

2, 2'-Methylene bis(3, 4, 6 trichlorophenoxy Acetic Acid) 및 Sodium Cholate 의 肝吸虫 酸素消費 및 殺虫作用

慶北大學校 醫科大學 藥理學教室

<指導 金 鍾 石 教授>

金和雄 · 金重暎 · 尹炳午 · 河永昊

=Abstract=

Effects of 2, 2'-Methylene bis-(3, 4, 6-Trichlorophenoxy Acetic acid) "MTPA" and Hexachlorophene with or without Sodium Cholate on the Oxygen Consumption in Clonorchis Sinensis

Hwa Woong Kim, M.D., Choong Young Kim, B.S.,

Byung Oh Yun, M.D. and Young Ho Ha M.D.

Department of Pharmacology, Kyungpook National University, School of Medicine

Taegu, Korea

(Director: Prof. Chong Suk Kim, M.D.)

The inhibitory action of oxygen consumption and parasitidal action of hexachlorophene or MTPA combined with or without sodium cholate in *Clonorchis sinensis* (C.S) have been observed. The results were obtained as follows.

1. In low concentration of MTPA or Hexachlorophene, they inhibited the oxygen consumption of C.S and in high concentration, inhibition of oxygen consumption and parasitidal action was more remarkable.

2. The oxygen consumption was inhibited also in the concentration of 10^{-2} and 2×10^{-3} g/ml of sodium cholate.

3. In the presence of sodium cholate, oxygen consumption of C.S was more remarkably inhibited by MTPA or Hexachlorophene than the absence of sodium cholate.

4. From those results, it may be considered that sodium cholate combined with MTPA or Hexachlorophene produced potentiation in its action.

緒 論

Hexachlorophene 이 人體 및 動物의 肝吸虫症에 對하여 強力한 驅虫作用^{1,2)}이 있으며 試驗管內에서도 강한 殺虫作用이 있었다. Hexachlorophene 의 誘導體인 2, 2' methylene bis(3, 4, 6, trichlorophenoxy acetic acid) (以下 MTPA 라 略함)는 試驗管內에서는 殺虫效果가 hex-

achlorophene 보다 顯著히 弱하나³⁾ 生體內의 驅虫效果는 hexachlorophene 과 比等하였다. 한便 肝吸虫은 膽管內에 寄生하는 寄生虫이다.

著者들은 이들 藥物이 膽汁成分의 存在下에서의 殺虫作用이 增強될 것인가를 알기 爲하여 MTPA 및 hexachlorophene 를 各各 單獨 및 sodium cholate 와 兼用하여 그 殺虫力을 比較觀察하였다.

實驗材料 및 方法

1. 供試虫

體重 2kg 内外의 白色家兔에 淡水魚(pseudorabara pa-ra)에서 採取한 metacercaria中 運動이 活潑한 것을 顯微鏡下에서 500마리를 計算하여 經口的으로 感染시키고 60日 經過後 屠殺하여 膽管에서 얻은 虫體를 使用하였다.

2. 藥 物

Hexachlorophene 은 美國 Gump 會社製, sodium cholate 는 日本 和光會社製, 2, 2' methylene bis (3, 4, 6 trichlorophenoxy acetic acid) 는 本 教室에서 合成하여 元素分析結果 確認된 것을 使用하였다.

3. 虫體의 培養

培養에는 warburg reaction vessel(G6)內 中央管에 虫體의 呼吸 CO₂를 吸着시키기 爲하여 CO₂가 除去된 2N-NaOH 0.1ml 를 넣고 CO₂의 吸着面積을 넓히기 爲하여 azumi filter paper No.2 를 2×2cm 로 잘라 4 접하여 中央管內에 넣고 主室에는 penicillin 2,000 unit/ml, streptomycin 0.1 mg/ml 을 含有한 krebs-ringer phosphate 溶液을 1.8ml 側室에는 總量에 있어서의 所定の 各濃度를 計算한 藥物의 溶液을 0.2 ml 씩 總量 2ml 되게 넣고 虫體는 家兔膽管에서 採集한後 直時 filter paper 上에서 可能한限 水分을 除去하고 約 100 mg 을 torsion balance 로 秤量하여 主室內에 넣고 100%의 酸素로 vessel 內를 約 1分間飽和시키고 培養器를 manometer 와 連結하여 密閉한 다음 38°C의 warburg 浴槽(Precision Scientific Co.製)內에서 30分間 振盪하면서 培養한 後 側室의 各濃度의 藥物溶液을 tipping 하여 30分間隔으로 3時間동안 虫體가 消費하는 酸素量을 warburg standard manometric technique 로 測定하여 計算하였다. 成績은 4回의 平均値를 表示하였다.

4. 藥의 作用의 判定

酸素消費量은 上記한 方法으로 各濃度의 培地에서 培養時에 消費하는 酸素量을 各各 比較觀察하였으며 殺虫作用은 3時間동안의 振盪이 끝난 直後 vessel 內의 虫體의 運動狀態 및 變色の 有無로서 死滅한 것을 決定하였다.

實驗 成績

1. MTPA의 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響

MTPA 10⁻⁵ 및 10⁻⁶ g/ml 濃度에서 藥物添加前 30分間의 酸素消費量은 445 및 449(×10⁻² μM/min/100 mg 以下省略)이었던 것이 添加 30分後의 30分間에는 392 및 412 이었으며 90分後의 30分間에는 311 및 382 이었고 150分後의 30分間에는 78 및 162 로서 時間經過에

따라 酸素消費量이 減少되었으며 高濃度에서는 더욱 抑制되었다(表 및 圖1, 3).

2. Hexachlorophene의 肝吸虫酸素消費에 미치는 影響

Hexachlorophene 은 5×10⁻⁷g/ml 濃度에서는 藥物添加前 30分間에 있어서 酸素消費量은 442 이었던 것이 添加 30分後의 30分間에는 451 로서 若干 增加하는 것 같았으나 90分後의 30分間에는 395 이었으며 150分後의 30分間에는 215 로서 時間經過에 따라 消費가 抑制되었으며 MTPA의 10⁻⁶g/ml 濃度에서와 大體로 類似하였다(第4表 및 第4圖).

3. Sodium cholate의 肝吸虫 酸素消費에 미치는 影響

Sodium cholate 10⁻² 및 2×10⁻³g/ml 濃度에서는 藥物添加前에는 452 및 458 이었던 것이 添加 30分後의 30分間에는 425 및 354 이었으며 90分後의 30分間에는 268 및 354 이었고 150分後의 30分間에서는 218 및 324 로서 濃度에 依한 作用의 差는 처음 30分後의 境遇 低濃度인 2×10⁻³g/ml에서 더욱 抑制되는 것 같았으나 그 後부터는 高濃度에서 酸素消費의 抑制가 더욱 顯著하였다(第1, 2表 및 第1, 2圖).

4. MTPA 및 sodium cholate 混合溶液의 肝吸虫 酸素消費에 미치는 影響

MTPA 10⁻⁵g/ml 와 sodium cholate 10⁻²g/ml 濃度의 混合液에서 虫의 酸素消費는 藥物添加前 40分間에는 337 이었던 것이 添加 30分後의 30分間에는 顯著히 抑制되어 100 이었으며 90分後의 30分間은 90 이었으며 150分後의 30分間에서는 36 으로서 MTPA 10⁻⁵g/ml 및 sodium cholate 10⁻²g/ml 各各의 單獨添加時에 比하여 酸素消費가 顯著히 抑制되었다(第1表 및 第1圖).

MTPA 10⁻⁵g/ml 와 sodium cholate 2×10⁻³g/ml 濃度에서는 藥物添加前에는 453 이었던 것이 藥物添加 30分後의 30分間은 292 이었고 90分後의 30分間에는 252, 150分後의 30分間에는 43 이었다. 이것을 MTPA 10⁻⁵ 및 sodium cholate 2×10⁻³g/ml 의 單獨添加時와 比較하면 酸素消費는 顯著히 抑制되었다(第2表 및 第2圖).

MTPA 10⁻⁶g/ml 와 sodium cholate 10⁻²g/ml 의 混合溶液에서는 藥物添加前 30分에는 440 이었으며 添加 30分後의 30分間에는 206, 90分後의 30分間에는 126, 150分後의 30分間에는 83 으로서 MTPA 10⁻⁶ 및 sodium cholate 10⁻²g/ml 의 單獨添加時에 比해서 酸素消費는 顯著히 抑制되었다(第3表 및 第3圖).

5. Hexachlorophene 및 sodium cholate 混合溶液의 肝吸虫酸素消費에 미치는 影響

Hexachlorophene 5×10⁻⁷와 sodium cholate 2×10⁻³g/ml 의 混合溶液에서 虫의 酸素消費는 藥物添加前에는

Table I. Effects of MTPA 10^{-5} , 10^{-6} , Hexachlorophen 5×10^{-7} with or without sodium cholate 10^{-2} , 2×10^{-3} on the oxygen consumption by Clonorchis sinensis in vitro (mean \pm (S.E.); $10^{-2} \mu\text{M}/\text{min}/100\text{mg}$)

Time	Control	MTPA 10^{-5}	MTPA 10^{-6}	Hex* 5×10^{-7}	Sod·Ch ⁺ 10^{-2}	Sod·Ch 2×10^{-3}	10^{-5} MTPA + 10^{-2} Sod·Ch	10^{-5} MTPA + 2×10^{-3} Sod·Ch	10^{-6} MTPA + 10^{-2} Sod·Ch	5×10^{-7} Hex. + 2×10^{-3} Sod·Ch
0	4.47 (± 0.12)	4.45 (± 0.09)	4.49 (± 0.13)	4.42 (± 0.08)	4.52 (± 0.07)	4.58 (± 0.08)	4.37 (± 0.11)	4.53 (± 0.10)	4.40 (± 0.07)	4.57 (± 0.09)
0 — 30	4.54 (± 0.09)	3.85 (± 0.12)	4.40 (± 0.10)	4.28 (± 0.09)	4.43 (± 0.13)	3.84 (± 0.19)	3.33 (± 0.28)	4.06 (± 0.18)	2.66 (± 0.20)	1.20 (± 0.20)
30 — 60	4.38 (± 0.11)	3.92 (± 0.07)	4.12 (± 0.08)	4.51 (± 0.12)	4.25 (± 0.08)	3.54 (± 0.14)	1.00 (± 0.26)	2.92 (± 0.24)	2.06 (± 0.23)	1.06 (± 0.16)
60 — 90	4.60 (± 0.14)	3.78 (± 0.07)	3.58 (± 0.17)	4.15 (± 0.14)	3.61 (± 0.16)	3.51 (± 0.14)	1.23 (± 0.24)	2.39 (± 0.21)	1.67 (± 0.19)	0.93 (± 0.09)
90 — 120	4.54 (± 0.08)	3.11 (± 0.08)	3.82 (± 0.13)	3.95 (± 0.16)	2.68 (± 0.22)	3.54 (± 0.12)	0.90 (± 0.18)	2.52 (± 0.21)	1.26 (± 0.21)	0.94 (± 0.08)
120—150	4.50 (± 0.08)	1.41 (± 0.18)	2.92 (± 0.20)	2.72 (± 0.18)	2.81 (± 0.26)	3.41 (± 0.12)	0.80 (± 0.14)	1.30 (± 0.28)	0.93 (± 0.18)	0.70 (± 0.08)
150—180	4.63 (± 0.07)	0.78 (± 0.21)	1.62 (± 0.17)	2.15 (± 0.20)	2.18 (± 0.24)	3.24 (± 0.14)	0.36 (± 0.10)	0.43 (± 0.19)	0.83 (± 0.14)	0.46 (± 0.06)
0 — 180	4.53	2.81	3.41	3.63	3.33	3.51	1.27	2.27	1.56	0.88
%	100	62	75	79	74	78	28	50	34	19

•.....MTPA; 2, 2'-methylene bis (3, 4, 6 trichlorophenoxy acetic acid)

*.....Hex; Hexachlorophene

+.....Sod·Ch; Sodium Cholate

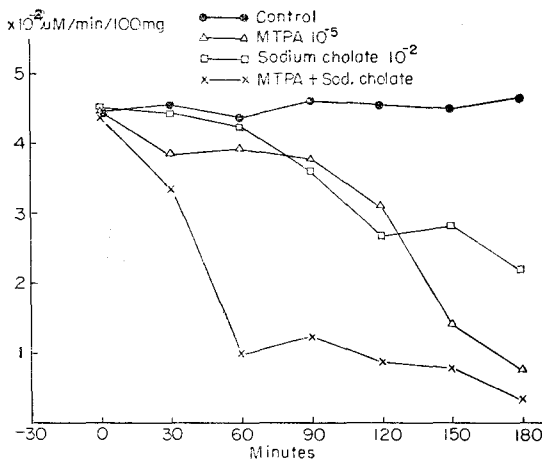


Fig. 1. Effect of MTPA (10^{-5}) with and without sodium cholate (10^{-2}) on the oxygen consumption by clonorchis sinensis in vitro.

457 이었던 것이 添加 30 分後의 30 分間에는 106, 90 分後의 30 分間에는 94, 150 分後의 30 分間은 46 이었으며 hexachlorophene 5×10^{-7} 및 sodium cholate $2 \times 10^{-3} \text{g}/\text{ml}$ 各各 單獨添加時에 比較해서 酸素消費가 顯著히 抑制 되었고 MTPA 10^{-5} 및 sodium cholate $2 \times 10^{-3} \text{g}/\text{ml}$ 의 混合溶液에 比較해서 더욱 抑制되었다(第 4 表 및 第 4 圖).

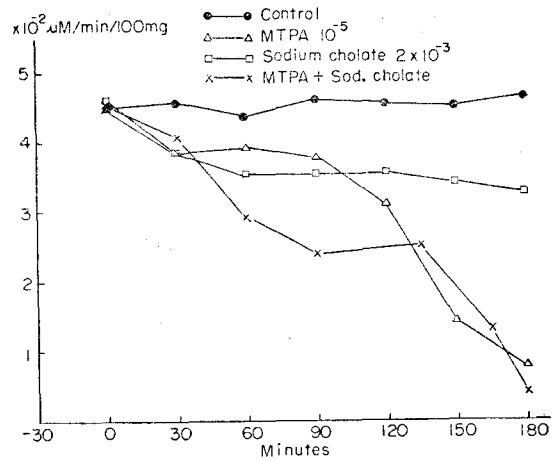


Fig. 2. Effects of MTPA (10^{-5}) with and without sodium cholate (2×10^{-3}) on the oxygen consumption by clonorchis sinensis in vitro.

6. 肝吸虫에 對한 殺虫作用

酸素消費測定이 끝난 直後 虫體의 運動停止 및 變色이 甚한 것을 死滅한 것으로 보고 이들의 成績을 比較하였다. 즉 MTPA 10^{-5} , MTPA 10^{-5} 와 sodium cholate 10^{-2} 의 混合溶液, MTPA 10^{-5} 와 sodium cholate 2×10^{-3} 의 混合溶液, MTPA 10^{-6} 와 sodium cholate 10^{-2} 의 混合溶液

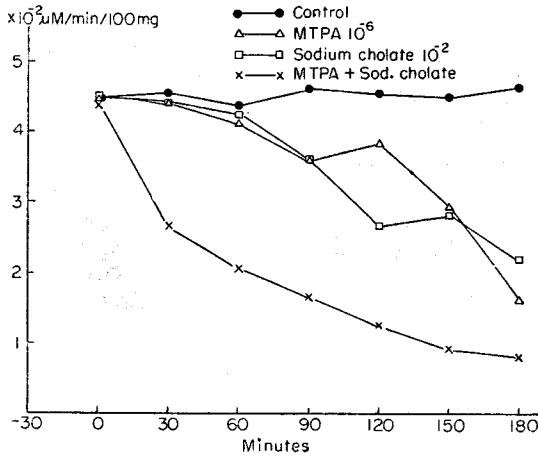


Fig. 3. Effects of MTPA (10^{-6}) with and without sodium cholate (10^{-2}) on the oxygen consumption by clonorchis sinensis in vitro.

및 hexachlorophene 5×10^{-7} 와 sodium cholate 2×10^{-3} 혼합溶液에서는 虫體가 完全히 灰白色으로 變하여 原來의 帶黑赤色을 볼 수 없었고 運動은 完全히 停止되었으나 MTPA 10^{-6} , hexachlorophene 5×10^{-7} , sodium cholate 10^{-2} 및 2×10^{-3} 의 各各 溶液에서는 程度의 差는 있었으나 變色이 輕하며 微弱한 運動을 볼 수 있었다.

總 括

肝吸虫의 含水炭素의 代謝에 關해서는 金等⁴⁾은 肝吸虫이 glucose를 利用하여 lactic acid와 pyruvic acid를 生産함을 報告하였으며 韓等⁵⁾ 및 金⁶⁾은 C^{14} -glucose를 使用하여 肝吸虫이 glucose를 使用함을 報告하였다. 그러므로 肝吸虫에서도 人體組織에서와 같이 含水炭素代謝에 있어서 不斷히 酸素를 消費하고 있음을 알 수 있다.

金等³⁾은 hexachlorophene이 肝吸虫에 對한 殺虫作用을 虫體의 運動狀態의 停止如何로서 效果의 程度를 觀察하였으며 車⁷⁾는 hexachlorophene, dithiazanine iodide, chloroquine phosphate等 肝吸虫의 治療劑에 對한 이들은 虫體의 酸素消費量, 解糖作用, glycogen의 合成 및 蛋白質의 合成에 미치는 影響을 觀察하였던 바 殺虫作用이 가장 強한 hexachlorophene에 있어서 다른 藥物에 比하여 가장 強한 酸素消費抑制作用을 볼 수 있었다.

著者들은 hexachlorophene, 또는 MTPA에 sodium cholate를 添加하였을 때의 酸素消費의 抑制作用의 程度로 虫體에 對한 藥物의 效果를 判斷하려고 企圖한 것이다.

本 研究에서 膽汁成分의 存在下에서 藥物의 作用이 膽汁成分이 存在하지 않을때에 比하여 增加되는가를 알기 爲한 것으로서 膽汁의 主成分인 sodium cholate를 選擇하였으며 그 濃度は 比較的 生體內의 濃度에 가까운 것

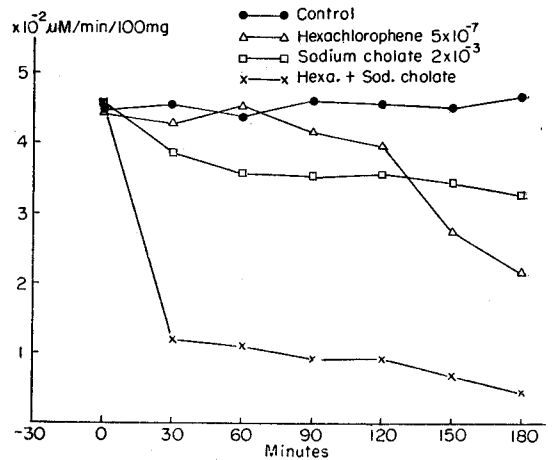


Fig. 4. Effects of hexachlorophene (5×10^{-7}) with and without sodium cholate (2×10^{-3}) on the oxygen consumption by clonorchis sinensis in vitro.

을 擇하였고 hexachlorophene 및 MTPA도 單獨溶液으로서 그 作用이 적은 濃度를 擇하여 이들의 sodium cholate와의 協同作用을 觀察한 것이다.

實驗成績은 MTPA 및 hexachlorophene의 單獨溶液에서도 對照에 比하면 酸素消費의 輕한 抑制를 보았으나 sodium cholate의 單獨溶液에 있어서도 抑制作用을 볼 수 있었다. 이 抑制作用이 生體內에서 肝吸虫에 對해서 어떤 作用을 하는 것인지 알 수 없으나 興味있는 作用이라고 생각된다.

MTPA 및 hexachlorophene의 單獨溶液에 比하여 sodium cholate와 兼用時에는 虫體의 酸素消費가 더욱 顯著히 抑制됨과 同時에 殺虫作用도 더욱 顯著하였다. 그러나 이것만으로 MTPA가 試驗管內에서의 殺虫作用은 弱하나 生體內에서는 顯著하게 增加한 理由를 說明할 수 없다. 즉 hexachlorophene과 sodium cholate와의 協同作用은 MTPA와 sodium cholate와의 그것보다 더 強한 것으로 나타나 있다. 그리고 本 實驗의 結果로서 使用한 藥物의 殺虫作用의 強度는 酸素消費量의 抑制作用과 어느程度 平行하는 것 같이 생각되었다.

結 論

著者들은 試驗管內에서 methylene bis(3, 4, 6 trichlorophenoxy acetic acid) (MTPA) 및 hexachlorophene의 肝吸虫에 對한 作用이 sodium cholate의 存在下에서 어떻게 變할 것인가를 알기 爲하여 이들 藥物의 單獨 및 sodium cholate와의 混合溶液에서 肝吸虫의 酸素消費 및 殺虫作用에 미치는 影響을 比較觀察하고 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. MTPA 및 hexachlorophene은 比較的 低濃度에서

肝吸虫의 酸素消費를 抑制하였으며 高濃度에서는 低濃度에 比하여 더욱 抑制되었으며 殺虫作用이 顯著하였다.

2. Sodium cholate 의 10^{-2} g/ml 및 2×10^{-3} g/ml 溶液에서 虫體의 酸素消費가 抑制되었으며 高濃度에서 더욱 抑制되었다.

3. MTPA 및 hexachlorophene 과 sodium cholate 混合溶液에서는 單獨溶液에 比하여 酸素消費는 더욱 顯著히 抑制되었다.

4. 그러므로 이들 藥物은 虫體의 酸素消費抑制 및 殺虫作用은 서로 協同적으로 作用함을 알 수 있었다.

參 考 文 獻

- 1) 金鍾石, 金重暎: *Hexachlorophene* 의 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.
- 2) 金鍾石, 金重暎, 金和雄, 朴永春: *Hexachlorophene*, *Hexachlorophene N-ethyl pyridinate* 및 *Hexachlorophene piperazinate* 의 肝디스토마症의 治療效果. 大韓醫學協會誌, 7: 855, 1964.
- 3) 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症 治療效果에 關한 實驗的 研究. 慶大醫大雜誌, 7: 245, 1966.
- 4) 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.
- 5) 韓泌錫, 韓炯周, 徐丙高: C^{14} -glucose 를 利用한 肝吸虫의 代謝에 關한 研究. 大韓內科學會雜誌, 4: 281, 1961.
- 6) 金成大: 肝吸虫의 C^{14} 葡萄糖 및 C^{14} 醋酸代謝에 關한 研究. 現代醫學, 4: 385, 1966.
- 7) 車忠錫: *Hexachlorophene* 의 肝吸虫의 C^{14} -glucose 및 C^{14} -glycine 代謝에 미치는 影響에 關한 研究. 大韓藥理學雜誌, 2: 23, 1966.