大韓獸醫學會誌(2008) 第48卷 第4號
Korean J Vet Res(2008) 48(4) : 473~480

시험관내에서 아니사키스 유충의 운동성에 대한 고련피, 관중, 사군자의 억제효과

권희녕 · 지차호*
충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소
(게재승인: 2008년 10월 23일)

Inhibitory effects of herbal extracts (*Meliae ezadarach, Dryopteris crassirhizoma, Quisqualis indica* var *villosa*) on larval migration of *Anisakis* spp. *in vitro*

Hee-Nyung Kwon, Cha-Ho Jee*
College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
(Accepted: October 23, 2008)

A**abstract :** A high incidence of Anisakiasis has been reported in many countries where people eat frequently raw or undercooked seafood. *Anisakis* spp. larvae were obtained from the mackerel acquired from a fish market of Cheongju city. They were divided into several groups and placed in culture dishes containing RPMI-1640 (culture media), in the presence or absence of different concentrations of herbal extracts (*Meliae ezadarach, Dryopteris crassirhizoma*, *Quisqualis indica* var *villosa*). The objective of the present study was to investigate the activity of larval migration inhibition *in vitro*. *Meliae ezadarach* at the concentrations of 7.5, 15, and 30 mg/ml effectively inhibited the larvae migration in time-dependent manner during experimental period of 0-24 h. Treatment of *Meliae ezadarach* at the three concentrations completely inhibited the larvae migration *in vitro*. *Dryopteris crassirhizoma* at the concentrations of 5, 10, and 20 mg/ml also effectively inhibited the larvae migration in a time-dependent manner. The treatment of *Dryopteris crassirhizoma* for 12 h completely inhibited the larvae migration. The inhibitory effect of *Dryopteris crassirhizoma* was stronger than that of *Meliae ezadarach*. Although *Quisqualis indica* var *villosa* also showed the inhibitory effect on larvae migration, its inhibitory efficacy was the weakest among tested herbal extracts. These results indicated that some herbal extracts may be useful in controlling human anisakiasis.

Keywords : Anisakiasis, *Dryopteris crassirhizoma,* larval migration inhibition, *Meliae ezadarach*, *Quisqualis indica* var *villosa*

서 론

고래회충과(Family: Anisakidae)는 고래, 돌고래, 바다사자 및 물개 등과 같은 해산 포유동물을 종숙주로 하고 명태, 대구, 연어, 고등어, 붕장어, 낙지, 오징어 등과 같은 해산어류나 두족류를 중간숙주로 하는 선충류이다 [9]. 성충은 해산 포유류의 위에, 자충은 고등어나 청어 등의 해산 어류에 기생한다. 자충은 뚜렷하고 긴 ventriculus 및 미단의 mucron에 따라 아니사키스 1형, 짧은 ventriculus 및 mucron이 부재된 2형 [7], *Terranova* A형, B형, *Raphidascaris*형, *Contracaeum* A, B, C, D형으로 분류되기도 한다 [21]. 고래회충을 섭취하면 격렬

*Corresponding author: Cha-Ho Jee
College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheong ju 361-763, Korea
[Tel: +82-43-261-2985, Fax: +82-43-267-3150, E-mail: chjee@cbnu.ac.kr]

한 복통을 일으킬 수 있는데 이것이 아니사키스감염의 주증상이며, 유충 내장 이행증에 의한 것이다. 성충은 원래 고래 등의 해산 포유류의 위벽에 침투하여 기생하며, 암컷은 4-20 cm, 수컷은 3-15 cm이지만, 고래의 제1위에서도 2-3 cm의 미성숙충이 발견된다. 충란은 바닷물 속으로 방출되며, 충란으로부터 부화된 제 2기 자충은 대형 플랑크톤(*Thysanoessa, Euphausia*)에게 섭식되어 제 2-3기 자충으로 되어 여러 종류의 어류나 오징어에게 섭식되면 그 체내에서 제3기 자충(2-3 cm) 상태로 기생하는데, 이들이 종숙주인 고래나 돌고래에게 섭식되면 그 위 내에서 성충으로 되지만 돼지나 사람이 제3기 자충(*Anisakis* 1형 자충)을 섭식하면 성충까지는 발육되지 않고 위벽이나 장벽에 침입, 기생하여 돼지와 인체에서 많은 문제가 되고 있다 [5].

임상증상은 다채롭고 비 특이적이며 장벽 또는 위벽에 호산구성 육아종을 형성하거나 상복부의 선통 및 불쾌감, 오심, 구토, 설사 등 식중독을 방불케 하는 증상이 나타나기도 하며 때로는 토혈, 혈변, 인후부의 이물감, 현기증, 요통, 피부발진 등이 나타나기도 한다. 만성은 진단하기가 어려워 임상진단시 만성위염, 위궤양, 위종물, 위암 등으로 오인될 수 있다 [10]. 심지어 죽은 고래회충의 사체나 대사산물에 의한 알러지 반응 등을 나타내기도 한다. 사람에서의 진단방법은 여러 가지의 면역학적 진단방법이 개발되었으며 주로 임상증상을 통한 검사, 위 내시경 검사, 혈청학적 검사 등이 통용되며 심한 중감염의 경우 외과적 위 절제 제거술도 사용되고 있다. 가축의 경우에는 진단과 치료가 매우 곤란한 실정이다.

고래회충의 감염은 오히려 정상적인 생활환(life cycle)에 의한 해양 포유류 감염보다 비 고유숙주(사람, 개, 돼지)의 감염이 더 큰 문제가 되고 있다. 고래회충에 의한 인체감염사례는 홀란드의 Van Thiel 등 [30], 일본의 Koyama 등 [21]에 의해 보고된 이후 전 세계적으로 이탈리아 [24, 27], 러시아 [15], 아이슬란드 [28], 스페인 [14, 23, 29], 호주 [18], 태국 [26] 등에서 보고가 되고 있다. 특히 일본의 사례가 많은 편이고 국내에서는 1971년 Kim 등 [20]의 보고이후 최근 우리나라에서도 바닷고기를 생식하는 사람들 중 종종 위통을 호소하는 경우가 많다. 따라서 한국에서의 사례도 한명의 환자에 복합적인 감염을 가진 예가 점점 더 증가하고 있는 실정이다 [8, 25].

본 연구에서는 예로부터 구충제로 널리 사용된 고련피(苦楝皮), 관중(貫衆), 사군자(使君子)를 선정하여 아니사키스유충에 구충효능이 있는지를 알아보았다.

고련피는 멀구슬나무(*Meliae ezadarach* var. *japonica*)의 줄기껍질, 뿌리껍질을 말하는 한약재이다. 이 약은 청열(淸熱), 조습(燥濕), 살충, 지통하는 효과가 있어 회충, 요충 등의 기생충 구제에 효과가 좋은 것으로 알려져 있다. 고전서인 별록(別錄)에도 '회충을 치료하며 대장을 이(利)한다'하는 구절을 볼 수 있다 [12]. 특히 고련피의 성분에는 Triterpenes, Limonoid등이 있는 것으로 알려져 있다 [4].

관중(*Dryopteris crassirhizoma*)은 뿌리줄기와 잎자루의 기부(基部)가 약재로 쓰인다. 충적복통약(蟲積腹痛藥)의 범주에 속하며 고한(苦寒)하고 살충하는 효능이 있어 조충, 회충, 요충 등의 구제에 예로부터 쓰여 왔다 [13]. 특히 관중의 성분에는 phloroglucinol, nimbinin 등이 있는 것으로 알려져 있고 최근에는 충치균(*Streptococcus mutans*)등의 강한 항균활성에 관심이 모아지고 있는 실정이다 [3].

사군자(*Quisqualis indica* var *villosa*)는 사군육이라고도 불리며 열매가 주성분이 되는 한약재이다. 살충소적(殺蟲消積), 충적복통약의 범주에 속하며 예로부터 맛과 향기가 좋아 특히 어린이의 회충, 요충의 구제에 쓰이는 약재이다 [13]. 본초강목, 본초정의 등의 고문헌에도 사군자의 효능이 잘 나타나 있다.

본 연구에서 한약제(고련피, 관중, 사군자)가 아니사키스 유충에 대한 구충효능이 있는지를 알아보고자 시험관내에서 고안된 방법인 유충 운동성 억제 실험(larval migration inhibition bioassay)을 통하여 그 효과를 알아보았다 [16, 17, 32].

재료 및 방법

재료

아니사키스: 청주시 수산시장에서 생고등어(*Scomber japonicus Houttuyn*)의 신선한 내장을 수집하여 소화액(증류수 1리터, pepsin 2% 용액, Hcl 14 ml)을 첨가하여 37°C에서 12시간 반응시킨 후 핀셋으로 아니사키스 3기 유충을 분리한 후 RPMI 1640(Gibco, USA)에서 유충배양을 실시하였다 [19].

생약추출물: (고련피, 관중, 사군자)-상용량(15 g, 10 g, 15 g)를 진탕기(DWP-66000; Dae woong, Korea)를 이용하여 3시간 진탕한 후 원심분리기(MF-80; Hanil, Korea)를 사용하여 3,000 rpm에서 15 min간 원심분리해 상층액만 취하였으며 상층액을 여과지(TY5A-150, 150 mm; Advantec, Japan)를 이용하여 제균한 후 4°C에서 냉장보관하면서 사용하였다 [4].

철망: 유충의 운동성을 평가하기 위한 실험장치로서 스테인레스 재질의 용기(0.6 mm mesh)를 사용하였다.

방법

고련피, 사군자: 고등어 내장에서 아니사키스 유충을

분리한 후 한 군당 아니사키스 유충 60마리씩을 RPMI 1640(Medium; Gibco, USA)배지 30 ml가 들어있는 petri dish에 넣었다. 고련피 및 사군자에 대하여 시험군은 대조군을 포함하여 각 물질 당 4개의 군으로 하여 처치군으로서 7.5, 15, 30 mg/ml의 농도를 사용하였으며, 대조군에는 어떠한 약물도 첨가하지 않았다. 섭씨 25°C, 95% O_2/5% CO_2 에서 CO_2배양기를 유지하고 0.16, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 시간 반응시킨 후 철망장착 용기에 부어 2시간 후 통과한 마릿수를 관찰하였다.

관중: 시험군은 대조군을 포함하여 4개의 군으로 하여 각 군의 petri dish에 아니사키스 3기 유충 60마리를 넣고 대조군은 용매를 처치하고, 처치군인 3개의 dish에 관중 5, 10, 20 mg/ml 농도로 처리한 후 0.16, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 시간 반응시킨 다음 위와 같은 방법으로 2시간 후 용기에 부어 통과한 유충수를 관찰하였다.

결과의 판정

철망용기를 통과한 유충의 마릿수와 철망용기를 통과하지 못하고 남아있는 유충수를 계산하였다. 이것을 대조군과 대조해 봄으로서 약물의 효과를 평가하였다. 유충의 운동성 억제율(larval migration inhibition; LMI)은 다음 공식을 적용하여 구하였다.

$$LMI(\%) = 100(A - B) / A$$

A = RPMI 1640에 약물을 첨가하지 않은 대조군에서 철망용기를 통과한 유충수

B = RPMI 1640에 약물을 첨가하였을 때 철망용기를 통과한 유충수

고련피, 관중의 크로마토그래피 분석

액체 크로마토그래피(liquid chromatography): LC 분획(separations)은 Agilent 1100 system(Agilent Technologies, Finland)에 의해 수행되었으며 이것은 이원펌프(Binary pump), 진공분압기(Vacuum degasser), autosampler, 30°C에서 유지되는 내열성 column으로 구성되고 특히 column은 2.1 mm × 50 mm Zorbax XDB-C18 column, 2.1 mm × 12.5 mm의 좁은 구멍이 뚫린 보호 column(Agilent Technologies, Finland)의 두가지로 나누어진다. 이 column은 acetonitrile과 1% 초산(acetic acid)과 같이 용리를 일으키는 작용을 하게 된다. 용리에 있어서 acetonirile은 유기용제로서 3%에서 28%에 이르는 농도가 사용되었다 [31].

Mass spectrometry: 질량분석법은 질량분석기를 사용하여 질량 스펙트럼을 설정함으로서 화합물 의 확인, 동정, 구조결정, 검출등을 하는 분석방법이다. LC column의 유속(flow)은 Micro triple- quadrupole mass spectrometer(Micromass, UK)에 의해 이동되어 전자분무이온화법(electrospray)에 의해 이온화 처리되는 과정을 거쳤으며 주요한 이온들 중 질소(nitrogen)의 역할은 탈용매화와 가스분무(nebulizing)에 사용이 되었고 아르곤(argon)은 부조화 가스(collision gas)로서 사용이 되었다. 이러한 비용매화가 주로 진행되는 온도는 120°C에서 325°C 사이로 측정되었다. VCap은 positive: 4,000 V, negative: 3,000 V로 측정되었다. Aglient 1100 Autosampler의 주입모드는 표준(standard)상태, 주입용량은 1.00 μl이었다.

결 과

고련피의 유충 운동성 억제 효과

7.5, 15, 30 mg/ml 약물농도에서 1, 2, 4, 8시간 반응시킨 뒤에 운동성 억제 효과가 나타났다. 약물 반응시간 10분에서는 7.5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml의 모든 농도에서 8.9%(9/60)의 운동억제 효과가 나타났고 약물반응시간 1시간에서 7.5 mg/ml의 농도에서는 25%(15/60), 15 mg/ml의 농도에서는 30%(18/60), 30 mg/ml의 농도에서는 35%(21/60)의 운동억제 효과를 나타내었다. 약물반응시간 4시간에서 7.5 mg/ml, 15 mg/ml의 농도에서는 50%(30/60)의 운동억제 효과가 나타났고 30 mg/ml의 농도에서는 55%(33/60)의 운동억제 효과를 나타내었다. 약물반응시간 12시간에서 7.5 mg/ml의 농도에서는 84.2%(51/60), 15 mg/ml, 30 mg/ml의 농도에서는 94.7%(57/60)의 운동억제 효과를 나타내었다. 약물반응시간 24시간에서는 모든 약물농도에서 100%(60/60)의 운동억제 효과를 보였다. 전반적으로 고련피의 경우는 각 농도별로 확연한 운동성 차이를 보이지는 않았으며, 농도별의 차이보다는 반응시간에 비례하여 좋은 운동성 억제 효과를 보였다. 특히 24시간 반응 이후에는 100%의 아니사키스 유충 운동성 억제 효과를 나타내었다(Table 1).

관중의 유충 운동성 억제 효과

관중 5, 10, 20 mg/ml의 약물농도에서 0.5(1/2), 1, 2, 4, 8 시간 반응시킨 뒤에 운동억제 효과가 나타났다. 약물반응시간 10분에서는 5 mg/ml, 10 mg/ml의 농도에서 12.7%(12/60), 30 mg/ml의 농도에서 7.2%(9/60)의 운동억제 효과가 나타났다. 약물반응시간 1시간에서는 5 mg/ml의 농도에서 50%(30/60), 10 mg/ml의 농도에서 45%(27/60), 20 mg/ml의 농도에서 70%(42/60)의 운동억제 효과를 나타냈다. 약물반응시간 4시간에서는 5 mg/ml, 10 mg/ml의 농도에서 70%(42/60), 20 mg/ml의 농도에서 90%(54/60)의 운동억제 효과를 나타냈다. 약물반응시간 8시간에서는 5 mg/ml의 농도에서 74.5%(45/60), 10 mg/ml의 농도에서 79.6%(48/60), 20 mg/ml의 농도에서

Table 1. Effects (%) of *Meliae ezadarach* on larval migration inhibition of *Anisakis* spp.

Meliae ezadarach (mg/ml)	Time (h)							
	0.16	0.5	1	2	4	8	12	24
0 (control)	6 (4/60)	3 (2/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	5 (3/60)	8 (5/60)
7.5	8.9 (9/60)	17.2 (12/60)	25 (15/60)	35 (21/60)	50 (30/60)	65 (39/60)	84.2 (51/60)	100 (60/60)
15	8.9 (9/60)	17.2 (12/60)	30 (18/60)	40 (24/60)	50 (30/60)	55 (33/60)	94.7 (57/60)	100 (60/60)
30	8.9 (9/60)	22.4 (15/60)	35 (21/60)	45 (27/60)	55 (33/60)	60 (36/60)	94.7 (57/60)	100 (60/60)

Table 2. Effects (%) of *Dryopteris crassirhizoma* on larval migration inhibition of *Anisakis* spp.

Dryopteris crassirhizoma (mg/ml)	Time (h)							
	0.16	0.5	1	2	4	8	12	24
0 (Control)	8 (5/60)	1 (1/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	1 (1/60)	6 (4/60)	10 (6/60)
5	12.7 (12/60)	38.9 (24/60)	50 (30/60)	50 (30/60)	70 (42/60)	74.5 (45/60)	100 (60/60)	100 (60/60)
10	12.7 (12/60)	23.7 (15/60)	45 (27/60)	50 (30/60)	70 (42/60)	79.6 (48/60)	100 (60/60)	100 (60/60)
20	7.2 (9/60)	69.4 (42/60)	70 (42/60)	75 (45/60)	90 (54/60)	94.9 (57/60)	100 (60/60)	100 (60/60)

94.9%(57/60)의 운동억제 효과를 나타내었다. 약물반응시간 12시간부터는 모든 농도에서 100%(60/60)의 운동억제 효과를 보였다. 약물 5, 20 mg/ml 농도에서 특히 반응시간 10분과 30분 사이의 운동 억제 효과가 현저하였으며 전반적으로 농도의 차이에 따라 운동성 억제 효과가 비례하여 나타났다. 20 mg/ml의 농도의 경우는 반응시간 초기부터 매우 높은 운동성억제 효과를 보였다. 전체 농도(5, 10, 20 mg/ml)에서 반응시간 12시간 이후로 모두 100%의 운동성 억제 효과를 나타내었으며 이는 고련피에 비해 100%운동성 억제를 보인 반응시간이 12시간이나 더 빠르게 나타났다(Table 2).

사군자의 유충 운동성 억제 효과

사군자 7.5, 15, 30 mg/ml의 약물농도에서 1, 2, 4, 8시간 반응시킨 뒤에 운동억제 효과가 나타났다. 약물반응시간 10분에서는 7.5, 15 mg/ml의 농도에서 5.2%(6/60), 30 mg/ml의 농도에서 3.5%(3/60)의 운동억제 효과를 나타냈다. 약물반응시간 1시간에서는 7.5 mg/ml의 농도에서 38.9%(24/60), 15 mg/ml의 농도에서 33.9%(21/60), 30 mg/ml의 농도에서 28.8%(18/60)의 운동억제 효과를 나타냈다. 약물반응시간 4시간에서는 7.5 mg/ml의 농도에서 50%(30/60), 15 mg/ml의 농도에서 30%(18/60), 30 mg/ml의 농도에서 45%(27/60)의 운동 억제 효과를 나타냈다. 약물반응시간 24시간에서는 7.5 mg/ml의 농도에서 60.3%(39/60), 15 mg/ml의 농도에서 54.7%(36/60), 30 mg/ml의 농도에서 71.7%(45/60)의 운동억제효과를 나타냈다. 사군자의 경우는 반응시간에 비례하여 아니사키스 유충의 운동성 억제 효과가 높게 나타나고 있으나 오히려 저농도(7.5 mg/ml)가 고농도(30 mg/ml)보다 운동성 억제효과가 반응시간 1시간에서 8시간에 걸쳐 더 높게 나타나는 등 농도 차에 따른 유의성은 적은 것으로 나타났다. 그리고 24시간 약물반응을 시킨 이후에도 가장 높은 운동성 억제효과가 30 mg/ml의 농도에서 75%에 그쳐 고련피, 관중에 비해 상대적으로 낮은 운동성 억제 효과를 나타내었다(Table 3).

고련피, 관중의 크로마토그래피 분석결과

고련피: 고련피의 성분중의 하나인 triterpene이 확인되었으며 3.413분과 3.871분의 사이인 3.624분에서 3번째 절정점(peak)에서 나타났고 최고이온수치(top ion)는 195, 179를 나타내었다. 분석 중 절정점(peak at scan)은 168.0이었다(Fig. 1).

다른 성분인 limonoid는 20.186분과 20.827분의 사이인 20.468분(min)에서 14번째 절정점(peak)에서 나타났고 최고이온수치(top ion)은 395, 331을 나타내었다. 분석 중 절정점은 2005.9이었다(Fig. 1).

Table 3. Effects (%) of *Quisqualis indica* var *villosa* on larval migration inhibition of *Anisakis* spp.

Quisqualis indica var *villosa* (mg/ml)	Time (h)							
	0.16	0.5	1	2	4	8	12	24
0 (Control)	5 (3/60)	1 (1/60)	1 (1/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	0 (0/60)	5 (3/60)	10 (7/60)
7.5	5.2 (6/60)	13.5 (9/60)	38.9 (24/60)	50 (30/60)	50 (30/60)	60 (36/60)	52.6 (33/60)	60.3 (39/60)
15	5.2 (6/60)	18.6 (12/60)	33.9 (21/60)	30 (18/60)	30 (18/60)	45 (27/60)	63.1 (39/60)	54.7 (36/60)
30	3.5 (3/60)	23.7 (15/60)	28.8 (18/60)	35 (21/60)	45 (27/60)	45 (27/60)	78.9 (48/60)	71.7 (45/60)

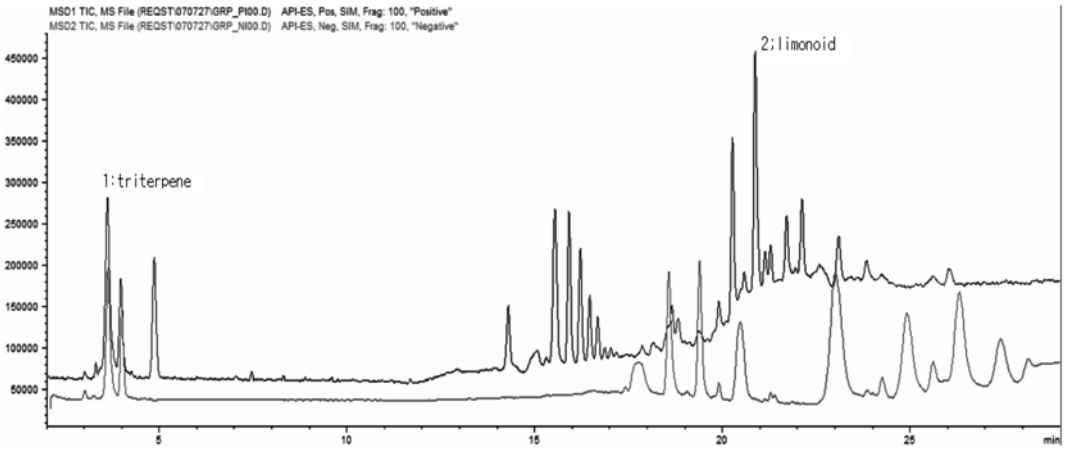

Fig. 1. Total ion chromatogram of *Meliae ezadarach*. 1: Triterpene: Peak #3 at 3.624 min (3.413 to 3.871 min), Peak at scan 168.0. Top ions are 195 179. 2: Limonoid: Peak #14 at 20.468 min (20.186 to 20.827 min), Peak at scan 2005.9. Top ions are 395 331.

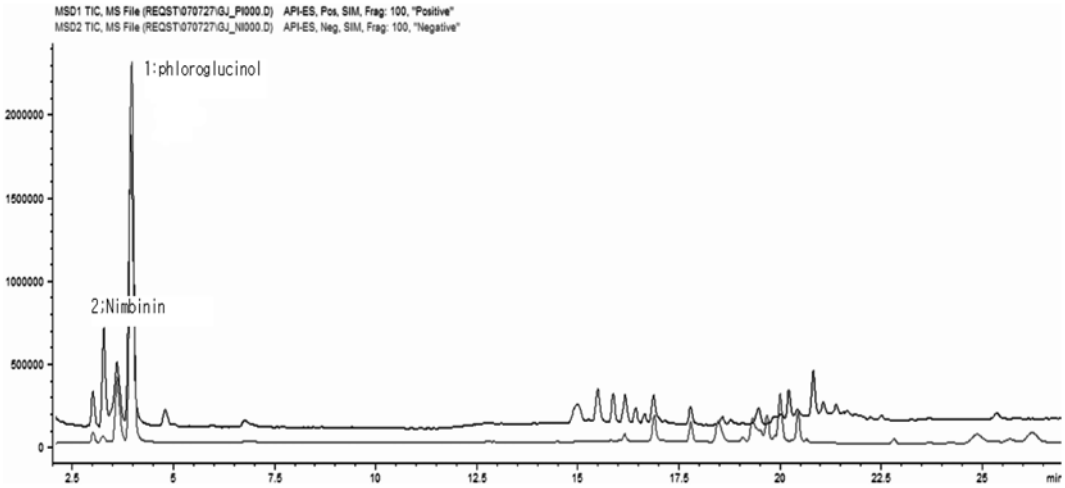

Fig. 2. Total ion chromatogram of *Dryopteris crassirhizoma*. 1: Phloroglucinol: Peak #4 at 3.953 min (3.796 to 4.659 min), Peak at scan 183.9. Top ions are 683 387 455. 2: Nimbinin: Peak #1 at 3.002 min (2.884 to 3.136 min), Peak at scan 90.3. Top ions are 159 289 273.

관중: 관중의 성분중의 하나인 phloroglucinol이 확인되었으며 3.796분과 4.659분의 사이인 3.953분에서 4번째 절정점(peak)에서 나타났고 최고이온수치(top ion)은 683, 387, 455를 나타내었다. 분석 중 절정점은 183.9이었다(Fig. 2).

다른 성분인 Nimbinin은 2.884분과 3.136분의 사이인 3.002분에서 1번째 절정점(peak)에서 나타났고 최고이온수치(top ion)은 159, 289, 273을 나타내었다. 분석 중 절정점은 90.3이었다(Fig. 2).

고 찰

이소(異所) 감염된 아니사키스증은 사람과 가축에서 중감염시에는 복통, 위궤양, 위염, 호산구성 육아종 등을 나타내지만 임상증상만으로는 다른 유사한 증상을 나타내는 질병의 구별과 진단이 곤란하여 인체에 단기간 내에 중감염된 아니사키스증은 그동안 특별한 약제를 통한 치료보다는 외과적으로 유충을 제거하는 수술적 요법이 주로 실시되어 왔다. 그러나 예로부터 한방에 전해 내려오는 전통적인 구충생약제가 아니사키스 유충에 치료효과가 있다면 현재 특별한 치료약제가 없는 가축의 고래회충감염증에 큰 효과를 발휘할 수 있을 것이다. 그래서 아니사키스 유충에 대한 구충 효과를 알아보기 위하여 고련피, 관중, 사군자를 이용하여 시험관 내의 실험을 실시하였다.

고련피에 대한 실험자료는 다음과 같으나 선충류에 대한 실험자료는 없었다. 톡소포자충에 대한 실험에서는 12.5 mg/ml의 농도에서 12시간 지난 후 살충 효과가 뚜렷하였고, 25 mg/ml에서 12시간이 지난 후에는 톡소포자충의 세포질 변성이 관찰된 것으로 나타났다 [11]. 또한 고련피는 질편모충에 대하여 2.5 mg/ml농도군에서 3시간 후에는 유의성있는 세포독성을 나타냈으며, 10 mg/ml일 때 6시간이 지난 후 최고수준의 질편모충 세포독성효과를 나타내었다고 하였다 [4]. 고련피 5 mg/ml 이상에서의 농도에는 메트로니다졸 내성 질편모충군, 감수성 편모충군의 유의한 차이 없이 매우 높은 성장 억제 효과를 보였다고 한다 [2].

본 시험에서는 상용농도(15 mg/ml)에서의 고련피와 관중의 경우 1, 2, 4, 8시간 사이에 급격한 운동성 억제효과를 보였다. 상용량의 1/2농도(7.5 mg/ml)에서도 상용농도와 마찬가지로 1, 2, 4, 8시간 사이에서 고련피의 경우 25-65%의 운동성억제, 관중의 경우 50% 이하의 운동성 억제를 보였다. 상용량의 2배 농도(30 mg/ml)에서는 관중의 경우 상용농도보다 운동성억제가 더 높게 나타났으며 고련피의 경우는 상용농도와 비슷한 수준을 보였다. 따라서 관중의 경우에는 상용농도(10 mg/ml) 및 상용량의 1/2농도(5 mg/ml)의 효과는 고련피 등과 비슷한 수치이나 2배 농도(20 mg/ml) 에서 더 우수한 운동성 억제효과를 나타내었다(Table 2). 이는 관중의 유도체 중의 하나인 phloroglucinol의 항산화 활성효과 등과도 무관하지 않은 것으로 보인다 [22]. 또한 관중은 50 ppm에서 *Vibrio parahaemolyticus*나 *Bacillus cereus*균 증식억제, 25 ppm에서 *Staphylococcus aureus*의 균 증식억제, *Actinobacillus*, *Fusobacterium*의 항균작용이 알려져 있고 *Actinomyces viscosus*의 모든 농도와 0.1%에서의 *Prevotella intermedia*에서 관중이 살균제인 chlorhexidine보다 우수한 항균력을 나타내는 것으로 보고되어지고 있다 [1, 6].

고련피의 경우는 특이하게도 농도 차에 따른 큰 영향을 보이지 않고 시간에 비례하여 억제효과가 증가한 것이 특징이었다. 이는 농도의 차이를 넘어서는 고련피 자체의 높은 기생충 활성 억제 효과의 작용에 기인하는 결과인 듯하다. 그러나 시간이 경과함에 따라 나타난 효과는 농도별에 의한 효과 보다는 시간의 흐름에 따라 사멸하는 유충의 수도 포함이 될 수 있으므로 조금 유의성이 낮아진다고 볼 수 있겠다. 관중의 경우에는 특정농도(20 mg/ml)에서 다른 농도와는 다른 확연한 억제효과를 반응시간 30분부터 8시간 사이에 보였다. 이는 3가지 실험군중 관중만이 농도별에 의한 효과가 있음을 보여준다. 따라서 관중이 실질적으로 가장 좋은 효과가 기대된다고 생각된다. 결과적으로 모든 농도에 있어서 고련피와 관중은 운동성억제효과를 나타내었고 24시간 이후에서는 100%의 운동성 억제효과를 나타내었다. 예로부터 회충, 요충 구충제로 사용된 만큼 같은 선충류인 고래회충의 유충에도 상당한 효과를 나타내었다. 사군자의 경우 아니사키스 유충에 대한 운동억제 효과는 나타내었으나, 시간별, 농도별에 따른 유의성을 보이지는 않았다(Table 3). 사람에서 적용되었을 경우 사군자는 구충제로서 좋은 효과를 나타낸다고 한방의학서에서 기술하고 있으나 실험결과로 볼 때 동물의 아니사키스유충 감염의 구충제로 사용하기에는 효과가 낮을 것으로 예상된다.

위와 같은 실험결과를 토대로 볼 때 고련피의 경우는 관중보다는 농도에 따른 효과가 적은 편이지만 어류의 생육이나 내장 등을 날것으로 가축에게 사료로 직접 급여하였을 때 가축의 체중이나 연령에 맞추어 고련피 진탕액을 급여하거나 어육 및 내장이 혼합된 사료에 고련피를 혼합한다면 구충 및 예방효과가 있을 것으로 기대되지만 경제적 측면과 생체내 효능은 더 많은 실험과 연구가 필요하다고 사료된다.

결 론

오래전부터 전통적으로 알려진 구충제인 고련피, 관

중, 사군자에 대해 아니사키스유충의 운동성 억제효과를 실험한 결과는 아래와 같았다.

1. 고련피는 24시간 후 7.5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml에서 100%의 유충운동 억제효과가 있었다.

2. 관중은 12, 24시간 후 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml에서 모두 100% 유충 운동 억제효과를 나타내었다.

3. 사군자는 7.5 mg/ml, 15 mg/ml, 30 mg/ml 모두 운동성 억제효과를 보였으나 농도별, 반응시간대에 따른 유의성은 적은 편이었으며, 30 mg/ml 12시간에서 78.9%의 유충 운동 억제 효과를 보인 것이 가장 높은 효과이었다.

이상의 결과로 아니사키스유충의 운동성 억제효과를 실험한 결과는 관중, 고련피, 사군자 순으로 아니사키스유충에 운동성 억제효과가 있는 것으로 나타났다. 고련피와 관중은 어류의 생육이나 내장 등을 날것으로 가축에게 사료로 직접 급여하여 나타나는 아니사키스증을 예방 및 치료효과가 있을 것이며 고래회충뿐만 아니라 돼지회충(*Ascaris suum*)의 구충에도 좋은 효과가 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. **김승남.** 관중의 항균작용 및 세포독성에 관한 연구. 서울대학교 대학원 석사학위 논문, 2000.
2. **김태훈.** 메트로니다졸 내성 질편모충에 대한 고련피의 약제 효과. 경희대학교 대학원 석사학위 논문, 2002.
3. **도농선, 민병선, 배기환.** 관중의 항균성물질 분리 및 충치균에 대한 항균력 평가. 약학논문집 1996, **12**, 111-114.
4. **박원식.** 고련피 살충효과에 대한 *in vitro*실험. 경희대학교 대학원 석사학위 논문, 2000.
5. **이재구.** 최신수의기생충학. pp. 137-138, 대한교과서, 서울, 1999.
6. **이지영, 백남인, 신동화, 한지숙.** 관중(*Dryopteris crassirhizoma* Nakai)의 식중독 미생물 증식 억제 물질의 분리 및 항균작용. 한국식품과학회지 2001, **33**, 611-618.
7. **임경일, 신호준.** 환자로부터 분리한 Anisakis (Nematoda: Anisakidae)유충의 형태학적 특징 및 분류학적 고찰. Yonsei Rep Trop Med 1993, **24**, 39-46.
8. **임경일, 신호준, 김병화, 문승일.** 고래회충유충증 107례 보고 및 어류감염 실태 조사. 기생충학잡지 1995, **33**, 179-186.
9. **전계식.** 충무 어시장 붕장어(Astroconger myriaster)의 아니사키스 유충 감염상. 한국환경위생학회지 1997, **23**, 14-17.
10. **전계식.** 위 아니사키스증에 관한 문헌적 고찰. 자연과학연구소논문지 2000, **5**, 33-37.
11. **최경림.** 톡소포자충에 대한 고련피의 약제 효과에 따른 미세 구조적 변화. 경희대학교 대학원 박사학위 논문, 2003.
12. **한국생약학교수협의회.** 본초학. pp. 462-463, 대한약사회, 서울, 1995.
13. **허준.** 동의보감. p. 162, 남산당, 서울, 1989.
14. **Abollo E, Gestal C, Pascual S.** Anisakis infestation in marine fish and cephalopods from galician waters: an updated perspective. Parasitol Res 2001, **87**, 492-429.
15. **Besprozvannykh VV, Ermolenko AV, Kamnev VD.** Peter-the-Great Gulf fishes are a source of human invasion of the nematode Anisakis simplex (the family Anisakidae). Med Parazitol (Mosk) 2004, **3**, 21-24.
16. **d'Assonville JA, Janovsky E, Verster A.** *In vitro* screening of Haemonchus contortus third stage larvae for ivermectin resistance. Vet Parasitol 1996, **61**, 73-80.
17. **Douch PGC, Morum PE.** The effects of anthelmintics on ovine larval nematode parasite migration *in vitro*. Int J Parasitol 1994, **24**, 321-326.
18. **Doupé, Lymbery AJ, Wong S, Hobbs RP.** Larval anisakid infections of some tropical fish species from north-west Australia. J Helmintol 2003, **77**, 363-365.
19. **Iglesias L, Valero A, Bentez R, Adroher FJ.** *In vitro* cultivation of *Anisakis simplex*: pepsin increases survival and moulting from fourth larval to adult stage. Parasitology 2001, **123**, 285-291.
20. **Kim CH, Chung BS, Moon YI, Chun SH.** A case report on human infection with Anisakis sp. in Korea. Kisaengchunghak Chapchi 1971, **9**, 39-43.
21. **Koyama T, Kobayashi A, Kumada M, Komiya Y, Oshima T, Kagei N, Ishii T, Machida M.** Morphological and taxonomical studies on Anisakidae larvae found in marine fishes and squids. Jpn J Parasitol 1969, **18**, 466-487.
22. **Lee SM, Na MK, An RB, Min BS, Lee HK.** Antioxidant Activity of Two Phloroglucinol Derivatives from *Dryopteris crassirhizoma*. Bio Pharm Bull 2003, **26**, 1354-1356.
23. **López-Serrano MC, Gomez AA, Daschner A, Moreno-Ancillo A, de Parga JMs, Caballero MT, Barranco P, Cabañas R.** Gastroallergic anisakiasis : findings in 22 patients. J Gastroenterol Hepatol 2000, **15**, 503-506.
24. **Manfredi MT, Crosa G, Galli P, Ganduglia S.** Distribution of Anisakis simplex in fish caught in the Ligurian Sea. Parasitol Res 2000, **86**, 551-553.
25. **Noh JH, Kim B, Kim SM, Ock M, Park MI, Goo JY.** A case of acute gastric anisakiasis provoking severe clinical problems by multiple infection. Korean J

Parasitol 2003, **41**, 97-100.

26. **Nuchjangreed C, Hamzah Z, Suntornthiticharoen P, Sorosjinda-Nunthawarasilp P.** Anisakids in marine fish from the coast of Chon Buri Province, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2006, **37** (Suppl), 35-39.
27. **Pampiglione S, Rivasi F, Criscuolo M, De Benedittis A, Gentile A, Russo S, Testini M.** Human anisakiasis in Italy: a report of eleven new cases. Pathol Res Pract 2002, **198**, 429-434.
28. **Skírnisson K.** Pseudoterranova decipiens (Nematoda, Anisakidae) larvae reported from humans in Iceland after consumption of insufficiently cooked fish. Laeknabladid 2006, **92**, 21-25.
29. **Valero A, Martín-Sánchez J, Reyes-Muelas E, Adroher FJ.** Larval anisakids parasitizing the blue whiting, Micromesistius poutassou, from Motril Bay in the Mediterranean region of southern Spain. J Helminthol 2000, **74**, 361-364.
30. **van Thiel PH, Kuipers FC, Roskam RT.** A nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. Trop Geogr Med 1960, **12**, 97-113.
31. **Vieno NM, Tuhkanen T, Kronberg L.** Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. J Chromatogr A 2006, **17**, 101-111.
32. **Wagland BM, Jones WO, Hribar L, Bendixsen T, Emery DL.** A new simplified assay for larval migration inhibition. Int J Parasitol 1992, **22**, 1183-1185.