複合体に関する研究 (第10報¹⁾) 複合体の消化管吸収について その 1²⁾

鯨島政義, 杉本 功, 内海 勇

田辺製薬株式会社製剤研究所³⁾

Studies on Complexes. X.¹⁾ Effect of Complex Formation on
Drug Absorption from Alimentary Tract. (1²⁾)

MASAYOSHI SAMEJIMA, ISAO SUGIMOTO, and ISAMU UTSUMI
Pharmaceutical Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.³⁾

(Received October 30, 1967)

Effect of complex formation on the absorption of drugs was examined by perfusion with rat small intestine.

Following combinations were used as the model drugs: Pyrazolone derivatives (sulpyrin, antipyrine, 4-aminoantipyrine, 4-methylaminoantipyrine, and aminopyrine)—salicylic acid, pyrazolone derivatives—benzoic acid, pyrazolone derivatives—riboflavin phosphate, and salicylamide—nicotinamide derivatives (nicotinamide and NN'-dimethyl-3,5-pyridine-dicarboxamide).

It was found that (a) salicylic and benzoic acid accelerated the rate of absorption of 4-methylaminoantipyrine and reduced that of antipyrine and 4-aminoantipyrine, (b) sulpyrin reduced the absorption of salicylic acid, (c) riboflavin phosphate reduced the absorption of sulpyrin and 4-aminoantipyrine, and (d) nicotinamide reduced the absorption of salicylamide. These facts were explained by the correlation with organic solvent/isotonic buffer solution partition coefficients.

溶液中の 2 成分がなんらかの相互作用を有し弱い結合が生ずる事実は古くから知られているが, 1952 年に Mulliken⁴⁾ は電荷移動複合体という新しい考え方を提出して, これら分子化合物の統一的な説明を試みている。複合体形成という概念は近年薬剤学の分野に導入され, Higuchi 等によって液剤の安定化法⁵⁾ や難溶性薬品の可溶化法⁶⁾ として実験例が報告されて以来, 安定化, 可溶化の多くの報告があり, 製剤学的に複合体形成は医薬品の安定化, 可溶化のすぐれた手段であると認められ, 実用の段階に至ったようである。

一方関口等はスルファチアゾール⁷⁾, クロラムフェニコール⁸⁾を尿素, ニコチン酸アミドと共融混合物を作り主薬の微粉化により消化管吸収の促進増強を報告し, また溶媒和化合物によるグリセオフルビンの微粉化⁹⁾ にも成功している。さらにアミノ酸の脳細胞に対する親和性を増すために複合体を作る方法も試みられ,¹⁰⁾ Biopharmaceutics への応用も期待されている。

複合体を作った薬品の物理化学的な性質はその薬品が単独で存在する場合と比べて溶解度, 溶解速度, 分子の大きさ, 拡散定数, 荷電の状態, 脂溶性などが異なると予想され, これらの性質は薬品の生体膜透過性に影響を与え, 生物活性も異なると推察される。これらを実験的に裏付けた報告としてはピラピタール,¹¹⁾ アミノピリン—

1) 第 9 報: 薬剤学, 26, 17 (1966).

2) 日本薬学会近畿支部総会, 1965年11月.

3) Location: Kashima-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

4) R.S. Mulliken, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 811 (1952).

5) T.Higuchi, L.Lachman, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, **44**, 521 (1955).

6) T. Higuchi, J.L. Lach, *J. Am. Pharm. Assoc., Seci. Ed.*, **43**, 525 (1954).

7) K. Sekiguchi, N. Obi, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **9**, 866 (1961).

8) K. Sekiguchi, N. OBi, Y. Ueda, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **12**, 134 (1964); 関口慶二, 上田芳雄, 日本薬学会第84年年会, 1964年.

9) K. Sekiguchi, K. Ito, E.Owada, K. Ueno, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **12**, 1192 (1964).

10) 山田厚, 特許 昭 40-8913

11) 大幡勝也, 日薬理誌, **53**, 542 (1957); 薬誌, **78**, 312 (1958).

Fig. 1. Influence of Antipyrine and Aminopyrine on the Solubility of Salicylic Acid in pH 6.1 at 37°

Fig. 2. Stability of Sulpyrin at pH 6.1 Isotonic Solution and 38°

○—○ sulpyrin $10^{-3}M$
●—● sulpyrin $10^{-3}M + HOCH_2SO_2NaH_2O$ $10^{-3}M$

アミノプロピロン,¹²⁾ サリチル酸—カフェイン,^{13,14)} スルフィソキサゾール—アミノピリン¹⁵⁾ の吸収, 分配係数増加による色素の吸収増加の試み,¹⁶⁾ inclusion compound の排泄¹⁷⁾ などがみられるが, サリチル酸—カフェインの組合わせにおいて前者の吸収が減少,¹³⁾ 増加¹⁴⁾ と実験法の差にもよるが違った結果が報告され, 系統的に比較検討された例は少ない。

著者等はこの点について基礎的検討を行なうこととし, 固体状態で両者の間に水素結合が生じ,^{18,19)} さらに Higuchi 等²⁰⁾ の溶解度法によっても両者の間に相互作用のある (Fig. 1) ピラゾロン誘導体とサリチル酸, 安息香酸, また可視スペクトルの吸収が変化するピラゾロン誘導体とリン酸リボフラビン, さらにサリチルアミドとその溶解補助作用のあるニコチン酸アミド誘導体²¹⁾ の組合わせを選び, サリチル酸を加えたときのピラゾロン誘導体の吸収, 逆にピラゾロン誘導体を加えたときのサリチル酸の吸収, 安息香酸, リン酸リボフラビンを添加したときのピラゾロン誘導体の吸収, さらにニコチン酸アミド誘導体を加えたときのサリチルアミドの吸収率の変化をおのおのの薬品が単独で存在するときとどのように変化するかを観察した。

なお使用したピラゾロン誘導体としては化学構造との関係を知るためにスルピリン, アンチピリン, 4-アミノアンチピリン, 4-メチルアミノアンチピリン, アミノピリンを用い, またニコチン酸アミド誘導体としてはニコチン酸アミドおよびすでに難溶性薬品の溶解補助剤の目的で合成し, すぐれた溶解補助作用のあった N, N'-dimethyl-3,5-pyridinedicarboxamide²²⁾ を用いた。

吸収実験は掛見等²³⁾ のラット小腸還流法で行ない, すべて実験中の還流液の pH 変化の少ない²³⁾ pH 6 で 1 時間還流し, 吸収率は還流前および還流後のおのおのの薬品の量を求めその差から % として算出した。なお低濃度のスルピリン水溶液の安定性はすでに明らかにしたように²⁴⁾ 極めて不安定であるが, formaldehyde sodium bisulfite を加えると安定となるので (Fig. 2), スルピリンの吸収実験の場合はスルピリンの 10 倍モルの formaldehyde sodium bisulfite を加えて還流液として使用した。

Fig. 3—7 はその結果を示すもので 1 時間後の吸収率の変化を縦軸に示す。Fig. 3 はサリチル酸を種々の濃度

12) 大幡勝也, 日薬理誌, 52, 634 (1956).

13) G. Levy, R. Reuning, *J. Pharm. Sci.*, 53, 1471 (1964); 井口定男, 後藤茂, 高松陸男, 日本薬学会九州支部総会 1966 年; 日本薬学会第 86 年年会 1966 年。

14) K.R. Knoll, R.P. Parke, H.A. Swartz, *J. Pharm. Pharmacol.*, 18, 540 (1966).

15) 有田隆一, 堀了平, 上田芳雄, 日本薬学会第 87 年年会, 京都, 1967 年 4 月。

16) G. Levy, T. Matsuzawa, *J. Pharm. Sci.*, 54, 1003 (1965).

17) K. Hashimoto, T. Kato, K. Inagaki, *Experientia*, 22, 520 (1966).

18) A. Regenbogen, *Chem. Zentr.*, 1918, II, 625.

19) 大井尚文, 日本薬学会第 80 年年会, 1960 年 4 月。

20) T. Higuchi, D.A. Zuck, *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 42, 138 (1953).

21) 鮫島政義, 薬誌, 80, 86 (1960).

22) 鮫島政義, 薬誌, 80, 1713 (1960).

23) T. Koizumi, T. Arita, K. Kakemi, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 12, 421 (1964).

24) 鮫島政義, 杉本功, 内海勇, 薬剤学, 26, 23 (1966).

Fig. 3. Effect of Salicylic Acid on the Absorption of Pyrazolone Derivatives

salicylic acid concentration: control, $5 \times 10^{-3} M$, $10 \times 10^{-3} M$

Fig. 4. Effect of Pyrazolone Derivatives on the Absorption of Salicylic Acid

pyrazolone derivatives concentration: control, $5 \times 10^{-3} M$, $10 \times 10^{-3} M$

Fig. 5. Effect of Benzoic Acid on the Absorption of Pyrazolone Derivatives

benzoic acid concentration: control, $5 \times 10^{-3} M$, $10 \times 10^{-3} M$

Fig. 6. Effect of Riboflavin Phosphate on the Absorption of Pyrazolone Derivatives

riboflavin phosphate concentration: control, $5 \times 10^{-3} M$, $10 \times 10^{-3} M$

Fig. 7. Effect of Nicotinamide Derivatives on the Absorption of Salicylamide

Nicotinamide derivatives concentration: control, $30 \times 10^{-3} M$, $50 \times 10^{-3} M$

に加えたときのピラゾロン誘導体の吸収率の変化を示す図で、アンチピリン、4-アミノアンチピリンはサリチル酸を加えると明らかに吸収が悪くなることが認められたが、4-メチルアミノアンチピリンの吸収は増加し、スルピリン、アミノピリンはサリチル酸の影響は認められなかった。

逆に Fig. 4 はサリチル酸の吸収に及ぼすピラゾロン誘導体の影響で、スルピリンを加えたときのサリチル酸は吸収率が低下したが、アンチピリン、アミノピリンは影響を与えなかった。

Fig. 5 は安息香酸添加の影響を示すもので、サリチル酸の場合と同様にアンチピリン、4-アミノアンチピリンの吸収は減少したが、4-メチルアミノアンチピリンは増加し、スルピリン、アミノピリンは安息香酸の影響は認められなかった。

リン酸リボフラビンを加えたときは Fig. 6 に示すようにスルピリン、4-アミノアンチピリンはリボフラビンの量が増すにつれて吸収率がやや減少の傾向にあったが、他はほとんど変化が認められなかった。なおリボフラビンスルピリンの組合わせについては第12報で速度論的に述べる予定である。

Fig. 7 はサリチルアミドの吸収に及ぼすニコチン酸アミドおよびその誘導体の影響を示す図で、ニコチン酸ア

ミドを加えたときサリチルアミドはやや吸収が悪くなったが, N, N'-dimethyl-3,5-pyridinedicarboxamide の場合はほとんど影響は認められなかった。

1 時間還流後のラット小腸の表面の肉眼的観察ではサリチル酸, ピラゾロン誘導体, 安息香酸, リン酸リボフラビン, ニコチン酸アミド誘導体を加えたとき, 加えない単独の場合との差は認められず, またサリチル酸は家兎, ヒトの血漿, 牛血清アルブミンとかなり結合することから,²⁵⁾ 消化管膜の表面にもある程度相互作用を持つものと思われる。Fig. 3 のようにサリチル酸を加えたとき, この毒性のためアンチピリン, 4-アミノアンチピリンの吸収が減少したとも考えられるが, 4-メチルアミノアンチピリンの吸収は逆に増加したので, 実験の濃度範囲内ではこれらの添加剤の毒性や消化管膜面への損傷は無視できると推察され Fig. 3-7 の吸収の増減は生理的原因より他の要因によると考えられる。

生物エネルギーを必要とする特殊な転送機構の関与しない大部分の医薬品の消化管からの吸収には溶液状態ではその有機溶媒と水との間の分配係数が支配的な因子であるとされており,²⁶⁾ 一連のピラゾロン誘導体の吸収率と分配係数を求めた結果, Table I にみるように有機溶媒—水間の分配係数の大きいものほどよく吸収されることが認められた。

Levy 等¹³⁾ はサリチル酸—カフェインの組合わせにおいて, カフェインが共存するとラット胃からのサリチル酸

TABLE I. Partition Coefficient (*K*) and Intestinal Absorption Rate of Pyrazolone Derivatives

Pyrazolone derivatives	<i>K</i> (isoamyl acetate/pH 6.1)	Per cent absorbed in 1 hr
Isopropylantipyrine	18.1	50±6
Aminopyrine	2.02	48±5
4-Methylaminoantipyrine	0.787	44±4
4-Aminoantipyrine	0.424	45±4
Antipyrine	0.251	39±3
Sulpyrin	0.128	17±2
Aminopropylon	0.011	1.1±0.7

TABLE II. Effect of Complex Formation on Apparent Partition Coefficient (*K*) at 38°

Composition of solution	Organic phase	<i>K</i>
10 ⁻³ M Salicylamide	benzene	1.14
10 ⁻³ M Salicylamide+5×10 ⁻² M nicotinamide	benzene	1.00
10 ⁻³ M Antipyrine	isoamyl acetate	0.251
10 ⁻³ M Antipyrine+10 ⁻² M Salicylic acid	isoamyl acetate	0.228
10 ⁻³ M 4-Methylaminoantipyrine	isoamyl acetate	0.777
10 ⁻³ M 4-Methylaminoantipyrine+10 ⁻² M Salicylic acid	isoamyl acetate	0.814
10 ⁻³ M Aminopyrine	isoamyl acetate	2.13
10 ⁻³ M Aminopyrine+10 ⁻² M Salicylic acid	isoamyl acetate	2.09

の吸収が低下することを認め, カフェイン共存ではサリチル酸の分配係数も低下することから, 吸収率の低下は分配係数の低下が一原因であろうと推察している。そこでさきの *in situ* の検討において添加剤を加えない対照に比較して, 吸収抑制効果の認められた例としてサリチルアミド—ニコチン酸アミド, アンチピリン—サリチル酸, 吸収促進効果の認められた例として 4-メチルアミノアンチピリン—サリチル酸, 著しい吸収の変化の認められなかった例としてアミノピリン—サリチル酸の組合わせを選び, それぞれの組合わせにおいて前者の分配係数を後者を加えない対照と比較した。Table II はその結果を示すもので, ニコチン酸アミド, サリチル酸を加える

25) 掛見喜一郎, 有田隆一, 山科肇, 小西良士, 薬誌, **82**, 536 (1962).

26) L.S. Schanker, D.J. Tocco, B.B. Brodie, C.A.M. Hogben, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **123**, 81 (1958).

とサリチルアミド、アンチピリンの分配係数はやや減少したが、サリチル酸を加えたときの 4-メチルアミノアンチピリンは増加し、アミノピリンはほとんど変化せず、*in situ* 還流実験の結果と比較すると、分配係数の大きいほど、よく吸収されるという原則とよく一致することが認められた。

実 験 の 部

試料および試液 4-メチルアミノアンチピリン：高橋等の方法²⁷⁾で得た。*p*-ジメチルアミノシンナムアルデヒド：市販品(第一化学)を EtOH—H₂O から再結晶，pH6 等張リン酸塩緩衝液。²⁸⁾

複合体形成の証明 (i) サリチル酸-ピラゾロン誘導体：アンチピリン，アミノピリンは Fig. 1 に示すように溶解度が増加し，また他のピラゾロンの場合もアミノピリンと同様加えた量に比例してサリチル酸の溶解度が増加したので両者の間に相互作用があることが判った。溶解度測定法は 50 ml ネスラー管にサリチル酸 1 g および種々の濃度のピラゾロン誘導体を溶解した pH 6 リン酸塩緩衝液 20 ml を加え，37° 恒温水槽中で 24 hr 振盪し，東洋濾紙 No. 5c で濾過し，濾液中のサリチル酸を定量。²⁹⁾ なお pH 6 緩衝液は等張の 2 倍濃度のものを使用した。

(ii) 安息香酸-ピラゾロン誘導体：Fig. 1 のサリチル酸-アミノピリンと同じ様にいずれも加えた量に比例して安息香酸の溶解度が増加した。実験法はサリチル酸と同様に行ない，定量は 265 m μ の吸光度を求める方法によった。

(iii) リン酸リボフラビン-ピラゾロン誘導体：畑の報告³⁰⁾と同様に可視スペクトルの吸収極大が変化し，同時に長波長側の吸収が増大した。

(iv) サリチルアミド-ニコチン酸アミド誘導体：水溶液中で両者が複合体を作ることは既に報告²¹⁾したが，pH 6 緩衝液中でも同様であった。

スルピリン水溶液の安定性 先に報告した方法²⁴⁾に準じた。

小腸からの吸収 (ii) 吸収率測定法：ラット小腸からの吸収は還流実験法²³⁾により測定したが，水分補正用のフェノールレッドは吸収率を求める薬品との間に相互作用が生ずる恐れがあるので，その使用を避けすべて全量定量法²⁸⁾によった。

(ii) 試料溶液：pH 6 等張緩衝液に吸収率を求める薬品を 0.5×10^{-3} M/liter，および種々の濃度の添加剤を加えて試料溶液とした。

(iii) 定量法：スルピリン，4-アミノアンチピリン，4-メチルアミノアンチピリンは加藤等の *p*-ジメチルアミノシンナムアルデヒド法，³²⁾ アンチピリンは Brodie 等の方法³³⁾に準じ，希釈液 5 ml に 10% H₂SO₄ 0.2 ml 0.2% NaNO₂ 0.2 ml を加え 15 min 後に 340 m μ の吸光度を求めた。アミノピリンは小野等の方法³⁴⁾によった。アミノプロピロンは還流液 1 ml に N NaOH 0.5 ml, CHCl₃ 6 ml を加えて 10 min 間振り，遠心分離後 CHCl₃ 層 5 ml に 0.1 N HCl 5 ml 加えて 10 min 間振り，水層の 260 m μ の吸光度を測定。イソプロピルアンチピリンはアミノプロピロンと同様に行なったが CHCl₃ 層の 260 m μ の吸光度を直接求めた。サリチル酸，サリチルアミドは掛見等の方法²⁹⁾によった。還流液に加えられた各添加剤はいずれも実験に用いた濃度範囲内ではこれらの定量法を妨害しなかった。

分配係数測定法 有機溶媒はあらかじめ pH 6 等張緩衝液で，また pH 6 等張緩衝液は有機溶媒でそれぞれ飽和させておき，この緩衝液に薬品を溶解させてその 5 ml，および上記有機溶媒 5 ml を 20 ml アンプルに入れ，38° 恒温水槽中で 24 hr 振り，水槽中の薬品を吸収実験と同じ定量法により定量して，見かけの分配係数を算出した。

謝辞 本研究にあたり，終始御指導賜りました京都大学掛見喜一郎教授に厚く謝意を表します。

27) 高橋西蔵，岡田寿太郎，堀幹夫，加藤旭，兼松頭，山本泰男，薬誌，76, 1180 (1956).

28) 日本化学会編，“実験化学講座”，24，生物化学 II，丸善 1958年 p.226.

29) 掛見喜一郎，有田隆一，山科肇，薬剂学，21, 97 (1961).

30) 畑俊一，安楽孝雄，佐野肇，薬剂学，27, 132 (1967).

31) 掛見喜一郎，有田隆一，瀬崎仁，杉本功，薬誌，84, 1210 (1964).

32) 加藤寿吉，梅田益雄，坪田滋基，薬剂学，24, 116 (1964).

33) B. B. Brodie, J. Axelrod, R. Soberman, B. B. Levy, J. Biol. Chem., 179, 25 (1945).

34) 小野真一，尾西良一，丹下順弘，川村邦夫，今井敏彦，薬誌，85, 245 (1965).