

## 肺吸蟲 成蟲에 대한 Praziquantel의 시험관내 殺蟲作用에 의한 遊離 아미노酸의 定量分析

高麗大學校 醫科大學 寄生蟲學教室 및 熱帶風土病研究所  
卓炳連 · 鄭明淑 · 朱炘煥 · 林漢鐘

### Quantitative Analysis of Amino Acids of *Paragonimus Westermani* Treated with Praziquantel *in Vivo* and *in Vitro*

Byung-Yun Tak, Myung-Sook Chung, Kyoung-Hwan Joo, Han-Jong Rim  
Department of Parasitology, Institute for Tropical Endemic Diseases  
College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

#### = ABSTRACT =

The amino acid constituents of *Paragonimus westermani* were very imperfectly known. Lee(1964) detected 9 amino acids in the tissue hydrolysates of *P. westermani*. and 13 amino acids were detected from the cyst content and body fluid constituents of *P. ohirai*. But, the quantity of amino acids in *P. westermani* is still unknown.

In the present investigation 18 amino acids, the fundamental constituents of proteins, were quantitatively studied by high performance liquid chromatography.

The results obtained were as follows :

A total of 18 amino acids were recovered in protein hydrolysates of *P. westermani* obtained from cat. : They were cystein, aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, histidine, arginine, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tryptophan and lysin.

Among them, glutamic acid was the most abundant form and tryptophan, cystein, methionine, and histidine constitute minor portion of hydrolysates. Compared to the normal *P. westermani*, the volume of hydrolysates obtained from the praziquantel(PZQ) treated worm -0.1 $\mu$ g PZQ/ml saline for 6 hours incubation, and 3 $\times$ 25mg/kg bwt  $\times$  2days *in vivo* treatment was generally increased except tryptophan.

A total of 17 free amino acids were identified and the volume was 174.18  $\mu$ mol/l gm wet weight *P. westermani*. Among them, glycine and alanine constitute 28% of total volume. No significant differences were observed in the material obtained from worm treated with PZQ. However, slight increase of serine, arginine and the slight diminution of glutamic acid and proline was observed.

윤충류의 구성성분, 또는 중간대사산물등 蛋白質에 관하여는 비교적 알려진 바가 적으며 특히 吸蟲類에 있어서도 향후 단백질의 구조를 이해하여야 할 필요성이 많음에도 불구하고 단백질 대사는 물론 단백질구성에 관하여 별로 알려진 지식이 없는 실정이다. 과거 von Brand(1952)<sup>1)</sup>는 線蟲類와 條蟲類에서 14개의 아미노산을 확인하여 보고하였고 Aldrich(1954)<sup>2)</sup>은 크로마토그래피 분석으로 *Hymanolepis diminuta*의 단백질을 加水分解하여 14종의 아미노산을 확인하였다. 또한 Bird(1956<sup>3)</sup>, 1957<sup>4)</sup>)는 *Ascaris lumbricoides*, *Toxocara mystax* 및 *Strongylus equinus*의 cuicle을 가수분해하여 16개의 아미노산을 검출하였다. 또한 Goodchild 및 Wells(1957)<sup>5)</sup>는 *H. diminuta*의 성충 및 유충을 가수분해하여 20종의 아미노산을 검출하였으며 Lee들(1964)<sup>6)</sup>은 *A. lumbricoides*의 9종의 윤충류에 대하여 아미노산 성분을 가수분해하여 종이크로마토그래피로 분석한 바 있다.

吸蟲類에 있어서 Ma(1963)<sup>7)</sup>는 肝吸蟲에서 7종의 遊離아미노산과 17종의 아미노산을 크로마토그래피법으로 확인하였다. 또한 Lee들(1964)<sup>6)</sup>은 5종의 吸蟲에 대한 아미노산 분석결과 14종의 아미노산을 확인하였으며 그중 *Paragonimus westermani*에서는 alanine, methionine, valine, leucine, lysine, arginine, tyrosine, proline, histidine을 확인하였으나 glycine, serine, threonine, aspartic acid, glutamic acid등은 확인하지 못하였다고 하였다. 한편 蛋白質代謝에 관한 研究 역시 그 활용도에 비추어 볼 때 미진한 수준에 머물러 있다. 과거 Daugherty(1957<sup>8)</sup>, 1957<sup>9)</sup>), Daugherty 및 Foster(1958)<sup>10)</sup>, Foster 및 Daugherty(1959)<sup>11)</sup>, Read들(1960)<sup>12)</sup>, Rothman과 Fisher(1964)<sup>13)</sup>, Yoon(1964)<sup>14)</sup>이 일부 아미노산의 흡수 및 막투과에 관한 연구를 실행한 바 있다.

그러나 대부분의 경우 이들 연구는 정성분석의 의미가 깊고 정량은 되어 있지 않은 상태이다. 본 연구에서는 이와 같은 의미에서 high performance liquid chromatography(HPLC)를 이용하여 肺吸蟲(*P. westermani*)의 치료전 및 치료후의 아미노

산과 유리아미노산의 정량분석을 시도하였다.

## 材料와 方法

### 1. 實驗材料

肺吸蟲: 가재(*Cambaroides similis*)를 마쇄하여 인공위액으로 소화시킨 다음 분리된 被囊幼蟲(metacercaria)을 고양이에게 30마리씩 經口感染시킨뒤 감염 16주후에 실험에 사용하였다. 시험관내 살충은 Praziquantel 0.1ug/ml 농도인 인산 완충액에 살아있는 肺吸蟲을 넣어 37℃ 항온기에 6시간동안 배양한 충체를 사용하였고, 실험동물내 살충 충체는 Praziquantel을 1회 25mg/kg의 용량으로 하여 1일 3회 2일간 경구투약하고 24시간 후에 도살한 다음 폐로부터 충체를 수집하여 사용하였다. 재료 채취시 충체는 생존해 있었다. 한편 對照群으로 사용하기 위하여 야물 처리하지 않은 개체의 충체를 수집하여 사용하였다. Praziquantel은 신풍제약의 Distocide 600mg 정제를 시중에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 實驗方法

#### 1) 試料의 製造

凍結乾燥시킨 충체들을 1% Triton X100, 0.5M Potassium acetate가 함유된 50mM Tris-HCl(pH=7.5)에 넣어 homogenize 시킨 뒤 4℃에서 100,000 G로 30분간 초원심분리하고 上清液을 얻어 試料로 사용하였다.

#### 2) 試料의 前處理

Cystein, Cystine과 같은 thiol group을 가진 아미노산이나 tryptophan을 제외한 아미노산의 조성을 알기 위하여 시료를 6×50mm의 작은 시험관에서 건조시킨 뒤 reaction vial에서 1% (W/V) phenol을 포함한 6N constant boiling grade HCl (Sigma) 200ul를 넣고 질소 gas purging과 vacuum pump로 산소를 완전히 제거한뒤 110℃에서 24시간동안 가수분해하였다. 상온으로 식힌 시료를 다시 한번 진공건조한 후 再乾燥試藥(redrying reagent; Ethanol: Water: TEM-Triethylamine, Aldrich=2:2:1)을 20ul 넣고 진공시켰다. 그리고 PITC(Phenylisothiocyanate, Pierce Chemical

Co.) 誘導體化 試藥(Ethanol : Water : TEA : PICT=7 : 1 : 1 : 1) 20ul를 넣고 상온에서 10분간 방치한 뒤 65mTorr가 될 때까지 眞空乾燥하여 이동상 A용액 200ul에 녹여 High Performance Liquid Chromatography(HPLC)에서 檢出 定量하였다.

Cystein과 Cystine은 건조된 시료에 22℃에서 1시간 방치한 performic oxidation 시약(formic acid : hydrogen peroxide=19 : 1) 20ul를 넣고 같은 온도에서 30분간 반응시켜 Cystein이나 Cystine을 HCl에 안전한 Cysteic acid로 변환시킨 뒤, 위에 기재한 방법으로 진공건조한 후 가수분해하여 誘導體化하였다.

Tryptophan은 역시 HCl에 불안정하므로 MSA (Methansulfonic Acid, Sigma) 20ul를 건조된 시료에 넣고 가수분해한 뒤 4M KOH 22ul를 첨가하여 中和한후 진공건조시킨 뒤 0.45um pore

size의 filter paper에 여과한 시료를 유도체화 하여 검출 정량하였다.

### 3) High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

試料의 전처리단계인 誘導體化된 시료를 HPLC에서 각각의 아미노산으로 분리하여 254 nm에서 흡광도로 검출하였다.

이동상(mobile phase) A는 EDTA-2Na-2Ca(Sigma) 0.2ppm과 TEA(Triethanolamine) 500ul를 포함한 140mM Sodium acetate buffer(pH 5.9), B는 역시 EDTA-2Na-Ca 0.2ppm을 포함한 60% acetonitrile을 사용하였다.

Column은 Waters社의 Pico-Tag™ column(3.9 ×150mm)을 사용하였고 온도는 38℃를 유지하였다. Gradient를 걸어 순차적으로 분리되어 나오는 아미노산은 254nm에서 검출하였으며, 아미노산 peak의 확인과 면적값은 표준 아미노산과 비교하

Table 1. Total amino acid(TAA) compositions of *Paragonimus westermani* in normal and post-treatment conditions

	Normal	PZQ* Tx. in vivo (3×25mg/kg×2days)	PZQ Tx. in vitro (0.1ug/ml)
CYA**	6.04 ( 1.9)	6.91 ( 1.2)	10.13 ( 1.4)
ASP***	31.17 ( 9.6)	51.61 ( 9.1)	75.01 (10.2)
GLX***	37.88 (11.6)	59.94 (10.5)	88.58 (12.0)
SER	16.23 ( 5.0)	35.07 ( 6.2)	40.49 ( 5.5)
GLY	30.26 ( 9.3)	60.01 (10.5)	65.87 ( 9.0)
HIS	7.91 ( 2.4)	19.31 ( 3.4)	18.58 ( 2.5)
ARG	13.21 ( 4.1)	27.69 ( 4.9)	39.79 ( 5.4)
THR	18.10 ( 5.6)	34.29 ( 6.0)	45.19 ( 6.1)
ALA	30.38 ( 9.3)	47.37 ( 8.3)	71.05 ( 9.7)
PRO	20.26 ( 6.2)	30.18 ( 5.3)	33.58 ( 4.6)
TYR	8.23 ( 2.5)	12.84 ( 2.3)	15.25 ( 2.1)
VAL	21.09 ( 6.5)	36.12 ( 6.3)	48.00 ( 6.5)
MET	6.88 ( 2.1)	11.85 ( 2.1)	12.62 ( 1.7)
ILE	12.60 ( 3.9)	21.82 ( 3.8)	30.37 ( 4.1)
LEU	25.59 ( 7.9)	46.00 ( 8.1)	54.09 ( 7.3)
PHE	12.79 ( 3.9)	21.76 ( 3.8)	27.36 ( 3.7)
TRP	3.21 ( 1.0)	2.94 ( 0.5)	3.34 ( 0.5)
LYS	25.44 ( 7.8)	43.15 ( 7.6)	57.04 ( 7.8)
TOTAL	325.88	568.88	736.35

\* : PZQ is the abbreviation of praziquantel

\*\* : CYS is the oxidized form of Cystein or Cystine

\*\*\* : ASX is the sum of Aspartic acid and Asparagine  
GLX is the sum of Glutamic acid and Glutamine

[umol/g wet wt.]

여 MAXIMA 820™ programe을 이용 computer로 계산하였다.

## 實驗成績

### 1. 폐흡충내 아미노산의 조성과 함량

폐흡충을 加水分解하여 얻은 아미노산의 조성을 보면 cystein, aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, hisidine, arginine, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tryptophan, lysine의 총 18 종이 확인되었다. 이 중 praziquantel로 처리하지 않은 상태로 얻어낸 정상 肺吸蟲의 각 아미노산 함량을 보면 Table 1과 같은 바 폐흡충 wet weight 1gm 당 아미노산 325.88umol이 검출되었고 이 중 glutamic acid가 37.88umol로 가장 많았다. Aspartic acid, glycine, alanine, leucine, lysine은 25.44~31.17umol의 범위에 있었고 소량 검출된 것들은 tryptophan, cystein, methionine, histidine으로 3.21~7.

91umol의 함량을 나타내고 있었다. Praziquantel로 처리한 결과 가수분해하여 얻은 각 아미노산의 총량은 실험동물내 처리후 568.88, 시험관내 0.1 ug/ml PZQ 처리시 736.35umol로 증가하는 경향을 나타내었다. 각 아미노산에 있어서도 대부분 함량의 증가를 보였으나 Tryptophan만은 예외적으로 정상에 비해 감소하였다. 그러나 총 아미노산량에 대한 각각의 아미노산의 구성비를 보면 PZQ처리 전과 후에 있어서 tryptophan의 구성비 감소를 제외하고는 별다른 차이점이 발견되지 않았다.

### 2. 遊離아미노산의 조성과 함량

검출된 유리아미노산은 역시 18종으로서 PZQ로 처리하지 않은 상태로 얻어낸 정상 肺吸蟲의 각 아미노산 함량은 Table 2와 같은 바 폐흡충 wet weight 1gm당 유리아미노산 174.18umol이 검출되었고 이 중 glycine과 alanine이 24.25~24.59 umol로서 가장 많이 함유되어 있었다. Proline과 glutamic acid는 15.38~19.03umol이 함유되어 있으며 소량 함유된 것은 isoleucine과 histidine.

Table 2. Free Amino Acid (FAA) compositions of *Paragonimus westermani* in normal and post-treatment conditions

	Normal	PZQ* Tx. in vivo (3×25mg/kg×2days)	PZQ Tx. in vitro (0.1ug/ml)
ASP**	7.56 ( 4.3)	6.81 ( 4.5)	10.98 ( 5.4)
GLX**	15.38 ( 8.8)	9.36 ( 6.2)	14.36 ( 7.1)
SER	5.11 ( 2.9)	8.28 ( 5.5)	10.10 ( 5.0)
GLY	24.59 (14.1)	17.04 (11.3)	24.52 (12.1)
HIS	3.18 ( 1.8)	3.05 ( 2.0)	4.33 ( 2.1)
ARG	5.56 ( 3.2)	8.81 ( 5.8)	9.03 ( 4.5)
THR	8.05 ( 4.6)	7.30 ( 4.8)	10.75 ( 5.3)
ALA	24.25 (13.9)	19.50 (12.9)	24.35 (12.1)
PRO	19.01 (10.9)	5.64 ( 3.7)	12.08 ( 6.0)
TYR	9.00 ( 5.2)	9.32 ( 6.2)	10.22 ( 5.1)
VAL	9.55 ( 5.5)	8.74 ( 5.8)	11.78 ( 5.8)
MET	3.23 ( 1.9)	4.09 ( 2.7)	4.81 ( 2.4)
ILE	2.75 ( 1.6)	3.46 ( 2.3)	4.48 ( 2.2)
LEU	10.46 ( 6.0)	12.60 ( 8.4)	16.51 ( 8.2)
PHE	8.02 ( 4.6)	9.03 ( 6.0)	10.61 ( 5.3)
TRP	6.64 ( 3.8)	5.02 ( 3.3)	7.23 ( 3.6)
LYS	11.82 ( 6.8)	12.88 ( 8.5)	15.84 ( 7.8)
TOTAL	174.18	150.94	201.97

\* : PZQ is the abbreviation of praziquantel

\*\* : ASX is the sum of Aspartic acid and Asparagine  
CLX is the sum of Glutamic acid and Glutamine

[umol/g. wet wt.]

methionine 등으로 2.75~3.23umol의 함량을 나타내었다.

加水分解하여 얻은 아미노산과는 달리 遊離아미노산의 함량은 PZQ 처치전 174.18, 실험동물내 처치후 150.94, 시험관내 처치 후 201.97umol로 나타나 유의성 있는 변화를 보이지 않았다. 그러나 구성비로 볼 때, serine은 2.9%에서 5.0~5.5%로, arginine은 3.2%에서 4.5~5.8%로 각각 상승되었고 glutamic acid와 proline은 각각 8.8%, 10.9%로부터 6.2~7.1%, 3.7~6.0%로 감소되었다.

## 考 察

寄生蟲 生理 代謝의 연구에 기초가 되는 蟲體의 生化學的 組成에 관해서는 알려진 바가 많지 않다. 더우기 吸蟲類의 蛋白質 구성상에 관하여는 별로 알려진 바가 없다. 일반적으로 *Fasciola hepatica*의 경우 dry weight의 58%가 蛋白質分劃에 속하는 것으로 알려져 있으며 Lee(1963)<sup>15)</sup>는 *F. hepatica*의 조직을 加水分解하여 14종의 아미노산을 확인한 바 있다. 한편 Watson(1960)<sup>16)</sup>은 *F. hepatica*의 抗原에 대한 생화학적 검사에서 15종의 서로 다른 아미노산을 확인하였다.

역시 *F. hepatica*를 위주로 한 연구에서 Baer(1952)<sup>17)</sup>, Jennings들(1956)<sup>18)</sup>은 *F. hepatica*가 宿主의 血液을 섭취한다는 것을 밝힌 바 있고 Rohrbacher(1957)<sup>19)</sup>는 *F. hepatica*가 산수출물이 함유되어 있는 食鹽水속에서 오랜 기간 생존할 수 있음을 밝혔다. 이런 결과를 비추어 볼 때 *F. hepatica* 조직의 구성성분이 대체적으로 숙주의 그것과 일치하는데 대한 설명이 될 수 있는 바, 본 실험에서의 *P. westermani*도 같은 맥락에서 비슷한 아미노산 함유구조를 갖고 있다고 생각된다.

과거에 조사된 다른 문헌들에 따르면 Lee(1964)<sup>6)</sup>는 *P. westermani* 폐흡충에서 9종의 아미노산만을 확인하였고 *P. ohirai*의 체구성 물질과 蟲囊內容物에서도 모두 13종의 아미노산이 검출되었다. 즉 alanine, methionine, valine, leucine, lysine, arginine, tyrosine, proline, histidine이 과거에 폐흡충에서 검출된 아미노산들이었으나 본 실험에서 glycine, serine, threonine, aspartic acid, glutamic acid와 isoleucine, tryptophan, phenylalanine이 추

가로 검출되었다. 이 중 특히 glycine은 구성성분의 14.1%를 차지하는 주요 아미노산의 하나이고, glutamic acid도 8.8%를 차지하는 매우 중요한 아미노산의 하나임이 확인되었다.

폐흡충이 驅蟲劑에 의한 영향을 받았을 때 생화학적 조성에 있어서 어떤 영향을 받는지에 대해서도 알려진 바는 없다. 蛔蟲에 대하여 Kawai(1971)<sup>20)</sup>는 santonin과 piperazine hydrate를 사용하여 처치한 결과 acetic acid는 증가하고  $\alpha$ -methyl butyric acid는 모든 예에서 감소하였다고 한 바 있으나 아미노산에 관하여는 조사된 바가 없었다. 또한 흡충류에 대하여도 별다른 보고가 없는 실정이다. 일반적으로 치료후 total amino acid의 량은 wet weight 1gm당의 함량으로 볼 때 크게 증가하는 경향을 보였다(Table 1). 실험동물내에서 praziquantel을 사용한 예에 있어서는 치료 전에 비해 거의 75% 가량의 증가를 보였고, 0.1ug/ml의 PZQ-Saline액에서는 거의 130% 증가하였다. 이것이 뜻하는 바는 대체로 藥物作用에 의한 순간적인 대사활동의 극대화로 이해될 수 있다. 조성비로 볼 때, tryptophan의 감소와 proline의 감소가 비교적 두드러지게 나타났으나 이러한 현상의 의미는 현재로서는 파악하기 어렵다.

遊離아미노산에 있어서 praziquantel 치료후 total volume의 증가는 나타나지 않으나(Table 2) 각각의 아미노산을 볼 때는 glycine과 proline의 감소, serine과 arginine의 조성비 증가가 눈에 띄게 나타나고 있는 바 이에 관한 의미 역시 추후에 밝혀질 수 있으리라고 생각된다.

저자는 본 실험의 결과가 폐흡충의 아미노산 조성과 함유량을 밝힌 논문으로서 앞으로 기생충의 生理, 代謝에 관한 연구는 물론 宿主-寄生蟲 相互關係 및 宿主 特異性, 기생충의 宿主適應, 免疫反應등을 이해하는데 기초자료가 될 수 있을 것으로 믿는다.

## 要 約

High performance liquid chromatography를 이용하여 praziquantel 처리전후의 肺吸蟲(*Paragonimus westermani*)내 加水分解시킨 아미노산과 遊離아미노산의 定量分析을 시도하였다. 폐흡충은

고양이에 인공감염시켜 얻었으며 시험관내 살충은 praziquantel 0.1 $\mu$ g/ml 농도인 磷酸緩衝液에 살아 있는 폐흡충을 넣어 37 $^{\circ}$ C 항온기에 6시간 동안 배양한 총체를 사용하였고, 실험 동물내 살충 총체는 praziquantel을 25mg/kg의 용량으로 하여 1일 3회 2일간 經口投藥하고 24시간 후에 폐로부터 총체를 수집하여 사용하였다. 이를 凍結乾燥시켜 1% Triton X100, 0.5M Potassium acetate가 함유된 50mM Tris-HCl(pH=7.5)에 넣어 homogenize시킨 뒤 4 $^{\circ}$ C에서 100,000G로 30분간 超遠心分離하고 上清液을 얻어 試料로 사용하였다. 위의 시료를 가수분해하고 HPLC에서 각각의 아미노산으로 분리하여 254nm에서 吸光度로 검출하였다.

결과, 폐흡충을 가수분해하여 얻은 아미노산은 cystein, aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, histidine, arginine, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tryptophan, lysin의 총 18종이 확인되었다. 정상 폐흡충은 wet weight 1gm당 아미노산 325.88 $\mu$ mol이 검출되었고 이 중 glutamic acid가 37.88 $\mu$ mol로 가장 많았다. Tryptophan, cystein, methionine, histidine은 3.21~7.91 $\mu$ mol로 소량 검출되었다. Praziquantel 처리후 가수분해하여 얻은 아미노산의 양은 tryptophan을 제외하고는 일반적으로 증가하는 경향이 있었다.

遊離아미노산은 17종이 검출 되었으며 폐흡충 wet weight 1gm당 유리아미노산은 174.18 $\mu$ mol이 검출되었다. 이 중 glycine과 alanine이 24.25~24.59  $\mu$ mol로서 가장 많이 함유되어 있었다. Praziquantel 처리후 별다른 변화는 보이지 않았으나 전체에 대한 구성비로 볼 때, serine은 2.9%에서 5.0~5.5%로, arginine은 3.2%에서 4.5~5.8%로 각각 상승되었고, glutamic acid와 proline은 각각 8.8%, 10.9%로부터 6.2~7.1%, 3.7~6.0%로 감소되었다.

## References

- 1) von Brand T : *Chemical physiology of endoparasitic animals*. Academic press, New York, 1952
- 2) Aldrich DV, Chandler AC and Daugherty JW : *Intermediate protein metabolism in helminths. II. Ef-*

*fect of host castration on amino acid metabolism in Hymenolepis diminuta*. *Exp Parasit* 3 : 173-184, 1954

- 3) Bird AF : *Chemical composition of the nematode cuticle. Observation of the whole cuticle*. *Exp Parasit* 5 : 350-358, 1956
- 4) Bird AF : *Chemical composition of the nematode cuticle. Observation on individual layers and extracts from these layers in Ascaris lumbricoides cuticle*. *Exp Parasit* 6 : 383-403, 1957
- 5) Goodchild CG and Wells OC : *Amino acid in larval and adult tapeworms (Hymenolepis diminuta) and in the tissue of their rat and beetle hosts*. *Exp Parasit* 6 : 575-585, 1957
- 6) Lee SH, Yoon JS and Seo BS : *Paper chromatographic study on the amino acids of some parasitic helminths*. *Korean J Parasit* 2(1) : 91-96, 1964
- 7) Ma L : *Trace elements and polyphenol oxidase in Clonorchis sinensis*. *J Parasit* 49 : 197-203, 1964
- 8) Daugherty JW : *The active absorption of certain metabolites by helminths*. *Am J Trop Med Hyg* 6 : 464-472, 1957
- 9) Daugherty JW : *The active absorption of methionine by the cestode, H diminuta*. *Exp Parasit* 6 : 60-67, 1957
- 10) Daugherty JW and Foster WB : *Comparative studies on amino acid absorption by cestodes*. *Exp Parasit* 7 : 99-107, 1958
- 11) Foster WB and Daugherty JW : *Establishment and distribution of Raillientina cesticillus in the fowl and comparative studies on amino acid metabolism of R. cesticillus and Hymenolepis diminuta*. *Exp Parasit* 8 : 413-426, 1959
- 12) Read CP, Simmons JE and Rothman AH : *Permeation and membrane transport in animal parasites : Amino acid permeation into tapeworms from Elasmobranches*. *J Parasit* 46 : 33-41, 1960
- 13) Rothman AH and Fisher FM : *Permeation of amino acids in Moniliformis and Macracanthorhynchus (Acanthocephala)*. *J Parasit* 50 : 410-414, 1964
- 14) Yoon JS : *Studies on the metabolism of C<sup>14</sup>-Proline in some parasitic helminths*. *Korean J Parasit* 2(3) : 23-28, 1964
- 15) Lee SH : *Paper chromatographic study on the amino acid of trematodes*. MS Thesis, Seoul Natio-

- nal University, 1963
- 16) Watson JM : *Medical helminthology*. Bailliere, Tindall and Cox, London, 461 [cited from reference #6]
  - 17) Baer JG : *Ecology of animal parasites*. The university of Illinois Press, Urbana, 1952 [cited from reference #6]
  - 18) Jennings FW, Mulligan W and Urquhart GM : *Radioisotope studies on the anemia produced by infection with Fasciola hepatica*. *Exp parasit* 5 : 458-468, 1956
  - 19) Rohrbacher GH Jr : *Observation on the survival in vitro of bacteria-free adult common liver flukes, Fasciola hepatica Linn, 1758*. *J Parasit* 43 : 9-18, 1957
  - 20) Kawai Y : *Free fatty acids of Ascaris lumbricoides suum and Anisakis sp larvae. III. Effect of Anthelmintics on the volatile free fatty acids(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) in Ascaris body fluid*. *Gifu Med J* 19 : 696-706, 1971 (in Japanese)