

## 薬学研究科・生物薬剤学研究室

### 1. 研究課題名

「医薬シーズの薬物動態特性の最適化」

### 2. 研究メンバー

岩城 正宏      近畿大学大学院薬学研究科生物薬剤学研究室・教授  
川瀬 篤史      近畿大学大学院薬学研究科生物薬剤学研究室・講師

### 3. 研究成果

医薬シーズによる治療効果を向上させ、副作用を低減させるためには医薬シーズ摂取後の有効成分の体内動態について明らかにするとともに、効果部位への送達の最適化を行うことが重要である。薬物の体内動態を決定する因子として、チトクロム P450 (CYP)などの薬物代謝酵素以外に、最近では種々のトランスポーターの重要性が指摘されている。また、これらの因子は毒性発現の過程においても大きく関与していることが知られている。医薬シーズの薬物動態特性の最適化を考えるうえで、薬物の吸収に関与する薬物の膜透過性、代謝的安定性だけではなく、毒性の回避などを考慮する必要がある。これらはいずれも小腸、肝臓や腎臓に発現する CYP およびトランスポーターの機能と大きく関わっている。

今回、カンカニクジュヨウ主成分であるエキナコシドおよびアクテオシドについて消化管内安定性と吸収性に関する検討を行ったので以下に成果の概略を示す。

<カンカニクジュヨウ主成分エキナコシドおよびアクテオシドの消化管内安定性および吸収性の検討>

カンカニクジュヨウ (*Cistanche tubulosa*) は、ベニヤナギ根部に寄生するハマウツボ科の植物で中国ウイグル自治区タクラマカン砂漠やパキスタン砂漠部に自生している。また、常食している人々は健康で長寿であるともいわれている。作用としては強精・強壮作用、抗不妊作用、抗酸化作用、免疫増強作用などがある。エキナコシドおよびアクテオシドの構造は Fig. 1 に示すとおりともにフェニルエタノール配糖体である。図中の丸で囲んだ部分が異なっており、エキナコシドはβグルコースを有している。カンカエキス中の含量はそれぞれ約 20%と 10%である。ともに肝保護作用を有しているが、その作用はアクテオシドの方が強い。また、アクテオシドは神経毒保護作用があり、静脈内投与後に脳組織に移行し、NO の合成を促す転写因子の活性を選択的に低下さ

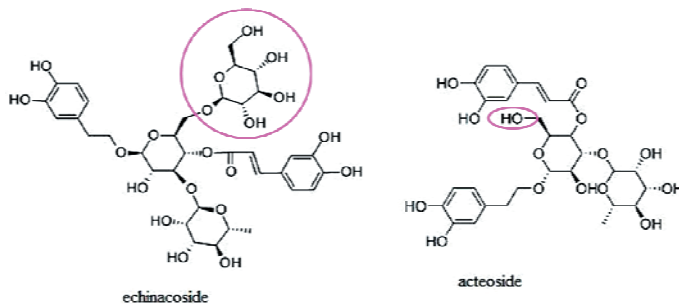


Fig. 1. Structure of echinacoside and acteoside.

せる。さらに、アクテオシドの抗酸化作用は赤ワインポリフェノールの 15 倍、ビタミン C の 5 倍と比較的高い。エキナコシドは $\beta$ -グルコシダーゼの作用によりアクテオシドに変換される。また、分解生成物のひとつとして、抗酸化作用を有するカフェイン酸が挙げられる。このようにエキナコシドおよびアクテオシドは種々の作用を有していることが知られているが、その体内動態については不明な点が多いのが現状である。そこで、本研究では、エキナコシドおよびアクテオシドの吸収過程に着目し、消化管内安定性および吸収性について検討を行った。

まず、消化管内での安定性について *in vitro* 試験で評価した。ここでは、人工胃液 (SGF, pH1.2) および人工腸液 (SIF, pH6.8)、小腸粘膜、および小腸内容物内での安定性について検討した。サンプル処理と定量法としては、得られたサンプルに 10%トリクロロ酢酸、60%メタノール、内部標準物質として 100 mg/mL クマリン酸を加えて 4°C, 10,000 x g, 10 分間遠心分離し、HPLC に注入した。人工胃液を用いた検討では、0.1 N NaOH を用いあらかじめ中和させサンプルを処理した。HPLC 条件は、検出器；紫外可視吸光度計[測定波長 254 nm (エキナコシド, アクテオシド, クマリン酸, カフェイン酸, 334 nm (2-フェニルエタノール) ], カラム；Inertsil ODS カラム (4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m) カラム温度 25°C, 移動相；A 液アセトニトリル/0.5%酢酸 (15 : 85), B 液 100%アセトニトリル 0-13 min: A 液 100%, 13-25 min: B 液を 14%までグラジエント, 25-30 min: A 液 100%, 流量は 1.0 mL/min とした。

エキナコシドおよびアクテオシドの人工胃液および人工腸液における安定性を検討したところ、Figs. 1 および 2 に示すようにいずれの液中においてもインキュベーション開始 60 分まで安定に存在し、分解はみられなかった。これらのことよりエキナコシドおよびアクテオシドは pH 変動に対しては安定であることが示唆された。

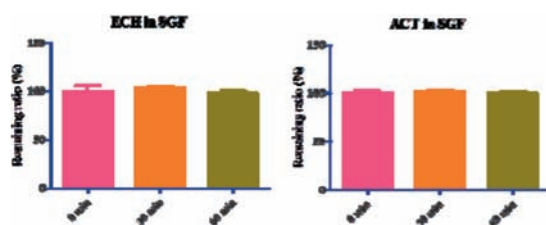


Fig. 2. Stability of echinacoside and acteoside in SGF. Echinacoside and acteoside were added to SGF at 1 mM. Samples were recovered at 0, 30, and 60 min.

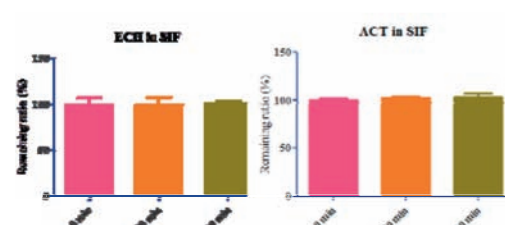


Fig. 3. Stability of echinacoside and acteoside in SIF. Echinacoside and acteoside were added to SIF at 1 mM. Samples were recovered at 0, 30, and 60 min.

次に、小腸粘膜中における安定性について検討した。ここでは、8 週齢雄性 SD 系ラットより小腸粘膜を回収し、ホモジナイズ後、遠心分離した。上清を粘膜液として回収し、タンパク定量後、1, 5, 10 mg protein/mL に人工腸液で調整し検討に用いた。Fig. 4 に示すとおり、いずれの小腸粘膜濃度においても分解は認められず、安定に存在することが示された。また、ここには示さないがカフェイン酸においても同様の検討を行ったが、小腸粘膜液中での分解はみられなかった。

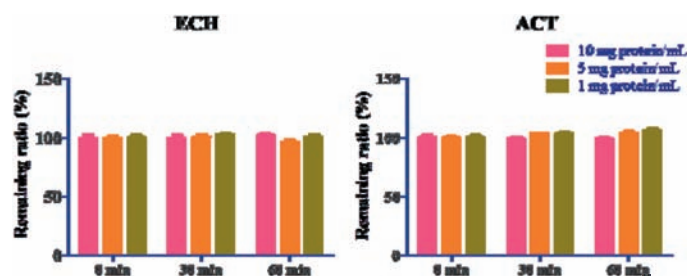


Fig. 4. Stability of echinacoside and acteoside in intestinal mucosa. Echinacoside and acteoside were added to 1, 5, and 10 mg protein/mL intestinal mucosa at 1 mM. Samples were recovered at 0, 30, and 60 min.

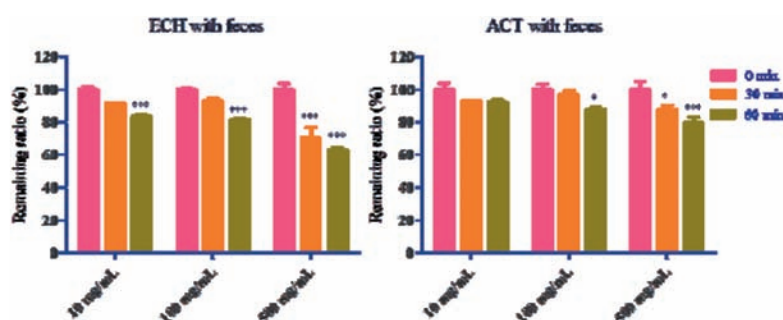


Fig. 5. Stability of echinacoside and acteoside in intestinal mucosa. Echinacoside and acteoside were added to SIF with 10, 100, and 500 mg/mL feces at 1 mM. Samples were recovered at 0, 30, and 60 min.

小腸内容物中における安定性を検討したところ、エキナコシドおよびアクテオシドとも分解を示した (Fig. 5)。以上の結果より両成分とも pH 安定性および小腸粘膜中での安定性に優れるものの、内容物に含まれる腸内細菌などの作用により分解を受けることが示唆された。

*In vitro* での安定性を検討した後、小腸上皮細胞の透過性を評価することで吸収特性について検討を行った。ここでは、*in situ* 腸管還流法によるエキナコシドおよびアクテオシドの吸収性の検討を行った。8 週齢の雄性 SD 系ラットを用い、十二指腸と盲腸上部にガラス管付きチューブを挿入し、ループを形成させた。エキナコシドまたはアクテオシド含有緩衝液を還流させ、60 分まで経時的にサンプリングした。

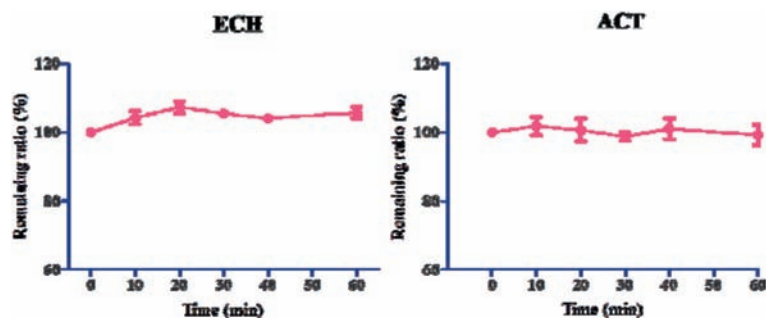


Fig. 6. Remaining ratios of echinacoside and acteoside in perfusate up to 60 min.

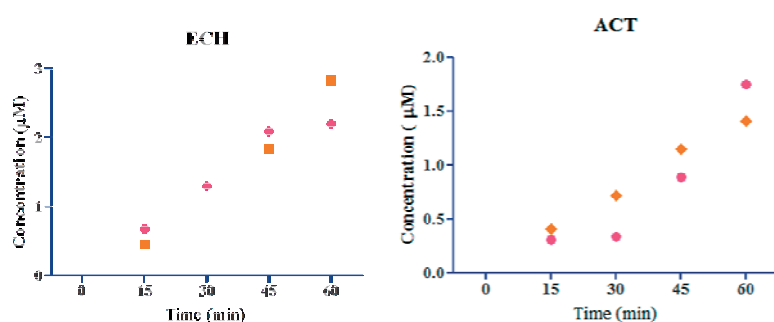


Fig. 7. Permeability of echinacoside and acteoside in *cistanche tubulosa* extract in everted sac up to 60 min.

Fig. 6 に示すとおり、60 分までエキナコシドおよびアクテオシド液をラット小腸に還流させたところ、ほとんど吸収がみられなかった。今回、小腸内容物を洗い出した後に実験を行っており、Fig. 5 でみられた小腸内容物中での分解の影響はないと考えられる。以上の結果より、エキナコシドおよびアクテオシドは単体では膜透過性が極めて悪いことが明らかになった。また、同様の検討をカフェイン酸においても行ったところ、吸収はほとんど認められなかった。そこで、エキナコシドおよびアクテオシドの吸収を改善する手段のひとつとしてエキス剤を用いることを検討した。カンカエキス含有エキナコシドおよびアクテオシドの膜透過性を評価したところ、時間依存的な吸収がみられ、(Fig. 7) これらの結果より算出したエキナコシドまたはアクテオシドの膜透過クリアランスはそれぞれ  $1.4 \mu\text{L}/\text{min}$ ,  $1.0 \mu\text{L}/\text{min}$  となった。これらのことからエキス剤を用いることでエキナコシドおよびアクテオシドの吸収が改善できる可能性が考えられる。これまでエキナコシドのバイオアベイラビリティは  $0.83\%$  と著しく低いと算出されており、それを向上する手段のひとつとしてエキス剤を利用できるかについてさらに検討を行う予定である。