Osaka University Knowledge Archive

Title	経口投与によるプロチレリンおよびγ-Butyrolactone-γ-carbonyl-L-histidyl-L-prolinamide citrateのBioavailabilityと吸収機構に関する研究
Author(s)	横浜, 重晴
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34848
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【22】

氏名・（本籍）	横浜重晴（よこはましげはる）
学位の種類	薬学博士
学位記番号	第 6693 号
学位授与の日付	昭和60年1月25日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**経口投与によるプロチレリンおよびγ－Butyrolactone－γ－carbonyl－L－histidyl－L－prolinamide citrateのBioavailabilityと吸収機構に関する研究**
論文審査委員	（主査）教授 鎌田 皎 （副査）教授 近藤 雅臣　教授 岩田平太郎　教授 青沼 繁

論文内容の要旨

プロチレリン（thyrotropin releasing hormone，TRH）はSchallyおよびGuilleminらによって精製，分離，構造決定がなされトリペプチドであることが明らかにされている。当初，本来のホルモン作用を利用して内分泌系疾患の検査薬として用いられてきたが，近年精神分裂症や脳血管障害の治療効果について多くの臨床結果が報告され注目されてきた。もともと，検査薬であったため投与も限られ，注射剤として市場に提供されてきたが，中枢系疾患の治療に用いる際には長期投与が必要であり，注射剤では患者に与える苦痛が大きく，経口剤の可能性の検討が要求されている。本論文ではまず再現性のある高感度の血液中定量法を確立し，脳内への移行を確認し，次いで経口投与後の生物学的利用率（bioavailability）を求めた。またTRHの新規誘導体であるγ－butyrolactone－γ－carbonyl－L－histidyl－L－prolinamide citrate（DN－1417）についてもその経口吸収性を評価し，さらにTRHとDN－1417の吸収機構の差について検討を行った。

生体試料中のTRHを測定する目的でラジオイムノアッセイ（RIA）が開発され尿中や組織中のTRH測定法として用いられる。しかし，血中濃度の測定法については，血清中の酵素によりTRHのimmunoreactivityが不活性化されることが知られており，再現性のある高感度のRIAは未だ確立されていなかった。そこでこの問題を解決するため種々検討したところ，採血直後の血液中にメタノールを加えTRHを抽出することにより，血液中のTRHが分解することなく，再現性良く，定量することができることがわかった。また血液中TRH濃度が低い場合には，食物の摂取や試料の血液量によって定量法の感度が変わるが，TLCによる前処理をした後，RIAで定量をすることにより，その影響を避けることができた。以上の検討の結果，吸収率に対する食事の影響を検討すること，また薬物が低濃度であるため高い濃縮

を必要とする試料を測定することが可能となり，定量下限20pgの定量的かつ再現性のあるRIAが確立できた。

次に，このRIAを用いて，ラットに静脈内投与されたTRHの血中濃度および脳幹部への移行量について検討した。TRHを摘出した脳のホモジネート中へ加えると分解することがわかったので，投与後適時マイクロウェーブをラットの脳に照射してTRHの分解をとめ，次いで脳を摘出し各部位についてそのTRH濃度を測定した。静脈注射後1～2分でTRHの脳内量は最高値に達し，その値は投与量の0.1～0.2％であった。また脳内各部位間での濃度は視床下部で最も高く，以下脳幹，小脳，視床，大脳皮質の順となり，これらの順位は内因性TRHの脳内分布と良く似た関係にあった。以上によりTRHが血液脳関門を通過することが確認できた。

TRHを始めbioactiveなオリゴペプチドが有意な程消化管から吸収されることはないとする報告がある一方，ラット，人でTRHを経口投与すると血漿中のthyrotropin（TSH）レベルが上昇するという報告があり，TRHが経口投与で吸収される可能性をうかがわせていた。そこで新しく開発した血中濃度測定法を用い，ラット，犬，人で，TRHの消化管吸収性および経口投与後の absolute bioavailability（AB）について検討した。その結果ラット，犬ともに投与量を上げるとABが下がる飽和現象が認められた。すなわち，ラットでは1.5％（20mg／kg）～0.2％（250 mg／kg），一方犬では12.6％（2 mg／dog）～3.5％（100 mg／dog）であった。また食後投与は空腹時に比べABは半減した。人での実験ではABは約2％を示し，同時に測定したTSHの血漿レベルも有意に上昇した。この様に今回の実験でTRHは経口投与で吸収されることが直接的に立証された。

TRHは元来ホルモン作用を有しており，中枢性疾患の治療に用いるには不便である。DN－1417はTRHの新規誘導体で，TRHに比較しその中枢作用は2～5倍強く，一方TSH放出活性は1／40と弱く脳機能改善剤として有用性が期待されている化合物である。TRHと同様，経口剤の可能性を探るためにラットおよびビーグル犬における経口投与時のABを求めた。DN－1417のRIAは塩田等により報告されているが，本法がラットおよびビーグル犬で適用できるかどうか，食物の影響や採血量の問題も含めて検討した。その結果，約20pgの検出が可能であることがわかったので，DN－1417の経口投与後のABを求めた。犬におけるABは約10％で，これは投与量を2 mg／dogから100 mg／dogまで変えても変化しなかった。またラットのABは約1％で，これも投与量を20mg／kgから500 mg／kgまで変えても変化しなかった。しかし，食後におけるABは空腹時の約60％に低下した。TRHでは投与量とABの間に飽和現象が認められたが，DN－1417ではそのような傾向は認められなかった。

この様にTRHとDN－1417はその構造式は酷似しているにもかかわらず吸収性に明らかな差があることがわかった。この原因を解明するために，TRHとDN－1417の吸収機構について主にラットを用いて検討した。TRHは消化管中の消化酵素に対し安定で，また肝臓でのfirst pass effectもほとんど受けなかった。しかしin situ実験の結果，吸収部位は小腸上部に限られており，この部位からの吸収も投与量に対し飽和現象を示した。一方DN－1417は部位による差はみられず，小腸全域から吸収された。これは反転腸管法での実験でも立証された。またTRHの小腸のmucosal側からserosal側への移行は，溶媒中のNaイオンをKイオンに置換，active tansportにより吸収されると報告されているオリゴペプチドや

β-lactam系抗生物質の共存，さらに膜移行に関与するタンパク質等に影響するとされている$HgCl_2$の前処理等により有意に阻害された。一方，DN-1417はこれらの因子により全く影響を受けなかった。以上の結果から，DN-1417の吸収はsimple diffusionが主体であり，TRHの吸収はcarriermediatedな系の寄与が無視し得ないものと考けられ，この差は化学構造上TRHがアミノ末端基を持つのに対し，DN-1417はこれが酸素に置き変り，carrierへの親和性を失ったためと思われる。

さらにDN-1417の消化管における吸収促進について，ラット小腸を用いてin situ法で検討した結果，クエン酸，マンデル酸等，有機酸に約2倍の吸収促進効果が認められ，これは犬における経口投与の実験でも確認できた。

以上，本研究においては，再現性のよい高感度の体液中分析法を開発することによって，生理活性なオリゴペプチドが薬効的に有意な程の消化管吸収はあり得ないと報告されながら，臨床的に効果が認められるという疑問点を定量的に解明し，さらにTRHとその誘導体であるDN-1417それぞれについて吸収機構を明らかにすることができた。これらの結果は，TRH，DN-1417の経口投与用製剤としての可能性を支持するものであり，また本研究の結果はオリゴペプチド系薬物の合理的な製剤設計に寄与し得るものと考える。

論文の審査結果の要旨

プロチレリン（TRH）は本来のホルモン作用のほかに，近年精神分裂症や脳血管障害に治療効果のあることが分った。そのホルモン作用が弱く中枢作用の強いTRH誘導体（DN-1417）が合成された。両化合物は注射投与により脳機能改善作用を有していることが分っているが，経口投与製剤の開発について検討した。本研究は両化合物の消化管吸収における機構の相違について検討し，吸収促進剤の併用投与による製剤化の可能性について研究した。

本研究の結果はオリゴペプチド系薬物の経口投与製剤設計に寄与するもので，薬剤学領域において高く評価されるものである。