薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
111 (1) 40-44 (1991)

チロキシシン連続投与ラットにおけるアセトアミノフェンの初回通過代謝

朱 春燕,^{*,a} 平手純司,^a 金本郁男,^a 中川輝昭,^a

足立伊佐雄,^a 堀越 勇,^a V. O. Bhargava^b

富山医科薬科大学附属病院薬剤部,^a Marion Merrell Dow Inc.^b

First-Pass Metabolism of Acetaminophen in Thyroxine Treated Rats

Chunyan ZHU,^{*,a} Junji HIRATE,^a Ikuo KANAMOTO,^a Teruaki NAKAGAWA,^a

Isao ADACHI,^a Isamu HORIKOSHI^a and V. O. BHARGAVA^b

Department of Hospital Pharmacy, Toyama Medical and Pharmaceutical

University,^a 2630, Sugitani, Toyama 930-01, Japan and Marion

Merrell Dow Inc.,^b Marion Park Drive, P.O. Box 9627,

Kansas City, Missouri 64114-0627, U.S.A.

(Received June 14, 1990)

The study on the first-pass metabolism of acetaminophen was carried out in normal and thyroxine-treated rats, administered 30 mg/kg by three routes of intravenous, intra-peritoneal, and oral one. Unconjugated acetaminophen and two major metabolites, glucuronide and sulfate in the plasma and urine were then measured 5 and 24 h after the administration, respectively.

It was found that there was no difference in total percentage of excreted amount, independent of the routes for administration, between normal and thyroxine-treated rats. This fact shows that acetaminophen is absorbed completely from the gastrointestinal tract.

However, it was also found that the extraction ratio of gastrointestinal tract in thyroxine-treated rats became smaller, and that the volume of distribution and total body clearance became larger than those in normal rats.

The first-pass metabolism of acetaminophen was found to be influenced by the continuous administration of thyroxine.

Keywords—acetaminophen; first-pass metabolism; thyroxine; extraction ratio; glucuronide; sulfate

薬物の生体内挙動に関する研究は、ヒトの疾病時又は病態動物で、実施されることも必要である。薬物の有効性あるいは安全性と深い係わりを持つ初回通過代謝の研究は、これまで数多く報告されているが、¹⁻⁶⁾ その多くは健常動物を用いたもので、疾患動物による研究例は極めて少ない。

著者らは、これまで OTC 薬として広く使われているアセトアミノフェンを正常ラットに投与し、その初回通過代謝と投与量並びに加齢との関係を追跡し、幼若ラットを除き、主に消化管で初回通過代謝を受けることを見出した。⁷⁻⁸⁾

Thyroxine (T₄) を投与したラットの肝臓及び小腸における酵素活性の変動についてはすでに報告がある。^{9,10)} 今回は T₄ の連続投与により、薬物の初回通過代謝がどのような影響を受けるか検索する目的で、多量の T₄ を連日投与し、甲状腺機能亢進状態と考えられるラットを飼育し、アセトアミノフェンを 30 mg/kg 投与した際の未変化体、グルクロン酸及び硫酸抱合体の血漿中濃度並びに尿中排泄率を測定し若干の知見を得たので、以下その詳細を報告する。

実 験 の 部

1. 試薬 アセトアミノフェン (AA) は、和光純薬の製品をそのまま用いた。アセトアミノフェンの硫酸抱合体 (AS) 及びグルクロン酸抱合体 (AG) は、Washington 大学の Dr. Sid. Nelson より供与されたものを使用した。β-Glucuronidase 及び β-glucuronidase/arylsulfatase は Boehringer 社製を、L-thyroxine sodium は

和光純薬の試薬特級をそれぞれ使用した。その他の試薬はすべて市販の特級品を用いた。

2. 実験動物 生後7週齢のWistar系雄性ラット(日本エスエルシー)に、生理食塩液に懸濁し超音波処理したT₄を3mg/3ml/kgの割合で1日1回、10日間連続して腹腔内に投与した。対照群には同容量の生理食塩液を投与した。10日目のT₄投与後15時間絶食させ、AAを投与した。AA投与時点における平均体重は、T₄投与ラットで204.9±18.4g、対照群で239.0±14.7gとなり、T₄連続投与により代謝亢進に伴う体重減少が認められた。

3. AAの投与及び試料採取 エーテル麻酔下、ラットの右大腿動脈及び静脈にカニューレ(PE₈₀)を装着した(動脈は採血用、静脈は投薬用)。意識回復後、40%(v/v)プロピレングリコール含有の生理食塩液に溶解した濃度10mg/mlのアセトアミノフェンを、30mg/kg、右大腿静脈内、腹腔内及び経口投与した。大腿動脈から経時的に約200μlの血液を採取し、直ちに遠心して血漿を分離し、定量まで-20°Cに保存した。

尿の採取を目的とする実験では、薬物投与後ラットを代謝ケージに入れ、24時間までの尿を集め、定量まで-20°Cに保存した。

4. 定量 血漿中のAA、AG及びASの定量は、前報⁸⁾に準じて高速液体クロマトグラフィー(HPLC)法で行った。尿中のAG及びASの定量は、標準品が不足したため酵素による加水分解法で測定した。尿は採取した全量に蒸留水を加えて正確に100mlとし、その1mlを試験管に分取、試料とした。尿中AAは、尿試料1mlにpH5.0の緩衝溶液4mlを加えて、血漿サンプルと同様な方法で定量した。

尿中AGは、試料にpH6.8の緩衝溶液4ml及びβ-glucuronidase 50μlを添加し、37°Cで24時間インキュベートしてAGをAAに加水分解後、その定量値と加水分解前の値との差から算出した。一方ASは試料にpH5.0の緩衝溶液4ml及びβ-glucuronidase/arylsulfatase 50μlを加え、37°Cで24時間インキュベートしたAGとASをAAに加水分解後のAAの定量結果とAA及びAGの定量結果から算出した。内部標準物質にはテオフィリンを使用した。

5. データの解析 AA(静脈内投与を除く)、AG及びASの零時間から無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC)は、零時間から最終測定時間(*t*)までの面積を台形法により算出し、*t*から無限大時間までの面積はC_t/*k*(C_tは血漿薬物濃度の最終測定値、*k*は消失速度定数)より計算し、両者を合計して求めた。¹¹⁾ その他のファルマコキネティックパラメータは、one-コンパートメントモデル式¹²⁾を用いて、非線形最小二乗法プログラムMULTI¹³⁾で解析し、消失半減期(*t*_{1/2})、分布容積(*V*)及び全身クリアランス(CI)を算出した。消化管及び肝臓における抽出率(extraction ratio)は、CassidyとHoustonが報告した式⁴⁾(1及び2式)を用いて算出した。

*E_g*及び*E_h*はそれぞれ消化管及び肝臓での抽出率を示す。前報の結果から、肺における抽出は無視できると考えられたため、今回は、動脈内投与実験は実施しなかった。

$$E_g = (AUC_{ip} - AUC_{po}) / AUC_{ip} \quad (1)$$

$$E_h = (AUC_{iv} - AUC_{ip}) / AUC_{iv} \quad (2)$$

得られたデータについては、分散分析の結果をTukey's法による有意差検定を行い、*p*<0.05の場合、有意差ありと判定した。

結 果

i.p., i.v., p.o.の各投与経路で、T₄処理ラットと対照ラットに、アセトアミノフェンを30mg/kg投与した後の未変化体血漿中濃度-時間曲線をFig.1に示す。

また、算出されるファルマコキネティックパラメータをTable Iに示す。

T₄処理ラットの分布容積(*V*)及び全身クリアランス(CI)は、対照に比し、有意に増大した。

CassidyとHoustonの式⁴⁾に基づいて計算した各臓器組織における抽出率をTable IIに示す。AAは主に消化管で初回通過代謝されるが、その抽出率は対照群が*E_g*=0.35に対し、T₄投与群では0.17の値となり、T₄処理により値が低下した。

Table IIIには各ラットにおけるAG及びASのAUCと、AAのAUCとの比を要約した。T₄処理群のAUC_{AS}/AUC_{AA}に減少傾向が見られ、特に経口では顕著な減少が認められた。

AA、AS及びAGの尿中排泄率をTable IVに示す。同じラット群で比較すると、投与経路による総排泄率に差異は認められなかった。

Fig. 1. Plasma Acetaminophen Concentration-Time Data Obtained in Dose of 30 mg/kg in Control Rats (A) and T₄ Treated Rats (B) Following i.v. (—●—), i.p. (—▲—) and p.o. (—■—) Administration

TABLE I. Pharmacokinetic Parameters of Acetaminophen in T₄ Treated and Control Rats Following Administration of Acetaminophen by Three Different Routes in Dose of 30 mg/kg

Group	Route	$t_{1/2}$ (min)	V (l/kg)	Cl (ml/min/kg)	AUC (μg·h/ml)
Control	i.v.	31.7±8.0	0.78±0.07	17.8±4.0	29.2±5.9
	i.p.	27.1±1.9			26.2±2.6
	p.o.	22.7±6.0			16.9±2.8
T ₄ treated	i.v.	26.9±6.1	0.91±0.08 ^{a)}	24.1±4.0 ^{a)}	21.3±4.0 ^{a)}
	i.p.	28.7±8.7			20.2±4.6
	p.o.	28.4±4.1			16.7±2.7

Data are mean values±S.D., $n=5-7$. a) Values are significantly different from the value of in control rats, using Tukey's test at $p<0.05$.

対照と比較した場合、T₄ 処理群では未変化体の排泄率が增大する傾向を示し、経口投与時の AS 排泄率は減少していた。

考 察

ヒトの甲状腺機能異常時における薬物代謝についての報告¹⁴⁻¹⁶⁾によると、甲状腺機能亢進症患者でのアセトアミノフェンの体内挙動は、全身クリアランスが増大し、半減期も減少し、甲状腺の機能亢進に伴って、薬物代謝も異なる挙動を示す。

本研究の結果より、アセトアミノフェンは、T₄ 処理時も、主に消化管内で初回通過代謝を受けることが確認された。しかし抽出率が減少した (E_g は 0.35 から 0.17 に変わった) ことから、消化管における抱合能は、T₄ 投与により抑制されたと考えられる。T₄ 処理群で、経口投与時の AS と AA の AUC 比が有意に減少したこと (Table III), 並びに AS の尿中排泄率が低下したこと (Table IV) より、チロキシン投与状態では、消化管での硫酸抱合能は低下すると考えられる。今後、消化管の酵素活性や抱合反応速度を測定する必要があると思われる。

投与経路に関係なく尿中総排泄量がほぼ一定値を示したことは、アセトアミノフェンは極めて効率よく吸収されることを意味し、尿中総排泄率が 100% に達しないことは、腎以外の消化管などの排泄経路より、排泄される可能性を示唆している。

TABLE II. Gastrointestinal and Liver Extraction Ratios Obtained Following Administration of Acetaminophen in T₄ Treated and in Control Rats at Dose of 30 mg/kg

Organ	Extraction ratio	
	Control	T ₄ treated
Gastrointestinal tract	0.35	0.17
Liver	0.10	0.06

TABLE III. Ratios of Area Under the Curve of the Glucuronide and Sulfate Metabolite to That of the Parent Drug after Different Routes of Administration in T₄ Treated and Control Rats

Route	The AUC ratio of AG/AA and AS/AA			
	Control		T ₄ treated	
	AG/AA	AS/AA	AG/AA	AS/AA
Venous	0.52±0.15	3.27±0.84	0.68±0.16	2.13±0.63
Peritoneal	0.48±0.11	3.75±0.64	0.77±0.15	2.67±0.61
Oral	0.57±0.08	5.13±1.14	0.84±0.39	2.22±0.54 ^{a)}

Data are mean values ± S.D., n=5—7. a) Value is significantly different from that of in control rats, using Tukey's test at $p < 0.05$.

TABLE IV. The Excretion Patterns in Urine after 24 h Following Administration of Acetaminophen by Different Routes in T₄ Treated and Control Rats at Dose of 30 mg/kg

Route	The mean percent of the dose excreted							
	Control				T ₄ treated			
	AA	AG	AS	Total	AA	AG	AS	Total
Venous	8.1±7.0	3.8±2.2	69.2±3.7	79.7±4.2	12.2±8.4	3.9±3.2	63.4±8.9	79.5±5.7
Peritoneal	6.1±1.1	7.2±9.6	66.0±13.3	79.3±8.4	8.0±3.7	5.3±4.1	61.5±8.2	74.8±9.3
Oral	5.7±4.3	8.9±9.7	63.9±10.8	78.4±3.4	10.2±2.9	9.5±7.0	54.8±14.3	74.5±8.7

Data are mean values ± S.D., n=5—6.

ファルマコキネティックパラメータでは、T₄ 投与ラットでは、T₄ 処理による分布容積の増大は全身クリアランスの増大と関連するものと考えられる。

In vivo の研究では、薬物の異なる投与経路により、その AUC の比で各臓器の初回通過代謝への寄与を評価することは、簡単で、便利なので、よく用いられる。^{4,17-20)} しかしながら、この方法は、生体の複雑な状況に対して、理論的に対応しきれない可能性もある。例えば、腹腔内投与と経口投与では、吸収速度が異なる。それによって、代謝速度への影響が起こることも有りうる。また、腹腔内投与では、実際には、門脈より完全に吸収されるのではなく、一部は腹腔の血管などを経て循環系へ移行する可能性もある。今回、得られた結果において、肝臓での初回通過代謝が少なく観察されたのは、これらの影響によるものと考えられる。今後、*in situ* の perfusion 実験、並びに *in vitro* での代謝反応速度の測定などを行って、更に詳細に検討を加えてゆきたい。

引用文献

- 1) M. Gibaldi, R. N. Doyes, S. Feldman, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1338 (1971).
- 2) M. Rowland, *J. Pharm. Sci.*, **61**, 70 (1972).
- 3) K. Iwamoto, C. Klasson, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **200**, 365 (1977).
- 4) M. K. Cassidy, J. B. Houston, *J. Pharm. Pharmacol.*, **32**, 57 (1980).
- 5) R. Gugler, P. Lain, D. L. Azarnoff, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **195**, 416 (1975).
- 6) K. S. Pang, V. Yuen, S. Fayz, J. Koppele, G. J. Mulder, *Drug Metab. Dispos.*, **14**, 102 (1986).
- 7) J. Hirate, C. Zhu, I. Horikoshi, V. O. Bhargava, *Biopharm. Drug Dispos.*, **11**, 245 (1990).
- 8) J. Hirate, C. Zhu, I. Horikoshi, V. O. Bhargava, *Biopharm. Drug Dispos.*, in press.
- 9) R. Kato, A. Takanaka, A. Takahashi, *J. Biochem. (Tokyo)*, **68**, 613 (1970).
- 10) 村田 亮, 引地 登, 丹羽弘司, 薬誌, **103**, 986 (1983).
- 11) K. Yamaoka, T. Nakagawa, T. Uno, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **6**, 547 (1978).
- 12) M. Gibaldi, D. Perrier, *Pharmacokinetics*, 2nd Edn., Marcel Dekker, Inc., New York, 1982.

- 13) K. Yamaoka, Y. Tanigawa, T. Nakagawa, T. Uno, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **4**, 879 (1981).
- 14) M. Eichelbaum, *Clin. Pharmacokinet.*, **1**, 339 (1976).
- 15) G. M. Shenfield, *Clin. Pharmacokinet.*, **6**, 275 (1981).
- 16) J. C. Forfar, A. Pottage, A. D. Toft, W. J. Irvine, J. A. Clements, L. F. Prescott, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **18**, 269 (1980).
- 17) K. S. Pang, J. R. Gillette, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **6**, 355 (1978).
- 18) K. S. Pang, J. R. Gillette, *J. Pharm. Sci.*, **67**, 703 (1978).
- 19) P. M. Belanger, M. Lalande, F. Dore, G. Labrecque, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **15**, 133 (1987).
- 20) V. O. Bhargava, J. Hirate, *Biopharm. Drug Dispos.*, **10**, 389 (1989).