

有田隆一教授停年退官記念誌

1987

有田隆一教授停年退官記念事業会



有田隆一

序

有田隆一先生は昭和62年3月31日をもって停年退官されることになりました。先生には昭和23年3月に京都大学医学部薬学科を御卒業後、医学部助手として故掛見喜一郎先生のもとで研鑽を積まれ、昭和26年医学部薬学科薬剤学教室が開設されるに及んで、掛見教授、宇野助教授と共に薬剤学教室の基礎作りに努められました。昭和32年より同教室の助教授となられ、薬物の吸収に関する研究をメインテーマとして新分野、「生物薬剤学」の開拓に貢献され、昭和39年日本薬学会学術奨励賞を受賞されました。更に昭和40年5月には北海道大学薬学部薬剤学教室の教授に就任され、同大学医学部附属病院薬剤部長も併任されることとなりました。以後、北大において研究教育両面に渡って薬剤学の発展に大きく貢献されると共に、医療への積極的な参画を果たして来られました。昭和53年、文部省の措置により北海道大学医学部附属病院薬剤部に専任教授職が認められるに及び、医学部教授会の要請により初代教授として就任されました。以来今日まで医療薬学の発展に、また新しい病院薬剤部の位置付けに重責を果たして来られました。学外においても、北海道病院薬剤師会々長、日本薬学会北海道支部長、文部省学術審議会専門委員、厚生省薬剤師国家試験委員長などの要職を歴任され、広く学界、医療行政面において指導的役割を果たして来られました。このことは昭和58年病院薬学賞、61年北海道社会貢献賞を受賞されたことからその一端がうかがえると考えます。

先生の研究面での御活躍は、そのまま日本の生物薬剤学の歴史であり、同分野の体系化、発展にパイオニアとして尽くされた功績はまことに大きく、

この分野は臨床薬理学、薬物治療学等にも取り入れられております。更に薬務行政面にも反映され、いわゆる「吸排」や「生物学的利用率」という新語が誕生して、厚生省の新薬認可に重要な検討項目となったことは広く知られるところであります。

このように先生の研究は薬学本来の使命である医療への貢献に直結したものであり、それは先生の進んでこられた道とも相通ずるものであります。長年築きあげられた薬学部薬剤学教室の主任教授から、昭和53年敢えて病院薬剤部初代教授に就任され、新薬剤部建設の重責を引受けられた医療人としての御姿勢を我々は誇りとするものであります。

先生には今回停年を迎えられ北大を去られることになりましたが、引続き教職に就かれると聞いており、今後共是非適切な御助言を戴き、後輩の御指導をお願いする次第です。どうか健康に御留意あって、なお一層の御活躍を心よりお祈り致します。

昭和62年3月

有田隆一教授停年退官記念事業会・代表

京都大学教授 堀 了 平

目 次

薬剤学40年	
研究生活を顧みる	1
研究経過の概要	8
業績目録	49
有田隆一教授履歴	81

薬 剤 学 40 年

有 田 隆 一

研 究 生 活 を 顧 み る

定年が近づいて来ると、毎年退官記念の最終講義が行われて来ている。私も昭和40年に、北海道大学薬学部の薬剤学講座担当として赴任以来すでに22年が矢の様に過ぎてしまった。そして私も最終講義をさせて戴く年令となってしまう。

その間、多くの顕著な業績を残された先生方の最終講義を毎年の様に拝聴する度に、そのご努力の一端に触れ、そして深く鋭い研究内容とその大きさに圧倒されながら、自分に対する励みとして来たものである。

しかし自分が、いよいよ大学を去るに際して、歩いてきた道を振り返り、自分のなし得た仕事を顧みると、ただただ慚愧の念に耐えない思いである。

薬剤学が我国に設置されたのは、昭和24年、占領下の日本に、アメリカの視察団が来て、余りにも化学に偏った薬学教育に対し、医療や製薬に密接に関係する薬物に関する学問の必要性を強く勧告されたことによるといわれている。

この様な背景の下に、昭和26年に、東京大学と京都大学の医学部薬学科にそれぞれ製剤学講座、薬剤学講座が設置され、当時の薬局長であった野上

寿先生、掛見喜一郎先生が教授として、それぞれの大学でそれぞれの講座を担当されたのが我国の始まりである。

私の場合は、昭和23年に京都大学医学部薬学科を卒業し、直ちに医学部附属医院の薬局で助手同格の有給副手となり翌年助手を拝命した。

薬剤学講座の出来るまでに行った実験は、当時ドイツから輸入されたチビオンについて、日本薬局方に収載するための定量法の確立であった。またこれが卒業後の私にとっての初めての研究でもあった。

昭和26年に京大薬剤学講座が発足し、当時薬品分析化学講座講師であった新進気鋭の宇野豊三先生（現京大名誉教授、薬品分析化学講座を担当された）が助教授として来られ、助手として私の他に真田幸良氏（現日赤医療センター薬剤部長）や瀬崎 仁氏（現京大薬学部長、薬剤学講座担当教授）、堀 了平氏（現京大医学部教授、医学部附属病院薬剤部長）らを中心として多数の若い研究者が集っていた。

その頃、イソニコチン酸ヒドラジドが米国から導入され、結核に対する世紀の新薬といわれていた。しかし日本の製品では米国製のものの2倍位を投与する必要があるという馬鹿げたことを講演してまわった人があり、私達としては正しい投与量を見出し公表する必要が生じた。

このため掛見先生と当時の京大結核研究所の化学療法部門担当の内藤先生との共同研究として私が担当となり、結核研究所に派遣され、化学療法部門で医師と共同研究を行った。このために新しい定量法を確立し多くの患者の血中濃度を測定した。その結果、我国の製品でも米国輸入のものと変わらず、同一の投与量では同様な血中濃度を示すことがわかり、また投与法、投与量の確立に役立ったものと信じている。今から考えれば、所謂「血中濃度モニタリング」の「はしり」と言えるかも知れない。

その後、一連の抗生物質の化学的定量法の研究の第一報を担当させていだいた。

またこの関連から当時繁用された同じ抗結核薬のチビオンについても血中濃度測定法を新たに確立した。このことからチビオンの体内動態の研究に入り、所謂、薬物代謝研究の薬剤学分野での確立を画った。当時薬物代謝の研究は我国では、九大薬学部衛生化学講座の塚元久雄先生が始められており、薬剤学と衛生化学とで、分野は異っても同じ様な方法で研究が進められていたのである。

このことから、私の学位論文は、まずこのチビオンの体内変化に関する研究という題となったが、論文を書くにあたって、薬物の生体内動態の薬剤学における意義について、約4ヶ月ほども考え込んでしまったのも懐しい思い出である。またこの学位論文は我国の薬剤学領域での最初のものであった。

昭和32年に助教授の宇野先生が薬品分析化学講座の教授として転出され、助教授は空席となった。

この頃、薬学会年会シンポジウムで「点眼剤の防腐防かび」という題が決り、掛見先生がそのシンポジストに決定された。しかし教室には助教授もなく、結局私が職員や大学院生数人と共にこの研究を担当することになった。それまで「かび」などは全く知らなかったので、かびの専門家にあちこちから教えを乞い、また常在する多数のかびを植えつぎ、なんとか期限に間に合わせたのも、今から考えると冷汗ものであった。

昭和32年末に助教授となり薬物の消化管吸収の研究に入ってしまった。

さきに薬物の生体内動態をみていた時、投与剤形や投与法によって最高血中濃度や、血中濃度の持続時間さらには代謝物まで異ったものが見出されることがあった。

このことから、薬物の吸収機構を明らかにすることは、その投与法や投与剤形を設計する上で必須となる基礎的研究であると考え、掛見教授御指導の下に、薬物の吸収と排泄の研究を行うことになった。

当時米国では、NIHのB.B. Brodie一派らにより「pH分配仮説」が発表さ

れ、この方面の研究に多大の刺激を与えた。

しかし我国はまだ敗戦からの立ち直りは十分ではなく、到底実験に必要な還流ポンプさえ購入することが出来ず、止むなく病院薬局で注射液の分注に使用している 1 ml の分注器からヒントを得て、安価な還流装置を考えた。この装置は *in situ* の実験を行っていた多くの研究機関で利用されて来た。現在市販のものは、この時の装置を美しくコンパクトに縮めたものとなっている。

多くの薬物について吸収機構の研究を行っている間、昭和37年から38年にかけて、米国バージニア州立大学に留学し、微量化学分析研究部門の J.H. Yoe 教授の下で研究を行った。

この様な大学卒業以来行ってきた分析化学の基礎的な経験が、結局はこの応用としての薬物の生体内動態、なにかんづく、生物薬剤学の体系づけに役立ったものと考えている。お蔭で、昭和39年度に日本薬学会より「薬物の吸収と排泄に関する研究」により奨励賞をいただいた。

また翌年には北大薬学部に招かれ、薬剤学講座を担当することとなった。

北大の薬剤学講座は昭和33年に設置され、林 平三郎先生が教授として講座を担当されていたところである。

私が赴任した時には、御退官となって一年余りたったあとであった。私自身の今迄の研究経歴とは異なった分子化合物の研究を中心とする講座であったため、残っている幾人かの助手や大学院の方々のそれ迄の研究経歴を損うことなく、私の考えている生物薬剤学の方向に移ってってもらわなければならず、その間暫くの間は泣きたい思いであったが今想えばこれも楽しい思い出の1つである。

さらに同年（40年）7月より医学部附属病院の薬剤部長を併任することとなった。これは講座を建設している時に私にとってはさらに大きな負担となったが、一方では生物薬剤学を進める上で、臨床部門の研究の情報が入り易くなり、一面では大きなプラス要因となるものであった。

翌年、薬剤学講座には助教授として、さきにも記載した様に京都大学で、ずっと同じ講座で育ってきた堀 了平講師が来道して呉れた。これで薬剤学講座は人も揃い、助手には伊藤圭二氏（現北海道薬科大学教授）など、また大学院生では上田芳雄氏（現藤沢薬品工業、工業化研究所長）らと共に研究を開始した。翌年には大学院生から助手となった大和田栄治氏（現北海道薬科大学助教授）や森本雍憲氏（現城西大学薬学部教授）もまた研究チームの一員として参加して呉れた。その後大学院生には現在私のもとで、研究のみならず薬剤部の運営まで惜しみない助力を続けて来て呉れた宮崎勝巳助教授や、現在東日本学園大学薬学部で助教授を勤めている関川 彬氏や宮崎正三氏等多数の人が集った。

当時の主な研究テーマは、「薬物併用時の消化管吸収の研究」で、数名の学位取得者も出し、それなりに業績をあげ得たものと思っている。

また私達の言っている、「医療に役立ち、社会の要望に応えることの出来る薬剤学の研究」という考え方に共鳴し、毎年多数の学生諸君が4年目の特別研究のために私達の講座に分属を希望して呉れたことは嬉しいことであった。

しかし折角大きく育った薬剤学講座も、あの学園紛争の前には、なす術もなく崩壊同然となり、研究どころではなく、学園を破壊から守るのが勢一杯であった。

併任している病院薬剤部の方は、堀助教授と同じ頃、国立大阪南病院薬剤科に勤務していた水谷愼一氏（現北海道大学歯学部附属病院薬剤部長）が来道し、病院薬剤部については全くの素人であった私を助けて呉れた。

また当時薬務室長であった高田昌彦氏（現東日本学園大学薬学部長、薬剤学講座担当教授）や稲垣俊一氏（現旭川医科大学附属病院薬剤部長）などが中心となって運営管理にあたっていたので、併任であっても私にとってそれ程大きな負担とはならなかったが、やはり病院というのは毎日の診療

業務に附随して仕事の絶え間のないところであり、薬学部の講座担当に加え、薬剤部長の併任の負担に終に耐えられず、病床に倒れることとなった。その後西札幌病院に入院し、再起不能といわれていたのが、幸いにも一命をとりとめることが出来たのは幸運と言わねばならない。

学園紛争も次第に収まって来た頃、高田昌彦氏は、イヌを用いて、サルファ剤の吸収排泄におよぼす抗炎症剤の影響で学位を取得し、また宮崎勝巳氏は修士コースを修了したので、病院薬剤部の技官として試験研究室の整備にあたった。

昭和47年の春に薬剤学講座の堀 了平助教授が広島大学医学部薬学科の教授に転出し、その年の秋にカンサス州立大学のシンテックス研究所から、私達の薬剤学講座の助教授として中野眞汎氏（現熊本大学教授、医学部附属病院薬剤部長）が赴任し、私達の研究グループに参加した。その頃の教室のテーマは薬物の溶解性の促進と消化管吸収に関するもので、多大の成果をあげることが出来た。またこれらの研究により、山本恵司氏（現千葉大学薬学部助教授）など数人の学位取得のための論文をつくることも出来た。

一方中野助教授は、カンサス大学での研究の継続を行い、薬物の膜透過などについて研究を行っていた。

また病院薬剤部に出ていた宮崎勝巳氏は、アンピシリンの体液中微量定量法を新たに確立し、アモキシシリンなど、 β -ラクタム環抗生物質に広く測定法を広げ、その吸収機構に興味ある考察を加えた研究成果を報告し、学位を取得した。

病院薬剤部の職能の背景となる学問体系を確立し、より医療に貢献できる薬剤部をつくるため「薬剤部長を教授職に」という薬剤部長会議の要望に応え、文部省は昭和53年4月より医学部附属病院薬剤部に教授職を新たに設けたので、初代の教授として私が薬学部より配置換となり、医学部教授会の構成メンバーとなると同時に、大学院医学研究科も併せて担当することとなっ

た。

病院薬剤部に移ってからも、薬学部の非常勤講師を兼ね、毎年3名ずつの4年目特別実習の学生が配属され、現在も宮崎助教授を中心に研究を続けている。

北大に来てからの研究を大きく分けると、1) 薬物の消化管吸収および経皮吸収機構、2) 難溶性薬物の溶解性とバイオアベイラビリティ、3) 薬物の排泄とその機構、4) 膜の薬物投与法としての利用、5) 持続性製剤の開発、6) 薬物の体液中濃度測定と治療への応用、7) 薬物の化学的定量法の開発とすることができる。この機会に以下簡単にその主なものについて紹介させて戴きたい。

なおこれらの研究は私達研究グループの多くの人々によってなされたものであり、余りにも多数のためここでは、僅かの方々の氏名をあげたに止まったことをおことわりするとともに、深く感謝の意を表する。

また長い間、私達を援けていただいた専門領域を異にする多くの方々にも厚く感謝する。

研究経過の概要

1. 薬物の消化管吸収および経皮吸収機構

1.1 薬物の消化管吸収とその機構

薬物の消化管からの吸収については、これまで主に薬物の物理化学的性質や構造との関連性の面から検討され、多くの知見が認められてきた。

京大時代、これらの点のうち、まず最初にバルビツール酸類、スルホンアミド等を用いて、脂溶性と吸収速度との間には良好な相関性のあることを見出してきた。Brodie一派の提出した「pH 分配仮説」と共に、私達の見出したこれらの関係は、単に消化管吸収にとどまらず、体内組織への移行性や、腎尿細管での再吸収などの面でも共通した移行形態としてとらえることができるようになり、多くの薬物の体内移行を考察するうえで、貴重な基礎的知見として広く認識されている。

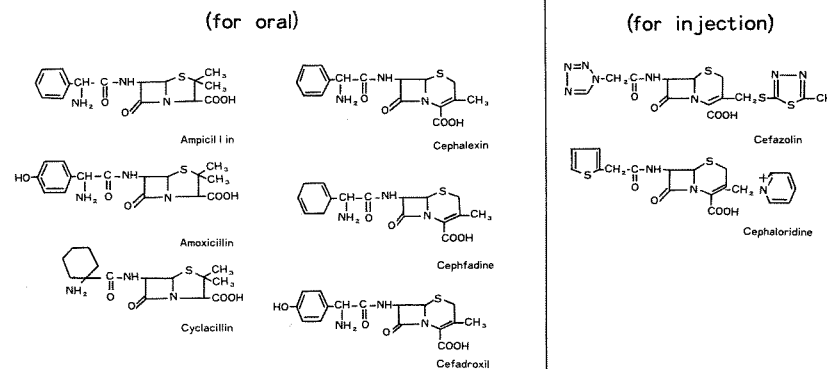
さらに私は、一方で、薬物のなかには、消化管からの吸収挙動を、いわゆる「pH 分配仮説」や、単純拡散系では説明でき得ないものがあることを同時に認めてきた。これら薬物は、消化管中でイオン型を呈し、脂溶性が極めて低いにもかかわらず、吸収が速いか、あるいは吸収率が高い性質を有している。この種の薬物には、両性イオン型β-ラクタム抗生物質や四級アンモニウム化合物等があり、私が北大にきてからの消化管吸収にかんするテーマの1つはこれら「イオン性薬物」の消化管吸収機構であった。従ってここでは主にイオン性薬物の消化管吸収機構について紹介する。

一般に薬物の吸収機構を論じる場合には、吸収における各過程、すなわち刷子縁膜の透過様式、細胞質内での挙動および側底形質膜の透過性を明らか

にする必要がある。さらに、現行では限界はあるものの、これら各段階での動的状態を再現させ得る実験系を用いることが重要となる。これらの点において、イオン性薬物の吸収機構にかんしても、*in situ* 等のみかけの吸収をみる実験から、各透過過程を論じる実験へと実験系を変え、機構の詳細をより解明していくことに努めた。以下、両性イオン型β-ラクタム抗生物質と四級アンモニウム化合物および三級アミンについて研究経過を記載する。

両性イオン型β-ラクタム抗生物質

これにはアミノペニシリン、アミノセファロスポリンがあるが、これらは分子内に NH₂基、COOH 基を有しており、その pKa 値から消化管内はもとより全 pH 領域でイオン型を呈する。しかしながら、その吸収率は高く、特にセファレキシン、セフラジンは90%以上を示し、臨床的にも経口剤として繁用されている。このため、その吸収を単純拡散系では説明できず、特殊な輸送機構が関与していることが十分に予想され、他の研究グループを含め多くの検討が行われてきた。



実験に用いたβ-ラクタム抗生物質

このうち、主に *in situ* 小腸連続還流法、loop 法、*in vitro* 反転腸管法を用いた、みかけの吸収（管腔内からの消失）や、小腸粘膜への取り込み、蓄積などの多くの結果や、あるいは腸管・血管同時還流法による粘膜側から漿膜側への移行などをみた報告から、おおよそ、次の様な吸収像が明らかにされてきた。なお、ラット腸管・血管同時還流法は、人工血液（FC-43 エマルジョン、ミドリ十字製）を用いて、私達が開発した方法であり、生理的状态を維持したまま、粘膜側から血流側への正味の薬物移行を観察でき得る方法である。私達は本方法を用いて、セファレキシン、セフラジンの血流側への移行がアンピシリンよりも数倍優れていることを確認している。

1. アミノペニシリン、アミノセファロスポリンともに、粘膜への蓄積性は高い。
2. シクラシリン、セファレキシン、セフラジン、セファドロキシール等での吸収には飽和性が認められる。
3. 検討した多くの薬物で、アミノ酸による吸収抑制は認められない。
4. ジペプチドによる吸収抑制は薬物毎で異なり、共通した知見は得られない。
5. セファレキシン、セフラジン、セファドロキシールの吸収や粘膜への蓄積は、低温条件下や、2, 4-DNP の添加で抑制を受ける。
6. 薬物間で吸収阻害がみられ、これはアミノペニシリンとアミノセファロスポリンの間においても認められる。

これらの腸管の全組織を用いた多くの知見から、特殊輸送系の関与が強く示唆されたが、この詳細を検討するためにも、刷子縁膜の透過性、あるいは細胞質内での挙動をみる必要性が生じてきた。

小腸の刷子縁膜の透過性を検討する方法の1つとして、近年、小腸粘膜から刷子縁膜のみを単離し、さらに閉鎖系（小胞）として利用する手法が開発され、主に内因性物質の膜透過機構の解明などに繁用されてきた。この手法

により、intact な膜系での物質移行の形態を、より単純化した実験系で再現でき得ることが、種々のアミノ酸やジペプチドおよびグルコース等を用いて確認されている。一方、両性イオン型 β -ラクタム抗生物質の構造はみかけ上、アミノ酸、ジペプチドに類似していることから、これらの輸送系を利用して膜透過されることも考えられる。

私達はこの点に着目して、小腸刷子縁膜小胞（BBM vesicle）を調製し、これを用いて、アンピシリン、セファレキシン、セフラジンが、アミノ酸やグルコース等にみられる Na^+ 依存性の膜透過を示し得るか否かについて検討した。その結果、

1. Na^+ および K^+ 勾配下において、これら薬物は全て同様の膜透過性を示し、かつ over shoot は認められなかった。
2. 取り込みに対する濃度依存性を、30秒の初期取り込み速度からみたところ、 $1\text{ mM} \rightarrow 15\text{ mM}$ において、全ての薬物の取り込み量は直線的に増加し、かつ、薬物間で取り込み量に差はみられなかった。
3. バリノマイシン添加によって生じた K^+ 拡散電位（内部負）の効果をセファレキシンとD-グルコースを用いてみたところ、D-グルコースには顕著な取り込みの増加が観察されるのに対し、セファレキシンでは、何ら変化が認められなかった。

これらの結果より、少なくとも検討した薬物では、アミノ酸様の Na^+ との共役輸送系は関与していないことが示唆された。

一方、ジペプチド輸送系については他研究グループにより、 H^+ 勾配によるセフラジンの取り込み促進の結果や、ジペプチドによる取り込み阻害等が報告されており、興味ある知見が集約されつつある。

この場合、薬物の膜透過速度がジペプチドに比較して極めて小さいこと等から、本輸送系の寄与の程度はあきらかではなく、今後多くの検討が必要であろう。また、BBM vesicle を用いて透過実験を行う場合の物質濃度は、通常、アミノ酸やジペプチド等で、 $100\ \mu\text{M}$ から、 $1\ \text{mM}$ 程度を用いて検討している例が多い。従って薬物の透過機構を、これら内因性物質との関連性の面から論じるためには、この程度の濃度で行うことが望しい。しかしながら現在行なわれている多くの報告は、測定法の感度の問題から、これより数倍も高い濃度下で行っており、厳密に比較検討していくには、一考を要する問題点でもあろう。この点、私達は、 $100\ \mu\text{M}$ 程度の濃度下にも充分に取り込み量を測定し得る、蛍光計にて検知するHPLC法を開発し、刷子縁膜の透過機構の検討に用いてきた。

この吸収機構については、私達は一方で、これら薬物が粘膜中に高い割合で蓄積することにも着目し、蓄積の要因および、 β -ラクタム剤の消化管吸収の難易性との関連性の面から種々検討を加えた。

まず始めに、粘膜中の薬物は、細胞の膜系や細胞内顆粒中ではなく、主に cytosol 中に分布していることを認め、その後、cytosol 中から、これら薬物に結合性を示す、結合タンパクを単離し精製した。

次いで、多くの β -ラクタム剤の結合性をみたところ、消化管から吸収され得るアミノペニシリン類（アンピシリン、アモキシシリン、シクラシリン）およびアミノセファロスポリン類（セファレキシン、セフラジン、セファドロキシル）の結合は高いのに比べ、消化管からは吸収されにくい monobasic なセファロスポリン（セファロチン、セファロリジン、セファゾリン）の結合は殆ど認められなく、薬物吸収の難易性を良く反映する結果を得た。

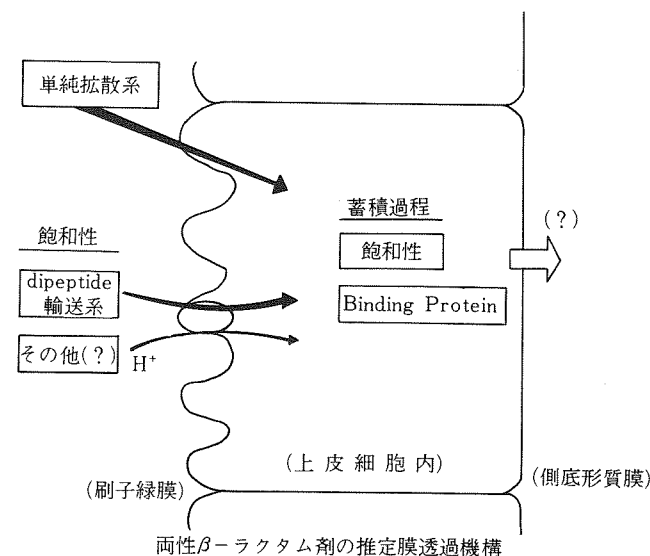
また、アンピシリンとセファレキシンの結合活性を scatchard plot によって求めたところ、セファレキシンの結合定数はアンピシリンの10倍くらいも

高く、吸収の良否と良く一致していることも認められた。

さらに、これら吸収され得る両性イオン型 β -ラクタム剤には、結合に対する薬物間相互の阻害も認められ、*in situ* 還流法でみられた薬物間での吸収阻害の結果とも良く一致するものであった。

これらの多くの結合実験の結果より、細胞質内での結合タンパクとの強い親和性が、これら β -ラクタム剤の吸収に大きく関与していることが強く示唆された。しかしながら、この結合が、吸収過程に対して、単なる蓄積効果を果しているものであるのか、あるいは、細胞質内輸送にまで関与しているものであるのか等については今後の問題であらう。

また、刷子縁膜の透過性についても、ジペプチド輸送系の寄与、およびその程度をも含めて、今後多くの検討が必要であらう。

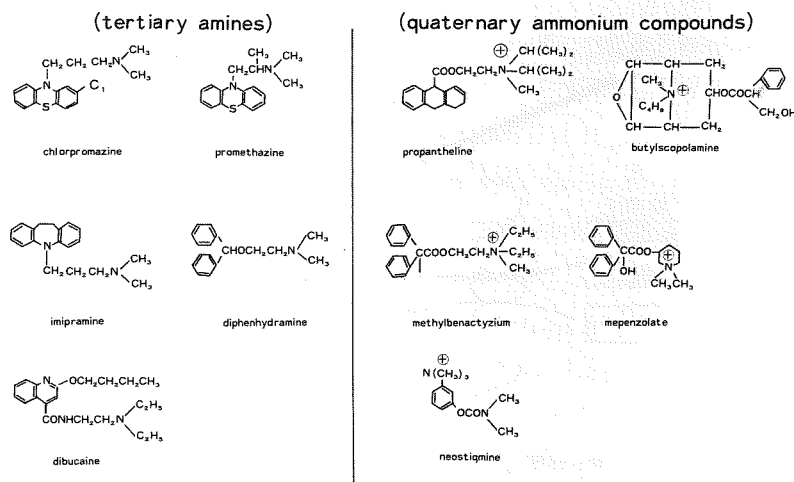


四級アンモニウム化合物ならびに三級アミン

四級アンモニウム化合物（以下四級アンモニウム）は、現在、コリン作動薬、コリン遮断薬等として多くの薬物が繁用されている。四級アンモニウム

は、両性 β -ラクタム剤程ではないにしても消化管から比較的吸収され、かつ薬物によっては吸収初期における速度が速いことから、特殊輸送系の寄与が早くから予想されてきた。

最初に Levine らによって、ベンゾメタミンの吸収が小腸ムチンとの結合によって抑制されること、あるいは小腸粘膜中の phosphatido-peptide の共存によって吸収が促進される知見等が報告されて以来、種々の機構が論じられてきた。これら諸説には ion-pair に基づく吸収、カチオン選択性の高い paracellular route の通過、choline 輸送系を利用した担体輸送、管腔側への能動的分泌による吸収の抑制等を挙げることができる。また四級アンモニウムは、分子量や構造の違いなどによって、その機構も異なっている可能性もあり、多様な膜透過性を呈しているものとも考えられる。



実験に用いた三級アミンならびに四級アンモニウム化合物

私達はまず最初、吸収の初期過程である刷子縁膜の透過機構をみるため、BBM vesicle を用いて、急速汙法によるプロパンテリンの取込みについて検討した。この場合、取り込み量の微量を測り得る、薬物の微量定量法が必

要であることから、プロパンテリンについて測定方法を開発し、取り込み実験に供した。

その結果、プロパンテリンは、両性 β -ラクタム剤などの挙動とは異なり、速かにしかも高い割合で膜に結合することを見出した。また同時にこのプロパンテリンの膜への結合は、他の四級アンモニウム（メチルベナクチジウム、メペンゾレート、ブチルスコボラミン、N-メチルニコチンアミド、ネオスチグミン）の共存により、著しく阻害を受けることも認められた。

しかしながら、小胞内に薬物が移行しているか否かについては明らかではなく、次に、この結合している状態からの小胞内への薬物移行について検討を加えた。すなわち、取込み（結合）平衡に達した後に、小胞内部を負にする目的で NaSCN あるいは NaI を加えたところ、プロパンテリンの取り込み挙動には明らかに over shoot が観察された。これに反し、NaSCN などを初めから添加した場合には、無添加の場合と較べて移行挙動には何らの変化も認められなかった。

さらに、この取り込み平衡後の小胞内への移行（over shoot）は valinomycin を添加することによって引き起こされる内部負の膜電位差によっても促進されることが認められた。

これらの BBM vesicle を用いて行った一連の実験から、四級アンモニウムであるプロパンテリンの刷子縁膜の透過には、膜への強い結合と、細胞内が負に維持されている（約 -60mV ）膜電位差が共に大きく関与していることが示唆された。なお、この小胞膜への結合は、脂質二重層膜に強く結合することがすでに知られている三級アミン（クロルプロマジン、イミプラミン、プロメタジン）によっても競合的に強く阻害されることを認めており、これら薬物群については、膜透過のみならず、膜結合についても興味ある知見が得られてきている。

一方、Turnheim らによって報告されているモルモット小腸における血液

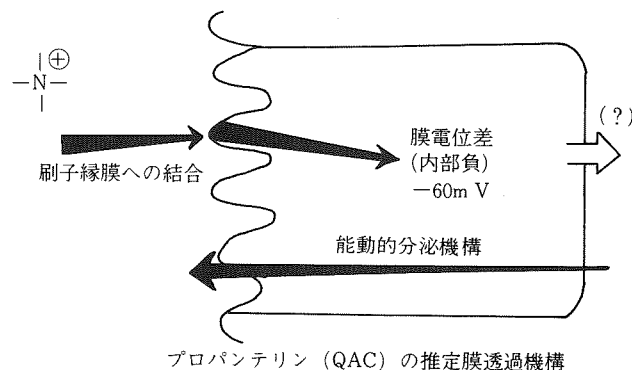
側から管腔側への能動的分泌機構については、私達もラット反転、非反転腸管を用いて、プロパンテリンの腸管透過性に対する HgCl_2 の影響等の検討より、その存在を認めている。

さらに私達は、Levine によって報告されている消化管内ムチンとの結合についても検討を加え、胃粘膜ムチンに対する四級アンモニウムおよび三級アミンの結合性をみた。その結果、四級アンモニウム（プロパンテリン、メチルペナクチジウム、メベンゾレート、ブチルスコポラミン、ネオスチグミン）は例外なく、ムチンとは殆ど結合しないのに比べ、三級アミン（クロルプロマジン、プロメタジン、イミプラミン、ジブカイン、ジフェンヒドラミン）には結合が認められ、特に前2者における結合には著しいものがあつた。これらの結果より、三級アミンは、膜表層のシアル酸を含む糖鎖に対しても結合している可能性も考えられ、四級アンモニウムを含めて、膜内、および膜表層との結合の詳細を今後検討していく必要があろう。

これらの結果をまとめると

1. 四級アンモニウムの刷子縁膜の透過には、膜への速かな結合と、膜電位差（内部負）の生理的機能の双方が強く関与しているものと考えられる。
2. この膜結合は他の四級アンモニウムおよび三級アミンによっても強く阻害される。
3. 三級アミンは消化管ムチン（分泌粘液）と強く結合するが、四級アンモニウムには結合がみられない。膜中および膜表層の糖鎖への結合等の詳細は今後明らかにする必要がある。
4. 四級アンモニウムであるプロパンテリンには、血液側から管腔側への能

動的分泌系が認められた。



これらの結果より、四級アンモニウムにおいて認められる、初期における速かな吸収と、その後の吸収が一定範囲で停止し終了することに対する一考察として、この1. と、4. の機構が関連しているものと推察できる。

これら薬物の消化管吸収についての研究は、北大に赴任してから一貫して行ってきたものでありここに記載した以外にも「薬物併用時の消化管吸収」等、多くの研究を行ってきた。従って協力を戴いた方も多く、宮崎助教授をはじめ上田芳雄、福島紘司、小林伸一郎、野口 豪、神谷 晃、相川練二、荻野 修、梅庭和敏、松田州司、井関 健、斉藤浩司、伊藤恭子、砂田恭子、家村明宏、古川卓哉、森 健一の諸氏の協力によって行った。また4年次学生として在籍した学生諸君の協力を得た。

1.2 薬物の経皮吸収とその機構

北大に赴任してまもなく私達は、薬物の皮膚からの吸収についても多くの検討を行った。外皮製剤からの薬物の吸収率すなわち利用率に与える影響因子には、薬物の表皮、真皮への浸透、拡散、貯留、排出などの移行過程の他に、軟膏剤の場合には、基剤の種類や薬物に対する基剤の保持性など、多く

の要素が含まれており、これらについては殆ど明らかではなかった。また、薬物の経皮吸収機構を解明するためには、薬物の物理化学的性質の他に、皮膚表面の温度、湿度など、吸収に影響をおよぼす外的因子が多く、さらに、皮膚構造の複雑さから、確立された研究方法もない現状であった。

このため私達は、まず薬物の経皮吸収の動態およびこれらに対する基剤の影響などにかんする基礎的知見を得ることを目的とした。すなわち、モルモット腹部皮膚をモデル皮膚とし、またサリチル酸、カルピノキサミンをそれぞれ酸性、塩基性モデル薬物として選び、経皮吸収実験を行うとともに、これにおよぼす各種基剤の影響について考察を加えた。

薬物の脂溶性と経皮吸収

まず最初にモルモット腹部皮膚の還流法による経皮吸収実験法を確立し、これを用いて水溶液からの薬物の経皮吸収について検討した。その結果、初期の一定時間経過後は単純拡散により吸収されること、および試料溶液の pH と経皮吸収率との関係から薬物の非解離型分子が優先的に吸収されることを明らかにした。

次に適用領域の真皮までの薬物量を測定した結果、薬物の経時的な貯留量は初期においては経皮吸収量と類似したパターンを示すが、一定時間経過後では一定値をとることを見出した。また、この一定貯留量は非解離型分子の増加とともに上昇することを明らかにした。

さらに、皮膚内薬物量の経時的な消失を追跡したところ、健常皮膚の場合には長期間にわたり薬物が皮膚内に貯留することを認め、その貯留部位は主として角質層であることを明らかにした。

次に角質層を剝離した損傷皮膚を用いて吸収実験を行った結果、著しい吸収増加が認められ、健常皮膚では吸収の認められなかった薬物の解離型も吸収されることがわかった。また、損傷皮膚での貯留量は早い時期にピークを

持つパターンに変わり、検液の適用を止めると速やかに皮膚内から消失して、薬物の皮膚貯留能が失われることが明らかとなった。

各種基剤の影響

次いで経皮吸収におよぼす各種基剤の影響をみるために性質の異なる代表的な油脂性基剤 4 種（流動パラフィン、オレイン酸、ヘキサデシルアルコール、ミリスチン酸イソプロピル）を選び、これに薬物を溶解して経皮吸収実験を行った。その結果、油脂性基剤からの薬物の経皮吸収も水溶液の場合と同様に、単純な受動輸送による吸収が支配的であり、油脂性基剤からの薬物放出性の高いものほど、吸収量、皮膚貯留量の多いことを認めた。

また、損傷皮膚からの吸収は両薬物ともに健常皮膚の 2 倍程度にとどまり、水溶液を用いた場合の健常皮膚と損傷皮膚との差に比較して少なかった。これらのことから直接油脂性基剤から吸収される過程よりも、一度分泌液へ移行した後に吸収される過程が支配的なものと推定した。

次に外用製剤に繁用される PEG 400 など 6 種の水溶性基剤を選び、それらの経皮吸収におよぼす影響について検討した。その結果、水溶性基剤を添加した場合でも、その吸収パターンおよび皮膚貯留パターンは水溶液の場合と差は認められないが、水溶性基剤の添加濃度の増加に伴ない吸収量および皮膚内貯留量の低下が認められた。

皮膚内の薬物分布

皮膚内の各部位での薬物分布をみる目的で、マイクロオートラジオグラフィにより ^{14}C -サリチル酸のモルモット皮膚内分布を調べた結果、皮膚内の薬物は初期には毛包部、角質層、表皮層に多く存在するが、投与時間が長くなるに従い皮膚全層に分布し、特に角質層への蓄積が著明に認められた。

また、試料溶液の pH を変化させた場合、pH 6 に比較して非解離型分率の

高い pH 2 での皮膚内薬物量が多く認められ、非解離型分子が吸収されやすいという還流実験の結果と良く一致した。

さらに、サリチル酸との親和性の小さい流動パラフィンでは pH 2 の水溶液と同程度の皮膚内薬物量が認められるのに対し、サリチル酸との親和性の大きい PEG 400 ではほとんど皮膚内薬物量は認められなかった。

また、損傷皮膚でのサリチル酸の皮膚内薬物量は速やかに増加するが、薬物の適用を中止すると皮膚内から速やかに消失することが認められた。

次に血中濃度を測定した結果、健常皮膚ではその血中濃度は低く、かなり長時間残留することを認めた。これに対して損傷皮膚では速かに高い血中濃度に達するが、その消失も速かった。

一方、流動パラフィンを用いた場合、水溶液に比べて吸収の遅れが見られ、特に損傷皮膚ではかなり長時間血中に残留しており、還流実験の結果と良く一致していた。

私達は、これらの検討を通じ、薬物の経皮吸収に影響をおよぼす、薬物および基剤側の物理化学的要因、さらには生体側の生理学的要因を明らかにし、有効な外用製剤を調製する上に基礎的寄与をなし得る知見を得ることができた。

薬物の経皮吸収についての研究は、主に故和志武三徳博士をはじめとして安茂寿夫、矢島建紀、赤津 眞の諸氏の協力によるものである。

2. 難溶性薬物の溶解性の向上とバイオアベイラビリティ

薬物の溶解性については、医薬品の利用効率に影響を与えるものとして関心を集め多くの研究が行なわれてきている。特に難溶性の薬物では、その溶解の速さが消化管からの吸収の律速段階となることは既に多くの研究から明らかにされてきた。この溶解の速さに影響を与えるものとしては、結晶多形、

粒子径（または表面積）の大小、複合体の形成や併用薬剤との相互作用などが知られている。なお固形製剤ではさきの要因に加えて使用される賦形剤や結合剤などの添加物、錠剤成形時の打錠圧などがその溶解の速さに影響することはよく知られている。

私達の研究室では従来から薬物の吸収実験を通じて、薬物の吸収機構や体内動態などについて研究を続けてきたが、その間薬物の消化管からの吸収に関連して吸収の促進、さらには利用効率の向上を目的として薬物の溶解性の向上についても検討を行ない、これを血中濃度や尿中排泄量の測定からその影響を認めてきた。これらの実験のうちの幾つかについて紹介したい。

結晶形と吸収効率

薬物によっては幾つかの結晶形、いわゆる結晶多形が存在し、その結晶形によっては溶解速度に差を生じ、したがって吸収速度や血中濃度も異なってくることはすでによく知られている。

たとえばパルミチン酸クロラムフェニコールの場合では、A 形と B 形の結晶形が存在し、A 形は安定形であり、B 形が準安定形である。そしてこの A 形を投与したときにはほとんど血中濃度は上昇しないが、B 形を投与したときには消化管中で酵素により加水分解を受けクロラムフェニコールとなり吸収されることが知られている。またこのことが明らかとなることによって、多形の選択の影響について多くの関心と呼ぶことになった。

一方また、結晶形と無晶形の差については、抗生物質のノボジオシンでは無晶形のものを投与した時に高い血中濃度の得られることが報告されている。アンピシリンについては三水和物と無水物があり、無晶形である無水物を投与した時の方が血中濃度はやや高く現われるが、これは溶解速度の差によるものであることが知られている。

私達の研究室ではテトラサイクリン類の多形の確認、溶解挙動と消化管吸収について検討を加えてきた。

一般にテトラサイクリン類の消化管からの吸収性はそのままでは決して良好であるとはいえず、またこれらの製剤は製剤法により（製薬メーカーにより）有効利用率に差のある薬物の一つであるともいわれている。したがって結晶多形の現象に検討を加え、溶解挙動と消化管吸収の関係を体液中濃度の変化から検討した。ここではクロルテトラサイクリンについて行なった実験結果を紹介する。

塩酸クロルテトラサイクリンには多形の存在が知られている。そこでこの多形の存在を IR スペクトルや X 線回析によってしらべたところ、明らかに異なった 2 種の結晶の存在することが確認された。すなわち、水から再結晶して得られるものは板状晶で安定形（ α 形）であり、また無水エタノールから再結晶して得られるものは針状晶で、準安定形（ β 形）である。これら α 形および β 形の水に対する溶解性を測定したところ、15℃の溶解では、溶解の初期に β 形は α 形の溶解量を大きく超えて明らかに過飽和の濃度を示していることが認められた。しかし 37℃での溶解では、溶解後比較的早い時期に溶解濃度の減少がみられ、 α 形の溶解度にほぼ等しい濃度にまで減少していた。

一方、55℃およびこれ以上の温度では α 形、 β 形両形の溶解曲線はほぼ一致していることから、 β 形から α 形への転位温度はこの附近にあることが推定される。そしてこの転位については、結晶形の観察や IR スペクトルの測定からも確認されている。

また溶媒として 0.1 M 塩酸および pH 7.3 のリン酸緩衝液を用いたときも、水を溶媒としたときと全く同様に比較的溶解度の早い時期に溶解度に差があることが認められている。

さらにまた、結晶の表面積を一定にするため compressed disk を用いて α 形、 β 形の溶解の速さを求めた実験でも、 β 形の溶解速度は α 形よりもはる

かに大きく、直線の勾配から求めた溶解速度では β 形は α 形の約 7.5 倍の溶解速度を有していることが認められた。

なお、この β 形の無水物は吸湿性が強く、相対湿度が 85% や 95% といった高湿度条件下では潮解現象のあることを知ることができた。

次に経口投与を行なったときの消化管吸収におよぼす影響であるが、当然、溶解速度の大きい β 形の吸収の優れていることが予想される。しかし一方で、37℃においては比較的速やかな α 形への転移が認められているので、 β 形を投与したときには α 形投与に較べてただちに著しく優れた血中濃度が得られるとはいえない。従ってこれら α 形、 β 形の消化管からの吸収を家兎およびヒトを用いて比較検討した。その結果家兎の場合では直接十二指腸に投与して、その血中濃度を測定した結果、予想されたように β 形において明らかに高い血中濃度を示すことが認められた。

またヒトに経口投与し、その尿中への排泄量を累積曲線として求めた結果、家兎の場合と同様に α 形を投与したときよりも β 形を投与したときの方が明らかに優れた吸収性を示していることが認められた。

なおテトラサイクリン、クロルテトラサイクリンおよびオキシテトラサイクリン、ジメチルクロルテトラサイクリンなどについても同様に多形の存在を確認し、その性質、分離分析法、消化管吸収などについて検討を行なったが、先と同様の知見を得ている。

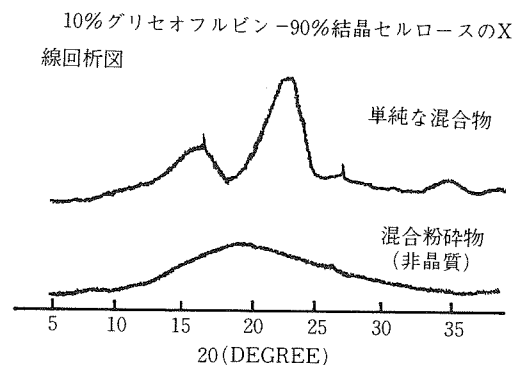
難溶性薬物と結晶セルロースの混合粉碎物の溶解挙動と消化管吸収

製剤において直接圧縮成形による錠剤の製造に用いられている結晶セルロースと種々の薬物を混合粉碎することにより、薬物は非晶質化し、溶解性が著しく増大することが仲井らにより明らかにされた。そこで私達の研究室では千葉大仲井教授との協同研究として、難溶性薬物と結晶セルロースとの

混合粉碎を行い、溶解性の変化ならびに経口投与時の吸収挙動におよぼす影響について検討し、明らかに高く、かつ安定な体液中濃度の得られることを家兎およびヒトに投与して確認し得た。ここでは難溶性薬物としてグリセオフルビンおよびパルミチン酸クロランフェニコールを例として、この混合粉碎による溶解性と経口投与時の消化管吸収について記載する。

グリセオフルビン

グリセオフルビンは粒子径がその吸収に著しく影響することが知られている薬物で、Atkinson らはグリセオフルビンの粒子径を 10μ から 2.7μ まで小さくすることにより吸収率を2倍に増大させ、その結果、投与量を半減させることができたことはよく知られていることである。



グリセオフルビンを結晶セルロース中に10%の割合で混合し、十分に粉碎すると、結晶セルロース、グリセオフルビンの何れもが共に非晶質化する。これは図に示すX線回析によって確認した。なおまた、この非晶質化は電子顕微鏡写真によっても確認されている。

次にグリセオフルビンの結晶性微粉末と結晶セルロースとの混合粉碎物をそれぞれ試料とし、蒸留水を溶媒としてその溶解速度を求めた。その結果溶解開始後10分においては、これら両者の溶解量の差は混合粉碎物では結晶性

微粉末を用いた時の約5倍の値を示し、溶解開始後60分においては、混合粉碎物ではほぼ溶解が終了しているのに較べ、結晶性微粉末の場合ではなお溶解が進んでいる状態で2.5倍の溶解量の差が認められている。このように有機化合物としての薬物を単独で非晶質化することは一般には困難であるが、非晶質は固体の中では高いエネルギー状態を保持しているので良好な溶解性が得られた。

次にこの非晶質化したものの溶解度におよぼす影響を検討するために、結晶性微粉末、混合粉碎物それぞれの多量を用いて溶解実験を試みたところ、結晶性微粉末を用いた場合でもかなり速やかに飽和溶解度 ($13.7\mu\text{g/ml}$) に達するが、混合粉碎物を用いた場合では速やかに飽和溶解度よりかなり大きい過飽和の溶解状態を示し、この過飽和溶液にグリセオフルビン結晶粒子を加えても安定であり、析出は極めてゆるやかに行なわれるものと推定される。そしてこのような過飽和状態を示すことは、非晶質が高いエネルギー状態にある結果、非晶質としての溶解度が大きい値にあるものと考えられる。

このように混合粉碎を行なったものではその溶解は速く、また過飽和に溶解するものであるから、経口投与を行なったときには消化管からの優れた吸収性が期待できることがわかる。

そこで結晶セルロースとグリセオフルビン混合粉碎物をヒトに投与し、グリセオフルビンの結晶微粉末を対照としてその尿中に排泄される代謝物6-デメチルグリセオフルビンの累積曲線を求めた。その結果混合粉碎物を投与したときの方が明らかに優れた吸収性を示し、対照の結晶性微粉末投与時の約2.5倍の排泄量であった。また24時間後、72時間後においても混合粉碎物投与時の方が対照に較べて約2倍の排泄量を示した。

またこの混合粉碎物ではセルロースが薬物の分散媒となっているので、薬物の消化管吸収におよぼすこのセルロースの影響を検討したが何らの影響をも与えていなかった。

パルミチン酸クロラムフェニコール

次の例としてはパルミチン酸クロラムフェニコールの結晶多形の A 形および B 形それぞれと結晶セルロースとの混合粉碎を行なった場合について記載する。

パルミチン酸クロラムフェニコールはすでによく知られているように、クロラムフェニコールの苦味をなくすため、ほとんど水に不溶のパルミチン酸エステルとしたもので、経口投与後は消化管中で酵素による加水分解を受けてクロラムフェニコールとなって吸収される。

このパルミチン酸クロラムフェニコールの結晶多形の準安定形である B 形を投与した時は、酵素による加水分解を受けやすく、したがって高い血中濃度が得られるが、安定形の A 形を投与した時はさきにも記載したように血中にはほとんど現われないことが知られている。

これらの A 形および B 形にそれぞれ結晶セルロースを加え混合粉碎を行なったものではその X 線解析より何れの場合も非晶質化していることがわかった。

次にこの A 形、B 形および両形のそれぞれの混合粉碎物を蒸留水に溶かし、その溶解挙動をしらべたところ A 形、B 形ともに水には難溶性で極めて低い溶解性しかみられないが、混合粉碎物では結晶に較べて何れの結晶形の場合でも 3～5 倍もの溶解速度が認められている。この溶解性の増大は混合粉碎により薬物の結晶が破壊された結果、非晶質となり、セルロース中に分散しているためと考えられる。そして混合粉碎は難溶性の結晶多形においてもその溶解性を増大させることがわかり、したがって多形の難溶性結晶（ここでは安定な A 形）でも薬物として利用し得ることが期待される。

さきにも記載したようにパルミチン酸クロラムフェニコールは、吸収に際して消化管内で加水分解を受けてクロラムフェニコールとなって吸収が起こる

ので、加水分解の速さは吸収の速さに大きく影響する。この加水分解はリパーゼ的作用によるとされているので、リパーゼによる加水分解速度を検討した結果では、A 形の結晶性微粉末以外、すなわち B 形結晶性微粉末および A・B 両形の混合粉碎物は何れもほぼ同じ速さで速に加水分解を受けることが認められた。したがってこれらを経口投与したときは A 形以外はすべて良好な吸収性を示すことが予想される。

パルミチン酸クロラムフェニコールの A 形、B 形およびそれぞれの結晶セルロースとの混合粉碎物（パルミチン酸クロラムフェニコールとして 250mg）をヒトに投与したときの尿中排泄率を総ニトロ体として測定したところ A 形を投与したときはほとんど吸収されないが、この A 形を結晶セルロースと混合粉碎することにより、B 形およびその混合粉碎物と同様にクロラムフェニコール単独投与時にほぼ近い吸収のみられることを認めた。

このように錠剤を圧縮成形する際に用いられる結晶セルロースとの混合粉碎は薬物を非晶質化することにより溶解性を増大し、吸収効率を大きくたかめることが理解され、他の難溶性化合物への応用も期待されよう。

難溶性薬物とポリビニルピロリドン共沈物の溶解挙動と消化管吸収

難溶性薬物の溶解性をたかめるための非晶質化の方法として、さきの結晶セルロースとの混合粉碎の他に、ポリビニルピロリドンや胆汁酸のような水溶性の大きい高分子化合物と難溶性の薬物との共沈物を作る方法が知られている。薬物としてはジゴキシン、ジギトキシン、レセルピンなどを用いた報告が知られているがその生成機構については Simonelli らがスルファチアゾールを用いて共沈物を作り、X 線を用いて検討している程度であった。

そこで私達の研究室では難溶性薬物とポリビニルピロリドン（PVP）との相互作用と消化管吸収の研究に関連して、これら共沈物の生成とその機構および溶解挙動と消化管吸収についての実験を行なった。難溶性の薬物と

PVP との共沈物では薬物が非晶質化しているため溶解性は一般に大きく、このためさきと同様に優れた消化管からの吸収が期待される。この共沈物の例としてはトルブタミドとの共沈物、フェニトンとの共沈物について紹介する。

トルブタミド

トルブタミドと PVP の共沈物において、薬物が非晶質化しているかどうかの検討には、さきの場合と同様に X 線解析により行なった。その結果、トルブタミド:PVP=1:3 の割合で作った共沈物では薬物の結晶性は消失していることが認められた。また示差熱分析の結果でもトルブタミドの融解に伴う吸熱ピークが消失していることから非晶質化していることがうかがえた。

次にこの溶解性については JPⅨ の崩壊試験用の第一液および第二液を用いて測定した。トルブタミド:PVP=1:5 以上の共沈物では最初の数分で急速に溶解が進み15分後には過飽和状態で溶解は完了した。

また第二液に対しては、トルブタミドの pK_a は3.5であり、 pH 7.5の第二液ではイオン形となるので薬物単独でも溶解性はよくなるため、第一液の場合ほど溶解性に著しい差はないが、やはり1:5以上のPVPを含む共沈物では明らかに優れた溶解性を示すことが認められた。

このようなトルブタミド:PVP=1:5の共沈物を用いて家兎に経口投与して血中濃度を測定し、トルブタミド単独投与時の血中濃度と比較した。その結果共沈物の方が単独投与時に較べて優れた血中濃度を示し、血中濃度下面積で比較すると、トルブタミド単独投与時のそれを100とすると共沈物を投与した場合のそれは137となり、有効利用効率の大きいことがわかった。なおこの際実験に用いた家兎は、家兎前に胃洗条を行ない特殊な飼料で飼育し胃内容物をとり去り空にしたものである。

フェニトイン

つぎにフェニトインと PVP との共沈物の溶解性と経口投与時の消化管から吸収性について記載する。

調製したフェニトインと PVP の共沈物の溶解性を、さきのトルブタミドの場合と同様に JPⅨ 収載の崩壊試験用の第一液および第二液を用い、単独のフェニトインの溶解性と比較した。その結果明らかに共沈物の方が優れた溶解性を示し、また PVP の混合比の高いものほど溶解性は大きかった。

次にこの共沈物の経口投与時の消化管からの吸収性については、家兎の血中濃度およびヒトに投与した時の尿中排泄累積値より検討した。

フェニトイン-PVP 共沈物を家兎に投与したときは単独投与時の約2倍の血中濃度を得ており、消化管からの吸収は極めて優れていることが認められた。さらに投与後10時間までのフェニトインの有効利用効率は単独投与時を100とすると共沈物では240となり、極めて優れた結果が得られた。

またヒトに経口投与したときの吸収では投与後120時間までの尿中回収率は、共沈物を投与したときでは約84%で、単独投与時の尿中排泄回収率約54%と較べて明らかに共沈物の方が優れていることが認められた。

このように薬物と PVP の共沈物は薬物が非晶質となって分散媒（あるいは溶媒）PVP 中に分散しているので優れた溶解速度を示し、かつ過飽和にまで溶解することから極めて良好な吸収性を示すものと考えられる。しかしすべての薬物と共沈物を作るのではなく、例えばナリジクス酸のような化合物では共沈物を生成しない。このため薬物と PVP との共沈物の生成の機構や曇点法によるスクリーニングの方法などについても検討を加えている。またこの共沈物を利用した製剤もすでに出現している。

なお薬物の消化管からの吸収は食事の内容によって影響を受ける場合が多

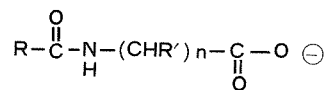
く、例えばグリセオフルビンは高脂肪食によって吸収の促進されることが知られている。しかしフェニトインと PVP の共沈物では食事の影響はほとんど受けないことを認めている。

これら広範にわたる薬物の溶解性とその機序およびバイオアベイラビリティに関する研究は主に、伊藤圭二、森本雍憲、宮崎正三、関川 彬、山本恵司、菊地康博、長谷川明彦、本谷昌二、山本正和、瀬瀬雅彦の諸氏が協力されたものである。また 4 年次学生として在籍していた多くの学生諸君の協力を得た。

3. 薬物の排泄とその機構

薬物の腎排泄は、吸収、組織内移行、体内変化などの移行過程と同様に、薬物の体内での消長に深く関わる薬物移行過程の 1 つである。一方、腎は本来、体液の恒常性をつかさどる重要な臓器であるから、薬物の連続あるいは大量投与などが腎本来の生理機能に与える影響についても副作用、毒性の観点から考慮されなければならない。このため、薬物の腎排泄に対する基礎的知見が増々要求されていたが、この面での研究は十分とは言えなかった。

私達が腎排泄の研究に着手した頃には、Weiner らによって、有機酸に対する一般的腎排泄モデル、すなわち “pump and leak system” が提案され、腎排泄におけるパラアミノ馬尿酸 (PAH) メカニズムによる能動分泌と非イオン性拡散による尿細管再吸収の役割りが強調されていた。一方、同じ頃、Despououlos は、PAH メカニズムの特異的基質構造として、



なる基本構造式を提唱し、これとほぼ等価の構造をもつスルホン酸、スルホンアミド類の分泌の可能性を示唆していた。

しかしながら、これらの仮説には例外も多く、分泌における構造活性相関を含めて酸性薬物一般に対する腎排泄動態については不明の点が多く残されていた。

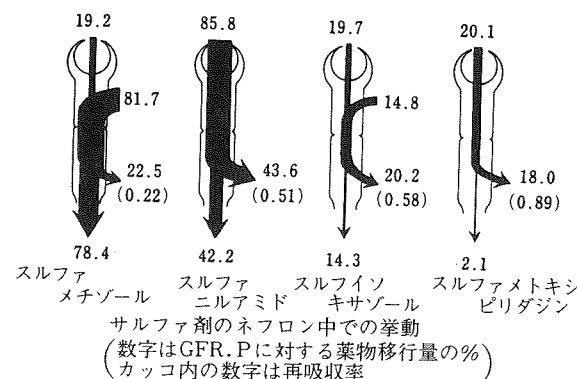
このため私達は、広く酸性薬物の腎排泄動態を明らかにすることを目的とし、スルホンアミド、バルビツレートの二群の薬物をモデルとしてとりあげ、家兎における腎排泄動態について検討した。なお、これら薬物群は、それぞれ脂溶性が異なり、かつ作用持続時間にも差のあるものを選び、腎排泄動態と薬物の物性ならびに作用の持続時間との関連性の上からも考察を加えた。

また腎排泄挙動の検討を行うに際しては、ネフロン中での糸球体濾過、能動的分泌および再吸収過程の全体に対して占める寄与を明らかにするため、これらを数値化して比較でき得るクリアランス法を用いた。さらにバルビツレートにおいては、体内変化や全身的影響が著しいことから、これら腎外の影響を除く目的で、摘出腎還流法を検討し、腎排泄実験に応用した。

スルホンアミドの腎排泄

スルホンアミドには、スルファメチゾール、スルファミン、スルフイソキサゾール、およびスルファメトキシピリダジンの pK_a の異なる 4 種を用いて、ネフロン中での各移行過程の寄与の程度を求めた。すなわち、 $\dot{V}_{\text{max}}$ 最大濾過負荷速度、に対する各移行過程の比を求めたところ、各サルファ剤ごとにその腎排泄を決定する因子は異なることを認めた。図にこれらの結果を示したが、スルファメチゾールでは、再吸収に比べて分泌は著しく大きく、短時間に尿中に排泄される機構を実験的に確かめ得た。一方、スルフイソキサゾールとスルファメトキシピリダジンにおいては再吸収の占める割合が大きく、特に後者にみられる持効性を良く説明でき得る結果を得た。

さらに、尿 pH と尿量に対するこれらの薬物の排泄パターンの検討から、尿細管再吸収メカニズムに対する非イオン型の拡散過程の重要性を明らかにし得た。



摘出腎還流法の検討とバルビツレートの腎排泄

次いでバルビツレート（バルビタール、フェノバルビタール、ペンタバルビタール、メホバルビタール、チオペンタール）の腎排泄をみる上で必要となった摘出腎還流法の検討では、約2時間まで生理機能を維持し得る方法を確立した。

この摘出腎還流法を用いて前述した五種の大きく作用時間のことなるバルビツレートの腎クリアランス実験を行なった結果、いずれのバルビツレートにおいても腎排泄が著しく低いことを認めた。その原因として、高い脂溶性から予想されるごとく尿細管における非イオン型の拡散による再吸収の重要性が示唆され、このことは尿 pH や尿量の影響によっても裏づけられた。さらに一部バルビツレートにおいてプロベネシドにより阻害される分泌メカニズムの存在が推定され、このことは皮質切片に対する蓄積においてエネルギー依存性でかつプロベネシドにより阻害される過程が認められたことと良

く一致した。

以上の結果、Weiner らにより提唱された、いわゆる“pump and leak system”はスルホンアミドおよびバルビツレートのような弱酸性の化合物にも適合し、酸性薬物に対する腎排泄の一般的モデルであることを明らかにし得た。またここで得られた結果は薬物療法においても有益な基礎的知見を与えるものと考ええる。

スルホンアミド体内変化物の腎排泄

私達は、薬物の腎排泄動態については、この他、種々スルホンアミドの体内変化物の輸送様式や、これら化合物の腎排泄におよぼす併用薬（抗炎症薬）の影響などにかんしても検討を加えた。その結果、体内変化物のN⁴-アセチル体は、未変化体の能動的分泌の有無とは関係なくすべて著しく分泌を受けることを認めた。一方、N¹-グルクロナイドにはこの分泌過程はなく、体内変化物でも排泄動態が異なることを見出した。

また、近位尿細管分泌の認められる化合物では、非ステロイド系抗炎症薬であるブコロームやスルフィンピラゾンによって分泌が拮抗的に阻害されることをクリアランス実験により認めた。

この知見は腎における薬物相互作用の発生機序を探る上で有用な指針を与え得るものと考ええる。

これらの薬物の腎排泄機構については、当時の堀 了平助教授を中心に高田昌彦、大和田栄治、阿久津茂隆、高橋克幸、前多絢子、黒畑敏江、山端一宝の諸氏の協力を戴いた。また、4年次学生として在籍していた学生諸君の協力を得た。

胆汁排泄

また私達は、薬物の胆汁排泄についても一部検討を加え、クロラムフェニ

コール, チアンフェニコールのグルクロナイドの胆汁排泄能の飽和, あるいは, スルホンアミドのN⁴-グルクロナイドの腸管循環の可能性など, 興味ある知見を得ている. しかしながら, 胆汁排泄機構については, ヒトと実験動物との間で差異が大きく, 動物の知見が直ちにヒトの動態を反映しないことなども認められてきた. これらのことから, 胆汁排泄については, 動物種差, および腎親和性, 肝親和性における構造相関などの面でこれからも多くの検討が必要とされるものと考ええる.

これら胆汁排泄の研究は, 当時の堀助教授をはじめ上杉 孝, 宮崎勝巳および在籍の4年次学生の協力を得た.

4. 膜の薬物投与法としての利用

薬物が投与箇所ですぐに放出されるかまたは溶解し, 溶け出した部分の吸収速度と体内での消失速度がつり合えば, 体液中薬物濃度も維持される. このため体内で薬物を徐々に放出, 溶解する方法を検討することは投与法改善の上からも重要である. この投与箇所において薬物を徐々に放出する方法には化学的方法と物理化学的方法などが考えられる. 前者は化学的手法によって薬物の溶解度を小さくする方法であり, 難溶性の塩, 複合体, prodrugの合成などにより達成される. さらに, 高分子に薬物を化学結合させ, 徐々に加水分解することにより薬物を遊離させる方法もこの中に含めて考えることができる. 一方後者は, 薬物を薬物透過の barrier となる膜の内側に包んで, 薬物の膜透過または膜物質の溶解に伴う内容薬物の溶出を律速過程とすることにより達成される. ここでは, 後者の物理化学的方法についての多数の知見の中から2, 3紹介する.

まず, 合成高分子膜の透過についてであるが, シリコンのチューブ内に薬物を封入して体内に埋め込むことにより, 持続的薬理効果の得られること

が発表されて以来, 多くの薬物についてシリコン膜透過性が研究され, 持続放出に関する検討が行われてきた. そこで私達は添加物が薬物のシリコン膜透過に与える影響について検討した. その結果, 薬物溶液中にそれ自身は透過しないが薬物を溶けた状態に保つ貯蔵庫として, 薬物を複合体, ミセル, エマルジョンなどの形に溶かし込んでおくと, 単なる溶液に較べて放出の持続化が得られることが認められた. この例として, 局所麻酔薬ブタンベンと包接複合体を形成する β -cyclodextrin の共存下での放出, あるいはこの薬物をミセル中に含む dodecyltrimethylammonium 溶液からの放出等があげられる.

次に, 生物分解性高分子膜透過についてであるが, 水に不溶性の高分子から成る膜の多くは体内にいつまでも残存し, 組織内に投与する材料として適当とはいえない. 一方, 水に難溶性であっても生体内の環境で徐々に加水分解し, ある期間で消えてしまう高分子は, 一定期間は膜としての機能を示し, その任務終了後は生体の消化作用に任せておけば好都合である. 一般にタンパク質は体内で消化されうるが, 抗原性があるので組織内投与の膜物質としては不適当とされた. この点アテロコラーゲンは抗原性が低く, 人工臓器材料として使用できるといわれている. そこで, この膜を用いて透過実験を行ったところ, このコラーゲン膜の透過速度は透過薬物の電荷状態によって変化することを見い出した. すなわちスルファメチゾールの透過速度はカチオン形を示す pH 1.4 で最も小さく, 非イオン形を示す pH 3.8 で最も大きいことが示された.

次いで, ハイドロゲルの薬物徐放効果についてであるが, こんにゃくゲルは調製する段階で過剰の薬物をゲル内に含み得ることから, 局所麻酔薬ジブカインのゲル内分散体からの薬物放出挙動を検討した. この場合, 薬物固体をゲル全体に分散させた monolithic system と, 芯部分のみに薬物を分散させ, 薬物を含まないゲルで包んだ depot system を調製して薬物の放出挙動を比

較した。その結果、こんにゃくという弾性ゲルからの放出にもシリコン matrix, シリコン膜などで見い出されている関係が成立することが認められた。

さらに薬物の放出制御のためのマイクロカプセルについても種々検討を行ってきたがその中の 1 例としては、スルファメチゾールの腸溶性マイクロカプセルを作製して、ヒトに経口投与した場合、市販の錠剤に比べて、尿中排泄が持続化する結果等も得られている。

これら薬物の膜透過制御についての研究は、当時の中野眞汎助教授を中心にして、従二和彦、朽木 彰、平石佳子、郡 修徳、谷口誠、斉藤香織、富塚俊昭、柴田めぐみ、猪爪信夫の諸氏の行ったもので、また在籍の 4 年次学生の協力も得た。

5. 持続性製剤の開発

院内で特殊製剤を開発して、より濃密な薬物治療に貢献することは、薬剤学研究の 1 つの方向であり、私達は薬物吸収において、個体間および同一個体内変動の小さい持続性製剤を開発することを目的としてきた。この変動に関係する要因については種々考えられるが、私達は消化管内 pH、および胃内 pH の変化および消化管内移動速度、特に胃排出速度の変化を考慮に入れ、これらの要因に影響をうけにくい製剤を検討してきた。

持続性製剤の剤形は、胃排出速度に大きく影響を及ぼす要因であり、錠剤タイプ (single-unit 型) と顆粒タイプ (multiple-units 型) では顆粒剤の方が錠剤よりも胃排出速度の個体間の変動が小さいことが示されている。したがって吸収性の変動も顆粒剤の方が小さくなることが予想されることから、持続性製剤の剤形としては顆粒剤を選んだ。

ここではニフェジピンの持続性製剤例を紹介する。持続性製剤として、放

出機構の異なった 2 種類の顆粒剤すなわち、pH 依存性徐放性顆粒と pH 非依存性徐放性顆粒を作製した。その製法は、薬物と高分子を有機溶媒に溶かし、トウモロコシデンプンを添加し攪拌混合後、攪拌を続けながら溶媒を除去させる。適当な稠度になってから、篩を用いて造粒を行う。さらに乾燥、整粒を行った後の顆粒を実験に用いた。この場合、高分子は顆粒の結合剤となるが、pH 依存性徐放性顆粒にはエチルセルロースとヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、pH 非依存性徐放性顆粒にはエチルセルロースとヒドロキシプロピルメチルセルロースを用いた。このように製法については、製剤に特殊な技術 (マイクロカプセル化等) や機械器具を必要とせず、かつ容易に入手でき得る製剤用高分子の組み合わせで持続化をはかることを目的としている。

続いて胃排出速度を制御した家兎に経口投与した結果、pH 依存性徐放性顆粒の場合には、最高血中濃度到達時間が個体間で大きく変動することが認められた。これは、胃内 pH の上昇または胃排出速度の増大に伴い、この腸溶性顆粒の本来の目的である吸収の遅延が示されなかったためと考えられる。

一方、pH 非依存性徐放性顆粒の場合は、吸収挙動に個体間で大きな変動は認められず、かつ投与後 12 時間においても血中に薬物が検出された。したがって、pH 非依存性徐放性顆粒は、その吸収が胃内 pH や胃排出速度の変化によって影響を受けにくい持続性製剤であることが示唆された。次いでこの pH 非依存性徐放性顆粒をヒトに経口投与した。ニフェジピンは生物学的半減期が短いことより、一般に 1 日 3 ~ 4 回、1 回 10mg ずつ投与するが、本顆粒の場合、1 日 2 回、1 回 20mg ずつの投与で十分に有効血中濃度を維持できることが認められた。

現在は、難溶性の酸性および塩基性薬物が胃内 pH の変化により吸収挙動が大きく変動することが報告されているが、これら薬物についても本製剤技法を適用して、pH 非依存性徐放性顆粒を作製し、*in vivo* での評価を検討し

ている。

この研究は主に病院薬剤部に赴任してから始めたものであり、宮崎助教授とともに郡 修徳、深井敏隆、真下陽子の諸氏の協力を戴くと同時に、4 年次学生として薬剤部研究室に分属し、本実験に携わった学生諸君の協力を得た。

6. 薬物の体液中濃度測定と治療への応用

薬物の体内動態の機構が次第に明らかにされていくにしたがい、各薬物の体内からの消失に対する腎からの排泄、あるいは腎外経路による消失（主に肝による代謝、胆汁排泄等）過程の寄与の大きさも明らかとなってきた。また一方で、多くの薬物の体液中濃度の定量法が開発されてきたことから、腎臓機能の障害等の病態時における体液中濃度の変動と投与設計などの治療管理についても多くの知見が集積されてきた。

心不全時における薬物の体液中濃度の変動

私達は、病態時の体液中濃度の変動にかんしては、腎や肝ほどにはその変動について明らかにされていない心不全時に着目し、主に腎から能動的分泌機構に従って排泄される薬物の血液中動態、および尿中排泄挙動について検討を行った。

心不全時には、腎、肝、消化管などへの血液流量は減少することから、これら臓器に器質的障害がない場合にも健常人に比べて体内挙動は変動することが十分に予想される。薬物には、主に腎から排泄されるフロセミドとアンピシリンを選び、循環器内科との協同のもとに、うっ血性心不全患者ならびに健常人に投与した後の体液中薬物濃度を測定し、体内動態を比較した。これらの検討によりフロセミドの場合には、以下の様な結果が得られた。

1. 静注 (40mg) および経口投与 (80mg) 後の血漿中濃度推移は、two compartment open model によって解析できた。
2. 心不全患者群は健常人群に較べて、血中濃度半減期 ($t_{1/2}(\beta)$) は、明らかに遅延した。この傾向は静注時では特に著しく、かつ、患者群では、心不全の重症度が強くなる程、 $t_{1/2}(\beta)$ は遅延していた。
3. 患者群の尿中へのフロセミドの排泄量ならびに、腎クリアランスは、健常人群に較べ明らかに減少していた。この傾向は、重症度の高い患者程大きかった。
4. 尿量は、フロセミドの尿中への排泄量と腎クリアランスに相関し、また Na, Cl の尿中排泄量とも相関することが認められた。
5. 患者群において、心拍出流量と経口投与後の消化管からの吸収率の間には良い相関関係がみられ、吸収に対しても、血液流量は大きな影響を及ぼしていることが認められた。
6. 末梢血管拡張薬のヒドララジンの併用により、患者群の $t_{1/2}(\beta)$ は短縮し、尿中へのフロセミドの排泄量は増加したが、これに伴い、尿量も増大した。

このことから、難治性心不全におけるフロセミドの効果は、ヒドララジン併用により高められることが示唆された。

またアンピシリンについても、フロセミドと同様に、患者群の $t_{1/2}(\beta)$ は遅延し、尿中への排泄量は著しく減少することが認められた。

これらの結果にみられる様に、腎に器質的障害がない場合にも、心不全時には体内動態が変動することから、病態時における薬物治療には十分留意する必要があることが示唆された。なお、これら 2 種の薬物の腎排泄は、主に近位尿細管での能動分泌に依っていることから、この系で尿細管に輸送される薬物群の心不全時における動態変動については、興味のもたれるところであり、今後とも検討される必要があろう。

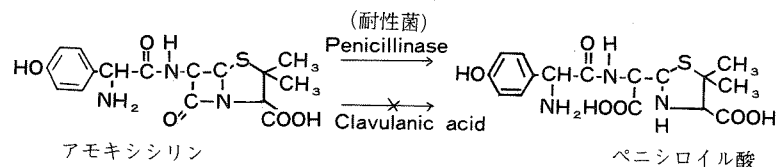
他の病態時における体内動態の変動

病態時における体内動態の変動については、この他、甲状腺クリーゼの一症例におけるプロプラノロールの血中動態の変動(循環器内科との協同研究)や、複雑性尿路感染症時におけるアンピリシン、あるいはアモキシシリンの不活化とその抑制(それぞれ、当院泌尿器科および札幌医大泌尿器科との協同研究)等についても検討した。

前者のプロプラノロールの検討では、クリーゼ期の血中濃度半減期には、甲状腺機能亢進時よりも延長がみられ、かつ、少量の経口投与にもかかわらず比較的高濃度の血液中濃度を得ている。これはクリーゼのさいにみられた肝機能障害の影響によると推察され、症状の推移に伴って、肝での代謝機能が変動していることが考えられる。

重症尿路感染症における、アモキシシリンの不活性化の検討では、私達の開発した未変化体とペニシロイル酸を分別して定量できる蛍光法を用いることによって、不活性化、ならびに併用薬の不活性化に対する抑制効果を定量的に観察し得た。すなわち *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* 等を検知した患者の尿中にこれらの薬物を添加すると、速いものではわずかに数分で完全に不活化され、殆どがペニシロイル酸になることが認められた。一方、この分解は、クラブラン酸の共存によって、著しく抑制を受けるが、同時に患者に経口投与した場合にも、単独時にみられるペニシロイル酸の高い尿中排泄が、クラブラン酸併用によって健常人程度にまで減少することが認められた。

またアンピシリンについても同様の不活性化がみられ、かつジクロキサシン併用による抑制効果も観察されている。



シュミレーションプログラムによる投与計画の立案

私達は、これらの病態時における薬物の体内動態の変動にかんする研究の他、薬物の血中濃度の測定を治療等へ応用した例として、シュミレーションプログラムによる血中濃度の予測と投与量の設計などについても行ってきた。これは患者の血中濃度推移から動力学のパラメータを求め、これを用いて、目的とする血中濃度を得るための投与量、投与間隔などを設定するものであり、患者個々人に適した治療管理を行ううえで、極めて有用な手法である。

この方法を薬物治療の際に導入することが有益とされている薬物は、いわゆる、血中濃度の有効領域と副作用・毒性発現領域とが近接している薬物、すなわち治療指数の小さい薬物である。これらには、抗テンカン薬、ベンゾジアゼピン類、アミノ配糖体、強心配糖体、抗不整脈、テオフィリン等々があり、多くの医療機関で血中濃度のモニタリングを行い、治療に役立たせている。私達も、一部の薬物のモニタリングを行ってきたが、ここでは、個別のモニタリングについては触れず、先にも述べた血中濃度の予測と投与量の設定について幾つか行ってきただけの、ジアゼパムの症例を紹介する。

本症例は精神神経科との協同研究にて行ったが、ジアゼパム中毒からの離脱を投与量を漸減していく方法で治療する一環として検討したものである。まず最初にジアゼパムの血中濃度曲線を one compartment open model にて解析し、薬動学的パラメータを求めた。次いで、1回投与量を15mgから2.5mgまで漸時減らし、約1ヶ月後くらいに血漿中の未変化体濃度が定量法の検出限界(約20ng/ml)以下になる様に投与量を算出し、設定した。その後、ジアゼパムおよび活性代謝物であるノル体やオキサゼパムの血漿中濃度を定期的にHPLCにて測定し、シュミレーションプログラムにて求めたジアゼパムの予想濃度と比較した。その結果、両者はほぼ一致することを認め、漸減法による中毒からの離脱療法に一部貢献し得た。なお、ノル体の血中濃度はジアゼパムよりも数倍高いことも同時に認められ、この活性体が消失すること

も治療管理の一助とした。

このような、薬物の体液中濃度の測定に基づいて得た情報を治療計画に組み入れていく試みは、直接、医療に貢献し得る手法の1つとして、今後大いに発展されるべき薬剤研究の1分野であろう。

これらの研究は病院薬剤部に赴任して以来、発展させてきたものであるが、医学部の諸先生方のご協力、ご指導を戴いてはじめて成し得たものであり、ここに感謝の意を表する。また、これらの研究は薬剤部の研究室の全員の協力のもとに行ってきたが、特にシュミレーションプログラムの作成と開発には、宮崎助教授を中心に石沢孝之、笹山辰之諸氏の協力を戴いた。

7. 薬物の化学的定量法の開発

掛見喜一郎教授^{もと}の下で、消化管吸収をはじめとした薬物動態研究を行っていた京大時代にも、その必要性から主に化学療法剤、抗菌性物質の化学的定量法を開発し、ヒトの血中濃度の測定や動物実験に供してきた。これらには、チオアセタゾーン、ジヒドロストレプトマイシン、バイオマイシン、カナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール等があるが、当時の分析機器の使用状況から、測定は主に比色法に依るものであった。

一般に、抗菌性物質にかぎらず薬物の体内未変化体、あるいは活性体を正確に測定することは、薬理効果のみならず薬物の体内動態を明らかにしていく上で極めて大切なことである。特に、抗菌性物質の場合には、生物学的検定法に頼らずを得ない場合が多く、代謝物を含めて、体内動態を知るための正確な^レ物指し^のの作成が強く要求されていた。

北大に赴任してからも、当時の、第二内科、真下啓明教授との協同研究で、チアンフェニコールの比色定量法を開発して、臨床に応用するとともに、体内動態、主に胆汁排泄機構の研究等に供した。この他、赴任後2、3年の間

に開発した定量法には、メトクロプラミド、シクロカルボチアミン等があり、前者は、芳香族一級アミンに対するジアゾ化反応を応用し、家兎における代謝あるいは体内分布等の実験に用いた。また後者は、投与後体内で生成するチアミンと未変化体とを分別した後に、蛍光法で測定するものであるが、この頃の蛍光計は主にファーランドや八木式の蛍光計が用いられていた。

これ以後、急速に、機器の操作法も簡便で、感度や精度にも優れた国産の蛍光分光光度計が普及し始めたので、早速私達も、薬剤学講座および病院薬剤部の試験研究室に設置した。

この頃、抗菌剤では、経口ペニシリンが次々と開発され臨床で用いられていたが、特に、アンピシリンは、グラム陰性菌に対しても抗菌スペクトルを有する初の経口ペニシリン剤として脚光を浴び、その使用頻度も著しく高かった。アンピシリンは、それまでのペニシリン類とは異なり、分子内に NH_2 基と COOH 基の両解離基を有し、全 pH 領域でイオン型を呈するが、消化管からの吸収は、40%前後と比較的高い。従って、消化管からの吸収は、 pH 分配仮説^では説明でき得ず、その機構には極めて興味もたれるところであった。さらに、アンピシリンに続き、同族体であるアモキシシリン、あるいは、セフェム系のはしりでもある経口セファロスポリンが次々と開発段階に入った時期でもあり、感度の優れた測定方法の開発は、吸収機構を含めた体内動態などを検討する上で是非とも必要なことであった。

このため私達は、アンピシリンをはじめ、アモキシシリン、セファレキシン、セフラジン、セファトリジン等の蛍光法による化学的定量法を開発してきた。ここでは、これらのうち、主にアンピシリンの定量法について触れると同時に、より微量を測定するためにその後さらに検討を加えた、蛍光計を検知器とするこれら薬物のHPLC法について紹介する。また、最近その普及がめざましいHPLCを用いて開発した、抗菌剤以外の数種の薬物の定量法についても、ごく簡単にではあるが紹介する。

β-ラクタム抗生物質

アンピシリンの定量法には、それまで主にバイオアッセイ法、ビドロキシルアミン法（比色法）、イミダゾールとの反応による紫外吸収法、ヨウ素法ならびに Jusko によるホルムアルデヒド存在下に加熱する蛍光法等が用いられていた。しかしながら簡便性、再現性、感度ならびに分解物（代謝物）との分別などの面で、これらの方法は体内動態の研究に用いるには適していなかった。

私達は、感度の面から、蛍光法による定量法の必要性を感じて検討を進めていたが、Jusko の報告にみられるように、蛍光物が分解物のペニシロイル酸から生成されることに着目した。このため、未変化体から直接にはなく、アルカリ性下で容易に生成するペニシロイル酸から、緩和な条件で蛍光物質を生成させる条件について種々検討することにした。この際、ペニシロイル酸の分解は、 HgCl_2 等の金属イオンの存在によって著しく促進されることが報告されていたことより、この知見を利用した。その結果、ペニシロイル酸は、極めて低濃度の HgCl_2 (0.04%, w/v) の存在下において、40℃にて加温することにより (pH 6.0) 定量的に蛍光物質となることを見いだした。一方、これらの条件下では、未変化のアンピシリンは安定であることを確認した。

これらの検討結果から、未変化体と代謝物であるペニシロイル酸との分別定量は、アルカリ性にして全てペニシロイル酸としてから求めたトータルから、ペニシロイル酸に基づく蛍光値を差し引いて求めることが出来た。本蛍光法の感度は、バイオアッセイ法に匹敵する程高く、血漿中や組織中での定量に繁用されている。

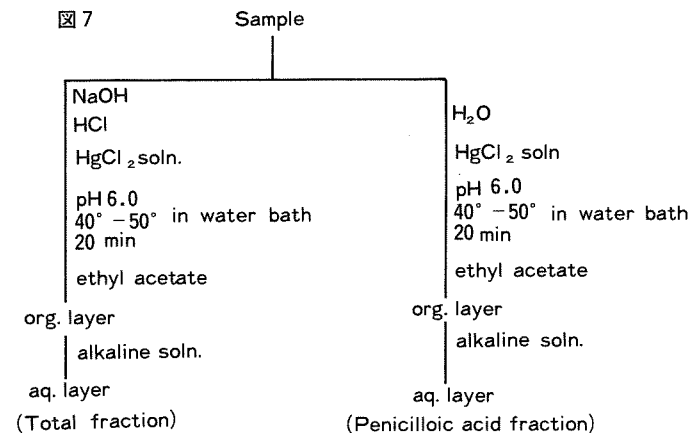
その後、この測定原理をアモキシシリンにも広げ、また、セファレキシン、セフラジン、セファトリジン等に対しても感度の優れた蛍光法を開発して吸

収実験に供した。

一方、逆相分配カラムを用いる HPLC 法は、セファロスポリン類の UV 吸収の強さを利用して定量に広く応用出来得ることが見い出され、かつ簡便であることから体内動態の研究に広く利用されてきた。しかしながら、吸収機構をはじめとする詳細な膜透過機構の研究、例えば、アミノ酸やジペプチド類との膜透過性の比較などを行うためには、直接に UV 吸収を検知する HPLC 法では感度も 1 オーダー低いことから、私達は先に開発した蛍光定量法を HPLC と組み合わせて、感度の上昇を画った。

この方法は、蛍光物を生成させた後、有機溶媒にて抽出し、濃縮した試料について、逆相分配カラムを用いた HPLC で定量するものである。本方法を使用することにより、アンピシリン、アモキシシリン、セファレキシン、セフラジンなどのアミノペニシリン、アミノセファロスポリンの吸収機構を、従来膜レベルの実験系に使用されてきているアミノ酸等の内因性物質と同程度の濃度で行うことが出来るようになり、より詳細な機構の検討が可能となった。現在私達は、用いる実験系や薬物濃度によって、それぞれの測定方法を使い分けている。

図 7



蛍光法によるアンピシリン、アモキシシリンのペニシロイル酸との分別定量法

化学療法剤、抗菌剤以外の薬物定量法

先にも述べた様に、最近の、カラム等を用いた分離分析機器の発展にはめざましいものがある。特に HPLC においては、担体であるカラムの種類も、順相系、逆相系、イオン交換、分子篩など、分析対象の有する構造や、物性に応じて、適宜、選択でき得る程にそろっており、かつ容易に入手出来る。このため私達は、目的とする薬物の適切な体液中での定量法がない場合には、積極的に HPLC を用いて、新たな体液中の定量法を開発し、実験に供してきた。これら薬物（抗菌剤以外）には、抗高脂血漿薬のニコチン酸とその代謝物（nicotinuric acid および nicotinamide）、Ca 拮抗薬のニフェジピン、気管支喘息薬のトラニラスト、抗テンカン薬のクロナゼパム、四級アンモニウム化合物のプロバンテリン、免疫抑制薬のシクロスポリン A などがある。

このうち、ニコチン酸とその代謝物の HPLC 法は、カチオン交換樹脂を用いて、血漿中の未変化体と 2 種の代謝物の一斉分析をはじめて可能にしたものである。従来の比色法やイオン対 HPLC 法に比較して、ニコチン酸および代謝物に対する特異性は高く、かつ操作も簡便であり、臨床的に使用するうえでも有用性は高い。

この他、先に掲げた薬物は全て逆相分配カラムを用いて定量法を新たに開発したものである。ニフェジピン、トラニラスト、クロナゼパム、プロバンテリンは、感度も高く、前 3 者は主に臨床に、プロバンテリンは、吸収機構の検討にそれぞれ用いている。またシクロスポリン A は、Garaffo らの全血中濃度測定法に改良を加えたものであるが、操作中での有機溶媒による洗浄操作を加えることにより、再現性が一段と向上した。一方、臓器移植後のシクロスポリンによる治療において、移植臓器に対する拒否反応や、シクロスポリンによる腎毒性の発現を防止するためには、ラジオイムノアッセイ法によるのではなく、全血中のシクロスポリン濃度を HPLC 法によって測定し、治療管理を行うことが最も重要であると指摘されている。私達の測定法は、

この意味においても適しており、日常のくり返しの測定にも十分耐えうる方法であることを確認している。

これら薬物の体液中濃度の測定法の開発は、宮崎助教授をはじめ伊藤圭二、市川数生、荻野 修、佐藤博征、斉藤香織、唯野貢司、笹山辰之の諸氏の協力によるものであり、また在籍の 4 年次学生の協力を得た。

結 語

これまで述べてきたように、生物薬剤学はこの 40 年の間に薬剤学を支える大きな柱となるまでに成長し、発展してきた。また、生物薬剤学は、今日の臨床薬理学、薬物治療学および医療薬学などにもとり入れられ、これらの発展の基盤ともなってきた。したがって今日の医療のなかで、ますます薬剤学研究の重要性が評価されていくことを期待して止まない。

学 歴

- 昭和23. 3. 京都大学医学部薬学科卒業
 昭和31. 6. 薬学博士（京都大学）

受 賞

- 昭和39. 4. 日本薬学会学術奨励賞受賞（医薬品の吸収と排泄に関する研究）
 昭和58. 5. 病院薬学賞受賞
 昭和61. 10. 北海道社会貢献賞（知事賞）受賞

履 歴

大学，文部省関係

- 昭和23. 4. 1.～昭和24. 5. 31. 京都大学医学部附属医院有給副手（助手同格）
 昭和24. 6. 1.～昭和32. 12. 15. 京都大学助手（医学部附属病院）
 昭和32. 12. 16.～昭和35. 3. 31. 京都大学助教授（医学部）
 昭和35. 4. 1. 京都大学に薬学部が設置されたのにもない薬学部配置換
 昭和37. 5. 10.～昭和38. 5. 23. アメリカ合衆国出張（バージニア州立大学）
 昭和38. 4. 1.～昭和40. 4. 30. 京都大学大学院薬学研究科担当
 昭和40. 5. 1.～昭和53. 3. 31. 北海道大学教授（薬学部薬剤学講座担当）
 昭和40. 5. 1.～昭和53. 3. 31. 北海道大学大学院薬学研究科担当
 昭和40. 7. 1.～昭和62. 3. 31. 北海道大学医学部附属病院薬剤部長併任
 昭和40. 9. 1. 北海道大学大学院薬学研究科（修士課程）入学試験委員
 昭和42. 8. 28.～昭和43. 3. 31. 北海道大学医学部附属看護学校講師併任
 昭和43. 6. 14.～昭和44. 3. 31. 北海道大学医学部附属看護学校講師併任
 昭和44. 9. 3. 北海道大学大学院薬学研究科（修士課程）入学試験委員
 昭和45. 4. 1.～昭和46. 3. 31. 北海道大学留学生会館委員会委員
 昭和48. 4. 1.～昭和50. 4. 10. 北海道大学大学院委員会委員
 昭和49. 2. 1.～昭和50. 12. 31. 学術審議会専門委員（科学研究費分科会第1段審査委員）

昭和49. 8. 30.～昭和49. 9. 27. イタリア, スイス, フランス, ドイツ, スウェーデン, 連合王国およびアメリカ合衆国へ出張

昭和50. 7. 12.～昭和50. 7. 30. 連合王国, オランダ, ドイツ, デンマークおよびフランスへ出張

昭和52. 10. 1.～昭和53. 3. 31. 北海道大学学生部委員会委員

昭和53. 4. 1. 北海道大学医学部附属病院に配置換 (医学部教授会構成員) 薬剤部長を併任

昭和53. 4. 1.～昭和62. 3. 31. 北海道大学大学院医学研究科担当

昭和53. 4. 1.～昭和54. 3. 31. 北海道大学薬学部講師併任

昭和53. 11. 4.～昭和53. 12. 23. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和54. 4. 13.～昭和54. 9. 29. 北海道大学薬学部講師併任

昭和54. 10. 1.～昭和55. 3. 5. 北海道大学薬学部講師併任

昭和54. 10. 13.～昭和54. 12. 26. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和55. 4. 12.～昭和55. 6. 7. 北海道大学薬学部講師併任

昭和55. 9. 13. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和55. 12. 6.～昭和56. 2. 28. 北海道大学薬学部講師併任

昭和56. 4. 11.～昭和56. 7. 31. 北海道大学薬学部講師併任

昭和56. 9. 26. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和56. 12. 5.～昭和57. 2. 27. 北海道大学薬学部講師併任

昭和57. 4. 8.～昭和57. 7. 31. 北海道大学薬学部講師併任

昭和57. 9. 25. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和57. 12. 4.～昭和58. 3. 26. 北海道大学薬学部講師併任

昭和58. 4. 9.～昭和58. 7. 30. 北海道大学薬学部講師併任

昭和58. 10. 15.～昭和58. 10. 22. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和58. 12. 3.～昭和59. 2. 25. 北海道大学薬学部講師併任

昭和59. 2. 2.～昭和60. 4. 20. 北海道大学国際交流促進委員会専門委員

昭和59. 4. 1.～昭和60. 3. 31. 北海道大学薬学部講師併任

昭和59. 9. 7.～昭和59. 9. 14. 北海道大学医学部附属助産婦学校講師併任

昭和60. 4. 20.～昭和61. 9. 30. 北海道大学国際交流促進委員会委員

昭和60. 4. 13.～昭和61. 3. 31. 北海道大学薬学部講師併任

昭和61. 2. 1.～現在 学術審議会専門委員 (科学研究費分科会第2段審査委員)

昭和61. 4. 1.～昭和62. 3. 31. 北海道大学薬学部講師併任

昭和61. 7. 1. 指定職

昭和62. 3. 31. 停年退官

厚生省関係

昭和54. 12. 1. 薬剤師国家試験委員

昭和55. 4. 14. 薬剤師国家試験委員

昭和55. 12. 1. 薬剤師国家試験委員

昭和56. 4. 14. 薬剤師国家試験委員

昭和56. 11. 28. 薬剤師国家試験委員

昭和57. 4. 14. 薬剤師国家試験委員 (同委員長)

昭和58. 4. 14. 薬剤師国家試験委員 (同委員長)

学会, 病院薬剤師会関係

昭和37. 4.～現在 日本薬学会薬剂学委員会委員

昭和41. 4.～昭和50. 3. 日本分析化学会北海道支部幹事

昭和43. 4.～昭和44. 3. 日本薬学会北海道支部長

昭和44. 4.～昭和46. 3. 日本薬学会評議員

昭和44. 4.～現在 日本化学療法学会評議員

昭和45. 8.～昭和49. 7. 北海道病院薬剤師会会長

日本病院薬剤師会理事

昭和50. 10. 日本薬学会主催, 第七回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム実行委員長

昭和55. 4.～昭和56. 3. 日本薬学会北海道支部長

昭和56. 4.～昭和57. 3. 日本薬学会評議員

昭和57. 4.～昭和59. 3. 日本薬学会理事

昭和57. 4.～昭和61. 6. 北海道病院薬剤師会会長

日本病院薬剤師会理事

地方自治体

昭和52. 8.～昭和59. 7. 北海道地方薬事審議会副作用調査専門委員会委員

昭和57. ～昭和58. 札幌市洗剤検討委員会委員

昭和59. 8.～現在 北海道地方薬事審議会委員

同副作用調査専門委員会委員

有田隆一教授退官記念誌

発行日 昭和62年 3 月20日
編 集 北海道大学医学部附属病院薬剤部
発行者 有田隆一教授停年退官記念事業会
印 刷 北海道大学生協同組合印刷事業部
『北 大 印 刷』
