

配糖体は天然のプロドラッグ

—無菌およびヒト腸内細菌感染ラットを用いての証明—

小橋 恭一

富山医科薬科大学

Glycosides are natural prodrugs

—Evidence using germ-free and gnotobiotic rats associated with a human intestinal bacterium—

Kyoichi KOBASHI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toyama Medical and Pharmaceutical University

(Accepted February 20, 1998.)

Abstract

Most ingested glycosides are resistant to gastric acid and digestive enzymes and pass through the upper intestinal tract without absorption to the lower tract, where more than hundreds species and hundred billions of anaerobic bacteria inhabit. Then, glycosides are retained in the tract and mostly hydrolyzed by intestinal bacterial glycosidases to the corresponding aglycones, which are then absorbed slowly and continuously to exhibit pharmacological effects. Using germ-free and gnotobiotic rats, mono-associated with a human intestinal bacterium capable of hydrolyzing glycosides, we demonstrated that glycosides are natural prodrugs, activated specifically by the β -glycosidases produced by the human intestinal anaerobes. In the present review, relation of *Bifidobacterium* sp. SEN and *Eubacterium* sp. BAR to purgative effects of sennoside and barbaloin, respectively, relation of *Eubacterium* sp. GLH to anti-inflammatory action of glycyrrhizin, and relation of bacterial β -glucuronidase to absorption of baicalin were described as examples. Therefore, these evidences show that oral ingestion is necessary for Kampo medicine and furthermore, these observations may explain that the individual differences in pharmacological effects are due to the differences in intestinal microflora of animals and humans.

Key words glycoside, prodrug, germ-free rat, gnotobiotic rat.

はじめに

漢方薬の特長は、患者の体質や症状「証」に対応して、数種の天然薬物を組み合わせた「方剤」を、「経口服用」することである。あくまでヒトを対象とする飲みぐすりであって、ラットやマウス対象の注射薬ではない。これまで方剤や生薬の抽出物や成分の、*in vitro*の薬理や生化学的研究が広く行われているが、上記の特長を無視したものである。そこで著者らは、まず和漢薬成分中の配

糖体についてヒト腸内フローラによる代謝と薬理活性との関連について研究を行ってきた。いいかえると和漢薬成分は「経口服用」すると消化管内で腸内フローラと接し、あるものは対応するバクテリアにより代謝変換を受けて、始めて吸収される。またあるものはそのまま吸収されるが、肝臓で解毒されて胆汁に排泄され、腸内フローラと接し、脱抱合などの代謝変換を受けて、再び吸収される(図1)。特に水溶性の糖部を持つ配糖体は腸より吸収され難く、したがって腸管腔内に滞留する時間も長く、腸内細菌の作用も受けやすい。また当然のことながらバ

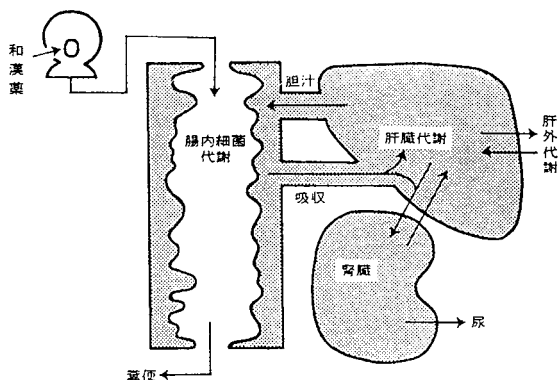


図1 和漢薬成分代謝における腸内細菌の位置づけ

イオアベイラビリティーは低く、配糖体がそのままで薬理作用を示す可能性は低い。この仮説に基づき、数種の和漢薬配糖体成分のヒト腸内フローラによる代謝研究を行ってきた。ヒトフローラで代謝活性があれば、必ず代謝菌がいるわけで、対応する細菌を分離し同定してきた。反応が二段階以上であると、二種以上の菌種による手渡し反応である場合もある。一方ヒトの腸内よりすでに分離され同定された菌株も購入できるし、分与されるので、それらについての配糖体代謝能を調査してきた。また、これらの反応に関与する酵素(系)の産生条件の検討を行い、さらに対応する酵素を分離、精製し、その酵素化学的諸性質を明らかとしてきた。一方 *in vivo* で、ヒトで配糖体を含む漢方方剤を飲んだ場合、またラットに配糖体を経口投与した場合、その血清中の配糖体代謝物、とくにアグリコン濃度を経時的に測定してきた。これらの測定のために EIA など好感度の定量法を開発してきた。得られた結果は、配糖体は天然のプロドラッグか？との仮説を支持するデータであった。現在では疑問符をはずして本総説のタイトルとするに至っている。例をあげると、瀉下活性のある大黄やセンナの成分であるセンノサイド、アロエの成分であるバルバロイン、抗炎症活性のある甘草の主成分であるグリチルリチン、柴胡の主成分であるサイコサポニン、鎮静作用を示す芍薬成分の

ペオニフロリン、利胆作用を示す山梔子のゲニポシド、抗脂血作用を示す黄芩成分のバイカリン、強壯作用があるとされる薬用人参成分のジンセノサイドなどなどである。これらは、それぞれに対応するヒト腸内菌由来の β -グリコシダーゼによって分解されて、初めて血中へ移行することを証明してきた。また対応する β -グリコシダーゼは、貧栄養条件下で配糖体によって誘導され、糖部分はグリコシダーゼ産生菌の C-源となっていることを証明してきた。これらの知見は、1992 年本学会誌の最初の総説「腸内菌酵素による生薬成分の代謝と活性化」に詳述した¹⁾ので、その後の知見について紹介する。最近、腸内フローラの役割を、無菌ラットをコントロールとして用い、さらに無菌ラットにヒト腸内菌由来の代謝菌を単一感染させたノトバイオトを用いる一連の研究を行った。ここで配糖体はヒト腸内細菌により活性化される天然のプロドラッグであることが明らかにされた。したがって本総説は 1992 年以降の発表論文を中心にまとめた。

1. センノサイドは大腸送達性プロドラッグである

大黄およびセンナの主瀉下成分センノサイドは静注では効果がなく、経口投与して初めて作用が発現する。著者らは、すでにラットおよびヒト腸内細菌叢により、センノサイドがアグリコンであるセニジンを経てレイナンスロンに代謝変換されること(図2)を明らかにした²⁾。センノサイドはグリチルリチンやバイカリンとは異なり β -グルコシド配糖体であるので、腸内細菌由来の β -グルコシダーゼにより水解されセニジンを生じると考えられる。しかながら、センノサイドはアーモンドや肝臓の β -グルコシダーゼ、さらに強力な β -グルコシダーゼ活性を有する多くの腸内細菌株で全く水解されなかった(表1)。著者らはヒト糞便よりセンノサイド代謝菌を分離し、本菌が *Bifidobacterium* 属の一種(sp. SEN と名付けた)で、センノサイドをセニジンモノグルコシドを経てセニジンへ水解することを明らかにした³⁾。本菌のセンノサイド加水分解は、培地中にセンノサイドを入れると

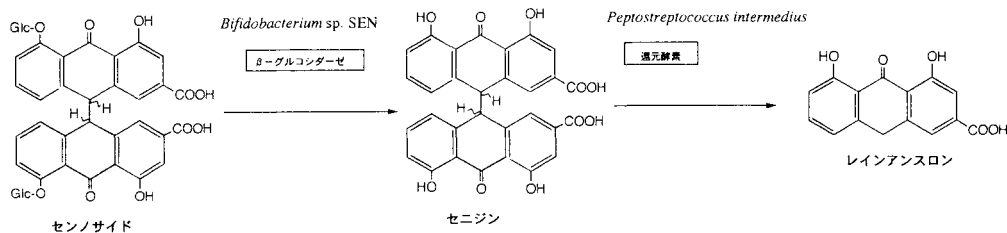


図2 ヒト腸内細菌によるセンノサイド代謝

表 I β-グルコシダーゼの基質特異性

酵素標品	基 質			
	pNPG	ゲニポシド	ペオニフロリン	センノサイド
アーモンド	+	+	-	-
ラット肝臓	+	-	-	-
腸内細菌				
大多数の菌種	+	+	+	-
<i>Bifidobacterium</i> sp. SEN	+	+	+	+

pNPG ; p-ニトロフェニール-β-D-グルコサイド

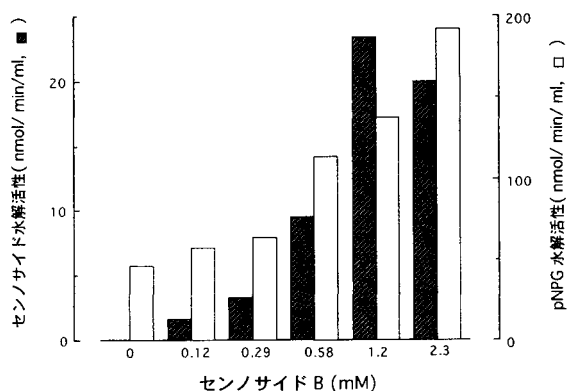


図3 センノサイドによるセンノサイド水解酵素の誘導

著しく活性が増大する誘導酵素である(図3)。一方、セニジンからレインアンスロンへの変換は大多数の腸内細菌株に認められた。代謝能の強い *Peptostreptococcus intermedius* の代謝酵素, NADH-フラビン還元酵素の研究から, セニジンは還元型フラビンにより非酵素的にレインアンスロンへ還元されることが明らかになった。⁴⁾ この還元反応は酸素により強く阻害されることから, 本反応は嫌気条件下の消化管下部においてのみ進行するものと考えられる。これら両腸内細菌株を混合することにより, センノサイドからレインアンスロンへの変換が速やかに進行した。

レインアンスロンに直接瀉下作用があること, さらに無菌動物ではセンノサイド経口投与により下痢が誘発されないこと, 上記の両代謝菌を感染させたノトバイオトラットで下痢が誘発されることから, センノサイドはそれ自身には瀉下作用はなく腸内細菌により活性本体のレインアンスロンに変換されて薬効を発現するプロドラッグである。しかも, 胃や小腸で吸収されず, 酸および消化酵素に耐性で消化管下部にまで到達し, 作用部位で代謝活性化が進行する。すなわち, センノサイドはターゲティングを兼ね備えている巧妙に作られた天然のプロドラッグと言える。臨床的にセンノサイド製剤の瀉下活性に個人差があるが, これは消化管下部の *Bifidobacterium* sp. SEN の多少とそれによるβ-グルコシダーゼ活性の高低によるものと推定されている。⁵⁾

2. グリチルリチンは腸内細菌により緩やかに活性化される

甘草は漢方処方7割以上に含まれる代表的生薬で, グリチルリチンはその主有効成分で, グルクロン酸が2個結合した配糖体である。グリチルリチンには抗炎症, 抗アレルギー, 抗ウイルス, ステロイド様作用など多くの作用が知られており, 現在治療薬として用いられている。また, しょ糖の150倍以上の甘味物質で, 食品添加物として大量に使用され, ヨーロッパではダイエットキャンディーの大量摂取による偽アルドステロン症の発

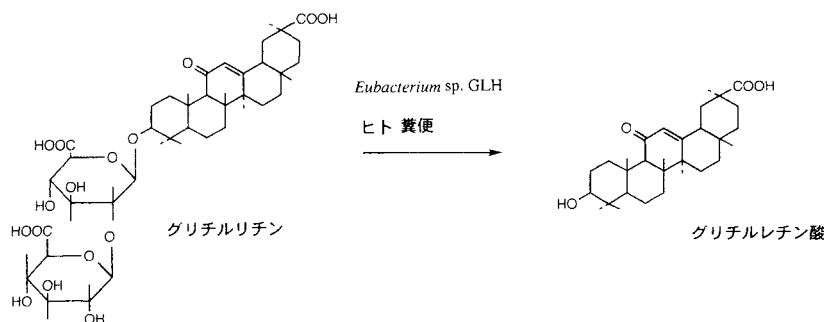


図4 腸内細菌によるグリチルリチンの水解

症を招き問題となっている。

グリチルリチンについての研究は数多くなされているが、代謝研究は少なく最近までその体内動態はほとんど不明のままであった。著者らは、経口投与されたグリチルリチンがまず腸内細菌により代謝を受けると考え、ヒト腸内フローラとインキュベートしてみた。すると、グリチルリチンはその糖部の2分子のグルクロン酸が外れたアグリコン（グリチルレチン酸）へ水解され（図4）、ついでその一部がさらに3-ケト体を経て3-エピグリチルレチン酸へと変換された⁶⁾。そこで、ヒト糞便よりこれらの変換に関わる代謝菌を分離し、さらにそれぞれの代謝酵素を精製した。

グリチルリチンをグリチルレチン酸へ代謝変換する菌種は、ヒト腸内で優性の偏性嫌気性菌属 *Eubacterium* の一種 (sp. GLH と名付けた) であった⁷⁾。ヒト由来の20数種の腸内菌株やヒト糞便由来の寒天平板上の多くのコロニーに変換能が認められなかったことから、本代謝菌は珍しい菌種と思われる。本菌は2種類のβ-グルクロニダーゼを産生し、その内の1つがグリチルリチン水解能を有していた（本酵素をグリチルリチンβ-グルクロニダーゼと命名）。*Escherichia coli* のβ-グルクロニダーゼは全くグリチルリチンを水解せず、他の多くのβ-グルクロニダーゼ産生菌にもグリチルリチン水解能が検出されなかった。ところで、長い間グリチルリチンは肝臓でグリチルレチン酸へ水解されると考えられてきた。確かにウシ肝β-グルクロニダーゼはグリチルレチン酸への水解活性を示したが、我々の詳しい研究により、グリチルリチンのまず1つのグルクロン酸が外れたモノグルクロニド体へと水解され、これが弱いながら次第にグリチルレチン酸へと水解される2段階反応であることが判明した。しかし、この後者の水解反応はヒトやブタのβ-グルクロニダーゼでは全く進行しなかった⁸⁾。従って、ヒトにおいてグリチルリチンからグリチルレチン酸への代謝変換には、上記の代謝菌 *Eubacterium* sp. GLH の酵素が必要であると推測される。

一方、富山医科薬科大学医学部の矢野教授（現名誉教

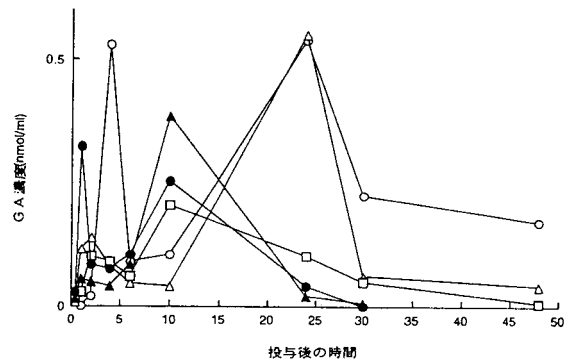


図5 グリチルリチン経口投与後の健康人血清中のグリチルレチン酸 (GA) 濃度

授) のグループは、グリチルリチンとグリチルレチン酸の酵素免疫測定法を確立し、グリチルリチン投与後の血中濃度を測定した。グリチルリチンを健康人に経口投与すると、血清中には全くグリチルリチンは検出されず、グリチルレチン酸のみが検出された⁹⁾ (図5)。血清グリチルレチン酸濃度は個人差が大きく、また濃度ピーク時も著しく異なり、24時間後にピークとなる人も見いだされた。またヒトにグリチルリチンを静脈注射すると、24時間後にピークをもつ血清グリチルレチン酸濃度パターンが認められた(図略)。この結果は、腸から吸収されたグリチルリチンが門脈を通り肝に入り、そこで初めて分解されグリチルレチン酸となり血中に現れると考えられた。しかし著者らのデータを加味すると、経口投与されたグリチルリチンはそれ自体は吸収されることなく、腸内でグリチルレチン酸への水解後、グリチルレチン酸が吸収されることが示唆される。また静脈注射したグリチルリチンは一旦胆汁へ排泄され腸内で水解後生じたグリチルレチン酸が吸収されることが考えられる。このことを証明するため、無菌ラットおよび無菌ラットに代謝菌 *Eubacterium* sp. GLH を感染させたノトバイオートラットを作成し、両群にグリチルリチンを経口投与し血中濃度を測定することにした¹⁰⁾。

表 II 通常、無菌およびノトバイオートラットの糞便および盲腸内容物のβ-グルコシダーゼ、β-グルクロニダーゼ、グリチルリチン水解酵素活性

	β-グルコシダーゼ活性 (nmol/min/mg)		β-グルクロニダーゼ活性 (nmol/min/mg)		グリチルリチン水解活性 (pmol/min/mg)	
	糞便	盲腸内容物	糞便	盲腸内容物	糞便	盲腸内容物
通常ラット	17.1±3.0	7.48±1.46	10.8±1.2	7.39±0.94	81.0±12.3	39.9±17.9
無菌ラット	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ノトバイオートラット	0.670±0.120	0.800±0.130	1.68±0.28	2.40±0.41	31.7±3.7	31.3±11.8

ND: 無検出

通常ラットと無菌ラット、およびノトバイオートラット (*Eubacterium* sp. GLH は生育が遅いため、グリチルリチン水解能のない *Streptococcus faecalis* と共に投与) の3群にグリチルリチン (100 mg/kg) を経口投与し、4時間後、17時間後の血漿グリチルリチンおよびグリチルレチン酸濃度を測定した。同時に、盲腸内容物および糞便中のグリチルレチン酸量、酵素活性を測定した。

無菌ラットにおいては当然のことながら盲腸内容物および糞便のグリチルリチン水解活性は検出されなかった (表II)。ノトバイオートラットでは、盲腸内容物および糞便の本酵素活性は 31.3 および 31.7 pmol/min・mg で通常ラットのそれに近い値を示したが、 β -グルコシダーゼ活性は 1/10 以下、 β -グルクロニダーゼ活性は 1/3 以下と低く、*Eubacterium* sp. GLH が確実に感染していることがうかがえる。

その上、無菌ラットではグリチルリチン経口投与後4時間および17時間後の盲腸内容物および糞便中には、グリチルレチン酸は全く検出されなかった (図6)。一方、通常およびノトバイオートラットの4時間後の盲腸内容物中、17時間後の糞便中にはグリチルレチン酸が検出された。従って、すでに4時間後には盲腸内でグリチルレチン酸へ変換され、17時間後には糞便中へ排泄されてしまうと考えられる。ところで、経口投与されたグリチルリチンの、通常ラットでは60%、ノトバイオートラットでは23%ものグリチルレチン酸が糞便中に排泄されていた。通常ラットの方が2倍以上多く排泄される理由として、以下で述べる血漿グリチルレチン酸量の結果から、ノトバイオートラットにおいて吸収が大であることが推

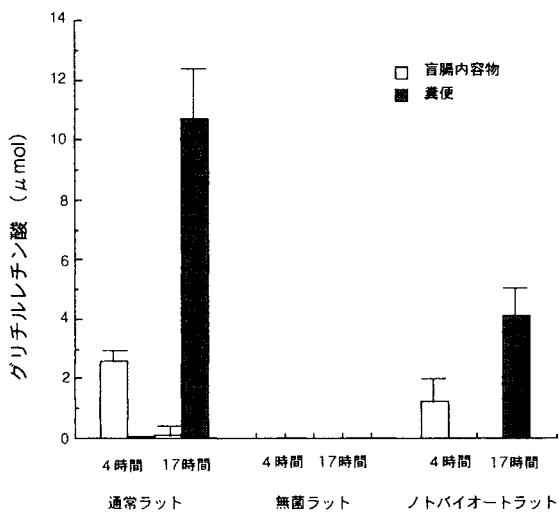


図6 グリチルリチン経口投与後の盲腸内容物および糞便中グリチルレチン酸量

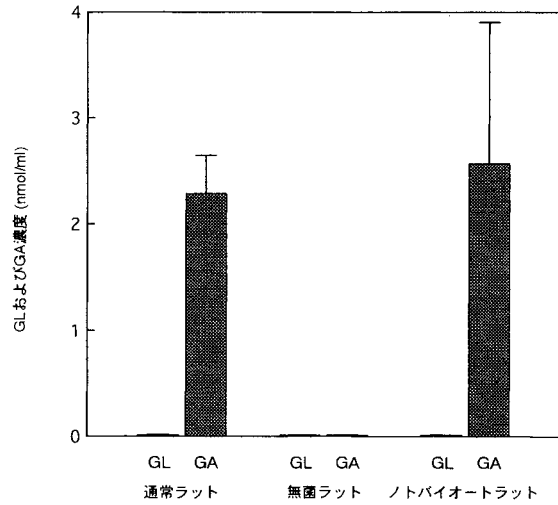


図7 グリチルリチン経口投与4時間後の通常、無菌およびノトバイオートラット血漿中グリチルリチン (GL) とグリチルレチン酸 (GA) 濃度

測される。

以上の結果から予想されるように、無菌ラットの血漿中にはグリチルレチン酸は検出されず、通常およびノトバイオートラット血漿中には2 μM以上のグリチルレチン酸が認められた (図7)。この時、ノトバイオートラットにおいて高い値を示した。しかし3群いずれにおいても、グリチルリチンは血漿中には検出されなかった。血漿中グリチルレチン酸量は酵素免疫測定法 (EIA)、放射免疫測定法 (RIA) および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により、血漿中グリチルリチン量は EIA および HPLC により定量を行い、各測定法で同じ結果を得ている。

次に、これら3群のラットに四塩化炭素により実験的肝障害を引き起こし、グリチルリチンの抗肝炎作用について検討した。グリチルリチン (100 mg/kg) を1日1回3日間経口投与し、最後の投与1時間後に四塩化炭素を皮下投与した。その24時間後の血清中 GOT 活性はグリチルリチン非投与群で126 U/Lであったのに対し投与群は88.4 U/Lと、GPT 活性も非投与群が26.4 U/Lに対し投与群で17.7 U/Lと、それぞれ70%、67%に低下した。ノトバイオートラットでも、GOT 活性は165 U/Lに対し102 U/Lと有意に、GPT 活性も38.5 U/Lに対し17.5 U/Lと半分以下に低下した。しかし、無菌ラットでは、GOT、CPT 活性ともにグリチルリチン投与による抑制効果は見られなかった。通常ラットよりもノトバイオートラットの方が、両活性ともに上昇抑制効果が大きく、前述のとおり血中グリチルレチン酸濃度が通常ラットよりノトバイオートラットで高値であり、効果が強く

表 III 実験的肝障害ラットの血清 GOT および GPT の上昇に及ぼすグリチルリチン経口投与効果

	肝障害コントロール値に対する%		
	通常ラット	無菌	ノトバイオート
GOT	70.0	105	62.2
GPT	67.1	93.1	45.5

n=3

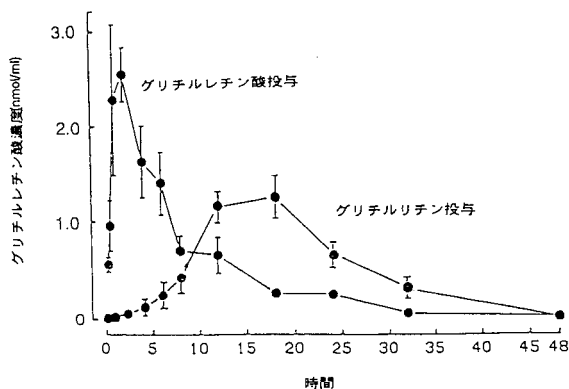


図8 グリチルリチンおよびグリチルレチン酸経口投与後の血漿中グリチルレチン酸濃度

現れたと考えられる(表 III)。すなわち、経口投与されたグリチルリチンは直接吸収されることなく、腸内で腸内細菌によりグリチルレチン酸に変換後吸収され、そのグリチルレチン酸が作用を示すことが *in vivo* で明らかになった。

グリチルリチンは天然のプロドラッグで活性本体がグリチルレチン酸と考えられる。もし、グリチルリチンがプロドラッグだとしたら、どのような利点があるのだろうか。そこで、グリチルリチンおよび活性本体と考えられるグリチルレチン酸とをそれぞれ経口投与したところ、グリチルレチン酸投与では当然のことながら、血漿グリチルレチン酸濃度は数時間で最大に達し、急速に減少した(図8)。一方、グリチルリチン投与では徐々に血漿グリチルレチン酸濃度は増加し、12時間で約1 μ M濃度に達し18時間までその濃度を維持し、その後徐々に減少した。この結果、グリチルリチンはある一定濃度の血中グリチルレチン酸量を長時間維持させ得る徐放性を兼ね備えたプロドラッグであると言える。グリチルレチン酸に偽アルドステロン症を引き起こす副作用が知られていることから、一時的な高濃度にはならず、長時間有効濃度を維持できるグリチルリチンは、漢方で言われている温和で副作用が少ない特徴を持つ薬物であると言える。このことは、温和で副作用が少ないという概念を必ずしも「方剤」に求める必要はなく、近代薬と同レベル

表 IV ヒト、ラットおよびマウス糞便によるバルバロイン代謝の比較

インキュベーション (時間)	アロエ・エモジンアンスロン生成率(%)		
	ヒト	ラット	マウス
12	3.3 \pm 1.1	ND	ND
24	29.6 \pm 2.7	ND	ND
36	36.9 \pm 8.1	1.6 \pm 2.0	ND
48	35.3 \pm 9.7	7.1 \pm 2.5	ND

ND: 無検出

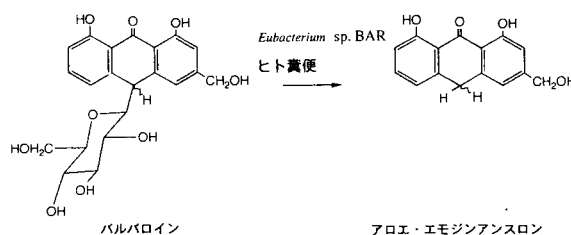


図9 ヒト腸内細菌によるバルバロイン代謝

で科学的にアプローチできたのではないかと考えている。

3. バルバロインもセンノサイド同様プロドラッグの瀉下剤である

バルバロインはアロエの主瀉下成分で、アロエ・エモジンアンスロンにグルコースがC-C結合しているC-グルコシド配糖体である。センノサイドと比べ、小動物での瀉下作用が弱く、ヒトで強く現れると言われている。バルバロインのC-グルコシドは、センノサイドのようなO-グルコシドに比べ、酸、アルカリに耐性で、当然のことながら、アーモンド初め先に述べた腸内細菌の β -グルコシダーゼで全く水解されない。しかし、ラットやマウスの腸内フローラでのバルバロイン代謝活性は弱かったが、ヒト腸内フローラによりアロエ・エモジンアンスロンへ代謝変換された¹¹⁾(表IV)。これは、バルバロインのC-グルコシド結合を開裂する腸内細菌株の存在を示唆している(図9)。著者らは、ヒト糞便よりバルバロインのC-C結合を開裂する代謝菌 *Eubacterium* 属の一種(sp. BARと名付けた)を分離した¹²⁾。多くのヒト腸内分離菌株、さらにヒト糞便由来の多数のコロニーに、バルバロイン代謝能が認められなかったことは、本代謝菌は珍しい菌種である。本菌はC源を制限した貧栄養培地でバルバロイン添加濃度に依存して生育するので、C-グルコシドを解裂してえられる糖をC源とするものと思わ

表 V バルバロイン投与による糞便水分含量の変動

	糞便水分含量 (%)		
	0 時間	8 時間	24 時間
通常ラット	63.5±3.0	51.3±2.3	56.9±6.8
ノトバイオートラット			
<i>Eubacterium</i> sp. BAR 感染	73.2±3.2	85.5±3.2*	77.3±1.8
<i>Peptostreptococcus intermedius</i> 感染	73.9±3.8	71.9±1.3	73.7±1.3

**p*<0.01

れる。

アロエ・エモジンアンスロンに直接的な瀉下作用があること、動物種における瀉下力価の差異とそれらの腸内フローラによるバルバロイン代謝能との相関から、バルバロインはセンノサイド同様腸内細菌により活性化されるプロドラッグである。

そこで、通常ラット、セニジンのレインアンスロンへの代謝活性の強い *Peptostreptococcus intermedius* を感染させたノトバイオートラット、さらにバルバロイン代謝菌 *Eubacterium* sp. BAR を感染させたノトバイオートラットの3群に、バルバロイン (40 mg/kg) を経口投与して下痢が誘発されるかを検討した。¹³⁾ コントロールとして *Peptostreptococcus intermedius* 感染させたノトバイオートラットを用いたのは、無菌ラットの糞便がもともと軟便で下痢の判定が難しいためである。

通常および *Peptostreptococcus intermedius* 感染ラットでは全く下痢が生じなかったが、*Eubacterium* sp. BAR 感染ラットでは激しい下痢が誘発された。表 V にバルバロイン経口投与後8時間目および24時間目の新鮮糞便の水分含量を示した。バルバロイン投与により通常ラットにおいて水分含量は全く増加しなかった。また *Peptostreptococcus intermedius* 感染ラットにおいても、通常ラットに比べ初めから水分含量が高いもののバルバロイン投与で全く増加は認められなかった。それに比し、代謝菌 *Eubacterium* sp. BAR 感染ラットにおいて8時間目に85.5%という驚異的な水分含量を示し、有意に水分含量が増加した。24時間目には水分含量は増加傾向を示しているが、かなり回復していた。

すなわち、バルバロインもセンノサイド同様それ自身には瀉下作用はなく、腸内細菌により真の瀉下本体アロエ・エモジンアンスロンに活性化され薬効を現すプロドラッグであることが証明された。ラットで下痢が誘発されないのは腸内に代謝菌が存在しないためで、ヒトにおいても代謝菌の有無や多少で個人差が生じるかも知れない。また、代謝菌が偏性嫌気性であることから、活性化が消化管下部で進行すると考えられ、センノサイド同様ターゲティングを兼ね備えたプロドラッグと言える。

このことは、胃や小腸上部で作用しないため、副作用を最小限度にとどめるのに役立っていると考えられる。

著者らはセンノサイド、グリチルリチン、バルバロインの代謝菌をヒト糞便より分離してきたが、興味深いことに、これはかなり珍しい菌種で、その上、これらの代謝酵素はすべて新酵素であった。さらに、これら酵素は誘導型でそれぞれの配糖体で誘導され、逆にグルコースでその誘導が阻害されるという共通の現象を示した。消化管下部では遊離のグルコースは吸収されつくしているため、これら代謝酵素は配糖体で誘導されるものと思われる。従って、上記の配糖体の連用することにより、より効率よく活性化されると推測し得る。

4. バイカリンは還元型のプロドラッグである

バイカリンは黄芩の主成分で、抗アレルギー、胆汁分泌促進作用など多くの作用が知られている。バイカリン

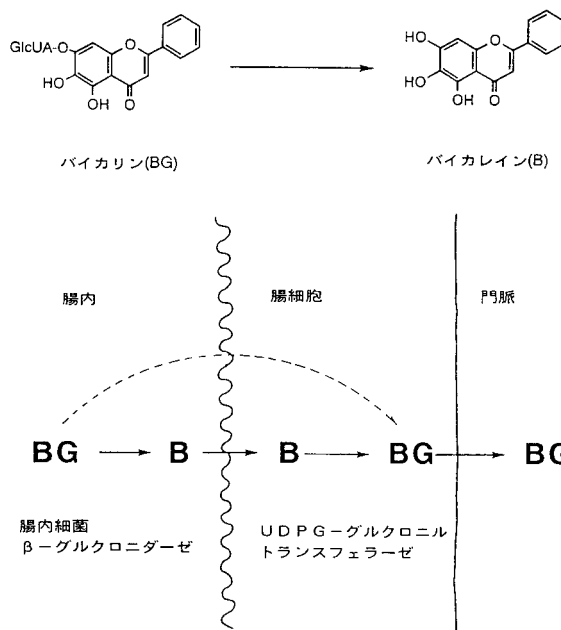


図10 バイカリン (BG) のバイカレイン (B) を経由する吸収機構

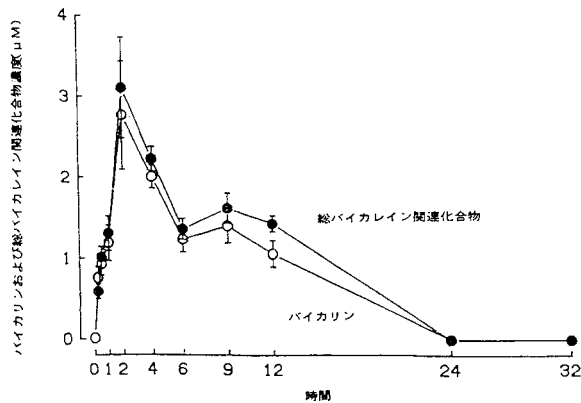


図11 バイカレイン経口投与後の血漿中バイカレインおよび総バイカレイン関連化合物濃度

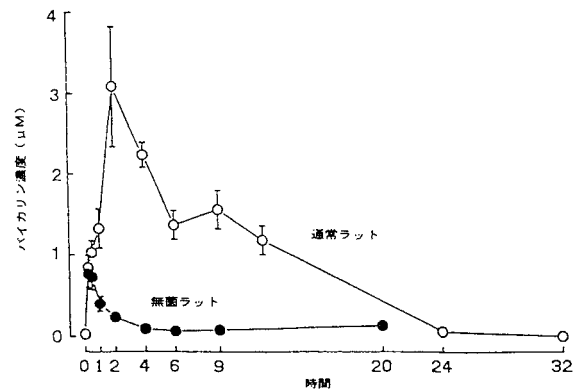


図12 バイカレイン経口投与後の通常および無菌ラット血漿中バイカレイン濃度

はグリチルリチンとは異なりフラボン骨格にグルクロン酸が1つ結合したモノグルクロニド配糖体で、動物肝を始め、あらゆる β -グルクロニダーゼで水解され、アグリコンであるバイカレインを生じる。従って、ヒト腸内フローラ、 β -グルクロニダーゼ産生腸内細菌によりバイカレインに変換される(図10)。

私達は、グリチルリチン同様、バイカレインを経口投与すると腸内でバイカレインへ変換され、バイカレインが血中に出現するものと考えていた。ところが、バイカレイン経口投与ラット血漿中にはバイカレインが大部分でバイカレインはほとんど認められなかった(図11)。この結果は、当初水解を受けずに直接バイカレインが吸収されると考えられた。しかし、2時間目と9時間目にピークのある2峰性の血中濃度であるため、後者のピークは腸内でのイベントの関与が考えられた。そこで、バイカレインを経口投与してみたところ、不思議なことにバイカレインを経口投与した際とほぼ同じパターンが得られ、血漿中にはバイカレインが検出され、バイカレインはほとんど検出されなかった。その上、バイカレイン投与と比べ、投与後1時間以内での血漿バイカレイン濃度が高いことから、経口投与されたバイカレインが直接吸収されると考えるより、腸内でバイカレインへ変換後吸収され、体内で再びグルクロン酸抱合されると考えられた。このことを明らかにするため、やはり無菌ラットを用いて実験を行った。¹⁴⁾

無菌ラットにバイカレインを経口投与すると、投与直後にわずかな量のバイカレインが血漿中に認められる以外ほとんど検出されなかった(図12)。すなわち、バイカレインは直接吸収されるのではなく、腸内で腸内細菌によりバイカレインへ代謝変換後吸収され再び体内でバイカレインへ抱合される(図10)ことが明らかとなった。この時、

門脈中ですでにバイカレインとして検出されたことから、グルクロン酸抱合は小腸で行われている。すなわち小腸粘膜細胞中のUDPG-グルクロニルトランスフェラーゼにより、バイカレインはバイカレインに還元されて後、門脈へ輸送されることが明らかとなった。グルクロニド配糖体の混合物の場合、 β -グルクロニダーゼにそれらの配糖体が拮抗阻害し、また多くのアグリコン同士の拮抗吸収、腸粘膜中のグルクロニド転移反応の拮抗阻害についても、予備的ながら観察されている。漢方方剤中には配糖体が混在しており、腸内細菌による分解、アグリコンの吸収、再抱合に、互いに拮抗阻害する可能性を示唆するものである。バイカレインは腸内細菌 β -グルクロニダーゼの良い基質であると同時に、他のグルクロニド抱合体の酵素分解の阻害剤でもある。¹⁵⁾

そのため医薬品(カンプトテシン)の肝臓での解毒機構によるグルクロニド抱合体が胆汁排泄された後、腸内細菌の β -グルクロニダーゼで脱抱合されて毒性(下痢)を発現するのを防ぐ目的で、バイカレインを含む黄芩製剤が、臨床的に用いられている。ヒトでもバイカレイン服用後の血漿中、大部分がバイカレインであることからラットと同様のことが進行していると推測される。

以上、バイカレインもプロドラッグと言えるが、奇妙な事に体内で元に戻ってしまう。何も経口投与する必要はなく静注すればいいのではと言う意見が聞こえてきそうである。しかし、静注よりも経口投与の方がある濃度範囲で長時間血中濃度を維持できるので、やはり温和な作用が期待される。ところで、グリチルリチンとは異なり、投与した物質と作用物質が同じだとすると通常言われているプロドラッグの範疇とは異なり、私達は薬物の新しい使用方法として興味を持っている。しかしながらバイカレインではなく、バイカレインが真の薬物作用物質であ

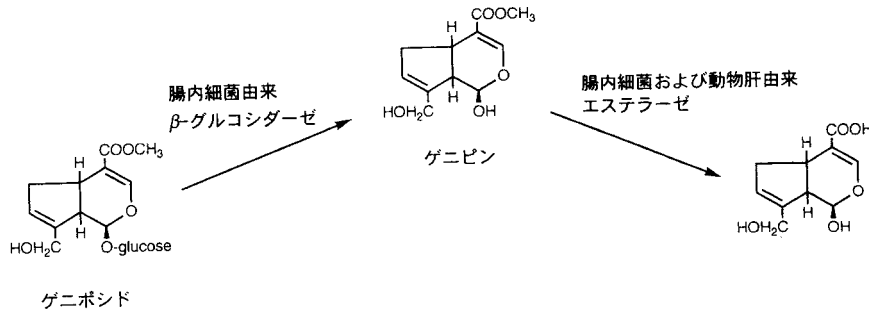


図 13 腸内細菌によるゲニポシドの代謝

るのが今後の研究課題として残っている。現在、私達は黄芩の抗脂血症作用がバイカリンによるもので、バイカレインにはそのような作用が認められないとの予備的な結果を得ている。

5. ゲニポサイド, ペオニフロリン, ジンセノサイド, サイコサポニンらはいずれもプロドラッグである

i. ゲニポサイド

山梔子(クチナシ, 果実)中の高含量(約6%)成分であるゲニポサイドは, イリドイド化合物で利胆作用を示す¹⁶⁾。しかし, 本成分を門脈内に投与しても利胆作用を示さず, 経口および十二指腸投与でのみ数時間後に胆汁分泌促進が観察される。一方, ゲニポサイドのアグリコンであるゲニピンは, 静脈および門脈内投与で一過性の利胆作用を示す。したがって, ゲニポサイドによる作用は, 腸内で生成したゲニピンによると考えられる。実際, ゲニポサイドはラット腸内容物でゲニピンに水解されるし, また十二指腸内に投与すると門脈血中にゲニピンが出現し, その門脈血中への吸収パターンと利胆作用パターンがよく一致する。また, 大多数のヒト腸内分離株がゲニポサイド代謝能をもち, ゲニピンを生成する。代謝活性の強い *Eubacterium* 属から精製された β -グルコシダーゼによりゲニポサイドはゲニピンに水解され, 続いてエステラーゼにより水解されることが酵素レベルで明らかにされている¹⁷⁾(図13)。ゲニポサイドは微生物や動物のエステラーゼでは水解されず, 動物の肝リゾゾームの β -グルコシダーゼでも水解されないことから, 腸内細菌により薬効が発現されていることは明らかである。

なお, 他の数種のイリドイド化合物でもゲニポサイドと同じ機構で, 利胆作用が発現することが確認されている。

ii. ペオニフロリン

芍薬(シャクヤク, 根)は漢方処方中で甘草に次いで常用されているが, その主有効成分であるペオニフロリンは, 鎮静, 鎮痙, 平滑筋弛緩作用を示すことが知られ

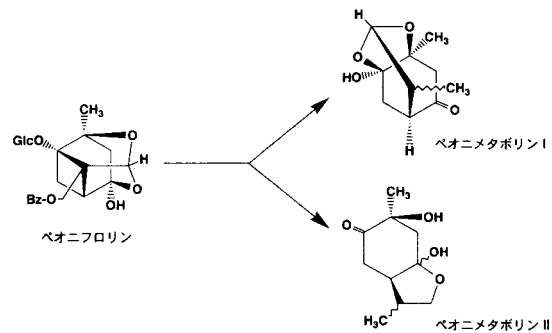
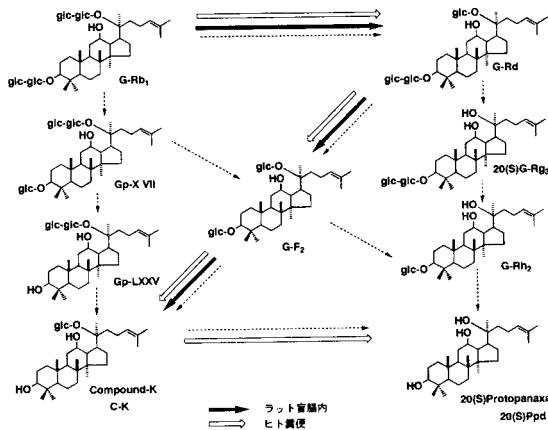


図 14 ヒト腸内細菌によるペオニフロリンの代謝

ている。本成分をヒト糞便由来の腸内菌培養系に加えると, ペオニフロリンが消失し, 代謝物ペオニメタポリン I および II を生じる。ペオニフロリン代謝能は, 大多数のヒト腸内分離株で観察され, そのうちかなりの菌株がペオニメタポリン I および II の生成能を示す。さらに, 代謝活性の強い *Bacteroides fragilis* および *Lactobacillus brevis* を用いてペオニメタポリン I および II の化学構造が決定された。その構造比較からペオニフロリンは, β -グルコシダーゼおよびエステラーゼの作用でアグリコンを生じ, 次いで環の開裂や新たな閉環などが起こり, その後の還元反応によりペオニメタポリン I および II を生じるものと推定されている¹⁸⁾(図14)。これら代謝物は新化合物で, それぞれ2種の異性体がある。一方, 高等動物はほとんど β -グルコシダーゼをもたず, さらにラット肝臓リゾゾーム由来の β -グルコシダーゼはペオニフロリンを水解しないことから, ペオニフロリン代謝における腸内細菌の重要性が理解できる。事実, ラットにペオニフロリンを経口投与すると, 血中にはペオニフロリンは微量で早く消失するが, ペオニメタポリン I が高濃度で長時間検出されることが明らかとなった¹⁹⁾。しかも, ペオニメタポリン I (7S 体) がペオニフロリンよりも強い中枢性抗けいれん作用を示すことから, 腸内細菌により薬効が発現したのと考えられる。なお, 芍薬の成分

図15 腸内細菌によるジンセノサイド Rb₁ の代謝

アルビフロリンもペオニフロリン同様に腸内細菌により代謝されることが明らかにされている。

iii. ジンセノサイド (薬用人参サポニン)

薬用人参は古くから強壯, 造血, 精神安定, 鎮静など多くの薬理作用を有しその有効成分の一つはジンセノサイドと考えられている。ジンセノサイドはサポニンの配糖体であるが, 多くの類縁体があり, その化学, 薬理および臨床報告はきわめて多いが, その体内代謝, 特にヒト腸内フローラによる代謝研究はほとんどない。その中でジンセノサイド Rb₁ (G-Rb₁) および Rg について, ラットおよびヒト腸内フローラによる代謝のみが知られている。²⁰⁻²²⁾ 図15に G-Rb₁ のラットおよびヒト腸内フローラによる代謝経路と生成物の構造を示す。G-Rb₁ はジンセノサイド Rd (G-Rd), ついでジンセノサイド F₂ (G-F₂) を経て Compound K (C-K) へと順にグルコース糖鎖がはずれ, ヒトでは最終的にアグリコンである 20 (S)-プロトパナキサジオール (20 (S) Ppd) へと代謝さ

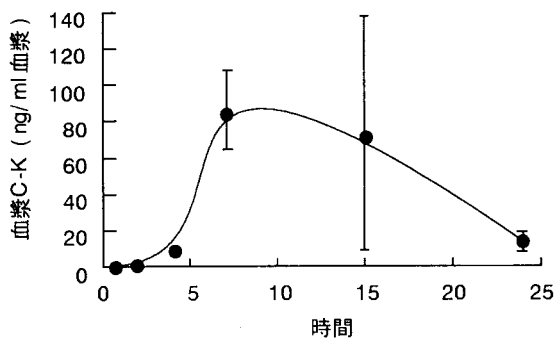
図16 ジンセノサイド Rb₁ 経口投与後の血漿 Compound K (C-K) 濃度

Table VI ジンセノサイド経口投与後の血清 Compound K 濃度

投与後の時間	血清 Compound K 濃度 (ng/ml)	
	無菌ラット	ノトバイオートラット
7	ND (n=2)	150 (n=2)
15	ND (n=3)	380±74.8 (n=3)

ND: 無検出

れる。ラットに経口的に G-Rb₁ を, ヒトに薬用人参末を服用した時, 血清中に G-Rb₁ は検出されず, C-K が検出された²³⁾ (図16)。なおヒトでの血中 C-K 濃度では個人差が大きいことも見いだされている。²⁴⁾ ヒト腸内細菌の内, *Eubacterium* に属する一菌種 (sp. A-44) が, G-Rb₁ 代謝活性を有し, 本菌よりジンセノサイドに特異的な β -グルコシダーゼが精製されている。無菌ラットに G-Rb₁ を経口投与しても血中には G-Rb₁ はもとより C-K も全く検出されないが, *Eubacterium* A-44 を感染させたノトバイオートラットでは, 血中に C-K が検出された²⁵⁾ (表 VI)。したがって G-Rb₁ は腸内で *Eubacterium* A-44 により C-K に代謝され, C-K が吸収されることが明らかであり, ジンセノサイドの薬理活性は, 腸内菌代謝物によると考えられる。薬用人参末服用後のヒト血中 C-K の個体差は, 個人の腸内における G-Rb₁ 代謝菌の多少によることが考えられる。

iv. サイコサポニン

柴胡 (ミシマサイコ, 根) の主成分であるサイコサポニン, は, 多くの薬理的研究が行われ, 抗炎症, 抗アレルギー, 抗脂血症作用のあることが判明している。サイコサポニンの胃液中の酸および腸内菌叢による代謝研究は荻原ら²⁶⁾ によって詳細に検討されている。サイコサポニンには, a, b₁, b₂, c, d などが知られているが, 図17はそのうち主サポニンである a の消化管内代謝プロセスを示す。まず, 胃の酸により a の一部はそのアリルエテルが開裂し, b₁, g のジエンサポニンに変換される。次いで, 腸内細菌により糖部が段階的に加水分解を受け, 中間体のプロサポゲニンを経てサイコゲニンに至る。したがって, a 由来で8種の代謝物を生じるわけで, 同様に c および d 由来を含めると 30 種の代謝物が生じることが証明されている。各代謝物の生理活性を検討したところ, 抗肉芽作用では有意の差は認められない。しかし, 血清コルチコステロンの上昇作用はサイコサポニン a とプロサイコゲニン F には認められ, 図中のその他すべての代謝物にはその作用が認められない。また, 培養肝細胞の蛋白合成促進作用もサポゲニン, プロサポゲニン, ゲニン間で有意の差がある。このように腸内菌叢による代謝がある活性を消失させ, 他の活性を上昇させること

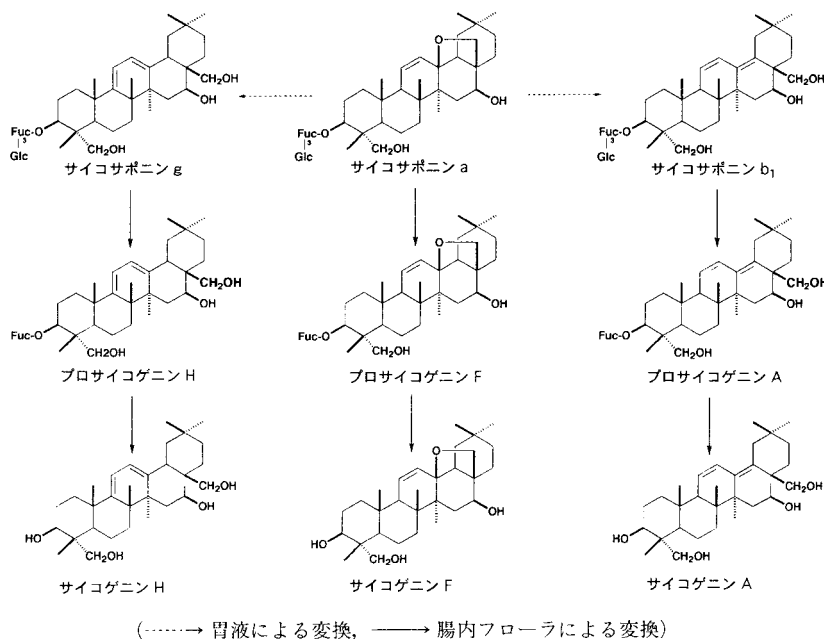


図 17 サイコサポニン a の代謝

を見いだしている。

近年来田ら²⁷⁾はヒト腸内フローラによりサイコサポニンがプロサイコゲニンを経てサイコゲニンへ二段階で水解されることを証明し、最初の反応β-グルコシダーゼを産生する代謝 *Bifidobacterium* Saiko-1, -2 をヒト糞便より分離、さらに両反応β-グルコシダーゼとフコシダーゼを産生する *Eubacterium* A-44 を同定した。それぞれの酵素を精製し、特異な性質を持つ新酵素であることを明らかとした。²⁸⁾無菌ラットおよびヒト由来のサイコサポニン代謝菌株を感染させたノトバイオートラットを用いる経口投与実験から、サイコサポニンは吸収されにくく、腸内の限られた菌種によって、プロサイコゲニンおよびサイコゲニンに加水分解された後、吸収されることを実証した。²⁹⁾したがって、サイコサポニンの薬効発現には、腸内細菌由来の特異なグルコシダーゼが関与していることが示唆されている。

おわりに

1996年3月に富山医科薬科大学を定年退官するまでの研究生活40年のうち、後半の15年は、和漢薬成分のヒト腸内菌代謝を中心として研究してきた。その中で植物成分の配糖体は天然のプロドラッグで、腸内細菌フローラで代謝されて生理活性を示すことを指摘してきた。近年無菌ラットとそれにヒトの代謝菌を感染させたノトバイオートを用いて、配糖体は神の与え給うたプロ

表 VII 配糖体は天然のプロドラッグ

1. 大黄, センナ: 瀉下作用	センノサイド→レインアンスロン
2. 甘草: 抗炎症作用	グリチルリチン→グリチルレチン酸
3. アロエ: 瀉下作用	バルバロイン→アロエ・エモジンアンスロン
4. 黄芩: 抗アレルギー作用	バイカリン→バイカレイン→バイカリン
5. 山梔子: 利胆作用	ゲニボサイド→ゲニピン
6. 芍薬: 鎮痙作用	ペオニフロリン→ペオニメタボリン I
7. 薬用人参: 鎮静作用	ジンセノサイド Rb ₁ →化合物 K
8. 柴胡: 抗炎症作用	サイコサポニン→サイコサポニゲン

ドラッグであることを確証した。^{30,31)}表 VII は、得られた報告を本総説の記述順に並べてまとめたものである。代謝菌の増殖や代謝酵素の産生も配糖体によって誘導され、糖部は代謝菌の C-源になることから、互いに依存関係にあることも次第に明らかとなってきた。それぞれの配糖体の代謝菌とその産生する酵素、生じたアグリコンの吸収、体内分布などの研究は、いずれも数年がかりの仕事で、それぞれの一人の博士学位論文となっている。

この研究の過程で、ヒトでは代謝菌が見出され、ラット、マウスでは検出されず生理活性も発現しないケース

も多いことから、薬効の動物種差が腸内フローラの差によることが明らかとなってきた。また、センナ下剤の有効性の個人差が、消化管内のセンノサイド代謝菌とその β -グルコシダーゼ活性の個人差によることも報告された⁵⁾。漢方の証と個人差は必ずしも一致する概念ではないが、薬効の個人差が、腸内フローラの個人差によって説明しうる可能性もある。証と腸内フローラとの関係では、実証では、クロストリジウムが多く、 β -グリコシダーゼ活性が高く、虚証ではベイヨネラが多く、ウレアーゼ活性が高いなどというわれわれの報告³²⁾があるだけで、まだまだ未解明である。天然薬物、さらに広く食効薬理と腸内フローラの個人差の研究は魅力的なテーマであるが、何らわかっておらず来世紀のテーマであろう。漢方方剤は多成分系のヒトへの経口服用であり、消化管という内なる環境の混淆の中での代謝であることから、方剤の科学的解明には消化管エコロジー的視点が必要である。

表 VII に示す代謝の 8 つの例は、生理活性を発現するためにヒト腸内菌のグリコシダーゼが不可欠であることを証明したものである。しかし、植物はヒトのために配糖体を生合成しているわけではなく、自らの解毒機能として一種の排泄を行っているわけである。サイカシンやアミグダリンなど腸内菌グリコシダーゼで毒性を示す配糖体もある。いいかえればアグリコンにも化合物によりクスリとリスクの功と罪があり、腸内菌グリコシダーゼの活性発現作用にも二面性があることを考慮しなければならない。最近、新薬が発売後まもなく患者死亡例が多発し、発売停止または緊急警告が行われた。その多くは、ヒト腸内菌代謝による毒性発現の基礎研究を軽視したためである。抗ウイルス剤であるソリブジンのヒト腸内菌によるアラビノース開裂によるプロモビニールウラシル生成も、ラット、マウスの薬ではなく、ヒトの薬であることを軽んじ、代謝の個人差を無視したからである。抗ガン剤であるイリノテカンの副作用である激しい下剤も、日本人の腸内菌 β -グルクロニダーゼによる脱抱合活性が高いことによるものである。新薬開発において、ヒト腸内菌フローラへの影響のみならずヒト腸内菌代謝の研究をなおざりにしてはいけない。一方われわれは、腸内菌がある時は天然物から薬物を、ある時は毒物を生成している性質を利用して、薬物に糖を化学的に付加して新しいプロドラッグを創ることを始めている。配糖体をモデルとした副作用の少ない、緩やかな作用を持つ体質に合った有用な新薬を作る試みである。

本総説の主要部分を占める無菌動物とノトバイオートをを用いる配糖体の代謝研究は、富山医科薬科大学薬学部、

赤尾光昭講師によって行われたもので、心から感謝の意を表す。また、友人である難波恒雄名誉教授、また後輩である服部征雄教授（富山医薬大・和漢薬研究所）らの協力によるものである。各章毎にヒト糞便をみつかう他人の嫌がる研究に携わって学位論文を取得した共著者の大学院生に感謝する。特に最近のデータは加藤弘巳博士（高岡済生会病院）、金岡又雄前教授、さらに株式会社ツムラ薬理研究所の研究員の方々との共同によるもので厚くお礼を申し上げる。

References

- 1) Akao, T., Namba, T., Hattori, M., Kobashi, K.: Metabolic activation of crude drug components by intestinal bacterial enzymes. *J. Med. Pharm. Soc. WAKAN-YAKU* **9**, 1-13, 1992. (in Japanese)
- 2) Hattori, M., Namba, T., Akao, T. and Kobashi, K.: Metabolism of sennoside by human intestinal bacteria. *Pharmacology* **36**, Suppl. 1, 172-179, 1988.
- 3) Akao, T., Che, Q.-M., Kobashi, K., Yang, L., Hattori, M. and Namba, T.: Isolation of a human intestinal anaerobe, *Bifidobacterium* sp. strain SEN, capable of hydrolyzing sennosides to sennidins. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 1041-1043, 1994.
- 4) Akao, T., Mibu, K., Erabi, T., Hattori, M., Namba, T. and Kobashi, K.: Non-enzymatic reduction of sennidins and sennosides by reduced flavin. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1988-2003, 1987.
- 5) 高田雅弘, 田代眞一, 赤尾光昭, 小橋恭一: 腸内細菌のセンノシド代謝能とセンノシド製剤の有効性. 白樺胡シソジウム **1**: 35-38, 1996.
- 6) Hattori, M., Sakamoto, T., Kobashi, K. and Namba, T.: Metabolism of glycyrrhizin by human intestinal flora. *Planta Med.* **48**, 38-42, 1983.
- 7) Akao, T., Akao, T. and Kobashi, K.: Glycyrrhizin β -D-glucuronidase of *Eubacterium* sp. from human intestinal flora. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 705-710, 1987.
- 8) Akao, T., Akao, T., Hattori, M., Kanaoka, M., Yamamoto, K., Namba, T. and Kobashi, K.: Hydrolysis of glycyrrhizin to 18 β -glycyrrhetyl monoglucuronide by lysosomal β -D-glucuronidase of animal liver. *Biochem. Pharmacol.* **41**, 1025-1029, 1991.
- 9) 中野直子, 加藤弘巳, 鈴木英彦, 中尾皖英, 矢野三郎, 金岡又雄: グリチルレチン酸およびグリチルリチンの酵素免疫測定法 (第 2 報) - 血中グリチルレチン酸, グリチルリチンの測定 -. *薬理と治療* **8**, 4171-4174, 1980.
- 10) Akao, T., Hayashi, T., Kobashi, K., Kanaoka, M., Kato, H., Kobayashi, M., Takeda, S. and Oyama, T.: Intestinal bacterial hydrolysis is indispensable to absorption of 18 β -glycyrrhetic acid after oral administration of glycyrrhizin. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**, 135-137, 1994.
- 11) Hattori, M., Kanda, T., Shu, Y.-Z., Akao, T., Kobashi, K. and Namba, T.: Metabolism of barbaloin by intestinal bacteria. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 4462-4466, 1988.
- 12) Che, Q.-M., Akao, T., Hattori, M., Kobashi, K. and Namba, T.: Isolation of a human intestinal bacterium capable of transforming barbaloin to aloe-emodin anthrone. *Planta Med.* **57**, 15-19, 1991.
- 13) Akao, T., Che, Q.-M., Kobashi, K., Hattori, M. and Namba, T.: A purgative action of barbaloin is induced by *Eubacterium* sp.

- strain BAR, a human intestinal anaerobe, capable of transforming barbaloin to aloe-emodin anthrone. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 136-138, 1996.
- 14) 柳沢えりか, 石原一寿, 金子雅一, 和久井容子, 松橋豊, 竹田秀一, 尾山力, 赤尾光昭, 小橋恭一: オウゴンフラボノイド, バイカリンの吸収における腸内細菌の関与. 日本薬学会第112年会, 講演要旨集4, p.63, 1992.
 - 15) Narita, M., Nagai, E., Hagiwara, H., Aburada, M., Yokoi, T., and Kamataki, T.: Inhibition of β -glucuronidase by natural glucuronides of Kampo medicines using glucuronide of SN-38 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin) as a substrate. *Xenobiotica* **23**, 5-10, 1993.
 - 16) Aburada, M., Takeda, S., Shibata, Y., and Harada, M.: Pharmacological studies of gardenia fruit. III. Relationship between in vivo hydrolysis of geniposide and its choleric effect in rats. *J. Pharmaco-bio. Dyn.* **1**, 81-88, 1978.
 - 17) Akao, T., Kobashi, K., and Aburada, M.: Enzymic studies on the animal and intestinal bacterial metabolism of geniposide. *Biol. Pharm. Bull.* **17**, 1573-1576, 1994.
 - 18) Hattori, M., Shu, Y.-Z., Shimizu, M., Hayashi, T., Morita, N., Kobashi, K., Xu, G., and Namba T.: Metabolism of paeoniflorin and related compounds by human intestinal bacteria. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 3838-3846, 1985.
 - 19) Heikal, O.A., Akao, T., Takeda, S., and Hattori, M.: Pharmacokinetic study of paeonimetabolin I, a major metabolite of paeoniflorin from paeony roots. *Biol. Pharm. Bull.* **20**, 517-521, 1997.
 - 20) Karikura, M., Miyase, T., Tanizawa, H., Taniyama, T., and Takino, Y.: Studies on absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. VII. Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb₁ and -Rb₂ in the digestive tract of rats. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2357-2361, 1991.
 - 21) Kanaoka, M., Akao, T., Kobashi, K.: Metabolism of ginseng saponins, ginsenosides, by human intestinal flora. *J. Trad. Med.* **11**, 241-245, 1994. (in Japanese)
 - 22) Hasegawa, H., Sung, J., Matsumiya, S. and Uchiyama, M.: Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria. *Planta Med.* **62**, 453-457, 1996.
 - 23) Akao, T., Kanaoka, M., and Kobashi, K.: Appearance of compound K, a major metabolite of ginsenoside Rb₁ by intestinal bacteria, in rat plasma after oral administration-Measurement of compound K by enzyme immunoassay-. *Biol. Pharm. Bull.* **21**, 245-249, 1998.
 - 24) Akao, T., Kanaoka, M., Kobashi, K.: Absorption of compound K after oral administration of ginsenoside Rb₁. *The Ginseng Rev.* No. **22**, 97-101, 1996. (in Japanese)
 - 25) Akao, T., Kanaoka, M., Kobashi, K., Kida, H., Hattori, M.: Metabolism of ginsenoside Rb₁ to compound K by *Eubacterium* sp. A-44, a human intestinal bacterium, and absorption of compound K. *The Ginseng Rev.* No. **24**, 1-7, 1997. (in Japanese)
 - 26) 荻原幸夫, 雨谷栄: サイコサポニンの代謝と生体内構造変換に関する研究. *治療学* **16** (suppl.), 67-74, 1986.
 - 27) Kida, H., Nakamura, N., Meselphy, M.R., Akao, T., and Hattori, M.: Isolation and identification of human intestinal bacteria capable of hydrolyzing saikosaponins. *J. Trad. Med.* **14**, 34-40, 1997.
 - 28) Kida, H., Akao, T., Meselphy, M.R., and Hattori, M.: Enzymes responsible for the metabolism of saikosaponins from *Eubacterium* sp. A-44, a human intestinal anaerobe. *Biol. Pharm. Bull.* **20**, 1274-1278, 1997.
 - 29) Kida, H., Akao, T., Meselphy, M.R., and Hattori, M.: Metabolism and pharmacokinetics of orally administered saikosaponin b₁ in conventional, germ-free and *Eubacterium* sp. A-44-infected gnotobiotic rats. *Biol. Pharm. Bull.*, in press.
 - 30) Kobashi, K., and Akao, T.: Relation of intestinal bacteria to pharmacological effects of glycosides. *Bioscience Microflora* **16**, 1-7, 1997.
 - 31) Kobashi, K., and Akao, T.: Plant glycosides are natural prodrugs -The role of human intestinal flora. Germfree Life and its Ramifications. Hashimoto, K. et al. (eds) XII ISG Publishing Committee, Shiozawa, Japan, pp. 467-471, 1996.
 - 32) 小橋恭一: 腸内フローラ, 腸内菌酵素活性と証の関係. *Methods in Kampo Pharmacology* Vol. 3, 75-78, 1998.