

豚回虫に対するキスカル酸(使君子有効成分)の *in vitro* 試験, カイニン酸, アロカイニン酸, Pyrantel pamoate との比較について

石 崎 達 加 藤 桂 子 熊 田 三 由

国立予防衛生研究所寄生虫部

竹 本 常 松 中 島 正

高 木 信 也 小 池 一 弘

東北大学薬学部生物薬品化学教室

(昭和48年3月28日受領)

まえがき

板東, 石崎 (1952 a, b) は Locke 液を充たした硝子管内 (腸管の太さをもつ) で豚回虫の運動を観察して特有の蛇行性前進をみとめ正規前進運動と命名し, その適温が32°Cであることを明らかにした. 板東, 小林 (1951) はこの運動がサントニン (5000倍液) により消失し, ひきつづき頭部中枢神経関与の興奮作用により筋の痙攣をおこし体の前半にわらび型, 後半に糸球状の体位を呈することを証明した (豚回虫の硝子管内観察法は薬物の回虫に対する効果を *in vitro* で観察するのに便利である).

村上, 竹本らはさきに海人草からその有効成分としてカイニン酸及びその異性体 α -アロカイニン酸 (1953, 1954, 1955a, b, c) を結晶の形で抽出し構造決定をした (1955d, 1956). 前者は既に長い間サントニンとの合剤として使用されている. その後竹本らは更に使君子の有効成分キスカル酸 (Quisqualic acid) を抽出し構造を決定した (1972).

私達は上記3種の薬剤の結晶を材料にして上記硝子管法で豚回虫に対する *in vitro* 駆虫効果をキスカル酸を中心に観察したのでここに報告する. なお新駆虫薬 Pyrantel pamoate の効果も同様に検討した.

実験材料および実験方法

1. 薬剤

使君子は漢方駆虫薬の一つで, シクンシ科シクンシ *Quisqualis vilosa*, Clarke (牧野1944, 図鑑による) の果実である. 約3cmの5稜長楕円形の殻内に形, 香味ともに落花生に似た実がある.

石崎 (1954) が第2次世界大戦中に軍医として従軍中, 所属部隊の兵員に投薬した経験では表1のように4個生食で40%内外の排虫確認率と「シャックリ」その他の副作用をみとめた. Lanson and Charlotte (1932), 頼 (1935), 南条 (1941), 木谷 (1948) からもその駆虫効果をみとめている. 副作用の「シャックリ」に関しては緒 (1934), 肅 (1939) の文献に記載され, 殻の煎汁がこれを抑制するとのべている.

竹本らは最近上記使君子の実から新しいアミノ酸を結晶として分離し, キスカル酸 (Quisqualic acid) と名付けた. キスカル酸は図1の構造を有し, 分子量189.13, 融点188°Cの酸性アミノ酸である. 白色結晶で水に1%の割合に溶解し酸味がある. 酸またはアルカリ添加でよく溶ける. ただし, 有機溶媒には不溶である.

本研究に比較検討のため使用したカイニン酸, α -アロカイニン酸および新しい駆虫薬 Pyrantel pamoate は図2に示す構造と分子量をもっている.

2. 回虫とその実験条件

屠場で豚の腸管から採取した豚回虫 (*Ascaris suum*) を0.9%生食水に入れ, 魔法瓶に保温して持ち帰り当日32°C保温下に大型シャーレ内でその運動状態を観察し, 中等大で活発な雌雄成虫を選び実験対象とした.

表 2 生薬有効成分の回虫に対する *in vitro* 試験

薬 劑	稀 積 率	虫 数	頭 部 模 索 運 動 消 失	正 規 前 進 運 動 消 失			S 字 運 動	部 分 運 動	異 常 体 型 (コ イ ル 卷 き)	一 時 静 止
				完 全	一 時 的	24 時 間 後				
キ ス カ ル 酸	対 照	8	0	0	0	0	2	0	0	0
	250	4	0	3	1	4	0	4	4	4
	500	8	0	5	2	7	3	8	8	6
	1000	8	0	2	3	2	2	3	3	0
	2000	4	0	0	0	0	1	1	2	0
カ イ ニ ン 酸	対 照	8	0	0	0	0	1	0	0	0
	500	4	0	4	0	4	2	4	1	3
	1000	8	0	6	2	6	3	5	3	3
	2000	4	0	0	3	2	1	2	1	1
	4000	4	0	2	2	2	2	3	1	0
ア ロ カ イ ニ ン 酸	8000	4	0	0	2	0	1	0	1	0
	16000	4	0	0	0	0	0	0	0	0
ア ロ カ イ ニ ン 酸	対 照	8	0	0	0	0	2	0	0	0
	500	4	0	3	1	3	2	4	1	3
	1000	8	0	6	2	6	5	6	4	2
	2000	4	0	2	2	4	2	4	2	1
	4000	4	0	1	3	2	2	1	1	0
ア ロ カ イ ニ ン 酸	8000	4	0	0	1	0	2	0	1	0
	16000	4	0	0	0	2	0	0	0	0

実 験 成 績

1. 回虫の各種運動による解析

1) キスカル酸の効果と有効濃度

250倍ないし16,000倍度の範囲で検討したキスカル酸の豚回虫に対する効果を集計したのが表2の上段である。

5時間の観察の間に回虫の各種運動は表のように消長している。頭部模索運動はキスカル酸の各濃度溶液で保持され、対照群(0.9% NaCl)と比較して変らなかつた。

正規前進運動は250倍液ではほとんど全部停止し、1,000倍液では8匹中5匹に停止がみられ、5時間目にはその1部ないし半数がこの運動を回復した。しかし24時間後の観察で250倍液、500倍液ではほとんど全部が正規前進運動を消失している。2,000倍液以上で正規運動は消失しなかつた。

S字運動は濃度が濃い方に多く出現し、コイル巻きを主とする異常体位は250倍および500倍液で全例にみとめ

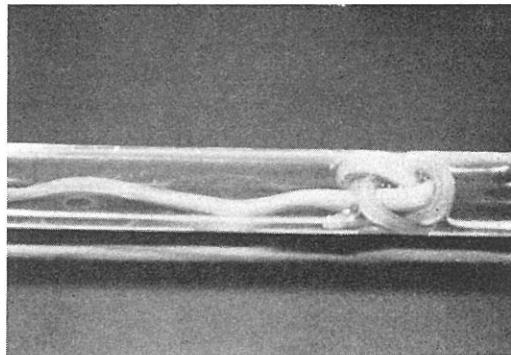


写真 1 キスカル酸による回虫の異常体型

られた。5時間の後半でこれらの溶液では全例に一時静止がみられ、24時間後は刺激に反応するので生存を証明する程度となつた。

これらの所見を総合して、キスカル酸は1,000倍液で効果が証明され、500倍以下の稀積で確認されたといえる。異常体型はサントニンの場合に似ているが、糸巻きのみすび方は強力ではない(写真1)。

2) カイニン酸、 α -アロカイニン酸の有効濃度

表2の中段と下段に示したようにカイニン酸、 α -アロカイニン酸溶液中での豚回虫はすべての濃度で頭部模索運動は消失せず、正規前進運動を指標とする効果判定では両者とも4,000倍液で効果が証明され、2,000倍以下の稀積で確認された。ただし異常体型はコイル巻きだけが1部に認められ、しかも稀積倍率が低くても増加せず、サントニンの場合の体型に似ていなかった。

24時間後の正規前進運動は4,000倍以下の稀積度ではほとんど全例消失していた。しかし部分運動ないし刺激反応性で全部の生存がみとめられた。

カイニン酸と α -アロカイニン酸の間に効果の差異は明瞭でない。

2. 正規前進運動消失・回復時間

正規前進運動の消失、回復時間をキスカル酸、カイニン酸および α -アロカイニン酸の各種溶液で比較したのが表3である。

3種溶液共に確実有効濃度では豚回虫投入後5分以内にほとんど全例が正規前進運動を消失した。回復はそのうちの一部で、主として5時間観察の後半にみられた。

しかし効果の限界濃度(キスカル酸1,000倍、カイニン酸と α -アロカイニン酸4,000倍液)では一般に正規前進運動の停止が遅延した。とくにこの現象はカイニン酸、 α -アロカイニン酸に明瞭である。ただし、この場合は稀

表 3 豚回虫個体別正規前進運動消失・回復時間 (分)

	キスカル酸									カイニン酸						アロカイニン酸					
	250×			500×			1000×			1000×			4000×			1000×			4000×		
	消 失	回 復	24 時	消 失	回 復	24 時	消 失	回 復	24 時	消 失	回 復	24 時	消 失	回 復	24 時	消 失	回 復	24 時	消 失	回 復	24 時
♂	5	180	-	5	-	-	10	+	+	5	-	-	10	-	-	5	-	-	10	120	±
♂	5	-	-	5	180	±	10	+	+	5	90	+	90	210	±	5	240	+	90	240	±
♂				5	-	-	10	40	+	5	-	-				5	-	-			
♂				5	180	-	10	-	-	5	-	-				5	-	-			
♀	5	-	-	60	150	-	40	60	+	5	60	-	10	-	-	5	-	-	10	-	-
♀	5	-	-	5	-	-	10	+	+	5	-	+	90	240	±	5	120	±	90	120	-
♀				5	-	-	10	60	±	5	-	-				5	-	-			
♀				5	-	-	10	-	-	5	-	-				5	-	-			

数字は時間(分)を表わす。正規前進運動あるときは(+)または(±)、消失したときは(-)とした。

表 4 Pyrantel pamoate の豚回虫に対する *in vitro* 試験

希 虫 積 数	頭部模索運動 消 失 時 間 数 \bar{x}	正規前進運動 消 失 時 間 数 \bar{x}	静 止 時 間 数 \bar{x}	静 止 体 型			頭 部 変 性														
				ネ ジ レ	古 針 金 状	伸 展	融 解	透 明	白 斑	時 間 \bar{x}											
対 照	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000×	4	4	即時	4	即時	4	即時	4	0	4	2	2	4	3°							
2000×	4	4	即時	4	即時	4	即時	4	0	4	2	2	4	3°							
10 ⁴	4	4	6'	4	< 5'	4	< 20'	4	4	0	1	3	4	3°							
10 ⁵	4	4	7'	4	8'	4	< 40'	4	4	0	0	3	4	3°30'							
10 ⁶	4	4	24'	4	18'	4	1°30'	4	4	0	0	1	1	3°~24°							

註：静止すると間もなく刺激反応性消失 (→死亡)

積倍率が異なる。

3種溶液の同一濃度(1,000倍液)の比較では明らかにキスカル酸の効果が他の2者に劣ることが明らかにされた。

3. Pyrantel pamoate の効果

新広域駆虫薬 Pyrantel pamoate (石崎ら1972)は少量の内服で回虫に対しては100%の駆虫効果をもっている。その作用は Aubry *et al.* (1970)および板東 (1972)によれば10万倍液でも著明にあらわれ虫体は持続的に緊張度を増加し、正規前進運動を停止し虫体がねじれてくる。その作用は Santonin に類似するが頭部神経節を除去しても変らない。また時間の経過と共に体壁蛋白質の変性を示すという。

豚回虫に対する作用を硝子管内法で観察すると表4のように1,000倍および2,000倍液では頭部模索運動および正規前進運動は投入直後に停止し、部分運動も間もなく

停止する。そのまま伸展して静止し刺激反応性が消失するので死亡するものと思われる。1時間前後で虫体の頭端と尾端近くに白斑ができ、3時間後には頭端部の透明、融解が起つてくる。

1万倍液以上の稀釈では各種運動停止は即時的ではなく表4のように時間がかかり、静止体型は古い針金の折れ曲つた状態に似ていた。10万倍までの濃度では全例が3時間前後で頭端部の白斑、透明、融解化をおこす。

100万倍液でも頭部模索運動は平均24分で消失、正規前進運動は平均18分で消失、1時間半で全例古針金状に静止し、一部に白斑透明化がみられた。

Pyrantel pamoate の薬理作用はキスカル酸などの生薬と全く異なり、殺虫性である。

考 按

キスカル酸はカイニン酸および α -アロカイニン酸と同様に植物から抽出した酸性アミノ酸である。臨床成績

(石崎1954)のシャックリ、吐気、頭痛、腹痛、下痢軟便の副作用からみて、キスカル酸は人に対しては神経系刺激作用がある。また排出した虫体はほとんど生きていた。したがってキスカル酸の作用は致死的ではなく運動失調(正規前進運動の消失)の結果によるものと思われる。

本論文の豚回虫を使つた硝子管利用の *in vitro* 試験成績をみると、キスカル酸の作用はサントニンの場合と異り頭部模索運動が消失せず、確實有効濃度が500倍液でサントニンにみる明確な糸球型痙攣体型を示さない。

しかしカイニン酸、 α -アロカイニン酸が正規前進運動停止作用を4,000倍液で示したにかかわらず、サントニン型の体型を示さないのに比べてキスカル酸はやや糸球型に似た体型を示すことは確實である。

臨床成績でみとめたようにキスカル酸は硝子管内法でも回虫を殺さないことが証明された。そして正規前進運動は時間の経過と共に恢復する傾向を示した。これが有する意味はわからない。

有効濃度がカイニン酸、 α -アロカイニン酸が4,000倍に対し、キスカル酸が1,000倍であることから、キスカル酸の効力はカイニン酸より劣ると考えられる。

全く作用機転を異にすると思われるPyrantel pamoateの作用は殺虫的で短時間に虫体の融解がおこり、100万倍液でもその作用がみとめられた。

総括と結論

使君子有効成分のキスカル酸結晶を使用し、豚回虫に対する効果を検討するため、屠場で採取した豚回虫を薬液を充たした硝子管内に投入し、その各種運動の変化を5時間にわたり時間的追求をして作用方法と有効濃度を検討した。

キスカル酸の効果は1,000倍液でみとめられ500倍で確認された。その特徴は正規前進運動の停止と体の後半部のコイル巻きまたは糸球体型で、頭部模索運動は消失しなかつた。24時間後の観察でも回虫は生存し殺虫効果はない。

カイニン酸、 α -アロカイニン酸の有効濃度は4,000倍で2,000倍でそれが確實になる。その特徴は正規前進運動の停止で、頭部模索運動は消失せず、異状体型もコイル巻きだけでキスカル酸と異なる。

Pyrantel pamoate の効果は殺虫性で100万倍でもなお効果のみとめた。

結論としてキスカル酸の作用は殺虫性でなく、その作

用機転はこの実験では不明であるが回虫の運動失調を起させる。カイニン酸、 α -アロカイニン酸も同様の機序を示した。前者の効力は後2者にやや劣る。Pyrantel pamoate の作用は殺虫性であつた。

本論文の要旨は昭和46年10月、第31回日本寄生虫学会東日本大会及び昭和47年4月、第41回日本寄生虫学会総会に発表した。

文 献

- 1) Aubry, M. L., Davey M. J. & Shorde, S. (1970): Br. J. Pharmacol., **38**, 332-344.
- 2) 板東丈夫・小林芳人(1951): 回虫に見られる特異な前進運動とこれに及ぼす Santonin の影響について, 東京医学会雑誌, **59**(1), 55-61.
- 3) 板東丈夫・石崎 達(1952a): 回虫の前進運動に関する吟味, 特に運動周期及び速度に就ての統計的観察, 東京医学会雑誌, **60**(2), 130-137.
- 4) 板東丈夫・石崎 達(1952b): 回虫の前進運動に及ぼす温度の影響, 東京医学会雑誌, **60**(2), 187-195.
- 5) 板東丈夫(1972): Pyrantel の回虫に対する作用とその作用機序, 未発表.
- 6) 緒 民宜(1934): 中国薬学大辞典.
- 7) 石崎 達(1954): 回虫症の臨床的研究(3), 各種駆虫薬の臨床的研究, 寄生虫学雑誌, **3**(2), 165-172.
- 8) 石崎 達・横川宗雄・吉村裕之・内田昭夫・小林昭夫・久津見晴彦・鈴木了司(1972): 二重盲検法による Pyrantel pamoate と Piperazine phosphate の回虫に対する駆虫効果の比較, 医学のあゆみ, **83**(2), 106-114.
- 9) 木谷威男(1948): 回虫駆除, 治療, **30**(1), 35-41.
- 10) Lamson, P. D. & Ward, C. B. (1932): The chemotherapy of Helminth Infestations, J. Parasitol., **18**, 173-199.
- 11) 牧野富太郎(1944): 日本植物誌, 383.
- 12) 村上信三・竹本常松・清水然昌(1953): 海人草有効成分の研究(第1報) 液体クロマトグラフィーに依る有効フラクションの分離, 薬学雑誌, **73**, 1026-1028.
- 13) 村上信三・竹本常松・鄭(清水)然昌・醍醐皓二(1954): ジゲニン酸をカイニン酸と改称することについて, 薬学雑誌, **74**, 558-560.
- 14) 村上信三・竹本常松・鄭然昌・醍醐皓二(1955a): 海人草有効成分の研究(第8報) カイニン酸の構造に就いて, その1, 薬学雑誌, **75**, 866-869.
- 15) 村上信三・竹本常松・鄭然昌・醍醐皓二(1955b): 海人草有効成分の研究(第9報) カイニン酸の構造について, その2, 薬学雑誌, **75**, 869-873.
- 16) 村上信三・竹本常松・鄭然昌・醍醐皓二・高木

- 信也(1955c) : 海人草有効成分の研究(第10報), α -アロカイニン酸について, 薬学雑誌, **75**, 1252-1255.
- 17) 村上信三・竹本常松・鄭然昌・醍醐皓二(1955d) : 海人草有効成分の研究(第11報), α -アロカイニン酸の構造について, 薬学雑誌, **75**, 1255-1257.
- 18) 南条輝己男(1941) : 漢葉使君子による回虫駆除, 軍医団雑誌, 340, 1344-1346.
- 19) 頼 尚和(1935) : 漢葉使君子の回虫駆除に関する実験治療学的観察, 台湾医学会雑誌, **34**, 1628-1638.
- 20) 肅 方丹(1939) : 嶺南采葉録.
- 21) 竹本常松・鄭然昌・醍醐 皓二(1956) : 海人草有効成分の研究(第12報), カイニン酸並びに α -アロカイニン酸の立体構造, 薬学雑誌, **76**, 298-300.
- 22) 竹本常松・高木信也・中島 正・在原重信・小池一弘(1972) : 使君子の成分, キスカル酸の構造, 第16回天然有機化合物討論会講演要旨集, 256-263.

Abstract

EFFECT OF QUISQUALIC ACID UPON *ASCARIS SUUM* IN VITRO IN COMPARISON WITH THOSE OF KAINIC ACID, α -ALLOKAINIC ACID AND PYRANTEL PAMOATE

Tatsushi ISHIZAKI, Keiko KATO and Mitsuyoshi KUMADA

(Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo 141, Japan)

Tsunematsu TAKEMOTO, Tadashi NAKAJIMA, Nobuya TAKAGI

and Kazuhiko KOIKE

(Pharmaceutical Institute, Tohoku University, Aobayama, Sendai 980, Japan)

The effect of Quisqualic acid (Amino acid from the nuts of *Quisqualis vilosa*) upon *Ascaris suum* in glass tubes (25 mm in diameter, 50 cm in length) was investigated by checking changes of movement and action of the worm which were observed for five hours. The effect was also compared with that of Kainic acid as well as α -Allokainic acid by same method. Same investigation was carried out on Pyrantel pamoate.

Quisqualic acid was effective at 1:1,000 w/v and markedly effective at 1:500 w/v, while those of Kainic acid and α -Allokainic acid were effective at 1:4,000 w/v and markedly effective at 1:2,000 w/v solutions.

Pyrantel pamoate was effective at 1: million w/v and prompt stop of moving at 1:10,000 w/v, and its effect was strong wormicidal and proteolytic.

The effects of three drugs above mentioned were almost similar each other concerning of ceasing normal locomotion and wormicidal activity (none).