碩 士 學 位 論 文

미나리아재비의 Chloroform 可溶性 分劃이 家兎의 血糖量, 血淸 Transaminase 및 Alkaline Phosphatase 活性度에 미치는 影響

Influence of the Chloroform Fraction of *Ranunculus japonicus* on Blood Sugar Level, Serum Transaminase and Alkaline phosphatase Activities in Rabbits.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

濟州大學校大學院

畜 産 學 科

高 孜 明

1983年 12月 日

認　　准　　書

碩 士 学 位 論 文

미나리아재비의 Chloroform 可溶性 分劃이 家兎의 血糖量, 血清 Transaminase 및 Alkaline phosphatase 活性度에 미치는 影響

Influence of the Chloroform Fraction of *Ranunculus japonicus* on Blood Sugar Level, Serum Transaminase and Alkaline phosphatase Activities in Rabbits.

指 導 教 授　**梁　奇　千**

이　論文을　農學碩士學位　論文으로　提出함.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1983 年　12 月　日

濟 州 大 學 校　大 學 院

畜　産　學　科

高　孜　明

의　農學碩士學位　論文을　認准함.

1983 年　12 月　日

委 員 長 :

委　　員 :

委　　員 :

目　　次

摘　　要 …… 2

Ⅰ. 緒　　論 …… 4

Ⅱ. 研　究　史 …… 6

Ⅲ. 材 料 및 方 法 …… 11

1. 実 験 動 物 …… 11

2. 実験場所 및 期間 …… 11

3. 미나리아재비의 Chloroform 可溶性分劃의 製造 …… 11

4. 実 験 方 法 …… 11

Ⅳ. 結果 및 考察 …… 14

1. 血 液 学 値 …… 14

2. 血　糖　量 …… 19

3. 血清 Transaminase (S-GOT 및 S-GPT) 活性度 …… 22

4. 血清 Alkaline phosphatase 活性度 …… 27

5. LD50 …… 29

6. 病理解剖学的 所見 …… 31

図板 説明 …… 34

図板 …… 34

Summary …… 36

引 用 文 献 …… 39

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

摘　　要

済州道内 牧野에서 自生하는 미나리아재비科 植物이 家畜에 対한 有害作用을 究明하기 為한 目的의 一環으로, 미나리아재비의 Chloroform 可溶性分劃을 抽出하여 이 抽出物에 依한 家兎의 血液学値, 그리고 血糖量, 血清 Transaminase 및 Alkaline phosphatase의 活性度에 미치는 影響 等을 測定調査한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 미나리아재비 抽出物의 経口投与로 家兎의 白血球数는 増加하고 赤血球数와 Hematocrit値 및 Hemoglobin量은 減少하는 等의 有意한 血液学値의 変化를 보였으나 總血漿蛋白量은 変化가 없었다.
2. 血糖量은 抽出物 処置後 1～2日째에 急激히 減少하다가 3日째부터 回復되는 傾向을 나타내었다.
3. 血清 GOT 및 GPT活性度는 抽出物 処置後 2日째에 그 増加程度가 最高에 達하였다가 곧 回復되었고 다시 6日째에 二次的 増加趨勢를 보인 후 回復되는 傾向을 나타내었다.
4. 血清 Alkaline phosphatase 活性度는 抽出物 処置後 1日째부터 漸次的인 増加를 始作하여 5～6日째 最高에 達하였으며 그후 漸次 回復되는 傾向을 보였다.
5. 本 実験에 供試된 미나리아재비 抽出物(Chloroform 可溶性分劃)의 mouse 및 Guinea pig에 対한 LD50는 各各 4.70 g/kg, b.w. 및 4.65 g/kg, b.w.로 算定되었다.
6. 抽出物 7.0 g/kg, b.w.를 家兎에 経口的으로 一時에 投与한 結果 나

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

타나는 病理解剖学的 所見으로서는 肝臟의 腫脹과 腎臟의 充出血, 그리고 胃·腸管粘膜의 潰瘍 및 甚한 充出血이 觀察되었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅰ. 緖　　論

濟州道는 他道에 比해 面積은 좁은 地域이지만 植物의 種類 및 分布가 多樣하여 道內 山野에는 人間과 家畜에 有害한 植物도 많이 自生하고 있는 것으로 調査되었다.

梁(1978)은 그의 調査報告에서 濟州道內 家畜들에 對한 有毒植物中 가장 警戒하여야 할 植物은 그 優占度와 毒性面에서 고사리임을 指摘하고 그 다음 順으로 牧野地에 多量으로 分布되고 있는 미나리아재비에 依한 中毒發生 可能性이 높다고 示唆한 바 있다.

周知하는 바와 같이 家畜은 本能的으로 有害植物의 攝食을 忌避하지만, 굶거나 体內 無機質 缺乏, 雨期와 같은 氣候의 變化, 野草를 細切해서 給食하는 等의 境遇, 이들 有害植物에 依한 中毒症狀을 일으키는 例가 許多하다.

畜牛에 있어서의 고사리中毒症은 그 診斷方法이 集中的으로 進展되어 그 發生報告와 診療例가 흔하나, 미나리아재비의 境遇는 中毒發生 可能性이 높음에 비추어 그 中毒事例의 報告가 전혀 없는 것은 이 有毒物質에 依한 中毒의 症狀과 診斷方法에 對한 研究報告가 적기 때문에 그에 대한 認識이 不足한데서 起因되는 것 같다.

事實 고사리中毒 以外에도 原因不明의 中毒例는 많이 볼 수 있으므로 濟州道가 計劃하고 있는 畜産振興施策에 依하여 每年 그 數가 增加하고 있는 道內畜牛의 管理 및 疾病對策을 樹立하기 為하여서도 道內에 分布하고 있는 有毒植物들에 依한 家畜의 中毒症狀, 그 診斷方法, 豫防 및 治療對策 等이 確立되어야 할 것이다.

따라서 本人은 道內 牧野地에 多量으로 分布되고 있는 미나리아재비에 依해

서 家畜들이 中毒을 일으킬 可能性은 높은 反面에 미나리아재비 中毒例의 發生報告는 없다는 点에 着眼하여 미나리아재비 中毒症狀과 診斷 및 治療 等의 基礎的 資料를 얻고자 本 實驗에 着手하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅱ. 研　　究　　史

미나리아재비科 植物 (Ranunculaceae)은 全世界에 35屬 1,500 種이나 分布되고 있으며 主로 温帶地方에 自生하고 있다.

우리나라에서는 Ranunculus屬에 속하는 것으로 16種이 分類되었고 그중 미나리아재비 (Ranunculus japonicus Thunb.)가 가장 흔하며, 被子植物의 原始的群으로서 雙子葉植物에 속하는 草本이고 열매는 瘦果이며 種子에 하나의 被膜이 있고 습기있는 陽地에서 자라는 多年草 또는 越年草이다 (李, 1977, 1980. 金, 1981).

梁(1978)은 濟州道의 山野에서 自生되고 있는 미나리아재비科에 속하는 14 種의 有毒植物을 調査報告하였고, 그들 중 有毒成分이 가장 비슷한 것은 할미꽃, 미나리아재비, 개구리자리, 젓가락풀, 개구리미나리 等이라고 하였다 (Kingsbury, 1964).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Asahina와 Fujita (1922)는 Protoanemonin이라는 有毒物質을 미나리아재비에서 分離하여 그 化學的構造를 밝힌 이래 Kipping (1935)과 Shearer (1938)는 NaOH로 Protoanemonin의 毒成分 含量을 滴定한 바 있고, Hill과 Van Heyningen (1951)은 Protoanemonin의 前驅物은 Ranunculin이라고 報告하였다.

이 Protoanemonin은 新鮮한 미나리아재비에서 얻어지는 强한 刺戟性을 가진 揮發性 노란 油性液劑로서 不安定한 配糖体이고 重合作用에 依해서 不溶性 Anemonin結晶体를 生成하는데 이 Anemonin은 無毒한 物質이라고 한다 (Kingsbury, 1964; Moriarty등, 1965).

Lander (1926)는 미나리아재비科의 8種에서 揮發酸인 ficaric acid를 分離하는 한편 saponin과 類似한 配糖体는 Ranunculol이라 命名하였고, Shearer

(1938)도 Protoanemonin과 함께 cyanogenetic glycoside를 2種의 미나리아재비科 植物에서 微量 檢出하였다고 하였으며, Schmutz와 Hamilton (1979)은 刺戟性 있는 alkaloid를 分離하였다고 報告하는 等 미나리아재비科 植物이 Protoanemonin 以外에도 여러가지 有害物質을 含有하고 있음을 示唆하고 있다.

미나리아재비汁液이 지니는 抗菌性의 實用化 方案을 摸索하기 為한 硏究가 進行되어 왔는데, Seegal과 Holden(1945)은 Gram陽性 및 陰性의 病原性 球菌과 桿菌에 選擇的인 殺菌效果와 Mycobacterium tuberculosis 및 사람에 病原性이있는 yeasts에 强力한 抗菌力이 있음을 報告하였고, Baer등(1946)은 바람꽃屬의 一種인 Anemone pulsatilla에서 얻어지는 Protoanemonin이 大腸菌, 葡萄狀球菌, 모닐리아症 眞菌에 좋은 抗菌力을 보였다고 하였다.

이에 關하여는 國內에도 미나리아재비植物 汁液이 殺虫劑로서 經濟的이며 利用性이 높다는 評価(Hur등, 1976)와 食品에 侵犯하는 곰팡이에 對한 防腐作用이 있으며(정 등, 1976), 7~9月에 採取한 미나리아재비의 成分이 抗菌力이 높아 外傷治療 및 手術用 殺菌劑로서의 效果와 病原性 細菌에 對한 消毒的 效果의 比較觀察 等에 關한 報告들(柳등, 1977; 1979; 柳와 金, 1981)이 있다.

Shaw(1946)는 Protoanemonin의 合成에 對하여 Acetylacrylic acid와 Penicillic acid의 互變異性 環에서 얻어지는 波長係數에 따라서 Acetylacrylic acid(酸触媒에 依하여)와 Acetic anhydride의 作用으로 얻어진다고 報告한 바 있다.

한편 家畜들이 미나리아재비를 攝食했을 때 그 毒性과 症狀, 그리고 診斷方法 等에 關한 硏究가 進行되어 왔으나 現在 端片的인 報告에 그치고 있는 實情이다.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Forsyth (1954)에 依하면 꽃이 피고 있는 때와 열매 맺을 時期가 毒性이 높고 어린송아지들이 無分別한 生草의 採食으로 中毒発生率이 높다고 하였으며, 中毒症状으로는 口腔粘膜에 水疱와 潮紅 및 潰瘍이 생기고 流涎·腹痛·下痢·血尿·視力喪失 等이 나타난다고 하였다. 또 牛乳色이 붉게 変하던지 全身 혹은 四肢, 또는 筋肉의 痙攣이 일어나면 대개는 죽게되고 剖検時 胃内溶物中 미나리아재비의 絕片을 発見할 수 있고 消化器管系統의 炎症이 認定되며, 다른 有毒物質을 糾明치 못할 경우에는 미나리아재비中毒으로 생각하여야 할 것이라고 했다. 그리고 応急処置로는 口腔과 胃腸의 刺戟을 덜하게 할 目的으로 卵白, 설탕, 牛乳 等을 投与하여야 한다는 報告들도 있다. (Lander, 1926: Kingsbury, 1964)

Evers와 Link (1972)는 마른 乾草는 毒性이 減少되나 젖소에서는 牛乳生産量이 減少된다고 하였고 Clarke와 Clarke (1975)에 依하면 黑便·血便과 腎臟의 損傷 等을 追加의 例로 들고 대개가 많은 量을 먹어 全身의 痙攣症状이 일어나면 12時間内에 死亡한다고 하였으며 中毒時 解毒剤로서 稀釈된 過망간酸칼륨液을 勧奨하였고 食用油를 内服하면 Protoanemonin의 残餘量을 駆逐하거나 刺戟을 軽減시칼 수 있다는 報告가 있다.

James와 Binns (1967)는 방망이属 有毒植物 (Locoweed)에 中毒된 羊의 赤血球, 白血球, 血色素, 赤血球容積, 血糖量, 赤血球 cholinesterase 및 血清内 Vitamin A와 血清燐 等에서는 有意한 増減이 없었으나 血清 GOT 및 GPT의 活性度는 増加하였다고 했고 権등 (1976)은 Ranunculus 毒을 家兎에 投与하여 體重, 赤血球数, 赤血球容積의 減少 및 白血球数의 増加등을 観察하였다 한다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

生體가 毒成物質에 依해서 中毒을 일으키게 될 때 그 解毒器管으로서의 肝臟과 排泄器管으로서의 腎臟과 같은 実質臟器들이 損傷을 입게되는 境遇가 많다. 따라서 肝機能과 関係가 깊은 糖代謝와 血清 Transaminase인 Serum-glutamic oxalacetic transaminase (S-GOT), Serum-glutamic pyruvic transaminase (S-GPT) 및 血清 Alkaline phosphatase (S-ALPase) 等의 活性度를 測定하여 肝機能検査의 指標로 삼고 있다.

Wróblewski와 LaDue (1955:1956) 및 Cornelius 등 (1959;1960;1963a; 1963 b), 그리고 Zimmerman 등(1965)에 依하면 四塩化炭素中毒 때의 肝壊死나 閉塞性黄疸 等의 肝疾患 境遇에는 S-GPT의 活性度가 더 鋭敏하게 增加한다 하였고, Bonasch와 Cornelius (1964)는 心筋硬塞 等의 心筋疾患이나 骨骼筋의 疾病에 있어서, Kuttler와 Marble (1958) 및 Lagacé등 (1961)은 白筋病 時, Macpherson과 Hemingway (1969)는 銅中毒 時에 S-GOT 活性度가 特異的으로 增加한다 하였다.

또한 Van Vleet와 Alberts (1968)는 四塩化炭素中毒과 肝外性膽管閉塞症時는 S-GOT나 S-GPT 以外에도 S-ALPase가 增加한다 하였으며, 朴등 (1972)은 Pentazocine을 投与한 家兎에 있어서 血糖量, S-GOT 및 S-ALPase活性度가 顕著히 上昇되었다고 하였다.

그리고 Rogers (1976)에 依하면 개의 肝疾病과 骨退縮의 診断에서 S-ALPase活性度의 增加를 観察하였고, Hoffmann 등(1977)은 이를 고양이 肝疾患検査에 利用한바 있다.

Blood등 (1979)은 肝臟에 有毒한 毒性物質이 生體内에 浸入하게 되면 肝臟의 中心小葉性 混濁腫脹과 壊死가 나타나며 繊維素의 增殖에 依한 変

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

性의 症候를 보이게 되는데, 이러한 有毒物로서는 燐, 砒素, Selenium, 四塩化炭素, gossypol, Hexachloroethane, Cresol 및 Chloroform 等의 化学物質과 Senecio spp., Crotalaria spp., Heliotropum spp., Amsinckia spp., Lupins, Alsike clover 및 Cotton seed의 有毒植物들, 그리고 Pithomyces, Aspergillus, Penicillium 및 Periconia spp. 等의 곰팡이류와 몇 種類의 Algae가 特異하게 肝臟에 有害作用을 惹起시킨다고 하였다.

Hungerford 등(1975)은 몇 種類의 미나리아재비科 植物에 依한 中毒症状으로서 視力喪失과 下痢 및 胃·腸炎 等이 觀察된다 하였고 이들 植物들에 依하여 畜産에 적지않은 損失을 가져올 수 있다고 指摘하고 있다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅲ. 材 料 및 方 法

1. 實 驗 動 物

本 實驗에 利用된 實驗動物은 大豆粕과 養鷄用 配合飼料를 4:1로 再配合한 飼料로 濟州道家畜衛生試驗所 實驗動物 飼育舍에서 2週日以上 飼育한 体重 2.0㎏內外의 健康하고 成熟한 家兎와 体重 0.8~1.0㎏의 Guinea pig 및 20~30 g의 mouse를 性의 區別없이 供試하였다.

2. 實驗場所 및 期間

本 實驗은 1982年 4月 20日부터 1983年 9月 30日까지 濟州道家畜衛生試驗所 實驗室과 附屬 實驗動物飼育場에서 實施하였다.

제주대학교 중앙도서관

3. 미나리아재비의 Chloroform 可溶性 分劃의 製造

濟州道 山野에 自生하는 4~6月의 미나리아재비(Ranunculus japonicus Thunb.)의 地上部分(葉·莖·花)을 採取하여 48時間 陰乾한 後 細切하고 試料 1㎏當 Chloroform(M=119.39) 4ℓ에 浸漬시켜 48時間 室温에 放置한 後, 濾過하여 그 濾液을 加温, 65℃에서 Chloroform을 分離除去하였고, 남은 殘餘物을 沸騰水槽에서 3時間동안 徐徐히 濃縮하여 얻은 黃褐色의 膠質性 分劃을 미나리아재비의 粗製 抽出液(以下 抽出液으로 略함)으로 하여 本 實驗에 供試 하였다.

4. 實 驗 方 法

미나리아재비의 家畜에 對한 有害作用을 究明하기 為한 첫 段階로 미

나리아재비의 抽出液이 家兎의 血液學値, 血糖量, 血淸 Transaminase 및 Alkaline phosphatase 活性度에 미치는 影響을 主 實驗으로 하고 LD50算定 病理解剖學的 所見을 補助實驗으로하여 아래와 같이 本 實驗을 遂行하였다.

가. 血液學値의 變化

各 實驗區에 5頭씩 家兎를 配置하고 對照區에는 1.0㎖/㎏, b.w.의 生理食塩水를, 抽出液 處理區는 3個區로 나누어 各各 0.5, 1.0, 1.5 g/㎏, b.w.를 經口 投與한 後(以下 같은 方法임으로 記述 省略함) 家兎의 耳靜脈에서 採血하여 EDTA로 血液凝固를 防止하고 5℃에서 保管하였다가 24時間 以內에 實驗에 使用하였으며 이를 7日동안 每日의 血液學値 變化를 測定하였다.

白血球와 赤血球數는 Coulter counter (Coulter electronics, Model DN)에 依해서 計算하였고, Hemoglobin의 濃度測定은 Sahli - Hellige 法에 따라 比色測定하였다. 그리고 Hematocrit 値 測定은 Wintrobe 法에 依하여 血液을 Wintrobe tube에 넣고 3,000 r.p.m.에서 45分間 遠心分離한 後 沈澱된 赤血球容積의 높이(㎜)를 測定하고, 이것을 100㎖中 赤血球容積으로 計算하여 표시하였다.

또한 總血漿蛋白量은 Wintrobe tube에서 分離된 血漿을 Goldberg 屈折計에 넣고 屈折計數에 依해서 測定하였다.

나. 血糖量 測定

家兎의 耳靜脈에서 採血하여 우선 正常 血糖量을 測定한 後 抽出液을 投與하여 24時間 間隔으로 7日동안 採血하면서 Nelson - Somogyi 法 (Nelson, 1944; 金井, 1966)에 依하여 Baush & Lomb 社製인 Spectronic 20型 光電比色計로 波長 660nm에서 比色測定 하였다.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

다. 血清 Transaminase 活性度 測定

家兎의 耳靜脈에서 採血하여 室温에서 凝固시킨 後, 30分間 3,000 r.p.m. 으로 遠心分離하여 血清을 分離하였고 먼저 正常 S-GOT 및 S-GPT 活性度를 各各 測定한 後, 抽出液을 投與하고 7日동안 每日 採血하여 Reitman-Frankel法 (Reitman과 Frankel, 1957; 金井, 1966) 에 依하여 Spectronic 20型 光電比色計로 波長 505 nm에서 比色測定 하였다.

라. 血靜 Alkaline phosphatase 活性度 測定

上記 方法과 마찬 가지로 採血한 後 血清을 分離하여 Bessey-Lowry-Brock法에 따라 Spectronic 20으로 波長 410 nm에서 比色測定 하였다.

마. LD 50의 算定

實驗動物의 全部를 死亡케 하는量과 全部가 生存하는 量을 求하고 Behrens-Kaĕber의 平均致死量法 (池田, 1955)에 依하여 LD50를 各各 計算하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

供試된 mouse 數는 各群마다 10마리로 하여 10群으로 區劃하였고, Guinea pig는 5마리씩 4群으로 配置하였다.

바. 病理解剖學的 所見

다섯마리의 家兎에 7g/kg, b.w. 을 投與한 後 2日이 經過後에 剖檢하였다.

먼저 肉眼的所見을 觀察한 後 臟器들은 10% Formalin 溶液에 固定하였고 이를 다시 gelatin 包埋의 過程을 거쳐서 冷凍시켰다가 10μm 組織切片을 만들고 Eosin으로 染色하여 鏡檢하였다.

Ⅳ. 結 果 및 考 察

1. 血 液 學 値

미나리아재비의 Chloroform 可溶性 分劃(以下 抽出液으로 略함)을 家兎에 投与하여 實驗期間동안 얻은 白血球數, 赤血球數, Hematocrit 値, Hemoglobin濃度 및 總血漿蛋白量의 成積은 圖 1과 같다.

가. 白血球數

對照群의 白血球數는 平均 $9.10 \times 10^3/mm^3$(以下 単位 千個)이었으며 体重kg当 0.5 g의 抽出液 投与群은 有意한 変化가 없었고, 1.0 g 投与群에 있어서는 投与前 8.80에 比하여 投与後 1日째 9.46, 5日째 最高 9.56까지 增加하여 全体的으로 약간 增加 趨勢를 보였으며, 1.5 g 投与群은 投与前 8.60에서 投与後 1日째 9.54, 3日째 最高 11.40까지 顯著하게 增加를 나타내었고, 7日째에도 9.84로 계속 增加된 狀態를 나타내었다.

나. 赤血球數

對照群은 平均 $5.33 \times 10^6/mm^3$(以下 単位 百萬個)이었으며, 体重kg当 0.5 g의 抽出液 投与群에서는 큰 変化가 없었다. 1.0 g 投与群은 약간 減少하는 傾向을 보였으며, 1.5 g 投与群에 있어서는 顯著한 減少 趨勢를 보였는데, 投与前 5.77에 比하여 投与後 1日째 5.10으로 減少를 始作하여 7日째는 3.98까지 減少되는 傾向을 나타냈다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

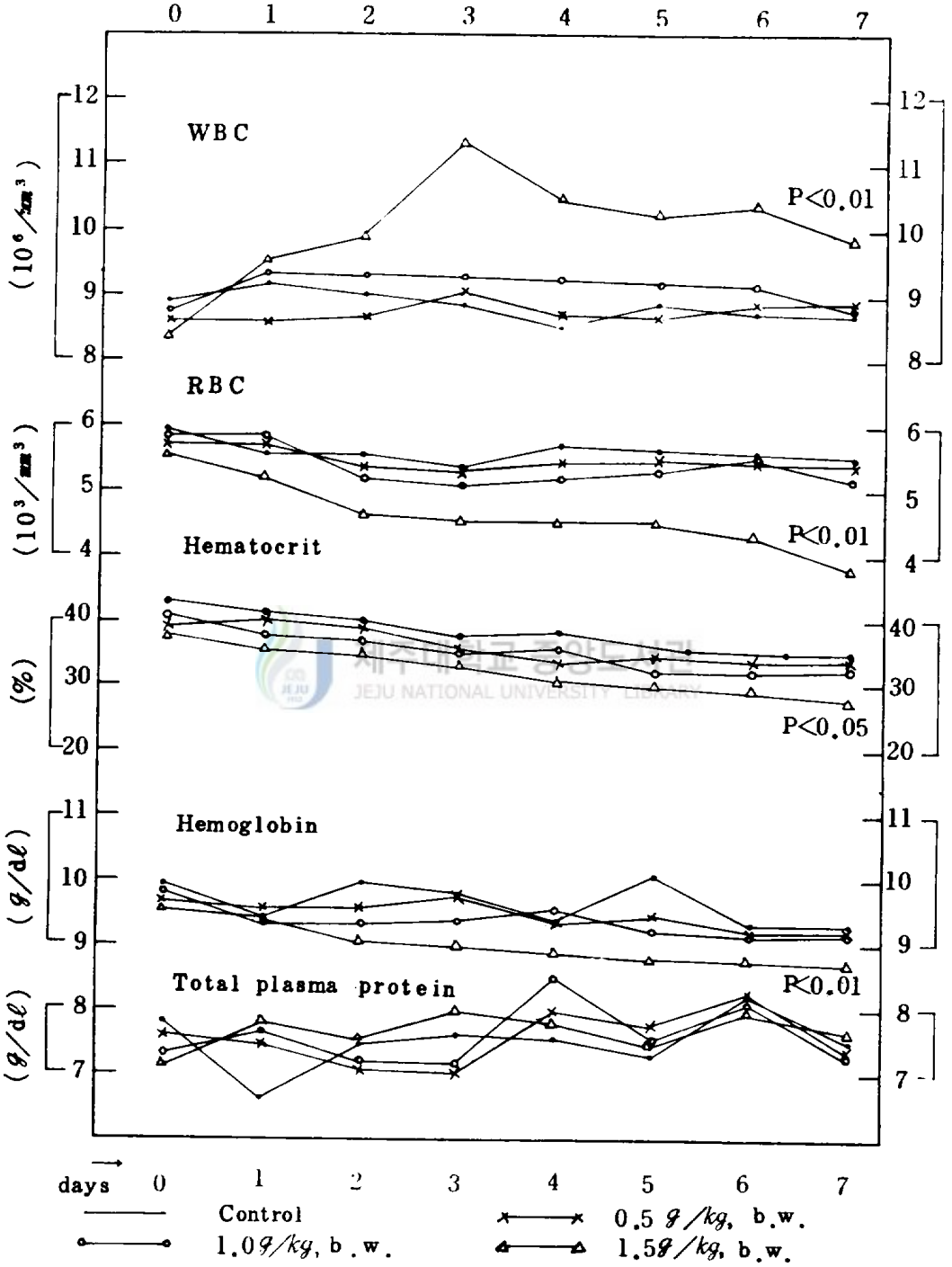


Fig. 1. Influences of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on RBC, WBC, Hematocrit ratio, Hb content, and Total plasma protein in rabbits.

다. Hematocrit 値

圖1 에서 보는바와 같이 對照群의 平均 Hematocrit 値 36.8% (以下 単位 省略)에 比하여 体重 kg当 0.5 g 및 1.0 g 投与群 에서는 약간 減少되는 傾向을 보였으나, 有意性이 없었고, 1.5 g 投与群은 投与前 39.2 %에서 投与後 1 日째 37.2 로 減少를 始作하여 7 日째는 28.2까지 顯著하게 減少를 나타내어 赤血球와 같은 意義있는 減少傾向을 보였다.

라. Hemoglobin 濃度

對照群의 平均 9.6 g／dℓ (以下 単位 省略)에 比하여 体重 kg当 0.5 및 1.0 g 投与群에서는 有意한 変化가 없었으나, 1.5 g 投与群에 있어서는 投与前 9.9에서 投与後 1 日째 9.4 로 減少를 始作하여 7 日째는 8.7까지 顯著하게 減少하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

마. 總血漿蛋白量

對照群과 抽出液 投与群과의 總血漿蛋白量은 有意한 変化를 認定할 수 없었다.

이는 抽出液 体重 kg当 1.5 g以内의 投与로서는 肝臟 또는 網内係의 血漿蛋白質 合成이나 身体構成物質의 報給, 修善 및 酵素系를 維持하는데 必要한 蛋白質의 代謝 障碍를 誘發하지는 못하는 것으로 思料된다.

表1 에서 보는바와 같이 各 實驗群別 平均에 對한 平均 赤血球數, Hematocrit 値, Hemoglobin 濃度의 減少와 白血球數의 增加는 有意性이 認定되었다.

Table Ⅰ. Influence of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on some hematological values in rabbits.

Animal Group / Items	Contral M±SD	Treatment with chloroform fraction of Ranunculus sp. (g/kg, b.w.)					
		0.5		1.0		1.5	
		M±SD	Increase (%) *	M±SD	Increase (%) *	M±SD	Increase (%) *
RBC ($10^6/mm^3$)	5.33±0.18	5.27±0.18	-1.1	5.10±0.17	-4.5	4.54±0.31	-17.4 $p < 0.01$
WBC ($10^3/mm^3$)	9.1±0.2	9.1±0.2	0	9.4±0.1	3.1	10.3±0.5	13.3 $p < 0.01$
Hematocrit (%)	36.8±2.3	36.2±2.2	-1.6	34.3±1.9	-7.3	31.9±2.0	-15.2 $p < 0.05$
Hemoglobin (g/dℓ)	9.6±0.2	9.5±0.2	-1.1	9.3±0.2	-3.2	8.9±0.2	-7.3 $p < 0.01$
Total Plasma Protein (g/dℓ)	7.6±0.3	7.7±0.4	1.3	7.7±0.3	1.3	7.9±0.2	3.9

※ Increase values were compared with control.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

James와 Binns (1967)는 羊이 一部 방망이屬 有毒植物 (Locoweed) 에 中毒되었을때, 白血球數, 赤血球數, Hematocrit 値 및 Hemoglobin 量은 変動이 없었으나 總血中蛋白量은 增加하였다고 報告하였다.

그러나 Macphers on과 Hemingway (1969) 에 依하면 羊이 銅中毒에서 Hematocrit 値가 40 %로 增加했을때 Hemoglobin 量은 13 ~ 16 g / dl 로 增加했고, 20 %로 減少하였을때는 Hemoglobin 量도 5 ~ 7 g / dl 로 減少하였다고 한다.

한편, 金등 (1975)은 소의 고사리中毒時 白血球數, 赤血球數, Hematocrit 値 및 Hemoglobin 濃度 等이 모두 甚하게 減少한다고 하였다.

또한 権등 (1976)에 依하면 미나리아재비 抽出液을 家兎의 腹腔內에 每日 0.25 ~ 0.1 ml씩 注射하여 慢性中毒을 일으킨 다음 血液像을 觀察한 結果 赤血球數와 Hematocrit 値는 徐徐히 減少하는 傾向을 보이고 白血球數는 처음 減少되나 漸次 增加하는 傾向을 나타내었다고 하였다.

그밖에 여러 學者들에 依하면 미나리아재비科 植物에 依한 中毒時 血便 또는 黑便과 血色素尿을 보이며 (Lander, 1926 ; Forsyth, 1954 ; Kingsbury , 1964 ; Clarke와 Clarke, 1975 ; Schmutz와 Hamilton, 1979), 赤血球들이 破壞되어 溶血性貧血과 血色素尿가 나타난다고 하였다. (韓등, 1982 : quoted by Benjamin, M.M., Outline of Veterinary clinical pathology).

이상과 같은 報告들과 本 實驗成績을 比較하여 볼 때 大体的으로 権등 (1976)의 成績과 本 實驗成績에서 나타난 赤血球數와 Hematocrit 値 및 Hemoglobin 量이 減少되고 白血球數가 增加하는 点은 고사리中

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

毒이나 방망이屬 有毒植物에 依한 中毒症狀 等과는 血液學的으로 다른 現象을 나타내고 있다.

따라서 赤血球數의 減少는 赤血球가 破壞되는 等의 溶血에 起因되는 것으로 推定되며 이로 因해서 Hematocrit値가 減少되고 아울러 Hemoglobin量도 減少되는 것으로 생각된다. 그러나 白血球數의 增加는 胃腸管粘膜의 充出血과 組織壞死 等에 對한 生体防禦機能의 結果로 보여지므로 미나리아재비의 Chloroform 可溶性 分劃은 고사리中毒에서 처럼 造血器官에 直接作用하는 것은 아니라고 思料된다.

2. 血 糖 量

抽出液을 投与한 家兎의 血糖量에 대해서는 大体的으로 投与後 1~2日에 急激히 減少하여 3日째부터 漸次 回復되는 傾向을 나타내었다.

제주대학교 중앙도서관

表2에서 보는바와 같이 對照群은 平均 76.8㎎/dℓ이었으며,体重㎏当 0.5g 投与群은 投与前 80.0㎎에서 投与後 2日째에 66.0㎎, 1.0g 投与群은 80.0㎎에서 2日째에 59.0㎎, 1.5g投与群에서는 81.0 ㎎에서 2日째에 44.0㎎까지 減少되었다가 그후 徐徐히 回復되었고, 1.0g 및 1.5g 投与群에 있어서 1~2日째의 血糖量 減少率은 統計的 有意性이 認定되었다.

生体內의 血糖量 增加는 肝疾患 또는 損傷으로 glucose의 貯蔵·供給을 圓滑히 擔当하지 못하던지, 膵蔵內의 Langerhan's island의 β細胞 破壞로 insulin의 分泌가 부족할 境遇 또는 過度한 副腎皮質 Hormone, ACTH, 成長 Hormone 및 Catecholamine의 分泌增加가 原因이 된다고

Table 2. Influence of the Chloroform fraction of Ranunculus sp. on the Blood Sugar Levels in rabbits

Animal Group / Time after treatment (days)	Control (mg/dℓ)	Treatment with Chloroform fraction of Ranunculus sp. (g/kg, b.w.)					
		0.5		1.0		1.5	
		M±SE (mg/dℓ)	Decrease (%)*	M±SE (mg/dℓ)	Decrease (%)*	M±SE (mg/dℓ)	Decrease (%)*
0	78.0±4.0	80.0±12.4		80.0±5.2		81.0±5.2	
1	77.0±5.5	67.0±11.5	16.3	60.0±7.6	25.0 $p<0.05$	45.0±2.6	45.0 $p<0.01$
2	75.0±5.2	66.0±7.4	17.5	59.0±5.0	26.3 $p<0.05$	44.0±1.6	45.7 $p<0.01$
3	77.5±2.1	78.0±1.3	2.5	68.0±0.9	15.0	60.0±9.3	26.0 $p<0.05$
4	74.5±1.2	73.0±3.9	8.8	71.0±7.8	11.3	68.0±2.1	16.1
5	77.0±3.4	74.0±4.5	7.5	72.0±5.1	10.0	71.0±4.2	12.5
6	80.5±10.0	75.0±3.9	6.3	76.0±3.1	5.0	75.0±6.4	7.5
7	75.0±6.0	76.0±6.3	5.0	77.0±4.7	3.8	75.0±4.7	7.5

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

* Decrease values were compared with untreatment.

알려져 있다. (Sutherland 와 Cori, 1951; 金등, 1969 ; 宋과 申, 1971; 崔와 千, 1972 ; 朴등, 1972 ; 申등, 1973 ; Coles, 1980).

低血糖症의 原因으로서는 活動性인 β細胞腫瘍이나 Insulin 過剩投与에 依한 Hyperinsulinism과 glucose-6-phosphatase 缺乏으로 惹起되며, 副腎皮質機能不全, 甲状腺機能不全, Catecholamine 의 分泌缺乏, 飢餓, 吸収障碍, 肝疾患의 末期 및 Ketone 症 等으로 나타난다고 하였고, 또한 肝臟內 糖代謝에 関与하는 Phosphorylase 와 같은 酵素系가 抑制됨에 起因된다는 報告가 있다. (梁, 1976; Swenson, 1977; Blood 등, 1979).

本 實験에서 나타난 血糖量의 減少는 어떤 Hormone 系統이나 酵素系의 機作으로 因한 原因을 찾아 説明하기는 어렵고, 實験家兎의 食慾低下와 腸上皮組織의 損傷으로 因한 炭水化物의 吸収不全에 依한 것이 아닌가 생각된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3. 血清 Transaminase 活性度

抽出液을 投与한 家兎의 S-GOT 및 S-GPT 活性度는 大体的으로 2日째 그 増加程度가 最高에 達하였다가 回復되었고, 再次 6日째 増加趨勢를 보인후 7日째 回復되는 傾向을 보였다.

가. 血清 GOT 活性度

表3 에서 보는바와 같이 對照群은 平均 活性度가 57.0 unit (Reitman-Frankel unit) 이며 体重kg当 0.5 g 投与群은 投与前 52.4 unit 에서 投与後 1日째 72.9 unit, 2日째에 71.0 unit 로 増加되었다가 3日째부터 回復趨勢後 6日째 68.0 unit로 약간 再増加 機微를 보였고,

Table 3. Influence of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on serum GOT activities in rabbits.

Animal Group / Time after Treatment (days)	Control (unit)	Treatment with chloroform fraction of Ranunculus sp.(g/kg, b.w.)					
		0.5		1.0		1.5	
		M ± SE (unit)	Increase (%)*	M ± SE (unit)	Increase (%)*	M ± SE (unit)	Increase (%)*
0	55.0±5.7	52.4±5.6		54.6±11.8		53.4±7.4	
1	60.9±5.0	72.9±13.8	39.1	81.0±24.7	48.4	84.0±7.3	57.3 $p < 0.05$
2	62.0±5.9	71.0±12.6	35.5	85.0±12.9	55.6	158.0±13.9	195.9 $p < 0.01$
3	52.0±3.6	52.0±12.0	−0.8	54.0± 9.8	−0.1	82.0 ±9.1	53.5 $p < 0.05$
4	53.0±5.6	55.0±12.6	4.9	57.0±14.9	4.4	85.0±16.8	59.2
5	56.0±6.0	65.0±9.8	24.0	66.0±11.2	20.8	92.0±19.8	72.3
6	60.8±5.5	68.0±10.5	29.8	80.0±19.0	46.5	110.0±20.1	105.9 $p < 0.05$
7	56.5±4.4	54.0±7.0	3.1	56.5±12.0	3.5	86.0±11.2	61.1 $p < 0.05$

* Increase values were compared with untreatment.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1.0 g 投与群은 54.6 unit 에서 2 日째 85.0unit, 6 日째 再增加 80.0 unit로 나타났으나, 이 2개의 投与群에서는 그 增加度가 統計的 有意性은 認定되지 않았다.

1.5 g 投与群에서는 53.4 unit 에서 2 日째에 最高 158.0 unit 까지 增加되었다가 그後 徐徐히 回復 趨勢를 보인후 6 日째 110.0 unit의 再增加 傾向을 나타내었으며 1, 2, 3, 6, 7 日째의 S-GOT活性度 增加率은 統計的 有意性이 認定되었다.

나. 血清 GPT 活性度

表4에서 보는바와 같이 對照群은 平均 活性度가 56.9 unit(Reitman-Frankel unit)이며, 体重kg当 0.5 g 投与群은 投与前 56.0unit 에서 投与後 2 日째에 74.0 unit로 增加되다가 3 日째부터 回復 趨勢後 6 日째에 77.0 unit로 再增加 傾向을 보였고, 1.0 g 投与群은 60.0 unit 에서 2 日째 98.0 unit, 6 日째 再增加 90.0 unit로 나타나 抽出液投与用量 增量에 따른 S-GPT活性度의 增加率은 S-GOT와 마찬가지로 약간 더 높았다.

1.5 g 投与群에서는 52.0 unit 에서 2 日째에 最高 173.0 unit 까지 增加되었다가 그後 徐徐히 回復 趨勢를 보인후, 6 日째 104.0 unit의 再增加 傾向을 나타내었다.

統計的 有意性에 있어서는 1.0g 投与群은 2, 6日째, 1.5g 投与群에서는 2,3,4,6,7日째가 認定되어 S-GPT 活性度의 意義있는 增加傾向을 보여주었다.

Transaminase는 Keto acid와 Amino acid의 Amino基(NH_2) 転移를 触媒하는 酵素로서 그중 重要한 것은 glutamic oxalacetic tran-

제주대학교 중앙도서관

Table 4. Influence of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on serum GPT activities in rabbits.

Animal Group / Time after Treatment (days)	Control (unit)	Treatment with chloroform fraction of Ranunculus sp. (g/kg, b.w.)					
		0.5		1.0		1.5	
		M±SE (unit)	Increase (%)*	M±SE (unit)	Increase (%)*	M±SE (unit)	Increase (%)*
0	54.0±10.2	56.0±5.9		60.0±9.2		52.0±3.6	
1	60.5±11.3	62.0±5.2	10.7	78.0±11.1	30.0	84.0±19.6	61.5
2	55.0±7.1	74.0±8.3	32.1	98.0±10.3	63.3 $p<0.05$	173.0±21.0	232.7 $p<0.01$
3	53.5±9.7	70.0±10.9	25.0	73.5±5.3	22.5	114.0±9.6	119.3 $p<0.01$
4	56.4±10.4	56.5±5.0	0.8	65.0±6.6	8.3	85.0±6.8	63.5 $p<0.01$
5	54.0±10.5	55.0±2.8	−1.8	68.0±10.4	13.3	81.0±11.7	55.7
6	64.0±8.1	77.0±13.5	37.5	90.0±10.3	50.0 $p<0.05$	104.4±17.9	100.0 $p<0.05$
7	58.0±11.0	54.0±2.2	−3.6	58.0±8.4	−3.4	94.0±10.5	80.8 $p<0.05$

* Increase values were compared with untreatment.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

saminase (S-GOT)와 glutamic pyruvic transaminase (S-GPT) 이며 GOT는 aspartic acid의 α-amino基를 α-Ketoglutaric acid 로 転移를 触媒시켜 各各 oxalacetic acid와 glutamic acid를 形成한다.

α-Ketoglutaric acid + aspartic acid
$\xrightarrow{\text{transaminase}}$ Oxalacetic acid + glutamic acid

또한 GPT는 alanine의 α-amino基를 α-Ketoglutaric acid로 転移시켜 各各 Pyruvic acid와 glutamic acid를 形成하는데에 触媒役活을 한다.

α-Ketoglutaric acid + alanine
$\xrightarrow{\text{transaminase}}$ Pyruvic acid + glutamic acid

그리고 GPT는 肝細胞質内에 높은 濃度로 存在하는 特異酵素이며, GOT는 肝臟, 心臟, 骨格筋細胞의 mitocondria 内에 主로 存在하는 酵素이다. (Swenson, 1977; Blood 등, 1979; Coles, 1980).

S-GOT 및 S-GPT는 肝損傷 時에 血中으로 遊離하여 増加하고 이 増加率이 肝細胞 破壞에 指標가 되고 있으므로 大体로 여기에 肝損傷範囲가 比例한다고 하였으며 S-GPT의 増加率이 S-GOT보다 더 높은 現象은 有毒物質中毒 時와 같은 急性 및 中毒性肝炎과 肝壞死 時에 볼 수 있고 이와 반대로 S-GOT가 더 높은 現象은 肝硬変 및 溶血性黃疸 時와 心筋硬塞 및 筋肉疾病 等에서 나타난다고 報告되어 있다. (Wróblewski와 LaDue, 1955; 1956; Kuttler와 Marble, 1958; Cornelius 등, 1959; 1960; 1963 a,b; Zimmerman 등, 1965; VanVleet와 Alberts, 1968).

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

本 實驗에 있어서의 S－GOT 및 S－GPT 活性度의 增加는 미나리아재비의 毒作用에 依한 肝臟細胞들이 破壞됨으로서 血清內에 이들 酵素들이 多量 流出되는 것으로 思料되나, 四塩化炭素라든지 Hexachlorethane 처럼 肝臟에 特異的으로 毒性을 發揮하는 物質보다는 S－GOT와 S－GPT의 增加 程度가 높지 않기 때문에 (例 ; 尹, 1968 ; 家兎 体重kg當 ccl_4 0.1㎖ 投与時 S－GOT 530 unit, S－GPT 364 unit) 미나리아재비가 肝臟에 特異的인 毒性을 發揮하는 物質이라고는 생각되지 않는다.

그리고 S－GOT 및 S－GPT 活性度가 投与後 6日째 再次 意義있게 增加하는 現象은 本 實驗과 関聯된 報告가 없어 比較할수는 없으나, 抽出液을 1回 投与하여 惹起된 急性中毒으로 1～2日째 顯著하게 增加되다가 生体의 再生機能에 依해서 一但 回復 趨勢를 보인 후 生体內에 残留하고 있던 諸要因에 依한 二次的增加로 思料된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

4. 血清 Alkaline phosphatase 活性度

抽出液을 投与한 家兎의 血清 ALPase 活性度에 對해서는 大体的으로 1日째부터 漸次的인 增加를 始作하여 5～6日째 最高에 達하였고 그 후 漸次的으로 回復 趨勢를 보였다.

表5에서 보는바와 같이 對照群은 平均 活性度가 2.9 unit (Bessey－Lowry unit)이며, 体重kg當 0.5 g 投与群은 投与前 2.8 unit에서 投与後 1日째부터 漸次的으로 增加하여 6日째는 6.7 unit의 急激한 增加를 보인후 7日째는 곧 回復되는 趨勢를 보였고, 1.0 g 投与群에서도

Table 5. Influence of the Chloroform fraction of Ranunculus sp. on the serum alkaline phosphatase activities in rabbits.

Animal Group / Time after Treatment (days)	Control (unit)	Treatment with chloroform fraction of Ranunculus sp. (㎎/㎏ b.w.)					
		0.5		1.0		1.5	
		M ± SE (unit)	Increase (%)	M ± SE (unit)	Increase (%)	M ± SE (unit)	Increase (%)
0	2.7±0.2	2.8±0.6		2.9±0.4		2.7±0.3	
1	3.0±0.2	3.1±0.4	10.7	3.2±0.5	10.3	4.0±0.6	48.1
2	3.0±0.5	3.2±0.4	14.3	3.3±0.6	13.8	5.0±1.4	85.2
3	3.1±0.5	3.3±0.5	17.8	4.3±0.3	48.3 $p < 0.05$	5.8±1.0	114.8 $p < 0.05$
4	3.0±0.4	3.4±0.2	21.4	4.6±0.8	58.6	6.7±1.4	148.1 $p < 0.05$
5	3.0±0.5	4.0±0.9	42.7	5.6±0.9	93.1 $p < 0.05$	12.4±1.7	359.3 $p < 0.01$
6	3.1±0.6	6.7±1.3	139.3 $p < 0.05$	7.0±1.3	141.4 $p < 0.05$	10.6±1.4	292.6 $p < 0.01$
7	3.0±0.5	3.6±0.6	28.6	5.6±0.7	93.1 $p < 0.05$	7.1±1.0	162.9 $p < 0.05$

* Increase values were compared with untreatment.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2.9 unit에서 投与後 1日째부터 마찬가지로 漸進的 增加後 6日째에 7.0 unit의 最高 增加率에 達하였다가 7日째는 回復되는 傾向을 나타내고 있다.

1.5 g 投与群에 있어서는 그 增加가 顯著함을 나타냈는데, 投与前 2.7 unit에서 1日째 4.0unit, 2日째 5.0 unit, 3日째 5.8 unit, 4日째 6.7unit로 漸進的 增加를 보이다가 5日째에 12.4 unit의 急激한 增加로 最高에 達하였고 6日째 10.6 unit, 7日째 7.1 unit의 漸次 回復되는 傾向을 나타내었다.

統計的 有意性에 있어서는 抽出液 体重kg當 0.5 g 投与群은 6日째, 1.0 g 投与群은 3, 5, 6, 7日째, 1.5 g 投与群에서는 3, 4, 5, 6, 7日째가 認定되어 S－ALPase 活性度의 意義있는 增加率을 보여주고 있다.

S－ALPase는 肝臟, 骨, 腸管粘膜, 胎盤, 腎臟, 脾臟等에 分布되어 있으며 細胞의 microsome內에 存在하고 알카리성 pH(약9)에서 Phosphatate monoester의 加水分解에 関与하는 酵素로서 그 活性度測定은 主로 肝疾患 및 骨細胞 異常機能의 診断에 利用되고 있는 實情이다.(Harper, 1967).

Coles(1980)는 骨代謝性疾患, 肝膽汁系障碍, 転移性癌, 溶血, 胃腸管病変, 姙娠時 膵臟炎(Rogers, 1976), 薬物中毒時 (朴등, 1972) 等에 S－ALPase 活性度가 增加한다고 報告하였다.

植物中毒에 依해 S－ALPase活性度가 미치는 影響의 實驗報告는 그다지 볼 수 없었으나, 本 實驗成績에서 有意할만한 S－ALPase活性度 增加를 觀察할 수 있었다.

따라서 이러한 增加가 肝臟의 損傷으로 因한 것으로 생각이 되나, 그것이 溶血 또는 胃腸粘膜의 壞死等 다른 要因이 介在되었는지는 앞으로 더욱 検討하여야 할 課題로 思料된다.

5. LD_{50}

抽出液을 mouse와 Guinea pig의 服腔內에 注射하여 얻은 LD_{50} 算定은 表 6과 같다. mouse에 있어서 全動物이 生存하는 量2.5g/kg에서 全動物의 死亡하는 量7.0 g/kg까지 10個群으로 나누어 計算하여 얻은 LD_{50}은 4.7 g/kg, b.w.이었다.

Guinea pig는 全動物이 生存하는 量이 4.0 g/kg이였고 全動物이 死亡하는 量은 5.5 g/kg이며 LD_{50}은 4.65 g/kg, b.w.으로 計算되었다.

미나리아재비科 植物에 包含되어 있는 毒性物質에 関하여는 Asahina와 Fujita (1922) 및 Kipping (1935)은 Anemonin의 前駆物質로서 毒性과 抗菌力있는 Protoanemonin을 分離하여 lactone-γ-hydroxyvinylacrylic acid라고 하였다.

Shearer (1938)에 依하면 新鮮한 미나리아재비科 植物에서 얻는 매웁고 쓰며, 그리고 刺戟性이 있고 発疱性의 노란 油性液剤가 Protoanemonin이라하고 自然條件下에서 乾燥된 것은 毒性이 減少된다고 하였으며, 數種의 미나

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

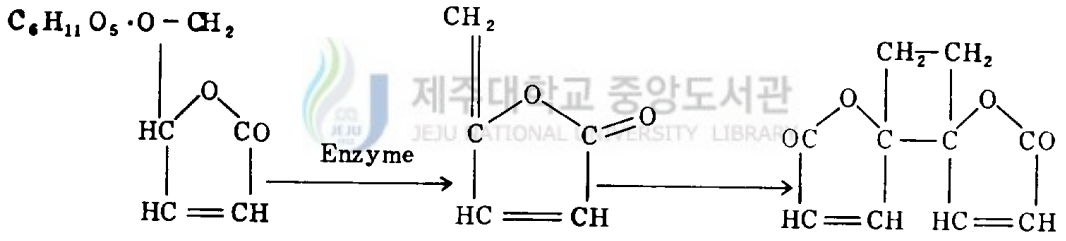
Table 6. LD_{50} of Chloroform fraction of Ranunculus sp. in mice and Guinea pig.

Dose (g) / Animal	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7	Total	LD_{50} (g/kg)
mice (dead/survive in number)	0/10	1/10	1/10	3/10	5/10	6/10	8/10	9/10	10/10		51/100	4.7
Guinea pig				0/5	2/5	4/5	5/5				11/20	4.65
(〃)												

리아재비科 植物에 対한 成分濃度를 NaOH로 滴定한 結果 5～6月이 가장 높은 濃度이며, HCN도 微量 検出하여 이 植物들은 일종의 cyanogenetic glycoside도 一部 包含되어 있다고 報告되었다.

또한 Hill과 Van Heyningen (1951)에 依하면 미나리아재비科 植物汁에서 酸溶液에 매우 安定이 있는 発疱性配糖体인 前駆物質을 分離하였는데 이를 Ranunculin이라 名命하였으며, 이 glycoside에 酵素的作用이 加해지면 protoanemonin의 精을 얻을 수 있고 또한 이것을 重合하면 anemonin이라는 結晶体가 沈澱된다고 報告하였다.

Quoted by Asahina and Fujita (1922)



Ranunculin
(provisional structure)

Protoanemonin

Anemonin

그밖에 Lander (1926)는 ficaric acid또는 saponin과 비슷한 配糖体를 分離하였고, Kingsbury (1964)는 Alkaloid도 微量있다고 하는等 미나리아재배科 植物에는 아직도 알려지지 못한 몇개의 다른 成分이 있을 것으로 推定된다.

그러나 本 實驗에선 Protoanemonin을 純粋分離하여 供試하지는 못했고 新鮮한 미나리아재비 22 g (乾燥한 것 11 g)에서 抽出液 1 g 比率의 粗製 Chloroform可溶性分劃을 얻어 LD_{50}을 算定하였기 때문에 그 毒性의 程度를 正確하게 알 수는 없으나 大体로 미나리아재비는 猛毒性 植物이

라고 보기는 어렵고, 但只 一時에 過量 또는 長期間을 계속하여 攝食하게 될때는 中毒 및 致死에 까지 이를 수 있다고 思料된다.

미나리아재비의 LD_{50}에 対하여는 柳등(1976) 이 mouse 1,586㎖/㎏ b.w., Guinea pig 1,345㎖/㎏, b.w.로 報告되어 本 実験成績과는 差異를 나타내고 있으나 이는 毒性에 対한 差異라는 意味보다는 但只 試料의 選択과 製造方法에 依한 差異라고 생각 된다.

6. 病理解剖學的 所見

抽出液을 家兎에 7.0 g/㎏, b.w.을 投与하여 死亡에 이르게 한후 解剖하여 얻은 肉眼的所見과 病変臟器에 対한 組織標本의 組織學的鏡検 結果는 다음과 같다.

가. 肉眼的 所見

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

実験動物의 臨床症状으로는 下痢와 黒便, 그리고 痙攣을 観察할 수 있었다.

解剖所見으로서는

肋膜: 乾燥하고 光沢이 없었다.

肺臟: 全体的으로 腫脹되었고 暗赤色을 나타내었으며, 硬固하였다.

肝臟: 辺縁이 둔하며 腫大되었고 硬度는 조금 軟하고 쉽게 부서지는 느낌이 있었으며 色은 暗黄色을 나타내었고 暗紫色의 얼룩斑点들이 있었다.

心臟: 心内膜의 充血을 認定할 수 있었다.

腎臟: 髄質에 充出血을 認定할 수 있었고 断面은 膨出, 全体的으로 약간 腫脹되었다(**圖板 2**)

胃腸: 胃는 全体的으로 拡張되었으며 粘膜은 糜爛과 潰瘍이 形成되었고, 大彎部 및 胃盲嚢部位에는 充出血이 있었다. 腸은 甚한 充出血이 小腸全体에 있었으며, 十二脂腸粘膜에는 点状出血이 廣範囲하게 나타났다(**圖板 3**)

나. 病理組織學的 所見

肺臟； 水腫

肝臟； 混濁腫脹, 空胞変性, 약간의 脂肪変性이 認定되었다 (**圖板 4.**)

胃·腸； 炎症 및 上皮壞死

家畜이 原因不明疾病으로 갑짜기 斃死하게되면 우선 中毒을 擬心하여 여러가지 検査와 함께 割剖觀察 및 病理組織的 所見을 綜合하여 診斷을 하게 되는데, 病理解剖 및 組織學的所見은 中毒에 있어서 實質臟器內의 組織細胞에 対한 損傷을 確證하는 가장 좋은 診斷方法으로 알려져 있다.

特히 肝臟은 有毒物質의 解毒作用을 担当하는 主要實質臟器로서 有毒物質을 投与하였을 때 反応이 가장 鋭敏하게 나타나므로 肝實質의 器質的変性을 鏡検하여 中毒의 影響을 究明할 수가 있다.

病理組織學的 所見으로서 毒性物質을 攝食하여 中毒되었을 境遇의 肝臟은 混濁腫脹과 肝細胞의 增大 및 脂肪変性을 일으켜 核은 不分明하고 原形質은 顆粒性으로 보이며 또한 胃 腸管粘膜에는 急性炎症이 誘発되는데, 非正常的인 粘膜形成과 上皮의 脫落, 白血球의 浸潤 等을 觀察할 수 있다 하였고, 肺水腫의 併発될 境遇는 肺胞들은 작은 顆粒性凝固液과 各己 떨어진 赤血球, 白血球 및 上皮細胞들로 充満된다고 하였다 (Dellman과 Brown, 1976 : Thomson, 1978).

柳와 許 (1978)에 依하면 미나리아재비科 植物에 中毒된 Guinea pig, 家兎의 解剖所見은 肝·腎·膵臟과 胃·腸에 充出血이 있었고 病理組織學的 所見으로는 混濁腫脹, 空胞変性, 壞死 等이 認定되었다고 報告하였

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

다.

本 實驗의 所見에 있어서도 미나리아재비 抽出液에 의한 炎性刺戟으로 胃·腸管粘膜의 充出血 炎症 및 壞死와 實質臟器(肝·肺·腎·心臟等)에 変性等 有害物質中毒 時 나타나는 典形的 中毒現象과 비슷한 結果를 認定할 수 있었다.

以上의 實驗 結果를 볼때 미나리아재비植物은 비록 猛毒性은 아니라 할지라도, 本道 牧野地에 多量으로 分布되고 있어서 家畜들이 中毒을 일으킬 可能性이 높기 때문에 앞으로 注意를 要하는 有毒植物이라고 생각된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

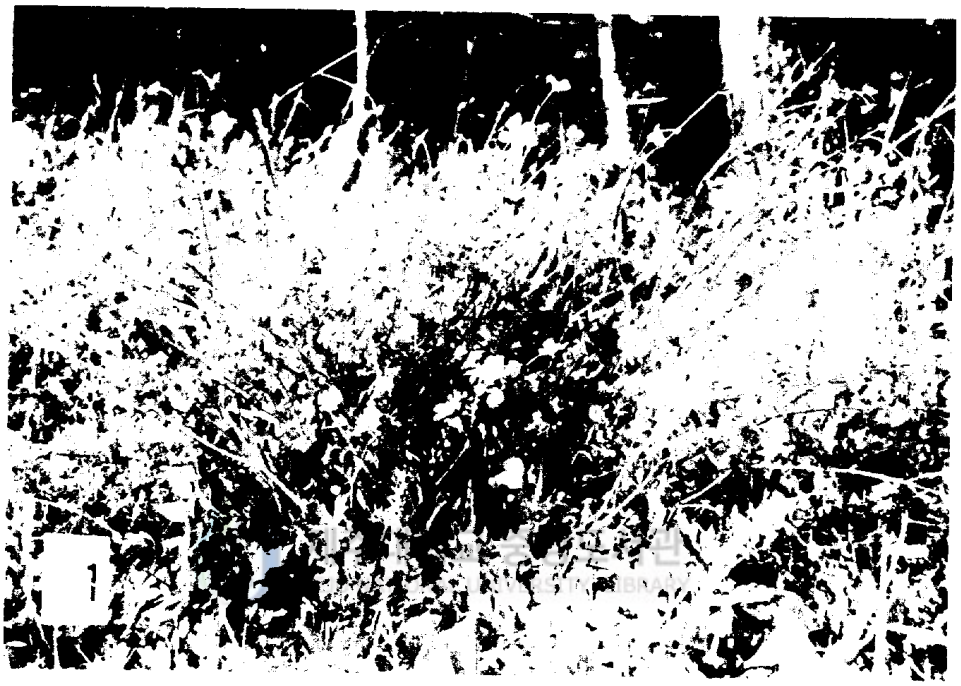
Legends for plates

plate 1. Buttercup(Ranunculus japonicus Thunb.).

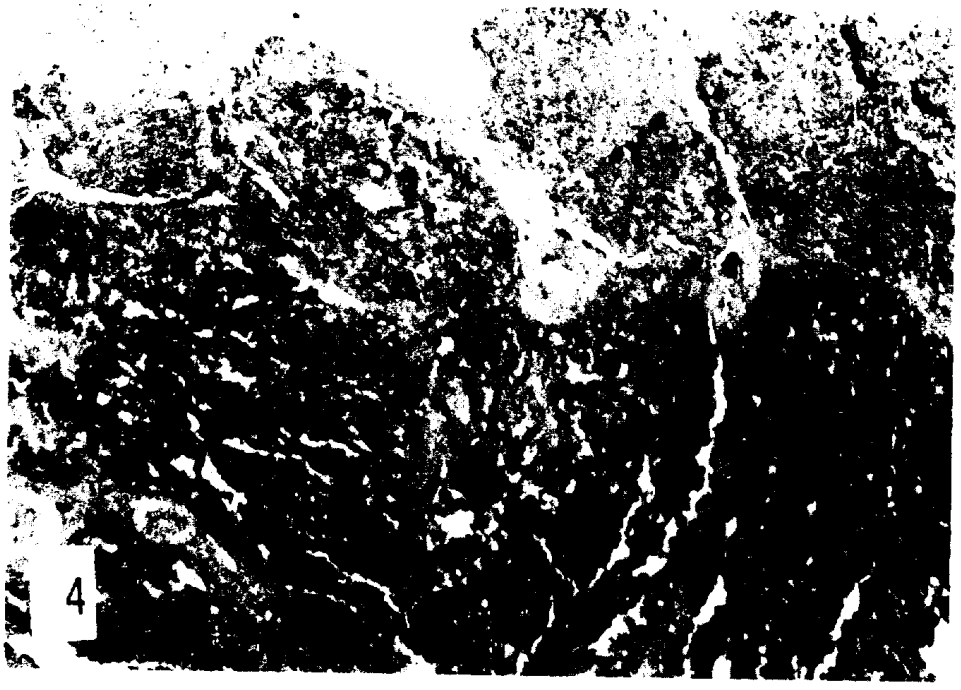
plate 2. Showing hyperemia Congestion in the Cortico - medullary border.

plate 3. Showing Congestion and petechial hemorrhages on the duodenal mucous membrane.

plate 4. Showing parenchymal cloudy swelling of rabbit liver. (× 120)



3



4

Summary

Being the Buttercups(Ranunculus spp.) distributed abundantly in natural grassland of Cheju island, the domestic animals (especially cattles as sheeps) are exposed to the existent dangerousness of poisoning by these plants. Therefore, the necessity of established preventive measures against the unexpected Buttercups poisoning is recognized in this area.

In order to investigate the toxic effects of Buttercups, the author had examined an influence of the chloroform fraction of Ranunculus japonicus Thunb. (Ranunculus Ext.) on blood sugar levels, serum transaminase(S-GOT and S-GPT), alkaline phosphatase activities and supplemently patho anatomical examinations of rabbits treated orally with Ranunculus Ext. as 0.5, 1.0 and 1.5g/kg, b.w..

The results obtained were as follows;

1. By the gradually increased dose of Ranunculus Ext., number of WBC, was significantly increased.
   But number of RBC, Hematocrit and Hemoglobin values were decreased and there was no variation in Total Plasma Protein volume.
2. Blood sugar levels were decreased the dose of 1.5g/kg b.w. of Ranunculus Ext. in rabbits.
3. Both of S-GOT and S-GPT activities were increased,

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

and also Alkaline phosphatase activity was increased in higher dosage.

4. LD_{50} of Ranunculus Ext. which was used in this experiment was estimated as 4.7g/kg, b.w. for mice and 4.65g/kg, b.w. for Guinea pigs.
5. A Cloudy swelling of liver, hemorrhagic congestion in cortico-medullary region of kidney and hyperemia and petechial hemorrhagy of gastro-intestinal mucosa of rabbits were observed by a lethal dose of Ranunculus Ext..

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

謝　　辭

本 研究를 遂行함에 있어서 指導하여주신 指導教授 梁奇千博士님 그리고 始終 懇曲한 忠告를 주시던 李賢鍾博士님, 또한 여러모로 도움을 주신 宋大鎭博士님과 康順善博士님 및 全南大學校 農科大學 金五南博士님에게 深甚한 感謝를 드립니다.

特히 實驗材料를 비롯한 進行過程에서 많은 도움을 주시며 激勵하여 주신 濟州道家畜衛生試驗所 邊時列所長님과 職員 여러분에게 謝意를 表하는 바입니다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

引 用 文 獻

1. Asahina, Y. and A. Fujita. 1922. Zur kenntnis des anemonins. Acta Phytochim., Japan. 1:1 ~ 42.

2. Baer, H., M. Holden, and B. C. Seegal. 1946. The nature of the antibacterial agent from anemone pulsatilla. J. Biol. Chem., 162:65 ~ 68.

3. Blood, D. C., J. A. Henderson and O. M. Radostits. 1979. Veterinary medicine. 5th ed., Bailliere Tindall, London. P. 206.

4. Bonasch, H. and C. E. cornellius. 1964. Indocyanine green clearance; A liver function test for the dog. Am. J. Vet. Res., 25;204 ~ 258.

5. 崔百熙, 千然淑. 1972. Morphine, Codein 및 Meperidine의 鎭痛效果 및 物質代謝에 미치는 Iproniazid의 影響. 高麗大医大雜誌, 9(2):17 ~ 25.

6. Clarke, E. G. C. and M. L. Clarke. 1975. Veterinary toxicology. Bailliere Tindall, Norfolk. PP. 351~ 354.

7. Coles, E. H. 1980. Veterinary clinical pathology. 3rd ed., W. B. Saunders Co., philadelphia. PP. 183 ~ 277.

8. Cornelius, C. E., J. Bishop, J. switzer and E. A. Rhode. 1959. Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. Cornell Vet.,49: 116 ~ 125.

9. _____, and J. J. Kaneko. 1960. Serum transaminase activities in cat with Hepatic Necrosis. J. A. V. M. A., 137(1);62 ~ 66.

10. _____, G. M. Douglas, R. R. Gronwall and R. A. Freedland. 1963. a.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Comparative studies on plasma arginase and transaminases in hepatic necrosis. Cornell Vet., 53:181 ~ 191.

11. _____, L. G. Burnham and H. E. Hill. 1963. b. Serum transaminase activities of thoroug bred horses in traing. J. A. V. M. A., 142(6); 638 ~ 642.

12. Dellmann, H. D. and E. M. Brown. 1976. Textbook of veterinary histology. Lea & Febiger, philadelphia. PP.228 ~ 272.

13. Evers, R. A. and R. P. Link. 1972. Poisonous plants of the midwest and their effects on livestock. Distributed by Univ.of Illinois press. Urbana. PP. 25 ~ 43.

14. Forsyth, A. A. 1954. British poisonous plants ministry of agriculture and Fisheries Bulletin, London. No. 161, PP. 17 ~ 23.

15. 韓弘粟, 李政吉, 李昌甫. 1982. 獸医臨床病理. 機電研究社, 서울. PP.246~ 285.

16. Harper, H. A. 1967. Review of physiological chemistry. 11st. Ed., P. 155.

17. Hill, R. and R. Van Heyningen. 1951. Ranunculin ; The precursor of the vesicant substance of the buttercup. Biochemistry Journal, 49:332~335.

18. Hoffmann, W. E., W. E. Renegar and J. L. Dorner. 1977. Serum half life of intravenously injected intestinal and hepatic alkaline phosphatase isoenzymes in the cat. Am. J. Vet. Res., 38(10):1637 ~ 1638.

19. Hungerford, J.G., B.V.Sc., F.A.C.V.Sc., H.D.A. 1975. Diseases of livestock.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Graw-Hill, Sydney. P. 1135.

20. Huh, R. S., T. S. You and Y. S. Rhee. 1976. Studies on herval insecticides 2. Insecticidal effects of Ranunculus species on Niloparvata lugons, Sogota furcifera and Brevicoryne brassicae. J. Korean Vet. Med. Ass., 12(1):7～10.

21. 池田 良雄. 1955. Behrens, Kaerber法の致死量の定め方法, 薬品致死量集. P. 220.

22. James, L.F. and W. Binns. 1967. Blood changes associated with Locoweed poisoning. Am. J. Vet. Res., 28(125):1107～1110.

23. 정순희, 유태석, 허린수. 1976. 식물성농약 개발에 관한 연구 4. 4. Ranunculus species의 식품방부효과. 大韓獸医師会誌., 12(1):15～20.

24. 金井 泉. 1966. 臨床検査法提要. 第24版, Somogyi Nelson法 Ⅶ－48, Reitman-Frankel法変法 Ⅶ－79.

25. 金澄鎭, 朴在憲, 金奎浩, 林漢永. 1969. Glucose가 alloxan毒性 및 alloxan投与 家兎의 肝代謝에 미치는 影響에 対하여. 大韓薬理學雜誌., 5(1):45～50.

26. 金一赫. 1981. 薬品植物學 各論. 二版. 進明出版社, 서울 PP. 154～164.

27. 金五南, 李政沢, 金炯均, 康太淑, 金弘都, 金泳祐. 1975. 소의 고사리中毒에 関한 實験的 研究. 韓畜誌, 17(5):531～538.

28. Kingsbury, J. M. 1964. Poisonous plants of the U. S. and Canada. Prentice-Hall, Inc., Englewood criffs, N. J. PP. 140～145

29. Kipping, F. B. 1935. The structure of anemonin. J. Chem. Soc., P. 1145.

제주대학교 중앙도서관

30. Kuttler, K. L. and D. W. Marble. 1958. Relation ship of serum transaminase to naturally occurring and artificially induced white muscle disease in calves and lambs. Am. J. Vet. Res., July, PP. 632 ~ 636.

31. 權海秉, 柳泰錫, 許麟洙, 梁日錫. 1976. Ranunculus sp.에 慢性中毒된 家兎의 臨床症状 및 血液像. 大韓獸医師会誌, 12(3):169 ~ 176.

32. Lagacé, A., D. S. Bell, A. L. Moxon and W. D. Pounden. 1961. Serum transaminase in the blood of lambs given preventive treatments for white muscle disease. Am. J. Vet. Res., July, PP. 686 ~ 688.

33. Lander, G. D. 1926. Veterinary toxicology. 2nd ed., Bailliere, Tindall & Cox, London. PP. 175 ~ 191.

34. 李昌福. 1977. 植物分類學. 鄕文社, 서울, PP. 148 ~ 155.

35. _____. 1980. 大韓植物図鑑. 鄕文社, 서울, P. 351.

36. Macpherson, A. and R. G. Hemingway. 1969. The relative merit of various blood analyses and liver function tests in giving an early diagnosis of chronic copper poisoning in sheep. Br. Vet. F., 125:213~220.

37. Moriarty, R. M., C. R. Romain, I. L. Karle and J. Karle. 1965. The structure of anemonin. J. Am. Chem. Soc., 87(14):3251 ~ 3252.

38. Nelson, N. 1944. A photometric adaption of the somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem., 153:375 ~ 380.

39. 朴貞仁, 李芸求, 洪権憙, 金陽順. 1972. Pentazocine의 家兎血糖, 血清

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

transaminase 및 Alkaline phosphatase活性度에 対한 作用. 大韓藥理學雜誌, 9(1):47～51.

40. Reitman, S. and S. Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic pyruvic transaminases. Am. J. Clin. Path., 28:56.

41. Rogers, W. A. 1976. Source of serum alkaline phosphatase in clinically normal and diseased dog;A Clinical study. J. A. V. M. A., 168(15):934～937.

42. Schmutz, E. M. and L. B. Hamilton. 1979. Plants that poison. an illustrated guide for the american southwest. P. 33.

43. Seegal, B. C. and M. Holden. 1945. The antibacterial activity of extracts of Ranunculaceae. Sci. J., April. PP. 413～414.

44. Shaw, E. 1946. A synthesis of protoanemonin ;The tautomerism of acetylacrylic acid and of penicillic acid. J. Am. Chem. Soc., 68:2510～2513.

45. Shearer, G. D. 1938. Some observations on the poisonous properties of buttercups. British Vet. J., 94:22～32.

46. 申庚澈, 朴貞仁, 玄德燁, 洪権憙. 1973. Chlorpromazine 및 Reserpine의 血糖 및 血清 transaminase 活性度에 미치는 効果. 中央医學, 24(6):635～639.

47. 宋炫燮, 申萬鍊. 1971. Morphine, Epinephrine, Epinephrine으로 일어난 血糖, 血中Ca 및 Mg量에 미치는 Chloropromazine 및 Reserpine의

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

影響. 友石医大雜誌, 8(2):473～483.

48. Sutherland, E. W. and C. F. Cori. 1951. Effect of hyperglycemic-glycogenolytic factor and epinephrine on liver phosphorylase. J. Biol. Chem., 188:531.

49. Swenson, M. J. 1977. Duke's Physiology of domestic animals. 9th ed., cornell Univ.press, New York. PP. 357～366.

50. Thomson, R. G. 1978. General veterinary pathology. W. B. sounders Co. Philadelphia. PP. 100～155.

51. Van Vleet, J. F. and J. O. Alberts. 1968. Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxication and extrahepatic bile duct obstruction in the dog. Am. J. Vet. Res., 29:2119.

52. Wróblewski, F. and J. S. LaDue. 1955. Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity as an index of liver cell injury ; A preliminary report. Ann. Internal med., 43:345～360.

53. _____, 1956. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91:569～571.

54. 梁奇千. 1976. 四監化炭素의 毒性에 미치는 Chlorpromazine 및 Iproniazid의 影響. 大韓獸医學会誌, 16(1):59～64.

55. _____ . 1978. 済州道의 有毒植物에 対한 調査研究. 大韓獸医學会誌, 18(1):39～50.

56. 尹恒斌. 1968. Carbone Tetrachloride 毒性에 미치는 人蔘의 効果. 友石

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

大學校 大學院 博士學位論文. PP. 14～18.

57. 柳泰錫, 許麟洙, 金容煥. 1976. 植物性 農藥開発에 関한 研究. 3. Polygonum 및 Ranunculus species의 毒性試験. 大韓獸医師会誌, 12(1):11～14.

58. _____, 허린수, 박무현. 1977. 미나리아재미과 식물의 항균성실험. 大韓獸医師会誌, 13(6):393～395.

59. ____, _____. 1978. 미나리아재비과 식물에 (Ranunculus Sp.) 中毒된 Guineapig, 家兎의 病理組織學的 所見. 農業研究所報, 12:51～56.

60. _____, 崔尙龍, 金容煥. 1979. 医療器材에 対한 미나리아재비科 植物汁液의 殺菌剤 實用化에 関하여. 慶尙大論文集 (自然), 18:105～108.

61. _____, 金容煥. 1981. 病原性細菌에 대한 미나리아재비과 植物의 抗菌性에 関한 研究. 大韓獸医學会誌, 21(1):1～6.

62. Zimmerman, H. J., Y. Kodera and M. West. 1965. Rate of increase in plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatoxicity. J. Lab. Clin. Med. 66:315.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY