

‘미나리아재비’의 毒性에 대한 研究

高孜明* · 梁奇千

Toxic Effects of *Ranunculus japonicus* (Buttercup) in Rodents

Ja-Myong Koh* and Ki-Chun Yang

Summary

Buttercups (*Ranunculus* spp.) are widely distributed in natural grasslands of Cheju island, and domestic animals (especially cattles and sheep) are easily exposed to poisoning of these plants. Therefore, preventive measures against the unexpected Buttercup poisoning is necessary in the area.

Toxic effects of Buttercup were investigated with the chloroform fraction of *Ranunculus japonicus* Thund. (*Ranunculus* Ext.) by monitoring blood sugar levels, and activities of serum transaminases (S-GOT and S-GPT) and alkaline phosphatase in the rabbit. Patho-anatomical examinations were also carried out in the rabbit dosed with *Ranunculus* Ext. at 0.5, 1.0 and 1.5 g/kg b.w..

The results were as follows:

1. As the dose of *Ranunculus* Ext. increased, number of WBC increased significantly but number of RBC, hematocrit and hemoglobin values decreased and no effect was observed in total plasma protein volume.
2. Blood sugar levels were higher in rabbits dosed at 1.5 g/kg b.w. than in the control.
3. Activities of S-GOT, S-GPT and alkaline phosphatase increased when dosed at 1.0 g/kg b.w. or higher.
4. LD₅₀ was estimated to be 4.7 g/kg, b.w. for mice and 4.65 g/kg, b.w. for Guinea pigs.
5. Cloudy swelling of liver, hemorrhagic congestion was noted the cortico-medullary region of the kidney, and hyperemia and petechial hemorrhage of gastro-intestinal mucosa were observed at the lethal dose of *Ranunculus* Ext. in the rabbit.

序 論

濟州道는 他道에 비해 面積은 좁은 地域이나 植

物の 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 것으

* 濟州道家畜衛生試驗所

로 調査되었다.

梁(1978)은 濟州道の 有毒植物에 對한 調査報告에서 家畜들에 害로운 200余種의 有毒植物中 가장 警戒해야 할 植物은 그 優占度와 毒性面에서 ‘고사리’임을 指摘하고 그 다음 順으로 牧野地에 多量으로 分布되고 있는 ‘미나리아재비’에 依한 中毒發生 可能性이 높다고 示唆한 바 있다.

濟州道の 山野에서 自生하고 있는 미나리아재비科의 有毒植物은 14種으로 調査되었고(梁, 1978), 그들중 有毒成分이 가장 비슷한 것은 할미꽃, 미나리아재비, 개구리자리, 개구리미나리, 젓가락풀 등으로 알려져 있다(Kingsbury, 1964).

미나리아재비의 有毒物質은 Protoanemonin 으로서(Asahina 와 Fujita, 1922; Kipping, 1935; Shearer, 1938) 그의 前驅物質은 Ranunculin 이라고 報告되었다(Hill 과 van Heiningen, 1951). 그밖의 成分으로서는 ficaric acid(Lander, 1926), Cyanogenetic glycoside(Shearer, 1938) 및 刺戟性 있는 Alkaloid(Schmutz 와 Hamilton, 1979) 등이 分離되었다는 報告들이 있다.

또한 이들 研究者들은 미나리아재비의 有毒成分이 Chloroform에 溶解되어 抽出된다 하였으므로, 著者들은 미나리아재비의 Chloroform 可溶性分劃을 만들어 이 抽出物의 毒性에 對한 基礎的 實驗을 遂行하여 그 結果를 報告코자 한다.

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 體重 2.0 kg 内外의 健康하고 成熟한 家兔와 體重 0.8~1.0 kg의 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.

3. 미나리아재비의 Chloroform 可溶性 分劃의 製造

濟州道 山野에 自生하는 4~6月の 미나리아재비(*Ranunculus japonicus* Thunb.)의 地上部(葉·莖·花)을 採取하여 48時間 陰乾한 後 細切하고 試料 1 kg當 Chloroform(M=119.39) 4ℓ에 浸漬시켜 48時間 室溫에 放置한 後 濾過하여 그 濾液을 加溫, 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 爲한 첫 段階로 미나리아재비의 抽出液이 家兔의 血糖量, 血清 Transaminase 및 Alkaline phosphatase 活性度에 미치는 影響을 主 實驗으로 하고 LD₅₀ 算定과 病理解剖學的 所見을 補助實驗으로 하여 아래와 같이 本 實驗을 遂行하였다.

1) 血液學值의 變化

各 實驗區에 5頭씩 家兔를 配置하고 對照區에는 1.0 ml/kg, b.w.의 生理食鹽水를 그리고 抽出液 處理區는 3個區로 나누어 各各 0.5, 1.0, 1.5 g/kg, b.w.를 經口 投與한 後(以下 같은 方法이므로 記述省略함) 家兔의 耳靜脈에서 採血하여 EDTA로 血液凝固을 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 血液學值 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值 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(mm)를 測定하고, 이것을 100 ml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해

서 測定하였다.

2) 血糖量 測定

抽出液을 投與後 家兔의 耳靜脈에서 24時間 間隔으로 7日 동안 採血하여 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 660 mμ에서 比色測定하였다.

3) 血清 Transaminase 活性度 測定

家兔의 耳靜脈에서 採血하여 室溫에서 凝固시킨後, 30分間 3,000 r.p.m. 으로 遠心分離하여 血清을 分離한 다음 S-GOT 및 S-GPT 活性度を Reitman-Frankel 法 (Reitman 과 Frankel, 1957; 金井, 1966)에 依하여 Spectronic 20 型 光電比色計로 波長 505 mμ에서 7日 동안 比色測定하였다.

4) 血清 Alkaline Phosphatase 活性度 測定

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

5) LD₅₀의 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-Kaerber의 平均致死量法 (池田, 1955)에 依하여 平均致死量(LD₅₀)을 各各 計算하였다.

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.

6) 病理解剖學的 所見

다섯마리의 家兔에 抽出液 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 10 μm 組織切片을 만들고 Eosin으로 染色하여 鏡檢하였다.

結果 및 考察

1. 血液學值

미나리아재비의 Chloroform可溶性 分劃(以下 抽

出液으로 略함)을 家兔에 投與하여 實驗期間동안 얻은 白血球數, 赤血球數, Hematocrit 值, Hemoglobin 濃度 및 總血漿蛋白質量의 成績은 Fig.1과 같다.

1) 白血球數

對照群의 白血球數는 平均 $9.10 \times 10^3 / \text{mm}^3$ (以下 單位 千個)이었으며 體重kg當 0.5g의 抽出液 投與群은 有意한 變化가 없었다. 1.0g 投與群에 있어서는 投與前 8.80에 比하여 投與後 1日째 9.46, 5日째 最高 9.56까지 增加하여 全體적으로 약간 增加 趨勢를 보였으며, 1.5g 投與群은 投與前 8.60에서 投與後 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.

2) 赤血球數

對照群은 平均 $5.33 \times 10^6 / \text{mm}^3$ (以下 單位 百萬 個)이었으며, 體重kg當 0.5g의 抽出液 投與群에서는 큰 變化가 없었다. 1.0g 投與群은 약간 減少하는 傾向을 보였으며 1.5g 投與群에 있어서는 顯著한 減少 趨勢를 보였는데 投與前 5.77에 比하여 投與後 1日째 5.10으로 減少를 始作하여 7日째는 3.98까지 減少되는 傾向을 나타내었다.

3) Hematocrit 值

Fig.1에서 보는 바와 같이 對照群의 平均 Hematocrit 值 36.8% (以下 單位 省略)에 比하여 體重 kg當 0.5g 및 1.0g 投與群에서는 약간 減少되는 傾向을 보였으나 有意성이 없었고 1.5g 投與群은 投與前 39.2%에서 投與後 1日째 37.2 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.

4) Hemoglobin 濃度

對照群의 平均 9.6 g/dl (以下 單位 省略)에 比하여 體重 kg當 0.5 및 1.0g 投與群에서는 有意한 變化가 없었으나 1.5g 投與群에 있어서는 投與前 9.9에서 投與後 1日째 9.4로 減少를 始作하여 7日째는 8.7까지 顯著하게 減少하였다.

5) 總血漿蛋白質量

對照群과 抽出液 投與群과의 總血漿蛋白質量은 有意한 變化를 認定할 수 없었다.

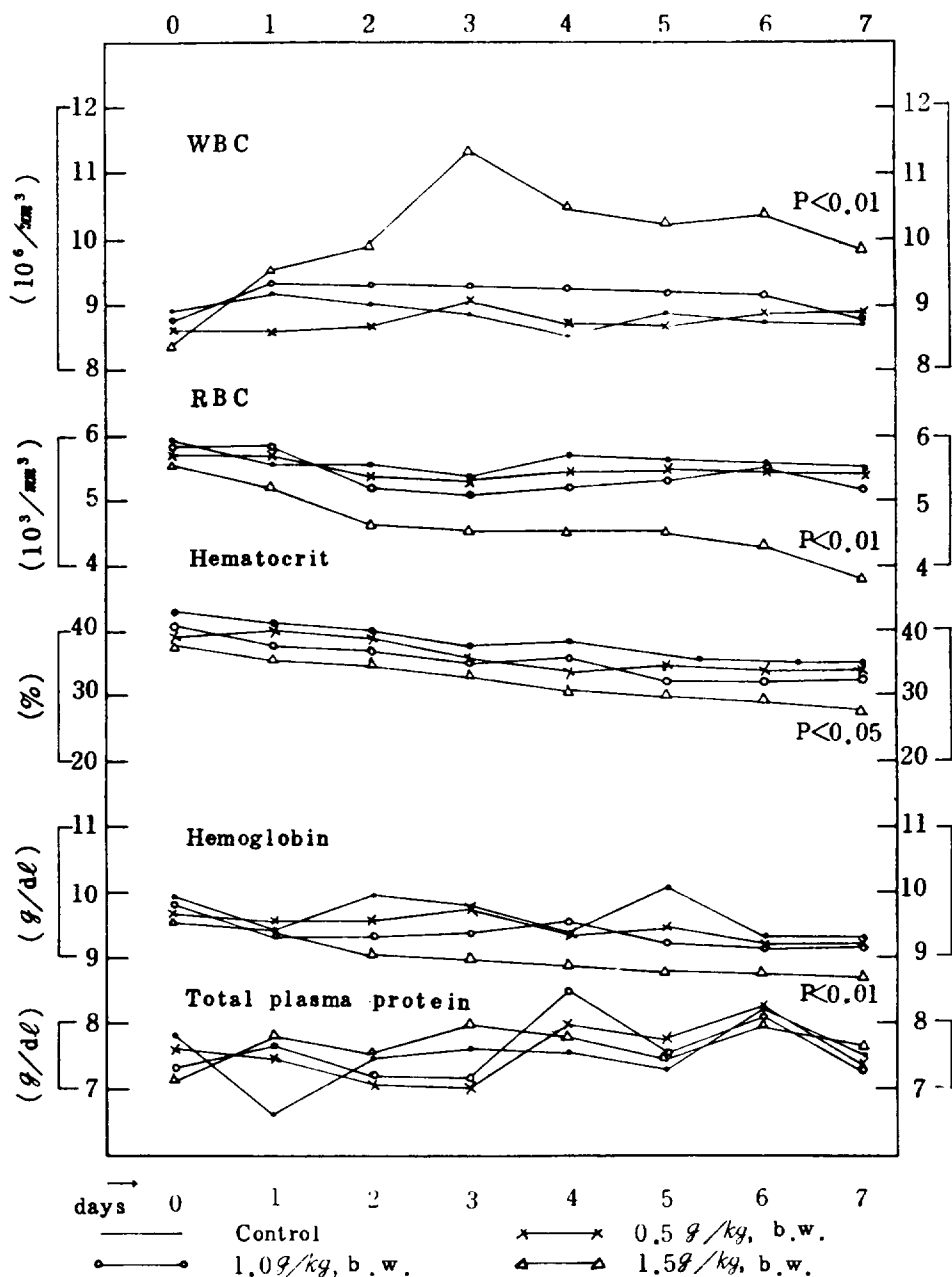


Fig.1. Influences of the chloroform fraction of *Ranunculus* sp. on RBC, WBC, Hematocrit ratio, Hb content, and Total plasma protein in rabbit.

이는 抽出液 體重 kg當 1.5g 以內的 投與로서는 肝臟 또는 網內系의 血漿蛋白質 合成이나 身體構成

物質의 報, 修善 및 酵素系를 維持하는데 必要한 蛋白質의 代謝 障礙를 誘發하지는 못하는 것으로 思

료된다.

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

James 와 Binns (1967)는 羊이 一部 防망이屬 有毒植物 (Locoweed)에 中毒되었을 때 白血球數, 赤血球數, Hematocrit 值 및 Hemoglobin 量은 變動이 없었으나 總血中蛋白量은 增加하였다고 報告하였다. 그러나 Macpherson 과 Hemingway (1969)에 依하면 羊이 銅中毒에서 Hematocrit 值가 40%로 增加했을 때 Hemoglobin 量은 13~16 g/dl로 增加했고, 20%로 減少하였을 때는 Hemoglobin 量도 5~7 g/dl로 減少하였다고 한다.

한편, 金등 (1975)은 소의 고사리中毒時 白血球數, 赤血球數, Hematocrit 值 및 Hemoglobin 濃度

等이 모두 甚하게 減少한다고 하였다.

또한 權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 值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를 보이며 赤血球들이 破壞되어 溶血性貧血과 血色素尿가 나타난다고 하였다 (Lander, 1926; Forsyth, 1954; Kingsbury, 1964; Clarke 와 Clarke, 1975; Schmutz와 Hamilton, 1979, 韓등, 1982)

이상과 같은 報告들과 本 實驗成績을 比較하여 볼 때 大體의으로 權등 (1976)의 成績과 本 實驗成績에서 나타난 赤血球數와 Hematocrit 值 및 Hemoglobin

Table 1. Influence of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on some hematological values in rabbit.

Items	Animal Group	Treatment with chloroform fraction of Ranunculus sp. (g/kg, b.w.)						
		Control M ± SD	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 < 0.001
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.

量이 減少되고 白血球數가 增加하는 點은 高사리中 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 胃腸管粘膜炎의 充出血과 組織壞死 等에 對한 生體防禦機能의 結果로 보여지므로 미나리아재비의 毒性的物質은 高사리中毒에서처럼 造血器官에 直接作用하는 것은 아니라고 思料된다.

2. 血 糖 量

미나리아재비의 抽出液을 投與한 家兔의 血糖量은 大體的으로 投與後 1~2日에 急激히 減少하여 3日째부터 漸次 回復되는 傾向을 나타내었다. Table 2에서 보는바와 같이 對照群은 平均

76.8 mg/dl이었으며 體重kg當 0.5g 投與群은 投與前 80.0 mg에서 投與後 2日째에 66.0 mg, 1.0g, 投與群은 80.0 mg에서 2日째에 59.0 mg, 1.5g 投與群에서는 81.0 mg에서 2日째에 44.0 mg 까지 減少되었다가 그후 徐徐히 回復되었고 1.0g 및 1.5g 投與群에 있어서 1~2日째의 血糖量 減少率은 統計的 有意성이 認定되었다.

低血糖症의 原因으로서는 活動性인 β 細胞腫瘍이나 Insulin 過剩投與에 依한 Hyperinsulinism과 glucose-6-phosphatase 缺乏으로 惹起되며, 副腎皮質機能不全, 甲狀腺機能不全, Catecholamine의 分泌缺乏, 飢餓, 吸收障礙, 肝疾患의 末期 等으로 나타난다고 하였고 또한 肝臟內 糖代謝에 關與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).

그러나 本 實驗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 說明하기는 어렵고 實驗家兔의 食欲低下

Table 2. Influence of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on the Blood Sugar Levels in rabbit.

Animal Group	Control (mg/dl)	Treatment with Chloroform fraction of Ranunculus sp. (g/kg, b. w.)					
		0.5		1.0		1.5	
		M ± S.E (mg/dl)	Decrease (%)*	M ± S.E (mg/dl)	Decrease (%)*	M ± S.E (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

* Decrease values were compared with untreated.

와 腸上皮組織의 損傷으로 因한 炭水化物의 吸收不全에 依한 것이 아닌가 생각된다.

3. 血清 Transaminase 活性度

抽出液을 投與한 家兔의 S-GOT 및 S-GPT 活性度는 大體의으로 2日째 그 增加程度가 最高에 達하였다가 回復되었고 再次 6日째 增加趨勢를 보인 후 7日째 回復되는 傾向을 보였다.

1) 血清 GOT 活性度

Table 3에서 보는 바와 같이 對照群은 平均 活性度가 57.0 (Reitman-Frankel unit, 以下같은)이며, 體重kg當 0.5g 投與群은 投與前 52.4에서 投與後 1日째 72.9, 2日째에 71.0로 增加되었다가 3日째부터 回復되는 傾向을 보인 後 6日째 68.0로 약간 再增加의 機微를 보였고, 1.0g 投與群은 54.6에서 2日째 85.0로 增加했다가 減少되며 6日째에 다시 再增加 80.0로 나타났으나, 이 2개의 投與群

에서는 그 增加度가 統計的 有意性은 認定되지 않았다.

1.5g 投與群에서는 53.4에서 2日째에 最高 158.0까지 增加되었다가 그後 徐徐히 回復 趨勢를 보인 후 6日째 110.0의 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.

2) 血清 GPT 活性度

Table 4에서 보는바와 같이 對照群은 平均 活性度가 56.9 (Reitman-Frankel unit, 以下같은)이며 體重kg當 0.5g 投與群은 投與前 56.0에서 投與後 2日째에 74.0로 增加되다가 3日째부터 回復 趨勢後 6日째에 77.0로 再增加 傾向을 보였고, 1.0g 投與群은 60.0에서 2日째 98.0, 6日째 再增加 90.0로 나타나 抽出液投與量 增量에 따른 S-GPT 活性度の 增加率은 S-GOT와 마찬가지로 약간 더 높았다.

1.5g 投與群에서는 52.0에서 2日째에 最高

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

Animal Group	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.

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

Animal Group	Time after Treatment (days)	Control (unit)	Treatment with chloroform fraction of <i>Ranunculus</i> sp. (g/kg, b.w.)					
			0.5		1.0		1.5	
			M ± S E (unit)	Increase (%)*	M ± S E (unit)	Increase (%)*	M ± S E (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 untreated.

173.0 까지 增加되었다가 그後 徐徐히 回復 趨勢를 보인 후 6日째 104.0의 再增加 傾向을 나타내었다.

統計的 有意性에 있어서는 1.0 g 投與群은 2, 6日째, 1.5 g 投與群에서는 2, 3, 4, 6, 7日째가 認定되어 S-GPT 活性度の 意義있는 增加傾向을 보여 주었다.

Transaminase는 keto acid와 amino acid의 amino基(NH₂)轉移를 觸媒하는 酵素로서 그중 重要한 것은 Glutamic Oxalacetic Transaminase(GOT)와 Glutamic Pyruvic Transaminase(GPT)이며 GOT는 aspartic acid의 α-amino基를 α-ketoglutaric acid로 轉移시켜 各各 oxalacetic acid와 glutamic acid를 形成한다.

또한 GPT는 alanine의 α-amino基를 α-ketoglutaric acid로 轉移시켜 各各 pyruvic acid와 glutamic acid를 形成하는 데에 觸媒役割을 한다.

그리고 GPT는 肝細胞質內에 높은 濃度로 存在하는 特異酵素이며 GOT는 肝臟 心臟 骨格筋細胞의 Mitochondria內에 주로 存在하는 酵素이다(Svenson, 1977; Blood 등, 1979; Coles, 1980).

S-GOT 및 S-GPT는 肝損傷 時에 血中으로 遊離되어 增加하고 이 增加率이 肝細胞 破壞에 指標가 되고 있으므로 大體로 여기에 肝損傷範圍가 比例한다고 하였으며 S-GPT의 增加率이 S-GOT 보다 더 높은 現象을 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 肝硬變 및 溶血性黃疸 時와 心筋硬塞 및 筋肉疾病 등에서 나타난다고 報告되어 있다(Wroblewski와 La-Due, 1955; 1956; Kuttler와 Marble, 1958; Cornelius 등, 1959; 1960; 1963; a, b; Zimmerman 등, 1965; van Vleet와 Alberts, 1968).

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되므로써 血清內에 이들 酵素들이 多量 流出되는 것으로 思料되나, 四鹵化炭素라든지 Hexachlorethane 처럼 肝臟에 特異적으로 毒性을 發揮하는 物質보다는 S-GOT와 S-GPT의 增加 程度가 높지 않기 때문에 (例; 尹, 1968; 家兔 體重kg當 ccl₄ 0.1 ml 投與時 S-GOT 530 unit, S-GPT 364 unit 까지 上昇) 미나리아재비가 肝臟에 特異적인 毒性을 發揮하는 物質이라고는 생각되지 않는다.

그리고 S-GOT 및 S-GPT 活性도가 投與後 6 日째 再次 意義있게 增加하는 現象은 本 實驗과 關聯된 報告가 없어 比較할 수는 없으나 抽出液을 1 回 投與하여 惹起된 急性中毒으로 1~2 日째 顯著하게 增加되다가 生體의 再生機能에 依해서 一旦 回復 趨勢를 보인 후 生體內에 殘留하고 있던 諸要因에 依한 二次的 增加로 思料된다.

4. 血清 Alkaline Phosphatase 活性度

抽出液을 投與한 家兔의 血清 ALPase 活性度에 對해서는 大體적으로 1 日째부터 漸次的인 增加를 始作하여 5~6 日째 最高에 達하였고 그후 漸次的으로 回復 趨勢를 보였다.

Table 5 에서 보는바와 같이 對照群은 平均 活性度가 2.9 (BesseyLowry unit, 以下같은)이며 體重 kg當 0.5 g 投與群은 投與前 2.8에서 投與後 1 日째부터 漸次的으로 增加하여 6 日째는 6.7의 急激한 增加를 보인 후 7 日째는 곧 回復되는 趨勢를 보였고 1.0 g 投與群에서도 2.9에서 投與後 1 日째부터 마찬가지로 漸進的 增加後 6 日째에 7.0의 最高 增加率에 達하였다가 7 日째는 回復되는 傾向을 나타내었다.

1.5 g 投與群에 있어서의 그 增加가 顯著함을 나타냈는데, 投與前 2.7에서 1 日째 4.0, 2 日째 5.0,

Table 5. Influence of the chloroform fraction of Ranunculus sp. on the serum alkaline phosphatase activities in rabbit.

Animal Group	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	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 untreated.

3日째 5.8, 4日째 6.7로 漸進的 增加를 보이다가 5日째에 12.4의 急激한 增加로 最高에 達하였고 6日째 10.6, 7日째 7.1의 漸次 回復되는 傾向을 나타내었다.

統計的 有意性에 있어서는 抽出液 體重kg當 投與群은 6日째, 1.0g 投與群은 3,5,6,7日째, 1.5g 投與群에서는 3,4,5,6,7日째가 認定되어 S-ALPase는 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 등에 分布되어 있으며 細胞의 microsome 內에 存在하고 알카리성 pH(약9)에서 phosphate monoester의 加水分解에 關與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 診斷에 利用되고 있다(Harper, 1967).

Coles (1980)는 骨代謝性疾患, 肝膽汁系障礙, 轉移性癌, 溶血, 骨·腸管病變, 妊娠時 脾臟炎(Rogers, 1976), 藥物中毒時(朴 등, 1972) 등에 S-ALPase 活性도가 增加한다고 報告하였다.

植物中毒에 依해 S-ALPase 活性도가 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 壞死時 다른 要因이 介在되었는지는 앞으로 더욱 檢討하여야 할 課題로 思料된다.

5. LD₅₀

抽出液을 Mouse 와 Guinea Pig의 服腔內에 注射하여 얻은 LD₅₀ 算定은 Table 6 과 같다. Mouse에 있어서 全動物이 生存하는 量 2.5g/kg에서 全動物의 死亡하는 量 7.0g/kg까지 10 個群으로 나누어 計算하여 얻은 LD₅₀은 4.7g/kg, b.w. 이었다.

Guinea Pig는 全動物이 生存하는 量이 4.0g/kg 이었고, 全動物이 死亡하는 量은 5.5g/kg이며 LD₅₀은 4.65g/kg, b.w. 으로 計算되었다.

미나리아재비科 植物에 包含되어 있는 毒性物質에 關하여 Asahina와 Fujita (1922) 및 Kipping(1935)은 Anemonin의 前驅物質로서 毒性和 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 얻은 매움고 쓰며, 그리고 刺戟性이 있고 發痙性的인 노란 油性液劑가 Protoanemonin이라 하고 自然條件下에서의 乾草는 毒性이 減少된다고 하였으며 數種의 미나리아재비科 植物에 對한 成分濃度를 N₂OH로 滴定한 結果 5~6月이 가장 높은 濃度이며, HCN도 微量 檢出하여 이 植物들은 일종의 Cyanogenetic glycoside도 一部 包含되어 있다고 報告하였다.

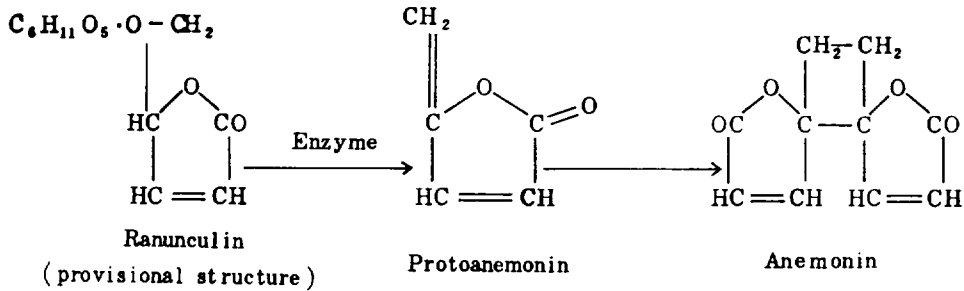
또한 Hill 과 van Heyningen (1951)에 依하면 미나리아재비科 植物汁에서 酸溶液에 매우 安定이 있

Table 6. LD₅₀ of chloroform fraction of Ranunculus sp. in mice and Guinea pig

Dose (g)											Total	LD ₅₀ (g/kg)	
	Animal	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5			7
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

는 發泡性配糖體의 前驅物質을 分離하였는데 이를 Ranunculin이라 命名하였으며, 이 glycoside에 酵素的作用이 加해지면 protoanemonin의 精을 얻을 수 있고 또한 이것을 重合하면 anemonin이라는 結晶體가 沈澱된다고 報告하였다.

그밖에 Lander (1926)는 ficaric acid 또는 Saponin과 비슷한 配糖體를 分離하였고 Kingsbury (1964)는 Alkaloid도 微量있다고 하는 등 미나리아재비科 植物에는 아직도 알려지지 못한 몇 개의 다른 成分이 있을 것으로 推定된다.



Cited from Asahina and Fujita (1922)

그러나 本 實驗에서 Protoanemonin을 純粹分離하여 供試하지는 못했고 新鮮한 미나리아재비 22g (乾燥한 것 11g)에서 抽出液 1g 比率의 粗製 Chloroform可溶性分劑을 얻어 LD₅₀을 算定하였기 때문에 그 毒性의 程度를 正確하게 알 수는 없으나 大體로 미나리아재비는 猛毒性 植物이라고 보기는 어렵고 단지 一時에 過量 또는 長期間을 계속하여 攝食하게 될 때는 中毒 및 致死에까지 이를 수 있다고 思料된다.

미나리아재비의 LD₅₀에 對하여는 柳 등 (1976)이 Mouse 1,586 ml/kg, b.w., Guinea Pig 1,345 ml/kg, b.w. 로 報告되어 本 實驗成績과는 差異를 나타내고 있으나 이는 毒性에 對한 差異라는 意味보다는 단지 試料의 選擇과 製造方法에 依한 差異라고 생각된다.

6. 病理解剖學 所見

抽出液을 家兔에 7.0g/kg, b.w.을 投與하여 斃死된 후에 解剖하여 얻은 肉眼的所見과 病變臟器에 對한 組織標本의 組織學的鏡檢 結果는 다음과 같다.

1) 肉眼的 所見

實驗動物의 臨床症狀으로는 下痢과 黑便, 그리고 痙攣을 觀察할 수 있었다.

解剖所見으로서, 肋膜은 乾燥하고 光澤이 없었고, 肺臟은 全體的으로 腫脹되었고 暗赤色을 나타내었으며, 硬固하였다.

肝臟은 邊緣이 둔하며 種大되었고 硬度는 조금軟하고 쉽게 부서지는 느낌이 있었으며 色은 暗黃色을 나타내었고 暗紫色의 얼룩斑點들이 있었다.

心臟은 心內膜의 充血을 認定할 수 있었다.

腎臟은 髓質에 充出血을 認定할 수 있었고 斷面은 膨出, 全體的으로 약간 腫脹되었다(圖板 2).

胃는 全體的으로 擴張되었으며 粘膜은 痙攣과 潰瘍이 形成되었고, 大腸部 및 胃盲囊部位에는 充出血이 있었다.

腸은 甚한 充出血이 小腸全體에 있었으며, 十二指腸粘膜에는 點狀出血이 廣範圍하게 나타났다(圖板 3).

2) 病理組織學的 所見

肺臟: 水腫

肝臟: 混濁腫脹, 空胞變性, 약간의 脂肪變性이 認

定되었다(圖板 4).

胃腸: 炎症 및 上皮壞死 等이었다.

家畜이 原因不明의 疾病으로 갑자기 斃死하게 되면 우선 中毒을 疑心하여 여러가지 檢査와 함께 解剖 觀察 및 病理組織의 所見을 綜合하여 診斷을 하게 되는데, 病理解剖 및 組織學의 所見은 中毒에 있어서 實質臟器內의 組織細胞에 對한 損傷을 確證하는 가장 좋은 診斷方法으로 알려져 있다.

특히 肝臟은 有毒物質의 解毒作用을 擔當하는 主要實質臟器로서 有毒物質을 投與하였을 때 反應이 가장 銳敏하게 나타나므로 肝實質의 器質的變性を 鏡檢하여 中毒의 影響을 究明할 수가 있다.

病理組織學의 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 脂肪變性を 일으켜 核은 不分明하고 原形質은 顆粒性으로 보이며 또한 胃·腸管粘膜炎에는 急性炎症이 誘發되는데, 非正常的 粘膜炎形成과 上皮의 脫落, 白血球의 浸潤 等を 觀察할 수 있다 하였고, 肺水腫이 併發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 充滿된다고 하였다(Dellman 과 Brown, 1976:

Thomson, 1978).

柳와 許(1978)에 依하면 미나리아재비科 植物에 中毒된 Guinea Pig, 家兔의 解剖所見은 肝·腎·脾臟과 胃·腸에 充出血이 있었고 病理組織學의 所見으로는 混濁腫脹, 空胞變性, 壞死 等이 認定되었다고 報告하였다.

本 實驗의 所見에 있어서도 미나리아재비 抽出液에 의한 炎症刺戟으로 胃·腸管粘膜炎의 充出血 炎症 및 壞死와 實質臟器(肝·肺·腎·心臟等)에 變性等 有毒物質中毒時 나타나는 典形的 中毒 現象과 비슷한 結果를 認定할 수 있었다.

以上の 實驗結果를 볼 때 미나리아재비는 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 有害植物이라고 생각된다.

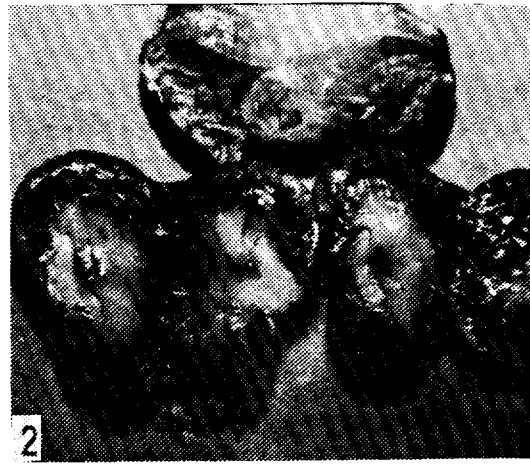
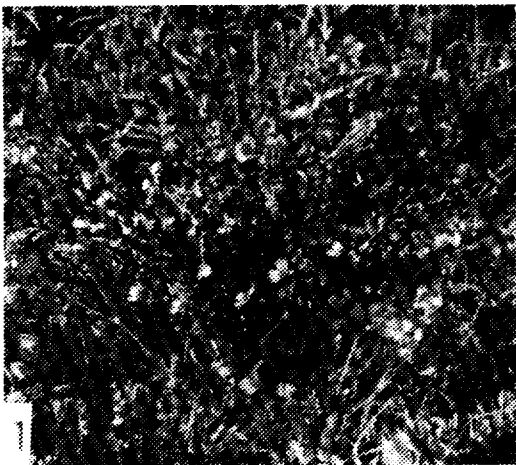
Legends for plates

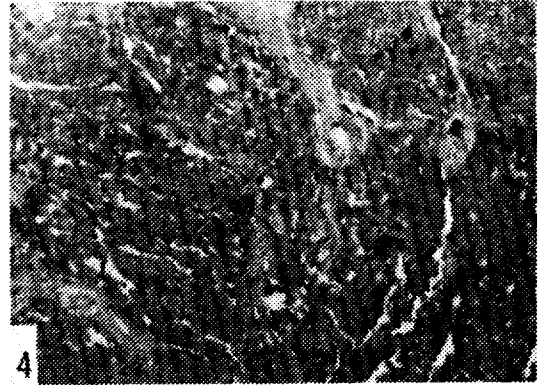
plate 1. Buttercup (*Ranunculus japonicus* Thunb.).

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)





摘 要

濟州道內 牧野에서 自生하는 미나리아재비科 植物의 家畜에 對한 毒性을 究明하기 爲한 基礎的 實驗으로서, 미나리아재비의 Chloroform可溶性 分劃을 抽出하여 이 抽出物에 依한 家兔의 血液學值, 그리고 血糖量, 血清Transaminase 및 Alkaline Phosphatase의 活性度에 미치는 影響 등을 測定 調査한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 미나리아재비 抽出物의 經口投與로 家兔의 自血球數는 增加하고 赤血球數와 Hematocrit值 및 Hemoglobin量은 減少하는 등의 有意한 血液學值의 變化를 보였으나 總血漿蛋白量은 變化가 없었다.

2. 血糖量은 抽出物 投與後 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 投與後 2日째에 그 增加程度가 最高에 達했다가 곧 回復되었고 다시 6日째에 二次的 增加趨勢를 보인 후 回復되는 傾向을 나타내었다.

4. 血清 Alkaline Phosphatase 活性度는 抽出物 投與後 1日째부터 漸次的인 增加를 始作하여 5~6日째 最高에 達했으며 그후 漸次 回復되는 傾向을 보였다.

5. 本 實驗에 供試된 미나리아재비 抽出物의 mouse 및 Guinea Pig에 對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 家兔에 經口的으로 一時에 投與한 結果 나타나는 病理解剖學的 所見으로서는 肝臟의 腫脹과 腎臟의 充出血, 그리고 胃·腸管粘膜炎의 潰瘍 및 甚한 充出血이 觀察되었다.

參 考 文 獻

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

Blood, D.C., J.A. Henderson and O.M. Radostits. 1979. Veterinary medicine. 5th ed., Bailliere Tindall, London, p.907.

Clarke, E.G.C. and M.L. Clarke. 1975. Veterinary toxicology. Bailliere Tindall, New York, pp. 351~354.

Coles, E.H. 1980. Veterinary Clinical Pathology. 3rd ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp.183~277.

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.

- Comelius, C.E., and J.J. Kaneko. 1960. Serum transaminase activities in cat with Mepatic Necrosis. *J.A.V.M.A.*, 137 (1);62~66.
- Cornelius, C.E., G.M. Douglas, R.R. Gronwall and R.A. Freedland. 1963. a. Comparative Studies on Plasma arginase and transaminases in hepatic necrosis. *Cornell Vet.*, 53:181 ~ 191.
- Cornelius, C.E., L.G. buttercup and H.E. Hill. 1963. b. Serum transaminase activities of thoroughbred horses in traing. *J.A.V.M. A.*, 142(6); 638 ~ 642.
- Dellmann, H.D. and E.M. Brown. 1976. Textbook of veterinary histology. Lea & Febiger, Philadelphia, pp.228 ~ 272.
- 韓弘粟, 李政吉, 李昌甫. 1982. 獸醫臨床病理. 機電研究社, 서울, pp.246 ~ 285.
- Harper, H.A. 1967. Review of Physiological Chemistry. 11th. Ed., p.155.
- Hill, R. and R. van Heyhingen. 1951. Ranunculin; The Precursor of the vesicant substance of the buttercup. *Biochemistry Journal*, 49:332 ~ 335.
- 池田 良雄. 1955. Behrens, Kaerber 法の致死量の定め方法, 藥品致死量集, p.220.
- James, L.F. and W. Binns. 1967. Blood changes associated with Locoweed Poisoning. *Am. J. Vet. Res.*, 28(125); 1107 ~ 1110.
- 金井泉. 1966. 臨床検査法提要. 第24版, Somogyi Nelson 法 VII-48, Reitman-Frankel 法變法 VII-79.
- 金五南, 李政澤, 金炯均, 康太淑, 金弘都, 金泳祐. 1975. 소의 고사리 中毒에 관한 實驗的 研究. *韓畜誌*, 17(5); 531 ~ 538.
- Kingsbury, J.M. 1964. Poisonous Plants of the U.S. and Canada. Prentice-Hall, Inc., Eaglewood Criffs, N.J., pp.140 ~ 145.
- Kipping, F.B. 1935. The structure of anemoin. *T. Chem. Soc.*, 1145. Kuttler, K.L. and D.W. Marble. 1958. Relationship of serum transaminase to naturally occurring and artificially induced white muscle disease in calves and lambs. *Am. J. Vet. Res.*, July; 632 ~ 636.
- 權海秉, 柳泰錫, 許麟洙, 梁日錫. 1976. Ranunculus sp. 에 慢性中毒된 家兔의 臨床症狀 및 血液像. *大韓獸醫師會誌*. 12(3):169~176.
- Lander, G.D. 1926. *Veterinary toxicology*. 2nd ed., Bailliere, Tindall & Cox, London, pp.175~191.
- Macpherson, A. and R.G. Hemingway. 1969. The relative merit of various blood analysis and liver function tests in giving an early diagnosis of chronic copper poisoning in sheep. *Br. Vet. F.*, 125:213~220.
- Nelson, N. 1944. A. Photometric adaption of the somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153:375~380.
- 朴貞仁, 李藝求, 洪權熹, 金陽順. 1972. Pentazocine 의 家兔血糖, 血清 transaminase 및 Alkaline Phosphatase 活性도에 對한 作用. *大韓藥理學雜誌*, 9(1); 47~51.
- Reitman, S. and S. Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic pyravic transaminases. *Am. J. Clin. Path.*, 28;56.
- 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.
- Schonutz, E.M. and L.B. Mamilton. 1979. Plants that poison. an illustrated guide for the American southwest. p.33.
- Shearer, G.D. 1938. Some observations on the poisonous properties of buttercups. *British Vet. J.*, 94;22~32.
- Swenson, M.J. 1977. *Duke's Physiology of domestic animals*. 9th ed., Cornell Univ.

- Press, New York. pp.357~366.
- Thomson, R.G. 1978. General veterinary pathology. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp.100 ~ 155.
- Van Vleet, J.F. and J.O. Alberts. 1968. Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxication and extrahepatic biliary duct obstruction in the dog. Am. J. Vet. Res., 29:2119.
- Wroblewski, 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.
- Wroblewski, F., 1956. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 91: 569~571.
- 梁奇千. 1976. 四氯化炭素의 毒性에 미치는 Chlorpromazine 및 Iproniazid의 影響. 大韓獸醫學會誌, 16(1); 59 ~ 64.
- 梁奇千. 1978. 濟州道の 有毒植物에 對한 調査研究. 大韓獸醫學會誌, 18(1); 39 ~ 50.
- 柳泰錫, 許麟洙, 金容煥. 1976. 植物性 農藥開發에 關한 研究. 3. Polygonum 및 Ranunculus species의 毒性試驗. 大韓獸醫師會誌, 12(1) : 11 ~ 14.
- 柳泰錫, 許麟洙. 1978. 미나리아재비과 식물 (Ranunculus sp.)에 中毒된 Guinea pig, 家兔의 病理組織學的 所見. 農業研究所報, 12:51~56.
- Zimmerman, H.J., Y. Koderá and M. West. 1965. Rate of increase in plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatotoxicity. J. Lab. Clin. Med. 66:315.