

# 横川吸虫に対するカマラ (*Mallotus philippinensis*) の有効成分に関する研究 (I)

横川 宗雄 佐野 基人<sup>1</sup>  
荒木 国興<sup>1</sup> 時田 賢

千葉大学医学部寄生虫学教室

庄司 順三 近藤 紀子

昭和大学薬学部生薬学教室

(昭和52年2月4日 受領)

## はじめに

横川吸虫の駆虫には、四塩化エチレン、ペフェニウム塩 (Alcopar)、カマラ、ピチオノール、ニコロスマミド (Yomesan)、など種々の薬剤が試みられているが、これらのうちでは、カマラが比較的效果がすぐれているといわれている (浅田ら, 1952; 横川ら, 1962)。

しかし、このカマラにしてもその駆虫効果は必ずしも一定せず、或る場合にはすぐれた駆虫効果を示すが、時には殆ど効果のみられないことがあり、その投与量と駆虫効果の間には必ずしも相関がみられないという (清水ら, 1969; 横川ら, 1973)。そこで、横川吸虫に対するカマラの作用機転を解明する目的で、先づカマラの主成分といわれている rottlerin およびその他の抽出物の横川吸虫に対する効果をハムスターを用いて検討した。

## 実験方法および材料

### I. 実験動物および効果判定:

駆虫試験には体重100g 前後のゴールデンハムスターを用いた。

感染に用いた横川吸虫のメタセルカリアは茨城県霞ヶ浦産シラウオから人工消化法で分離して得たものである。すなわち、予め加温した人工胃液 (塩酸7 ml, ペプシン2 g, 水1000ml) を、魚重量の3~4倍量加え、ミキサー (家庭用, 強) で3~4分処理後、更に人工胃液

を2~3倍加え、37°C 3~4時間放置し、沈渣よりメタセルカリアを集めた (横川・佐野, 1968)。

ハムスターには1匹当たり、200ケ宛の上記のメタセルカリアを経口的に投与し、約3週後に検便し、横川吸虫の感染を確認した上で駆虫試験に用いた。

投薬方法はハムスターの口を鉗子で大きく開かせ、所定の用量の粉末を直接口腔内に投入し、完全に嚥下されるのを確認した。投与期間は1日1回2日間とし、1回投与量は50mg/kg あるいは100mg/kg とした。

駆虫効果の判定は治癒率のほか、検出虫体数および寄生虫体数減少率を参考とした。すなわち、最終投薬日から3~4日後に剖検し、小腸内容およびその粘膜を実体顕微鏡下で精査し、寄生虫体の有無を調べた。その結果から、治癒率、総検出虫体数 (平均) および虫体数減少率 (対照群から見出された総検出虫体数に対する実験群からの総検出虫体数の比率) を出した。

検出虫体は70%エタノールで圧平固定後、カルミン染色を行ない、形態の観察も行なった。

### II. カマラ\*の有効成分の抽出および分離方法:

#### 1. メタノールエキスの分離:

カマラより rottlerin の抽出、分離、精製法は Chart 1 に示した通りである。またカマラの isorottlerin の含量はきわめて微小のため氷酢酸との加熱異性化反応により rottlerin より誘導した。

#### 2. ベンゼンエキスの分離:

Chart 2 に示した通りである。

#### 3. rottlerin 以外の成分の分離:

カマラの色素成分の薄層クロマトグラフィー (TLC) は Fig. 1 に示した如く、rottlerin 以外に未知の多数

<sup>1</sup> 浜松医科大学寄生虫学教室

\* カマラ (Kamala: *Mallotus philippinensis*) は日本新薬の御厚意により Drug & Alkaloid, Company, Dehli, India より輸入されたものである。

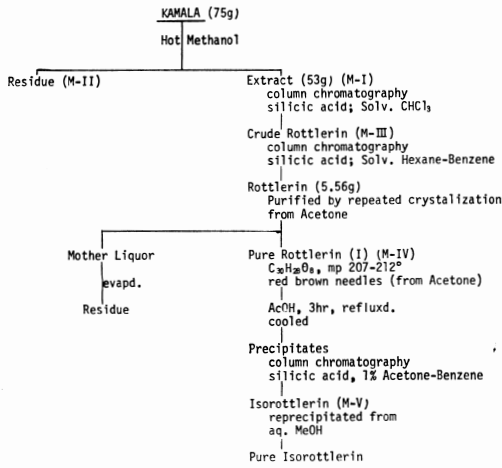


Chart 1 Fractionation of Kamala with methanol.

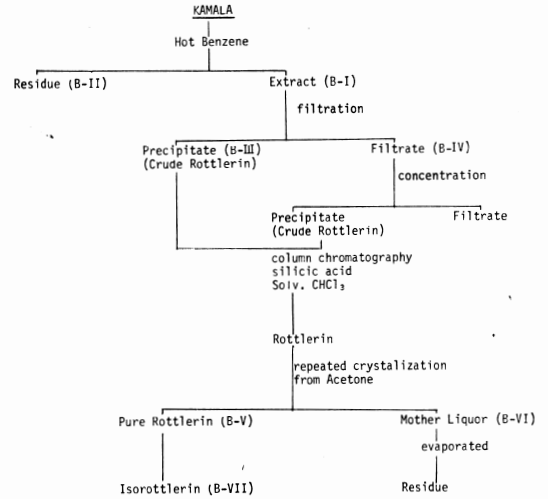
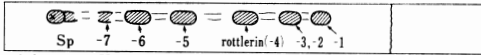


Chart 2 Fractionation of Kamala with benzene.

TLC of methanol ext.

(1) plate : Kieselgel H solv. CHCl<sub>3</sub> - MeOH (5:1)



(2) plate : Kieselgel H solv. CHCl<sub>3</sub> - MeOH (100:1)



TLC of benzene ext.

(1) plate : Kieselgel H solv. : CHCl<sub>3</sub> : MeOH (5:1)



(2) plate : Kieselgel H solv. : CHCl<sub>3</sub> : MeOH (100:1)



Fig. 1 Thin-layer chromatography (TLC) of the extract of Kamala with methanol or benzene.

の物質がメタノールにより抽出されていることが明らかになった。しかしながら、カマラの抽出をベンゼンを用いて行なう場合、Fig. 1の TLC が示す如く、rotlerin を境界として極性の大きな物質は殆ど溶出されないことが明らかとなり、また活性試験の結果が示す如く、有効成分はこのベンゼンの可溶部に存在することがほぼ確認されたので、カラムクロマトグラフィーによる分離を単純化するためにベンゼン抽出を主として行なつた。

駆虫試験成績

1. メタノール抽出物質の駆虫効果について：

Chart 1 に示した如く、メタノール抽出物 (M-I) とその残渣 (M-II) を用いて駆虫効果を比較した。その結果は Table 1 (Exp.A) に示した如く、メタノール抽出物 (M-I) 100mg/kg 2日投与群では4匹中2匹 (50%) は治癒と認められ、他の2匹も僅か1虫ずつ計2虫

が見出されたにすぎなかつた。対照群では4匹から200虫が検出されているので虫体数減少率は99.0%で著しい効果が認められた。ところが残渣 (M-II) では、治癒と認められた例はなく、虫体数減少率も僅か23%にすぎず、残渣には殆ど有効成分が存在しないことが明らかにされた。

前回の実験でメタノール抽出物の方に有効成分があることが確認されたので、これを更にカラムクロマトグラフィーにより精製し、いわゆる crude rottlerin (M-III) とこれを更に精製した pure rottlerin (M-IV) の両者の駆虫効果を比較した。

その結果は、Table 1 (Exp. B) に示した如く、crude rottlerin (U-III) 100mg/kg × 2投与群では治癒したものは4匹中3匹 (75%)、虫体数減少率は99.6%で前回のメタノール抽出物 (M-I) と同様著明な効果がみとめられた。

次いで crude rottlerin を更にアセトンで処理して得られた pure rottlerin (M-IV) 100mg/kg × 2投与群では治癒例は4匹中1匹 (25.0%)、虫体数減少率は86.0%で、crude rottlerin (M-III) のそれと比較し、その効果は稍劣っていた。

なお、対照のカマラ 100mg/kg × 2投与群では常に全例が治癒しており、50mg/kg × 2の投与群でも5匹中2匹に治癒が認められたが crude rottlerin (M-III) 50mg/kg × 2の投与群では治癒が1匹も認められなかつた (Table 1, Exp. C)。

2. カマラのベンゼン抽出物質の駆虫効果について：

Table 1 Chemotherapeutic effect of the various fractions of Kamala with methanol or benzene for *Metagonimus* infections in hamsters

	Materials	Daily dose × days	No. hamsters treated	No. (%) hamsters cured	Total No. of worms recovered (Average)	Reduction rate (%) of worm burden
Exp. A	Methanol Ext. (M-I)	100mg/kg × 2	4	2(50.0%)	2( 0.5)	99.0%
	Methanol Resid. (M-II)	"	4	0	153( 38.5)	23.0%
	Kamala	"	4	4( 100%)	0	100 %
	Control		4		200( 50.0)	
Exp. B	Crude rottlerin (Methanol Ext.) (M-III)	100mg/Kg × 2	4	3(75.0%)	2( 0.5)	99.6%
	Pure rottlerin (Methanol Ext.) (M-IV)	"	4	1(25.0%)	80( 20.0)	86.0%
	Benzene Ext. (B-I)	"	4	3(75.0%)	3( 0.7)	99.5%
	Benzene Resid. (B-II)	"	4	0	302( 75.5)	47.3%
	Kamala	"	4	4( 100%)	0	100 %
	Control		3		313(143.3)	
Exp. C	Crude rottlerin (Methanol Ext.) (M-III)	50mg/Kg × 2	5	0	49( 9.8)	64.4%
	Benzene Ext. (B-I)	"	5	0	90( 18.0)	34.7%
	Kamala	"	5	2(40.0%)	23( 4.6)	83.7%
	Control		5		138( 27.6)	

Table 2 Chemotherapeutic effect of the various fractions of Kamala with methanol or benzene for *Metagonimus* infections in hamsters

	Materials	Daily dose × days	No. hamsters treated	No. (%) hamsters cured	Total No. of worms recovered (Average)	Reduction rate (%) of worm burden
Exp. D	Crude rottlerin (Benzene Ext.) (B-III) Precipitate	100mg/Kg × 2	5	4(80.0%)	1( 0.2)	99.2%
	Filtrate (B-IV) (Benzene Ext.)	"	5	0	67(13.4)	50.5%
	Pure rottlerin (B-V)	"	5	1(20.0%)	34( 1.8)	74.9%
	Mother liquor (B-VI)	"	8	4(50.0%)	25( 3.1)	88.5%
	Isorottlerin (B-VII)	"	5	0	135(27.0)	0
	Control			10		271(27.1)
Exp. E	Filtrate (B-IV)	50mg/Kg × 2	5	0	68(13.6)	50.7%
	Pure rottlerin (B-V)	"	5	0	63(12.6)	54.3%
	Mother liquor (B-VI)	"	5	0	38( 7.6)	71.9%
	Kamala	"	5	2(40.0%)	23( 4.6)	83.3%
	Control			5		138(27.6)

Chart 2 の方法でカマラを熱ベンゼンで処理し、その抽出物 (B-I) と残渣 (B-II) についての成績は Table 1 (Exp. B) に示した如く、ベンゼン抽出物 (B-I)

の効果はメタノール抽出物 (M-I) の場合と全く同様で、100mg/kg × 2 投与群では 4 匹中 3 匹に治癒例が認められ、虫体数減少率も 99.5% であったのに反し、その

残渣 (B-II) 100mg/kg×2 投与群では治癒例は1匹も認められなかった。

またベンゼン抽出物 (B-I) 50mg/kg×2 投与群では (Table 1, Exp.C) 治癒例は1匹もなく、虫体数減少率も34.7%でカマラ50mg/kg×2 投与群のそれに比し、著しく効果が劣っていた。

以上の結果から横川吸虫に対する有効成分はメタノール分画の場合と同様、その可溶分に存在するが、必ずしも濃縮されてはいないことも明らかにされた。

このベンゼン抽出物 (B-I) を濾過し、この濾液を濃縮し放置すると、沈澱物が生ずるが、これは殆ど crude rottlerin である。この沈澱物 (crude rottlerin: B-III) と濾液 (B-IV) とを用いた実験では、Table 2 (Exp.D) に示した如く、沈澱物 (B-III) 100mg/kg×2 投与群では5匹中4匹に治癒例が認められたが、その濾液 (B-IV) 100mg/kg×2 投与群では治癒例は1匹もなかった。ついで、この沈澱物 (B-III) をカラムクロマトグラフィーで処理し rottlerin を分離し、更にアセトンで処理して得た pure rottlerin (B-V) について検討を試みた。その結果は pure rottlerin (B-V) 100mg/kg×2 投与群では5匹中1匹に治癒例が認められ、虫体数減少率は74.9%であった。これに比較して母液 (B-IV) 100mg/kg×2 投与群では8匹中4匹に治癒が認められ、虫体数減少率も88.5%を示し、有効成分はむしろこの母液の方により多く残存している如くであった。

しかし、Table 2, Exp. E に示した如く、この母液 (B-VI) 50mg/kg×2 投与群では5匹中1匹も治癒例はなく、カマラ50mg/kg×2 投与群に比し、その効果はやや劣っていた。

また、rottlerin を氷酢酸中で3時間加熱して得られる異性体 isorottlerin (B-VII) について検討を行なったところ100mg/kg×2 投与群では治癒例は1匹もなく、虫体数の減少もなく、全く有効成分は含まれていないことが明らかにされた。

### 3. rottlerin 以外の成分 (SP-2, -3) の検討:

上述の如く、カラムクロマトグラフィーで得た crude rottlerin には高い活性 (駆虫効果) が認められ、アセトンで再結晶した pure rottlerin では活性が低下し、その母液の方にかえって高活性が認められたのでこの母液について薄層クロマトグラフィー (TLC) を行ない、構造未知の多数の物質のうち Sp-2 についてその活性を検討してみた (Fig. 1)。その結果は SP-2は100mg/kg×2 投与群では治癒例は1匹もなく、虫体数減少率も43.1%と低く、Sp-2には有効成分は殆ど含まれていないこと

が明らかにされた。

## 考 察

カマラをはじめ横川吸虫の駆虫に用いたのは、浅田ら (1952) で、本剤 3.0g をオブラートで包み屯用させ、2時間後に硫苦30g を下剤として投与するときは、虫体は何らの損傷も受けずに排出されると報じている。また財津 (1958) は、横川吸虫の駆虫にはカマラ10g を1回量とし、これを砂糖水でわつて砥剤とし、これを1時間かかつてなめてのませた方がオブラートに包んで屯用させるより、有効例が多かつたといっている。清水 (1969) は、横川吸虫の集団駆虫に際し、カマラ1g, 3g, 5g, および10g 投与群毎にその効果を比較したが、投与量と駆虫効果の間には全く有意の差は認められなかつたと報じている。

横川ら (1973) は、秋田県島海村で、カマラ5g, 7.5g, および10g をそれぞれ投与した後、2時間後に砒硝20g を下剤として与え、服薬後48時間の全便をとつて、各群毎に排虫状況を検討したところ、投与量と治癒率或いは排虫数との間に全く関連が認められなかつた。また同一量を用いても、個人によりその排虫数が著しく異なることを明らかにした。本実験では、カマラの横川吸虫に対する作用機転を明らかにする目的で、カマラの各種成分の分画を試み、これらを横川吸虫感染ハムスターに試みて、その駆虫効果および作用機転を明らかにせんとした。

ハムスターは横川吸虫の感染小動物としては最適で、横川吸虫に有効な薬剤のスクリーニングにも便利な事は既に報告した通りである (横川・佐野, 1968)。

効果判定に当つては、実験方法の項でも述べたが、カマラを100mg/kg×2 を投与した場合殆ど常に100%の治癒率が得られているので、それを対照として治癒率を比較するのがもつとも確実ではあるが、使用動物数は必ずしも多くはなかつたので寄生虫体数の減少率も参考にした。しかし、この場合はメタセルカリアの採集時期により、メタセルカリアの成熟度がことなるためか、虫体の回収率が常に一定とは限らないので、各実験群毎に同時に感染させた無処置のハムスターを対照とし、これらの検出虫体数を規準とした。

前述した如く、カマラは古くから条虫の駆虫薬として、又、羊の肝蛭の駆虫剤として用いられたことがあり、その主成分としての rottlerin および isorottlerin の構造に関しては多数の研究がある (Brockmann and Maier, 1938; Crombie *et al.*, 1968; Lounasmas *et*

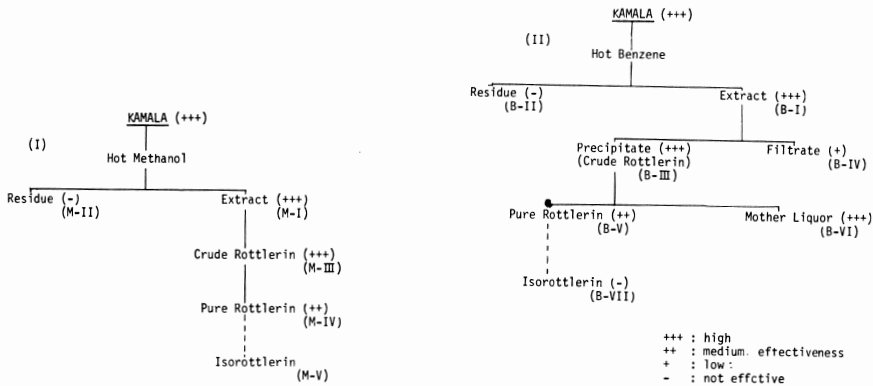


Chart 3 Comparisons of the effects of various fractions of Kamala with methanol (I) and benzene (II) against *Metagonimus* infections in hamsters.

al., 1975) が、その駆虫効果に関する研究は必ずしも多くはない。本実験では rottlerin に横川吸虫に対する駆虫効果のあることが確認されたが、その分離、精製の過程で得られた crude rottlerin および pure rottlerin の横川吸虫に対する駆虫効果に関して興味のある成績が得られた (Chart 3)。すなわち、カマラのメタノール抽出で得た crude rottlerin とこれを更に精製した pure rottlerin とでは、むしろ crude rottlerin の方に pure rottlerin よりも強い駆虫効果が認められ、ベンゼン抽出の場合においても同様であった。

更に生薬カマラと crude rottlerin とでは、化学的には有効成分の抽出および分離操作により、活性が濃縮されるべきであるにも拘らず、むしろ生薬カマラの方に crude rottlerin より高い駆虫効果が認められた。

また rottlerin 以外の成分の活性を検討するため、カラムクロマトグラフィーで得られた Sp-2 の成分について、その活性を調べたが、有効成分は全く認められなかった。

以上の如く、カマラの有効成分はその主成分として知られている rottlerin にあることが認められたが、その濃縮効果は全く認められなかった。その原因としては必ずしも明らかではないが、(1) 活性本体あるいは複素成分が、分離操作の過程で分散したか、失活した。(2) 経口投与により活性成分と考えられる rottlerin が純粋になる程消化管内で二次的に変化し、失活するということが推察される。これらの点については、更に検討するつもりである。又、上記の抽出物について、人体治療も試みたが、その点については改めて報告することとしたい。

## むすび

生薬カマラにおいてみられる横川吸虫に対する駆虫効果は、メタノール或いはベンゼン抽出物中に存在する rottlerin にあることは明らかにされたが、期待に反して、rottlerin の純度と効果とは比例することなく、むしろ純度が低いもの程活性が高い傾向のあることが示された。また rottlerin 近縁物質として Sp-2, Sp-3 等の単離を試みたが、Sp-3 は不安定で容易に Sp-2 に変化し、Sp-2 には殆ど駆虫効果は認められなかった。

終りにのぞみ本研究に対しカマラの入手その他種々御世話になった日本新薬岡野実氏に厚く御礼申し上げる。

## 文 献

- 1) 浅田順一・梶房子・越知壽枝(1952)：異形吸虫類の人体感染における一新駆虫法について。日寄記事, 21, 67-68.
- 2) Brockmann H. and Maier K. (1938) : Rottlerin. Ann. Chem. 535, 148-175.
- 3) Crombie L., Green C. L., Tuck B. and Whiting D. A. (1968) : Constituents of Kamala. Isolation and structure of two new components. J. Chem. Soc. No. 21C, 2625-2630.
- 4) Lounasmaa M., Widen C.-J., Tuuf C.-M. and Huhtikangas A. (1975) : On the phloroglucinol derivatives of *Mallotus philippinensis*. Planta Medica, 28, 16-31.
- 5) 清水孝雄(1969) : 茨城県霞ヶ浦地方における横川吸虫の研究。新潟医学会誌, 84, 1-22.
- 6) 横川宗雄・佐野基人・高橋徹・野口政輝・望月久(1962) : 静岡県大沼地方のウグイに寄生する横川吸虫の研究。寄生虫誌, 11, 157-164.
- 7) 横川宗雄・佐野基人(1968) : (4) 横川吸虫の実

- 験小動物内における発育について. 寄生虫誌, 17, 540-545.
- 8) 横川宗雄・佐野基人・荒木国興・小林仁・木畑美知江・吉村裕之・大森康正・谷重和・石田和人・鈴木尚一郎・小林秀夫・京極啓義・米川信

- 裕・豊島映(1973): 秋田県鳥海村における横川吸虫症の疫学的研究. 2. カマラによる集団駆虫. 寄生虫誌, 22, 354-362.
- 9) 財津吉憲(1958): 鱈の生食に起因せる異形吸虫症とその治療法. 日医会誌, 40, 31-35.

### Abstract

#### STUDIES ON THE EFFECTIVE SUBSTANCE OF KAMALA (*MALLOTUS PHILIPPINENSIS*) AGAINST *METAGONIMUS YOKOGAWAI*

MUNEO YOKOGAWA, MOTOHITO SANO, KUNIOKI ARAKI  
KEN TOKITA

(Department of Parasitology, School of Medicine,  
Chiba University, Chiba)

JUNZO SHOJI AND NORIKO KONDO

(Department of Pharmacognosy, School of Pharmaceutical  
Sciences, Showa University, Tokyo)

Although it is said that Kamala is comparatively better than other anthelmintics for treatment of *Metagonimus yokogawai*, there is not a certain correlation between the anthelmintic efficacy of Kamala and its dosage.

The anthelmintic activities for the hamsters experimentally infected with *M. yokogawai* with crude rottlerin and pure rottlerin which were obtained in the process of the extraction and purification of rottlerin from Kamala with benzene and/or methanol, were studied.

The results showed that the anthelmintic efficacy of Kamala for *Metagonimus yokogawai* arises from the rottlerin, main constituent of Kamala. But, in comparison with the crude rottlerin simply extracted with methanol or benzene and the pure rottlerin further purified, the more excellent anthelmintic efficacy was observed rather in crude rottlerin.

On the comparative study of Kamala and crude rottlerin, although it was expected that the effective constituent must be concentrated into the latter in chemical point of view, the experimental result was rather contrary to the expectation.

And, to examine the activity of other constituents of Kamala than rottlerin, the fraction Sp-2 obtained by the column chromatography was studied, but no anthelmintic effect was observed.