

### 医薬品の消化管吸収

医薬品の多くは経口投与され、剤形別生産量における経口投与製剤が占める割合は 60% を超える。これらの医薬品が効果を発揮するためには、腸内殺菌など一部を除いて消化管から薬物が吸収され、血流中に移行しなければならない。しかし、消化管は皮膚や肺と同様に異物や有害物質が体内に侵入する経路になる。そのため、消化管には異物の侵入に対する様々なバリアー機能が構築されており、これが経口投与された薬物の吸収にも大きな影響を及ぼすことが示されている。したがって、消化管吸収の機序や消化管吸収の変動要因を正しく理解することは、経口製剤を適正に使用するうえで重要である。

薬物は、いずれの剤形で経口投与された場合でも、吸収されるためには消化管内液に溶解した状態で存在することが不可欠である。溶液状態にある薬物は、受動拡散 *passive diffusion* (単純拡散 *simple diffusion*, 受動輸送 *passive transport* ともいう), 促進拡散 *facilitated diffusion*, 能動輸送 *active transport*, 膜動輸送 *membrane transport* などの機構により分類される。例えば Park は次のように分類し、他の研究者もこれと同様に分類しているものが多い。

Passive transport (受動輸送)	① Simple diffusion	比較的小さい分子で難脂溶性の非電解質
	② Solvent drag	①と同様であるが水の流れが関与
	③ Diffusion restricted by membrane charge	無機イオン
	④ Diffusion restricted by a lipid barrier	脂溶性非電解質と弱電解質
	⑤ Facilitated diffusion	Carrier が関与
	⑥ Exchange diffusion	Carrier が関与
Active transport (能動輸送)	⑦ Active transport	狭義の能動輸送 carrier が関与
	⑧ Pinocytosis	
	⑨ Phagocytosis	

これらのうち、⑤-⑨の機構は生体に関係の深い栄養物質などの吸収に見られるものである。薬物は一般に *passive* な過程、つまり濃度勾配に従って吸収されるとされており、特に④の機構が重要である。リン脂質の二重層で構成される吸収上皮細胞膜は、脂溶性の高い薬物に透過性を示す。多くの薬物は弱電解質であり、弱酸または弱塩基の性質を持つ。従って、薬物が消化管内で溶解状態にあるとき、その薬物に固有の *pKa* 値に応じて分子形分子またはイオン形分子として存在する。一般にイオン形分子は分子形分子に比べて極性が高く、その分、脂溶性は低下する。このため、受動拡散による吸収は主に分子形分子によって起こると見なされている(図 1)。したがって、

- i. 吸収部位の上皮細胞膜表面で、どの程度分子形分子として存在しているか
- ii. その分子形分子がどの程度の脂溶性を有しているか

が、消化管吸収を決定付ける重要な要因となる。このように、薬物は分子形のみが生体膜を通過することを前提として、*pH* の変化に伴う解離の程度と薬物分子の脂溶性を元に薬物の吸収を説明しようとする理論を **pH 分配仮説** という。この理論は Brodie らによって提唱され、消化管吸収に関してこの仮説に従う実験結果が数多く知られているが、同時にこの仮説では

説明出来ないような例も認められている。

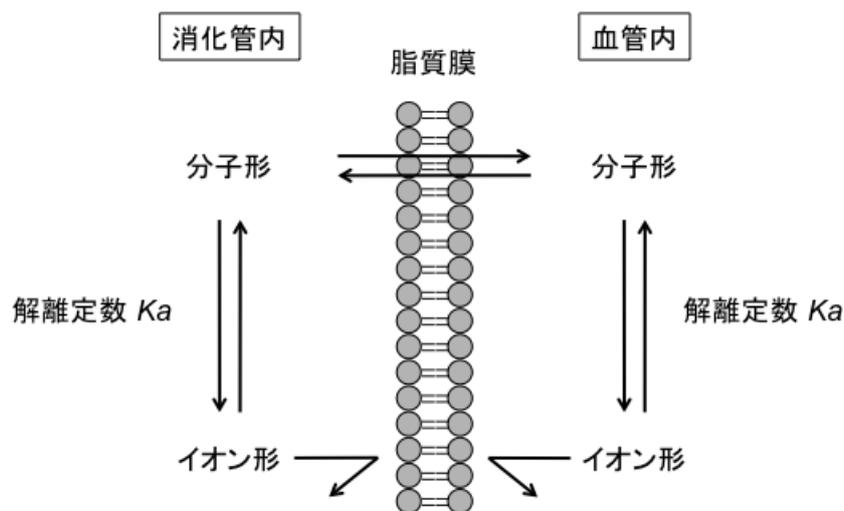
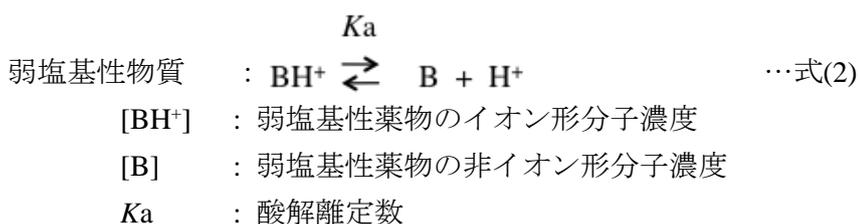
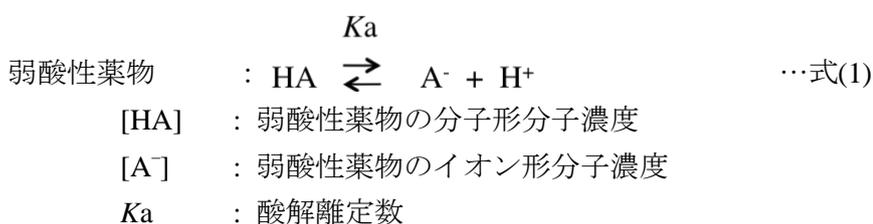


図1 pH分配仮説に従う薬物の生体膜透過

本実験では有機弱塩基を用い, その消化管吸収が pH によってどのような影響を受けるか検討する。

溶液状態での薬物の解離は弱酸性薬物, 弱塩基性薬物でそれぞれ以下のような平衡状態にある。



式(1)と式(2)から pH と pKa について次の関係式 (Henderson –Hasselbalch 式) が得られる。

$$\text{弱酸性薬物} \quad : \quad \text{pKa} = \text{pH} + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

$$\text{弱塩基性薬物} \quad : \quad \text{pKa} = \text{pH} + \log \frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}]}$$

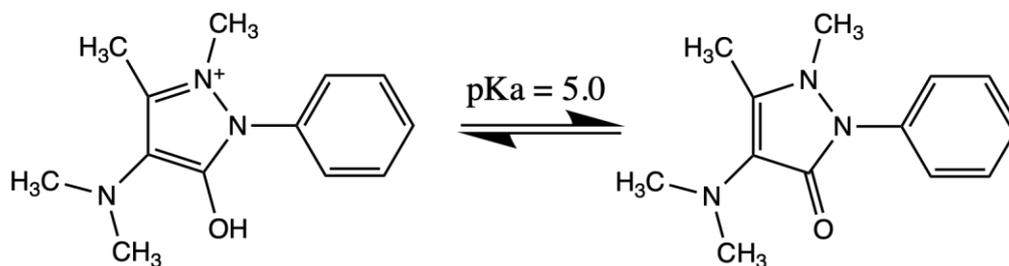
Henderson –Hasselbalch 式より, ある pH の水溶液中弱電解質の分子形分率を求めることが出来る。

## 生物薬剤学実習 03

【実験】 *In situ* 腸管還流法によるラット小腸からの薬物吸収実験

<使用薬物>

- Aminopyrine (弱塩基 ; pKa 5.0)



$C_{13}H_{17}N_3O$  : 231.30

<還流試料溶液>

各グループに配布してある灌流液は、pH の異なる等張緩衝液 (pH 3.0, 5.0, 6.0 8.0) に aminopyrine (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) および phenol red (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を溶解してある。自分のグループが担当する pH を確認すること。全ての pH (4 グループ分) での結果をまとめて考察する。

<吸収実験法>

- 1) 実験前約 24 時間絶食させた SD 系雄性ラットをウレタン麻酔し、固定台に固定する。
- 2) 腹部を剃毛する。
- 3) 皮膚を正中線に沿って切開した後、腹筋を正中線に沿って切開する。
- 4) 十二指腸上部から試料溶液導入管としてポリエチレンカニューレを挿入、結紮する
- 5) 回腸下部から排出管としてポリエチレンカニューレを挿入し、結紮する。
- 6) 腸管を元の位置に戻した後、 $37^\circ\text{C}$  に加温した生理食塩水 (約 50 mL) を導入管から徐々に注入して小腸内容物を洗い出し、更に空気を注入して生理食塩水を追い出す。
- 7) 腹部切開部を縫合し、再度  $37^\circ\text{C}$  に加温した生理食塩水 (約 50 mL) を導入管から注入し、更に空気を注入して生理食塩水を追い出す。
- 8) 試料溶液 100 mL を用い、 $37^\circ\text{C}$  に加温しながら 5 mL/min (調整済み) で還流開始する。
- 9) 安定化後 (10 分程度)、還流液を約 4 mL 採取する。この時点を実験開始 (0 分) とする。20, 40, 60 分に同様に灌流液を採取し、0 分での薬物濃度を 100% としたときの各タイムポイントでの薬物残存率を算出する。

<残存率の算出>

### ■ Aminopyrine 濃度の測定

- 1) 予め 1 N NaOH 0.5 mL および  $C_2H_4Cl_2$  5 mL を入れた共栓試験管に、サンプリングした試料のうち 1 mL を加え 3 分間激しく混和する。
- 2) スピッツ管に移して遠心し (2500 rpm, 5 min), 水層 (上層) と有機層 (下層) とに分ける。薬物は分子型となり、有機層に移している。
- 3) 水層をアスピレーターで除去し、有機層 4 mL を安全ピペッターで、あらかじめ 0.1 N HCl を 5 mL 加えた別の共栓試験管に移し、1) と同じく激しく混和する。
- 4) スピッツ管に移して遠心し 2) と同様に遠心分離する。薬物はイオン型となり、水層に存在する。

### 生物薬剤学実習 03

5) 水層 (上層) をコマゴメピペットで取り, 255 nmでの吸光度を測定する.

#### ■ Phenol red 濃度の測定

- 1) 綿栓ろ過した還流液 1 mL に 0.05 M (1/20 M)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10 mL を加える.
- 2) 共栓試験管のふたをして 20 回転倒混和する.
- 3) 共栓試験管から試験管に移し替えて, 560 nmでの吸光度を測定する.

#### ■ Phenol red による還流液量の補正と残存率の算出

採取した還流液中の薬物残存量を定量し, 0 分での濃度との差から残存率を算出する. 還流液中に起こる水分の移動あるいは分泌液などによる還流液容量変化については, その吸収がきわめて少ないと考えられる phenol red を用いることによって補正する. また, aminopyrine および phenol red の吸光度は Lambert-beer の法則に従うことから, 吸光度比を濃度比として扱うことが出来る.

0 分での aminopyrine 濃度および灌流液の容量を, それぞれ  $C_i$ ,  $V_i$ . 各タイムポイントでの aminopyrine 濃度および灌流液の容量を, それぞれ  $C_f$ ,  $V_f$  とすると,

$$\text{残存率 (\%)} = \frac{C_f \times V_f}{C_i \times V_i} \times 100 \quad (1)$$

が成り立つ. ここで, 0 分での phenol red 濃度を  $C_i'$ , 各タイムポイントでの phenol red 濃度を  $C_f'$  とすると, phenol red は腸管でほとんど吸収されないことから,

$$C_i' \times V_i = C_f' \times V_f \Leftrightarrow \frac{V_f}{V_i} = \frac{C_i'}{C_f'} \quad (2)$$

が成り立つ. (1) に (2) を代入して,

$$\text{残存率 (\%)} = \frac{C_f \times C_i'}{C_i \times C_f'} \times 100 \quad (3)$$

となり, phenol red の濃度を同時に求めることで, 水分の吸収による灌流液量の変化を補正することができる.

#### <実験結果のまとめ>

**※実験結果の生データは解説動画と同じ Web ページで配布しております. 自身の学籍番号を参照して適切なデータを使用して下さい.**

- ① 各 pH について, 各時間の残存率を算出しグラフを作成する.
- ② 各 pH について, 残存率の自然対数を時間に対して plot したグラフを作成する.
- ③ 吸収速度定数  $k$  ( $\text{h}^{-1}$ ) を算出する. ただし, aminopyrine は一次速度で吸収されるものとする. よって,  $k$  は次のように定義される.

$$\ln(\text{残存率}) = \ln 100 - k \times \text{経過時間} \quad (4)$$

- ④ 各 pH における aminopyrine の分子型分率を計算し pH-分子型分率曲線を描く. また, 吸収速度定数もこれに plot し, 両者の関係を考察する.