

目的: 5薬剤 (ワルファリン、ZK253 (Schering)、ジアゼパム、ミダゾラム、およびエリスロマイシン) をマイクロドーズあるいは薬理学的用量で投与した際の薬物動態を比較するために、ボランティアに対する試験を実施した。それぞれの化合物は、動物実験あるいは *in vitro* の試験 (あるいはその双方) によって薬物動態を予測することに問題があった、あるいはあるだろうと思われるものを代表するために選択されたものである。

方法: 交差試験のデザインにおいて、ボランティアに次のものを投与した。(1)放射性炭素 (炭素 14) で標識した 5 つの化合物のうちのいずれか1つをマイクロドーズとして(100 μ g)。(2)別の機会に、 14 C 標識した同じ化合物を治療量で。(3)ZK253、ミダゾラム、およびエリスロマイシンに関しては 14 C 標識したマイクロドーズの静脈内投与と治療量の経口投与を同時に。血漿中の 14 C 標識した薬剤の分析は HPLC そして次に加速器質量分析によって行った。治療量の ZK253、ミダゾラム、エリスロマイシンの血漿中濃度の測定には液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析を用い、ワルファリンおよびジアゼパムの濃度測定には HPLC-加速器質量分析を用いた。

結果: ジアゼパム、ミダゾラム、および開発中の化合物 ZK253 に関してはマイクロドーズと治療量の薬物動態に良好な一致が認められた。ジアゼパム(100 μ g の場合、半減期 $[t_{1/2}]$ 45.1 時間、クリアランス[CL]1.38 L/時間、および分布容積[V]90.1 L、10 mg の場合、 $[t_{1/2}]$ 35.7 時間、[CL]1.3 L/時間、および[V]123 L)、ミダゾラム (100 μ g の場合、 $[t_{1/2}]$ 4.87 時間、[CL]21.2 L/時間、[V]145 L、および経口バイオアベイラビリティ[F]0.23、7.5 mg の場合、 $[t_{1/2}]$ 3.31 時間、[CL]20.4 L/時間、[V]75 L、および[F]0.22)、ZK253 (100 μ g、50 mg のいずれの場合も $F < 1\%$)。ワルファリンに関してはクリアランスがかなり良好に予測された (100 μ g の場合 0.17 L/時間、5 mg の場合 0.26 L/時間) が、分布容積に関して認められた不一致 (100 μ g の場合 67 L、5 mg の場合 17.9 L) はおそらく、親和性が高くキャパシティーの低い組織結合の結果であった。エリスロマイシンの経口マイクロドーズは、おそらく胃内の酸により不安定となった結果、血漿中濃度が検出可能レベルとならなかった。調査を行った 3 種類の化合物の絶対的バイオアベイラビリティは、文献のデータや社内で得られているデータに非常によく一致した。

結論: 概して、適切に利用すれば、マイクロドージングは早期における薬剤候補の選択に役立つ可能性がある (Clin Pharmacol Ther 2006;80:203-14.)。

満たされていない医療ニーズに対する治療を行う新規薬剤は非常に重要であるが、残念

なことにこの20年の間に開発コストは次第に上昇し、その一方販売承認を得る新規薬剤の数は歴史的に低いレベルに低下している^{1,2}。この状況はアメリカ食品医薬品局が薬剤開発における問題点を強調する文書として「クリニカル・パス」を公表し、現在の薬剤開発におけるパラダイムに新たなアプローチを取り込むことを奨励するほどに深刻になってきている³。

薬剤の重要な特性のひとつとしてその薬物動態（PK）プロフィールがある。それが十分に解明されないとその化合物の実用性は大幅に制限されてしまう。過去10年間から15年間にわたり、動物実験、*in vitro* 試験、コンピューター上でのモデルの組み合わせを根拠にしてヒトでの薬物動態を予想することに関して多くの改善がなされてきたにもかかわらずいまだに失敗は起きている。

費用のかかる通常のフェーズ1安全性プログラムを行う前にヒトにおけるPK情報を得るための、大型の物理学的装置を使った新たなアプローチが提案されている。これはヒトに対するフェーズ0のマイクロドージングとして知られている⁴。マイクロドージング試験では、薬理学的用量よりも低い微量の薬剤をヒト被験者に投与してPKデータを得る。このアプローチは欧州医師会⁵そして最近ではアメリカ食品医薬品局⁶からの指針書のテーマとなっている。いずれの書類も、ヒトでマイクロドージング試験を行う前に行うべき一連の安全性試験を軽減することを許可している⁷。

薬理学的投与量の薬物動態をマイクロドーズから予測する上での懸念を評価するため、われわれは5つの化合物についてヒトボランティアにて両用量における薬物動態を比較した。このうち4種類は市販薬であり、1種類は不適当なPK特性のために開発中に却下されたものであった⁸。それぞれの化合物は、非臨床データからヒトでの薬物動態を予測することに問題があると考えられるかもしれない状況を代表するために選択されたものである。マイクロドーズでの投与後に予想される低い血漿中濃度を定量するためには、加速器質量分析（AMS）という超高感度の分析技術が使われた。AMSは放射性炭素（炭素14）により標識した同位体標識薬剤の投与を必要とする同位体比技術である⁹。

マイクロドージングはこれまでにイヌにおいて研究が行われており¹⁰、総論の一部としてヒトでのマイクロドージングの報告もある⁴。ヒトでのマイクロドージングは組織分布との関連でポジトロン放出断層撮影法を利用して行われたことがあるが、古典的な薬物動態との関連で行われた研究はない¹¹。この報告ではマイクロドーズと治療量における薬物動態を比較したヒトでの初めての包括的試験を紹介する。

方法

試験物質および試薬。ジアゼパムは Centrafarm(オランダ、ロッテルダム)より供与され、ミダゾラムは Hameln Pharmaceuticals(ドイツ、ハーメルン)から供与された。 $[^{14}\text{C}]$ ジアゼパムおよび $[^{14}\text{C}]$ ミダゾラム(いずれも比放射能 2.0 GBq/mmol、放射性純度 99.5%)は F.Hoffmann-La Roche(スイス、バーゼル)から供与された。ZK253 および $[^{14}\text{C}]$ ZK253(比放射能 1.9 GBq/mmol、放射性純度>98%)は Schering(ドイツ、ベルリン)から供与された。ワルファリンは Bristol-Myers Squibb(ニューヨーク州、ニューヨーク)からナトリウム凍結乾燥粉末として、 $[^{14}\text{C}]$ ワルファリン(比放射能 2.07 GBq/mmol、放射性純度 99.8%)は Amersham Biosciences(英国、バッキンガムシャー)より入手した。エリスロマイシンは経口投与用の懸濁液を作成するためのエリスロシン-ES250 顆粒および静脈内投与用のエリスロシン粉末として Abbott(アボット)(オランダ、ホープトドルフ)から供与された。 $[^{14}\text{C}]$ エリスロマイシン(比放射能 1.9 GBq/mmol、放射性純度 >99%)は Metabolic Solutions(ニューハンプシャー州、ナシユア)より入手した。静脈内投与用の非標識化合物は無菌状態で提供された。静脈内投与用の ^{14}C 標識された化合物はろ過(孔径 0.22 μm)によって滅菌した。すべての化合物は HPLC 級あるいは同等のものであった。

用量調整および投与。臨床試験は Pharma Bio-Research(オランダ、ツイドラーレン)によって行われた。50 mL の生理食塩水(ジアゼパムおよびミダゾラム)あるいは 5% (wt/vol)ブドウ糖(ZK253 およびエリスロマイシン)に溶解した被検物質からなる静脈内投与液は 30 分以上の時間をかけて注入した。経口投与は、50 mL の懸濁液として調整された治療量(250 mg)のエリスロマイシンの場合を除き、50 mL(ZK253 に関しては 25 mL)の水に溶解した被検物質とした。経口用量は全量をできるだけ早く約 2 分以内に、追加の 150 ml の水とともに飲み込んだ。ボランティア一人当たりの総放射能用量は 7.4 KBq(200 nCi)であった。体重によって決まる実際に投与された用量は、マイクロドーズと治療量に関してそれぞれ以下のとおりである。ワルファリン 97.4 μg (SD, 6 μg) および 5.3 mg(SD, 74 μg)、ZK253 102.1 μg (SD, 5.7 μg) および 50.0 mg、ジアゼパム 96.0 μg (SD, 1.7 μg) および 10.0 mg(SD, 41.7 μg)、ミダゾラム 95.4 μg (SD, 2.9 μg) および 7.5 mg、エリスロマイシン 96.1 μg (SD, 2.8 μg) および 250 mg。

非特異的結合。投与器具に対するマイクロドーズの非特異的結合は投与前に評価した。

模擬投与調整液を投与器具に流し、液体シンチレーション計測法で放射能の回収率を測定した。回収率は90%以上であった。

ボランティア。24名の男性(年齢18~55歳)および6名の閉経後の女性(年齢45~80歳)の30名の被験者を本試験に登録した。全員ともBMIは18~30 kg/m²の範囲であり、一日あたりの喫煙本数は10本以下であり、試験中は禁煙をした。薬物乱用に関する検査結果は陰性であり、投与前5日以内に具合の悪い者はいなかった。この試験は独自の倫理的承認を受けており、すべての被験者にはヘルシンキ宣言(1964)に定められたとおりインフォームドコンセントを行った。ボランティアは薬剤の投与を受ける前の一晚、絶食をした。無作為化クロスオーバーデザインで6名の被験者がそれぞれの被検物質の一用量の投与を受けた(表I)。それぞれの投与の間隔は少なくとも14日間空けた(ウォッシュアウト期間)。男性はZK253以外のすべての薬剤の投与を受けた。ZK253は女性被験者のみが投与を受けた。用いられた放射能レベルはきわめて低く、本試験ではヒトボランティアへの投与に関する規制当局の認可は必要ではなかった。

サンプル採取。血液サンプル(10 mL)は、投与の約30分前および投与後一定時間の間(時間はその薬剤に関して知られている治療量での薬物動態に基づいて選択された)、留置カテーテルあるいは直接静脈穿刺(ヘパリンナトリウム抗凝固剤)により採取した。毎回血液採取の正確な時間を記録した。静脈内投与に関しては、採血の時間は注入開始からの時間とした。血液サンプルは遠心分離をして血漿を取り、この血漿を-20℃から-80℃で保管し、クリニックからAMS施設へはドライアイス上にて運搬した。

HPLCおよびAMSによる¹⁴C標識親薬剤の測定。AMS分析はXceleron(英国、ヨーク)により行われた。それぞれの親薬剤の濃度は、500 μLの血漿を同量の抽出溶剤で抽出し、その後洗浄溶剤で洗浄して(表II)、HPLC・AMSにより測定した。それぞれの溶剤による抽出後、サンプルを遠心分離し2つの上清を合わせた。合わせた上清の重量を記録した。

抽出効率は、0.5 mLの対照血漿を1分あたりの壊変数が約5000 dpmの¹⁴C標識薬剤でスパイクし、それぞれの方法により抽出して測定した。スパイクした血漿中および抽出液中の放射能はPackard Tricarb 3100TR 液体シンチレーションカウンター(Packard Instrument Co., 英国、バークシャー州、パンボルン)を用いて測定した。抽出効率は92.2%から97.3%の間であった。

すべての血漿サンプルについて親薬剤のHPLC・AMS分析を行った。毎回、100 μLの抽出物をShimadzuあるいはISCO Foxyフラクションコレクター(Cole-Parmer

Instrument Co Ltd、英国、ロンドン）とつなげた Shimadzu の HPLC システムに注入した。HPLC の溶離液は 30 秒ごとの連続した分画として回収された。アッセイすべき薬剤に該当する保持時間にわたり、通常 10 から 20 画分が回収された。それぞれの分析で、対応する非放射標識薬剤を当該 HPLC システム（後に考察する）に同時注入し、該当する保持時間に相当する分画をプールし、AMS で単一サンプルとして分析した（通常 3~5 サンプルをプールした）。AMS により測定されたこの分画中の放射能を、サンプル中の親薬剤の濃度算出に用いた。略してこの方法を HPLC-AMS と呼ぶ。さらに、選択したサンプルに関しては、親サンプルの領域のそれぞれの分画を分析してクロマトグラムを再構成し、目的とするピークには親薬剤のみが存在し想定される代謝産物が共溶出していないことを確認した。

それぞれの薬剤の血漿中濃度は次の HPLC 条件を用いて測定した。ワルファリンに関しては、Waters Xterra MS C18 カラム（4.6 × 250 mm、孔径 5 μm、40°C）（Waters、英国エルズトリー）を用い、水に 0.1% (vol/vol) トリエチルアミン・メタノール溶液を加えた溶出液（8 : 1 [vol:vol]）を流速 1 mL/分で流して定組成溶出した。ZK253 に関しては、Luna C18 カラム（2 × 100 mm、孔径 3 μm、25°C）（Phenomenex、カリフォルニア州、トーランス）を用い、0.1% (vol/vol) 酢酸水溶液からなる A 液と 0.1% (vol/vol) 酢酸・アセトニトリル溶液からなる B 液を、85%A+15%B から 5%A+95%B まで 20 分間の直線勾配となるように流速 0.3 mL/分で流して溶出した。ジアゼパムに関しては、Waters Symmetry Shield RP18 カラム（4.6 × 100 mm、孔径 3.5 μm、40°C）を用い、0.002% (vol/vol) のトリエチルアミンを含む 0.33% (vol/vol) 含水酢酸からなる A 液と 0.002% (vol/vol) トリエチルアミン・メタノール溶液からなる B 液を、13.5 分間は 49%A+51%B で、その後 5%A+95%B まで 10 分間の直線勾配となるように流速 1 mL/分で流して溶出した。ミダゾラムに関しては Waters Xterra MS C18 カラム（4.6 × 250 mm、孔径 5 μm、40°C）を用い、アセトニトリルと 0.01 mol/L 酢酸アンモニウム水溶液の混合液（1 : 1 [vol:vol]）を流速 1 mL/分で流して定組成溶出した。最後にエリスロマイシンに関しては Waters Xterra MS C18 カラム（40°C）を用い、アセトニトリル:2 mol/L 酢酸アンモニウム(pH 7) : 水を 7:1:12 で混合した溶出液を流速 1 mL/分で流して定組成溶出した。

AMS 分析のためのサンプル調整。Vogel と Turteltaub¹² の方法に従って HPLC 分画を「黒鉛化」した。HPLC 分画に加え、5~7 mg の ANU ショ糖、2~3 mg の黒鉛、そして 2.5 μL の液体パラフィンコントロールを同じ方法で黒鉛化した。ANU は認可された AMS

標準物質であり、黒鉛はネガティブコントロール（すなわち ^{14}C 欠乏）であった。液体パラフィン⁹は炭素担体として用いられ、これも黒鉛同様 ^{14}C 欠乏であった。各バッチ（合計134）のサンプル（「AMS分析」のセクション参照）に少なくとも ANU を4つ、黒鉛を2つ、液体パラフィンを5つ含めた。分析バッチは4つの ANU のうち3個が現代炭素%で 150.61 ± 22 (pMC) であり、黒鉛が8 pMC 以下であり、5つの液体パラフィンのうち3つが8 pMC であったときに測定がうまくいったと考えた (pMC は「AMS データ処理」のセクションで定義する)。

AMS 分析。黒鉛を含むカソードを5-MV タンデム・ペレトロン AMS 装置 (National Electrostatics、ウィスコンシン州マジソン) のイオン源に設置した。AMS 分析の条件はこれまで報告されているものと同一にした¹³。

AMS データ処理。HPLC-AMS のデータから得られた結果を用いて、その比放射能から、分画プールごとの毎分崩壊率 (dpm) と血漿 1 ml 中の薬剤ナノグラム数を算出した。AMS の結果は pMC として表示したが、 $100 \text{ pMC} = 98 \text{ fmol } ^{14}\text{C/g}$ 炭素、あるいは $0.1356 \text{ dpm } ^{14}\text{C/g}$ 炭素⁹ である。サンプルの容量あたりの放射能単位に換算する際には、サンプル中の炭素パーセント (用いた担体 $2.5 \mu\text{L}$ 中に 84.17% の炭素が含まれることに基づく) は次の計算式を用いて求められる。 $\text{dpm } ^{14}\text{C/mL} = (\text{dpm } ^{14}\text{C/g 炭素}) \times (\text{担体中の炭素の割合 } \% \text{ wt/vol})$ 。血漿中の親薬剤の濃度は HPLC 分画中の濃度、血漿抽出物の重量、および抽出された血漿量から算出した。

液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析。液体クロマトグラフィー (LC)-タンデム質量分析 (MS/MS) による分析は Xendo Laboratories (オランダ、ライデン) により検証された方法を用いて行われた。この方法では精度、正確度、直線性も決定される。治療量投与後における血漿中親物質濃度の LC-MS/MS 分析は、ZK253、ミダゾラム、エリスロマイシンに関して、Applied Biosystems API 3000 LC-MS/MS システム (カリフォルニア州、フォスターシティ) を用いて、ポジティブイオン化モードでマルチプルリアクションモニタリングにて行った。典型的な LC-MS/MS 条件は次の通りである。噴霧ガス (窒素) は 250°C で流速 8 L/分 。窒素は衝突セル内で使用した。MS/MS は Agilent Technologies HPLC システム (オランダ、アムステルフェーン) と連結した。

ZK253 の分析においては、 $25 \mu\text{L}$ のメタノール-水混合液 (1:1 [vol/vol]) と $20 \mu\text{L}$ の 85% (vol/vol) オルトリン酸を添加した血漿 ($500 \mu\text{L}$) を、Oasis カラム (Waters) にロードした。このカラムは 1 mL のメタノール、そして次に 1 mL の水でコンディショニング

した後、1 mLのメタノール/水 (1:19[vol/vol]) で洗浄したものである。ZK253 は1 mLのメタノールで溶出した。HPLC分離は Zorbax SB C8 カラム (2.1 × 50 mm、孔径 5 μm、30°C) (Agilent Technologies) を用いて行い、溶出は 10 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 5.0) (A 液)とメタノール (B 液) を用い、0.5 分間は 50%A+50%B で、その後 5%A+95%B まで 2.5 分間の直線勾配となるように流速 0.3 mL/分で流して行った。ZK253 関連化合物である ZK208819 を内部標準として用い、ZK253 は質量電荷比(m/z)の変化 692.3→334.1 を用いて測定した。

ミダゾラムは 100 μL の血漿に 10 μL のメタノール/水 (1:1[vol/vol]) および 100 μL の 0.7 mol/L 重炭酸ナトリウム (pH 9.6) を添加した後、3 mL のジエチルエーテルで抽出した。このジエチルエーテルを蒸発させ、残渣を 200 μL の水/アセトニトリル (1:1[vol/vol]) に再溶解した。分離は Zorbax SB フェニルカラム (150 × 3 mm、孔径 3.5 μm、60°C) (Agilent Technologies) を用いて行い、溶出は 10 mmol/L ギ酸アンモニウム (pH 5.0) (A 液)とアセトニトリル (B 液) を用い、1 分間は 70%A+30%B で、その後 10%A+90%B まで 1 分間の直線勾配となるように流速 0.5 mL/分で流して行った。ミダゾラム-d4 を内部標準として用い、ミダゾラムは m/z の変化 326.2→291.0 を用いて測定した。

エリスロマイシンは 250 μL の血漿に 25 μL のメタノール/水 (1:1[vol/vol]) および 30 μL の 1 mol/L の重炭酸ナトリウムを添加した後、1 mL の n-ヘキサン/酢酸エチル (1:1[vol/vol]) で抽出した。この n-ヘキサン/酢酸エチルを蒸発させ、残渣を 100 μL の水/アセトニトリル (1:4[vol/vol]) に再溶解した。分離は Synergi MAX 80A カラム (50 × 2 mm、孔径 4 μm、30°C) (Phenomenex、英国、マックルズフィールド) を用いて行い、溶出は 5 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 3.0) (A 液)とアセトニトリル (B 液) を用い、0.5 分間は 85%A+15%B で、その後 10%A+90%B まで 2.5 分間の直線勾配となるように流速 0.5 mL/分で流して行った。ロキシシロマイシンを内部標準として用い、エリスロマイシンは m/z の変化 734.4→158.1 を用いて測定した。

検出限界。AMS 分析の検出限界 (LOD) は、投与前の血漿サンプルの分析と、親化合物の保持時間に相当する画分中の ¹⁴C の測定により導き出した⁹⁾。各投与レジメンごとに被験者全体の平均値を 2 倍したものを LOD に等しいとみなした (すなわちバックグラウンドの 2 倍)。ZK253 を除き、マイクロドーズの HPLC-AMS における LOD はほぼ 10 pg/mL 血漿であった。この LOD は親化合物のピークの時間にわたってプールした画分に基づいて求められたものであり (「HPLC および AMS による、¹⁴C 標識した親薬剤の測定」

のセクション参照)、日常的に用いられる LOD と考えることができた。すなわち過度の方法開発やピーク最適化が不必要（親薬剤を潜在的代謝物質から分離する上でピーク解像度は重要であるが）であるということである。ZK253 に関しては、経口バイオアベイラビリティが低く分布容積が大きいことから、より低い LOD が必要であった。この場合 HPLC ピークの形状が最適化され、親ピーク全体のそれぞれの画分の分析が行われ、300 fg/mL 血漿という LOD が導き出された。LC-MS/MS の LOD は検量線から求められ、100 pg/mL 血漿であった。

薬物動態。PK パラメーターは WinNonlin ソフトウェア、バージョン 4.1 (Pharsight, カリフォルニア州、マウンテンビュー) を用い、ノンコンパートメントモデルで算出した。入力情報は血漿中薬剤濃度（ミリリットル中のナノグラム数）、記録されたサンプル採取時間（時間）、投与用量であった。出力情報は、最高濃度、最高濃度到達時間、最終半減期、試験期間中の曲線下面積（AUC）、無限時間まで外挿した AUC（静脈内投与と経口投与の双方に関して）、そして静脈内投与に関してはクリアランスと分布容積であった。AUC は直線および対数線形の台形近似を組み合わせて用いて算出した。経口バイオアベイラビリティは、経口および静脈内投与後の、用量で正規化した AUC 値の比率から通常の方法で算出した。ZK253、ミダゾラム、およびエリスロマイシンに関しては経口と静脈内への同時投与が行われた。経口に関する測定において、静脈内マイクロドーズの影響によって生じた誤差を排除するため、静脈内投与により到達した濃度（HPLC-AMS にて測定）を経口治療量により到達した濃度（LC-MS/MS にて測定）から減算した。経口マイクロドーズ投与後と治療量投与後の PK パラメーターの違いは ANOVA を用いて評価した。

結果

すべての被験者がこの試験を完了し、処置に対する耐容性は良好であった。毎回の投与前に採取した血漿サンプルの放射能濃度に基づき、ワルファリンのわずかな例外を除き（考察のセクション参照）、前回投与からのキャリーオーバーのエビデンスはなかった。

ワルファリン。図 1. A. は、マイクロドーズ(100 μ g)あるいは治療量 (5 mg) 経口投与後の血漿中ワルファリン濃度を時間に対して片対数プロットしたものである。1 つの濃度値のみ異常値として除外した（被験者 1、5 mg 用量の 3 時間目）。血漿中濃度に関する被験者間の変動係数のパーセントはマイクロドーズに関して 31%、治療量に関しては 36% であった。全被験者において最終サンプリング時間（120 時間）における血漿中濃度はい

ずれのアッセイにおいても LOD よりも高い値であった。図 1. B. は図 1. A. に示したものと
同じデータであるが、用量 1 mg で正規化したものである。この後、他の 4 種の化合物に
関するプロットは 2 種類の用量を投与した後の動態をグラフ上で比較しやすくするために、
同様に用量 1 mg で正規化したフォーマットとする。ワルファリンの PK パラメーターを
表Ⅲに要約する。図 1. B. に示すように、初回サンプリング時間（1 時間）と最終サンプリ
ング時間（120 時間）を除き、用量で正規化した濃度に重なりはない。治療量投与後に比
較してマイクロドーズ投与後には、より早期に最大濃度到達時間に達し、その後血漿中濃
度はより急激に低下し、より長時間の最終相を示した。一部の被験者では、マイクロド
ーズ投与後の血漿中濃度の最終相の低下があまりにも遅く、5 日の試験期間で信頼性のある
半減期の推定ができないほどであった。治療量投与後のクリアランスと分布容積の値は、
それぞれ 0.26 L/時間および 17.9 L であった（表Ⅲ）。マイクロドーズ投与に関しては 120
時間までの AUC は 6 名の被験者全員でかなり近似していた（変動係数パーセント、20%）

ZK253。図 2. A. は、50 mg 経口とマイクロドーズ静脈内の同時投与後の、用量で正規
化した血漿中 ZK253 濃度を時間に対して片対数プロットしたものである。濃度データか
ら除外された異常値はなかった。血漿中濃度に関する被験者間の変動係数パーセントはマ
イクロドーズに関して 51%（HPLC・AMS にて測定）、治療量に関しては 59%（LC・MS/MS
にて測定）であった。表Ⅲは静脈投与後の PK パラメーターを列挙したものである。50 mg
が経口で投与されたにもかかわらず、血漿中濃度はこの 120 時間の試験において 16 時間
までに LOD 未満に低下し、経口バイオアベイラビリティーの正確な見積もりに問題が生
じた。しかし 16 時間後には吸収は終わり、静脈内マイクロドーズ後に観察される最終半
減期（72 時間まで LOD よりもかなり高い濃度ではっきりと特徴付けられた）が経口投与
にも当てはまると仮定すると、ZK253 の経口バイオアベイラビリティーは 0.16% 付近であ
る。このように経口バイオアベイラビリティーが非常に低いため、治療量とマイクロド
ーズ投与量には 500 倍もの差があるにもかかわらず、静脈内マイクロド
ーズに関わる血漿中濃度は経口投与後の血漿中濃度のかなりの割合の高さであり、測定され
た経口 AUC の約 30% を占めていることから、経口投与パラメーターを見積もる際には、
経口投与後の測定値から静脈内マイクロドーズの寄与分を減算することが必要となった。

経口マイクロドーズ（100 μ g）投与後の血漿中 ZK253 濃度は全測定点において LOD 未
満であった。図 2. B. は静脈内 100 μ g 用量で得られた、用量で正規化した後の血漿中濃度
を片対数プロットしたものである。経口マイクロドーズの投与後には濃度を測定すること

コメント [MSOffice1]: 「マイ
クロドーズ静脈内」の間違いで
はないかと思っております。

ができず、PKパラメーターは算出できなかった。

ジアゼパム。マイクロドーズ(100 μ g)および10 mgの治療量を静脈内投与した後に得られた、用量で正規化した血漿中ジアゼパム濃度を図3.に示す。1名の被験者にて治療量投与後のHPLC・AMS分析で異常に低い結果が得られ、この値はグループのデータから除外した。血漿中濃度に関する被験者間の変動係数パーセントは、マイクロドーズで約50%、治療量では70%であった。表IIIには対応するPKパラメーターを列挙した。すべてのPKパラメーターはマイクロドーズと治療量の間で非常に近似していた。

ミダゾラム。図4.は、経口で7.5 mgの治療量、静脈内に100 μ gのマイクロドーズを同時に投与した後の、用量で正規化した血漿中ミダゾラム濃度を時間に対して片対数プロットしたものを示している。投与前サンプルの中に1つだけ異常に高い値があり、これはLODの算出から除外したが、それ以外の異常値はなかった。血漿中濃度に関する被験者間の変動係数パーセントはマイクロドーズで約50%、治療量で90%であった。PKに関する情報のまとめを表IIIに列挙した。明らかになることがいくつかある。まず、マイクロドーズ単独で投与しても7.5 mgの経口用量が存在しても、ミダゾラムの静脈内投与後の体内動態には違いがなかったこと。第二に、経口投与に関しても同じことが当てはまり、100 μ g投与後と7.5 mg投与後の、用量で正規化した血漿中濃度は実質的に重なり合う。最後に、経口7.5 mgと静脈内マイクロドーズを同時投与した後に算出した平均経口バイオアベイラビリティと、別々に投与された経口と静脈内マイクロドーズ投与後のAUC比較で求められた経口バイオアベイラビリティを比較すると、同時投与では22%、別投与では23%であった。ZK253の場合は静脈内投与後に得られた血漿中濃度を、相当する7.5 mg経口投与で得られた血漿中濃度から減算した。しかし、ミダゾラムはZK253に比較して経口バイオアベイラビリティが比較的高いことから、静脈内100 μ g投与による血漿中濃度への寄与を減算しても、経口データにはごくわずかな違い(約5%)しか生じなかった。

エリスロマイシン。図5.に片対数プロットを示す。異常値として除外されたのは1データポイントだけである。血漿中濃度に関する被験者間の変動係数パーセントはマイクロドーズに関して85%(HPLC・AMSにて測定)、治療量に関しては90%(LC・MS/MSにて測定)であった。経口治療量と静脈内マイクロドーズの曲線の下がり方には明確な平行性が認められ、いずれもこれらの曲線から14%という経口バイオアベイラビリティ概算値が得られた。しかし用量に2500倍の差があり、エリスロマイシンの経口バイオアベイラ

ビリティーは中等度であることから、250 mg の経口投与後に測定された血漿中濃度の、静脈内マイクロドーズによる補正はごくわずかであった。100 μ g の経口マイクロドーズの結果はすべての被験者においてすべての時点で LOD 未満であった。エリスロマイシンの LOD を表 5 に示す。

考察

この共同研究による試験は AMS を用いたマイクロドーズデータが治療量投与後のヒトでの薬物動態を予測するのに利用可能かどうかを調査するためのものであった。一般的には、PK プロセスの一つあるいはいくつか为非線形であるために予想に失敗し、その結果薬剤を間違えてその後の開発から撤退させてしまうことになるのではないかという懸念がある。第二の目的は絶対的バイオアベイラビリティー評価における、治療量経口投与と静脈内マイクロドーズの同時投与の有用性を調査することであった。この試験のために選択された薬剤は、動物モデルあるいは *in vitro* 試験（あるいはその双方）において、治療量でのヒト薬物動態の予測がうまく行かなかったあるいは合理的に問題の生じることが予想される薬剤の代表である。

マイクロドージングでは、薬理効果や毒性効果の発生や、酵素プロセスの飽和が予想されない。そのため必要とされる非臨床安全性データは、薬理学的用量が投与されるときに必要とされるデータと比較してはるかに少ない。このためヒトでの試験を早期に行うことができ、その化合物にさらに投資をする価値があるかどうかを評価するのに役立つ可能性もある。このような試験では、十分に感度の高い分析技術が利用可能である。しかしマイクロドージングで達する血清中濃度は多くの場合極めて低いことから、フェムトグラムの範囲およびそれ未満の化合物を測定できる AMS が通常使われる。

AMS は全 ^{14}C 、すなわち薬剤と代謝物質の合計量を測定する。親薬剤を測定するために我々は HPLC と AMS を組み合わせた。 ^{14}C 標識化合物の付加的な用途として、放射標識したマイクロドーズの静脈内投与を治療量の経口投与と同時にを行い、2 つのルートで投与された血漿中の薬剤を LC-MS/MS と LC-AMS でそれぞれアッセイすることにより、治療量の経口バイオアベイラビリティーを測定するチャンスが得られる。治療量投与後の LC-MS/MS のデータは文献上のデータと直接比較が可能である。

マイクロドーズの質量は非常に低いことから、経口投与試験で一般的に用いられるように 150~250 mL に通常溶解する。それゆえ経口マイクロドージング試験では、固形の剤

形の化合物の特性ではなく、*in vivo* 溶液の特徴づけを行うことになる。本試験では5種類の被検化合物のうち4種に関しては剤形の影響を最小限にするため、治療量を液体で投与し、マイクロドーズとの直接の比較ができるようにした。例外はエリスロマイシンで、250 mg の治療量が 250 mL に溶けきらなかったため、懸濁液を用いた。

ワルファリンは、クリアランスの低い酸性薬物の代表として選択された。この場合、クリアランスの低い酸性薬物とは、*in vivo* でのクリアランス予測を行うための当該製剤有効期間内に、*in vitro* のヒトミクロソーム系あるいは肝細胞系において固有クリアランスを十分な精度で測定できなかった薬物である。市販のワルファリンはラセミ化合物であるが、2種類の光学異性体の薬物動態は同等である¹⁴ことから、非エナンチオ選択的な特異的アッセイ法を用いた。ワルファリンは治療量で経口投与されると生体内で完全に利用される¹⁴。本試験でもこれが成り立つと仮定すると、5 mg の治療量を投与した後の平均 PK パラメーターは文献値とほぼ同等となる(表IV)。しかし、用量で正規化したマイクロドーズデータは明らかに異なり、血漿中濃度は治療量を投与した後に比較して当初はより迅速に、その後はより緩徐に低下した。残念ながら、予想されていた1.5日の半減期(表IV)に基づいて選択された120時間の試験期間は、マイクロドーズ投与後の特徴づけを完全に行うには十分ではなかった。しかし、6名の被験者のうち3名はマイクロドーズの投与を先に受けたのだが、投与後528時間(22日)すなわち治療量投与直前のサンプル中にはLODの約3倍のワルファリンが認められた。このことから最終半減期は8日と推定された。その結果推定されるクリアランス、0.17 L/時間は、完全な吸収を仮定すれば治療量の場合と同等であり、分布がワルファリンの薬物動態における非線形性の主な原因であることが暗示された(分布容積は治療量の10~18 Lに対し、67 L)。

ワルファリンがアルブミンに結合する場合²¹、アルブミンは治療量で飽和することはないが、投与量によるワルファリン分布の違いを血漿中のタンパク結合に帰することはまったくできない。この解釈はおそらく飽和可能な組織結合という点にあるだろう。この可能性を支持するエビデンスがラットにおけるトレーサーと組織分布の試験により得られている。この試験ではキャパシティーが低く親和性の高いワルファリン結合部位が肝臓内に特定された。ビタミン K2,3-エポキシド還元酵素であり、これが治療標的であろうと考えられている²²。さらにこれらのデータを生理学的根拠に基づくモデルを通してヒトに拡大すると、治療量で観察された50 ng/mL²²よりはるかに高い血漿中濃度プロフィールとマイクロドーズで観察された50 ng/mL未満という血漿中濃度プロフィール(図1. A.)を比較す

るとき、この非線形性が明白になることが示唆される。明らかに前臨床データはヒトでのマイクロドーズデータの解釈の助けになる。

ZK253はScheringの薬剤開発候補薬であり、主に動物でのデータに矛盾があることからヒトでの経口吸収の予測に大きな不確実性のある化合物の代表として試験された（絶対的バイオアベイラビリティがラットで27%、マウスで73%、イヌで5%、サルで0.7%）。Scheringは閉経後の女性ボランティアにおいて経口50 mgあるいは静脈内5 mg用量で投与を行い、絶対バイオアベイラビリティを調査したところ、バイオアベイラビリティが1%未満であることが明らかになり（表IV）、開発プログラムは停止された。以前に行われたこの社内試験と今回のマイクロドーズデータの間には、静脈内薬物動態において非常に良く似た一致が明らかに見られ（図2.C）、組織に広く分布する（分布容積1200L）ZK253の薬物動態は投与量には依存しないことが示唆される。

ZK253の経口マイクロドーズと治療量間の直接の直線性検定は、マイクロドーズ投与後の血漿中濃度がいずれもLOD未満であったことから、行うことができなかった。しかし経口での最高濃度がLOD（300 fg/mL血漿）（方法のセクション参照）であり、16時間持続すると仮定したとしても、ZK253の経口バイオアベイラビリティは1%未満であり、この化合物は採用されなかつただろう。明らかにこの決定に欠かせないのは、静脈内マイクロドーズデータであり、それにより所与の全身投与量に対するreference AUCが得られるのである。ZK253に関する結果はまた、広範に分布する化合物を調べる際には特に、マイクロドージング試験ではAMSのような超高感度分析法が必要であることを浮き彫りにした。

ミダゾラムは、初回通過でチトクロムP450（CYP）3A4/5が触媒する代謝により腸および肝で損失が広範に起きるために、経口バイオアベイラビリティが低い種類の化合物を代表する。腸および肝での代謝が飽和する可能性がかなりあるにもかかわらず、これは起きなかった。経口治療量の存在下で静脈内マイクロドーズの薬物動態に変化が見られなかったこと、経口マイクロドーズと治療量との間に優れた直線性があることがその証拠である。LC-MS/MSを用いて75 µgと7.5 mgの経口投与を比較し投与後のプロフィールを調べたEap et al.²³によっても同様の所見が得られている。

エリスロマイシンはいくつかの理由で選択された。ミダゾラム同様、エリスロマイシンはCYP3Aにより代謝される物質である。しかしその薬物動態はP-糖タンパクなどの輸送体によっても影響を受ける²⁴。共役酵素-排出輸送体の相互作用が、この低い経口バイオ

アベイラビリティーの原因の少なくとも一部を占めていると予想される。エリスロマイシンは吸収の際にプロセスを飽和させるような高用量で治療的に投与されることもある。本試験で報告された14%というエリスロシン・ES(コハク酸エチル)顆粒懸濁液の経口バイオアベイラビリティー推定値はエリスロマイシンに関して報告されている35%²⁵よりもいくらか低い。しかしそのバイオアベイラビリティーは薬剤処方、塩やエステル、そして用量によって著しく変化することから、厳密な比較は不可能である。

なぜエリスロマイシンが経口マイクロドージング後に血漿中で検出できなかったのかは不明である。おそらくこの低用量が吸収されている間にこの化合物のすべてが小腸壁あるいは肝臓で完全に代謝されるのであろう。もちろん、マイクロドーズ投与後に感知可能な血漿中総放射エネルギーがあったことから明らかなように、何らかの薬剤関連物質は吸収されたのである(データは示さず)。この関連するプロセスが部分的に飽和することで、250 mgの治療量で認められたはるかに高い経口バイオアベイラビリティーが説明できるかもしれない。もう一つ可能性として考えられるのは、水溶液中エリスロマイシンのマイクロドーズが酸性の胃内環境によって、最も吸収が行われると考えられる小腸に入る前に相当に分解されるというものである。エリスロマイシンは酸に不安定で、pH 3での分解半減期は15分であるが、pHがそれよりも低い胃内では半減期はさらに短い²⁶。胃を空にした際の溶液の典型的平均半減期が15分である²⁷ということは、小腸に入る前にエリスロマイシンの少なくとも50% (おそらくそれ以上)が加水分解されるであろうことを意味する。治療量の投与では顆粒の剤形が胃でも完全には溶解せず、エリスロマイシンをこのような酸による加水分解から保護したと予想される。マイクロドーズのエリスロマイシンのバイオアベイラビリティー低下の原因とは関係なく、この知見は経口マイクロドージング試験を行うことを計画する際には胃液および腸液中での薬剤安定性評価が必要であることを浮き彫りにする。

本試験からいくつか一般的なポイントが明らかになった。ワルファリンでは見られたが、ZK253、ジアゼパム、ミダゾラムでは見られなかったマイクロドーズと治療量のあいだでの分布容量の顕著な違いは、これらの化合物の機会選択の結果かもしれない。あるいはそれらの基本的な物理化学的特性の違いを反映している可能性もある。ほとんどの酸性薬は通常0.1~0.3 L/kgと分布容量が小さいが、ワルファリンはその酸性薬の典型である。これは、体内で酸が圧倒的にアルブミンに結合することが多いためである。アルブミン自体の分布容積はわずか0.1 L/kgに過ぎない²⁸。このため、親和性が高くキャパシティーが低

い何らかの組織結合があれば、推定分布容量の上昇など血漿中の事象に顕著な影響を与えるであろう。逆に、ジアゼパム、ミダゾラム、そして実際に ZK253 などの最も塩基性の強い化合物は血漿外、特に大量の組織-酸性リン脂質に広範に結合する²⁹。このためたとえ塩基が特異的受容体に結合していたとしても、高親和性かつ低キャパシティーの特異的組織結合部位の飽和は血漿中には容易に反映されないであろう。非常に低い非飽和濃度であっても、ごくわずかな薬剤が体内では受容体に結合しているからである。とはいえ、マイクロドージング試験を行っている際には高親和性かつ低キャパシティーの結合の可能性を薬物動態の非線形性の原因の一つとして心に留めておく必要がある。

ジアゼパムはかなりの組織分布があり、クリアランスが低く、一般的な CYP 酵素の一つ、この場合 CYP2C9 によって広範に代謝される化合物の代表として選択された。固有代謝クリアランスの変化が、観察されるクリアランスに反映され、そして薬理動態にも反映される。この化合物に関しては 100 μ g から 7.5 mg までの用量範囲では薬物動態の直線性が明らかであった。実際にはマイクロドージングを用いる場合、厳密な用量直線性はそれほど重要ではない。それよりも、その結果に基づいて、さらにその化合物の開発を進めることに価値があるのかどうかを正しく判断できることが重要である。広い意味で言えば、たとえいくらか用量非線形性があったとしても、マイクロドージングから得られた結果がその集団内で起こりえる薬物動態の範囲内であるということを知りたいのである。この考え方は生物学的同等性試験に適応されるものと同様であると考えられる。しかしながら、その範囲は生物学的同等性試験で通常用いられる $\pm 20\%$ よりもかなり広範である。

本試験の第一目的ではないが、経口治療量と同時に静脈内への微量放射標識用量を投与することは、この投与量では動態が非線形であっても³⁰、化合物の薬物動態だけでなく、治療量での絶対的経口バイオアベイラビリティを評価するのに有効な方法である。この微量静脈内用量は治療量で到達する照射にほとんど追加分はなく、放射能量はごくわずかであることから、この静脈内投与量に関して安全性試験の必要性は最小限である。このためフェーズ I 試験の早期にこの使用を実施することが可能である。実際、薬理的用量の投与の前に、放射標識マイクロドーズが経口および静脈内に別々の機会に投与されていれば、ミダゾラムで例証されたように、経口マイクロドーズの絶対的経口バイオアベイラビリティがわかり、ZK253 の場合に見られたように経口投与後の血漿中濃度がすべての時点で検出不可能であったとしても最高値についてある程度把握することができたであろう。この、非常に早い時期に PK 情報を得られる可能性は、経口薬理用量投与による全身的曝

露データからのみ得られる限定的な洞察と対比されるべきである。

要約すると、試験を行った5種の薬剤候補のうち3種からのマイクロドーズのデータは治療量での薬物動態を良好に予測していたといえよう(ジアゼパム、ミダゾラム、ZK253)。ワルファリンに関しては、マイクロドーズデータは治療量でのクリアランスを予測するには有効であると思われたが、分布の薬物動態には直線性がなかった。エリスロマイシンに関して得られたマイクロドーズデータに関しては、酸に不安定な薬剤の経口マイクロドージングでは慎重な配慮が必要であるということを除いて、明確な結論は導き出せなかった。潜在的な限界はあるものの、賢明に利用すればマイクロドージングは薬剤開発中の決断を支援する有効な付加的ツールであることがこの試験から示される。異なる物理化学的性質を示す化合物や異なる構造的特性を持つ化合物においてさらに試験を行えば、このツールの有用性をさらに明確にするのに役立つであろう。

GarnerおよびLappin博士はXceleronの従業員であり自社株を保有している。Oosterhuis博士はPharma Bio-Researchの従業員であり利害関係はない。Drijgbout博士はPharma Bio-Researchの従業員であり自社株を保有している。Chaudhary博士はEli Lillyの従業員であり、この試験に関するコンサルティング、株保有、謝礼金、有料の専門家証言、特許申請、研究および旅行助成金などに関して利害関係はない。Kuhn博士はF.Hoffman-La Rocheの従業員であり、利害関係はない。Jochemsen博士はLaboratories Servierの従業員であり、利害関係はない。Rowland博士は、利害関係はない。彼はこの試験を通じて無給の第三者的アドバイザーを務めた。その後、彼はXceleronの科学諮問委員会の議長職を受け入れたが、この株式は保有していない。

参考文献

表 I それぞれの薬剤の投与計画

薬剤	投与計画		
	1	2	3
ワルファリン	経口、100 μ g	経口、5 mg	
ZK253	経口、100 μ g	静脈内、100 μ g	静脈内 100 μ g と経口 50 mg を同時に*
ジアゼパム	静脈内、100 μ g	静脈内、10 mg	
ミダゾラム	経口、100 μ g	静脈内、100 μ g	静脈内 100 μ g と経口 7.5 mg を同時に*
エリスロマイシン	経口、100 μ g	静脈内 100 μ g と経口 250 mg を同時に*	

*100 μ g の 14 C 標識薬剤を静脈内、治療量の非標識薬剤を経口で同時に投与した。

表 II 血漿の抽出に用いられた溶剤

薬剤	抽出溶剤	洗浄溶剤
ワルファリン	メタノール	メタノール/水 (1:1[vol/vol])
ZK253	アセトニトリル	アセトニトリル/水 (1:1[vol/vol])
ジアゼパム	5 μ L の水酸化アンモニウムを加えたアセトニトリル	アセトニトリル/水 (1:1[vol/vol])
ミダゾラム	冷却した 0.1%(vol/vol)塩酸を加えたアセトニトリル	0.1%塩酸(vol/vol)を加えたアセトニトリル/水 (1:1[vol/vol])
エリスロマイシン	アセトニトリル	アセトニトリル/酢酸アンモニウム 2 mol/L(pH 7)/水 (35:5:60[vol/vol/vol])

表III(1) 被験薬に対する薬物動態パラメーター

薬剤	処置	T _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _{0-t} (ng·h/mL)
ワルファリン	経口、100 μg	1.12*† (35.0)	5.04*† (29.2)	157*† (20.2)
	経口、5 mg	1.70 (41.1)	493 (23.8)	16,152 (38.9)
ZK253	静脈内、100 μg	0.71 (72.7)	0.91 (61.6)	5.53 (31.9)
	経口、100 μg	ND	ND	ND
	静脈内、100 μg	0.50 (0)	1.52 (56.3)	5.78 (13.1)
	経口 50 mg	0.50 (0)	2.84 (34.1)	4.4# (21.2)
ジアゼパム	静脈内、100 μg	0.56 (35.0)	4.70 (28.7)	55.9 (33.3)
	静脈内、10 mg	0.79 (77.5)	322 (45.6)	4791 (40.9)
ミダゾラム	静脈内、100 μg	0.40 (30.1)	2.56 (42.1)	3.69 (31.2)
	経口、100 μg	0.56 (2.86)	0.37 (62.2)	0.89 (87.8)
	静脈内、100 μg	0.50 (0)	2.97 (59.4)	4.40 (35.6)
	経口、7.5 mg	0.63# (139.5)	34.0 (79.2)	81.8# (79.0)
エリスロマイシン	静脈内、100 μg	0.56 (90.4)	3.35 (57.4)	4.27 (80.0)
	経口、250 mg	0.45 (22.3)	717 (38.0)	1510# (38.6)

表III(2) 被験薬に対する薬物動態パラメーター

AUC _{0-∞} (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	CL (L/h)	V (L)	F (%)
571†† (82)	274†† (80.6)	0.17†§ (54.8)	67.3††¶ (41.4)	
20,801 (44.6)	48.6 (48.6)	0.26§ (48.1)	17.9¶ (19.9)	
7.42 (51.6)	61.4 (67.3)	9.29 (54.1)	1207 (40.6)	
ND	ND	ND	ND	<1
7.15 (16.3)	56.2 (32.4)	14.8 (18.8)	1201 (31.2)	
6.55# (58.8)	7.42** (116)			0.16
65.5 (34.5)	45.1 (51.2)	1.38 (36.8)	90.1 (35.8)	

5577 (77.7)	35.7 (49.1)	1.30 (66.5)	123 (45.6)	
4.53 (31.1)	4.87 (38.8)	21.2 (30.6)	145 (29.6)	
1.02 (87.6)	3.95 (24.7)			22.8
4.68 (37.5)	2.55 (38.6)	20.4 (34.3)	75.1 (48.7)	
87.0# (83.2)	3.31 (33.7)			22.1
4.38 (78.8)	2.52 (34.6)	21.9 (76.4)	79.8 (68.0)	
1556# (40.3)	2.50 (17.6)			14.0

データは平均および変動係数のパーセントで表示した。C_{max} および AUC の比較は用量で正規化したデータである。T_{max}:最大濃度到達時間、C_{max}:最高濃度、AUC_{0-t}:試験期間中の曲線下面積、AUC_{0-∞}:無限にまで外挿した曲線下面積、T_{1/2}:半減期、CL:クリアランス、V:分布容積、F:経口バイオアベイラビリティ、ND:データが検出限界未満のため測定不可。

* n=6 (120 時間までの時間に関する計算ですべての被験者を用いた。)

† マイクロドーズと相当する治療量との間の ANOVA 検定。P<0.01.

‡ n=3 (最初にマイクロドーズの投与を受けた 3 名の被験者を計算に用いた)。ワルファリンに関しては、CL および V はそれぞれ CL/F および V/F となっている (528 時間に相当する時間まで)。

§ 経口バイオアベイラビリティ 100% を仮定し、用量/AUC_{0-∞} に基づいて算出。

|| マイクロドーズと相当する治療量との間の ANOVA 検定。0.01 < P < 0.05.

¶ 1.44 × CL × t_{1/2} に基づいて算出。

静脈内 100 μg 投与の際の曲線下面積を減算した。

** 16 時間およびそれ以降のアッセイが検出限界以下であったため、t_{1/2} の見積もりが困難であった。

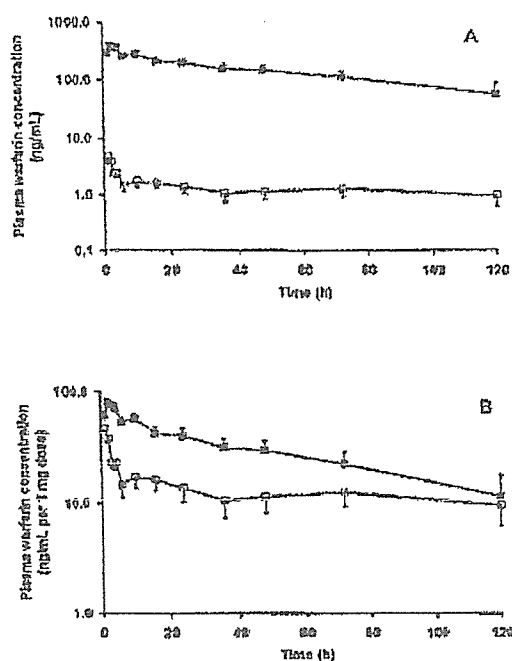


図 1. A. 100 μ g (□) および 5 mg (●) 投与後の血漿中ワルファリン濃度の、時間に対する片対数プロット (幾何平均、SE)。 B. A に示したデータを投与量 1 mg に正規化したもの。

A. 縦軸：血漿中ワルファリン濃度 (ng/mL)、横軸：時間 (h)

B. 縦軸：血漿中ワルファリン濃度 (ng/mL/投与量 1 mg)、横軸：時間 (h)