

간디스토마에 작용하는 천연물 및 그 유사체

안 병 준 · 이 재 구*

충남대학교 약학대학 · *전북대학교 농과대학 수의학과

(Received September 30, 1986)

Anthelmintic Natural Products against *Clonorchis sinensis* and the Analogues

Byung Zun Ahn and Jae Ku Rhee*

Department of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy Chungnam National University, Taejon 300-31,

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture Jeonbuk National

University, Chunjuo 520-00, Korea

Abstract—Among 230 species of herbal drugs screened, thirty one show the anthelmintic activities *in vitro* against *Clonorchis sinensis*, the chinese liver fluke. The active substances have been isolated and their structures identified. Some of the active substances and their derivatives have been synthesized, followed by anthelmintic activity tests. The extracts from the active drugs cause damages in organs of the adult worm in the hepatic duct of rabbit. Some fresh water fish, which function as bad hosts for the fluke, excrete defense substances against the cercaria of the fluke. The defense substances have been isolated from *Cyprinus carpio* and *Cyprinus carpio nudus*, followed by structural identification. The results are summarized as follows: 1) The bark of *Machilus thunbergii* as well as the seed of *Schizandra chinensis* contain meso-dihydro-guaiaretic acid as the anthelmintic component. Among derivatives synthesized, 4-phenyl-1-((3,4-dihydroxyphenyl)-, 4-phenyl-1-(3-hydroxy-4-methoxy phenyl)-and 4-phenyl-1-(4-hydroxy-3-methoxy phenyl)-2,3-dimethyl butanes show considerable activities. Administration of the bark extract mainly damages the bladder of the adult worm. 2) The active substance from the roasted fruit of *Prunus mume* is 2-hydroxymethylfurfural. This substance is produced during the roasting process. Administration of the fruit extract causes a damage of the bladder of the adult worm. 3) The active substance from the root of *Scutellaria baicalensis* is 5,2'-dihydroxy-6,7,8,6'-tetramethoxyflavone. 4) Beside alantolactone, a very strong anthelmintic component is contained in the root of *Inula helenium*. Administration of the root extract causes irreversible damage on the worm, affecting mainly the reproductive organs. 5) The cercaricidal substances from the epidermis of *C. carpio* and *C. carpio nudus* are ethyl linoleate and linoleic acid, respectively. 6) The cercaricidal substances from various kinds of fresh water fish have different R_f values, implying that the defense substances are species-specific. Unexpectedly, the fish with good host function, for example *Pseudorasbora parva*, excrete the defense substances, too. The defense substances are possibly organ-specific in individual species; the organs essential for the existence of the species excrete the defense substances, allowing other parts to be invaded by the cercaria. 7) The cercaricidal fraction of *Carassius carassius* is detected only in the fish which have been collected during the summer time from May to September. Its secretion is not dependant on water temperature. Thus, it seems to be possible that the secretion of the defense substance would be stimulated through a contact between the fish and cercaria.

간 디스토마(*Clonorchis sinensis*, 간흡충)는 동남아와 극동지역에 널리 분포되어 있는 간 기생충이다. 특히 중국대륙의 남부, 인도지나, 한국, 일본 등지가 심하게 오염되어 있는 지역이다. 이 기생충에 감염되어 있는 환자의 수는 전

세계적으로 2천만명이 넘는 것으로 추산되고 있다. 정확한 통계적 뒷받침은 없지만 국내에 만도 100만명의 감염자가 있다고 되어있다.

국내에서 감염율이 가장 높은 곳은 김해의 강변 및 호수변으로 주민의 70%이상이 감염되어

있다고 한다. 제 1 중간 숙주인 왜우렁 (*Parafosarulus manchouricus*)이 서식하지 않은 제주지방과 38이북지역에는 간흡충이 발견되지 않고 있다.

1874년 McConnel이 한 중국인의 담관으로부터 간흡충의 성충을 발견하였고, 1910년 Kobayashi는 참붕어등 민물고기가 중간숙주의 역할을 하고 있음을 발견하였다. 1918년에 가서 Muto는 민물에 서식하는 왜우렁이 제 1 중간숙주의 역할을 한다고 보고하였다.

숙주는 사람을 위시하여 고양이, 토끼, 쥐, 개등 인간의 생활주변에 있는 동물들이다. 이와 같은 숙주의 다양성을 고려할때 인체로부터 간디스토마를 제거한다 하더라도 이들 동물이 감염되어 있는 한 재감염의 위험을 면하기는 어려울 것이다.

간흡충의 감염이 심하면 총체의 담도차단으로 인하여 황달현상이 일어나며 총체의 기계적 및 화학적 자극에 의하여 간염이 유발되며 간세포의 변성 간경변 때로는 간암으로 까지 발전되기도 한다.

필자들은 이 기생충에 작용하는 새로운 구충제 개발을 위한 기초연구로서, 고래로 한방 또는 민간에서 간디스토마의 구제목적으로 사용해 오던 약재를 포함한 생약 232종을 선택 살충작용 스크리닝을 행하였고 그중 작용이 강한 31종의 생약에 대하여는 약화학적 연구를 행하고 있다 (Table I)¹⁾.

회충, 촌충 등 일반적으로 문제가 되고있는 기생충에 작용하는 천연물에 대한 연구²⁾는 활발하게 진행되어 왔으나 간흡충에 대한 연구는 찾아 보기 힘들다.

1962년 김 등³⁾은 목향에서 분리한 alantolactone이 시험관내에서 간흡충의 성충에 대하여 강한 살충성을 보인다고 하였고, 진등^{4,5)}은 잉어, 금붕어등 민물고기의 점액층이 간흡충의 유미유충을 살충시키고 있음을 관찰하였다. 1980년 소 등⁶⁾은 감주대 (*Lysimachia clethroides*)의 부탄올 추출물이 간흡충에 대하여 살충성을 보인다고 보고하였다.

필자 등은 현재까지 천연으로 부터 분리한 간

Table I—Anthelmintically active oriental drugs on *Clonorchis sinensis*.

Drugs	MC	CE	AD
<i>Aconitum koreanum</i> (ro)	180'	60'	>5*
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (rh)	60'	41'	55'
<i>Angelica koreana</i> (ro)	20'	4'	72'
<i>Artemisia asiatica</i> (hb)	120'	60'	>5*
<i>Aster tataricus</i> (ro)	5'	1'	12'
<i>Bletilla striata</i> (ro)	160'	45'	>5*
<i>Bufo bufo</i> (an)	5'	30''	79'
<i>Cassia tora</i> (se)	130'	50'	120'
<i>Chrysanthemum indicum</i> (fl)	90'	9'	39'
<i>Cremastra variabilis</i> (ro)	40'	20'	>5*
<i>Cynanhum atratum</i> (ro)	108'	40'	>5*
<i>Cyrtomium fortunei</i> (rh)	15'	5'	89'
<i>Dictamnus dasycarpus</i> (rh)	40'	30'	>5*
<i>Forsythia suspensa</i> (fr)	60'	45'	>5*
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (ro)	90'	5'	50'
<i>Inula helenium</i> (ro)	90'	25'	11'
<i>Machilus thunbergii</i> (ba)	5'	30''	31'
<i>Phytolacca esculenta</i> (ro)	20'	12'	37'
<i>Platycodon grandiflorum</i> (ro)	5'	1'	4'
<i>Polygala tenuifolia</i> (le)	1'	1'	15'
<i>P. tenuifolia</i> (ro)	3'	10'	10'
<i>Prunus mume</i> (r-fr)	5'	10'	25'
<i>Pueraria thunbergiana</i> (ro)	5'	19''	8'
<i>P. thunbergiana</i> (fl)	10'	1'	20'
<i>Raphanus sativus</i> (se)	35'	25'	5*
<i>Schizandra chinensis</i> (se)	2'	1'	8'
<i>Scutellaria baicalensis</i> (ro)	4'	5'	49'
<i>Smilax glabra</i> (rh)	2'	2'	15'
<i>Sophora angustifolia</i> (ro)	31'	17'	>5*
<i>Thesium chinensis</i> (-)	30'	10'	3*
<i>Zanthoxylum piperitum</i> (ro)	30'	10'	>5*

The activity was expressed as time to death of all the worms tested. MC=excystized metacercaria, CE=cercaria, AD=adult worm, ro=root, rh=rhizome hb=herb, an=animal, se=seed, fl=flower, fr=fruit ba=bark, le=leaves, r-fr=roasted fruit. ' =minute ' =second, * =hour

디스토마 살충물질 및 그 살충작용, 물질의 구조 결정 및 합성, 그리고 작용역기스로 부터 얻어진 결과를 여기에 보고할 것이며, 그중 민물고기로 부터 얻은 결과는 간디스토마와 그의 숙

주와의 관계를 설명하는 데 도움이 될 뿐만 아니라 물질의 정체가 밝혀지면 이 또한 역과학적 가치가 있는 것이므로 아울러 여기에 기술하기로 한다.

생물시험—여기에 기술하는 방법은 이 등³³⁾의 방법에 의한 것이다.

1) 간흡충의 유미유충(Cercaria of *Cl. sinensis*)—경남 김해호수에서 7월에 채집한 왜우렁(*Parafossarulus manchouricus*) 20마리씩을 250ml크기의 무색유리병에 가하고 실온에서 방치하면서 유미유충이 유출되는지 수시로 점검하였다. 유미유충이 유출되면 3시간 이내에 실험을 행하였다. 유미유충 평균 10마리씩을 생리식염수와 더불어 시계접시에 넣고 해부현미경하에 보이게 할 후 약재의 추출물, 분획 또는 단리한 물질을 가하여 충의 반응, 살충시간등을 관찰하였다. 물에 잘 녹지 않는 물질과 추출물은 polyethylene-glycol 400으로 현탁시켜 사용하였다.

2) 간흡충의 피낭유충(Metacercaria of *Cl. sinensis*)—김해호수에서 7월 중에 채집하였던 길이 3~7cm의 참붕어(*Pseudorasbora parva*) 200마리를 3~4mm 크기로 분쇄하고 인공위액과 혼합한 후 36°C에서 1시간 소화시킨다. 소화가 끝난 다음 생리식염수를 가하여 희석하고 방치한 후 상징액을 따라 버린다. 하층의 찌꺼기는 생리식염수로 계속 세척하여 피낭유충을 정선한다. 생리식염수중의 피낭유충은 4°C의 냉장고에서 3개월 간보관하면서 사용할 수 있었다.

3) 탈낭유충(Excysted Metacercaria)—위에서 얻은 피낭유충을 인공장액에 가한 후, 35°C에서 30분간 탈낭시켰다. 20마리씩의 탈낭유충을 생리식염수 5ml와 같이 시계접시에 가한 후 여기에 약물을 넣고 살충과정과 살충시간을 기록하였다.

4) 성충(Adult Worm)—위에서 얻은 피낭유충 평균 500마리씩을 평균체중 2kg의 집토끼에게 경구감염시켰다. 감염후 29일이 지나면 도살하여 담관을 분리하고 이를 압착하여 성충을 얻었다. 살충시의 관찰방법은 탈낭유충의 경우와 같다.

엑기스의 제조, 분획과정, 구조 결정 방법 등

은 필요한 경우 해당 형에서 기술할 것이다.

후박나무 껍질(*Machilus thunbergii*) 및 **오미자**(*Schizandra chinensis*)—후박나무 껍질은 한방에서 주로 복통, 소화불량에 사용한다. 이 식물은 *Magnolia officinalis*와 혼동하여 사용하고 있는 고로 시중에서 구입한 약재는 채집한 약재와 비교확인한 후 사용하였다. 후술하겠지만 동속인 *Machilus edulis*에서 분리된 meso-dihydroguaiaretic acid도 이식물에 함유되어 있으므로 chemotaxonomic한 면에서도 약재는 확인되었다.

한방경험확장⁷⁾에 보면 마산 진주등지에서 사용한 토질병(간디스토마의 한방명) 처방중 후박이 한 성분으로 포함된 것을 알수 있었다.

구입한 약재를 분쇄한 다음 그중 200g을 취하여 물 1000ml와 섞고 2시간동안 끓인 다음 삼베포로 압착여과하고 여액을 비이커에 넣고 가열하여 200ml가 되게 한다. 이 액 3ml씩을 감염토끼 3마리에 각각 하루 2회씩 30일간 경구투여하였다. 투여 5일 전부터 약물투여가 끝날 때까지 EPG(eggs per g분뇨)값을 계속 측정하였다. Fig. 1을 보면 약물투여전 총난수 310개였던 것이 투여 6일째에는 1,016개 그리고 투여가 끝난 32일째는 474개였다. 이 결과로 보아 후박나무 껍질에서 얻은 탕은 32일간의 투여로 생체내 성충을 제거하지 못함을 알 수 있다. 그러나 약물투여 후 채취한 성충들의 방광은 심하게 확장되어 있었다.⁸⁾ Table I에서 볼수 있는 마와 같이 시험관내의 살충작용이 강한 것을 같이 고려할 때

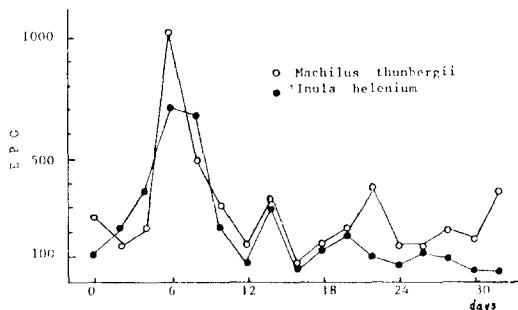
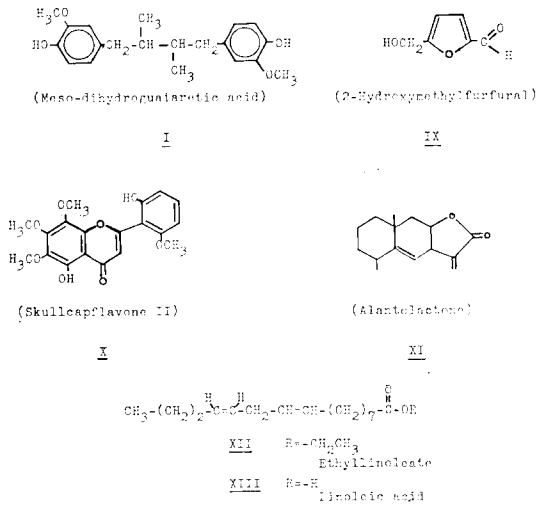


Fig. 1—EPG change of *Clonorchis sinensis* after administration of the extract of *Machilus thunbergii* and *Inula helenium*.



Scheme 1—Clonorchicidal natural products.

3개월, 6개월 등 장기투여의 효과를 관찰할 필요가 있다고 생각된다.

용매분획과 생물실험을 연결하여 얻은 용매분획 중 에테르 추출분이 가장 강한 살충성을 나타내었다. Silica gel column에서 살충물질을 분리하여 NMR, IR, 그리고 본 물질 및 그 유도체의 용점비교 등 방법으로 구조를 동정하였던 바, meso-dihydroguaiaretic acid (I, Scheme 1)이었다.⁹⁾ 이 물질은 동속인 *M. edulis*¹⁰⁾과 기타 식물로부터도 분리된 바 있다.¹¹⁻¹³⁾

오미자를 간혹충에 사용하였다는 기록이나 보고는 없다. 오미자의 한방적 응용에 보면 눈을 맑게 하는 작용(명목작용)이 있다고 되어 있다. 이는 기생충에 의한 황달현상에 유효함을 뜻한다고 해석할 수 있을 것이다.

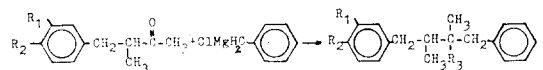
Table I의 시험관내 살충실험 결과를 보면 오미자의 탕제가 간디스토마성충을 8분내에 살충시키는 비교적 강한 작용을 갖고 있음을 알 수 있다. 오미자를 석유에테르, 에테르, 초산에틸로서 차례로 추출하여 살충실험을 행하였던 바, 에테르분획이 강한 살충성을 보였다. 에테르분획을 silica gel column상에서 분획하여(아세톤/벤젠 (1:9)) 살충성분을 얻었다. 후박나무의 경우와 같은 방법으로 구조를 결정하였던 바, 이 물질 역시 meso-dihydroguaiaretic acid였음을 알

았다. 이 물질은 오미자로부터 분리된 바 있다.¹²⁾ 오미자중에는 이 물질의 구조와 유사한 lignan 계화합물이 다양하게 함유되어 있다.¹⁴⁾ 이들 물질의 살충성여부를 알아보고 구조와 작용간의 관계를 관찰해 볼 필요가 있을 것이다.

이 물질은 그 구조로 보아 합성에 어려움이 없을 것으로 생각되었다. 이 물질을 탈메틸화하여 얻어질 수 있는 물질인 nordihydroguaiaretic acid는 식품의 산화방지제로 사용하므로 그 합성법이 개발되었다.¹⁵⁾ 그러나 이 합성법은 대칭성 diarylbutane계 화합물을 합성하는 방법이어서 여기에서 계획하고 있는 비대칭성 diarylbutane의 합성에는 응용할 수가 없었다. Scheme 2¹⁶⁾에 표시한 방법은 대칭성 및 비대칭성 물질 모두를 합성할 수 있는 장점을 갖고 있다. 이 방법을 개략해보면 물질 II와 같은 3-methyl-4-substituted phenylbutane과 substituted benzylmagnesium-halide를 반응시켜 물질 III과 diphenylbutanol을 얻고 그 수산기를 제거하여 diphenylbutane계 화합물을 얻는 것이다.

이렇게하여 합성한 물질들의 간혹충에 대한 살충성을 검토하였으며 그 결과는 Table II에 표시하였다. 여기에서 보듯이 물질 V, VI 및 VIII은 1시간 이내에 성충을 사멸시켰으나 물질 III 및 VII은 유의한 작용을 보이지 않았다.

이 물질들의 구조와 작용간의 관계를 보면, phenyl의 4번 탄소에 수산기를 갖는 것이 4번 위치의 것보다 강한 작용을 갖고, 3,4 위치에 두 개의 수산기를 갖는 것이 가장 강했다(물질 VI). 이 결과로 미루어 불대 diarylbutane이 살충작용을 갖기 위하여는 치환된 oxy기의 종류(OH, alkyloxy), 수 및 위치가 매우 중요한 역할을 하



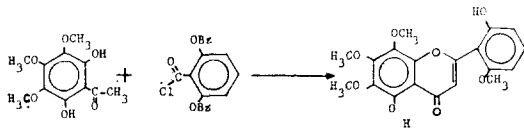
- III: R₁=OBz, R₂=OCH₃, R₃=OH
 V: R₁=OH, R₂=OCH₃, R₃=H
 VI: R₁=R₂=OH, R₃=H
 VII: R₁=R₂=OCH₃, R₃=H
 VIII: R₁=OCH₃, R₂=OH, R₃=H

Scheme 2—Synthesis of diarylbutanes.

Table II—Wormicidal effect of synthesized diaryl butanes on the adult worms of *C. sinensis*.

Substance	C(mg/ml)	DM	DW
III	1.0	—	>1hr
V	1.0	1hr	<1hr
VI	1.0	25min	1hr
VII	1.0	—	>1hr
VIII	1.0	34min	1hr
Control	0.0	—	>72hr

C: concentration, DM: Disappearance of movement, DW: Death of all the worms.

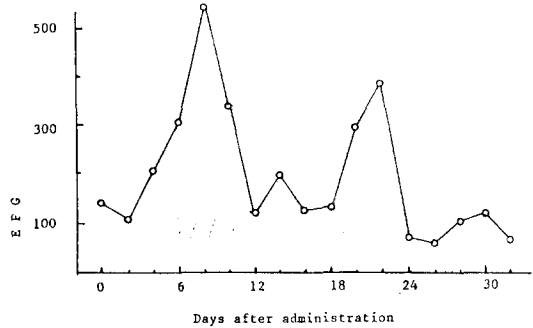
**Scheme 3**—Synthesis of 5,2'-dihydroxy-6,7,8,6'-tetramethoxyflavone (X).

고 있음을 알 수 있다. 구조와 작용간의 관계정립을 위하여는 보다 체계적이고 광범위한 연구가 필요하다.

오매 (the roasted fruit of *Prunus mume*)—

오매는 풋매실을 항아리에 넣고 진흙으로 봉합 겹게될 때까지 장작불위에서 가열한 것이다. 오매는 한방에서 회충구제의 목적으로 자주 쓰이는 약재중의 하나이다. 오매는 신맛을 내는 주성분으로서 구연산을 다량 함유하고 있으며¹⁷⁾, 이산은 malic acid와 더불어 오매의 항결핵 작용과 관련된다는 보고도 있다.¹⁸⁾ 이외에 naringenin, mumenin 등 후라본오이드성분¹⁹⁾과 포도당, trehalose 등 당²⁰⁾도 함유되어 있다.

Table I에서 보듯이 오매는 간흡충의 유미유충을 10분 이내에, 탈낭유충을 5분 이내에 그리고 성충을 25분에 살충시킨다. Fig. 2의 EPG테이타를 보면 투여전의 층난수가 평균 139였던 것이 투여후 8일째에는 최고치인 537개를, 그 이후 점차 감소하여 약물투여 전의 수치에 접근하다가 22일째는 다시 380개로 상승되었다가 32일째는 67개를 기록하였다. 약물투여 32일째의 토끼로부터 성충을 분리하여 조직학적 검사를 행한 결과 후박나무의 경우에서와 마찬가지로 방광이 심하게 확장되어 있음을 볼 수 있었다.

**Fig. 2**—EPG change of *Clonorchis sinensis* after administration of the extract of *Prunus mume*.

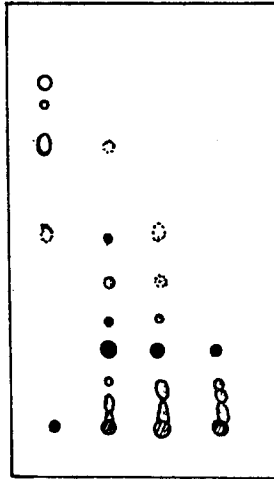
오매로부터 작용물질을 분리하기 위한 첫단계로서 용매분획을 행하였다. Table III에 나타나 있듯이 순차적으로 추출한 용매분획중 식유에테르 분획은 살충작용을 보이지 않고 있으며, 에테르, 초산에칠분획 그리고 남아있는 물층은 작용을 나타내었다. 이와 같이 살충작용이 에테르 초산에칠 및 물에 분산되어 있는 것으로 보아 작용물질은 2종이상으로 존재할 가능성이 있다.

가장 강한 작용을 갖고 있는 에테르층을 silica gel column상에서 분리하여 살충시험을 행한 결과, R_f 치 0.29와 0.42를 갖는 물질이 살충작용을 나타내었다(Fig. 3). 보다 극성인 R_f 치 0.29의 물질은 그 대다수가 초산에칠층에, 소량이 물층에 존재함을 알 수 있다. 그러므로 이들 분획의 살충성은 적어도 부분적으로는 이물질의 존재에 기인한다고 보아야 할 것이다. 에테르층에 축적되어 있는 R_f 치 0.42의 물질은 그양이 극미하여 분리가 어려웠다.

Table III—Wormicidal effect of *P. mume* extracts on the excysted metacercaria of *C. sinensis in vitro*.

Fraction	DOM	DW
Control	—	>72hr
Petr.ether Ex	—	>10min
Ether Ex	10sec	1min
Ethyl acetate Ex	1min	2min
Water Ex	2min	4min

Dom: Disappearance of oral sucker movement, DW: Death of all the worms.



○ : Yellow ● : Orange

Fig. 3—TLC pattern of the solvent fractions from the roasted fruit of *Prunus mume*. Silica gel 60G plate in chloroform/methanol(19:1), visualised with 2,4-dinitrophenylhydrazine test soln. From the left, petroleum ether ex, ether ex, ethylacetate ex and water ex.

R_f 치 0.29의 물질은 2,4-dinitrophenylhydrazine(DNPH)와 반응하여 짙은 오렌지색을 나타내었으므로 이물질은 공액상태의 알데히드, 또는 반응성이 높은 케톤에 속할 것이다.

분광학적 방법으로 그 구조를 확인한 바 이물질은 치커리 차(*Cichorium intybus*의 뿌리를 볶아서 분쇄한 것)에도 함유되어 있는²¹⁾ 2-hydroxymethylfurfural(K, scheme 1)이었다.²²⁾ 이 물질은 알려진 방법으로 합성하였으며, 합성물질을 감압토끼에 경구투여한 후 총체의 민화를 관찰하였던 바 총체는 당채 때보다 더 심한 손상을 입었음을 알 수 있었다. Table IV에서 볼 수 있듯이 총체의 86%에 이상이 있었으며 주 손상기관은 생식기계통으로서 59%였다.

이물질은 포도당 및 이물 함유하는 다당류를 산존제하에 가열할 때 생성되는 일반적으로 알려진 사실이다. 청매중에는 구연산 등 산도가 강한 유기산이 다량 함유되어 있었으므로 위의 살충물질은 오매의 제조과정에서 생성되었을 것이다.

6월 초순 청매를 수집하여 그 일부를 평량하

Table IV. Morphological changes in the adult of *C. sinensis* by 2-hydroxy methylfurfural *in vivo*.

Status of changes	No. of worms	%
Irregularity in intestinal wall	2	9
Degenerative change of ovary	5	23
Degeneration of testis	2	9
Regurgitation of intest. contents	4	18
Swelling of oviduct	6	27
No. change	3	14
Total	22	100

여 내부온도 90~110°C의 건조기에 넣고 52시간 가열한 후 메탄올엑기스를 만들고 HPLC에 걸어서 2-hydroxymethyl-furfural을 정량하였다. 청매로 환산하여 살충물질 0.8%가 함유되어 있었다. 열처리하지 않은 청매중에는 흔적량 함유되어 있었다. 이 실험의 결과 오매의 간디스토마에 대한 구충력은 청매를 열처리하는 과정에서 생성된 2-hydroxymethylfurfural에 기인함을 알게 되었다.²³⁾ 그러나 이 물질이 오매의 한방적 치료 목표인 회충에 대하여도 작용을 보일 것인지에 대하여는 다시 연구할 필요가 있다고 본다.

황금(*Scutellaria baicalensis*)—황금은 한방의 토질병 처방의 한 성분이다.⁷⁾ 또한 화학요법적 측면에서 보면 황금은 항균성 및 항암성을 갖고 있는 것으로 보고되어 있다.

Table I에 보면 황금의 전제는 유기유층을 5분에, 달남유층을 4분에, 그리고 성층을 49분만에 살충시키고 있다.

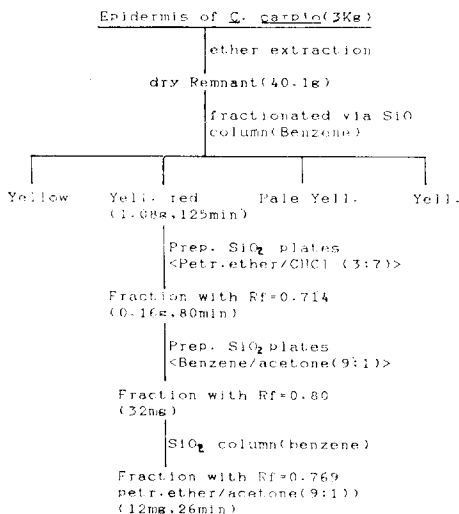
용매분획시 얻은 에테르 분획이 가장 강한 살충작용을 갖고 있었으므로 이를 silica gel column 상에 걸어서 작용물질을 단리 통상적 방법으로 구조를 동정하면 이 물질은 5,2'-dihydroxy-6,7,8,6'-tetramethoxy-flavone(X, scheme 1)이었다.²³⁾ 이 물질은 이미 황금으로부터 분리된 바 있고²⁴⁾ 그 항암작용에 관한 보고도 있다.²⁵⁾ 이 물질은 scheme 3의 방법으로 합성하여 그 작용을 재확인하였다.²⁶⁾ 구충성 생약중 항암성을

Table V—The effects of *Inula helenium* on the organs of *C. sinensis*.

Appearance of organs	Worms(%)
Lack of intestinal Contents	97(90.6)
Dilatation of bladder	101(94.3)
Degeneration of Vitellaria	64(59.8)
Overswelling of vitelline duct	99(92.5)
Degeneration of testis	21(19.6)
Irregularity of inetestinal wall	79(73.8)
Total Number of Worms observed	107(100.0)

Table VI—Wormicidal activity of *Inula helenium* fractions on the excystized metacercaria of *C. sinensis*

Fractions	Time to death of worms
FI	4 min
FII	5 min
FIII	15 sec
FIV	14 min
control	>10 hr

**Fig. 5**—Fractionation of the clonorchicidal mucoid layer of *Cyprinus carpio*.

mg: Amount of fraction, min: time required for death of the worms.

를 합하고 재결정하여 alantolactone(XI, scheme 1)을 얻었다. 이때 얻은 alantolactone은 탈낭유

충을 5분에 살충하였고 모액은 이보다 훨씬 긴 살충시간을 갖는 것으로 보아 이 두분획의 주작용물질은 alantolactone임을 쉽게 알 수 있다.

토독향은 그의 *in vitro* 및 동물체내 실험결과로 보아 장기적이고 보다 구체적인 연구의 대상이며 또한 실용화를 위한 좋은 전망을 보이고 있다.

담수어류 표피의 간흡충에 대한 살충성—1964년 전^{4,5)}은 각종 민물고기에 대하여 간흡충의 유미유충의 공격양상을 관찰한 바 있다. 그의 실험결과를 요약하면 다음과 같다. 유미유충은 그의 가장 좋은 숙주로 알려진 참붕어(*Pseudorasbora parva*)의 표피를 용이하게 통과하여 탈낭유충으로 보존되며 잉어, 붕어, 금붕어, 송사리의 표피를 침입하는 유미유충은 표피를 통과하는 도중 대다수가 죽었으며 통과한 몇 마리 정도의 유미유충도 탈낭유충으로 변화되지 못하였을 뿐만 아니라 60일 이상 생존하지도 못하였다. 미꾸라지에는 아예 유미유충이 침입하지 못하였다.

그는 또한 위의 사실들을 보다 구체적으로 관찰하기 위하여 담수어류의 표피를 긁어내어 이들의 간흡충의 유미유충에 대한 살충성 여부를 알아보는 실험을 행하였다. 실험결과 참붕어의 점액은 유미유충을 살충시키지 않은 반면 금붕어 송사리 잉어 붕어의 점액은 모두 3분에서 7분 사이에 유미유충을 살충시켰다.

또한 이^{28,29)}는 참붕어, 큰납지리(*Acheilognathus signifer*)와 묵납자루(*Acanthorhodeus asmuksi*)에 침입한 유미유충이 피낭유충으로 변환후 고기 체내에서 생존하는 기간을 비교 검토하였다. 참붕어의 체내에서는 770일 이상이 되어도 피낭유충의 대부분이 생존한 반면, 큰납지리는 460일, 묵납자루에서는 269일에 모두 변성사멸되었다고 하였다. 또한 그는 어류표피의 조직학적구조와 간흡충의 감염정도와의 관계를 보았는데 숙주기능이 열등한 잉어, 붕어, 금붕어 등의 표피에는 큰봉상세포(clavate cell)가 많이 분포되어 있는데 비하여 참붕어, 묵납자루, 치리, 피라미 등 좋은 숙주의 표피에는 이 세포가 전혀 관찰되지 않았다.

여기까지의 연구결과를 미루어 보아 유미유충의 침입을 거부하는 담수어류의 표피의 곤봉상세포내에는 유미유충을 죽일 수 있는 물질이 함유되어 있음을 알 수 있다.

이물질의 구조와 성상을 알기위하여 연구자들은 참붕어를 비롯하여 몇종의 담수어류로 부터 살충성물질의 분리를 시도하였다.

1) 잉어(*Cyprinus carpio*)³⁰⁾ 및 향어(*Cyprinus carpio nudus*, 이스라엘 잉어)³¹⁾ 표피의 살충물질—1982년 3월부터 7월사이에 시장에서 10회에 걸쳐 전량 80kg의 잉어를 구입한 후, 표피와 진피만을 박리하여 잘게 만든 다음 에테르로 추출하고 추출물은 4°C의 냉장고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 이 추출물을 silica gel column 상에 가하고 분획하여 석유에테르, 아세톤(9:1)에서 R_f 치 0.769를 갖는 살충물질을 분리하였다(Fig. 4). 각 분리단계에서 얻어진 활성분획의 양과 살충성을 비교해 보면 분리가 진행됨에 따라 실제살충성은 감소되는 추이를 보이고 있다. 예컨대 residue 1의 양에 대한 살충시간의 비가 $125/1080\text{mg}=0.115$ 분이던 것이 마지막 residue 4에서는 2.16분이었다. 이와 같은 관찰 결과는 분리가 되기 이전의 분획 중에는 현재 추적하고 있는 살충물질 이외 또 다른 살충물질이 존재하여 서로 상가 작용을 나타내든지 또는 살충작용은 없으나 살충물질의 작용에 상승효과를 주는 물질이 존재함을 뜻한다. 이와 같은 현상은 곤충의 pheromone, attractant 등에서 흔히 볼 수 있다.

분리된 물질은 silica gel 박막상에서 단일점을 나타내는 유상의 물질로서 그의 IR 및 NMR 스펙트럼을 해석한 결과와 표준스펙트럼과의 비교에 의하여 이 물질은 ethyllinoleate(XII, scheme 1)임이 확인되었다. 시약급 ethyl linoleate를 사용하여 살충실험을 행하여도 같은 결과를 얻었다.

잉어의 변종으로서, 비늘이 없는 향어(일명 이스라엘 잉어)는 국내의 여러곳에서 사육하면서 식용으로 소비되고 있다. 그러므로 향어의 기생충관계, 특히 한국에 수입된 이래 간흡충과 같은 토질적인 기생충이 감염되는지의 여부를

알아보는 것은 식품으로서의 향어의 관리를 위하여 매우 중요하다고 사료된다. 본 실험에서는 이 연구의 첫 과제로서 소양호 양식장에서 1982년 4월에 산란, 부화, 사육시켜 둔 길이 30mm~40mm의 기생충 미감염 향어를 취하여 일부는 실험실내에서 다른 일부는 김해호수내에서 각각 감염실험을 행하였다.³²⁾ 자연상태의 실험이 더욱 중요하므로 여기에서는 야외실험의 결과에 대하여서만 언급한다.

어망에 평균길이 40mm의 향어 100마리와 평균길이 50mm의 참붕어 70마리를 넣고 여기에 4개의 플라스틱제 빈통을 부착시킨후 호수의 중앙에 띄워 두고 1개월후, 2개월후 향어와 참붕어를 채취하여 감염여부를 판정하였다.

2개월 후 향어와 대조군으로 사용하였던 참붕어 각각 12마리, 23마리씩을 그물로부터 무작위로 채취하여 피낭유충의 형성여부를 현미경하에서 관찰하였던 바, 참붕어 12마리는 모두 감염되어 있었으며 감염된 피낭유충의 수는 978~2,674마리의 범위였으나 향어의 경우 단 한마리도 감염되어 있지 않았다는 사실을 발견하였다. 그 결과는 향어는 간흡충의 중간숙주의 역할을 하지 못함을 말해 준다.

향어로부터 살충성물질을 분리하기 위하여 잉어의 경우와 유사한 방법을 사용하였다. 분리된 물질은 무색의 기름이었으며 silica gel 박막상에서 R_f 0.225(benzene/acetone(9:1))를 나타내었다. 이는 잉어의 살충물질보다 극성이 높은 것이었다. 또 NaOH를 도포한 silica gel 박막을 통과하지 않는데 이는 물질이 유기산이나 페놀성 물질임을 시사한다. IR상에서 보면 3000cm^{-1} 에서 3500cm^{-1} 에 걸친 넓은 흡수대와 930cm^{-1} 에 나타나는 역시 넓은 흡수대가 이물질이 유기산임을 말해준다. IR상으로 보면 이물질은 방향족의 부분구조를 갖고 있지 않다. NMR의 모양은 잉어의 살충물질과 유사하다. 다만 잉어의 경우 4.23ppm에 있었던 2개의 methylene 수소가 없다 이는 다시 말하면 향어의 살충물질에는 ethyl linoleate의 알코올 부분인 에틸기가 없음을 말해 줌으로 이물질은 linoleic acid(XIII, scheme 1)에 해당됨을 쉽게 알 수 있었다.

Table VII—Time required for death of *C. sinensis* by the purified substances from *C. carpio* and *C. carpio nudus*. unit:min

	Cercania	Excysted metacercaria	Adult
subst. C.c.	26	115	443
subst. C.c.n.	5	12	80
control	>200	>600	>24hrs

C.c.=*C. carpio*, C.c.n.=*C. carpio nudus*

7항에서 지금까지 언급된 사실들을 요약하면 잉어의 간흡충유미유충에 대한 방어물질은 ethyl linoleate이며, 향어의 방어물질은 linoleic acid이다.

이 물질들은 모두 탈낭유충과 성충에 대하여도 살충작용을 나타내나 살충시간은 매우 길다 (Table VII). 이 두물질의 살충시간을 비교해보면 향어의 R_f 치 0.225인 물질은 유미유충을 5분에, 탈낭유충을 12분에, 그리고 성충을 80분에 살충하는데 비하여 잉어의 살충물질은 유미유충을 26분에 탈낭유충을 115분에 그리고 성충을 443분에 살충시켰다. 말하자면 linoleic acid가 그의 에칠에스테르보다 강한 살충력을 보이고 있다. 살충강도로 보아 이물질들은 합성구충제와 비교가 되지 않으나 무독성과 생체친화성을 고려해 볼 때 이에 대한 상세한 연구가 요망된다. 그리고 무엇보다도 이와같은 사실의 발견은 간흡충의 생태학적 연구에 기여하리라 생각된다.

2) 붕어 (*Carassius carassius*), 참붕어 (*Pseudorasbora parva*) 및 기타 담수어류의 살충성 물질^{33,34,35)}—Table VIII은 여러종의 민물어류의 살충성 물질을 silica gel 박막상의 R_f 치로 표시한 것이다 (전개용매 : chloroform/petr. ether (3 : 7)). 이표에서 특기해야 할 사항은 좋은 숙주인 참붕어와 피라미도 살충성물질을 함유하고 있다는 것과 (각각 R_f 치 0.15와 0.883의 물질) R_f 치가 각각 상이한 것으로 보아 어류마다 특이한 살충물질이 함유되어 있다는 사실이다. 실상화학구조상 가장 가까운 관계가 7—1항에 언급한 잉어의 ethyl linoleate와 향어의 linoleic acid의 관계라 할 수 있다. 붕어와 금붕어의 살충물질도 이와같은 구조상 미소한 차이를 갖고 있을 것인저

는 앞으로의 연구과제로 남아 있다.

좋은 숙주인 참붕어나 피라미도 유미유충에 대하여 살충성을 보이고 있는데 이와같은 현상은 얼핏보기에 화학적 관계로서의 숙주선택에 있어서 모순이 된다고 생각할 수 있다. 그러나 방어물질이 위에서 본 바와 같이 종특이적이기도 하지만 또한 장기특이적 (organ specific)이라고도 할 수 있다. 유미유충이 용이하계 침입하는 참붕어일지라도 눈, 뇌부위, 생식기부위등 유미유충의 감염으로 인하여 개체 또는 종족유지에 치명적인 손상을 초래하는 부위에는 방어물질이 분비하는 반면, 기타 넓은 범위의 표피에는 방어물질을 분비하지 않고 있다는 가정을 설정할 수 있다. 이 가정을 증명하기 위한 실험은 계속되고 있으므로 그 결과는 다음 기회에 보고하기로 한다.

붕어의 R_f 치 0.95(석유에테르/클로로폼 (7 : 3) silica gel 박막)을 포함하는 분획 I은 유미유충을 14분에, 탈낭유충을 27분에 그리고 성충을 2시간 30분만에 사멸시킨다.

이물질은 위의 TLC조건에서는 단일물질이나 용매를 바꾸어 에테르/석유에테르 (1 : 9)를 사용하여 전개하는 경우 7개의 물질반점이 확인되었다. 이는 아마 위에서 얻은 살충성분획이 불안정한 물질을 함유하기 때문에 일어나는 현상이라 생각된다. 가스크로마토그래피에서도 물질분리는 성공하지 못하였다.

이 분획은 계절에 따라 붕어표피층의 함량이 변하고 있음도 관찰하였다. Table IX에서 볼 수 있듯이 10월에서 이듬해 4월까지의 R_f 치 0.92~0.96에 해당하는 유미유충의 살충성 분획을 요드증기중에서는 감지할 수 없었으나 5월 부터 9월까지의 이들 분획이 확인되었다. 이 살충분획의 정량법을 마련하기가 어려우나 이 분획들의 살충성의 강도를 보고 이 분획의 존재를 재확인할 수 있었다. 채취한 붕어 점액질 일정량을 정량적 TLC상에 도포하고 전개한 후 R_f 치 0.70상의 분획을 긁어내어 살충실험을 행하였던바 5월부터 9월 사이에 채집한 붕어에서는 그 살충시간이 25~28이었고 기타는 60~103분의 범위였다.

Table VIII—Rf values of the clonorchicidal fractions from the epidermis of some fresh water fishes. <silica gel, CHCl₃/pet. ether(7 : 3)>

Fishes	Rf values	
<i>Cyprinus carpio</i> (잉어)	0.765 ²⁾	0.451 ¹⁾
<i>Parasilus asotus</i> (메기)		0.576
<i>Anguilla japonica</i> (뱀장어)	0.612	
<i>Ophicephalus argus</i> (가물치)	0.709	
<i>Carassius carassius</i> #(금붕어)		0.385
<i>Misgurnus anguillivaudatus</i> (미꾸라지)		
<i>Zacco platypus</i> (피라미)	0.883 ²⁾	0.701 ¹⁾
<i>Pseudorasbora parva</i> (참붕어)		0.15
<i>Carassius carassius</i> ##(미어)	0.937	

Remark; 1) : Including strong wormicidal substance
2) : Including weak wormicidal substance

Table IX—Seasonal effects on the Rf values of clonorchicidal fractions from *C. carassius* and on the death times of *C. sinensis cercaria*.

Month	Rf value 0.90 to 0.97	Death times (min)
January	—	93
February	—	96
March	—	91
April	—	70
May	+	27
June	+	46
July	+	28
August	+	25
September	+	27
October	—	61
November	—	91
December	—	103

+ : positive color reaction in the Rf range in iodine chamber

이와같이 살충성물질의 계절적 변화는 수온과 관계가 있을 것으로 예상하고 수온 23°C의 실험실 수조에서 40일간 붕어를 사육한 후 그 표피에서 살충분획을 확인하려고 silica gel TLC를 행하였다. 살충성물질을 확인할 수 없었다.

결론적으로 붕어는 왜우렁으로 부터 유미유충이 탈출하는 5월 부터 9월 까지 그의 방어물질을 분비하나 이분비는 여름, 평균수온과는 관계

가 없었다. 아마 이물질의 분비는 왜우렁으로부터 탈출한 유미유충 또는 기타 다른종의 유충의 자극에 의한 것으로 생각할 수 있을 것이다. 이와 같은 예상은 Pfeiffer³⁶⁾가 언급한 어류도 자기 자신이 위급한 상황에 처했을 때 경계물질을 분비한다는 이론과 상통한다고 생각된다.

결 론

시판되고 있는 232종의 한약재를 구입하여 간흡충에 대한 살충작용을 검토하였던 바, 그중 31종이 살충효과를 보였다. 이들 31종의 작용생약중 후박나무 껍질, 황금, 오매, 오미자 및 토목향의 작용성분에 대하여는 구체적인 약화학적 연구를 행하였다.

또 한편으로는 담수어류가 함유하는 간흡충에 대한 방어물질의 정체를 규명하는 연구도 행하였다.

이들 연구의 결과를 적어보면 다음과 같다.

1) 후박나무 껍질과 오미자는 다같이 작용물질로서 meso-dihydroguaiaretic acid를 함유하고 있었다. 합성한 유사체들 중 4-phenyl-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2,3-dimethylbutane, 4-phenyl-1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-2,3-dimethylbutane 및 4-phenyl-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2,3-dimethylbutane이 *in vitro* 살충작용을

보였다.

후박나무 껍질의 탱액을 32일간 간흡충 감염 가토에 투여하였던 바, 성충의 방광이 심하게 손상되었다.

2) 오매의 살충물질은 2-hydroxymethylfurfural이었으며, 이물질 또는 오매의 탱액을 감염가토에 투여하면 방광이 심하게 손상되었다. 청매를 100°C에서 52시간 가열하면 2-hydroxymethylfurfural의 함량이 0.8%나 되는 반면 청매 자체는 흔적량 함유하고 있었다. 이 사실로 미루어 보건대 오매의 살충물질은 오매의 제조과정에서 생성되는 것이 확실하다.

3) 황금의 작용물질은 5, 2'-dihydroxy-6, 7, 8, 6'-tetramethoxyflavone임이 밝혀졌으며 합성하여 그 작용을 확인하였다.

4) 토목향은 작용물질로서 alantolactone과 소량의 구조미상의 물질을 함유하고 있었다. 후자의 함량은 극히 적으나 그 작용의 강도는 전자보다 훨씬 강하였다.

토목향의 탱액을 감염가토에 투여하면 채취된 모든 충체가 손상을 입었으며 심하게 손상된 부위는 생식기계통이었다.

5) 잉어의 표피에 함유되어 있는 간흡충에 대한 방어물질은 ethyl linoleate였으며, 향어의 그것은 linoleic acid였다. 성충과 탈낭유충에 대한 이들의 살충력은 매우 약하였다.

6) 9종의 담수어류의 표피는 각각 R_f 치가 다른 살충분획을 나타내는 것으로 보아 간흡충에 대한 어류의 방어물질은 종특이성을 갖고 있다.

7) 붕어의 살충분획은 5월에서 9월까지 채취한 것에서 확인되었으며, 기온이 낮은 계절에 채취한 표피는 매우 낮은 살충력을 보였다. 살충물질의 분비는 수온과 관계가 없었으므로 이를 위하여는 유미유충의 자극이 필요한 것으로 생각된다.

위에서 얻은 결과들을 보면 서로의 연계성이 결여되어 있다. 살충물질 또는 분획을 얻어서 한방치방 보다 강력한 살충력을 갖는 치방을 구성 이들의 실용성 여부를 판정하는 연구가 필요할 것이다. 동물실험의 결과를 종합하여 보면 투여량, 투여기간과 구충력과의 관계를 규명하

는 작업이 요망된다. 그리고 아직 연구되지 않은 작용약제에 대한 계속적인 연구를 행함으로써 실용화 전략이 보다 구체화될 것이다.

담수어류의 표피에 함유되어 있는 살충성 물질은 성충에 대한 그 작용강도가 매우 약하다. 이 방향의 살충작용 및 살충물질의 발견은 약화학적이기 보다는 오히려 생태화학적 연구에 기초자료를 제공할 수 있다는 데에 그 뜻이 있다 할 것이다.

문 헌

- 1) Rhee, J.K., Woo, K.J., Baek, B.K. and Ahn, B.Z.: Screening of wormicidal chinese rawdrugs on *Clonorchis sinensis*, *Amer. J. chinese Med.* 9, 277
- 2) Steinegger, E., Hansel, R.: *Lehrbuch der Pharmakognosie auf phytochemischer Grundlage*, 3. Auflage, Springer Verlag, pp.447~456 (1972).
- 3) 김종석, 윤병희, 최병길: Alantolactone의 *Clonorchis sinensis*에 대한 살충작용, 대구의학회 잡지 3, 176 (1962).
- 4) 전세규: 간흡충의 감염경로에 관한 실험적 연구 제 2편, 특히 간흡충 cercaria의 담수어류에 대한 감염시험, 기생충학잡지, 2, 1 (1964)
- 5) 전세규: 간흡충의 감염경로에 관한 실험적 연구 제 3편, 각종 어류 체표면 점액물질의 간흡충유충에 대한 살충효력, 기생충학잡지, 2, 12 (1964).
- 6) Soh, C.T., Oh, H.S. and Kim, N.S.: Effect of *Lysimachia clethroides* in vitro on several trematodes and nematodes, *Yonsei Rep. Trop. Med.*, 11, 58 (1980).
- 7) 전국 한방의학 종합연구회편: 한방경험 확산 pp.94, (1968).
- 8) Rhee, J.K., Baek, B.K. and Ahn, B.Z.: Alteration of *Clonorchis sinensis* EPG by administration of herbs in rabbits, *Amer. J. chinese Med.* 13, 65 (1985).
- 9) Ahn, B.Z., Ryu, S.H., Baek, B.K. and Rhee, J.K.: Das anthelmintische Prinzip von *Machilus thunbergii* gegen *Clonorchis sinensis*, *Archiv der Pharmazie* 315, 895 (1982).
- 10) Sengupta, G.C.: *Phytochemistry* 11, 811 (1972)

- 11) King, F.E. and Wilson, J.G.: *J. Chem. Soc.* 4011 (1964).
- 12) Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H.: *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 1583 (1979).
- 13) Gisvoild, O. and Thaker, E.: *J. Pharm. Sci.* **63**, 1905 (1974)
- 14) Ikeya, Y., Taguchi, H. Yosioka, I. and Kobayashi, H.: *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 1383 (1979), *ibid* **27**, 1395(1979), *ibid* **27**, 1576 (1979).
- 15) Pearl, E.A.: *US Patent* 2,644822 (1949)
- 16) 주정숙, 류성호, 유병태, 백병걸, 이재구, 안병준 : 간흡충에 대하여 구충작용을 갖는 diarylbutane 류의 합성, 약학회지 **29**, 183 (1985).
- 17) Nakauchi, K.: Citric acid from aqueous extract of *Prunus mume* fruits, *Japan Kokei*.1665(1950).
- 18) Ma, Y.S. and Roper, R.: Antituberculus principle in *Prunus mume* and *Schizandra chinensis*, *Microchem. Acta* **1**, 167 (1968).
- 19) Hasegawa, M.: Flavonoids of various *Prunus* species, *J. Org. Chem.* **24**, 408 (1959).
- 20) Takizawa, Y., Saito, M., Okuhara, K. and Mitsuishi, T.: Studies on constituents of *Prunus mume*, *Tokyo Gakugei Daigaku Kiyo* **31**, 137 (1979).
- 21) 문현 2의 88쪽 참조.
- 22) 박영실, 류성호, 백병걸, 이재구, 안병준 : 오매의 간디스토마살충성물질에 관한 연구, 약학회지 **29**, 32(1985).
- 23) Ryu, S.H., Ahn, B.Z. and Pack, M.Y.: The cytotoxic principle of *Scutellariae radix* against L1210 cell, *Planta Medica* **355** (1985).
- 24) Takido, M., Aimi, M., Takahashi, S., Yamanouchi, S., Tori, H. and Dohi, S.: *Yakugaku Zasshi* **95**, 108 (1975).
- 25) Ryu, S.H., Ahn, B.Z. and Pack, M.Y.: Antineoplastic natural products and the analogues V. Antitumor activity of Skullcapflavone II, *Archives of Pharm. Res.* **8**, 253 (1985).
- 26) Ryu, S.H., Yoo, B.T., Ahn, B.Z. and Pack, M. Y.: Synthese einiger gegen L1210 Zellen cytotoxischer Flavone, *Archiv der Pharmazie* **318**, 659 (1985).
- 27) Spiut, R.W. and Perdue, R.E.: Plant folklore, a tool for predicting sources of antitumor activity, *Cancer Treatment Reports* **60**, 979 (1976).
- 28) 이재구 : 간흡충의 제 2 중간숙주에 관한 실험적 연구 II. 참붕어, 묵납자루 및 큰납지리 체내에 있어서 간흡충피낭유충의 운명에 관하여, 대한 수의학회지, **13**, 147 (1973).
- 29) 이재구 : 간흡충의 제 2 중간숙주에 관한 실험적 연구 III. 담수어류 표피의 곤봉상세포와 간흡충 피낭유충의 감염도에 대하여, 기생충학 잡지 **12**, **23** (1974).
- 30) 이재구, 이상복, 안병준 : 간흡충에 대한 살충성물질에 관한 연구 V. 잉어표피 점액내 살충성물질의 화학적 성상, 기생충학 잡지 **22**, 127 (1984)
- 31) 이재구, 김평길, 백병걸, 이상복, 안병준 : 간흡충에 대한 살충성 물질에 관한 연구 IV. 이스라엘잉어점액으로부터 살충성 물질의 분획, 기생충학잡지 **21**, 21 (1983).
- 32) 이재구, 김평길, 백병걸, 이상복, 안병준 : 간흡충의 이스라엘잉어에 대한 감염실험, 기생충학 잡지 **21**, 11 (1983).
- 33) 이재구, 백병걸, 안병준, 박영준 : 간흡충에 대한 살충성물질에 관한 연구 I. 붕어점액으로부터 살충성물질 추출시험, 기생충학잡지 **17**, 121 (1979).
- 34) 이재구, 백병걸, 안병준, 박영준 : 간흡충에 대한 살충성물질에 관한 각종 담수어류로부터 살충성물질 추출시험, 기생충학 잡지 II. **18**, 99 (1980)
- 35) 이재구, 백병걸, 안병준, 박영준 : 간흡충에 대한 살충성 물질에 관한 연구 III. 붕어점액으로부터 추출한 살충성물질 의계절적 변화, 기생충학 잡지 **18**, 179 (1980).
- 36) Pfeiffer, W.: Alarmsubstances, *Experimentia* **19**, 113 (1963).