

蛔虫駆虫効果における Santonin と Choloretica との関係に関する研究

(2) Santonin と Choloretica の二成分系熱分析

芹 田 馨

北海道大学医学部薬学科

(昭和36年11月27日受領)

前報(1960)に引続き Choloretica を使用して santonin の駆虫効果と bile の関係について熱分析法による検討を試みた。

著者に前報において Choloretica 物質 2-phenylquinoline-4-carboxylic acid (chinophenum) と santonin の複合投与における卵陰転率とこれに使用した 2-phenylquinoline-4-carboxylic acid の蛔虫毒性について述べた、

そしてこれらの実験によつて santonin と Choloretica を複合投与した場合 Choloretica の二次性物質 bile が santonin の作用機序に関与して卵陰転率を上昇せしめる事実を 2-phenylquinoline-4-carboxylic acid の対蛔虫毒性、つまり dehydrogenase 作用阻止力, molecular compound 形成の不可および Magnus 法による対蛔虫毒性の無いことの確認等で明らかにした。

先にも触れたが、この種の報文は少く、伊藤(1933)がデコラン製剤を使用し卵陰転率を検討しているが、化学的变化に関しては考慮に入れてない。

santonin の作用機序における bile の立場はきわめてこの化学的考察が重要な意義を持つていることは先の著者の報告(1959, 1960)からも推定し得る。

この稿では主として Choloretica と santonin の化学的变化(分子結合)による薬理的効果への影響の検討の一段階として Choloretica と santonin 間の interaction に関して thermal analysis を使用して、その解明を試みた。

Choloretica 投与による卵陰転率の上昇は前報での種々の検討から bile の分泌量増大に基づき santonin の対蛔虫作用への関与に外ならない。

この際の作用形式の形式として santonin と bile

acid の分子化合物形成で考えられ、卵陰率上昇の一因子となり得る場合が予想される事を報告した(1959, 1960)。

蛔虫の薬物吸収およびそれに伴う組織変化についての報告は多く、伊藤(1932)は santonin を投与した動物の胆汁(santonin-bile)を作用せしめた豚蛔虫、および santonin 駆虫により排泄された人蛔虫の筋細胞における組織学的変化を認め、マクニン、チモール、クロホルムによつても類似の変化を確認せることを報告している。

分子化合物を形成することにより薬理的に良好な結果を得る場合が多い。

中村・柳沢・横川・前島(1950)は野上らの生成せる hexylresorcinol と urotropine (1:1), urea (1:2), succimidel (1:1), benzquinone (1:1) の各分子化合物を用いこれに就て薬理的検討を行い、好結果を得たことを報告し、著者(1960)もまた santonin 効果の増強因子としての分子化合物について検討を試み報告した。

分子間の interaction の関係についての検討方法としては Braude & Nachod (1955) の赤外吸収による分折法、屈折率による Arshid & Giles (1952, 1955, 1956) 等の検討方法、長倉(1957)の紫外外部吸収スペクトル法 Chretien & Laurent (1953), Think (1948) 等の透電恒数測定法等があるが、この実験では前述のごとく thermal analysis を使用して対象薬物間の interaction について検討を試みた。

santonin の作用機序説として間接作用説を採るものの一人、森田(1931)は、直接・間接の両作用を認めているが、腸内分泌にみられる生体内の santonin の対蛔虫有毒変化物の生成は bile によつて完全になされるといふも推定の域を出ておらない。

本研究の一部は北海道科学研究補助金の助成により行なわれたことを記して、謝意を表する。

この問題に関して著者は *santonin* の mechanism への影響因子としての *bile* は界面活性作用, *solubilizing agent* としての作用, そして *santonin* との分子結合による薬理的变化が主なるものと推定し実験中である. *bile acid* が界面活性作用を有することは一般に知られており *bile* の *santonin* 効果への影響として界面活性作用による相乗作用と *santonin* の溶解度を高めるといふ溶解補助剤と被溶解物との関係が推測される.

santonin (S) と *bile* 対質 (B) との間に complex 形成の可能性があり得るとすれば S と B 間には, $S+B \rightleftharpoons SB$ なる関係があり B が溶化質である S の *solubilizing agent* たりうる可能性が存在し得る.

若しこの間の関係が解明できれば *santonin* の mechanism は榎殿 (1953~5) の X線による検討と相まつて, より明らかとなるであろう.

それらの目的の解明のために *Choleretica* の 1 種である *bile acid* についても本文で *santonin* と関係の検討を行った.

実験方法

試薬: *santonin*, *salicylic acid*, *benzoic acid*, *menthol*, *2-phenylquinoline-4-carboxylic acid*, は日本薬局方用品を再結晶して使用した.

また *dehydrocholic acid*, *cholic acid*, *glycocholic acid*, *desoxycholic acid* は市販の特級試薬, そして *urso-desoxycholic acid* は東京田辺製薬株式会社, β -*(8-fluoranthoyl) propionic acid* は大日本製薬株式会社の好意により入手した.

以上のいずれも使用直前充分乾燥し無水状態として使用に供した.

熱分析法: 1) 方法 A: *santonin* および *Choleretica* を種々の重量比に直示天秤で秤量し, メノー乳鉢にて充分に混和後常法により熱分析測定を行った.

また, 成分が熔融で熱分解する場合は 2 成分系混合物を毛管につめそのまま, 湿潤点 (T. P) 融点 (M. P) の測定を行った.

しかし, この方法では生成成分化合物の両成分の結合が弱く状態図が包晶型となる場合, ときに準安定の共晶線が真の共晶線包晶線より低い温度で出現する場合は認められておる.

2) 方法 B: 関口 (1961) によつて発表された方法によつたがこの方法は毛管中に入れた 2 成分試料を枝付き融点測定管内で一旦熔融し固化したる検体に付き常法により熱分析測定を行う方法で, ツボ中の熔融に比し昇華面積がきわめて小さい故に昇華揮散による成分混合比の容量変化が無視できる等きわめて便利な点が多い.

結晶化の困難は試料は冷却せず T. P. 付近まで加温し温冷却液体の粘性を低下せしめ分子拡散を容易とし結晶化を促進する.

以上の A, B 両法のいずれかを使用して, 各系の 0 分析を行い満走すべき状態図を作成し検討の対象とした.

実験結果および考按

Table 1~2, Fig. 1~11 に thermal analysis による実験の結果を示す.

Choleretica I-santonin 2 成分系熱分析: 本実験に供した *Choleretica* は *bile acid* を除く一般 *Choleretica* 5 種で, *salicylic acid*, β -*(8-fluoranthoyl) propionic acid*, *benzoic acid*, *menthol*, *2-phenylquinoline-4-carboxylic acid* である.

本 2 成分系で分子化合物を形成する可態性を有するものは熔融曲線の形状からみて (Fig. 3), *benzoic acid-santonin* 2 成分系で推定 mol 比は 1:2, 1:3 mol である.

ある種の分子化合物は, その解離度が大きであると熔融

Table 1. Results of thermal analysis of *santonin*

<i>choleretica I</i>	Compd. formation	Mol. ratio (<i>santonin/Ch.</i>)	E.P. or P.P.	Method
<i>salicylic acid</i>	—		109.5	A, B
β - <i>(8-fluoranthoyl) propionic acid</i>	—	{ 1 : 2 1 : 3	150.5	A
<i>benzoic acid</i>	+		102	102
<i>menthol</i>	—			A
<i>2-phenylquinoline-4-carboxylic acid</i> *	—		152.5	A, B

* Serita: Jap. Jour. Parasit., 9, 167 (1960)

E. P. = eutectic point P. P. = peritectic point Ch. = *choleretica*

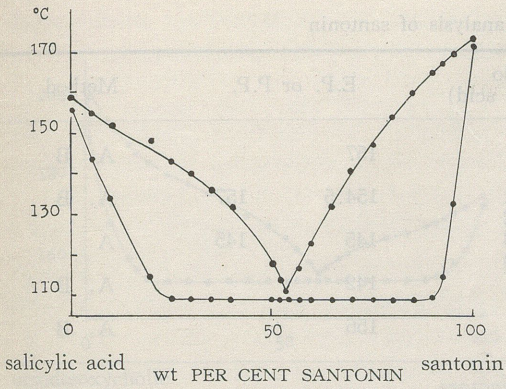


Fig. 1. A section of salicylic acid-santonin system

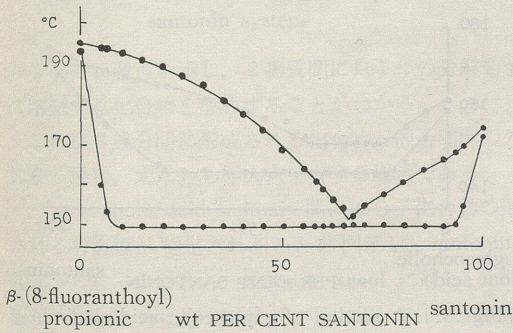


Fig. 2. A section of β -(8-fluoranthoyl) propionic acid-santonin system

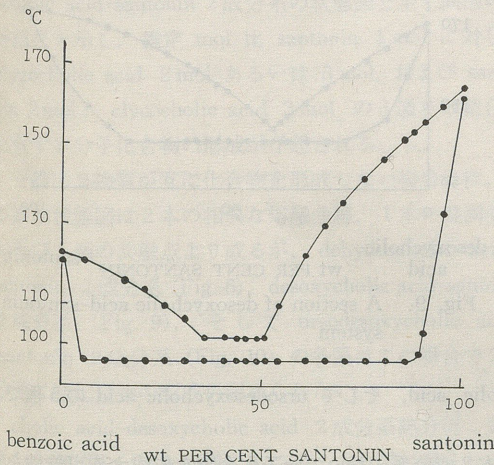


Fig. 3. A section of benzoic acid-santonin system

曲線の山は平になつて、2つの共融点を結んだ1本の直線のような状態図を图示するが、benzoic acid-santonin 2成分系 (Fig. 3) はこの場合である。

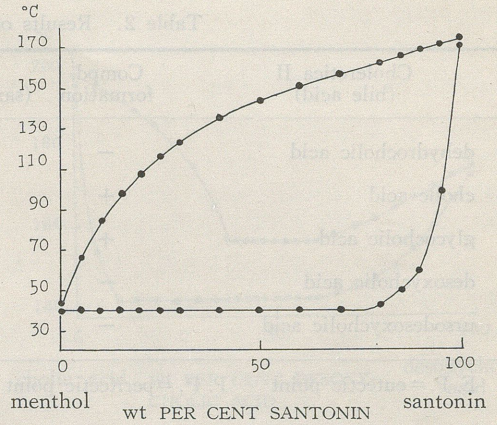


Fig. 4. A section of menthol-santonin system

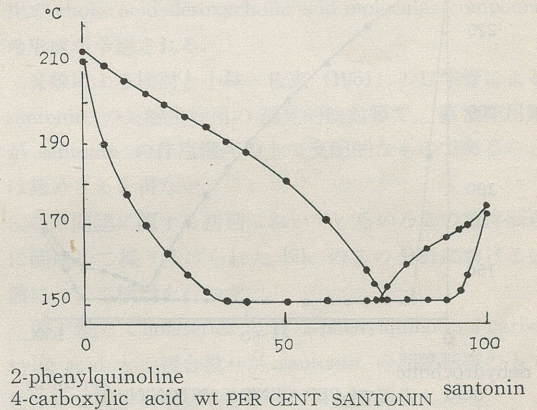


Fig. 5. A section of 2-phenyl quinoline-4-carboxylic-santonin system

また salicylic acid-santonin 2成分系 (Fig. 1), β -(8-fluoranthoyl)-propionic acid-santonin 2成分系 (Fig. 2), そして 2-Phenylquinoline-4-carboxylic acid-santonin 2成分系 (Fig. 5) は、0 ずれも 2本の相異なる熔融曲線、1本の湿潤曲線および1個の共融点からなる状態図を图示し、これら各2成分間には分子化合物の形成が認められぬことを意味する。

また menthol-santonin 2成分系は1本の熔融曲線および1本の湿潤曲線よりなる状態図 (Fig. 4) を測定値より得た。

このことは成分間に分子化合物形成の可能性の存在しないことを图示する。

Choleretica, II-santonin 2成分系熱分析: bile acid が優れた Choleretica であることは一般に知られてい

Table 2. Results of thermal analysis of santonin

Choleretica II (bile acid)	Compd. formation	Mol. ratio (santonin/bile acid)	E.P. or P.P.	Method	
dehydrocholic acid	—		157	A, B	
cholic acid	+	4 : 1	154.5	157	A, B
glycocholic acid	+	$\begin{cases} 1 : 2 \\ 1 : 3 \\ 2 : 3 \end{cases}$	145	145	A
desoxycholic acid	—		142		A, B
ursodesoxycholic acid	—		156		A, B

E. P. = eutectic point P. P. = peritectic point

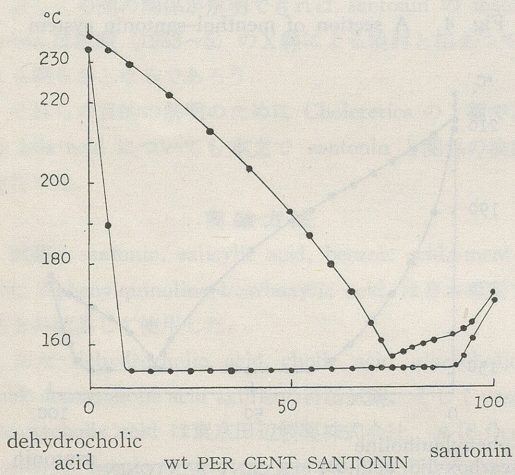


Fig. 6. A section of dehydrocholic acid-santonin system

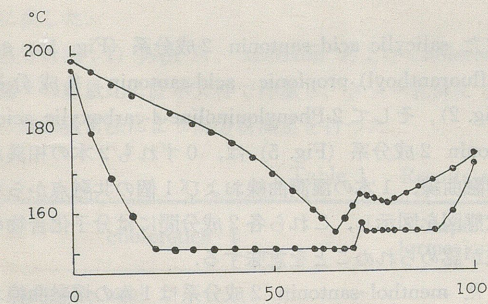


Fig. 7. A section of cholic acid-santonin system

る。

本実験に供した Choleretica II (bile acid) は dehydrocholic acid, cholic acid, glycocholic acid, desoxy-

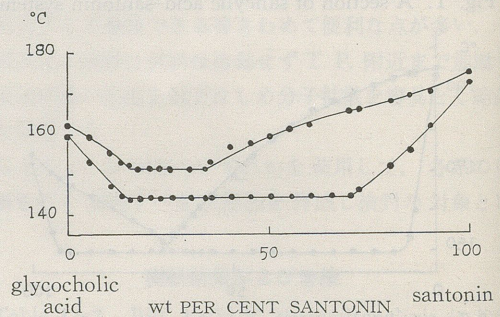


Fig. 8. A section of glycocholic acid-santonin system

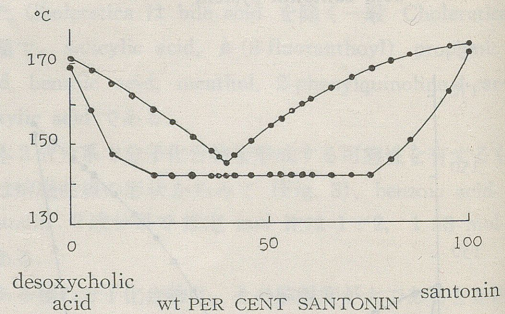


Fig. 9. A section of desoxycholic acid-santonin system

cholic acid, 及び ursodesoxycholic acid の 5 種である。

本 2 成分系において分子化合物を形成する可能性を有するものは、cholic acid-santonin 2 成分系と Glycocholic acid-santonin 2 成分系で各々その状態図から推定できる。

これによれば cholic acid-santonin 2 成分系の状態図は 3 本の相異なる熔融曲線、2 本の異なる湿潤曲線および

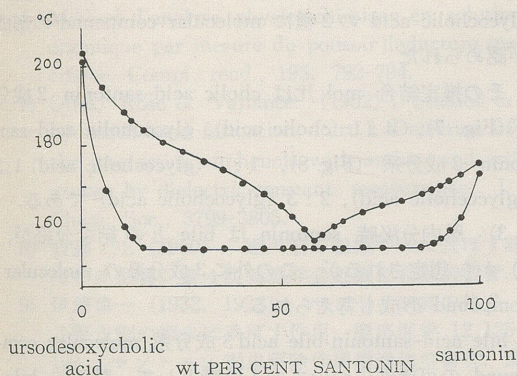


Fig. 10. A section of ursodesoxycholic acid-santonin system

び2個の共融点を示し、2物質間に只1つの分解せずして熔融する化合物を形成することがわかる。

これは2成分間に形成される化合物が混合間隙の外側に在る場合、すなわち極大点を有する場合である。

つまり cholic acid-santonin 間には分子化合物の形成される可能性が推定されることを図示し、santonin % 70.6 の点、すなわち santonin 4 mol に対し cholic acid 1 mol の推定 mol 比で cholic acid-santonin compound の形成が推定される。

glycocholic acid-santonin 2成分系の状態図は benzoic acid-santonin 2成分系の状態図と全く同様の分析結果を示し、推定 mol 比 santonin 1 mol に対して glycocholic acid 2 mol あるいは 3 mol、および santonin 2 mol : glycocholic acid 3 mol の3通りの結合比を有する分子化合物の形成が予想される。

一般に2物質が互に化合物を形成しない場合には、その系の状態図は2本の相異なる熔融曲線、1本の湿潤曲線および1個の共融点より成るが、dehydrocholic acid-santonin 2成分系 (Fig. 6)、desoxycholic acid-santonin 2成分系 (Fig. 9)、そして ursodesoxycholic acid-santonin 2成分系 (Fig. 10) の各系はこの場合で2成分間には化合物の形成が認められない。

cholic acid-desoxycholic acid 2成分系熱分析: Fig. 3および Fig. 8と同様に、この2成分間に得られる分子化合物 (Fig. 11) は解離度が大きであるために溶融曲線の山は図示するごとく湿潤曲線にはほぼ平行な2つの共融点を結んだ平らな直線となる状態図を示めている。

これによれば cholic acid% 46.7 の点、すなわち cholic acid 1 mol : desoxycholic acid 1 mol の推定 mol

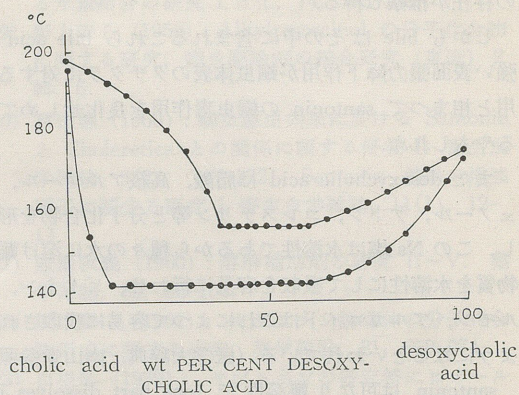


Fig. 11. A section of cholic acid-desoxycholic acid system

比で cholic acid-desoxycholic acid molecular compound の形成が予想される。

X線による検討と小林・板東 (1951) のU字管による santonin の対蛔虫作用の視覚的検討等で、直接作用説が santonin の作用機序の上で支配的なものであることは認めざるを得ない。

この問題に関する初期においていろいろこの機序問題に関連して採り上げられた bile のこの分野における位置について検討を行った。

第1報で Choloretica 物質 2-phenylquinolin-4-carboxylic acid との複合投与が santonin の卵陰転率の上できわめて興味ある結果を示したことを報告した。

その結果、前述に示すごとく bile 分泌量が相当大きな影響因子であることを知り、santonin 投与の場合に choloretica と複合投与することが決して無意味でないことを認めた。

薬理的効果を期得する1方法に分子化合物の形成があり、前述のごとく2・3報文がみられる。

著者もまたこれらの見地から Choloretica と santonin の分子化合物生成について熱分析的検討を試み、Fig. 1~Fig. 16なる結果を得、benzoic acid, cholic acid と glycocholic acid の各々に santonin と分子化合物形成が予想されることを認めた。

またこの事実は benzoic acid を除く他の2物質において、つまり cholic acid と glycocholic acid の santonin に対する付加結合能は、吸収された santonin が bile とともに腸内に分泌される時、これら2物質と santonin 間には分子化合物の形成が起り、それにより santonin がより強力な蛔虫毒作用を発現せしめ得る可能性

の存在が推察し得る。

しかも bile はその中に含まれるこれら bile acid の強い表面張力降下作用が蛔虫体表のクチクラに対する作用と相まって santonin の蛔虫毒作用を良化せしめているやもしれぬ。

また desoxycholic acid は脂酸, 高級アルコール, フェノール, ケトン, コレステリン等と分子化合物を形成し, この Na 塩は水溶性であるから種々の水に溶け難い物質を水溶性にして吸収を容易に行わせ, ビタミン, ホルモン, アルカロイドはこれによつて容易に吸収されるようになるといわれている (医学大辞典, 南山堂参照)。

santonin は可なり難溶性で (one part dissolves in 5,000 parts of cold water), bile のこの溶解度への影響はきわめて興味深い。

また bile は santonin との共存において bile acid-santonin-bile acid の3成分系, 或はグリチンおよびタウリンを中間体とした glycine or taurin-santonin-cholic acid or desoxycholic acid らの3成分系が人胆汁の場合考えられ, 試みに cholic acid-desoxycholic acid 2成分系について検討, Fig. 11 を得た。

これらに関しては目下いろいろ検討中であり次に報告する。

結 論

santonin 効果の増強因子として分子化合物生成を目的とし Cholera 及び santonin の thermal analysis による実験を行い, molecular compound 形成の有無を検討した,

同時にこれにより Cholera の1種であるところの bile acid と santonin の腸内分泌時の因果関係を究明することと目的とした。

1) Cholera I 群 (bile acid を除く一般 Cholera), すなわち salicylic acid, β -(8-fluoranthoyl) propionic acid, benzoic acid, menthol, 2-phenylquinolin-4-carboxylic acid の5種と santonin 間の熱分析測定を行つた結果から, santonin と addition compound を形成したものは benzoic acid-santonin 2成分系 (Fig. 3) で, 推定 mol 比, 1:2 (benzoic acid), 1:3 (benzoic acid) である。

2) Cholera II 群, すなわち1連の bile acid である dehydrocholic acid, cholic acid, glycocholic acid, desoxycholic acid, ursodesoxycholic acid の5種についても同様に santonin との molecular compound 形成の検討, および腸内分泌時の bile と santonin の関係に

ついて熱分析測定による検討を行い, cholic acid と glycocholic acid の2種に molecular compound の形成が認められた

その推定結合 mol 比は cholic acid-santonin 2成分系 (Fig. 7), 4:1 (cholic acid), glycocholic acid-santonin 2成分系 (Fig. 8), 1:1 (glycocholic acid) 1:3 (glycocholic acid), 2:3 (glycocholic acid) である。

3) 腸内分泌時 santonin は bile との結合分泌が, 2) から想定されるが, この外に3成分系の molecular compound 形成も考えられる。

bile acid-santonin-bile acid 3成分系 molecular compound の可能性についての1段階として, 試みに bile 中の bile acid 間の関係を cholic acid-desoxycholic acid 2成分系について熱分析測定を行い Fig. 11 を得た。

これにより推定結合 mol 比 1:1 の molecular compound の形成が状態図から認められた。

3成分系の結合に関しては検討中である。

終を稿るに臨み, 御指導を賜つた東京大学薬学部野上寿教授, 北海道大学医学部林平三郎教授, 同関口慶二助教授に衷心より深謝致しますと共に, 一部薬品の提供を受けた大日本製薬, 東京田辺製薬に対し謝意を表す。

本文の要旨の一部は昭和34年7月第6回日本寄生虫学会北日本支部会, 昭和35年4月第29回寄生虫学会に於て発表した。

文 献

- 1) Arshid, Giles & Rose (1955): Studies in Hydrogen-bond formation. Part II. The use of refractive index measurements to detect intermolecular complex formation in solution., J. Chem. Soc. 67-79.
- 2) Arshid, Giles, Jain & Hassan (1959): Part III., J. Chem. Soc. 1956, 72-75. Part IV. J. Chem. Soc. 1956, 559-569, Part V., J. Chem. Soc., 1272-1277.
- 3) Bruce, Giles & Jain (1958): Studies in hydrogen-bond formation. Part VII. J. Chem. Soc., 1610-1613.
- 4) Briedled & Kambeits (1934): 透電恒数測定による分子間の interaction に関する研究. Z. Physik. Chem. B 25, 251-257.
- 5) Brucke, Sarkander & Fronz (1940): Untersuchungen am Bluteger uber den Angriffspunkt des Santonins und anderer muskelregender Stoffe. Arch. f. Exp. u. Pharm., 195, 79-88,

- 6) Chretien & Laurent (1932) : Chimie generale-Method d'analyse physico-chimique en solution organique par mesure du pousoir [inducture specifique. Compt. rend., 195, 792-794.
- 7) Giles, Rose & Vallance. (1952) : Studies in hydrogen-bond formation. Part I. Detection of the interaction of phenols with amino- and azo-groups by dielectric-constant measurement. J. Chem. Soc., 3799-3805.
- 8) 後藤 正 (1950) : 蛔虫筋の組織呼吸に及ぼす諸薬物の影響. 第4回薬理学会近畿部会講演要旨.
- 9) 伊藤慎一 (1932, 1933) : サントニン其の他 2, 3 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.
- 10) 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.
- 11) 森下 薫 (1950) : 蛔虫及蛔虫症. 永井書店.
- 12) 森下 薫ら (1950) : 蛔虫治療剤の効力に関する研究 (第5報). 薬学研究, 22(10), 402-413.
- 13) 森下 薫 (1951) : サントニン. 日本新薬学術部.
- 14) 槇殿順・岩崎旺太郎・豊島啓 (1953) : 蛔虫症のレ線学的考察. 広島医学, 9, 296-299.
- 15) 槇殿順 (1954, 1955) : 蛔虫の生態と駆除に就いて. 広島医学, 7, 59-63., 蛔虫駆除の理論と実際線による新法. 医学書院.
- 16) 森田林次 (1931) : サントニンの薬理的知見補遺. 朝鮮医学雑誌, 21(9), 15-44.
- 17) 中村悦郎・柳沢浩気・横川次男・前島毅 (1950) : Hexylresorcinol (H.R) 分子化合物の薬理的研究. 第2回日本薬理学会関東部会要旨.
- 18) 長倉三郎 (1957) : 近紫外部吸収スペクトルによる水素結合の研究 I. 日化, 74, 153-158.
- 19) 野上寿ら (1950) : Alkylresorcinol の分子化合物に関する研究, 蛔虫駆除剤の総合研究 (東斑) 2 輯, 6.
- 20) 芹田馨 (1960) : 蛔虫駆虫効果に於ける Santonin と Choloretica との関係に関する研究 I. 寄生虫学雑誌, 9(2), 167-172. Santonin 効果の増強因子に関する研究 I. 寄生虫学雑誌, 11(1), 12-13.
- 21) 鮫島政義 (1960) : 溶解補助剤の研究 II~V. 薬学雑誌, 80, 86-101.
- 22) 関口慶二 (1961) : キサンチン誘導体の分子化合物形成に関する研究. 薬学雑誌, 81, 669-674.
- 23) 白根彰 (1939) : サントニンの研究特にヒノール系化合物に就て. 東京医学, 53, 717-772.
- 24) 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.
- 25) 田辺恒義 (1951) : 駆虫剤に関する研究. 北海道医誌, 19, 2248-2265.
- 26) Trink (1948) : Chime physique-Étude systematique des réactions des phénols et des amines en solutions organiques parmesure du pousoir inducture specifique. Note (1) de M. Nguyen Quang Trink. Compt. rend., 223-405.
- 27) Trim (1949) : The kinetics of the penetration of some representative anthelmintics and related compounds into *Ascaris lumbricoides* var. suis. Parasitology, 39, 281-290.
- 28) Walter, J. Moore (1960) : Solutions and Phase Equilibria, Physical Chemistry, 3rd edition. 116-159, Maruzen Asian Edition.

STUDIES ON THE RELATION BETWEEN CHOLERETICA AND
SANTONIN IN ITS ANTHELMINTIC EFFECT ON ASCARIS
II. THERMAL ANALYSIS OF SANTONIN-CHOLERETICA SYSTEM

KAORU SERITA

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

In the previous report (1960) the author had found the fact that simultaneous administration of santonin and 2-phenylquinoline-4-carboxylic acid as a sort of cholera, was more active against human ascaris infection and that bile acid secondarily secreted would play an important role in the mechanism by which the ascaricidal activity of santonin was accelerated. In the present paper, the second in a series, thermal analysis are undertaken on santonin—cholera systems, especially on santonin—bile acid systems to elucidate the role of bile acid when secreted into the intestinal lumen from the bile duct. The results obtained were summarized as follows:

1) After thermal analysis of the following mixture systems, santonin—salicylic acid, — β -(8-fluoranthoyl) propionic acid, —menthol, —2-phenylquinoline-4-carboxylic acid, and—benzoic acid, the formation of molecular compound with 1:2 of molecular ratio and with 1:3 occurred in the last mixture system.

2) Thermal analysis were also conducted in the following santonin—bile acids systems, santonin—cholic acid, —glycocholic acid, —dehydrocholic acid, —desoxycholic acid and—ursocholic acid system. The occurrence of molecular compounds was observed in the first two mixture systems at a molecular ratio, of 1:4 (cholic acid) and of 1:2, 1:3 and 2:3 (glycocholic acid) respectively.

3) Possibility of secretion of santonin in the combined form with bile acid into the intestinal lumen and of the molecular compound formation in the bile acid—santonin—bile acid system will be assumed. The thermal analysis of cholic acid—desoxycholic acid system was carried out for trial and the presence of molecular compound with a molecular ratio of 1:1 was shown by inspection of the phase diagram obtained. This point will have to be clarified by further work.