by 3.1 to 3.6 fold of mouse liver after 48 hrs of intraperitoneal injection. Endosulfan-cytochrome P-450 absorption spectrum exhibited maximum at 387nm and 389 nm and broad near 407 nm in the liver microsome. Reduced P-450-CO spectrum of the liver microsome exposed by the treatment of endosulfan showed maximum at 449 nm and 450 nm compared to that of the control having maximum at 451 nm, which indicated endosulfan induced cytochrome P-450 new isozymes. Aldrin epoxidase activities in the mouse liver and kidney were increased by 2.8 and 2.1 fold by the treatment of endosulfan. Also 7-ethoxyresorufin dealkylase activities in the mouse liver and kidney were elevated by 1.7 and 1.8 fold by treatment of endosulfan.

*Corresponding author