薬物併用時の代謝に関する研究 (第 1 報) Aspirin のマウス体内動態に
およぼす Chlormezanone の影響¹⁾

立沢晴男

第一製薬株式会社研究所²⁾Studies on Metabolism in Drug Combination. I. Influence of Chlormezanone
on Drug Disposition of Aspirin in Mice¹⁾

HARUO TACHIZAWA

Research Institute, Daiichi Seiyaku Co., Ltd.²⁾

(Received July 11, 1977)

Effect of chlormezanone on the drug disposition of aspirin was studied in mice given orally aspirin[carboxyl-¹⁴C] with or without chlormezanone. The concomitant administration of chlormezanone decreased the stomach content of aspirin-¹⁴C, and significantly increased the peak blood level. The distribution of radioactivity in the tissues including the liver and kidneys also increased by the combined use of chlormezanone. In addition, significant difference in urinary excretion of radioactivity was found between aspirin alone and aspirin plus chlormezanone groups. These results indicated that chlormezanone facilitated the gastrointestinal absorption of aspirin and increased the distribution of the drug in the body.

Influence of chlormezanone on the metabolism of aspirin was examined by comparing quantitatively the concentration of metabolites in the plasma, tissues, and urine between the two groups. In both groups, aspirin was metabolized *in vivo* to salicylic acid, salicylic acid glucuronide, *o*-hydroxyhippuric acid, and gentisic acid. These metabolites in the plasma, liver, and kidneys showed higher concentrations due to increase of total radioactivity in aspirin plus chlormezanone group than in aspirin alone group. However, it was considered that chlormezanone had no effect qualitatively on the *in vivo* metabolism of aspirin, since no difference in the composition of metabolites was found between the two groups.

Keywords—drug combination; drug metabolism; drug interaction; aspirin; chlormezanone; mice; drug disposition

Aspirin と他薬物との併用時の体内動態に関しては、多くの成績が報告³⁾されているが、aspirin と chlormezanone との併用例に関しては、著者らの成績⁴⁾ 以外には報告されていない。

著者らは、aspirin と chlormezanone の併用により鎮痛抗炎症作用において有意な併用効果が認められ、chlormezanone の併用による aspirin の体内分布における変化がこの併用効果の発現と関連することを示唆する成績をすでに報告した。⁴⁾

本研究においては、鎮痛抗炎症作用において認められた併用効果の発現の機作を代謝面から詳細に明らかにするために、aspirin のマウスにおける吸収、分布、代謝、排泄におよぼす chlormezanone の影響を鎮痛抗炎症試験法で用いられている時間内で検討した。その結果、若干の興味ある知見が得られたので報告する。

実 験 の 部

検体 Aspirin-carboxyl-¹⁴C (AS-¹⁴C と略, 比放射能 9.8 mCi/mmol, 第一化学), aspirin (AS と略, Rhône-

1) 日本薬学会東北支部第 64 回例会, 仙台, 1976 年 5 月。

2) Location: Edogawa-ku, Tokyo 132 Japan.

3) B.B. Coldwell, B.H. Thomas, *J. Pharm. Pharmacol.*, **23**, 226 (1971); M.D. Chaplin, *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 1589 (1973); W.A. Phillips, J.R. Schultz, W.W. Stafford, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 3135 (1974); A. Rubin, B.E. Rodda, P. Warrick, C.M. Gruber Jr., A.S. Ridolfo, *Arthritis and Rheumatism*, **16**, 635 (1973).

4) 立沢晴男, 塚田 恒, 秋元 健, 薬誌, **97**, 736 (1977).

Poulanc Co., Ltd.) および chlormezanone (CM と略, 第一製薬) を使用した.

使用動物 体重約 20 g の ddYS 系雄マウス (静岡実験動物) を 1 群 7 匹 として使用した.

検体溶液の調製ならびに投与法 試料としては, AS-¹⁴C 単独 (AS-¹⁴C 群と略) および AS-¹⁴C と CM の配合比が 4:1 である配合薬 (AS-¹⁴C+CM 群と略) を使用した.⁴⁾

AS-¹⁴C および配合薬は, いずれも 0.5% (w/v) sodium carboxymethyl cellulose (第一化学) 溶液に懸濁し, 配合薬 120 mg/kg (AS-¹⁴C 96 mg/283 μ Ci/kg+CM 24 mg/kg 含有) あるいは, AS-¹⁴C 96 mg/283 μ Ci/kg をマウスに経口投与した.

放射能 (¹⁴C) の測定 試料を toluene 系シンチレーターまたは dioxane 系シンチレーターに溶解し,⁴⁾ 液体シンチレーションカウンター (Aloka, LSC-652) で測定した. 試料のクエンチングは, 外部線源 (¹³⁷Cs) チャンネル比法により補正した.

薄層クロマトグラフィ (TLC) 試料を標準品 [AS, salicylic acid (SA と略), gentisic acid (GA と略), o-hydroxyhippuric acid (HHA と略)] と共にシリカゲルプレート (Kieselgel 60F₂₅₄, Merck) にスポットし, クロロホルム-エーテル-ギ酸 (10:5:1) で展開した. クロマトグラム上の放射性物質は, radiochromatogram scanner (Aloka, JTC-203) およびオートラジオグラム (マクロオートラジオグラフィフィルム ³H type, 小西六) の作成により検出した. また, 標準品の検出には, UV ランプ (マナスライト工業, 波長 2536 Å) を使用した.

ガスクロマトグラフィ (GLC) 試料をジアゾメタンにより室温で 2 min 反応させてメチル化後安息香酸メチル-¹⁴C を内部標準物質として, ラジオガスクロマトグラフ装置 (島津 MPF-5A) により代謝産物を検出した. 分析条件はつぎのとおりである. カラム: 2% PEG succinate on Chromosorb G 80/100-2m, カラム温度: 90—170°, 6°/min 昇温, 流速: 65 ml/min, ¹⁴C 検出部: ¹⁴C チャンネル.

血液および組織中 ¹⁴C の測定 マウスに検体を経口投与後 5, 15, 30, 60, 120 min に, 軽度のエーテル麻酔下で放血致死させて, 血液各組織および胃腸管内容物を摘出した. 血液は 0.1 ml をろ紙 (東洋ろ紙 No. 51) に塗布後風乾し, 組織は湿重量で約 100 mg を精秤後風乾し, OXYMAT (Intertechnique, JA-101) による燃焼法で測定した. 胃腸管内容物は胃および腸 (十二指腸—直腸) を別々に切開後 0.9% 生理的食塩水約 50 ml で洗浄し, 約 50 ml のメタノールを加えて全量 100 ml の 50% メタノール溶液としてホモゲナイズした. 得られたホモジネート 0.5 ml に dioxane 系シンチレーター 15 ml を加えて放射能を測定した.

尿中排泄率の測定 マウスの陰茎を薬物の投与前に結さず, 検体を経口投与後 120 min まで経時的に放血致死させて解剖時に膀胱尿を採取した. 尿中 ¹⁴C は, 尿を一定量に希釈した後その 0.1 ml を dioxane 系シンチレーター 15 ml に溶解させて測定した.

代謝産物の検索 尿を分離用 TLC に付しオートラジオグラムを作成して, AS および代謝産物をプレートからかき取り, メタノールで溶出して各分画を得た. SA, GA および HHA に相当する各分画については, 逆同位体希釈分析により同定した. また, AS および SA 分画については, ラジオガスクロマトグラフ装置を用いた GLC により同定した. TLC 上原点に存在する抱合体分画については, β -glucuronidase による加水分解を行った. すなわち, 試料を 3 ml の 1/10M phosphate buffer (pH 6.8) に溶解し, β -glucuronidase (bacterial type I, Sigma) 1 mg を加えて 37°, 24 hr インキュベートした.

代謝産物の定量 i) 血漿および組織——血漿 0.2 ml に蒸留水 4.6 ml および 6N 塩酸 0.2 ml を加えて (pH 約 1) 全量を 5 ml とした. 組織については, 肝 (約 800 mg), 腎 (約 100 mg) および脳 (約 300 mg) を精秤し, 6N 塩酸 0.2 ml および蒸留水を加えて全量 5 ml のホモジネートにした. つぎに, これらの試料にジクロロエタン 20 ml, ついでイソアミルアルコール 20 ml を加えて抽出分離し, ジクロロエタン層およびイソアミルアルコール層を別々に濃縮後合せて抽出物を得た. この抽出物を TLC に付して代謝産物を分離後各放射性分画をプレート上からバイアル中へかき取り, 1 ml のメタノールを加えて溶出し, toluene 系シンチレーター 15 ml を加えて放射能を測定した. 各分画の放射能より存在比を算出し, 代謝産物を定量した.

ii) 尿——経時的に得られた尿を TLC に付し, i) と同様に処理して代謝産物を定量した.

逆同位体希釈分析法 試料に SA, GA, HHA の非標識標品約 300 mg を加えて, SA はメタノール, GA および HHA は蒸留水を加えて完全に溶解し再結晶をくり返した. 得られた結晶約 30 mg を精秤してメタノール 1 ml に溶解し, dioxane 系シンチレーター 15 ml を加えて放射能を測定し比放射能を求めた. この再結晶操作を結晶の比放射能が一定になるまでくり返し, 次式から試料中各放射性物質の含有率を算出した.

$$X = SM/A \times 100(\%)$$

X: 試料中放射性物質の含有率 (%)

S: 得られた結晶の比放射能 (dpm/mg)

A: 試料中総放射能 (dpm/mg)

M: 結晶の添加量 (mg)

実 験 結 果

吸収に与える CM の効果

i) 血中 ¹⁴C 濃度 (Fig. 1) AS-¹⁴C 群の血中濃度は投与後 30 min にピークに達し, 以後減衰して 120 min

Fig. 1. Effect of Chlormezanone (CM) on Whole Blood Levels of Radioactivity in Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (AS- ^{14}C)

○—○ : AS- ^{14}C 96 mg/kg.
●—● : AS- ^{14}C 96 mg/kg + CM 24 mg/kg.
Vertical bar represents standard error.
a) Significantly different from AS- ^{14}C ($p < 0.05$).

Fig. 2. Effect of Chlormezanone (CM) on Gastrointestinal Content of Radioactivity in Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (AS- ^{14}C)

● : stomach, ○ : intestine.
--- : AS- ^{14}C 96 mg/kg.
— : AS- ^{14}C 96 mg/kg + CM 24 mg/kg.
a) Significantly different from AS- ^{14}C ($p < 0.01$).
Vertical bar represents standard error.

TABLE I. Effect of Chlormezanone (CM) on Tissue Concentrations of Radioactivity in Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (AS- ^{14}C)

Tissues	Groups	Tissue concentrations of radioactivity (nmol/g) time (min)					
		5	15	30	60	120	
Liver	AS- ^{14}C	262 ± 70.7	534 ± 33.7	631 ± 43.5	717 ± 33.9	706 ± 67.9	
	AS- ^{14}C + CM	325 ± 25.5	609 ± 30.5	793 ± 38.5 ^{a)}	881 ± 53.7 ^{a)}	755 ± 107	
Kidney	AS- ^{14}C	289 ± 49.7	507 ± 43.6	649 ± 48.3	573 ± 26.3	468 ± 32.9	
	AS- ^{14}C + CM	298 ± 14.7	552 ± 24.6	666 ± 47.8	779 ± 53.0 ^{a)}	634 ± 45.2 ^{a)}	
Lung	AS- ^{14}C	287 ± 64.2	482 ± 39.1	495 ± 41.1	355 ± 24.9	288 ± 20.8	
	AS- ^{14}C + CM	246 ± 24.2	420 ± 20.0	469 ± 24.8	377 ± 32.1	214 ± 22.8	
Brain	AS- ^{14}C	31 ± 4.8	136 ± 24.1	164 ± 18.2	112 ± 8.9	92 ± 3.9	
	AS- ^{14}C + CM	38 ± 1.5	130 ± 11.1	154 ± 18.7	131 ± 9.5	67 ± 7.1	
Adrenal	AS- ^{14}C	281 ± 48.9	464 ± 56.2	482 ± 12.3	555 ± 17.7	400 ± 22.5	
	AS- ^{14}C + CM	284 ± 81.8	473 ± 45.1	520 ± 32.6	618 ± 63.6	410 ± 50.2	
Pituitary	AS- ^{14}C	144 ± 20.2	374 ± 38.4	440 ± 26.7	286 ± 22.6	256 ± 23.3	
	AS- ^{14}C + CM	276 ± 21.3 ^{a)}	389 ± 64.8	486 ± 29.0	418 ± 20.2 ^{a)}	288 ± 58.1	
Muscle	AS- ^{14}C	114 ± 25.4	255 ± 31.3	235 ± 7.3	269 ± 40.9	173 ± 16.1	
	AS- ^{14}C + CM	112 ± 6.1	292 ± 29.2	284 ± 24.9	286 ± 8.6	169 ± 10.3	

Mice were given orally 96 mg/kg of AS- ^{14}C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean ± standard error of seven mice.

a) Significantly different from AS- ^{14}C ($p < 0.05$).

後にはピーク値の約 1/1.3 に低下した。一方、AS- ^{14}C + CM 群の血中濃度は投与後 15 min にピークに達し、以後直線的に減衰して 120 min 後にはピーク値の約 1/1.7 に低下した。両群間で比較すると、AS- ^{14}C + CM 群の血中濃度は投与初期から AS- ^{14}C 群より高い傾向を示し、投与後 15 min には有意に高値を示しており、この傾向は 60 min 後まで認められた。さらに、ピークに達する時間も、AS- ^{14}C 群より AS- ^{14}C + CM 群で短縮しており、CM の併用による AS- ^{14}C の吸収の促進が推察された。

ii) 胃腸管内容物中 ^{14}C 量 (Fig. 2) 胃内容物中 ^{14}C 量は、投与後 15 min から明らかに AS- ^{14}C + CM 群で AS- ^{14}C 群より少なく、投与後 60 min の AS- ^{14}C + CM 群の胃内 ^{14}C 量が AS- ^{14}C 群より有意に減少しており、

TABLE II Effect of Chlormezanone(CM) on Urinary Excretion of Radioactivity in Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (AS- ^{14}C)

Time (min)	Urinary excretion (% of dose) groups	
	AS- ^{14}C	AS- ^{14}C +CM
5	0.07 $\pm$ 0.008	0.10 $\pm$ 0.009
15	0.52 $\pm$ 0.29	1.93 $\pm$ 0.33 ^{a)}
30	3.75 $\pm$ 0.80	4.69 $\pm$ 0.24
60	12.88 $\pm$ 1.45	18.53 $\pm$ 0.96 ^{a)}
120	22.78 $\pm$ 4.88	30.21 $\pm$ 1.17

Mice were given orally 96 mg/kg of AS- ^{14}C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean $\pm$ standard error of seven mice.

a) Significantly different from AS- ^{14}C ($p < 0.05$).

Fig. 3. Radioscan of Thin-Layer Chromatogram of Metabolites in 2-Hr Urine of Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (96 mg/kg)

Developing solvent; chloroform: ether: formic acid (10:5:1).

s-1: salicylic acid, s-2: aspirin, s-3: gentisic acid, s-4: o-hydroxyhippuric acid. ARG means auto-radiogram.

AS- ^{14}C の吸収に与える CM の促進効果が認められた。一方、腸内 ^{14}C 量は、投与後初期から 120 min 後まで両群間で差異は認められなかった。

体内分布に与える CM の効果 (Table I)

AS- ^{14}C 群および AS- ^{14}C +CM 群のいずれにおいても組織内濃度は、肝>腎>副腎、肺、下垂体>骨格筋>脳の順で高く、最高濃度は投与後 30—60 min に認められた。両群の組織内濃度を血中濃度と比較すると、投与後 30 min までは、いずれも血中濃度より低く、投与後 60 min 以後、AS- ^{14}C 群では肝において、AS- ^{14}C +CM 群では肝、腎において血中濃度より高濃度が認められた。組織内濃度を両群間で比較すると、肝および腎内濃度は、CM の併用により投与後初期から著明な上昇傾向を示し、肝では投与後 30—60 min で、腎では投与後 60—120 min で、AS- ^{14}C 群より AS- ^{14}C +CM 群で有意に上昇していた。この CM 併用による組織内濃度の上昇傾向は、下垂体および副腎においても認められたが、肺、骨格筋および脳では認められなかった。

尿中排泄に与える CM の効果 (Table II)

放射能の尿中排泄は、AS- ^{14}C 経口投与後 5 min で両群ともに明らかに認められ経時的に増大し、投与後 120 min の排泄率は、AS- ^{14}C 群および AS- ^{14}C +CM 群で、それぞれ、投与量の約 23 および 30% に達した。両

Fig. 4. Gaschromatograms of Methylated Plasma Metabolites in Mice after Oral Administration of 15 mg/kg of Aspirin- ^{14}C (A) and Methylated Authentic Samples(B)

s-1: aspirin, s-2: salicylic acid, s-3: benzoic acid.

Analytical conditions; column: 2% PEG succinate on Chromosorb G 80/100 2 m, column temp.: 90—170° (6°/min), injection port temp.: 250°, N₂ flow rate: 65 ml/min, detector: RID (^{14}C) or FID.

TABLE III. Effect of Chlormezanone(CM) on Concentrations of Plasma Metabolites in Mice after Oral Administration of Aspirin-¹⁴C (AS-¹⁴C)

Time (min)	Groups	Concentrations of plasma metabolites (nmol/g)				
		SA-glucuronide	HHA	GA	AS	SA
5	AS- ¹⁴ C	8.78±2.21	2.88±0.55	3.78±0.90	50.8±7.56	475.7±77.5
	AS- ¹⁴ C+CM	11.1±2.40	3.73±0.71	5.11±1.46	65.0±6.53	607.5±66.2
15	AS- ¹⁴ C	59.0±7.83	3.50±0.60	3.37±0.82	36.3±3.79	569.0±42.0
	AS- ¹⁴ C+CM	82.5±10.5	4.94±0.90	4.62±0.92	50.9±5.21	798.3±58.0 ^{a)}
30	AS- ¹⁴ C	150.0±13.4	7.83±3.61	5.82±2.12	28.2±5.73	664.4±34.9
	AS- ¹⁴ C+CM	158.3±9.04	7.97±3.44	5.94±1.99	29.4±5.09	704.3±39.2
60	AS- ¹⁴ C	159.4±21.6	5.72±1.39	4.17±0.55	17.4±2.08	557.8±50.6
	AS- ¹⁴ C+CM	172.8±17.9	6.17±1.34	4.51±0.42	18.9±1.99	605.5±32.9
120	AS- ¹⁴ C	190.3±16.6	5.03±0.93	3.21±0.49	10.9±2.17	448.8±57.4
	AS- ¹⁴ C+CM	170.9±14.4	4.57±0.93	2.91±0.51	9.76±1.89	405.6±58.4

Mice were given orally 96 mg/kg of AS-¹⁴C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean ± standard error of four mice. SA-glucuronide: salicylic acid glucuronide, HHA: *o*-hydroxyhippuric acid, GA: gentisic acid, AS: aspirin, SA: salicylic acid.

a) Significantly different from AS-¹⁴C ($p < 0.05$).

TABLE IV. Effect of Chlormezanone (CM) on Concentrations of Liver Metabolites in Mice after Oral Administration of Aspirin-¹⁴C (AS-¹⁴C)

Time (min)	Groups	Concentrations of liver metabolites (nmol/g)				
		SA-glucuronide	HHA	GA	AS	SA
5	AS- ¹⁴ C	10.8±3.22	1.05±0.32	1.16±0.31	2.83±0.56	198.0±51.4
	AS- ¹⁴ C+CM	14.2±2.54	1.53±0.31	2.08±0.61	3.88±0.50	251.6±22.1
15	AS- ¹⁴ C	51.7±7.22	1.91±0.18	2.14±0.88	4.68±0.96	328.6±29.8
	AS- ¹⁴ C+CM	60.1±7.69	2.45±0.42	2.25±0.39	5.30±0.64	397.8±32.9
30	AS- ¹⁴ C	86.9±3.06	3.67±1.36	2.78±0.78	5.43±2.55	349.0±26.7
	AS- ¹⁴ C+CM	109.7±10.1	5.19±2.55	3.78±1.45	6.78±2.88	437.5±36.1
60	AS- ¹⁴ C	138.6±13.4	5.47±0.75	5.27±0.43	6.67±1.49	260.2±14.7
	AS- ¹⁴ C+CM	138.8±13.6	4.65±0.70	3.55±0.34	7.08±1.37	474.9±26.0 ^{a)}
120	AS- ¹⁴ C	140.8±59.3	0.93±0.31	0.63±0.18	1.53±0.36	292.2±76.6
	AS- ¹⁴ C+CM	165.3±41.5	4.08±1.03 ^{a)}	2.83±0.93	9.90±2.99 ^{a)}	361.1±65.9

Mice were given orally 96 mg/kg of AS-¹⁴C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean ± standard error of four mice. SA-glucuronide: salicylic acid glucuronide, HHA: *o*-hydroxyhippuric acid, GA: gentisic acid, AS: aspirin, SA: salicylic acid.

a) Significantly different from AS-¹⁴C ($p < 0.05$).

群間で比較すると、AS-¹⁴C+CM 群の尿中排泄率は投与後 15—120 min で AS-¹⁴C 群の排泄率を上回り、投与後 15 および 60 min では有意に増大しており、CM の併用による AS-¹⁴C の吸収量の増加を反映していた。

代謝産物の同定 (Fig. 3, 4)

尿の薄層クロマトグラムの 1 例を Fig. 3 に示した。クロマトグラム上には、5 個の放射性スポットが認められ、オートラジオグラムより各々が単一であることが判明したので、分離用 TLC により M-I から M-V を分離し、メタノールで溶出して各分画を得た。クロマトグラム上で M-I, M-II, M-III および M-IV は、それぞれ、標準品の SA, AS, GA, HHA と *R_f* 値が完全に一致した。そこで、M-I, M-III および M-IV について逆同位体希釈分析を行った。すなわち、M-I は SA とメタノールから、M-III は GA と蒸留水から、M-IV は HHA と蒸留水から、それぞれ再結晶をくり返した。その結果、いずれも結晶の比放射能は一定となり、得られた結晶の比放射能から、M-I, M-III および M-IV 中 ¹⁴C の 90,100 および 85% が、それぞれ、SA, GA および HHA

TABLE V. Effect of Chlormezanone (CM) on Concentrations of Kidney Metabolites in Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (AS- ^{14}C)

Time (min)	Groups	Concentrations of kidney metabolites(nmol/g)				
		SA-glucuronide	HHA	GA	AS	SA
5	AS- ^{14}C	27.6 $\pm$ 3.02	24.4 $\pm$ 5.27	1.59 $\pm$ 0.09	4.02 $\pm$ 0.75	117.4 $\pm$ 16.8
	AS- ^{14}C +CM	29.1 $\pm$ 4.78	35.5 $\pm$ 2.87	2.23 $\pm$ 0.30	4.20 $\pm$ 0.65	168.7 $\pm$ 13.1
15	AS- ^{14}C	53.4 $\pm$ 11.8	51.2 $\pm$ 8.30	2.18 $\pm$ 0.45	8.30 $\pm$ 1.88	172.8 $\pm$ 39.5
	AS- ^{14}C +CM	66.7 $\pm$ 9.16	91.2 $\pm$ 9.39 ^{a)}	5.38 $\pm$ 0.57 ^{a)}	8.05 $\pm$ 0.73	256.6 $\pm$ 31.1
30	AS- ^{14}C	80.2 $\pm$ 7.97	48.6 $\pm$ 12.6	3.47 $\pm$ 0.52	7.59 $\pm$ 0.60	247.3 $\pm$ 30.0
	AS- ^{14}C +CM	87.0 $\pm$ 4.81	78.9 $\pm$ 2.60	4.28 $\pm$ 0.46	8.03 $\pm$ 1.98	272.0 $\pm$ 16.1
60	AS- ^{14}C	114.3 $\pm$ 3.87	58.5 $\pm$ 2.67	2.83 $\pm$ 0.41	7.42 $\pm$ 1.54	163.6 $\pm$ 16.9
	AS- ^{14}C +CM	224.9 $\pm$ 38.4 ^{a)}	137.8 $\pm$ 15.9 ^{a)}	3.93 $\pm$ 0.35	10.5 $\pm$ 1.72	191.1 $\pm$ 25.9
120	AS- ^{14}C	86.6 $\pm$ 13.5	52.1 $\pm$ 4.35	2.36 $\pm$ 0.68	3.20 $\pm$ 0.62	162.6 $\pm$ 9.94
	AS- ^{14}C +CM	203.3 $\pm$ 23.3 ^{a)}	109.5 $\pm$ 7.91 ^{a)}	7.45 $\pm$ 4.42	6.45 $\pm$ 1.14 ^{a)}	166.9 $\pm$ 31.8

Mice were given orally 96 mg/kg of AS- ^{14}C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean $\pm$ standard error of four mice. SA-glucuronide: salicylic acid glucuronide, HHA: *o*-hydroxyhippuric acid, GA: gentisic acid, AS: aspirin, SA: salicylic acid.

a) Significantly different from AS- ^{14}C ($p < 0.05$).

TABLE VI. Effect of Chlormezanone (CM) on Concentrations of Brain Metabolites in Mice after Oral Administration of Aspirin- ^{14}C (AS- ^{14}C)

Time (min)	Groups	Concentrations of brain metabolites(nmol/g)				
		SA-glucuronide	HHA	GA	AS	SA
5	AS- ^{14}C	1.00 $\pm$ 0.28	0.17 $\pm$ 0.05	0.16 $\pm$ 0.06	0.53 $\pm$ 0.10	25.8 $\pm$ 2.40
	AS- ^{14}C +CM	1.35 $\pm$ 0.33	0.12 $\pm$ 0.03	0.23 $\pm$ 0.05	0.50 $\pm$ 0.09	29.3 $\pm$ 2.09
15	AS- ^{14}C	1.56 $\pm$ 0.27	0.33 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.08	1.78 $\pm$ 0.14	96.5 $\pm$ 27.1
	AS- ^{14}C +CM	2.65 $\pm$ 0.45	0.25 $\pm$ 0.06	0.26 $\pm$ 0.13	1.48 $\pm$ 0.79	109.2 $\pm$ 24.4
30	AS- ^{14}C	2.75 $\pm$ 0.43	0.43 $\pm$ 0.09	0.70 $\pm$ 0.07	1.68 $\pm$ 0.42	125.7 $\pm$ 3.27
	AS- ^{14}C +CM	3.18 $\pm$ 0.40	0.40 $\pm$ 0.14	0.70 $\pm$ 0.44	1.95 $\pm$ 0.34	118.2 $\pm$ 11.1
60	AS- ^{14}C	2.30 $\pm$ 0.74	0.38 $\pm$ 0.10	0.35 $\pm$ 0.16	1.60 $\pm$ 0.35	96.0 $\pm$ 15.6
	AS- ^{14}C +CM	3.80 $\pm$ 0.88	0.60 $\pm$ 0.07	0.55 $\pm$ 0.15	1.03 $\pm$ 0.18	103.8 $\pm$ 5.55
120	AS- ^{14}C	2.53 $\pm$ 0.33	0.50 $\pm$ 0.12	0.60 $\pm$ 0.07	1.98 $\pm$ 0.43	72.6 $\pm$ 3.40
	AS- ^{14}C +CM	4.88 $\pm$ 1.69	0.60 $\pm$ 0.20	0.62 $\pm$ 0.38	1.40 $\pm$ 0.42	52.1 $\pm$ 7.98

Mice were given orally 96 mg/kg of AS- ^{14}C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean $\pm$ standard error of four mice. SA-glucuronide: salicylic acid glucuronide, HHA: *o*-hydroxyhippuric acid, GA: gentisic acid, AS: aspirin, SA: salicylic acid.

であることが確認された。また、M-I および M-II については、Fig. 4 に示したように、血漿抽出物をメチル化後安息香酸メチル- ^{14}C を内部標準物質として加え、ラジオガスクロマトグラフィーを行った結果、標準品の retention time との一致から、M-I および M-II は、それぞれ、SA および AS であることが確認された。M-V は、 β -glucuronidase およびアルカリ加水分解により容易に SA を生ずることから SA の acylglucuronide であると推定された。AS- ^{14}C から生成する代謝産物は、AS- ^{14}C 群と AS- ^{14}C +CM 群で同一であった。

代謝に与える CM の効果 (Tables III, IV, V, VI, VII)

i) 血漿および組織内代謝産物 血漿、肝、腎および脳内代謝産物についての成績を、それぞれ、Tables III, IV, V および VI に示した。血漿および組織内には、未変化の AS およびその代謝産物としての SA, SA-glucuronide, HHA, GA が、AS- ^{14}C 群および AS- ^{14}C +CM 群のいずれにおいても認められた。両群の代謝産物の消長については、血漿中では、投与後 5 min で未変化体が全体の約 10% 存在し、経時的に代謝産物の濃度が上昇

TABLE VII. Effect of Chlormezanone (CM) on Urinary Excretion of Metabolites in Mice after Oral Administration of Aspirin-¹⁴C (AS-¹⁴C)

Time (min)	Groups	Urinary excretion of metabolites (% of dose)				
		SA-glucuronide	HHA	GA	AS	SA
30	AS- ¹⁴ C	0.92±0.12	0.52±0.17	0.18±0.05	0.21±0.06	1.93±0.50
	AS- ¹⁴ C+CM	1.62±0.11 ^{a)}	1.08±0.03 ^{a)}	0.25±0.03	0.17±0.05	1.55±0.12
60	AS- ¹⁴ C	4.66±0.83	2.24±0.29	0.45±0.06	0.50±0.06	5.04±0.59
	AS- ¹⁴ C+CM	6.69±0.56	3.65±0.46 ^{a)}	3.35±0.46 ^{a)}	0.52±0.06	4.32±0.26
120	AS- ¹⁴ C	10.83±2.46	3.96±1.13	1.24±0.55	1.00±0.29	5.75±1.33
	AS- ¹⁴ C+CM	13.41±1.41	6.51±0.29 ^{a)}	3.59±0.59 ^{a)}	0.76±0.14	5.94±1.20

Mice were given orally 96 mg/kg of AS-¹⁴C with or without 24 mg/kg of CM. Each figure represents the mean ± standard error of seven mice. SA-glucuronide: salicylic acid glucuronide, HHA: *o*-hydroxyhippuric acid, GA: gentisic acid, AS: aspirin, SA: salicylic acid.

^{a)} Significantly different from AS-¹⁴C ($p < 0.05$).

した。肝では血漿と比較して、AS 濃度は投与後 5 min から低く、SA および SA-glucuronide の濃度が経時的に上昇した。腎においても、肝と同様の傾向が認められたが、HHA 濃度は、肝と比較して腎ではより高値を示した。脳内では、全時間を通じて存在する代謝産物の大部分が SA であり、未変化体および SA 以外の代謝産物は低濃度であった。

代謝産物を両群間で比較すると、血漿中代謝産物の濃度は、AS-¹⁴C 群より AS-¹⁴C+CM 群で若干高い傾向を示し、投与後 15 min の SA 濃度は AS-¹⁴C 群と比較して AS-¹⁴C+CM 群で有意に上昇していた。肝内代謝産物濃度は、血漿中代謝産物で認められたと同様の傾向を示し、投与後 60 min の SA 濃度ならびに投与後 120 min の HHA, AS 濃度が AS-¹⁴C+CM 群で有意に上昇していた。さらに腎内代謝産物濃度においても、AS-¹⁴C 群より AS-¹⁴C+CM 群で高濃度が認められ、投与後 15 min の HHA および GA 濃度、60 min の SA-glucuronide および HHA 濃度ならびに 120 min の SA-glucuronide, HHA および AS 濃度に両群間で有意差が認められた。しかしながら、血漿、肝、腎内代謝産物の存在比には、両群間で有意差が認められないことから、AS-¹⁴C+CM 群における代謝産物濃度の上昇は、全放射能濃度の上昇を反映するものであった。一方、脳内代謝産物濃度には、両群間で差異は認められなかった。

ii) 尿中代謝産物 尿中代謝産物についての成績を Table VII に示した。尿中代謝産物としては、両群ともに、AS および 4 種の代謝産物が検出された。両群間で比較すると、SA-glucuronide, HHA および GA の排泄率が、AS-¹⁴C 群より AS-¹⁴C+CM 群で大きい傾向が認められた。すなわち、投与後 30 min の SA-glucuronide および HHA, 60 min 後の HHA および GA ならびに 120 min 後の HHA および GA の排泄率が、AS-¹⁴C 群と比較して AS-¹⁴C+CM 群で有意に増大していた。AS および SA の排泄率には両群間で有意差は認められなかった。

考 察

薬物の併用による治療法が臨床で盛んに行われるようになるとともに、薬物相互作用に強い関心が寄せられるようになった。薬物相互作用のうち、薬物の生体内運命の各段階における相互作用に関する研究は活発に行われており、多くの成績が報告されている。⁵⁾ 薬物併用時の消化管吸収における相互作用については、併用薬物による吸収阻害⁶⁾ および吸収促進⁷⁾ が報告されている。

5) a) 加藤隆一, 臨床薬理, 7, 415 (1976); b) 中井健五, 臨床薬理, 7, 429 (1976).

6) S. Consolo, S. Garattini, *Europ. J. Pharmacol.*, 6, 322 (1969); R. Kato, A. Takanaka, K. Onoda, Y. Omori, *Jpn. J. Pharmacol.*, 19, 331 (1969); S. Consolo, P.L. Morselli, M. Zaccala, S. Garattini, *Europ. J. Pharmacol.*, 10, 239 (1970); J.P. Morgan, G. Nathan, L. Rivera-Calimlim, N. Trabert, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 192, 451 (1975).

7) a) G.N. Volans, *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, 2, 57 (1975); b) G. Levy, M. Gibaldi, J.A. Procknal, *J. Pharm. Sci.*, 61, 798 (1972); D.O. Gibbons, A.F. Lant, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 17, 578 (1975).

本研究においては、AS と CM を併用することにより、AS の胃内残存率が AS 単独投与時と比較して低下する傾向を示し、これと相関して血中濃度が投与後 15 min で有意に上昇し、ピークに達する時間も短縮していた。さらに、肝、腎などの組織内濃度が、AS 単独投与時と比較して CM 併用群で有意に上昇する傾向を示し、尿中排泄率も有意に増大していた。これらの成績は、CM の併用により AS の吸収が促進され、体内への分布量が増大されることを示しており、著者らがすでに報告した AS と CM の併用時に認められる鎮痛作用の相乗的増強効果⁴⁾を代謝面から裏付ける成績であると思われる。

併用薬物の吸収を変える要因としては、胃排出速度 (GER) が重要視されている。^{5a)} GER は、胃内 pH の上昇により促進され、pH の低下により抑制され、胃平滑筋の緊張度により変化することが報告されている。⁸⁾ CM と同様に静穏筋弛緩作用を有する diazepam は、胃酸分泌抑制により胃内 pH を上昇させ、同時投与した phenytoin の血漿中濃度を有意に上昇させると報告されている。⁹⁾ さらに、Volans は、偏頭痛による GER の抑制が惹起した AS の吸収遅延が GER 促進作用を有する metoclopramide の投与により回復することを報告している。^{7a)} これらの成績および CM が diazepam と同様の静穏筋弛緩作用を発揮することを考えると、CM による AS の吸収促進が GER の促進により誘起される可能性が示唆される。

血漿、組織および尿中代謝産物を定量的に検索し、AS の代謝におよぼす CM の影響を検討した。血漿および組織内代謝産物濃度ならびに尿中代謝産物の排泄率には、CM 併用による AS の吸収量の増加を反映した変化が認められた。しかしながら、いずれにおいても代謝産物の存在比には、AS 単独投与群と CM 併用群との間で有意差が認められないことから、phenobarbital による代謝促進¹⁰⁾ および desipramine による代謝阻害¹¹⁾ といったような代謝における併用効果は、AS と CM の併用時には認められないと考えられる。

以上のように、AS のマウス体内動態におよぼす CM の影響を検討した結果、CM は AS の吸収促進により体内分布量を増加させることが明らかとなり、この体内分布量の増加が AS と CM の併用時に認められる鎮痛作用の相乗的増強効果の一因となると推定された。

謝辞 終わりに、本研究に御協力戴いた第一製薬株式会社研究所代謝分析研究センター 橋本文男氏に感謝する。

8) 松沢 兌, 武田薬報, 1973, 56.

9) L.S. Goodman, A. Gilman, eds., "The Pharmacological Basis of Therapeutics," 5th ed., Macmillan Publishing Co., Inc., New York, 1975.

10) 赤木満洲雄, "薬物代謝の生化学," 南山堂, 東京, 1965, p. 281.

11) S.-J. Liu, R.I.H. Wang, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 195, 94 (1975).