

総合論文

薬物の機能発現における膜透過と体内輸送の関係 —構造活性相関 (QSAR) と物質輸送—

白 井 理^{*1}, 北隅 優希¹, 加納 健司¹

医薬、農薬などの薬物の効能は、それら薬物の摂取された部位から作用部位までの輸送過程と作用部位での反応で決まり、前者は薬物の疎水性に依存し、後者は薬物の化学構造に左右されと考えられている。一般的には輸送過程に関する速度定数 (透過係数) は薬物の活性強度と線形関係にあることが知られているが、疎水性が高い場合は逆に反比例する現象も報告されている。そこで、輸送過程では定常状態が維持されると仮定して、体液 (水相) 及び膜中の透過係数を膜/水 (水/膜) 系の分配係数と各相における拡散係数に比例する理論式で表現したところ、薬物の疎水性と活性強度の関係を説明できることが明らかとなった。また、薬物には中性物質も存在するが、カルボキシル基やアミン類等を含みイオンとして存在するものも多い。電荷を持つ薬物 (疎水性イオン) の膜透過は単純な拡散ではなく、各相の電気的中性則と各イオンの移動による混成電位となる界面電位差を考えなければならない。そこで、電気的中性を満たすように系に共存する対イオンと共に脂質二分子膜に分配し、疎水性イオンと共存イオン (対イオンを含む) が印加膜電位に応じて共輸送あるいは対向輸送することを解説する。

1 緒 言

薬物、内分泌攪乱物質などの化学物質の生理作用は、その生理活性と作用する部位での暴露量 (濃度) によって決まる。化合物の生理活性の予測は、医農薬の開発や環境中に存在する物質の毒性評価等において重要な知見となる。化合物の性質とその生理活性 (薬効) の関係については古くから研究されており、1900 年頃、Meyer や Overton は化合物の麻酔活性が構造非特異的にオリーブ油 | 水系の分配係数に比例することを示した^{1)~4)}。Ferguson はこれらの構造非特異的現象を一般化し、薬物の活性強度 (生理活性を発現するのに必要な濃度の逆数の対数値) と水相 | 油相間の分配平衡に関する物理化学的定数の関係を表現した経験式を導出した⁵⁾。

一方、化学伝達物質とその拮抗薬の研究から、構造特異的に活性強度を示す薬剤があることも分かった^{6)~9)}。そこで、化合物の構造に由来する物理化学的性質からその活性強度を予測することを目的として、定量的構造活性相関 (Quantitative Structure-Activity Relationship, QSAR) が利用されてきた^{10)~12)}。QSAR において一般的な Hansch-Fujita 法では、活性強度をさまざまな物理化学的パラメーターの線形結合で表現した一般式 $\log(1/c) = a \log P + \rho \sigma$

$+ \delta E_s + C$ (P : 1-オクタノール | 水系における化合物の分配係数, σ : 置換基の電子吸引性, E_s : 立体的高さ¹³⁾) により解析されている。 P は疎水性の標準パラメーターとして取り扱われており、化合物の細胞膜透過特性の指標として用いられている。化合物が生体内に摂取された部位から作用部位に到達するまでの過程における速度定数 (透過係数) は、活性強度と線形関係にある。Hansch らは、化合物の疎水性と活性強度との間に直線の自由エネルギー関係が成り立つことを示した。しかし、Meyer と Hemmi によって実際には疎水性がある程度まで高くなると活性が低下する現象が報告された¹⁰⁾。この現象に関して、Hansch と Fujita らは、活性強度が経験的に $\log P$ の二次関数に依存するというパラボラモデルを提唱した^{13)~16)}。一方、Mcfarland らはパラボラモデルの物理化学的な解釈を試みた¹⁷⁾。彼らは脂質相と水相が交互に並ぶモデルを考え、脂質相→水相 (水相→脂質相) 間における透過係数が脂質 | 水 (水 | 脂質) 系の分配係数に等しいと仮定した。結果として、活性強度が $\log P$ に対して左右対称な二直線型で表されることを示した。しかし、このモデルには $\log P$ の最適値が必ず 0 になるという欠点があった。そこで、Kubinyi らは脂質相と水相の体積比を考慮して、新たな解析式 (bilinear モデル) を提唱した¹⁸⁾。このモデルでは、 $\log P$ の最適値がゼロでないため、より現実の系に近い解釈ができる。しかし、このモデルでも化合物の移動という速度論的な現象を分配平衡という平衡論に基づいて説明されており、そ

* E-mail: shirao@kais.kyoto-u.ac.jp

¹ 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体機能分野:
606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

の矛盾は解決できていない。

そこで、加納は速度論的観点に立脚した新たな薬物輸送モデルを考案した¹⁹⁾。化合物の透過速度が二つの律速段階（水相における透過と脂質相における透過）によって決まるとし、定常状態における各相の透過係数が脂質|水（水|脂質）系の分配係数と各相中での拡散係数に比例するとした。

本稿では、化合物の膜透過が二つの律速段階（膜内での輸送と水相内での輸送）から成り、その化合物の分配係数によって律速段階が変化することで薬物輸送の特性を解説する。薬物輸送過程においては、薬物は吸収されてから作用部位に到達するまでに生体膜を構成する脂質二分子膜（BLM）部分を何度か透過する。疎水性の中性薬物のBLM透過現象は水相|BLM相の分配係数を指標として、単純拡散で議論されてきた²⁰⁾²¹⁾。一方、薬物の多くはカルボン酸やアミノ基を有しており、生体内ではイオンとして存在することも多い²²⁾²³⁾。従来は、疎水性イオンが系に存在する場合のBLMを介したイオン透過についても、対象となる疎水性イオンのみがBLMに分配し、膜電位印加に応じてBLMを介してその疎水性イオンが透過すると説明されてきた^{24)~26)}。しかし、著者らのグループの検討の結果、疎水性イオンが存在する系では共存する対イオンも同時に電気的中性則を満たすようにBLM内に分配し、印加膜電位に応じて両者が対向輸送することで電流が生じることが明らかとなった^{27)~31)}。また、複数のイオンが共存する場合は、電気的中性則を満たしながらすべてのイオンが同じ界面電位差を形成するように分配し、膜電位印加に伴い相互補完的に各イオンが共輸送あるいは対向輸送することによって電流が生じることも明らかにした。そこで、疎水性の薬物イオンの輸送過程を議論する際には、対イオンと疎水性イオンの分配過程及び移動過程を念頭に置いた解析が必要不可欠となるので、本稿では脂質二分子膜を介したイオン透過機構とその特性について解説する。

2 薬物輸送と生理活性の関係

2.1 定量的活性相間の概要

はじめに薬物輸送と生理活性の関係について解説する。生理活性を持つ生成物の生成速度（ v ）は、活性発現部位において式(1)で表わされる¹⁹⁾³²⁾。

$$v = \frac{dC_p}{dt} = lkKPC_0 \quad (1)$$

ここで、 C_p は生成物（P）の濃度、 l は比例係数、 k はPの生成にかかわる反応速度定数、 K はPの生成にかかわる平衡定数、 P は薬剤の透過係数、 C_0 は投与薬物濃度である。薬物輸送が定常状態であると仮定し、薬効が現れる投与薬

物濃度を C_0^* 、一定時間（ Δt ）内に生理活性を引き起こすのに必要な濃度のPが生成したとすると、

$$\frac{1}{C_0^*} = \frac{lkK\Delta t}{\Delta C_p} \quad (2)$$

の関係が成り立つ。各物理量をエネルギーで表現すれば、式(2)は式(3)へと書き換えられる（ R : 気体定数、 T : 絶対温度、以降では対数の等式における定数はすべて c で表わす）。

$$RT \ln \left(\frac{1}{C_0^*} \right) = RT \ln k + RT \ln K + RT \ln P + c \quad (3)$$

ここで、 $RT \ln C_0^*$ は化学ポテンシャル、 $RT \ln k$ は標準活性化ギブズエネルギー、 $RT \ln K$ は反応の標準ギブズエネルギー変化、 $RT \ln P$ は輸送過程の活性化エネルギーに関するエネルギー項である。式(3)を標準熱エネルギー（ RT ）で規格化し、常用対数に変換するとエネルギーの線形性を表す式(4)となる。

$$\log \left(\frac{1}{C_0^*} \right) = \log k + \log K + \log P + c \quad (4)$$

薬物の輸送に関する物理化学パラメーターは実際の系では複雑すぎて評価が困難であるため、水|1-オクタノール系の分配係数 β （ $\beta = C_M/C_W$ とする（ C_M : 1-オクタノール中の濃度、 C_W : 水相中の濃度））をパラメーターとして用いることが多い。しかし、生体系では薬物は生体膜のBLM部分を透過すると考えられており、分配係数は β_m （ $\beta_m = C_m/C_w$ とする（ C_m : BLM中の濃度、 C_w : 水相中の濃度））の方が妥当であると思われる。BLMを介した物質の透過係数（ P_m ）は一般的に式(5)で表わされる²⁶⁾。

$$P_m = \frac{\beta_m D_m}{d_m} \quad (5)$$

ここで、 D_m はBLM内での物質の拡散係数、 d_m はBLMの膜厚である。この水|BLM間の分配過程が水|1-オクタノール間のそれと同様に主に疎水性で決定されている場合は、 $RT \ln \beta_m$ と $RT \ln \beta$ には線形関係があると予想され、式(5)は以下になる。

$$\log P_m = \log \beta_m + c = a \log \beta + c \quad \left(c = \log \frac{D_m}{d_m} \right) \quad (6)$$

薬物の活性発現に対して、BLM内での透過が律速である

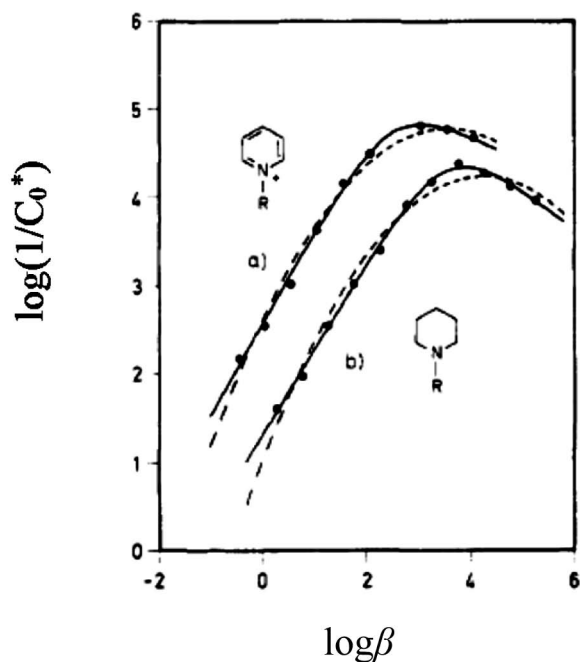


Fig. 1 Relation between the logarithm of the hemolytic activity $\{\log(1/C_0^*)\}$ of a) *N*-alkylpyridinium compounds and b) *N*-alkylpiperidines and the logarithm of their distribution coefficients ($\log\beta$)

The solid curve was drawn by using eqn. (10). The broken curve was obtained by using eqn. (8) (from Ref.18).

場合は, 式(4) の関係より

$$\log\left(\frac{1}{C_0^*}\right) = a \log \beta + c \quad (7)$$

の関係が導出され, 薬物の疎水性が高いほど活性が上昇することが分かる. このような現象は, 吸入麻酔剤など多くの薬物で報告されている¹⁰⁾.

しかし, 実際の薬物生理活性は, Fig. 1 に示すように, $\log P$ の最適値がある場合が数多く報告されている. Hansch らは, 生理活性を発現する投与薬物濃度 (C) と薬物の分配係数 (β) の間に二次関数で表わされる関係式 (式(8)) を提案し, これをパラボラモデルと名付けた^{13)~16)}.

$$\log \frac{1}{C} = a(\log \beta)^2 + b \log \beta + c \quad (8)$$

ここで, a , b 及び c は任意の定数である.

式(8) は経験式であるので, 二次関数的な挙動についての物理化学的な解釈がいくつか提案されてきた. McFarland は, 薬剤が吸収されてから作用部位に到達するまでに, 体液 (水) 相と膜相を複数回以上は透過すること

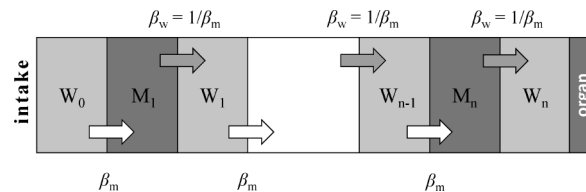


Fig. 2 Model of alternating aqueous phases and lipid-like membranes in a hypothetical biological system (McFarland model)

を念頭に置き, Fig. 2 に示す水相と膜相の体積が等しい多相型分配モデルを採用して式(9) を提案した¹⁷⁾.

$$\log\left(\frac{1}{C_0^*}\right) = a \log \beta - 2a \log(\beta + 1) + c \quad (9)$$

ここで, 水相中の薬物が膜相へ移動する速度定数は水相 | 膜相間の分配比に等しいと仮定した. そのため, 二次関数型の疎水性依存特性は説明できたが, 最適値は常に $\log \beta = 0$ の場合となり, 現実とは異なる挙動となった.

Kubinyi は膜相と水相の体積比 $r = V_m/V_w$ (V_m : 膜相の体積, V_w : 水相の体積) を考慮することで, McFarland の式を改良して式(10) を導いた¹⁸⁾.

$$\log\left(\frac{1}{C_0^*}\right) = a \log \beta - b \log(r\beta + 1) + c \quad (10)$$

式(10) は, $r\beta \ll 1$ の場合は $\log(1/C_0^*) = a \log \beta + c$ と近似され, $r\beta \gg 1$ の場合は $\log(1/C_0^*) = (a-b) \log \beta + c$ と近似される. このモデルでは, 左右非対称な二直線型の関係曲線を描くことができ, 最適値も $\log \beta = 0$ の場合ではなくなる. したがって, 非常に多くの薬物活性の二次関数型疎水性依存性を再現できるようになった. しかし, このモデルも薬物輸送という速度論的な取り扱いを平衡論で表現しているところに矛盾が残っている.

加納は, 薬物輸送が定常状態となっていることを想定して物理化学的に矛盾のない説明を試みた¹⁹⁾. 前述の膜内輸送律速の系では膜内で定常状態となっていることを説明したが, 膜間の水相においても薬剤そのものの輸送が律速となり, 定常状態となることが予測される. このとき, 水相中の薬物の透過速度 P_w は式(11) に示すように $1/\beta_m$ に比例すると考えられる.

$$P_w = \frac{D_w}{\beta_m d_w} \quad (11)$$

ここで, D_w は水相内での薬物の拡散係数, d_w は水相の厚さである.

$$\log P_w = -a' \log \beta + c \quad (12)$$

膜内透過過程と水相内透過過程は直列の関係にあるので、定常状態における全体の透過についての速度定数 P は

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_m} + \frac{1}{P_w} \quad (13)$$

で与えられる。したがって、式(14)の関係が得られる。

$$\log P = a \log \beta - \log(1 + a\beta^{a+a'}) + c \quad (14)$$

式(14)は、 $a\beta^{a+a'} \ll 1$ の場合は $\log(1/C_0^*) = a \log \beta + c$ 、 $a\beta^{a+a'} \gg 1$ の場合は $\log(1/C_0^*) = -a' \log \beta + c$ と近似されるので、式(10)と同様に左右非対称な二直線型の関係曲線となり、速度論的な観点からの説明が可能となった。

2・2 薬物輸送過程の評価法

薬物の生理活性は、薬物が吸収される部位から反応が生じる部位までの輸送に左右されるが、それぞれの薬物によって輸送過程は異なるため単純ではない。しかし、定常状態を想定すれば、速度論である輸送過程を2・1に記述したように水相|膜相間の分配係数を指標として表現することができる。

1889年にMeyerが吸入麻酔薬のオリーブ油への溶解度と麻酔作用の間に良い相関があることを見だし、ほぼ同時にOvertonも同様な現象を報告したので、Overton-Meyerの法則と呼ばれている¹⁾²⁾。オリーブオイルの代わりに様々な有機溶媒が検討されたが、その分配特性(低粘度、低揮発性、水素結合供与性及び受容性)から水相|1-octanol間の分配係数が一般的に指標として用いられている¹⁰⁾。近年では、薬物の効能を予見する目的で、薬物輸送過程は前節で紹介した経験式に基づくHansch-Fujita法などが用いられ、主に水相|1-octanol間の分配係数が指標として用いられている。最近では、皮膚や腸管など薬物を取り込む部位に近い特性を有する系で評価を行うため、PAMPA (Parallel Artificial Membrane Permeability Assay, メンブランフィルターにレシチンの有機溶液を含浸させた膜を利用する手法)、Caco-2細胞(ヒト結腸癌由来細胞を多孔性メンブランフィルター上で培養し、フィルター上に形成させた融合性単層膜を利用する手法)及びMDCK細胞(イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来の細胞株を多孔性メンブランフィルター上で培養し、フィルター上に形成させた融合性単層膜を利用する手法)を用いた薬物輸送実験も行われている^{33)~38)}。著者らも1-octanolを含浸させた二水相間での疎水性四級アンモニウム塩の輸送について電気化学測定による評価法について検討し、二直線型の関係曲線が得られる

ことを確認した³⁹⁾。

3 生体膜を介した物質輸送と体内輸送

3・1 生体膜を介した中性物質の輸送

生体膜を介した物質輸送は、電荷を持たない中性物質と電荷を有するイオンの輸送の二つに分けると考えやすい。

中性物質の定常状態における生体膜輸送については、アクアポリンのようなチャネルやキャリア化合物による促進輸送も報告されているが、薬物輸送においては主にBLMにおける分配・透過で議論されてきた^{20)~22)}。とくに、定常状態では、二水相間の濃度比と水相|膜界面の分配係数で透過特性が説明されてきた。単位時間に、単位断面積を通過する粒子量である流束(J_m)は式(5)の透過係数と二水相における薬物濃度(c_{w1} , c_{w2})で表わされる。

$$J_m = -P_m(c_{w2} - c_{w1}) \quad (15)$$

これより流束は分配係数 β_m に比例して増加することが分かる。しかし、中性の薬物が極めて疎水の場合は膜内で高濃度となり、水相(体液)における薬物輸送が律速段階となる。水相における流束(J_w)は水相を挟む二つの膜相における薬物濃度(c_{m1} , c_{m2})と式(11)の透過係数を用いて表現される。

$$J_w = -P_w(c_{m2} - c_{m1}) \quad (16)$$

トータルの反応としては、式(14)の関係が成立し、薬物が親水的な場合は膜内輸送が律速となり、薬物が極めて疎水の場合は水相(体液)での輸送が律速となるので、 $\log P$ あるいは $\log J$ が $\log \beta$ に対して二直線型の関係曲線となることが分かる。吸入麻酔薬において疎水性が高すぎると麻酔作用が逆に下がる「カットオフ」現象や一級アルコールの*S. aureus*に対する殺菌活性がamyl alcoholより疎水性が高くなった場合に現れる活性低下現象等が知られているが、上記の理由によって生じていると考えられる⁵⁾¹⁰⁾。

3・2 生体膜を介したイオン輸送

医薬や農薬など薬物の多くはアミノ基やカルボキシル基を有しており、生体内では疎水性のカチオンあるいはアニオンとして存在することが多い。そこで、疎水性イオンが系に存在する場合のBLMを介した透過についても解説する。

生体膜における選択的なイオン透過の多くは、Fig. 3 (a)に示すようなイオンチャネルを形成するタンパク質などの働きで説明されている²⁶⁾。しかし、イオンチャネル以外にも、疎水的なイオンであればBLM部分を直接透過できると言われている (Fig. 3 (b))²⁴⁾²⁵⁾。また、特定のイオンと

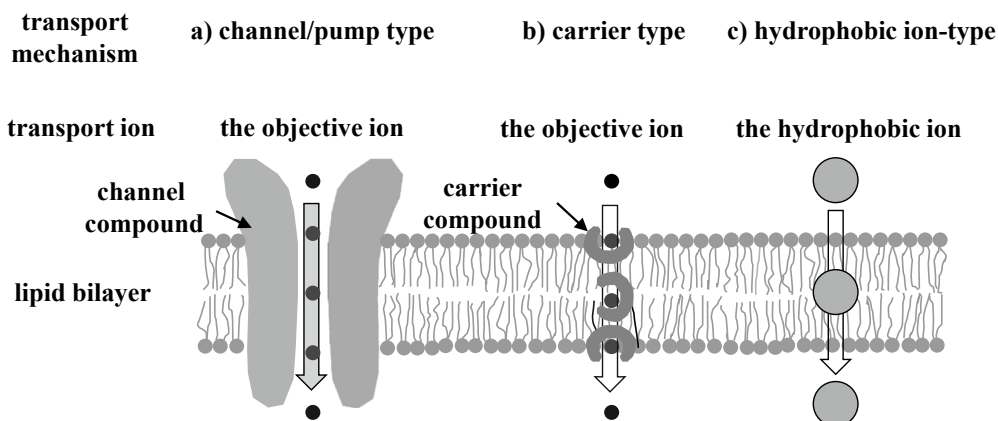


Fig. 3 General models of ion transports across biomembranes
a) channel/pump type, b) carrier type, c) hydrophobic-ion type.

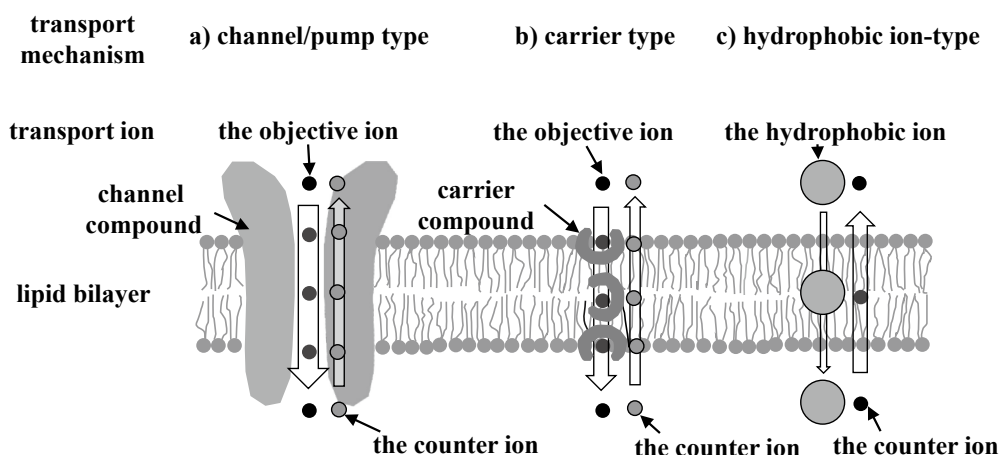


Fig. 4 New models of ion transports across biomembranes by considering the influence of the counter ion
a) channel/pump type, b) carrier type, c) hydrophobic-ion type.

安定な錯体を形成する化合物がBLMに存在する場合はその化合物が特定イオンの膜内キャリア (担体) として働くことも知られている (Fig. 3 (c))^{26) 40)}。このように、一般的に受け入れられているBLMを介したイオン透過の説明では、膜内における電気的中性の保存則や対イオンを含む共存イオンによるイオン移動電流については厳密には考慮されていない。著者らのグループは、イオンチャネル、キャリア化合物及び疎水性イオンが存在するBLM系では、常に透過対象となるイオンだけでなく対イオンも同時にBLM内へ分配し、印加膜電位に応じて両者がBLMを介して移動することを明らかにしてきた (Fig. 4 (a) 及び 4 (b))^{27) ~ 31) 41) ~ 46)}。また、BLMを介した二水相間では膜電位印加によって電流は発生するが、各相においては電荷数が釣り合っており、電気的中性則を満たすようにイオンが移動することを見いだした。このことを念頭に置くと、細胞のように閉じた系では、細胞膜を介した細胞の内外におい

てはトータルには電流は発生せず、すべての相で電気的中性則が保持されるようにイオン透過及び電子移動が相互補完的に共役していると推察される。

BLMの炭素鎖部分は誘電率が約2とされており、カリウムイオン、ナトリウムイオン及び塩化物イオン等の親水性イオンにとっては透過障壁となることが知られている^{24) ~ 26)}。しかし、極微量 ($10^{-8} \sim 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) の dipicrylamine (DPA⁻) や tetraphenylborate (Ph₄B⁻) などの疎水性イオンをBLMを介した二水相から成る系 (BLM系) に添加し、二水相間の電位差 (膜電位) を変化させるとイオン透過による電流が生じることがLiebermanとTopalyによって報告された^{26) 47)}。このような疎水性イオン添加時のイオン透過については数多く報告されており、一般的には次のように考えられている。疎水性イオンはBLM中へ入りやすいので、疎水性イオンのみがBLM内に分配し、印加膜電位に応じてBLMを透過する (Fig. 4 (c))。そのた

め、ある膜電位を印加した際の電流値が水相中に添加した疎水性イオン濃度に比例する。水相中の疎水性イオン濃度が希薄な場合は疎水性イオンのBLM内拡散が律速過程であるが、水相中の疎水性イオン濃度が高濃度の場合は疎水性イオン間の静電的な反発が生じるので結果的にBLM内の疎水性イオン濃度は抑制されると考えられてきた。しかし、これでは電気的中性則に反しているだけでなく、水相中の疎水性イオン濃度から予測される電流値より数～100倍も大きな電流が観測されることや添加イオンの疎水性度が高いほど電流値が大きくなること等が説明できなかった。また、界面近傍の水相に疎水性イオンが吸着し、それがBLMを介して移動するという説もあるが、一定の膜電位を印加した際に定常電流が生じるため吸脱着によるものではないと思われる⁴⁸⁾⁴⁹⁾。そこで著者らのグループは、疎水性イオンだけでなく共存する親水性対イオンも同時にBLM内に分配し、各相のイオン組成、印加電位などの条件により親水性の対イオンが疎水性イオンと共に移動（共輸送あるいは対向輸送）することを提案し、対イオンの種類を替えた実験や放射性イオンを用いた実験によってそのことを実証した⁵⁰⁾。

定常電流が観測される場合は、BLMを介したあるイオンのイオン透過電流密度 (j) は式(17)に示すGoldman-Hodgkin-Katzの式に従うと考えられる⁵¹⁾。

$$j = - \left(\frac{c_w P_m z^2 F^2}{RT} \right) \Delta E \quad (17)$$

ここで、 c_w は水相中の移動イオン濃度、 P_m は膜内透過係数、 z は移動イオンの電荷数、 ΔE は膜電位である。 P_m は式(5)で表わされる透過係数、 F はファラデー定数である。観測されるイオン透過電流密度は各イオンの移動により生じる電流密度の合計である。そこで、移動するイオンはカチオン (M^+) とアニオン (X^-) の二つのイオンだけであり、カチオン及びアニオンの水相での濃度は等しく、また電気的中性則から β は等しいとすると、観測されるイオン透過電流密度 (j_{total}) は式(18)で表される。

$$j_{total} = - \frac{c_w F^2}{RTd} \Delta E \beta (D_{M^+} + D_{X^-}) \quad (18)$$

式(18)よりイオン透過電流密度は、電解質の分配係数及びその濃度と両イオンのBLM内の拡散係数に依存することが分かる。水|各種有機溶媒間での分配係数はイオンの種類により数百倍から数万倍も変化することがWalterらによって報告されている⁵²⁾。例えば、水|hexadecane間における分配係数はHFでは 4.2×10^{-6} だがHClでは 6.0×10^{-2} であり、約1万倍も異なる。また、イオン透過電流密

度は拡散係数の影響も受けるが、分配係数の影響に比べると小さいと予想される。例えば、nitrobenzene中でのtetramethylammoniumイオンの拡散係数は $3.7 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ 、tetrapropylammoniumイオンの拡散係数は $3.4 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ と報告されており、大きくても一桁異なる程度である⁵³⁾。

水相からBLM相へのイオン移動エネルギーの評価は困難であり、報告されていない。そこで、溶媒間イオン移動エネルギーを疎水性の尺度であると考え、同様に疎水性の指標として用いられる水和エネルギー等と比較して考えてみる。まず、分配係数と溶媒間イオン移動エネルギー (ΔG_{tr}°) の関係について検討してみる。水相|有機相間でのイオン対抽出を考えると、 β は各イオンの水相からBLMへの溶媒間イオン移動エネルギー (ΔG_{tr}°) を用いて式(19)のように表わされる⁵⁴⁾。

$$\ln \beta = - \frac{\Delta G_{tr,M^+}^\circ + \Delta G_{tr,X^-}^\circ}{2RT} \quad (19)$$

ここで、 $\Delta G_{tr,M^+}^\circ$ 、 $\Delta G_{tr,X^-}^\circ$ はそれぞれカチオン (M^+)、アニオン (X^-) の溶媒間イオン移動エネルギーである。Table 1には、いくつかのイオンについての水相からnitrobenzene (NB) 相へのイオン移動エネルギー ($\Delta G_{tr,NB}^\circ$)、水相から1,2-dichloroethane (DCE) 相へのイオン移動エネルギー ($\Delta G_{tr,DCE}^\circ$)、水相から2-nitrophenyl octyl ether (NPOE) 相へのイオン移動エネルギー ($\Delta G_{tr,NPOE}^\circ$) 及び水和エネルギー (ΔG_{hyd}°) を示す⁵⁵⁾⁵⁶⁾。なお、水和エネルギーは水相中での水との結合を切断し真空中へと移動させるために必要となるエネルギーである。溶媒間イオン移動エネルギーと水和エネルギーの間には、式(20)に示す直線関係が成立することから、水からBLMへの相間イオン移動エネルギーを水和エネルギーに置き換えて考察することは妥当であると思われる。

$$\Delta G_{tr,i}^\circ = A \Delta G_{hyd,i}^\circ + B \quad (20)$$

ここで、 A 及び B は溶媒に固有の定数である。ちなみに、NB、DCE 及び NPOE の A 値はそれぞれ 0.17、0.24 及び 0.12、NB、DCE 及び NPOE の B 値はそれぞれ 14、36 及び 14 である。式(18)に式(20)を代入すると、以下の式が導かれる。

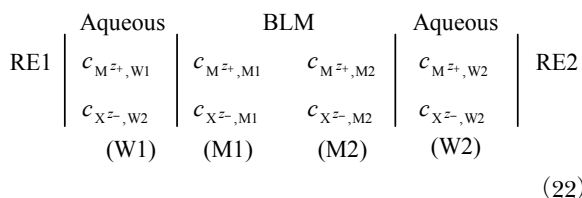
$$\begin{aligned} \log j_{w1-w2} = & \log \left(\frac{F^2}{RTd} c_w (D_{M^+} + D_{X^-}) \right) \\ & - \frac{A \Delta G_{hyd,M^+}^\circ + B}{4.606RT} - \frac{A \Delta G_{hyd,X^-}^\circ + B}{4.606RT} + \log E_{w1-w2} \end{aligned} \quad (21)$$

Table 1 Gibbs energies for the transfer of ions at an organic solvent (nitrobenzene, 1, 2-dichloroethane, 2-nitrophenyl octyl ether)|water interfaces ($\Delta G^\circ_{\text{tr,NB}}$, $\Delta G^\circ_{\text{tr,DCE}}$, $\Delta G^\circ_{\text{tr,NPOE}}$) and hydration energies ($\Delta G^\circ_{\text{hyd}}$)⁵⁴⁾⁵⁵⁾

Ion	$\Delta G^\circ_{\text{tr,NB}}/\text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta G^\circ_{\text{tr,DCE}}/\text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta G^\circ_{\text{tr,NPOE}}/\text{kJ mol}^{-1}$	$\Delta G^\circ_{\text{hyd}}/\text{kJ mol}^{-1}$
Li ⁺	-38.2	-57		-475
Na ⁺	-34.2	-57		-365
K ⁺	-23.5	-50	-32.8	-295
Rb ⁺	-19.4	-42		-275
Cs ⁺	-15.4	-35	-24.4	-250
(CH ₃) ₄ N ⁺	-3.4	-15.4	-13.5	-160
(C ₂ H ₅) ₄ N ⁺	5.3	-1.8	-2.5	0
Ph ₄ As ⁺	35.9	35.1	30.5	50
Cl ⁻	-38.2	-51	-41.3	-340
Br ⁻	-27.8	-43	-50.3	-315
NO ₃ ⁻	-25.2	-34	-35.9	-300
I ⁻	-18.4	-33	-26.8	-275
ClO ₄ ⁻	-7.9	-16.4	-16.9	-205
Ph ₄ B ⁻	35.9	35.1	30.5	50

このように、イオンの透過電流密度は、疎水性イオン及び対イオンの水相から BLM 相への移動エネルギーと膜内拡散係数で決まることが分かる。

次に膜電位について考えてみる。BLM を一つの相と考える場合、イオンの BLM 透過は式(22) に示すように、水相、脂質相、水相の 3 相 2 界面系を考える必要がある。



ここで、 c は各イオンの濃度、下付きの M^{z+} 及び X^{z-} はそれぞれ透過するカチオン及びアニオンを示し、下付きの W1, M1, M2 及び W2 はそれらが存在する場所を表している。なお、M1 は BLM 内における W1|BLM 界面の近傍の領域、M2 は BLM 内における W2|BLM 界面の近傍の領域を示す。カチオン及びアニオンが膜内に分配して、膜を介して移動する場合には、イオンは電荷を有するため電位差が生じる。RE1-RE2 間に印加された電位差 $E_{\text{W1-W2}}$ は次式(23) で表すように W1|M1 界面における界面電位差 $E_{\text{W1|M1}}$ 、BLM 内における拡散電位 E_{BLM} 及び M2|W2 界面における界面電位差 $E_{\text{M2|W2}}$ ($-E_{\text{W2|M2}}$) に分配される。なお、W1 及び W2 でのオーム降下については、測定溶液内に充分量の電解質が存在するため無視できるとした。

$$E_{\text{W1-W2}} = E_{\text{W1|M1}} + E_{\text{BLM}} - E_{\text{W2|M2}} \quad (23)$$

ここで、イオン i^{z_i} の相 L における電気化学ポテンシャル $\tilde{\mu}_{i^{z_i}, \text{L}}$ は、

$$\tilde{\mu}_{i^{z_i}, \text{L}} = \mu_{i^{z_i}, \text{L}}^\circ + RT \ln a_{i^{z_i}, \text{L}} + z_i F E_{\text{L}} \quad (24)$$

で表される。ただし、 $\mu_{i^{z_i}, \text{L}}^\circ$ は相 L における i^{z_i} の標準化学ポテンシャル、 $a_{i^{z_i}, \text{L}}$ は i^{z_i} の相 L における活量、 z_i は i^{z_i} の持つ電荷、 E_{L} は相 L における溶液電位を示す。なお、活量は濃度とほぼ等しいとみなし、以下では濃度を用いて議論する。また、水相|BLM 相界面でのイオン移動は速く、迅速に平衡に達すると仮定すると、

$$\tilde{\mu}_{i^{z_i}, \text{W1}} = \tilde{\mu}_{i^{z_i}, \text{M1}} \quad (\tilde{\mu}_{i^{z_i}, \text{W2}} = \tilde{\mu}_{i^{z_i}, \text{M2}}) \quad (25)$$

が成立するので、 $E_{\text{W1|M1}}$ 及び $E_{\text{W2|M2}}$ はそれぞれ、

$$E_{\text{W1|M1}} = E_{i^{z_i}, \text{W|BLM}}^\circ - \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_{i^{z_i}, \text{W1}}}{c_{i^{z_i}, \text{M1}}} \quad (26)$$

$$\left(E_{\text{W2|M2}} = E_{i^{z_i}, \text{W|BLM}}^\circ - \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_{i^{z_i}, \text{W2}}}{c_{i^{z_i}, \text{M2}}} \right)$$

と表すことができる。ただし、 $E_{i^{z_i}, \text{W|BLM}}^\circ$ は BLM 側を基準とした場合の水相|BLM 相界面で i^{z_i} の活量が等しくなる標準イオン移動電位を示す。分配平衡時はカチオン及びアニオンのそれぞれで生じる界面電位差が等しく、一対のカチオン M^{z+} 及びアニオン X^{z-} によって構成される電解質 MX を考えると、式(27) が成立する。

$$\left(\frac{c_{\text{M}^{z+}, \text{M1}}}{c_{\text{M}^{z+}, \text{W1}}} \right) \cdot \left(\frac{c_{\text{X}^{z-}, \text{M1}}}{c_{\text{X}^{z-}, \text{W1}}} \right) = \left(\frac{c_{\text{M}^{z+}, \text{M2}}}{c_{\text{M}^{z+}, \text{W2}}} \right) \cdot \left(\frac{c_{\text{X}^{z-}, \text{M2}}}{c_{\text{X}^{z-}, \text{W2}}} \right) \quad (27)$$

このとき、W1|M1 及び W2|M2 界面の電位差は等しくなる ($E_{\text{W1|M1}} = E_{\text{W2|M2}}$) ので、式(23) より

$$E_{W1-W2} = E_{BLM} \quad (28)$$

となる。

また、イオンの BLM 透過における膜電位と膜透過電流の関係は以下の通りとなる。BLM 内での電解質濃度勾配が一定 ($\frac{dc_i}{dx} = \text{const.}$) とする Henderson の仮定を用いて電流密度と電位の関係を表すと式(29) の関係が得られる⁵⁷⁾。

$$j_{W1-W2} = -\frac{F^2}{RTd_m} \left\{ E_{BLM} \sum_i \frac{z_i^2 D_i (c_{i^{z_i}, M2} - c_{i^{z_i}, M1})}{\ln \frac{c_{i^{z_i}, M2}}{c_{i^{z_i}, M1}}} + \frac{RT}{F} \sum_i z_i D_i (c_{i^{z_i}, M2} - c_{i^{z_i}, M1}) \right\} \quad (29)$$

ただし、 d_m は BLM の厚さ、 D_i は i^{z_i} の脂質相内における拡散係数を示す。ここで、ゼロ電流 ($I=0$) 時における E_{BLM} ($E_{BLM(I=0)}$) は、式(29) において $j_{W1-W2}=0$ として求めたものが式(30) である。

$$E_{BLM(I=0)} = -\frac{RT}{F} \cdot \frac{\sum_i z_i D_i (c_{i^{z_i}, M2} - c_{i^{z_i}, M1})}{\sum_i \frac{z_i^2 D_i (c_{i^{z_i}, M2} - c_{i^{z_i}, M1})}{\ln \frac{c_{i^{z_i}, M2}}{c_{i^{z_i}, M1}}}} \quad (30)$$

特に、1-1 電解質 ($z_+ = 1, z_- = -1$) を使用した場合、式(29) 及び式(30) はそれぞれ式(31) 及び式(32) となる。

$$I = \frac{F^2}{RT} P_{MX} c_0 E_{W1-W2} \quad (\text{at } r=1) \quad (31)$$

$$E_{W2-W1(I=0)} = \frac{1-\alpha_{MX}}{1+\alpha_{MX}} \cdot \frac{RT}{F} \ln r \quad (32)$$

ここで、式(33)～(35) に示すように P_{MX} はカチオン M^+ の BLM を介した透過係数 P_{M^+} とアニオン X^- の BLM を介した透過係数 P_{X^-} の和、 α_{MX} はカチオン M^+ の BLM 相内での拡散係数とアニオン X^- の BLM 相内での拡散係数の比、 r は二水相間の電解質濃度比である。

$$P_{MX} = P_{M^+} + P_{X^-} = \frac{\beta_{MX} \cdot (1 + \alpha_{MX}) D_{X^-}}{d} \quad (33)$$

$$\alpha_{MX} \equiv \frac{D_{M^+}}{D_{X^-}} \quad (34)$$

$$r \equiv \frac{c_{M^+, W2}}{c_{M^+, W1}} = \frac{c_{X^-, W2}}{c_{X^-, W1}} \quad (35)$$

ここで、 β_{MX} は以下の式で表わされる。

$$\beta_{MX} \equiv \frac{c_{M^+, M1}}{c_{M^+, W1}} = \frac{c_{M^+, M2}}{c_{M^+, W2}} = \frac{c_{X^-, M1}}{c_{X^-, W1}} = \frac{c_{X^-, M2}}{c_{X^-, W2}} \quad (36)$$

式(32) の関係より、二水相の電解質濃度が異なる時、カチオンとアニオンの拡散係数が等しければ ($\alpha_{MX} = 1$) $E_{W1-W2} = 0$ V となるが、等しくない場合 ($\alpha_{MX} \neq 1$) は電位差が発生することが分かる。仮に濃度差が 10 倍あり、 $\alpha_{MX} \approx 0$ (あるいは $\alpha_{MX} \approx \infty$) の場合は 60 mV (あるいは -60 mV) の膜電位を示す。また、膜電位を印加してイオン輸送を起こす場合は、定常条件においてはカチオンとアニオンの対向輸送 (Fig. 4 (c) 参照) となり、式(31) が示すように電流密度に及ぼす寄与は膜内拡散係数の比で決まることが分かる。

支持電解質のように大量の親水性の電解質 (NaCl, KCl 等) を含む水相に極微量の疎水性イオンを添加した場合には、電気的中性則を満たしながら親水性の対イオンと共に疎水性イオンが BLM 内に分配する。膜電位印加に伴い、疎水性イオン自体も移動するが、各相に大量に存在する親水性イオンが主に移動し、疎水性イオンは親水性対イオンのキャリアのような役割をすると考えられる。そのため、一方の水相にのみ疎水性イオンを添加しても、原点 (0 V, 0 A) に対称なシグモイド型の電流-電位関係曲線が得られるものと考えられる。これについては、RI を用いた実験で確認している⁵⁰⁾。疎水性かつイオン性の薬物を添加した場合は、この系と同様と考えられ、対イオンが親水的であっても、式(19) に従って BLM 内に疎水性イオンと対イオンが分配する。電気化学測定のように膜電位を変化させた場合は、各相に大量に存在する親水性対イオンが透過することで電流が観測される。電流が生じない膜電位においては、疎水性の薬物イオンが定常的に移動するが、電気的中性則を満たすように対イオンも同時に共輸送されるか他の共存イオンが共輸送あるいは対向輸送されると考えられる (生体細胞では酸化還元による電子移動も共役する)。

3.3 薬物の水相 (体液) 内輸送

生体内での物質輸送は細胞膜を介した透過と水相 (体液) 中での輸送に分けられる。薬物の作用部位で薬理活性を維持するには一定の薬物濃度が保持されていなければならない。そのため、細胞膜 (BLM) での透過あるいは体液中での輸送のどちらかが律速過程ではあるが、定常的に薬物が供給されていると考えることは妥当といえる。

薬物の分配比が比較的低い場合は、水相中の薬物は単純拡散で運搬される (血流による影響は省いている)。しかし、分配比が高くなると、BLM での輸送に比べて、水相での輸送過程が律速段階となってくる。この場合は、薬物が

中性であるかイオンであるか無関係に, 式(11) で表わされるように分配比 (β_m) に逆比例する現象が観察される. 中性物質の場合は自明であるが, イオンの場合では膜系と異なり, 体液には大量の電解質が含まれているため輸送過程では薬物イオン自体の輸送が効いてくる. したがって, イオンの場合でも中性物質と同様に単純拡散で考えることができる.

4 結 言

薬物を摂取した場合, 薬物が作用する部位まで輸送され, 薬理作用が発現する. 薬剤の疎水性と薬理作用の関係は輸送過程によって決定される. 輸送過程を定常状態と仮定することで, 薬物の活性強度に比例する透過係数について膜/水 (水/膜) 系の分配係数を用いて理論的に導くことができた. また, 薬物は生体膜の脂質二分子膜部分を直接透過すると考えられてきた. しかし, 電荷を持つ薬物 (疎水性イオン) の膜透過は, 各相の電気的中性則と各イオンの移動による混成電位となる界面電位差を考えなければならぬことを明らかにしてきた.

謝 辞

本研究, とくに脂質二分子膜を介したイオン透過の研究において, 有益なご助言, ご指導を賜りました京都工芸繊維大学の木原壯林名誉教授, ご協力, ご支援いただきました筑波大学の辻村清也准教授に感謝致します. 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻生体機能化学分野の皆様及び卒業生の皆様にも感謝申し上げます.

文 献

- 1) H. Mayer : *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, **42**, 109 (1999).
- 2) E. Overton : “*Studien über die Narkose*”, (1901), (Fischer, Jena).
- 3) C. Lynch, III : *Anesthesia and Analgesia*, **107**, 864 (2008).
- 4) A. Missner, P. Pohl : *Chemphyschem*, **10**, 1405 (2011).
- 5) J. Ferguson : *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **127**, 387 (1939).
- 6) J. A. Marrimas, P.-S. Song, L. L. Ingraham, R. D. Draper : *Arch. Biochem. Biophys.*, **100**, 409 (1963).
- 7) C. Hansch, E. J. Lien : *Biochem. Pharm.*, **17**, 709 (1968).
- 8) A. Cammarata : *J. Med. Chem.*, **15**, 573 (1972).
- 9) T. Fujita : *J. Med. Chem.*, **16**, 923 (1973).
- 10) 藤田稔夫 : 日本農薬学会誌, **38**, 2 (2013).
- 11) C. Hansch, W. J. Dunn, III : *J. Pharm. Sci.*, **61**, 1 (1972).
- 12) 江崎俊之の訳 : “定量的活性相関”, (2014), (地人書館); C. Hansch, A. Leo : “*Exploring QSAR—Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*—”, (1995), (Oxford University Press).
- 13) C. Hansch, P. P. Maloney, T. Fujita : *Nature*, **482**, 178 (1962).
- 14) C. Hansch, T. Fujita : *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1616

- (1963).
- 15) T. Fujita, J. Iwasa, C. Hansch : *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 5175 (1964).
- 16) C. Hansch : *Accounts Chem. Res.*, **2**, 232 (1969).
- 17) J. W. McFarland : *J. Med. Chem.*, **13**, 1192 (1970).
- 18) H. Kubinyi : *J. Med. Chem.*, **20**, 625 (1977).
- 19) 加納健司 : 日本農薬学会誌, **39**, 145 (2014).
- 20) A. Finkelstein : *J. Gen. Physiol.*, **68**, 127 (1976).
- 21) A. Walter, J. Gutknecht : *J. Membr. Biol.*, **90**, 207 (1986).
- 22) 高野幹久 : 膜, **17**, 142 (1992).
- 23) C. J. Collins, A. Berduque, D. W. M. Arrigan : *Anal. Chem.*, **80**, 8102 (2008).
- 24) R. F. Flewelling, W. L. Hubbell : *Biophys. J.*, **49**, 531 (1986).
- 25) B. H. Honig, W. L. Hubbell, R. F. Flewelling : *Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem.*, **15**, 163 (1986).
- 26) 西島正弘他訳 : “生体膜”, (1990), (シュプリンガー・フェアラーク東京); R. B. Gennis : “*Biomembranes—Molecular Structure and Function—*”, (1989), (Springer-Verlag New York Inc.).
- 27) O. Shirai, S. Kihara, Y. Yoshida, M. Matsui : *J. Electroanal. Chem.*, **389**, 61 (1995).
- 28) O. Shirai, Y. Yoshida, M. Matsui, K. Maeda, S. Kihara : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **69**, 3151 (1996).
- 29) 白井 理 : *Rev. Polarogr.*, **51**, 99 (2005).
- 30) K. Sasakura, S. Kubota, J. Onishi, S. Ozaki, K. Kano, O. Shirai : *Electrochemistry*, **76**, 597 (2008).
- 31) O. Shirai, Y. Yoshida, S. Kihara : *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**, 494 (2006).
- 32) G. Camenisch, G. Folkers, H. Van de Waterbeemd : *Pharmaceut. Acta Helvetiae*, **71**, 309 (1996).
- 33) M. Fujikawa, K. Nakao, R. Shimizu, M. Akamatsu : *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 3756 (2007).
- 34) M. Akamatsu : *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 2909 (2011).
- 35) K. Sugano, Y. Nabuchi, M. Machida, Y. Aso : *Int. J. Pharm.*, **257**, 245 (2003).
- 36) S. Yamashita, T. Furubayashi, M. Kataoka, T. Sakane, H. Sezaki, H. Tokuda : *Eur. J. Pharm. Sci.*, **10**, 195 (2000).
- 37) A. Kulkarni, Y. Han, A. J. Hopfinger : *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **42**, 331 (2002).
- 38) J. D. Irvine, L. Takahashi, K. Lockhart, J. Cheong, J. W. Toland, H. E. Selick, J. R. Grove : *J. Pharm. Sci.*, **88**, 28 (1999).
- 39) 宇佐美 陸, 白井 理, 北隅優希, 加納健司 : 第75回分析化学討論会要旨集, E2017 (2015).
- 40) P. Lauser : *Science*, **178**, 24 (1972).
- 41) O. Shirai, T. Ohnuki, Y. Kitazumi, K. Kano : *Electroanalysis*, **25**, 1823 (2013).
- 42) 大西 純, 加納健司, 白井 理 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **56**, 965 (2007).
- 43) J. Onishi, O. Shirai, K. Kano : *Electroanalysis*, **22**, 1229 (2010).
- 44) S. Kubota, S. Ozaki, J. Onishi, K. Kano, O. Shirai : *Anal. Sci.*, **25**, 189 (2009).
- 45) S. Kubota, O. Shirai, T. Hibi, Y. Tozawa, K. Kano : *Anal. Sci.*, **25**, 189 (2009).
- 46) S. Kubota, O. Shirai, Y. Kitazumi, K. Kano : *Anal. Sci.*, **32**, 189 (2016).
- 47) E. A. Liberman, V. P. Topaly : *Biochim. Biophys. Acta*, **163**, 125 (1968).
- 48) B. Ketterer, B. Neumcke, P. Lauser : *J. Membr. Biol.*, **5**, 225 (1971).

- 49) C. J. Bender, H. T. Tien : *Anal. Chim. Acta*, **198**, 259 (1987).
50) O. Shirai, S. Ozaki, J. Onishi, N. Kozai, T. Ohnuki, K. Kano : *Chem. Lett.*, **38**, 1038 (2009).
51) 鈴木泰三, 星 猛, 鈴木祐一訳 : “生体膜輸送の基礎”, (1982), (東京化学同人); S. G. Schultz : “*Basic Principles of Membrane Transport*”, (1980), (Cambridge University Press).
52) A. Walter, J. Gutknecht : *J. Membr. Biol.*, **90**, 207 (1986).
53) Z. Samec : *Pure Appl. Chem.*, **76**, 2147 (2004).
54) Y. Yoshida, M. Matsui, O. Shirai, K. Maeda, S. Kihara : *Anal. Chim. Acta*, **373**, 213 (1998).
55) 大塚利行 : *Rev. Polarogr.*, **52**, 3 (2006).
56) Y. Marcus : *Biophys. Chem.*, **51**, 111 (1994).
57) 花井哲也 : “膜とイオン”, (1978), (化学同人).

Relation between Membrane Transport and Transport within
Body Fluid on the Expression of Pharmacological Activities of Drugs
— Mass Transfer in the Quantitative Structure-activity Relationship (QSAR) —

Osamu SHIRAI^{*1}, Yuki KITAZUMI¹ and Kenji KANO¹

^{*} E-mail : shiraio@kais.kyoto-u.ac.jp

¹ Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawaoiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto 606-8502

(Received October 28, 2015; Accepted December 4, 2015)

The activities of drugs are attributed to both the transport process from the intake-region to the organ where the drugs act and the action process at the objective organ. It is generally recognized that the transport process depends on the hydrophobicity of the drugs, and that the action process is affected by their structure. Usually, there is a linear relationship between the rate constant of the transport process (permeability coefficient) and the activity of the drug. However, it has been frequently reported that the drug activity is inversely proportional to the drug hydrophobicity, when the drug hydrophobicity is too strong. By assuming keeping of the steady-state transport of the drugs, a parabolic relationship between the activity of drugs and the hydrophobicity of drugs can be proved by considering both the permeability coefficient of drugs within the membrane and that within the body fluid. Since there are many ionic drugs, we explain the ion-transport mechanism based on the electroneutrality and the interfacial potential formed based on the distribution of both the objective ion and the counter ion. In addition, the ion transport across the bilayer lipid membrane caused by application of the membrane potential is interpreted.

Keywords: linear relationship; membrane; ion transport; drug; hydrophobicity; QSAR.