

[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
 一般論文
 20(4) 265-272 (1994)]

寒天包埋活性炭ビーズの慢性腎不全治療用経口吸着剤
 としての検討とクレメジンの評価^{†1}

本田義輝, 中野眞汎
 熊本大学医学部附属病院薬剤部^{†2}

Examination of Agar-Encapsulated Activated Carbon
 Beads as an Oral Adsorbent for the Treatment of
 Chronic Renal Failure and Evaluation of Kremezin^{†1}

YOSHITERU HONDA, and MASAHIRO NAKANO
 Department of Pharmacy, Kumamoto University Hospital^{†2}

(Received September 28, 1993)
 (Accepted January 27, 1994)

Adsorption characteristics of creatinine by activated carbon beads consisting of about 67% activated carbon powder in agar were studied *in vitro* and compared with those of Kremezin® from the standpoint of usefulness for sequestering uremic wastes and uremic toxins exsorbed into the intestine. The extent and rate of creatinine adsorption on carbon in the beads were almost equal to those of the naked powder, and the preparation also demonstrated a similar adsorption behavior for creatinine as compared with Kremezin under the conditions of the presence of various ionic and nonionic additives. Furthermore, uremic peaks 2a and 2b on HPLC specific to chronic renal failure were readily eliminated by the treatment of the beads in the uremic plasma. On the other hand, although the adsorption capacities of Kremezin for drugs were generally equal to those of medical carbon, the adsorption rate by Kremezin was smaller, but inferiority was not so serious as to make Kremezin useless as an oral antidote in acute intoxications brought on by drugs.

Keywords—activated carbon, activated carbon beads, activated charcoal, oral adsorbent, chronic renal failure, uremic toxins, uremic peaks, creatinine adsorption

緒言

消化管内には血中濃度に相関して種々の物質が

^{†1} 本報の内容は、日本薬学会第113年会（大阪、1993年3月）で発表した。本研究の一部は、平成3年度文部省科学研究費補助金（奨励研究(B)）によった。

^{†2} 熊本市本荘1-1-1; 1-1-1, Honjo, Kumamoto, 860 Japan

存在するが、腎不全患者においても例外ではない¹⁾。活性炭を経口投与して、消化管内で代謝性老廃物や尿毒症性毒素を直接、または腸管壁を介して吸着除去し、臨床的に腎不全進行の抑制および透析導入時期の延長を意図する吸着療法は、1964年の Yatzidis らの試み²⁾に始まる。その後、活性炭^{3,4)}を中心として、酸化デンプン^{5,6)}、イオン交換樹脂あるいはウレアーゼ等⁷⁾を用いて腎不

全の保存的療法が種々検討されたが、長い間実用化までには至らなかった。しかしながら、このたび石油系炭化水素由来の球形吸着炭“クレメジン”に尿毒症症状の改善効果が認められ、臨床の場に供されることとなった。

一方、我々はこれまでに粉末活性炭の優れた吸着能に着目し新しい経口投与用剤形の開発を目的として、粉末活性炭を寒天で包埋することにより顆粒状とした活性炭ビーズを試作し⁸⁾、中毒解毒剤^{9,10)} および高脂血症治療剤¹¹⁾としての応用を検討してきた。そこで今回、本剤のクレメジン同様の作用機作による慢性腎不全治療への応用性を、尿毒症性物質の代表としてクレアチニンを対象として *in vitro* において検討した。また、クレメジンの急性薬物中毒時の解毒剤としての適応を想定して、いくつかの薬物に対するクレメジンの吸着性についても検討した。

実験の部

1. 試料および試薬類

活性炭は日本薬局方規格の薬用炭（犬日ノ出製薬）を用い、クレメジンについては呉羽化学工業より恵与されたクレメジンカプセル 200® を開封して試料とした。クレアチニン、牛血清アルブミン、トリオレイン、コール酸ナトリウム、テオフィリン、硫酸キニジン二水和物、 α -アミラーゼ、ペプシン、リパーゼ、トリプシンおよびキモトリプシンは和光純薬工業の試薬を用いた。また、フェノバルビタールおよびアセトアミノフェンは、各々丸石製薬および山之内製薬の局方品を用いた。パラコートはアイ・シー・アイジャパン社（現：ゼネカ株）より提供を受けた。

寒天包埋活性炭ビーズは、4%寒天（和光純薬工業、一級）水溶液中に粉末活性炭を8%の割合で分散させることにより得た球形ビーズを減圧乾燥して調製した。詳細は先に報告した¹²⁾が、その重量の2/3が活性炭、残り1/3が寒天から成る顆粒状製剤であり⁸⁾、今回の実験には調製できる主分画である粒子径 297~590 μm (mesh size 28/48) の大きさのものを使用した。他の試薬はすべて試薬特級を用いた。

2. 吸着実験

1) クレアチニンに対する吸着性

粉末活性炭およびクレメジンを各々約 10 mg、活性炭ビーズについては約 15 mg を正確に秤量し、各々 50 ml 用三角フラスコに入れ、精製水にて種々の濃度 (200~1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) に調製したクレアチニン溶液 10 ml を加え、37°C の恒温槽中で24時間攪拌した。攪拌停止後、0.45 μm のメンブランフィルター (Minisart NML, Sartorius 社) でろ過することにより吸着剤を除去し、ろ液中の遊離のクレアチニン濃度を Jaffé 反応を応用した測定キット (クレアチニン-テストワコー, 和光純薬工業) により定量した。次に、初期濃度との差より吸着剤 1g 当たりの吸着クレアチニン量を算出した。なお、飽和吸着量は吸着平衡状態におけるクレアチニン濃度と吸着剤 1g 当たりの吸着量との関係から、Langmuir の吸着等温式を用いて算出した¹²⁾。吸着速度の測定は、クレアチニン水溶液 (1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10 ml) に各吸着剤を活性炭として 15 mg ずつ添加して、72時間まで検討した。また、0.1M NaCl, 0.1%テオフィリン, 2mM コール酸ナトリウム, 1%牛血清アルブミン (BSA) および 2.4mM トリオレイン存在下で同様の実験を行うことにより、クレアチニン吸着に及ぼす共存物の影響を検討した。

2) 消化酵素類に対する吸着性

α -アミラーゼとペプシンは37°C, リパーゼ, キモトリプシンおよびトリプシンは 21°C において pH 7.4 リン酸塩緩衝液中で接触させることにより、粉末活性炭, 活性炭ビーズおよびクレメジンへの吸着量を比較した。なお、酵素類の定量は、紫外部での吸光度により行った。

3) 透析患者血漿中成分に対する吸着性

正確に秤量した吸着剤を透析患者血漿に添加し、37°C 3時間振とう後、遠心分離した。上清に対して、小出らの高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析¹³⁾を行い、クレアチニン, 尿酸および尿毒症性成分 (ピーク 2a および 2b) に対する吸着性を、吸着操作前後の各ピーク面積により検討した。

4) 各種薬物に対する吸着性

日本薬局方崩壊試験法における第1液 (pH 1.2) および第2液 (pH 6.8) を用いて種々の濃度に調製したテオフィリン, フェノバルビタール, キニジン, アセトアミノフェンおよびパラコートの各溶液に薬用炭 (粉末活性炭) またはクレメジン を添加し, クレアチニンに対する吸着試験と同様に行った. なお, 各薬物の定量は, 紫外部極大吸収波長で直接吸光度を測定することにより行った.

結果および考察

1. クレアチニンに対する吸着性

慢性腎不全時の代表的な代謝性老廃物であるクレアチニンに対する粉末活性炭, 活性炭ビーズおよびクレメジンの吸着等温曲線を図1に示す. クレアチニン濃度の上昇に伴い各活性炭製剤への吸着量は増加し, ある一定濃度以上では吸着量は一定値に近づき吸着飽和現象が確認された. 活性炭ビーズ, クレメジン共に粒形のため, 粉末活性炭に比べ低い濃度では若干クレアチニンとの接触性が劣るようにも見られたが, 全般的には同様の吸着挙動を示した. また, これらのデータを基に Langmuir の式より飽和吸着量を算出すると, 各々, 粉末活性炭が 689 mg/g, 活性炭ビーズが

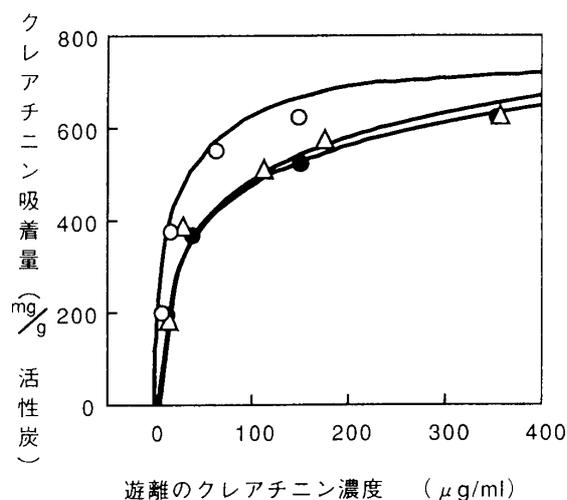


図1. 粉末活性炭, 活性炭ビーズおよびクレメジンのクレアチニンに対する吸着等温曲線
○, 粉末活性炭; ●, 活性炭ビーズ;
△, クレメジン

活性炭として 671 mg/g およびクレメジンが 670 mg/g と, 三者とも全く同等であった. また, 図2に水中でのクレアチニンの吸着速度を示すが, 三者とも同様のパターンであった. クレアチニンの活性炭製剤への吸着は, 一般的な薬物の吸着速度に比べかなり遅い¹⁰⁾ものであり, 吸着平衡に達するには2, 3日も要する. これは, クレアチニンが芳香環を持たない低分子であるために疎水性が小さく, そのため活性炭への親和性が低いた

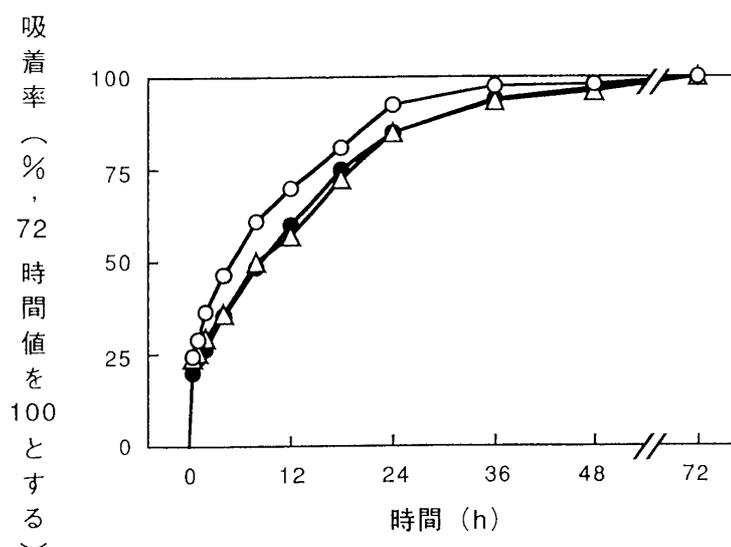


図2. 粉末活性炭, 活性炭ビーズおよびクレメジンのクレアチニンに対する吸着速度
○, 粉末活性炭; ●, 活性炭ビーズ; △, クレメジン

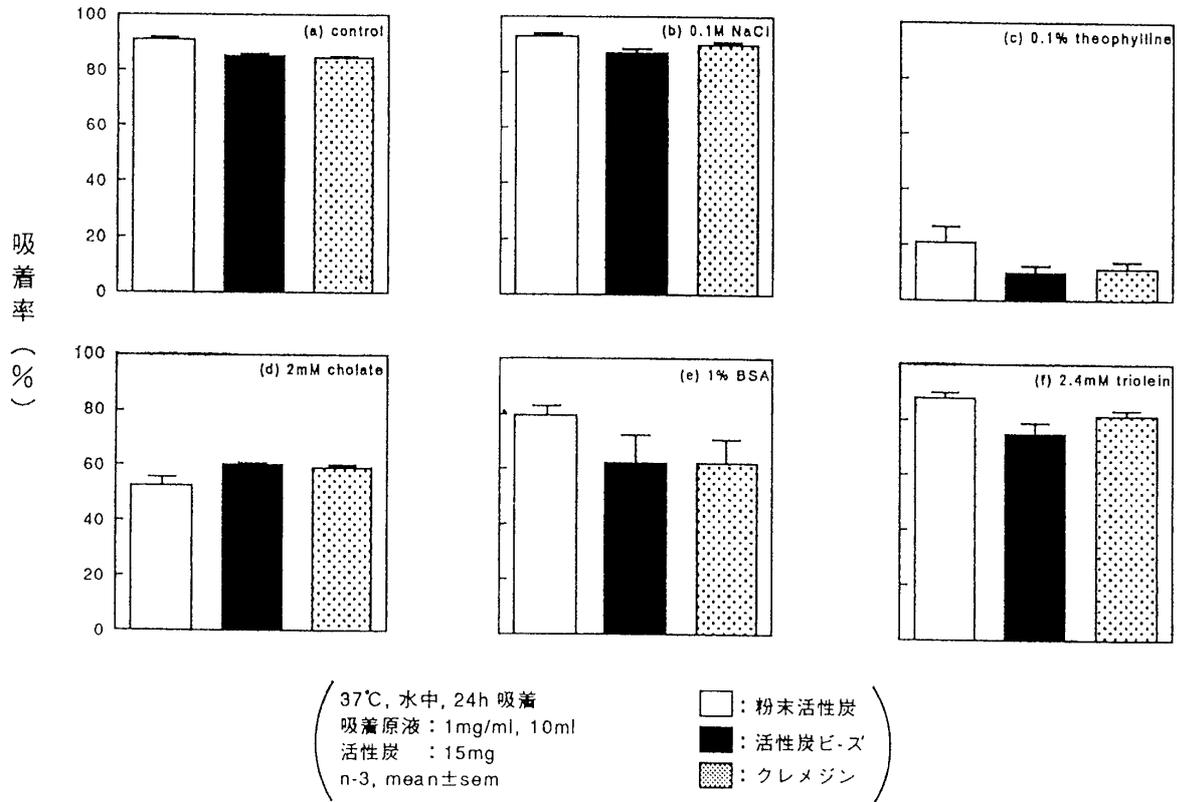


図 3. クレアチニン吸着に及ぼす共存物の影響

めと考えられる。

したがって、共存物の影響を受け易いことが予想されたが、今回の検討結果を図3に示す。まず、無機塩類の例として NaCl を 0.1M の濃度で添加すると、わずかではあるがクレアチニン吸着量が増加する傾向が認められた。無機塩類共存下で、その吸着能が損なわれるどころか逆に増大するという活性炭の特性は、我々はこれまでも被吸着対象がサリチル酸¹²⁾、コール酸¹⁴⁾、キニジン⁹⁾ およびパラコート¹⁵⁾ の場合にも同様の結果を得ており、塩類による一種の塩析効果に基づくものと推測された。また、活性炭は、通常、薬物をその重量 1g 当たり数百 mg 吸着することが知られている¹⁶⁾が、その代表としてテオフィリンを 0.1% の濃度で共存する条件下においては、クレアチニン吸着量は大きく減少しテオフィリンによる強い競合的吸着阻害現象が認められた。クレアチニンに比べテオフィリンの方が活性炭への親和性が強く優先的に吸着されることが原因と考えられる。

コール酸存在下においては、粉末活性炭に比べ活性炭ビーズ、クレメジンの方がクレアチニン吸着量への影響は小さく、逆に BSA 存在下では、活性炭ビーズおよびクレメジンの方が強く阻害される傾向にあった。これは、活性炭ビーズについては外側の寒天層の存在が、また、クレメジンに関しては外表面の細孔のサイズ等が起因して、その結果として粉末活性炭と若干の差が生じたものと考えられる。なお、中性脂肪のトリオレインは、いずれの活性炭製剤においても大きな影響を及ぼさなかった。

以上、今回検討した5種類の共存物の影響は、三者の活性炭製剤において大差は認められず、類似の吸着阻害現象が確認された。したがって、寒天を用いて粉末炭を経口用のビーズ状としても吸着能は損なわれることはなく、また、この製剤は全くクレメジンと同等の吸着能、吸着挙動を示した。しかしながら、いずれの製剤においても、薬物、特に芳香環を持った疎水性の薬物が存在すると、活性炭表面が薬物により優先的に占領され有

効表面積が極端に小さくなることにより、クレアチンを始めとする尿毒症性物質の吸着が大きく損なわれ本来の治療効果を発揮し得ないことも危惧され、临床上十分注意すべき点と考えられる。また、蛋白や胆汁酸類の吸着も考慮する必要がある。

2. 消化酵素類に対する吸着性

代表的な消化酵素5種類の活性炭への吸着性を

表1に示す。粉末炭はいずれの消化酵素に対しても高い吸着力を示したのに対し、活性炭ビーズへの吸着性は非常に低いものであった。消化酵素は分子量数万の大きい分子であるために、寒天ゲル内に進入し難いことが主な原因と考えられ、寒天包埋活性炭ビーズのこの性質は、経口吸着剤として評価する際には消化酵素類による吸着阻害を受け難いという利点と考えられる。なお、クレメジ

表 1. 消化酵素類に対する粉末活性炭, 活性炭ビーズおよびクレメジンの吸着性

吸着対象酵素	吸着率 (%) ^{a)}		
	粉末活性炭	活性炭ビーズ	クレメジン
α-アミラーゼ	84.8 ± 1.7	13.0 ± 2.2	38.5 ± 1.7
ペプシン	82.9 ± 1.8	27.5 ± 0.8	41.3 ± 6.4
リパーゼ	95.5 ± 1.6	69.1 ± 0.7	73.3 ± 1.8
キモトリプシン	93.5 ± 2.6	11.3 ± 1.4	10.7 ± 1.0
トリプシン	85.0 ± 1.0	21.2 ± 1.1	33.6 ± 7.0

a) 原液濃度 : 10mg/10ml (pH 7.4 リン酸塩緩衝液)
 吸着剤 : 25mg (活性炭として)
 吸着平衡時間 : 3時間
 n = 3, 平均 ± S.E.M.

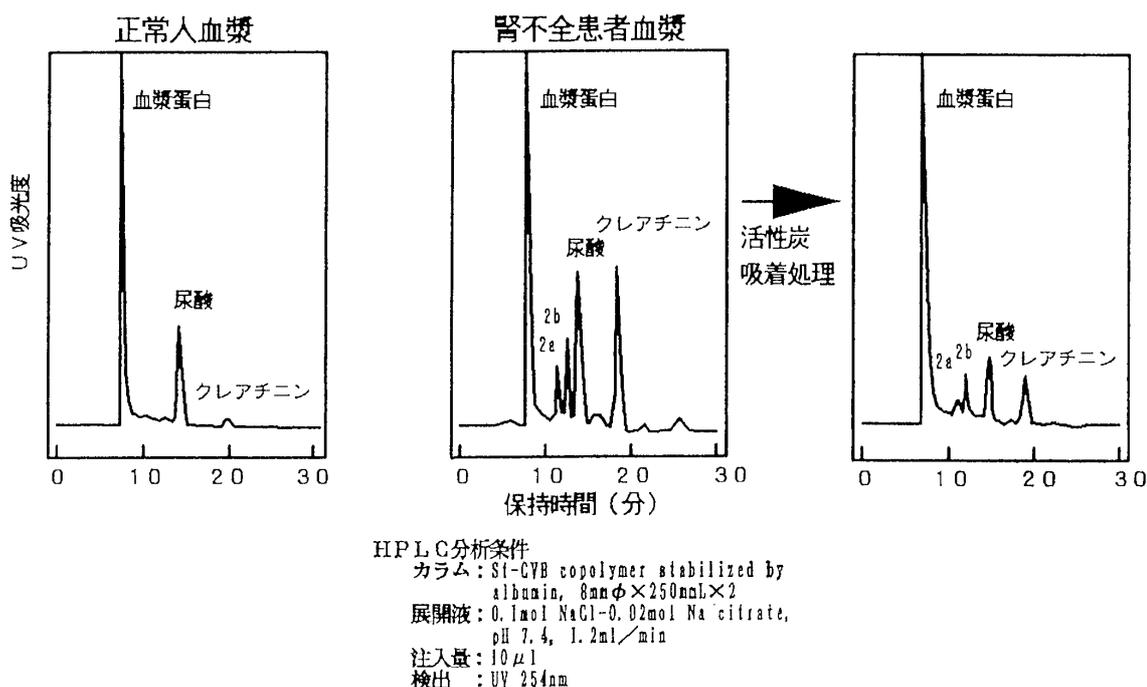


図 4. 活性炭吸着処理による HPLC 上尿毒症性ピーク 2a, 2b および尿酸, クレアチニンピークの変化

ンも同様に消化酵素に対しては弱い吸着力しか示さなかった。

3. 透析患者血漿中成分に対する吸着性

図4に示すように、慢性腎不全患者の血漿をHPLC¹³⁾にて分析すると、健常者に比べクレアチニンや尿酸のピークが大きいばかりか、健常者では見られない異常ピーク、つまり尿毒症性ピーク2aおよび2bが特異的に検出される。この透析患者血漿に対し、*in vitro*において活性炭吸着処理を施すと、いずれのピークも小さくなり、活性炭による吸着除去が示唆された。3種の吸着剤による除去率を表2に示す。

まず、尿毒症性ピーク2a、2bについては、クレメジンはもちろん、粉末活性炭および活性炭ビーズでも吸着除去され得ることが確認された。また、全般的に見てピーク2aに比べピーク2b成分の方が除去効率が良かった。

一方、尿酸、クレアチニンに対しても、3種の吸着剤により血漿中より効率良く吸着除去が可能であった。

4. 各種薬物に対する吸着性

テオフィリンに対する薬用炭（粉末活性炭）とクレメジンの吸着能を局方第1液および第2液中で比較すると全く同程度であった（図5）。しかしながら吸着速度に関しては、図6に示されるようにクレメジンへの吸着は薬用炭に比べはるかに遅い過程で進行し、吸着平衡に達する時間も薬用炭では約30分であるのに対し、クレメジンでは2時間程度も要した。これは、クレメジンが直径0.2~0.4 mmの粒形であるために、内部の有効吸着表面へ到達するのに多少時間がかかることに起因すると考えられる。

中毒事故発生率の高い5種類の薬物を選択して同様の吸着実験を行い、得られたデータより算出

表2. 活性炭吸着処理によるHPLC上尿毒症性ピークおよび尿酸、クレアチニンピーク面積の変化
(a) 尿毒症性ピーク2a、2bの残存ピーク面積(%)

吸着剤	活性炭添加量 (g / dl)					
	0.5		1.0		2.5	
	2a	2b	2a	2b	2a	2b
粉末活性炭	87.6±4.8	60.6±2.7	58.7±2.2	14.2±2.5	39.7±3.9	5.9±0.4
活性炭ビーズ	99.1±6.3	81.1±6.7	74.9±6.0	40.3±4.3	51.3±4.0	4.4±0.9
クレメジン	81.6±5.2	46.6±5.6	53.0±3.5	8.8±3.0	34.4±0.7	6.3±0.9

(b) 尿酸(UA) クレアチニン(Cr) ピークの残存面積(%)

吸着剤	活性炭添加量 (g / dl)					
	0.5		1.0		2.5	
	UA	Cr	UA	Cr	UA	Cr
粉末活性炭	6.3±0.7	25.4±2.3	N.D.	6.4±0.3	N.D.	1.5±0.4
活性炭ビーズ	16.3±1.7	38.5±2.1	4.0±0.2	14.2±1.9	N.D.	3.6±0.5
クレメジン	7.6±1.8	21.3±2.3	N.D.	6.5±0.3	N.D.	2.6±0.2

N.D. : not detectable

した飽和吸着量を表3に示す。クレメジンは粒状であるにもかかわらず、一般的な薬物に対して粉末炭と全く同等の吸着能を有することが確認され、粉末炭に代わる新しい中毒解毒剤としての応用の可能性が示唆された。

5. 応用

透析患者1名の社会復帰に年間500万円以上の医療費を要することを考慮すると、積極的な保存的療法の必要性は、今後益々高まることが予想される。したがって、明確な透析導入遅延効果を持つ経口吸着剤の開発および改良は緊急を要する社会的課題と考えられる。市販品のクレメジンとの比較により、我々の試作した寒天包埋活性炭ビー

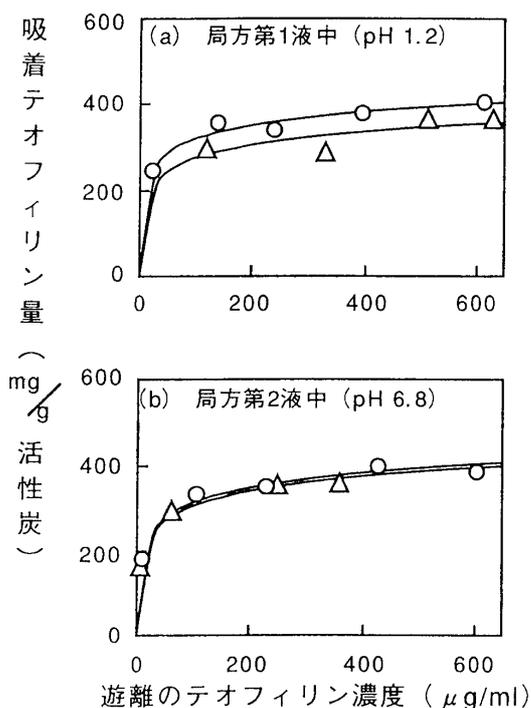


図5. 薬用炭(粉末活性炭)およびクレメジンのテオフィリンに対する吸着等温曲線
○, 薬用炭(粉末活性炭); △, クレメジン

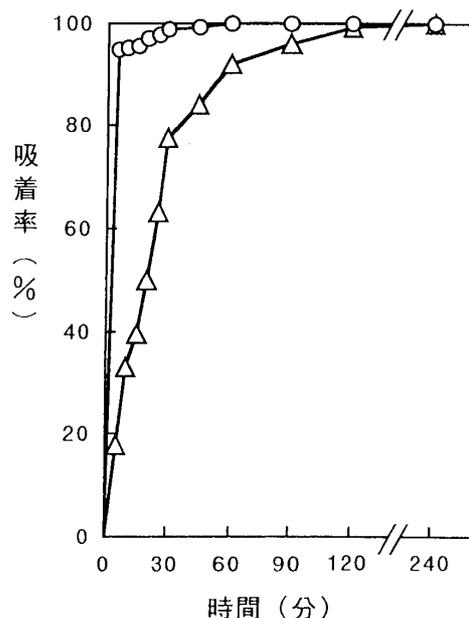


図6. 薬用炭(粉末活性炭)およびクレメジンのテオフィリンに対する吸着速度
○, 薬用炭(粉末活性炭); △, クレメジン

表3. 各種薬物に対する薬用炭およびクレメジンの飽和吸着量

薬物	局方第1液 [pH 1.2]		局方第2液 [pH 6.8]	
	薬用炭	クレメジン	薬用炭	クレメジン
テオフィリン	417	415 (99%)	397	365 (92%)
フェノバルビタール	435	390 (90%)	363	348 (96%)
キニジン	114	104 (91%)	194	161 (83%)
アセトアミノフェン	356	339 (95%)	352	352 (100%)
バラコート	73	91 (125%)	83	96 (116%)

mg / g 吸着剤、 (): 薬用炭に対する割合

ズにも慢性腎不全治療への応用性が示唆された。また、寒天に緩下作用があることから、活性炭ビーズには活性炭の副作用である便秘を生じ難い利点も期待される。今回は、その活性炭原料としては犬日ノ出製薬の局方品を用いたが、活性炭はその原料および製法（賦活法）により対象物質に対する選択性も異なる¹⁷⁾ことから、慢性腎不全時に蓄積する代謝性老廃物や尿毒症性毒素の吸着に適する活性炭原料のスクリーニングをさかのぼって検討する必要もあろう。

他方、クレメジンの中毒治療分野への応用に関して評価すると、クレメジンは造粒された球形炭にもかかわらず、種々の薬物に対して通常の薬用炭と比較しても遜色のない吸着能を有している。現在、中毒治療への適応を持つ活性炭製剤としては飛散性・付着性等の問題から取り扱い難く、しかも服用困難な薬用炭しかないことから判断すると、中毒解毒薬としてもクレメジンは十分評価に値する吸着剤であり、臨床応用が期待されるところである。

謝辞 透析患者血漿の HPLC 分析にご協力いただいた呉羽化学工業株式会社 中尾正明氏に謝意を表します。

引用文献

- 1) H. Yatzidis and D. Oreopolus, *Kidney Int.*, **10**, s-215-s-217 (1976).
- 2) H. Yatzidis, *Nephron*, **1**, 310-312 (1964).
- 3) R. E. Sparks, N. S. Mason, P. M. Meier, M. H. Litt, and O. Linden, *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **18**, 458-464 (1972).
- 4) K. K. Goldenhersh, W. Huang, N. S. Mason, and R. E. Sparks, *Kidney Int.*, **10**, s-251-s-253 (1976).
- 5) R. E. Sparks, N. S. Mason, P. M. Meier, M. H. Litt, and O. Linden, *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **17**, 229-235 (1971).
- 6) T. Shimizu and S. Fujishige, *J. Biomed. Mater. Res.*, **17**, 597-612 (1983).
- 7) D. L. Gardner, R. D. Falb, B. C. Kim, and D. C. Emmerling, *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **17**, 239-245 (1971).
- 8) 本田義輝, 中野尚美, 中野眞汎, *ファルマシア*, **21**, 414-417 (1985).
- 9) 本田義輝, 岩奥玲子, 中野尚美, 中野眞汎, *臨床薬理*, **15**, 437-443 (1984).
- 10) Y. Honda, M. Nakano, and N. I. Nakano, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **13**, 597-601 (1990).
- 11) Y. Honda, M. Nakano, and N. I. Nakano, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **10**, 557-563 (1987).
- 12) N. I. Nakano, Y. Shimamori, M. Umehashi, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 699-707 (1984).
- 13) 小出桂三, 遠山純子, 井上 昇, 越川昭三, 秋沢忠男, 高橋 健, 日高三郎, 山根至二, 中尾正明, 上原康夫, 西村 寧, *日腎誌*, **28**, 1101-1110 (1986).
- 14) N. I. Nakano, S. Funada, Y. Honda, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 4096-4102 (1984).
- 15) 本田義輝, 中野尚美, 中野眞汎, *病院薬学*, **18**, 100-105 (1992).
- 16) P. J. Neuvonen and K. T. Olkkola, *Med. Toxicol.*, **3**, 33-58 (1988).
- 17) N. I. Nakano, S. Funada, Y. Honda, and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 2084-2090 (1985).