

Hexachlorophene의 肝吸虫의 C-¹⁴ Glucose 및 C-¹⁴ Glycine 代謝에 미치는 影響에 關한 研究 *

慶北大學校 醫科大學 藥理學敎室
〈指導 金 鍾 石 敎授〉

車 忠 錫

= Abstract =

Studies of the Effects of Hexachlorophene on the C¹⁴-Glucose and C¹⁴-Glycine Metabolism of Clonorchis Sinensis

Choong Suk Cha, M.D.

Department of Pharmacology,
Kyung Pook National University, School of Medicine Taegu, Korea
<Director: Prof. Chong Suk Kim, M.D.>

Hexachlorophene was reported previously to have a powerful parasiticidal effects on Clonorchis sinensis in vitro and in vivo, but the mechanism of its effect was not known. In the present report it was observed that there was an influence of hexachlorophene on the oxygen consumption, the glycolysis, the glycogenesis and the protein synthesis of C. sinensis.

A hundred mg. of C. sinensis collected from the biliary tracts of the infested rabbits was incubated in 2 ml of K.R.P. medium with various concentration of hexachlorophene, glucose-1-C¹⁴ and glycine-1-C¹⁴ in a 25 ml incubation flask with central well.

The oxygen consumption was observed by Warburg manometer, the glycogenolysis by measurement of radioactivities of extracted glycogen and protein from C. sinensis incubated with C¹⁴-glucose or C¹⁴-glycine.

1) The oxygen consumption by C. sinensis was markedly inhibited during all stages of incubation in concentration of 10⁻⁴ and 10⁻⁵g/ml of hexachlorophene, but in 10⁻⁶, slightly increased initially and gradually decreased after 3 hours of incubation.

2) Hexachlorophene inhibited the glycolysis by C. sinensis markedly in the concentration of 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ and 10⁻⁷g/ml.

3) The protein synthesis by C. sinensis from glycine was inhibited in the concentration of 10⁻⁵, 10⁻⁶ and 10⁻⁷g/ml of hexachlorophene.

4. The glycogen synthesis by C. sinensis in each concentration of 10⁻⁴, 10⁻⁵ and 10⁻⁶g/ml of hexachlorophene was inhibited markedly. The speed of inhibition was more rapid in high concentration than in low, and in low concentration even the glycogen itself which had synthesized in earlier stage in their body was consumed in later stage.

5) The effects of oxygen consumption, glycolysis and glycogen synthesis were not influenced in the concentration of 10⁻⁵g/ml of chloroquine phosphate, whereas hexachlorophene and dithiazanine inhibited markedly in same concentration, and the former was more potent than the latter.

* 本論文의 要旨은 1966年 10月 第18回 大韓藥理學會에서 發表하였음.

緒 論

Von Brand¹⁾가 大部分의 寄生蟲은 一般적으로 含水炭素를 主되는 energy源으로 利用하고 있음을 指摘한 以來로 寄生蟲의 含水炭素代謝에 關한 研究業績이 여러 學者들에 依하여 續續 報告되고 있다. 特히 蠕蟲類에 있어서 林²⁾, Goid³⁾는 trematode의 含水炭素의 代謝를, 林⁴⁾은 *Ascaris lumbricoides*의 C¹⁴-glucose의 代謝를 徐⁵⁾는 *Fasciola hepatica*와 *Eurytrema pancreaticum* 및 *sparganium*의 glucose 代謝를, 徐⁶⁾는 雙口吸出 *Paramphistomum cervi*의 glucose代謝를 研究報告하였다. Mansour⁷⁾는 *Fasciola hepatica*는 含水炭素를 嫌氣性과 好氣性에서 代謝하며 主로 propionic acid와 acetic acid를 生産하여 利用하고 lactic acid로 利用되는 것은 全 含水炭素代謝의 4~9%에 不過하다고 하였다.

肝디스토마蟲의 含水炭素의 代謝에 關해서는 金等⁸⁾은 肝디스토마蟲이 glucose를 利用하여 lactic acid와 pyruvic acid를 生産함을 報告하였고 韓等⁹⁾ 및 金¹⁰⁾은 C¹⁴-glucose를 利用하여 肝디스토마蟲이 glucose를 利用함을 證明하고 있다.

一般적으로 蠕蟲類는 體内に 多量の glycogen을 含有하고 이들 蟲體가 含水炭素를 利用하고 있으며 肝디스토마蟲도 體内の 主要臟器에 多量の glycogen을 含有하고 있으므로 이들 glycogen은 蟲의 energy源으로 重要한 役割을 하는 것으로 생각되고 있다.

한편 肝디스토마蟲이 glycine을 利用하고 있음은 徐¹¹⁾等에 依하여 報告되었다. 이렇게 蠕蟲類中에서도 肝디스토마蟲의 含水炭素 代謝에 關한 研究報告가 있기는 하나 이들 蟲體의 代謝에 對한 藥物의 影響에 關한 報告는 稀少하며 더욱이 肝디스토마蟲 治療劑가 肝디스토마蟲의 代謝에 미치는 影響에 關한 研究報告는 거의 없다. 그런데 金¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾等은 hexachlorophene 및 그의 誘導體들이 肝디스토마蟲에 對하여 強力한 殺蟲作用이 있으며 肝디스토마蟲에 治療效果가 있음을 報告하고 있다.

著者は hexachlorophene의 肝디스토마蟲의 glucose 利用 및 蛋白質合成에 미치는 影響을 보기 爲하여 試驗管內에서 hexachlorophene의 各種 濃度에서 肝디스토마蟲의 酸素消費量, 解糖作用, glycogen 合成 및 蛋白質合成能에 미치는 影響을 比較觀察하였으며 蛋白質合成을 除外한 이들 作用의 時間的 經過에 따른 變化와 hexachlorophene과 dithiazanine iodide, chloroquine phosphate 등의 作用과도 比較 觀察하여 이에 報告하는 바이다.

實驗資料 및 實驗方法

1. 供試蟲

蟲體는 體重 2kg內外의 白色家兔에 慶尙南道 金海郡 仙岩洞 湖水에서 採集한 淡水魚인 참붕어(*Pseudorasbora para*)의 筋肉을 採集하여 slide glass上에서 運動이 活潑한 *Chlonorchis sinensis*의 被囊幼蟲을 顯微鏡下에서 500마리를 計算하여 經口感染시키고 60日 飼育한後 屠殺하여 膽管에서 얻은 蟲體를 使用하였다.

2. 藥 物

Hexachlorophene은 Gump會社(美), Glucose-1-C¹⁴, Glucose-C¹⁴(u), Glycine-1-C¹⁴等은 The Radiochemical Center, Amersham, Buckinghamshire(英), Dithiazanine iodide는 Elid Lilly會社(美), Chloroquine phosphate는 Bayer會社(獨), Penicillin은 Pfizer會社(美), Streptomycin은 Hoechst會社(獨), 10% E. S. polytamine은 Esai會社(日) 등의 製品을 各各 使用하였다.

3. 藥의 作用의 判定

蟲體의 glucose 및 glycine代謝에 對한 hexachlorophene의 作用은 各種濃度의 hexachlorophene과 C¹⁴-glucose 含有培地에서 生産된 C¹⁴O₂와 培養後 蟲體에서 分離한 glycogen 및 C¹⁴-glycine 含有培地에서 培養한 蟲體에서 分離한 蛋白質의 放射能을 測定하여 比較觀察하였고 酸素消費量은 Warburg standard manometric technique로 各種濃度의 培地에서 培養時에 消費하는 酸素量을 比較觀察하였다.

4. 蟲體의 培養

1) Hexachlorophene의 蟲體의 C¹⁴O₂ 및 C¹⁴-glycogen 生成에 미치는 90分間의 作用을 觀察하기 爲해서는 C¹⁴-glucose含有培地는 glucose-1-C¹⁴과 carrier glucose를 含有한 Krebs'-Ringer phosphate 溶液을 使用하였으며 이때 glucose의 濃度는 1mg/ml이 되게 하였으며 radioisotope의 濃度는 0.25 μ C/ml이 되게 하였다.

培養에는 底面의 直徑이 3.5 cm, 높이 5.5 cm의 Erlenmeyer flask內 中央에 直徑 1 cm 높이 2 cm가량의 中心管이 있는 conic flask를 使用하였으며 中心管에는 蟲體의 呼吸 CO₂를 採取하기 爲하여 CO₂가 除去된 2N-NaOH 0.2 ml을 넣고 主室에는 10⁻⁴ 10⁻⁵ 10⁻⁶ 10⁻⁷g/ml濃度의 hexachlorophene을 含有하는 上記 glucose-1-C¹⁴ 培地를 總量 2 ml되게 넣고 蟲體는 家兔膽管에서 採取한 直時 約 100 mg을 Torsion balance로 秤量하여 넣은 後 100%의 酸素로 flask內를 飽和시키고 培養器를 密閉한 後 다음 38°C의 Dufnoff metabolic shaking incubator에 넣어 振盪하면서 90分間 培養하였다. 反應은 10N-H₂SO₄,

0.05 ml을 加하여 中止시키고 中心管에 捕集된 CO₂는 10% BaCl₂를 加하여 BaCO₃로 沈澱시킨 다음 이것을 濾過하고 乾燥시킨後 放射能을 Geiger Müller counter (G-M counter)로 測定하였다.

2) Hexachlorophene의 虫體의 酸素消費量, 解糖作用 및 glycogen合成에 미치는 經時的 影響과 hexachlorophene과 chloroquine phosphate 및 dithiazanine iodide의 이들 作用에 미치는 影響을 比較觀察하기 爲해서는 虫體는 膽管에서 採集한 後 Hedon液¹⁵⁾으로 3回 洗滌하고 penicillin 2,000u/ml, streptomycin 0.1mg/ml을 含有하였으나 glucose는 含有하지 않은 30°C의 Hedon液 (pH7.4)에서 12時間 培養한 後에 使用하였다.

C¹⁴-glucose 含有培地는 glucose-C¹⁴(u)와 carrier glucose를 penicillin 2,000u/ml과 streptomycin 0.1 mg/ml을 含有한 Krebs' Ringer phosphate液에 稀釋하였으며 glucose의 濃度は 2 mg/ml되게 하였고 radioisotope의 濃度は 0.2 μ C/ml되게 하였다.

培養器로는 25 ml內外의 Warburg vessel를 使用하였으며 主室에는 Krebs' Ringer phosphate와 carrier glucose, glucose-C¹⁴(u) 및 各種 濃度の hexachlorophene 或은 各藥을 넣어서 總量 2 ml되게 하였고 CO₂가 除去된 2.5 N-NaOH 溶液 0.1 ml을 넣고 CO₂의 吸着面稱을 넓게 하기 爲하여 Azumi filter paper No. 2를 2×2 inch로 잘라 4回 접어 넣었다. 虫體는 濾紙로 可能的 限 水分을 除去하고 Torsion balance로 100 mg內外로 秤量하여 主室에 넣고 酸素로 1分間 飽和시킨後 即時 manometer에 連結하고 37.5°C의 Warburg bath中에서 培養하였다. 培養하는 동안 每時間마다 虫이 消費하는 酸素量을 Warburg standard manometric technique로 測定 計算하였으며 培養이 끝난 다음 中心管內容을 試驗管에 옮기고 冷藏庫內에서 12時間 放置했다가 10% BaCl₂를 加하여 BaCO₃로 沈澱시키고 이것을 濾過하여 乾燥시킨後 planchet에 옮기고 放射能을 G-M counter로 測定하였다.

3) Hexachlorophene의 虫體의 蛋白質合成에 미치는 影響을 보기 爲해서는 glycine-1-C¹⁴과 各種 濃度の hexachlorophene을 含有한 Krebs' Ringer phosphate buffer를 使用하였으며 이 溶液에는 C¹⁴-glycine 1.0 μ C(0.4 μ C/ml) 0.01 ml-glucose (1.8 mg/ml) 및 E. S. polytamine 0.1 ml/2.5 ml가 되게 하였다.

培養器로는 15 ml의 試驗管內에 hexachlorophene의 各種濃도와 carrier glucose, Krebs' Ringer phosphate buffer, E. S. Polytamine 0.1 ml 및 C¹⁴-glycine 1.0 μ C를 含有한 培養液과 肝디스토마虫 約 100mg를 秤量하여 넣은 後 air phase에서 90分間 培養한 다음 20% trichloroac-

etic acid(TCA) 溶液 2 ml을 加하여 反應을 中止시켰다

5. Glycogen의 分離測定

Glycogen의 分離測定은 Stetten 및 Boxer¹⁶⁾와 Walaas¹⁷⁾의 方法에 依하였으며 前述한 1) 및 2)의 培養이 끝난 다음 虫體를 물로 3回 씻고 80°C에서 30% KOH를 加하여 虫體를 溶解시킨 後 鹽酸으로 中和하고 94% alcohol로 加溫處理해서 얻은 沈澱物을 다시 3% TCA 5 ml을 加하여 溶解시키고 沈澱物을 除去한 上澄液을 94% alcohol로 다시 沈澱시키고 上澄液을 버린 後 물로 處理하고 다시 酸으로 加水分解하여 glucose로 轉換한 다음 이것을 planchet에 옮겨 放射能을 G-M counter로 測定하였다.

6. 蛋白質의 分離測定

蛋白質測定은 Mclean¹⁸⁾ 方法에 準하였으며 培養中止時의 終末 TCA 濃度を 5% 되게 하고 生成된 沈澱을 90°C에서 5% TCA 溶液으로 2回 洗滌한 後 0.4 M NaOH 4 ml에 溶解시키고 10 mg의 carrier glycine을 加하여 1時間 室溫에 두었다가 50% TCA溶液 1 ml을 加하여 沈澱시키고 沈澱物을 ethanol로 2回, ether-ethanol 1:1의 混合液으로 70°C에서 2回 洗滌한 다음 ether로 2回 洗滌하여 얻은 蛋白質 粉末을 planchet에 옮기고 蒸發乾燥한 後 放射能을 G-M counter로 測定하였다.

實驗 成績

I. Hexachlorophene이 肝디스토마虫의 解糖作用 glycogen 및 蛋白質合成에 미치는 90分間の 影響

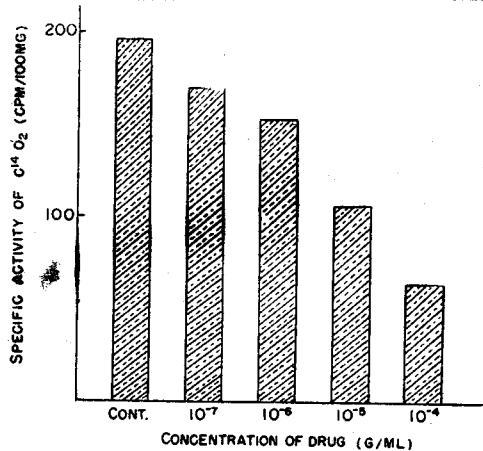
Hexachlorophene의 肝디스토마虫의 glucose-1-C¹⁴에 對한 解糖作用과 그것으로 부터의 glycogen 合成 및 glycine-1-C¹⁴으로 부터 蛋白質合成에 미치는 影響을 90分間 觀察하였다.

1) Hexachlorophene의 肝디스토마虫의 呼吸 CO₂에 미치는 影響

Hexachlorophene이 10⁻⁴~10⁻⁷g/ml의 各種濃度로 含有된 glucose-1-C¹⁴ 含有培地에서 90分間 生成된 呼吸 CO₂의 放射能을 total cpm/100mg wet weight로 比較하면 對照群에서 195cpm(100%)이며 hexachlorophene 10⁻⁷g/ml에서 170cpm(87%)이며 10⁻⁶에서는 153cpm(79%), 10⁻⁵에서는 106cpm(54%), 10⁻⁴에서는 64cpm(33%)이었다. 即 藥物의 濃度の 增加에 따라 C¹⁴O₂의 生成이 顯著히 抑制됨을 알 수 있다.

[Table 1] Effects of hexachlorophene on $C^{14}O_2$ production and glycogen synthesis from glucose-1- C^{14} by *C. sinensis* in vitro. (mean \pm S.E., cpm/100mg)

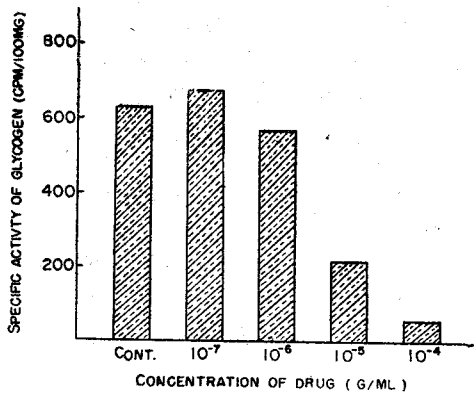
Numbers of incubation	Concent. of drug (g/ml)	Specific activity of CO_2		Specific activity of glycogen	
		cpm	%	cpm	%
6	Control	195 \pm 4	100	634 \pm 53	100
6	10^{-7}	170 \pm 7	90	678 \pm 52	107
6	10^{-6}	153 \pm 6	79	572 \pm 25	90
6	10^{-5}	106 \pm 7	54	218 \pm 12	28
6	10^{-4}	64 \pm 2	33	47 \pm 4	7



[Fig. 1-1] Effects of hexachlorophene on the $C^{14}O_2$ production from glucose-1- C^{14} by *C. sinensis* in vitro.

2) Hexachlorophene의 glycogen合成에 미치는影響

Hexachlorophene의 各種濃度를 含有한 glucose-1- C^{14} 含有培地에서 肝디스토마 虫體内에서 90分間에 生成된



[Fig. 1-2] Effects of hexachlorophene on the glycogen synthesis from glucose-1- C^{14} by *C. sinensis* in vitro.

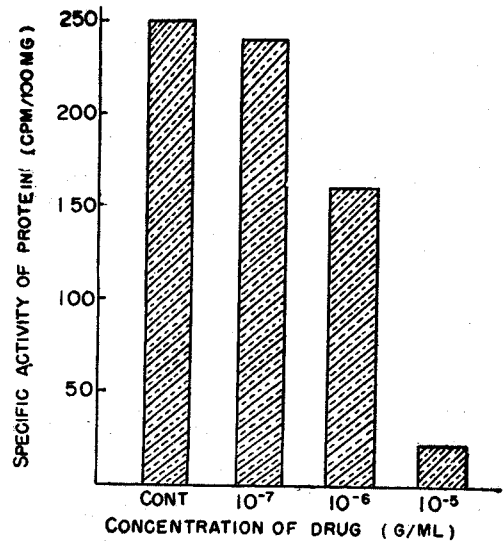
C^{14} -glycogen은 對照群에서는 634 cpm(100%)이며 hexachlorophene의 10^{-7} g/ml의 濃度에서는 678 cpm(107%), 10^{-6} 濃度에서는 572 cpm (90%), 10^{-5} 濃度에서는 128 cpm(20%), 10^{-4} 濃度에서는 47 cpm (7%)이었다. 卽 hexachlorophene은 10^{-7} 濃度인 低濃度에서는 肝디스토마 虫의 glycogen合成을 多少 促進하는 것같으나 高濃度에서는 顯著이 抑制하는 傾向이 있었다.

3) Hexachlorophene의 蛋白質合成에 미치는影響

Hexachlorophene의 各種濃度를 含有한 glycine-1- C^{14} 含有培地에서 90分間에 肝디스토마 虫이 生産하는 C^{14} -protein의 total cpm per 100mg wet weight를 比較하면 對照群에서는 249 cpm (100%)이며 hexachlorophene 10^{-7} g/ml 濃度에서는 238 cpm (93%), 10^{-6} 濃度에서는

[Table 2] Effects of hexachlorophene on the glycine-1- C^{14} incorporation into protein by *C. sinensis* in vitro (mean \pm S.E., cpm/100mg).

Numbers of incubation	Concent. of drug(g/ml)	Specific activity of protein	
		cpm	%
7	Control	249 \pm 7	100
5	10^{-7}	238 \pm 6	93
5	10^{-6}	158 \pm 6	63
7	10^{-5}	22 \pm 3	9



[Fig. 2] Effects of hexachlorophene on glycine-1- C^{14} incorporation into protein by *C. sinensis* in vitro.

158 cpm(63%)이며 10^{-5} 濃度에서는 22 cpm (9%) 이었다. 卽 hexachlorophene은 肝디스토마虫의 蛋白質合成을 上記의 各種濃度에서 顯著히 抑制하며 特히 이 作用은 hexachlorophene의 低濃度에서도 解糖作用 gly-cogen 合成에 미치는 影響에 비해 더 抑制하는 傾向이 있었다.

II. Hexachlorophene 이 肝디스토마虫의 酸素消費 解糖作用 및 glycogen合成에 미치는 經時的影響

Hexachlorophene 含有培地에서 肝디스토마虫의 酸素消費量은 5時間동안 繼續하여 每時間마다 觀察하였으며 解糖作用, glycogen 合成은 90分 180分 300分間 各各觀察하였다.

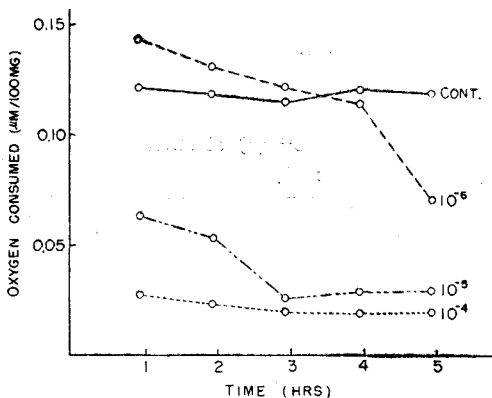
1) 酸素消費에 미치는 經時的 影響

Hexachlorophene의 各種濃度 含有培地에서 肝디스토마虫의 酸素消費量은 第1時間培養後 對照群은 $0.124 \mu\text{M}/100\text{mg wet weight}$ (100%)인데 比較해서 10^{-6}g/ml 濃度에서는 $0.145 \mu\text{M}$ (117%), 10^{-5} 濃度에서 $0.064\mu\text{M}$ (51.6%), 10^{-4} 濃度에서 $0.028\mu\text{M}$ (22.6%)로 減少되었다고

第2時間 培養後에는 對照群은 $0.120\mu\text{M}/100\text{mg wet weight}$ (100%)인데 比較해서 10^{-6} 濃度에서는 $0.132\mu\text{M}$ (110%), 10^{-5} 濃度에서는 $0.054 \mu\text{M}$ (45%), 10^{-4} 濃度에서는 $0.025 \mu\text{M}$ (20.8%)이 있으며 第3時間 培養後에는 對照群이 $0.121\mu\text{M}/100\text{mg wet weight}$ (100%)인데 比較해서 10^{-6} 濃度에서는 $0.123 \mu\text{M}$ (101%), 10^{-5} 濃度에서는 $0.029\mu\text{M}$ (24%), 10^{-4} 濃度에서는 $0.021\mu\text{M}$ (17%)이었다. 第4時間 培養後에는 對照群이 $0.129\mu\text{M}/100\text{mg wet weight}$ (100%)인데 比較해서 10^{-6} 濃度에서는 $0.116\mu\text{M}$ (90%), 10^{-5} 濃度에서는 $0.029\mu\text{M}$ (23%), 10^{-4} 濃度에서는 $0.021\mu\text{M}$ (16%)이었다. 第5時間培養後에는 對照群이 $0.123\mu\text{M}/100\text{mg wet weight}$ (100%)인데 比較해서 10^{-6} 濃度에서는 $0.072\mu\text{M}$ 이고 10^{-5} 濃度에서는 $0.029\mu\text{M}$ (24%), 10^{-4} 濃度에서는 $0.021\mu\text{M}$ (17%)이었다. 卽 hexachlorophene은 肝디스토마虫의 酸素消費量을 高濃度에서는 顯著히 抑制하나 低濃度인 10^{-6} 濃度에서는 처음 3時間까지는 對照群에 比較해서 增加하는 傾向이 있으나 4時間後 부터는 漸次 減少 되었다.

[Table 3] Effects of hexachlorophene on the oxygen consumption at different time intervals by *C. sinensis* in vitro (Mean \pm S.E., $\mu\text{M}/100\text{mg}$)

Numbers of incubation	Concent. of drug g/ml)	Time (hrs)									
		1		2		3		4		5	
		(μM)	(%)	(μM)	(%)	(μM)	(%)	(μM)	(%)	(μM)	(%)
8	Control	0.124 ± 0.005	100	0.120 ± 0.003	100	0.121 ± 0.004	100	0.129 ± 0.005	100	0.123 ± 0.004	100
6	10^{-6}	0.145 ± 0.004	117	0.132 ± 0.004	110	0.123 ± 0.005	101	0.116 ± 0.007	90	0.072 ± 0.005	59
6	10^{-5}	0.064 ± 0.0034	52	0.054 ± 0.001	45	0.029 ± 0.0014	24	0.029 ± 0.0005	23	0.029 ± 0.0005	24
6	10^{-4}	0.028 ± 0.0006	23	0.025 ± 0.0018	21	0.021 ± 0.0018	17	0.021 ± 0.0004	16	0.021 ± 0.0004	17



[Fig.] 3 Effects of hexachlorophene on the oxygen consumption at different time intervals by *C. sinensis* in vitro.

2) Hexachlorophene 의 肝디스토마虫의 解糖作用에 미치는 影響

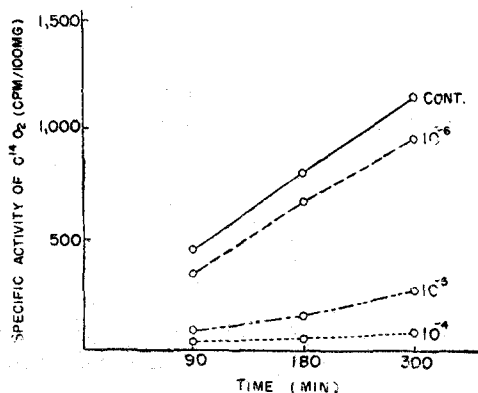
前實驗에서 hexachlorophene 이 肝디스토마虫의 glucose- 1-C^{14} 으로부터 C^{14}O_2 의 生産을 抑制함을 알았으므로 이번에는 肝디스토마虫을 12時間 飢餓狀態에 놓아 둔後 各種濃度の hexachlorophene 含有 glucose- C^{14} -(u) 培地에서 肝디스토마虫의 C^{14}O_2 生産에 미치는 影響을 經時的으로 觀察하였던바 對照群에서는 90分培養後에는 C^{14}O_2 의 放射能이 443 cpm/100mg wet weight (100%)인데 比較해서 hexachlorophene 10^{-6} 濃度에서는 345 cpm (79%), 10^{-5} 濃度에서는 92 cpm (21%), 10^{-4} 濃度에서는 46 cpm (11%) 이었으며 3時間培養後에는 對照群이 791 cpm (100%) 인데 比較해서 10^{-6} 濃度에서는

[Table 4] Effects of hexachlorophene on the $C^{14}O_2$ production from glucose- $C^{14}(u)$ at different time intervals by *C. sinensis* in vitro (mean \pm S.E., cpm/100mg).

Numbers of incubation	Concent. of drug(g/ml)	Time (min.)					
		90		180		300	
		(cpm)	(%)	(cpm)	(%)	(cpm)	(%)
3	Control	433 \pm 12	100	791 \pm 16	100	1124 \pm 13	100
3	10^{-6}	345 \pm 14	80	658 \pm 15	83	934 \pm 9	83
3	10^{-5}	92 \pm 2	21	166 \pm 3	21	287 \pm 13	26
3	10^{-4}	46 \pm 2	11	61 \pm 2	8	85 \pm 4	8

658 cpm (83%), 10^{-5} 濃度에서는 166 cpm (21%), 10^{-4} 濃度에서는 61pm (8%)이었다. 5時間培養後에는 對照群이 1124 cpm(100%)인데 比해서 10^{-6} 濃度에서는 934 cpm (83%)이며 10^{-5} 濃度에서 287 cpm (26%)이었고 10^{-4} 濃度에서는 85 cpm(8%)이었다.

即 hexachlorophene의 各種濃度에서 時間經過에 따라 解糖作用이 顯著히 抑制 되었다.



[Fig. 4] Effects of hexachlorophene on the $C^{14}O_2$ production from glucose- $C^{14}(u)$ at different time intervals by *C. sinensis* in vitro.

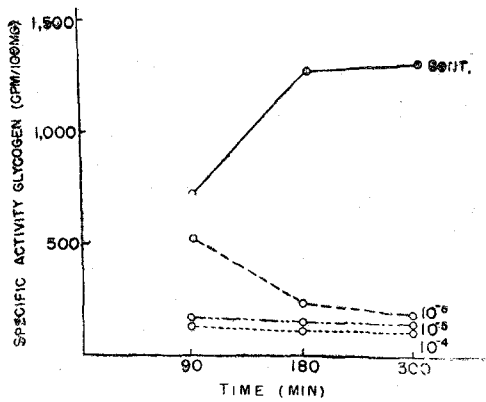
[Table 5] Effects of hexachlorophene on the glycogen synthesis from glucose- $C^{14}(u)$ at different time intervals by *C. sinensis* in vitro (mean \pm S.E., cpm/100 mg).

Numbers of incubation	Concent. of drug(g/ml)	Time(min.)					
		90		180		300	
		(cpm)	(%)	(cpm)	(%)	(cpm)	(%)
3	Control	734 \pm 10	100	1264 \pm 29	100	1328 \pm 28	100
3	10^{-6}	520 \pm 12	71	234 \pm 6	19	176 \pm 5	13
3	10^{-5}	170 \pm 8	23	160 \pm 6	13	152 \pm 2	11
3	10^{-4}	150 \pm 7	20	156 \pm 7	12	101 \pm 6	8

3) Hexachlorophene의 肝디스토마虫의 glycogen 合成에 미치는 經時的 影響

前實驗에서 hexachlorophene 이 肝디스토마虫의 glycogen 合成을 抑制함을 보았으므로 이번에는 그 影響을 經時的으로 觀察하였다. 對照群은 90分培養에서 合成된 glycogen의 放射能이 734 cpm/100mg wet weight (100%)인데 比하여 hexachlorophene의 10^{-6} 濃度에서는 520 cpm (71%), 10^{-5} 濃度에서는 170 cpm (23%), 10^{-4} 濃度에서는 150 cpm (20%)이었다. 3時間 培養에서는 對照群이 1264 cpm/100mg wet weight (100%)인데 比하여 10^{-6} 濃度에서는 234 cpm (19%), 10^{-5} 濃度에서는 160 cpm (13%), 10^{-4} 濃度에서는 156 cpm (12%)이었으며 5時間培養에서는 對照群이 1328 cpm/100 mg wet weight (100%)에 比하여 10^{-6} 濃度에서는 176 cpm (13%), 10^{-5} 濃度에서는 152 cpm (11%), 10^{-4} 濃度에서는 101 cpm(8%)이었다.

即 肝디스토마虫의 glycogen 合成은 hexachlorophene의 各種濃度에서 顯著히 抑制되었으며 이때 虫體內에 合成된 glycogen의 量은 hexachlorophene의 高濃度인 10^{-4} 濃度에서는 처음 90分에서 부터 甚히 抑制되었고 時間經過에 따라 減少되기는 했으나 減少度는 顯著하지 않았다. 低濃度인 10^{-6} 濃度에서는 처음 90分에 比하면 時間經過에 따라 減少度가 더욱 顯著하였다. 그러나 對照群에서는 時間經過에 따라 漸次로 增加되었다.



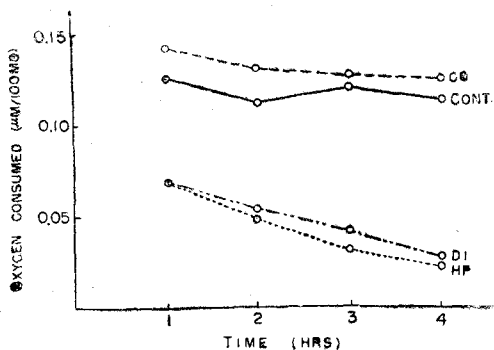
[Fig. 5] Effects of hexachlorophene on the glycogen synthesis from glucose-C¹⁴(u) at different time intervals by *C. sinensis* in vitro.

4) Hexachlorophene과 dithiazanine iodide 및 chloroquine phosphate와의 비교

Hexachlorophene의 酸素消費量, 解糖作用 및 glycogen 合成에 對한 抑制作用을 dithiazanine iodide 및 chloroquine phosphate의 이들에 對한 作用과 比較하였다. 各藥物의 濃度는 10⁻⁵g/ml이며 酸素消費量은 每時間마다

[Table 6] Comparison of drug effects on oxygen consumption at different time intervals by *C. sinensis* in vitro (mean ± S. E., μM/100mg).

Drug	Numbers of incubation	Concent. of drug g/ml	Time (hrs)							
			1		2		3		4	
			(μM)	(%)	(μM)	(%)	(μM)	(%)	(μM)	(%)
Control	6	10 ⁻⁵	0.123 ±0.003	100	0.111 ±0.004	100	0.118 ±0.003	100	0.110 ±0.005	100
HP	6	10 ⁻⁵	0.066 ±0.003	54	0.052 ±0.008	47	0.032 ±0.005	27	0.027 ±0.002	25
DI	6	10 ⁻⁵	0.066 ±0.0009	54	0.055 ±0.008	50	0.041 ±0.007	35	0.026 ±0.008	24
CQ	6	10 ⁻⁵	0.142 ±0.009	115	0.130 ±0.004	117	0.126 ±0.006	107	0.121 ±0.007	110



[Fig. 6] Comparison of drug effects on oxygen consumption at different time intervals by *C. sinensis* in vitro.

다 測定하고 4時間 經時 繼續觀察하였으며 解糖作用과 glycogen 合成은 各各 4時間 培養한것을 觀察하였다.

① 肝디스토마虫의 酸素消費에 미치는 影響

對照群 1時間 培養後 虫體 100 mg의 酸素消費量은 0.123 μM/100 mg. wet weight (100%) 인데 比較해서 chloroquine phosphate (CQ)는 0.142 μM (115%) 이었 으며 dithiazanine iodide (DI)와 hexachlorophene (HP) 0.066 μM (54%)였고 2時間後에는 對照群은 0.111 μM (100%)인 데 比較해서 CQ는 0.130 μM (117%), DI는 0.055 μM (50%), HP는 0.052 μM (47%)였다. 3時間後에는 對照群이 0.118 μM (100%)인 데 比較해서 CQ는 0.126 μM (107%), DI는 0.041 μM (35%), HP는 0.032 μM (27%)이었다. 4時間後에는 對照群이 0.110 μM (100%)인 데 比較해서 CQ는 0.121 μM (110%), DI는 0.026 μM (24%), HP는 0.027 μM (25%)이었다. 即 HP와 DI는 10⁻⁵ g/ml 濃度에서 時間經過에 따라 肝디스토마虫의 酸素消費量을 顯著히 抑制하나 CQ에서는 對照群에 比較해서 오히려 增加하는 傾向을 보였다.

② 肝디스토마虫의 解糖作用 및 glycogen 合成에 미치는 影響

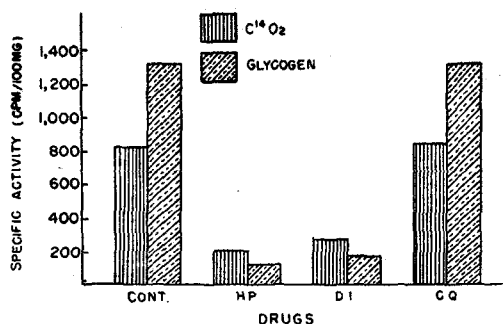
對照群에서 肝디스토마虫 100mg이 4時間동안 生産하는 C¹⁴O₂의 量은 822 cpm/100 mg. wet weight (100%)인 데 比較하여 CQ 10⁻⁵ 濃度에서는 830 cpm(101%)이며 DI 10⁻⁵ 濃度에서는 254 cpm (31%), HP의 10⁻⁵ 濃度에서는 190 cpm (23%)이었다.

glycogen 合成은 對照群이 4時間培養後 1316 cpm/100 mg wet weight (100%) 인 데 比較해서 CQ 10⁻⁵ 濃度에서는 1322 cpm (100%), DI는 같은 條件에서 180 cpm (14%), HP는 132 cpm (10%)이었다.

即 chloroquine phosphate는 肝디스토마虫의 glycogen 合成과 解糖作用에 큰 影響을 주지 않으나 dithiazanine

(Table 7) Comparison of drug effects on $C^{14}O_2$ production and glycogen synthesis from glucose- C^{14} (u) by *C. sinensis* in vitro (mean \pm S. E., cpm/100 mg).

Drug	Numbers of incubation	Concent. of drug(g/ml)	Duration of incubation(min.)	Specific activity of CO_2		Specific activity of glycogen	
				cpm	(%)	cpm	(%)
Control	3	10^{-5}	240	822 \pm 21	100	1316 \pm 7	100
HP	3	10^{-5}	240	190 \pm 6	23	132 \pm 5	10
DI	3	10^{-5}	240	254 \pm 10	31	180 \pm 8	14
CQ	3	10^{-5}	240	830 \pm 14	101	1322 \pm 8	100



(Fig. 7) Comparison of drug effects on $C^{14}O_2$ production and glycogen synthesis from glucose- C^{14} (u) by *C. sinensis* in vitro.

oxide와 hexachlorophene은 거의 같은 정도로 顯著한 抑制作用을 보였다.

總括 및 考察

많은 寄生虫은 含水炭素를 主되는 energy源으로 利用하고 있으며 體內에 多量의 glycogen을 含有하고 體內에서 glycogenesis와 glycogenolysis를 이르고 있음이 報告되어 있다. 蠕虫類에 含有된 含水炭素의 量과 그 代謝生産物은 量的으로 各虫體에 따라 相當한 差異가 있으며 同一種類의 虫體에서도 條件에 따라 差異가 많고 同一한 虫體에 있어서도 代謝生産物들은 條件에 따라 量的의 比例 關係에 있어서 相當한 差異가 있음이 報告되어 있다. Read⁽¹⁹⁾ Von Brand⁽¹⁾는 條虫은 多量의 glycogen을 含有하며 *M. expansa*의 glycogen의 組織濃度는 2.7~3.2%이고 *Diphyllobothrium latum*은 1.9%이라 하고 林等⁽²⁾은 *Diphyllobothrium mansoni*는 虫體의 wet weight g.當 glycogen은 平均 7.56%라고 하고 林⁽²⁰⁾은 *Ascaridia galli*의 glycogen의 組織濃度는 平均 22.59mg/g이라 하고 徐⁽⁵⁾는 *fasciola hepatica*의 glycogen 組織濃度는 虫體의 weight g.當 24.4 mg이고 李⁽²¹⁾는 2.63%라고 하였고 金⁽¹⁰⁾은 肝디스토마虫의 glycogen은 71.9 mg/g라고 하였다.

glycogen含量은 이와 같이 各虫體間에 顯著한 差異는 있으나 모두가 相當量의 glycogen을 含有하고 있다는 것은 共通된 點이라고 할수 있다. Von Brand⁽¹⁾는 蠕虫類에 있어서 含水炭素가 그 energy源이며 다른 寄生虫에 있어서도 거의 例外없이 含水炭素가 主되는 energy源일 것이라고 主張하였고 徐⁽⁵⁾는 C^{14} -glucose 含有培地에서 *Fasciola hepatica*는 攝取한 glucose의 約 70%가, *E. pancreaticum* 및 *sparganum*은 各各 1%와 5%가, *A. lumbricoides*는 31%가 呼吸 CO_2 와 glycogen으로 變한다고 했고 金⁽⁸⁾은 肝디스토마 虫이 glucose를 酸化하여 lactic acid와 pyruvic acid를 生産함을 報告하였고 韓⁽⁹⁾은 C^{14} -glucose 含有培地에서 肝디스토마 虫이 glucose를 吸收함을 證明하였다. 金⁽¹⁰⁾은 C^{14} -glucose 含有培地에서 glucose 吸收率은 平均 7.13 $\mu M/hr/g$ 이며 總 CO_2 의 生産率은 27.2 $\mu M/hr/g$ 라고 하였다.

肝디스토마虫의 glycogen濃度는 平均 71.9mg/g라고 한다. 이렇게 肝디스토마虫도 相當量의 glucose를 利用하며 또 glycogen으로 虫體組織에 蓄積함을 알수 있다. 蠕虫類의 含水炭素代謝에 關한 많은 報告가 있으나 이들 虫體의 glycogen의 合成過程은 아직 充分히는 밝혀지지 않았다. Bueding⁽²²⁾은 *Schistosoma mansoni*에서, Rathbone⁽²³⁾은 *Ascaris lumbricoides*에서 hexokinase를 發見하였으며 Von Brand⁽²⁴⁾는 虫體에서 ATP를 發見하였다. 그럼으로 이들 虫體도 脊椎動物의 組織에서와 類似한 過程을 通하여 glucose 등에서 glycogen이 合成될 것으로 推測하게 된다. 虫體內에서 glucose의 代謝過程은 Agosin⁽²⁵⁾이 *Echinoccus granulosus*에서, Bueding⁽²²⁾이 *Schistoma mansoni*에서, Rathbone⁽²³⁾이 蛔虫에서, Goldberg⁽²⁶⁾은 *Trichinella spiralis*에서 各各 Embden-Meyerhof 解糖過程에 關與하는 酵素를 抽出하였고 Bryant⁽²⁸⁾ 등은 *Fasciola hepatica*의 成虫을 C^{14} -glucose 含有培地에서 培養하고 放射性中間代謝産物인 hexose phosphate, phosphoenolpyruvate, transamination에 依하여 pyruvate로부터 由來된 alanine에서, 그리고 lactate에서 放射能을 證明하였다. 그들의 結果는 虫體內의 glucose 代謝는 Embden-Meyerhof Schema를

얇아 解糖作用이 일어날 것을 推測케 하였으며 Bryant²⁷⁾는 同培養에서 succinate, fumarate, malate, citrate, glutamate 및 2-aminobutyrate 등에서 放射能을 證明함으로써 krebs cycle을 밝는다는 것을 證明하였다.

蠕虫類들의 glucose 代謝는 共通的으로 Embden-Meyerhof 및 Krebs cycle의 代謝過程을 밝은 것을 生覺할 수 있으나 各虫體의 中間代謝物質은 各虫體에 따라 量 및 質에 있어서 差異가 많다. 그러나 lactic acid는 이들 中間代謝物質의 共通된 主要生産物이다. Mansour²⁸⁾는 Fasciola hepatica에 있어서는 含水炭素의 好氣性代謝時에는 propionic acid와 acetic acid가 主되는 代謝産物이며 lactic acid는 4~7%에 不過하다고 하였다. 그러나 serotonin에 依하여 虫體의 筋肉活性이 亢進되었을 때는 glycogenolysis와 glycolysis가 增加하고 lactic acid의 生産이 顯著히 增加하나 propionic acid의 增加는 輕微하다고 하였다.

肝디스토마虫의 glucose 代謝에 關해서는 Fasciola hepatica에서와 같은 詳細한 實驗의 報告는 없으나 金⁸⁾ 등이 肝디스토마虫의 glucose 培地에서 lactic acid와 pyruvic acid를 證明함으로써 肝디스토마虫에 있어서도 Embden-Meyerhof Schema가 있을 것을 推測케 하며 徐²⁹⁾ 金¹⁰⁾ 등은 C¹⁴-acetate 含有培地에서 肝디스토마虫이 C¹⁴O₂를 含有한 glycogen과 lactic acid를 證明 함으로서 Krebs cycle이 存在함을 推測케 한다.

한便 金¹²⁻¹³⁾ 등은 hexachlorophene이 肝디스토마症에 顯著한 效果가 있으며 試驗管內에서 比較的 低濃度인 10⁻⁶g/ml에서도 顯著한 殺虫作用이 있음을 報告하였다.

著者는 hexachlorophene의 肝디스토마虫에 對한 殺虫作用이 그의 含水炭素의 代謝에 關係가 있을 것으로 生覺하고 C¹⁴-glucose 含有培地에서 任意의 各種濃度의 hexachlorophene 이 肝디스토마虫의 酸素消費量, 解糖作用, glycogen 合成에 미치는 影響을 主로 比較觀察하는 한便 C¹⁴-glycine 含有培地에서 蛋白質合成에 미치는 影響도 아울러 觀察하였다.

本實驗結果를 綜合하면 hexachlorophene은 10⁻⁴~10⁻⁵g/ml 濃度인 高濃度에서 酸素消費量 解糖作用 glycogen 合成 및 蛋白質合成을 顯著히 抑制하고 飢餓狀態에 두지 않았던 實驗에서 10⁻⁶ 濃度에서는 解糖作用 glycogen 合成 및 蛋白質合成이 多少 減少되었고 10⁻⁷ 濃度에서는 glucose-1-C¹⁴으로부터 C¹⁴O₂의 生産은 多少 抑制되나 glycogen 合成은 多少增加하는 傾向을 보였고 C¹⁴-glycine으로 부터 蛋白質 合成은 多少 抑制되었다.

그리고 12時間 飢餓狀態에 두었던 實驗에서는 hexa-

chlorophene의 10⁻⁶ 濃度에서 酸素消費量과 C¹⁴O₂의 生産과의 經時的인 關係를 보면 酸素消費量은 처음 增加되고 2時間 後 부터 減少되나 C¹⁴O₂의 生産은 처음 부터 抑制된다. 이것은 처음 虫體가 藥物의 刺戟을 받아 運動이 活潑하여지고 體內的 glycolysis는 亢進되나 外部로부터 glucose의 攝取機能이 鈍麻해지는 것을 意味하는 것으로 生覺된다. 그러나 時間經過에 따라 酸素消費量도 減少되었다.

이것은 呼吸이 全體의으로 減少됨을 意味한 것으로 生覺된다.

Glycogen의 合成에 關해서는 hexachlorophene의 各種 濃度에서 顯著히 抑制되고 高濃度에서는 더욱 顯著하였다. 特히 高濃度에서는 時間經過에 따른 變動없이 처음부터 抑制하나 低濃度에서는 처음에는 多少 活潑한 glycogen 合成도 時間經過에 따라 急히 抑制되었다. 이事實은 hexachlorophene의 高濃度에서는 glycogenesis와 glycogenolysis가 共히 抑制되나 低濃度에서는 처음에는 glycogenesis가 glycogenolysis보다 旺盛하다가 나중에는 이와 反對된 現象을 나타내는 結果라고 生覺된다.

以上 hexachlorophene의 肝디스토마虫의 糖代謝에 對한 抑制作用機轉에 關해서는 本實驗만으로는 確實치는 않으나 hexachlorophene이 肝吸虫에 作用하여 含水炭素代謝에 關與하는 酵素系에 作用할 것으로 推測된다.

그러나 hexachlorophene 이 어떠한 酵素들에 關與하는 것인지는 알 수 없다.

Hexachlorophene과 dithiazanine iodide, chloroquine phosphate와의 比較實驗에서는 chloroquine은 肝디스토마虫에 對해서 酸素消費量 C¹⁴O₂의 生産을 多少 增加하였다. 이것은 肝디스토마虫에 對한 刺戟作用에 依한 것으로 生覺된다. glycogen의 合成에는 chloroquine 이 큰 影響을 주지 않은 것 같이 生覺된다.

Dithiazanine iodide는 酸素消費量 C¹⁴O₂의 生産과 glycogen의 合成을 hexachlorophene과 같은 程度로 顯著히 抑制하나 金⁽³⁰⁾ 및 姜⁽³¹⁾ 등은 dithiazanine iodide 30~60 mg/kg에서는 肝吸虫 感染家兔에서 效果를 보지 못했다고 했다.

이것은 dithiazanine이 經口的으로 投與될 때는 그 吸收가 잘되지 않는데 起因되는 것으로 生覺된다.

結 論

著者는 hexachlorophene의 肝디스토마虫의 酸素消費量 解糖作用 glycogen 合成 및 蛋白質合成에 미치는 影響을 觀察하기 爲하여 試驗管內에서 各種濃度의 he-

xachlorophene과 C¹⁴-glucose 또는 C¹⁴-glycine 含有培地에서 肝디스토마虫을 培養하였으며 hexachlorophene과 dithiazanine 및 chloroquine의 肝디스토마虫의 酸素消費量 解糖作用 및 glycogen 合成에 미치는 影響을 同一한 方法으로 培養하여 比較한바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1) Hexachlorophene은 肝디스토마虫의 酸素消費量을 10⁻⁴ 및 10⁻⁵g/ml의 高濃度에서는 顯著히 抑制하고 10⁻⁶의 低濃度에서는 처음에는 對照群보다 若干 增加시키나 3時間부터는 對照群에 比하여 次々 더 減少시켰다.

2) Hexachlorophene은 肝디스토마虫의 解糖作用을 10⁻⁴ 10⁻⁵ 10⁻⁶ 및 10⁻⁷g/ml의 各種濃度에서 顯著히 抑制하였다.

3) Hexachlorophene은 10⁻⁵ 10⁻⁶ 및 10⁻⁷g/ml의 濃度에서 肝디스토마虫의 蛋白質合成을 抑制하였다.

4) Hexachlorophene은 肝디스토마虫의 glycogen 合成能을 10⁻⁴~10⁻⁶g/ml의 各種濃度에서 抑制하나 10⁻⁴ 10⁻⁵ g/ml의 高濃度에서는 처음부터 甚히 抑制하였으며 低濃度에서는 처음에는 多少抑制하다가 時間經過에 따라 虫體內的 glycogen 含量까지도 急히 減少시켰다.

5) 10⁻⁵濃度에서 chloroquine phosphate는 酸素消費量, 解糖作用 및 glycogen 合成에 別影響을 볼 수 없었으나 同一濃度の hexachlorophene과 dithiazanine iodide는 顯著히 抑制하였으며 이 作用은 hexachlorophene에서 좀 더 強한 것 같이 보였다.

參 考 文 獻

- 1) Von Brand T. : Chemical physiology of endoparasitic animals, Academic press, N. Y. 339, pp, 1952.
- 2) 林漢鍾, 成守賢, 朴貞再, 李相教, 溫丙鍾 및 李憲教: *Monilzia expansa* 및 *Diphyllobotrium mansonii*의 葡萄糖代謝에 關한 研究, 寄生虫學雜誌 3:112, 1965.
- 3) Goid, M. M. : Carbohydrate metabolism in trematode parasites: *Z. of parasitenkunde*, 18: 39, 1957.
- 4) 林漢鍾: Metabolism of C¹⁴-glucose by *ascaris lumbricoides*, Seoul Jour. med. 4: 133, 1963.
- 5) Seo, B.S., Rim, H. J., Kim, K. S., Rhee, S.D., Lim, S. J. and Lee, T.S.: Metabolism of C¹⁴-glucose by *Fasciola hepatica*, Korean J. parasit, 2:34, 1964.
- 6) 徐丙高, 林漢鍾, 李相一, 文相燦: 雙口吸虫 *paramphistomum cervi*의 葡萄糖代謝에 關한 研究, 大韓寄生虫雜誌 5:9, 1965.
- 7) Mansour, T. E. : Studies on the carbohydrate metabolism of the liver fluke *Fasciola hepatica*, Biol.

- Chem. Biophys. 34: 456, 1959.
- 8) 金鍾石, 崔炳吉: *Clonorchis sinensis*의 酸素消費 및 嫌氣性解糖反應에 미치는 *Alantolactone*의 影響, 醫學 다이제스트 3:69, 1961.
- 9) 韓泌錫, 韓炯周, 徐丙高: C¹⁴-glucose를 利用한 肝吸虫의 代謝에 關한 研究, 大韓內科學會雜 4:281, 1961.
- 10) 金成大: 肝吸虫의 C¹⁴-葡萄糖 및 C¹⁴-醋酸鹽代謝에 關한 研究, 現代醫學 4:385, 1966.
- 11) 徐丙高, 李純炯: 肝吸虫의 C¹⁴-glycine 代謝의 關한 研究, 第7回大韓寄生虫學會抄錄集 p. 10, 1965.
- 12) 金鍾石, 金重映: Hexachlorophene의 肝디스토마症治療效果에 關한 實驗的 研究, 大韓醫學協會誌 7:847, 1964.
- 13) 金鍾石, 金重映, 金和雄, 朴永春: Hexachlorophene, Hexachlorophene N-ethyl pyridinate 및 Hexachlorophene piperazindte의 肝디스토마症의 治療效果, 大韓醫學協會誌 7:855, 1964.
- 14) 金鍾石, 金兌洙, 安志烈, 姜信完, 許瑾: 2, 2-methylene bis(3, 4, 6 trichlorophenoxy acetic acid)의 肝디스토마 治療效果에 關한 實驗的 研究, 慶大醫大雜誌 7:245, 1966.
- 15) Dawes Ben: Maintenance in vitro of *Fasciola*, Nature 174: 654, 1954.
- 16) Stetten D. and Boxer, C. E. : The rate of turnover of liver and carcass glycogen studied with the aid of deuterium, J. Biol. Chem, 155: 231, 1944.
- 17) Walaas E. W. and Walaas M. J.: Analysis of glycogen in rat skeletal muscle, J. Biochem. 187 : 769 1950.
- 18) John R. Mclean, Geoge L. Cohn, Irak Brandt: Incorporation of labeled aminoacid into the protein of muscle and liver mitochondria: J. Biochem, 233: 657, 1958.
- 19) Read, C. P. : Carbohydrate metabolism of *Hymenolepsis diminuta*: Expel. parasit., 5:325, 1956.
- 20) 林漢鍾, 金光洙, 成守賢, 李相教, 溫丙鍾, 李憲教 鷄蛔虫, *Ascaridia Galli*의 葡萄糖代謝에 關한 研究, 기생蟲학잡지 3: 107, 1965.
- 21) 李相一: 肝蛭 *Fasciola hepatica* 및 淸蛭 *Eurythrema pancreaticum*의 C¹⁴-lactate 代謝에 關한 研究: 기생蟲학잡지 3:10, 1965.
- 22) Bueding, E. and Mackinnon, T. A: Hexokinase of *Schistosoma mansoni*, J. Biol. Chem. 215:495, 1955.
- 23) Rathbone, L. and Rees, K. R. : Glycolysis in *Ascaris*

- lumbricoides* from the pig, Biochem. biophys. 15: 126, 1954.
- 24) Von Brand, T: Recent advances in Carbohydrate biochemistry of helminths, Helm. Abstr. 29: 97, 1966.
- 25) Agosin, M. and Aravena, L.C: Anaerobic glycolysis in homogenates of *Tricinella spiralis laevae*, Exper. parasit. 8: 10, 1959.
- 26) Goldberg, E: Studies on the intermediary metabolism of *Tricinella spiralis*, Exper. parasit. 6: 367, 1957.
- 27) Bryant, C. and Williams, J. P. G. : Some aspects of the metabolism of the liver fluke, *Fasciola hepatica*, L. Exper. parasit. 12: 372, 1962.
- 28) Mansour T. E : The effect of serotonin and related compounds on the carbohydrate metabolism of the liver flukes, *Fasciola hepatica*, 126: 3, 1957
- 29) 徐丙高, 林漢鍾, 閔泳王, 李相敦, 李通燾, 尹明淳: 吸虫類의 醋酸代謝에 關한 研究, 寄生蟲學잡지, 3: 117, 1965
- 30) 金鍾石, 安志烈, 金兌洙, 許瑾: Hexachlorophene piperazine 鹽의 實驗家兔肝디스토마 症에 對한 治療 效果, 경북의대잡지, 7: 251, 1966
- 31) 姜信完: 肝디스토마 治療藥投與後의 肝臟變化에 關한 實驗的 研究, 第18回大韓藥理學術大會 抄錄集 p. 3, 1966.