

## 蛔虫駆虫効果に於ける Santonin と Choloretica との関係に関する研究

### (1) 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid (Chinophenum) に依る Santonin と Bile の関係に関する研究

芹 田 馨

北海道大学医学部薬学科

(昭和34年11月28日受領)

著者は Santonin の駆虫作用における bile の作用機転を Choloretica を使用して検討したので、ここに報告する。

従来 Santonin の作用機序に関しては直接作用、間接作用の二説あり、直接作用説としては Kuchenmeister (1851), Falck (1852), Coppola (1885) 等は Santonin-Oleum Olivae による蛔虫生態の観察により虫筋興奮作用及び生存期間の短縮を報告、Straub (1906) は腸管状ガラス管を使用して Santonin が蛔虫毒なることを示し、森田(1931)も又 Santonin の駆虫作用は虫筋興奮作用に基づくものと言ひ、主として直接作用、他の一部は Santonin の体内変化物で再び腸内に分泌されたものが Santonin と同様な作用を有するもので、この作用は bile によつて完全になされると言ひ、直接作用、間接作用の両作用を肯定している。

Trendelenburg (1916) はその虫筋興奮作用は Santonin の Lactone 環に起因するものと主張した。

Oettingen (1916) も種々の Lactone 体を合成し一般に Lactone 化合物は虫体に抑制的に作用し、遂には死滅すると述べた。

他方、間接作用説としては Neuman (1883) は胃幽門部閉鎖の犬に Santonin を経口服用せしめた場合にも蛔虫の排虫作用が見られることを観察し、Lewin (1883) も肛門よりの Santonin がよく吸収され、一部は小腸に排泄されると認め Santonin 変化物質の蛔虫毒を推定、同様三浦 (1919) も坐薬を使用して確認、尾形(1919) 及び林 (1920) はアルカリにより赤色を呈する蛔虫毒が Santonin 服用後小腸内に排泄される事を認めた。

更に高亀・浅田 (1923, 1926)、守中・石川 (1926) 及び伊藤 (1932, 1933) は吸収された Santonin が肝臓で

変化を受けてアルカリ呈色物質となり bile 及尿中に排泄された事を認めた。

此の肝臓における生成に就いては千葉・西村 (1941) が究明、化学構造上に関して白根 (1939) が犬の bile 及び腸液に就いて検討せるも其の変化物質の抽出は不可能に終つた。

近年に至り峰下・村上・広瀬 (1949) は蛔虫の Santonin 趨向性に就いて又、小林・板東 (1951) は蛔虫に見られる特異な前進運動とこれに及ぼす Santonin の影響に就いて極めて興味のある報告をなし、又、X線によるこの分野の研究も多く Otto Fritz (1922) が蛔虫のレントゲン撮影像を報告して以来、人体内蛔虫の生態及び駆虫薬適用後の蛔虫の動態に関する X線学的研究がなされ、榎殿 (1955) は人体内では前述の小林・板東等の試験管内の運動と著しく異なる動態を示す正常前進型を観察報告し、Santonin 服用後病的運動から痙攣状態を生じ其の後、彼の言う第二静止型に移行し腸管の機能に左右されつつ下降態型を取るとし、Santonin、海人草並びにこれらの製剤が全く同一作用機序によつて虫体に作用することを明らかにし、X線学的立場から駆虫薬の作用機序を明らかにした。

斯くの如く Santonin の作用機序に関しては直接作用、間接作用等と諸説あるも bile が Santonin の作用機序に何らかの関係がある事実は以上の諸説の殆んどが認めている。

然し、それらの関係は未だ明らかでない。著者は其の解明の一方法とし Adlersberg の分類による一種の Choloretica である 2-Phenylquinolin-4-carboxylic acid (Chinophenum) を使用して二、三知見を得たので報告する。

*in vitro* では bile の存在下で蛔虫に Santonin を作用



せしめた場合、Santoninの単独に比し稀釈倍率を増しても痙攣作用が見られる。

尿への Santonin の影響物代謝は Mannus (1916), Kurauss (1916), Munk (1916) によつて報告されて居り、このものはアルカリ呈赤物質で蛔虫に対し痙攣作用を有し、伊藤 (1932, 1933) は利胆剤として胆汁酸製剤デコランと Santonin を複合投与した場合に例外なく尿中のアルカリ呈赤物質質量が増加し、bile 内排泄量も増加する事を家兔を使用して報告し卵陰転率にも影響の及ぶ事を述べている。

然し、胆汁酸製剤の複合投与による卵陰転率の検討は Santonin の作用機序に bile が大きな因子として影響することが考えられるので、単一なる利胆作用によるものとは考えられず、例えば Santonin と分子化合物の形成等其他因を生ずる可能性もあり Choloretica を使用して bile と Santonin の関係の究明としては、bile substance の含まれない Choloretica をもつて検討するの必要があり、その為著者は 2-Phenylquinolin 4-carboxylic acid (Chinophenum) を選択し Choloretica による Santonin と bile の関係を検討した。

#### 検討段階及び実験方法

##### A) 検討段階

実験段階として大別して Santonin と 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid (Chinophenum 以後便宜上 P.Q.C. とする) の複合投与によつて生ずる P.Q.C. の利胆作用以外の他因の検討、つまり P.Q.C. の蛔虫筋中に存在する dehydrogenase の作用阻止力、Santonin との addition compound 形成の有無、P.Q.C. のシマミミズ神経筋に対する影響に就いて実験を行った。

##### B) 実験方法

i) 先ず Santonin と Choloretica の関係の検索のために実験対象(小学生)を 3 group とし、更に夫々の group を Choloretica を含まない A 群と其の対象、即ち Choloretica を含む B 群に二分し、その排虫率及び卵陰転率を観察した。

検便法は直接塗抹 3 枚法を実施した。一般に虫卵はポアソン分布をなしていると言われ、直接塗抹法では見かけの陰性が予想され(小宮ら, 1954),  $m$  を 1 回の検便量(約 10 mg) 中にある虫卵数(平均値),  $n$  を検査回数とすれば見かけの陰性者の生ずる確率は  $e^{-nm}$  となる。 $n=1$ ,  $n=3$  の値は小宮の表によれば第 1 表の如く  $m=5$  以上は  $n=1$  で 99% 以上、 $n=3$  では  $m=2$  以上では殆んど見かけの陰性者は生じない事が言える。

Table 1 The rate of false negative case for ova by direct smear technic of fecal examination

m	n=1	n=3
0.1	0.9048	0.7408
0.5	0.6065	0.2208
1	0.3678	0.0497
2	0.1353	0.0024
3	0.0497	0.0000
5	0.0067	0.0000
6	0.0024	0.0000

(小宮ら, 1954)

ii) 先に後藤 (1950) 等は蛔虫が動物の腸内に寄生した場合、蛔虫自身の組織中に存在する dehydrogenase の作用によつて組織呼吸を営みながら生活して、この dehydrogenase の作用を抑制する事は蛔虫にとつては、その新陳代謝に一種の有毒作用を加えられる事となりこれが駆虫機序の一理由として、諸駆虫剤に就いて試験した結果を報告している。

著者は P.Q.C. の豚蛔虫筋中に存在する dehydrogenase の作用に及ぼす影響を Thunberg・Anlgren のメチレンブラウ法を利用して酵素学的究明を試みた。

頭部及び尾部の各 2~3 cm を切断した豚蛔虫を乳鉢中で摩りつぶし、これに pH 7.2 の Phosphate buffer を加えて 1 cc 中蛔虫筋が約 2 g 相当量を含む泥液とし、濾過後 0.5 cc をツンベルグ管に取り氷冷し乍ら 0.1% のメチレンブラウ液 0.5 cc を加え、更に pH 7.2 の Phosphate buffer で作った試料の 1% 液 1 cc を添加混合しながら真空ポンプにてツンベルグ管内の空気を抜いて、7 mmHg 程度にし、これを 38°C の恒温槽中に入れ、この時からメチレンブラウが脱色する迄に要する時間を測定した。

同時に試料の代りに Phosphate buffer 1 cc を入れたものに就いて対象実験を行った。

iii) Santonin と P.Q.C. との分子化合物形成の有無に就いての検討には熱分析法を使用した。

分析法としては野上・関口 (1955) によつて発表された方法に依つた。

thermal analysis を行うべき成分化合物を秤量し選択せる溶媒にて一度濃度とレミクロビューレットを用い、小エールンマイヤーコルベン中に種々の割合に配分した。

水溶上で溶媒溜去後、恒温乾燥し溶媒の痕跡を除き攪拌混和後、常法により湿潤点、熔融点を測定し状態図を作成した。

1 回の検便量は 50 mg ~ 200 mg を限度とした。

iv) 薬理的検索としては常法によりマグマス法をもつ



て実験した。

恒温槽の溶液は25°Cとし、著者の改良せるガラス管の Locke 改変溶液中にシマミミズ神経筋を懸垂、空気を吹き込みながら P.Q.C.-Locke 改変液を加えて其のカイモグラフの媒煙紙上の変化を観察した。

### 実験結果

#### 1) 寄生率

寄生虫による寄生は、東京都江戸川地区某小学校を対象とした結果では44.5% (604/1350)、学年別による寄生率は Table 2 の如き結果を示した。

又虫卵陽性者における寄生虫別寄生は *Ascaris lum-*

Table 2 Positive cases for parasite eggs

Class	Number of Children	Number of egg-carrier	Egg-carrier %
1-year class	275	140	54.5
2-year "	291	163	46.7
3-year "	209	71	34.0
4-year "	140	54	38.5
5-year "	213	106	49.7
6-year "	230	97	42.1
	1,350	604	44.5

Table 4 Anthelmintic efficiency of anthelmintic substance and anthelmintic Substance plus choleretica for primary school children

Group	Anthelmintic substance: Doses (g)				Rate of children negative for egg of <i>Alumbricoides</i> (%)
	Kainic acid	Macnin	P.Q.C.	Santonin	
Group I	A.	1.0		0.05	64.1 (43/67)
	B.	1.0	0.3	0.05	87.0 (54/62)
Group II	A.			0.05	27.0 (10/37)
	B.		0.3	0.05	34.4 (10/29)
Group III	A.	0.005		0.05	60.2 (44/73)
	B.	0.005	0.3	0.05	80.9 (68/84)

Table 5 Effects of anthelmintic on the decrease in number of *Asearis* eggs in feces

Groups before treatment with anthelmintic		Change in number of cases after treatment with anthelmintic				% the cases showing the decrease in number of eggs
Infection	No. of cases	(##)*	(+)	(+)	(-)	
Heavily infected	(##)* —	—	—	—	—	—
Moderately infected	(+) 6	—	0	2	4	100.0 (6/6)
Lightly infected	(+) 39	—	—	17	22	56.2 (22/39)

Groups before treatment with anthelmintic		Change in number of cases after treatment with anthelmintic				% the cases showing the decrease in number of eggs
Infection	No. of cases	(##)*	(+)	(+)	(-)	
Heavily infected	(##) 0	—	—	—	—	—
Moderately infected	(+) 5	—	0	1	4	100.0 (5/5)
Lightly infected	(+) 45	—	—	8	37	82.2 (37/45)

\* (##), (+), and (+) indicate the number of eggs found in a sheet of cover glass (18×18 mm), showing 1-10, 11-100, and more than 100 eggs per coverglass respectively.

*bricoides* 535例, *Trichocephalus trichiurus* 131例, *Enterobius vermicularis* 4例認められた。

更に性別による寄生虫寄生に関しては Table 3 に示めす様に有意の差は認められぬ。

#### 2) P.Q.C. 併用による駆虫効果の検討

Table 3 Positive cases for three kinds of parasite eggs

	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Trichocephalus trichiurus</i>	<i>Enterobius vermicularis</i>
Number of Children	280 ♂*/535	67 ♂/131	3 ♂/4

\* 虫卵陽性者総数(大数字)中に含まれる男性虫卵陽性者数

一般駆虫剤によるものと更にこのものに P.Q.C. を加えた場合との卵陰転率を比較した。

Group I において Macnin (1 g) Santonin (0.05 g) 服用の A 群の卵陰転率は 64.1% (43/67) を示し、それに比し B 群は A 群服用量に P.Q.C. (0.3) を加えたがその結果は 87.0% (54/62) と明らかに卵陰転率の上昇が見られ、同様に Group II の Santonin (0.05) 単独投与は



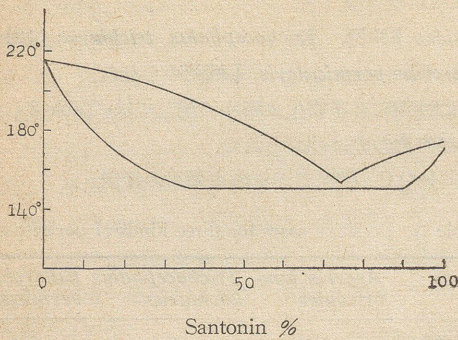


Fig. 1 Thermal analysis to test the formation of additional compound between Santonin and 2-phenylquinolin-4-carboxylic acid

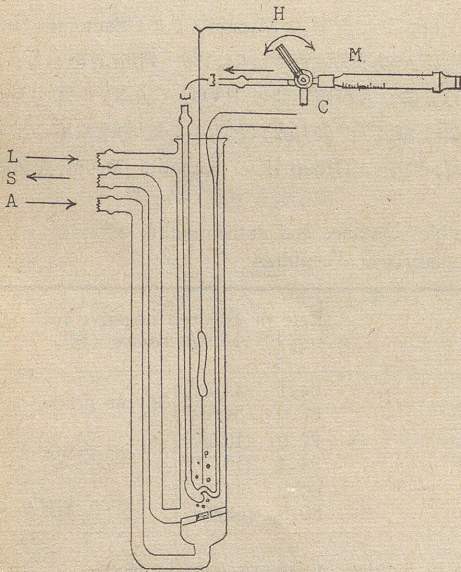


Fig. 2 New glass tube used for Magnus' method  
内径約3 cm, 長さ25 cm のガラス管に4本のガラス枝を付け, Lより Locke 改変液をガラス管の目盛迄加えAから空気をガラスフィルターを通して液中に吹き込み, ポンプMからコックを左に倒して薬液を必要量注加し, 後コックを右へ戻してポンプを引くと下の管CよりMに空気が入り再びコックを左へ倒して空気圧を加えつつ薬液をガラスフィルター上に徐々に押し出す. 従来ピペットを使用して上部より薬液を注加していたのと異り, ガラスフィルターを通して出て来る空気によつてガラス管内容液に均一に分散する. 反応後Sから吸引して内容を除去, 再びLより液を加えて洗浄する.

27.0%(10/37)なる卵陰転率を示したのに比し, Santonin (0.05)に P.Q.C (0.3) を加えた対象は34.4% (10/29) と, 更に Group III は K-acid (0.005), Santonin(0.05) が卵陰転率60.2% (44/73), これに P.Q.C. (0.3) を加えたものの卵陰転率は80.9% (68/84)とAとB間の全ての Group の実験例に就いて有意の差が認められた.

Table 5 は感染濃度の上から同様にA, B間に就て検討その虫卵減少率を観察した.

A群の服用せる薬物は Santonin 0.05 g Macnin 1.0 g B群はA群服用量に P.Q.C. 0.5 gを加えたものを服用せしめた(対象小学6年生).

実験結果はAの卵減少率は62.2% (28/45), Bの卵減少率は84.0% (42/50) とかなりの差が認められる.

3) P.Q.C. の豚蛔虫筋中の dehydrogenase 作用阻害力

前述の方法で1% P.Q.C.-Phosphate buffer と対象とのメチレンブラウの脱色時間を測定し Table 6を得た. Table 6の結果から P.Q.C. の豚蛔虫筋中の Dehydrogenase 作用阻害力は認められず酵素的にはこの物質は蛔虫毒とは認め難い.

Table 6 Effect of P.Q.C. on dehydrogenase activity of *A. lumbricoides* muscle

Decolorizing time of M. B.	
P.Q.C. control	7.5 m 7.5 m

4) 熱分析

Santonin と P.Q.C. の熱分析に依る状態図は Fig. 1 に示す様2本の相異なる熔融曲線, 1本の湿潤曲線及1個の共融点より成る.

この事は二成分間に分子化合物の形成が見られぬ事を意味し, Santonin と P.Q.C. の複合投与における蛔虫毒としての毒性の増強はこれら二成分の分子化合物形成によるものでない事を図示する.

5) P.Q.C. のシマミズ神経筋に対する作用

Fig. 2 に示す様な改良ガラス管を作成し, 前述の方法で P.Q.C. を加えシマミズ神経筋の運動をカイモグラフの媒煙紙上に画かした所 Fig. 3の如く抑制作用, 痙攣作用の何れも見られなかつた.

尚, 使用した P.Q.C. 溶液は Lock 改変液(小林・坂東 1951)に 100cc 中 100 mg の割合で P.Q.C. を溶解し, そのものを改良ガラス管に注加して  $10^{-3}$ ~ $10^{-5}$  倍間に就いて検した.



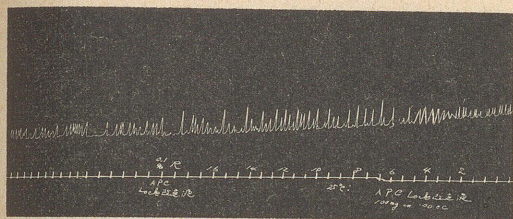


Fig. 3 Effect of P.Q.C. on the muscle-nerve preparation of the earthworm

Locke 改变液 50 cc 中に懸垂せるシマミズ神経筋に対して P.Q.C. を作用せしめた場合で、数值は 0.1% P.Q.C. Locke 改变液の注加量を示し R 点は 1,000 倍溶液に置換した点を示すが何れも変化は認められない。目盛は 30 sec を示す。温度 25°C

### 検 討

以上の実験結果から P.Q.C. と Santonin の複合投与に依る卵陰転率の上昇は明らかに bile substance の Santonin への影響に起因するものと推定され得る。

従来、この種の実験成績は一、二見られたがこれら他因子についての検討は殆んど見られず、前者の観察のみに終り後者に言及したものは殆んど無い。

しかも前述での言の如くこの点は極めて重要である。

実験結果 (1), (2) そして (3) を除く他の実験結果は他因子が卵陰転率の上昇に寄与していない事実の究明である。

一般に分子化合物を形成する事により、個々の有機薬品化合物が薬理的に好結果を得る様になる場合が非常に多い。

熱分析を使用した本実験では bile substance のみが Santonin の作用機序に関係している事実の証明として加えた P.Q.C. と Santonin との熱分析を行い、分子化合物の形成が見られぬ事をもつてこの分野での bile substance の Santonin への影響以外の他因子が存在しない事を熱分析の見地から検討判定した。

同様に其の目的からキモグラフを使用しての P.Q.C. のシマミズ神経筋に対する作用を観察したが其の結果からは P.Q.C. は蛔虫毒とはなり得ない事が推定された。

研究過程の推移に伴い駆虫薬の作用機序に関しての分野に X 線学的研究が登場し、各種駆虫剤の作用機序は解明に近づきつつある。

直接作用はその意味でも Santonin の作用機序の分野で極めて大きな因子である。

以上の実験及び考察から Choloretica 投与における卵

陰転率の増大は Choloretica に依る二次性産物の bile substance の界面活性作用、溶解補助作用等が大きな要因として予想され得る。

これらに関しては目下検討中である。

この問題点が解明される時は、従来の bile と Santonin の関係に関して最終的な決定となるであろう事は想像に難くない。

### 結 論

Choloretica 物質 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid (Chinophenum) を使用して Santonin と bile との関係に就いて実験を行い次の様な結果を得た。

1. 臨床実験は小学生を対象として行つた。各 group A は駆虫剤単独服用、B は駆虫剤に Choloretica を加えて比較した。この実験から虫卵陰転率は Group I は A は 64.1% (43/67), B 88.4% (54/62), Group II は同様に 27% (10/37) : 34.4% (10/29), Group III は 60.2% (44/73) : 80.9% (68/84) と、又虫卵減少率は A は 62.2% (28/45), B は 84.0% (42/50) と各群において Choloretica を含むものと含まないもの間に有意の差が認められた。

2. Thunberg Anlgren のメチレンブラウ法を利用して豚蛔虫筋中に存在する dehydrogenase の作用に対する 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid の抑制作用の有無を検したが其の作用は無く蛔虫毒とは認められなかつた。

3. thermal analysis によつて Santonin と 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid との addition compound 形成の有無を検したが状態図は addition compound は出来ない事を示した。

4. マグヌス法を利用したのシマミズ神経筋に対する影響は抑制作用、興奮作用共に認められなかつた。

5. 2, 3, 4 の結果から 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid と Santonin の複合投与における卵陰転率の増大は Santonin の蛔虫駆虫効果への bile の作用であつて Choloretica に依るものでない。

本研究の一部は薬劑学 (1959. 3) に実験ノートとして、又一部は第 6 回北日本寄生虫学会に於て発表した。

稿を終るに臨み御校閲の労を賜つた当教室、林平三郎教授に深謝し、又御指導を賜つた東京大学薬学部野上寿教授、当教室関口慶二助教授及び本研究に御援助下さつた桜田ヤエ氏井戸初美氏の各位に対し感謝申し上げる。



## 文 献

- 1) 板東丈夫(1951) : 諸種駆虫薬の作用機序に就ての実験的研究, 東京医学, 59, (1), 39-54.
- 2) Clemo, G. R., Cocker, W. & Hornby, S. (1946): The Constitution of Santonin. Part. IV. J. Chem. Soc., July. 616.
- 3) 後藤正(1950) : 蛔虫筋の組織呼吸に及ぼす諸種薬物の影響, 第4回薬理学会近畿部会講演.
- 4) 伊藤慎一(1932, 1933) : サントニン其他二・三駆虫剤の蛔虫に及ぼす作用, 慶応医学, 12, 125-151, サントニン蛔虫駆除作用増進法の研究, 慶応医学, 13, 73-90.
- 5) Karr, W. *et al.* (1935) : Incubation studies of human small intestine (IV). J. Clin. Invest., 14, 893-900.
- 6) 加藤清雄(1928) : サントニンの駆虫作用研究, 消化器病学, XXVII, (1), 3103.
- 7) 笠原剛(1956) : ヘノボジ油の蛔虫作用の実験的研究, 日薬理誌, 52, 633-677.
- 8) 小林芳人・板東丈夫(1951) : 蛔虫に見られる特異な前進運動とこれに及ぼすSantoninの影響に就て, 東京医学, 59, 1, 55-61.
- 9) 小宮義孝ら(1954, 1956) : 直接塗抹標本に於ける蛔虫・鉤虫卵検出率と駆虫剤効果検査に於ける見かけの陰転 (1), (2), (3), 寄生虫誌, 3(3), 216-219, 3(4), 260-264, 5(1), 73-77.
- 10) Lamson, P. D. & Brown, H. W. (1936) : Method of testing the anthelmintic properties of ascaricides. Amer. J. Hyg. XXIII 85.
- 11) 横殿順(1955) : X線による新法, 蛔虫駆除の理論と実際, 医学書院.
- 12) 万波忠三郎(1952) : Cychohexylchlororesoroinolのガン線虫 (*Spinicauda japonica* Wilkie) 殺滅効力に及ぼす界面活性剤の影響, 日薬理誌, 48, (4), 159-171.
- 13) 万波忠三郎(1952) : Alkylresorcinols の配合に関する研究, 日薬理誌, 48, (4), 172-184.
- 14) 峰下鉄雄・村上靖・広瀬勝己(1950) : Santoninの蛔虫に対する作用機序に就て, 日薬理誌, 45, (4), 149-153.
- 15) 門多魁(1954) : 蛔虫の無菌飼育に就いて, 寄生虫学雑誌, 6, (5), 401.
- 16) 野上寿・関口慶二(1955) : 熱分析の簡易化, 薬学雑誌, 75, (4), 471-473.
- 17) 岡田周子(1959) : 蛔虫駆虫効果判定に関する基礎的研究(3), 寄生虫誌, 8(4), 633-636.
- 18) 白根彰(1939) : サントニンの研究 殊にヒノール系化合物に就て, 東京医学会, 53, 718-772.
- 19) 関根正雄(1939) : 蛔虫腸上皮細胞の微細構造, 特に Mitochondria 及 Golgi 装置に就いて, 慶応医学, 19(3), 345-358.
- 20) 高亀良樹・浅田順一(1923) : 蛔幼虫及成虫に対するサントニンの駆虫作用の本態に対する実験的研究, 病理学, XIII. 355-374.
- 21) Van Grembergen, G., Van Demme, R. & Bercruysse, R. (1949) : Lemétabolisme respiratoire du nématode, *Ascaris lumbricoides*. Enzymologia, B, 325-342.
- 22) 安羅岡一男(1957) : 鉤仔・成虫を用いての鉤虫駆虫剤の効果判定に関する 実験的研究, 寄生虫誌, 6(5), 401-413.

STUDIES ON THE RELATION BETWEEN CHOLERETICA AND  
SANTONIN IN ANTHELMINTIC EFFECT ON ASCARIS

KAORU SERIDA

*(Faculty of Pharmacy, School of Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan)*

To shed further light on the mechanism of anthelmintic action of Santonin against *Ascaris lumbricoides*, somewhat different type of clinical and laboratory experiments were performed using 2-phenylquinoline-4-carboxylic acid (P.Q.C.), as a kind of choleric.

1) Two groups of schoolchildren were chosen randomly, one of which was administered with only anthelmintic and other, with anthelmintics plus P.Q.C.. After administration the ratios negative for ascaris ova were recorded respectively. Statistical analysis made on these data resulted in the significant difference between these two ratios obtained from both groups.

2) There was no inhibitory effect of P.Q.C. on dehydrogenase activity of ascaris muscle by the use of Thumberg method of methylene blue decolorization time.

3) Thermal analysis was conducted to elucidate the formation of additional compound between Santonin and P.Q.C.. No formation of such a compound was detected.

4) Neither inhibitory nor stimulative effects of P.Q.C. on the muscle-nerve preparation of the earthworm (*Eisenia* sp.) were observed.

5) From abovementioned results significant difference observed in clinical experiment is not due to choleric but to correlation between bile and Santonin used.