薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
108 (1) 788-793 (1988)

非ステロイド性抗炎症薬 Bermopfen (AD-1590) の代謝物の抗炎症,
鎮痛, 解熱及び胃潰瘍形成作用

中村秀雄,* 元吉 悟, 世戸康弘, 門河敏明

大日本製薬株式会社総合研究所

Anti-inflammatory, Analgesic, Antipyretic and Gastrointestinal Ulcerogenic
Activities of Metabolites of Bermopfen (AD-1590), a
Non-steroidal Anti-inflammatory Agent

HIDEO NAKAMURA,* SATORU MOTOYOSHI, YASUHIRO SETO
and TOSHIAKI KADOKAWA

Research Laboratories, Dainippon, Pharmaceutical Co., Ltd.,
33-94 Enoki, Suita, Osaka 564, Japan

(Received March 3, 1988)

Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and gastrointestinal ulcerogenic activities of metabolites of bermopfen (AD-1590), a new non-steroidal anti-inflammatory drug, were investigated in order to ascertain whether they have pharmacological activities in experimental animals. Among 3 metabolites of AD-1590, main metabolite, 11-hydroxyl form (AD-2406) was the most active in the carrageenan-induced hind paw edema in rats, and the others weak or almost inactive at a dose of 80 mg/kg, i.v. Anti-edema, analgesic (mouse phenylquinone and rat acetic acid writhing tests) and antipyretic (LPS febrile rabbits) activities of intravenously administered AD-2406 were approximately one-hundredth that of AD-1590 (0.04—1 mg/kg, i.v.), but equivalent or superior to that of oral aspirin. On the other hand, AD-2406 did not produce significant gastric ulcer in fasted rats in lethal toxic dosages, and its acute lethal toxicity ($LD_{50}=373$ mg/kg, i.v.) was about one-second that of oral AD-1590 in fed rats.

These results suggest that AD-2406 and 2 other metabolites do not contribute the pharmacological activities produced by AD-1590.

Keywords—AD-1590; AD-1590 metabolite; anti-inflammatory; analgesic; antipyretic; gastrointestinal ulcerogenicity; lethal toxicity; rat; mouse

緒 言

AD-1590 は, 実験動物において, indomethacin に匹敵する強力な解熱, 鎮痛並びに抗炎症作用を有する非ステロイド性抗炎症薬であり,¹⁾ 特に, その解熱作用は indomethacin の 10 倍から 50 倍²⁾ であると報告されてい

Fig. 1. Structural Formula of AD-1590 and Its Metabolites

る。AD-1590 の主な代謝物としては、カルボニル基が還元された AD-2406, 8 位のメチル基が酸化されてカルボン酸となった AD-2455, 及びカルボニル基が還元され、且つ、8 位メチル基が酸化された AD-2484 の 3 種類みいだされている (Fig. 1).³⁾ 量的には AD-2406 が最も多く、特に、サル及びヒトの血中には未変化 AD-1590 と同量以上存在し、しかも、ヒト血中からの消失は AD-1590 よりも遅れることが明らかとなっている。⁴⁾

薬物の中には、生体内で代謝されてはじめて活性体になるもの、あるいは強い副作用を発現するものなど、色々な薬物がある。そこで、AD-1590 の代謝物に薬理活性が存在するかどうかについて、特に、AD-2406 を中心に検討したので以下に報告する。

実験方法及び材料

I. 抗炎症作用 ラット Carrageenan 足蹠浮腫——前報¹⁾ に準じて実施した。被検化合物は、carrageenan 注射 1 時間前に、水溶液として静脈内に投与するか、0.5% トラガント水に懸濁して経口投与した。

II. 鎮痛作用 1. ラット酢酸 Writhing——前報¹⁾ に準じて実施した。被検化合物は酢酸注射 15 分後に水溶液として静脈内に投与した。

2. マウス Phenylquinone Writhing——前報¹⁾ に準じて実施した。被検化合物は phenylquinone 注射 30 分前に水溶液として静脈内に投与した。

III. 解熱作用 ウサギ LPS (Lypopolysaccharide) 発熱——前報²⁾ に準じて実施した。被検化合物は LPS 注射 1 時間後に水溶液として静脈内に投与した。

IV. 消化管潰瘍形成作用 ラット胃潰瘍形成作用——前報¹⁾ に準じて実施した。被検化合物は水溶液として静脈内に投与した。

V. 急性致死毒性 Wistar 系雄性ラット (体重 100—130 g) を使用した。被検化合物を水溶液として静脈内に投与した後、一般症状並びに致死症状を 1 週間に亘り観察し、1 週間後の死亡率から Litchfield and Wilcoxon⁵⁾ 法に従って LD₅₀ 値を算出した。

VI. 使用薬物 実験には、AD-1590, AD-2406, AD-2455, AD-2484 及び indomethacin を使用した。

被検化合物の水溶液は、計算量の 0.3 N NaOH に溶解後直ちに 0.3 N HCl で中和して pH 7.0 とすることにより調製した。一方、indomethacin は 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) に溶解した。

被検化合物溶液の投与容量は、マウス、ラット及びウサギに対してそれぞれ 10, 3—5 及び 1—2 ml/kg とした。ただし、急性致死毒性試験の高投与量では最高 10 ml/kg 迄投与することがあった。

実験結果

I. 抗炎症作用

ラット carrageenan 足蹠浮腫に対して AD-2406 は 40 mg/kg 以上の静脈内投与で有意な抑制作用を示し、その作用は用量依存的であった (Table I). その効力 (ED₅₀ = 79.1 mg/kg, i.v.) は、静脈内投与 AD-1590 の約 100 分の 1 であった。AD-2406 の 80 mg/kg 経口投与で有意な浮腫抑制作用が認められたが、その効果は 80 mg/kg 静脈内投与の効果よりも劣った。

一方、80 mg/kg の静脈内投与で AD-2455 は弱いながら有意 (投与 2 h 後) な抑制作用を示したが、AD-2484 は無効であった (Table I). したがって、3 代謝物の中で、AD-2406 の活性が最も強かった。

II. 鎮痛作用

1. ラット酢酸 Writhing 抑制作用 AD-2406 は、20 mg/kg 以上の静脈内投与で有意な抗 writhing 作用を発現し、その作用は用量依存的であった (Table II). ED₅₀ 値は 33.4 mg/kg, i.v. であり、その効力は、静脈内投与した AD-1590 の 100 分の 1 以下であった。

2. マウス Phenylquinone Writhing 抑制作用 AD-2406 は、40—160 mg/kg の静脈内投与で用量依存的な抗 writhing 作用を示した (Table II). その効力 (ED₅₀ = 70.7 mg/kg, i.v.) は、静脈内投与した AD-1590 の 100 分の 1 以下であった。

III. 解熱作用

LPS (lipopolysaccharide B., *E. coli* 026: B₈, Difco) 1 µg/kg の静脈内投与 1 時間後に 0.8°C 以上の体温上昇がみられたウサギに AD-2406 を静脈内に投与した。AD-2406 は、5—20 mg/kg の投与で用量依存的な解熱作用を発現し、20 mg/kg の投与ではほぼ正常体温まで熱を下げた (Fig. 2). AD-2406 の効力は、静脈内投与した AD-

TABLE I. Effect of AD-2406, AD-2455, AD-2484 and AD-1590 on Carrageenan-Induced Hind Paw Edema in Rats

Compound	Dose mg/kg i.v.	n	Hind paw swelling				ED ₅₀ in mg/kg (95% con- fidence limits)
			2 h		3 h		
			Mean (%) ±S.E.	Inhibition (%)	Mean (%) ±S.E.	Inhibition (%)	
Control		16 (0) ^{a)}	68.9±2.0		67.0±2.1		
AD-2406	40	13 (2)	57.6±2.1 ^{e)}	16.4	58.8±2.0 ^{e)}	12.2	79.1
	80	13 (4)	49.5±1.9 ^{e)}	28.2	52.2±1.6 ^{e)}	22.1	(57.5—109)
Control		8 (0)	66.8±2.7		64.4±2.9		
AD-2406	120	8 (8)	35.8±1.1 ^{e)}	46.4	36.0±1.4 ^{e)}	44.1	
Control		8 (1)	65.3±3.7		63.2±3.8		
AD-2455	80	5 (1)	53.4±2.7 ^{b)}	18.2	53.3±2.3	15.7	>80
Control		8 (0)	71.0±3.0		69.6±2.8		
AD-2484	80	5 (0)	73.4±4.0	−3.4	77.9±4.5	−11.9	>80
Control		8 (0)	66.5±3.1		66.2±3.9		
AD-1590	0.4	5 (2)	49.3±2.7 ^{e)}	25.9	52.6±3.1 ^{b)}	20.5	ca. 0.6
	0.8	5 (3)	44.7±5.6 ^{e)}	32.8	44.6±6.8 ^{b)}	32.6	
Control		16 (0)	67.3±2.0		67.3±2.2		
AD-2406	80 ^{d)}	10 (2)	54.7±2.4 ^{e)}	18.7	56.1±2.4 ^{e)}	16.6	>80
Control		8 (0)	63.0±1.8		64.3±2.1		
AD-1590	1 ^{d)}	10 (4)	42.3±1.5 ^{e)}	32.9	49.2±2.0 ^{e)}	23.5	ca. 1.5
	2 ^{d)}	10 (6)	41.1±2.7 ^{e)}	34.8	45.3±2.2 ^{e)}	29.5	

Each compound was administered to male Wistar rats (100 to 140 g) 1 h before subcutaneous injection of 0.1 ml of a 1% carrageenan solution into the hind paw; and hind paw volume was measured just before and 2 and 3 h after carrageenan. ED₅₀-value and 95% confidence limits were calculated from a) the number of effective rats which showed the inhibitory rate of 25% or more in comparison with each control group. Hind paw swelling was calculated from the equation: [(paw volume_{2 or 3 h} − paw volume_{0 h})/paw volume_{0 h}] × 100. b) 0.01 < p < 0.05 and c) p < 0.01, significantly different from each control group. d) p.o.

TABLE II. Anti-writhing Activity of AD-2406 and AD-1590 on Acetic Acid-Induced Writhing in Rats and on Phenylquinone-Induced Writhing in Mice

Species	Compound	Dose mg/kg i.v.	n	Number of writhing		ED ₅₀ in mg/kg (95% con- fidence limits)
				Mean±S.E.	Inhibition (%)	
Rats	Control		13 (1) ^{a)}	18.0±1.3		
	AD-2406	20	6 (2)	12.2±2.0 ^{b)}	32.2	33.4 (16.9—66.0)
		40	6 (3)	7.8±2.6 ^{c)}	56.7	
		80	6 (5)	7.7±1.2 ^{c)}	57.2	
		160	6 (6)	1.0±0.4 ^{c)}	94.4	
	AD-1590	0.04	6 (4)	8.0±1.7 ^{c)}	55.6	<0.1
		0.1	5 (3)	7.6±1.6 ^{c)}	57.8	
Mice	Control		13 (0)	22.8±1.6		
	AD-2406	40	6 (1)	16.7±3.3	26.8	70.7 (40.3—124)
		80	6 (4)	13.8±2.5 ^{c)}	39.5	
		160	6 (5)	6.7±3.4 ^{c)}	70.6	
	AD-1590	1	5 (5)	7.2±1.6 ^{c)}	68.4	<1
		2.5	5 (5)	6.4±1.6 ^{c)}	71.9	

Rats: male Wistar rats (90—120 g) were given intraperitoneally 1 ml/rat of a 1% acetic acid aqueous solution. Fifteen min later, each compound was administered intravenously to the rats showing the writhing syndrome; and the number of writhing was counted for 20 min beginning from 60 min after acetic acid injection.

Mice: female Std: ddY mice (18—22 g) were given intraperitoneally 10 ml/kg of a 0.3% phenylquinone solution in 0.5% ethanol 30 min after intravenous administration of each compound.

ED₅₀-value and 95% confidence limits were calculated from a) the number of effective animals which showed the writhing 50% or less in comparison with each vehicle control group. b) 0.01 < p < 0.05 and c) p < 0.01, significantly different from each control group.

Fig. 2. Antipyretic Activity of AD-2406 in LPS-Induced Febrile Rabbits

AD-2406 was administered intravenously to male albino rabbits (2.3–3.0 kg) 1 h (arrow marks) after intravenous injection of 1 μ g/kg of lipopolysaccharide (LPS). Ordinate shows changes in rectal temperature as compared with each pre-LPS value ($39.1 \pm 0.03^\circ\text{C}$ for vehicle and 38.6 ± 0.17 , 39.1 ± 0.17 and $39.0 \pm 0.03^\circ\text{C}$ for 5, 10 and 20 mg/kg of AD-2406, respectively). Each point and vertical bar represent the mean and S.E. from 3 to 4 rabbits. a) $0.01 < p < 0.05$ and b) $p < 0.01$, significantly different from the vehicle control. () dose in mg/kg, i.v.

1590 (ED_{50} = 約 0.080 mg/kg, i.v.)¹⁾ の約 100 分の 1 であった。

IV. 消化管潰瘍形成作用

24 h 絶食ラットに AD-2406 の 80 mg/kg を静脈内投与しても胃潰瘍の形成は認められなかったが、160 mg/kg の投与では 8 匹中 2 匹に胃潰瘍が形成された (Table III). このときの胃潰瘍スコアは、5 段階 (0, 1, 2, 3, 4) のうち 2 であり、軽度の潰瘍であった。

240 mg/kg の投与では、2 匹中 1 匹が投与直後に死亡し、生存した 1 匹には胃潰瘍の形成を認めなかった。320 mg/kg の投与では 2 匹とも投与直後に死亡した。したがって、絶食ラットにおける 160 mg/kg の静脈内投与量は致死毒性用量に近いと考えられ、また、50% 胃潰瘍形成用量 (SUD_{50}) は算出できなかった。

経口投与及び静脈内投与した AD-1590 の SUD_{50} は、それぞれ 13.8 mg/kg, *p.o.*¹⁾ 及び約 25 mg/kg, i.v. (未公表) であるところから、AD-2406 の胃潰瘍形成作用は AD-1590 の 10 分の 1 以下であると考えられる。

V. 急性致死毒性

治療係数 ($\text{LD}_{50}/\text{ED}_{50}$) をみる目的で、主作用の試験に用いたのと同じ系統のラットで LD_{50} を求めた。

AD-2406 は、240 mg/kg 迄の静脈内投与では顕著な一般症状が観察されなかった。320 mg/kg 以上の投与では、投与後自発運動量が減少し、投与 2 h 後迄に 320 mg/kg で 1/5, 400 mg/kg で 3/5, そして 480 mg/kg では 4/4 のラットが死亡したが、それ以後 1 週間までの間に死亡例は認められなかった。

TABLE III. Ulcerogenic Activity of AD-2406 and AD-1590 in the Stomach of Fasted Rats

Compound	Dose mg/kg i.v.	Ulcerogenic lesions in stomach	
		No. of rats with ulcers ^{a)} /tested	Mean (score) $\pm$ S.E.
Control		0/6	0.3 ± 0.2
AD-2406	80	0/8	0.5 ± 0.2
	160	2/8	1.0 ± 0.3
AD-1590	64	7/8	2.4 ± 0.5

Male Wistar rats (130–180 g), fasted for 24 h, received a single intravenous injection of each compound; and 6 h later, the stomach was removed. Ulcerogenic lesion was graded according to the following scale: 0, normal; 1, bleeding and/or erosion of mucosa; 2, less than 5 small ulcers (less than 2 mm in diameter or length); 3, 5 small ulcers or more, or one large ulcer (2 mm or more); 4, 2 large ulcers or more. a) number of rats having ulcerogenic lesions of the score of 2 or more.

TABLE IV. Acute Lethal Toxicity of AD-2406 and AD-1590 in Rats

Compound	Dose ma/kg i.v.	n	Body wt. Mean (g) ±S.E.	Number of died animals								LD ₅₀ in mg/kg (95% con- fidence limits)
				Days after administration								
				1	2	3	4	5	6	7	0—7	
AD-2406	80	5	117±0.8								0	373 (324—430)
	160	5	116±1.6								0	
	240	5	110±1.7								0	
	320	5	116±2.4	1							1	
	400	5	118±2.4	3							3	
	480	4	126±1.7	4							4	
AD-1590	80	5	111±4.2								0	>160
	160	7	111±2.0	1				1			2	

(Table IV). なお、死亡時には、痙攣、啼鳴などの激しい毒性症状は観察されなかった。AD-2406 の LD₅₀ は 373 mg/kg, i.v. であり、その毒性は経口投与した AD-1590 (LD₅₀=147 mg/kg, *p.o.*) の約 2 分の 1 であった。したがって、AD-2406 の治療係数は、抗炎症作用で 4.7、鎮痛作用 (ラット酢酸 writhing) で 11.2 であった。

考 察

この研究における被検化合物は、代謝物であったことから、薬効評価は原則として静脈内投与により行った。AD-1590 の代謝物の中で、ヒト血中に最も多く存在する AD-2406 は、ラットにおいて最も強い抗炎症作用を示した。したがって、その他の薬理作用の検討は AD-2406 に限って行った。AD-2406 は、40, 20 (マウスでは 80) 及び 20 mg/kg 以上の静脈内投与でそれぞれ用量依存的な抗炎症、鎮痛及び解熱作用を発現した。AD-2406 の効力は、AD-1590 に比べて 100 分の 1 前後であるが、経口投与した aspirin に比べるならば同等以上で、特に、解熱作用では約 10 倍強力であった。これらの効果は、ラットにおいて AD-2406 は 240 mg/kg, i.v. 迄の投与量で死亡例をみなかったことから、毒性用量ではないと考えられる。したがって、AD-2406 は比較的強い抗炎症、鎮痛及び解熱作用を有すると考えられる。

一方、絶食ラットでは毒性用量に近いと考えられる 160 mg/kg の静脈内投与でも 8 匹中 2 匹に軽度の胃潰瘍形成がみられた程度であり、2 匹中 1 匹が死亡した 240 mg/kg, i.v. では胃潰瘍形成がみられなかったことから、AD-2406 は、多くの酸性の非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) とは相違して、胃潰瘍形成作用は極めて弱い、あるいはほとんどこの作用を持たないのではないかと推察される。このことは、NSAID の急性致死毒性試験での死亡が投薬 24 h 以後に観察され、これは消化管傷害に基づくところが大であると考えられるが、これに対して AD-2406 による死亡はすべて投与 2 h 以内であったことから推察される。いずれにしても、静脈内投与した AD-2406 の胃潰瘍形成作用は、AD-1590 の 10 分の 1 以下であり、また、市販 NSAID の中でも最も弱い部類に属すと考えられる。

AD-1590 のヒトでの常用量と考えられる 20 mg/kg を 1 回服用後の健常人血漿中 AD-2406 濃度は、最高 0.8 µg/ml 前後である。⁶⁾ 一方、aspirin 10 mg/kg (50 kg 体重として 500 mg) を 1 回服用後のヒト血漿中 salicylate 濃度は平均 50 µg/ml 位であると報告されている。⁷⁾ したがって、AD-1590 20 mg 服用後の薬効並びに消化管傷害の副作用における AD-2406 の寄与はほとんどないものと推察される。

謝辞 実験に協力頂いた今津千恵子氏に感謝致します。

引用文献及び注

- 1) H. Nakamura, Y. Yokoyama, S. Motoyoshi, K. Ishii, C. Imazu, Y. Seto, T. Kadokawa, M. Shimizu, *Arzneim.-Forsch.*, **33**, 1555 (1983).
- 2) H. Nakamura, Y. Yokoyama, Y. Seto, T. Kadokawa, M. Shimizu, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 182 (1984).
- 3) 藤井敏彦ら, 私信.

-
- 4) 山口俊和, 鈴木玲子, 関根 豊, 薬物動態 **3**, 191 (1988).
 - 5) J. T. Litchfield, F. Wilcoxon, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **96**, 99 (1949).
 - 6) 森瀬雅典, 戸谷康信, 鈴木玲子, 山口俊和, 臨床と研究, **62**, 1578 (1985).
 - 7) a) M. Linnoila, J. Lehtola, *Int. J. Clin. Pharmacol.*, **15**, 61 (1977); b) R. L. Parsons, C. M. Kaye, K. Raymond, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **11**, 473 (1977).