

テオフィリンの喘息患者における  
体内動態および製剤特性との関連

星薬科大学  
図書館



0000060060

森 下 まり子

# テオフィリンの喘息患者における 体内動態および製剤特性との関連

# 目 次

緒論	1
第1章 喘息患者におけるテオフィリン体内動態の変動因子	4
第1節 序論	4
第2節 小児および成人喘息患者におけるテオフィリンの Michaelis- Menten kineticsの発現頻度	5
第3節 急性小児喘息発作時のテオフィリンクリアランスの個人内変動	12
第4節 本章のまとめ	16
第5節 実験の部	18
第2章 テオフィリンの交感神経系に及ぼす影響	22
第1節 序論	22
第2節 急性小児喘息発作時のアミノフィリン点滴静注後の	

	血中カテコールアミン濃度の変動	23
第3節	本章のまとめ	30
第4節	実験の部	31
<b>第3章</b>	<b>テオフィリン徐放性製剤の 正常人における体内動態の 比較および徐放性製剤の 溶出試験法の改善</b>	<b>34</b>
第1節	序論	34
第2節	テオドール <sup>®</sup> と新しい徐放性テオフィリン製剤の 生物学的利用能および体内動態の比較検討	35
第3節	ビーズ法を用いた徐放性製剤の溶出試験法の改善	40
第4節	本章のまとめ	48
第5節	実験の部	49
	総括	53
	謝辞	55
	引用文献	56

## 糸者 論

メチルキサンチン類として分類されるカフェイン、テオフィリン、テオプロミンは緑茶、コーヒーやココアなどに含まれており、日常摂取しているものであるが、その中でもテオフィリンは医薬品としてもその気管支喘息への有効性がすでに19世紀の半ばに報告されており、長い歴史を有する薬である。現在でも喘息の治療薬として汎用されており、その優れた臨床効果は高く評価されている。一方、過去においてはアミノフィリン（テオフィリンとエチレンジアミンの複合塩でテオフィリンとして80%含有する）の静注製剤はしばしば不整脈やけいれん発作を起こすことから、その使用は医師の経験に大きく依存し、結果として1940-60年代のテオフィリンの臨床適用は控え目なものであった。しかしながら近年の微量定量法の著しい進歩と臨床薬理学の加速的な発展の両者に伴い、テオフィリンの臨床効果および副作用発現と、体内動態および血中濃度との関係が明らかにされてきた。テオフィリンの副作用は血中濃度の上昇に伴って発現し、血中濃度が約40  $\mu\text{g/ml}$ を超えるとけいれん発作が生じ、その予後は極めて悪く死に至る場合も少なくない<sup>1)</sup>。一方、血中濃度が10  $\mu\text{g/ml}$ 以下では臨床効果が減弱する。現在では、テオフィリン有効血中濃度（10~20  $\mu\text{g/ml}$ ）の概念が確立され、この濃度域に血中濃度を維持させればほとんどの患者で副作用が最小限に押さえられ、かつ速やかな喘息症状の改善が期待できると考えられている<sup>2-6)</sup>。しかしながら、この有効血中濃度を達成させるための1日あたりの投与量は、400 mgから2000 mgの違いが患者間にあると報告されている<sup>6)</sup>。これは主としてこの薬物の肝代謝クリアランスに大きな個人差があるためであるが、この薬物のクリアランスは、このような個人間変動のみならず個人内でも成長に伴う経時的変動がある<sup>7-10)</sup>。さらに体内動態は病態の悪化あるいは改善に伴って容易に変動する<sup>11, 12)</sup>。テオフィリンの持つ重篤な副作用を回避し、安全かつ有効に用いるためにはクリアランスに影響する因子

の検索が重要な課題である。

一方、消化管からのテオフィリンの吸収は速やか<sup>13)</sup>で消失半減期も比較的短いため、有効濃度域に血中濃度を維持するためには裸錠では1日4回程度の投与が必要となり<sup>7)</sup>、コンプライアンスの低下や夜間の効果の低下等の問題がある。この問題を克服するために、テオフィリンの溶出をより遅くコントロールし、体内滞留時間をより長くする製剤の研究<sup>14, 15)</sup>が数多く行われ、その結果、1日1回あるいは2回の投与で血中濃度を24時間有効域に維持できる、優れたテオフィリン徐放性製剤が開発されてきた。現在その数は欧米では約30種にもものぼると報告されており<sup>16, 17)</sup>、我が国でもテオドール<sup>®</sup>を始めテオロング<sup>®</sup>、スロービッド<sup>®</sup>等、数種類が使用されている。しかしながら、ヒトにおける体内動態を効率よく反映し、かつ品質管理に有効な徐放性製剤のin vitro溶出試験はまだ開発途上にあり、この分野での研究開発の発展が待たれている。

以上のような知見をもとに本研究ではテオフィリンの臨床薬理に関して次の検討を行った。

- 1) テオフィリンの体内動態は一般的には線形モデルに従うと考えられているが、非線形モデル、すなわちMichaelis-Menten kineticsにより適合する患者の症例が報告されている<sup>6, 18-21)</sup>。本研究では、テオフィリンのMichaelis-Menten kineticsの発現頻度を小児および成人で明らかにし、その臨床上的重要性を評価することを目的とした<sup>22)</sup>。
- 2) 慢性喘息患者におけるテオフィリンクリアランスの個人間変動に関しては数多く報告されているが<sup>7, 8, 23)</sup>、急性喘息発作時のテオフィリンクリアランスの個人内での経時的変化に関する研究はほとんどない。急性喘息発作時には最も適切な治療が迅速に行われる必要があるため、本研究では急

性小児喘息発作時にアミノフィリン持続点滴静注後のテオフィリンクリアランスの個人内変動について検討した<sup>24)</sup>。

- 3) テオフィリンの薬理作用の作用機序として、細胞内phosphodiesterase (PDE) 活性阻害によるcyclic 3',5'-AMP (cAMP) の上昇が提唱されているが<sup>25)</sup>、近年、これだけで多岐にわたるテオフィリンの薬理作用を説明できないことが明らかにされてきた<sup>26)</sup>。一方、近年、交感神経系からのカテコールアミンの遊離増加作用がテオフィリン有効血中濃度域内での作用機序の一つとして提唱されている<sup>27)</sup>。本研究では、急性喘息発作を起こした小児を対象としてテオフィリンの交感神経系に及ぼす影響について検討を行った<sup>28)</sup>。
- 4) 効果的なテオフィリン維持投与 (round the clock: RTC) 療法を行うためには製剤間の吸収挙動の違いを適確に把握した上で患者個々に適切な製剤を選択する必要がある。本研究では、我が国で開発された新しいテオフィリン徐放性製剤の吸収特性を、欧米ですでに広く用いられその有用性が認められているテオドール<sup>®</sup>と比較し、両製剤間の生物学的同等性について検討した<sup>29)</sup>。
- 5) テオフィリンの徐放性製剤は数多く開発されているが、製剤の崩壊と薬物の溶出はそれぞれ異なる方法によってデザインされているため、吸収量や速度が製剤によって大きく異なることが報告されている<sup>14, 16)</sup>。しかしながら、in vivo での体内動態を効率よく反映できる徐放性製剤のためのin vitro 溶出試験法はまだ確立されていない。本研究では、ビーズ法を用いた徐放性製剤のための溶出試験法およびin vivo における結果との相関性について検討した<sup>30)</sup>。

# 第 1 章 喘息患者におけるテオフィリン体内動態の変動因子

## 第 1 節 序 論

テオフィリンはその90%が肝臓で代謝され、主として3つの代謝物に変換される<sup>31, 32)</sup>。その代謝経路のうち、1-demethylationの経路は代謝能力に限界がありその代謝過程は飽和されやすく<sup>31)</sup>、この代謝系のクリアランスは非線形(non-linearまたはMichaelis-Menten)型の体内動態モデルに従うと報告されている<sup>33)</sup>。この代謝酵素活性に影響する因子として加齢<sup>7-10, 34)</sup>、シメチジンやマクロライド系抗生物質およびフェニトインなどの併用薬<sup>35-40)</sup>、インフルエンザウイルスA<sup>41)</sup> およびB<sup>42)</sup>への感染、食事内容<sup>43-45)</sup>、喫煙歴<sup>40, 46, 47)</sup>、あるいは肝機能低下<sup>2, 3, 48)</sup>、心不全<sup>47)</sup>などの疾患が挙げられており、これらの種々の因子はテオフィリンのクリアランスに変動を与え、血中濃度を容易に上昇あるいは下降させる。血中濃度が治療域を越えると嘔気、嘔吐、頭痛などの中毒症状が出始め、血中濃度の上昇に伴って心刺激、中枢刺激などのより重篤な症状が出てくる。テオフィリンの中毒症状の中で最も致命的なものは、不整脈や心血管虚脱などの心血管障害と、過剰な中枢刺激によって起こるてんかん様の痙攣発作である。特に痙攣発作はいったん発現すると死亡率が極めて高い<sup>1, 49-51)</sup>。従って、血中濃度を治療域内に維持し有効な治療を行うためには、テオフィリンのクリアランスに変動を与える因子を検索し、その有無を患者個々に判断し、投与量を調節する必要がある。以上の知見から、本章ではテオフィリンのMichaelis-Menten kineticsの発現頻度および急性小児喘息発作時のテオフィリンクリアランスの個人内変動について検討した。



## 第2節 小児および成人喘息患者におけるテオフィリンのMichaelis-Menten kineticsの発現頻度

抗てんかん薬であるフェニトインが、ある一定の量を越えて投与された場合、わずかな投与量の増加が血中濃度のより大きな上昇をもたらすようなMichaelis-Menten型の特殊な体内動態に従う<sup>52-54)</sup>ということは良く知られている。テオフィリンの体内動態は一般的には線形モデルに従うと考えられており、現在、投与量の調節はこのモデル式に基づいて行われているが、近年いくつかの欧米の研究グループによって、テオフィリンの体内動態が非線形モデル、すなわちMichaelis-Menten kineticsにより適合する患者の症例が報告されている<sup>6, 18-21)</sup>。一方、健常人を対象としたdose-ranging試験<sup>55-57)</sup>では、テオフィリンの体内動態は線形モデルに従うと結論しており、研究者によって相反した結果を得ている。従って、本研究ではテオフィリンのMichaelis-Menten kineticsの存在および発現頻度を小児および成人で明らかにすることを目的とした<sup>22)</sup>。対象は徐放性テオフィリン製剤のPhase II試験に参加した558名の慢性喘息患者とし、肝臓および腎臓疾患を持つ患者、テオフィリンと相互作用する併用薬の服用患者、明らかな服薬違反者、血液採取時間の不適当な患者などを除く2段階のスクリーニングにより最終的に172名の患者（小児122名、成人50名）を選択した。使用したテオフィリン製剤は、徐放性の錠剤テオロング<sup>®</sup>であり、この製剤は完全に吸収され生物学的利用能は100%であることが報告されている<sup>58, 59)</sup>。

これまでに薬物の非線形型体内動態を明確に定義づける一般的な方法は、確立されていない。Jenneら<sup>6)</sup>およびSarrazinら<sup>20)</sup>はテオフィリンの体内動態の非線形性を投与量増加の%に対する血中濃度上昇の%比で表し、この比が1.5以上になる場合に患者の投与量と血中濃度との関係はMichaelis-Menten型を示したと報告している。この結果を参考にして、本研究では $\Delta\%$ 濃度/ $\Delta\%$

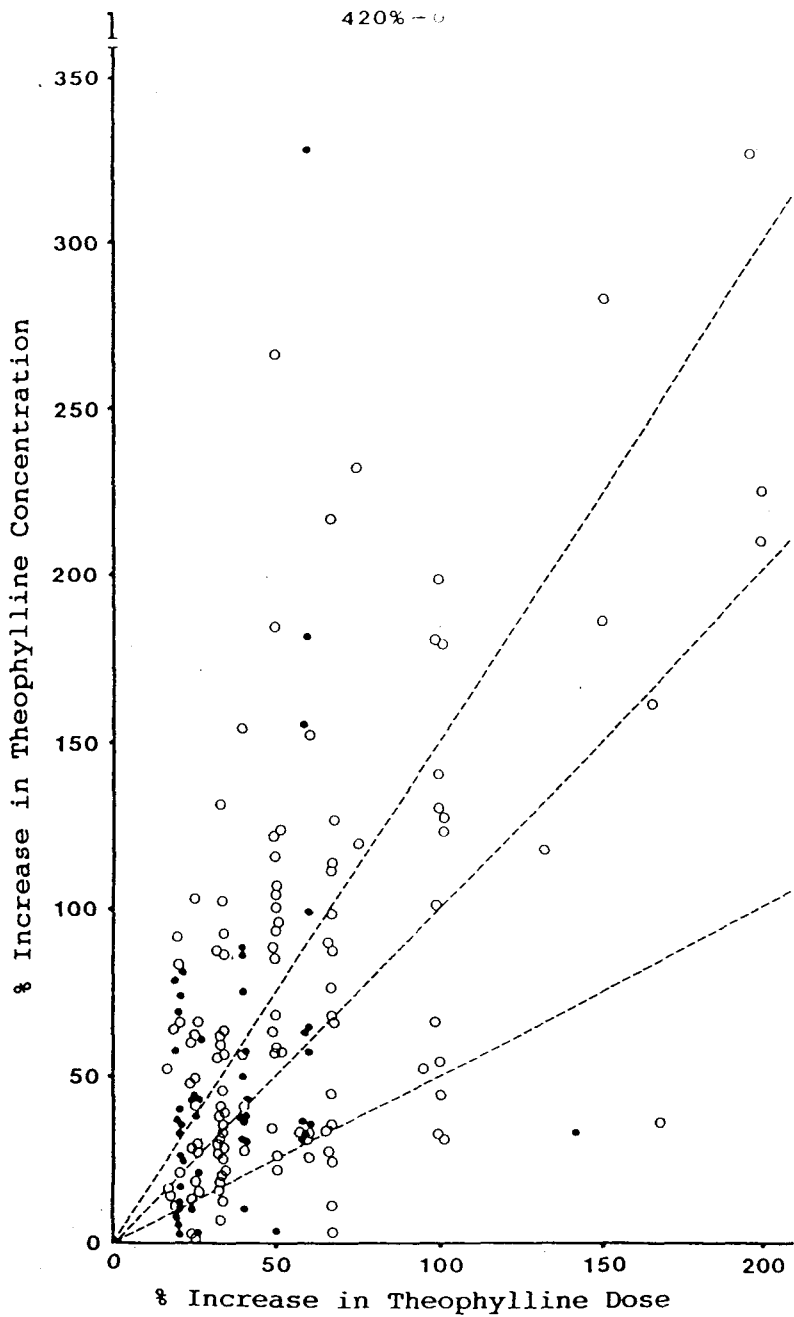


Fig. 1. Relationship between increases in dosage and in plasma theophylline concentration among 172 asthmatic patients.

The open and solid circles indicate children and adults, respectively. The dashed lines (from the lower to the upper) indicate  $Y = 0.5 \cdot X$ ,  $Y = X$  and  $Y = 1.5 \cdot X$ . If theophylline elimination were exclusively linear, the changes would have been proportional, and the data points would have scattered around the middle dashed line representing unity.

投与量 $\geq 1.5$ の患者を見かけのMichaelis-Menten型とした。この定義に当てはまる小児49名および成人21名を選択し、Michaelis-Menten kineticsの発現頻度を検討するための対象群とした。

172名の患者の%投与量変化と%濃度変化との関係をFig. 1に示した。このうち $\Delta\%$ 濃度/ $\Delta\%$ 投与量 $\geq 1.5$ の患者例の発現頻度は小児40.2% (49名)、成人42.1% (21名)であった。また、これらの発現頻度には小児と成人の間で有意な差はなかった。これら対象群の患者特性をTable Iに示し、テオフィリン投与量およびそれに対応する血中濃度、さらにMichaelis-Menten kineticsのパラメータの要約をTable IIに示した。小児患者群と成人患者群との間で、テオフィリン投与量および $V_{max}$ に有意な差を認め ( $P < 0.001$ )、小児の方が体重あたりの投与量が多く、また、 $V_{max}$ も小児の方が大きい傾向が示唆された。Table IIに示した70名の喘息患者の年齢とMichaelis-Menten kineticsのパラメータとの関係をFig. 2に示した。 $V_{max}$ は年齢に対して有意な負の相関 ( $r = -0.459$ ,  $P < 0.001$ )を示し、年齢が若いほど $V_{max}$ が大きい傾向が認められた。この理由として、1)体重あたりの肝重量の年齢による変化、2)単位肝重量あたりの代謝活性の年齢による変化等が考えられる。テオフィリンは主として肝ミクロゾーム分画に存在するmixed function oxygenaseによって酸化的に代謝され<sup>33, 40, 56, 60</sup>)、その代謝は肝血流量の変化にほとんど影響されないため<sup>61</sup>)、 $V_{max}$ の年齢に伴う変化は代謝酵素の加齢に伴う活性あるいは量の低下を反映している可能性が強い。また、体重あたりの肝の大きさは一般的に小児の方が成人より大きい、小児の代謝能力の許容量はこれで説明でき得る以上に大きいため<sup>62</sup>)、このことは2)の可能性をより強く示唆するものである。一方、 $K_m$ に年齢との相関は認められなかった。また、 $K_m$ と $V_{max}$ の個人間変動は大きく、特に小児における $V_{max}$ 値のバラツキが大きかった。

これまでに報告されてきた欧米の結果<sup>6, 18, 20, 21</sup>)では、Michaelis-Menten型体内動態に当てはまる患者の割合は15-67%であり、その発現頻度は研究者

**TABLE 1. Clinical characteristics of patients whose change in theophylline concentrations exceeded that in the doses by at least 50% and their Michaelis-Menten pharmacokinetic parameters**

Study group	Patient no./age (years)/weight (kg)	Lower dosage regimens of theophylline		Higher dosage regimens of theophylline		$\Delta\%$ concentration	$\Delta\%$ dose	$K_m$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$V_{max}$ ( $\text{mg/kg/day}$ )
		dose ( $\text{mg/kg/day}$ )	concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	dose ( $\text{mg/kg/day}$ )	concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )				
Pediatric	1/ 4/19	10.8	4.5	27.0	17.2	1.88		19.5	57.6
	2/ 6/17	17.6	3.5	35.3	18.2	4.18		5.7	46.4
	3/ 6/20	15.4	10.1	20.5	23.3	3.95		7.9	27.5
	4/ 6/18	11.1	7.8	16.7	15.6	1.98		15.9	33.7
	5/ 6/19	10.5	6.4	15.8	12.5	1.89		14.1	33.6
	6/ 7/21	14.3	16.6	19.0	25.8	1.69		37.6	46.7
	7/ 7/22	13.6	8.5	18.2	16.3	2.71		9.5	28.8
	8/ 7/18	11.1	4.7	22.2	14.0	1.98		14.3	44.9
	9/ 8/22	18.2	7.2	27.3	14.9	2.14		13.1	51.3
	10/ 8/21	14.2	6.5	28.3	18.2	1.81		22.4	63.1
	11/ 8/24	12.5	6.1	16.7	11.4	2.59		7.2	27.2
	12/ 8/40	10.0	9.2	12.5	13.7	1.96		14.3	25.6
	13/ 8/24	4.3	2.2	12.8	9.6	1.70		13.7	31.0
	14/ 9/29	10.3	6.4	20.7	17.9	1.78		23.0	47.3
	15/ 9/33	12.1	8.4	21.2	18.4	1.58		31.6	57.6
	16/ 9/24	12.5	4.9	16.7	9.9	3.04		4.9	24.9
	17/ 9/35	11.4	7.6	17.1	16.9	2.45		11.7	28.9
	18/ 9/33	6.1	6.5	9.1	12.2	1.78		15.6	20.7
	19/ 9/26	11.5	6.8	15.4	11.0	1.86		12.8	33.2
	20/10/26	15.4	10.1	19.2	15.0	1.97		15.5	39.1
	21/10/35	11.4	3.5	20.0	11.6	3.07		5.6	29.7
	22/10/33	12.2	9.4	18.4	20.9	2.41		14.9	31.5
	23/10/27	11.3	6.7	18.9	14.3	1.69		20.8	46.4
	24/10/29	10.5	4.1	14.0	6.6	1.83		8.0	10.9
	25/11/48	10.4	13.4	12.5	22.2	3.25		9.9	18.0
	26/11/33	12.3	4.7	15.4	7.6	2.45		14.9	31.5
	27/11/38	10.5	10.6	13.2	17.6	2.57		5.3	26.0
	28/11/31	13.1	2.8	19.7	10.3	5.32		11.2	21.6
	29/11/39	10.3	5.8	12.8	8.6	1.99		8.7	25.7
	30/11/30	10.1	8.1	16.9	17.1	1.65		26.3	42.9
	31/11/36	11.1	11.4	13.9	16.1	1.63		25.4	35.8
	32/11/30	9.9	7.2	16.6	16.3	1.87		18.8	35.7
	33/12/26	11.5	10.6	15.4	19.7	2.53		12.9	25.5
	34/12/50	12.1	8.3	20.2	26.3	3.24		11.7	29.2
	35/12/36	11.2	6.3	16.8	17.9	3.68		6.7	23.1
	36/12/39	10.3	7.9	12.8	12.6	2.45		8.7	21.6
	37/12/29	10.3	3.9	13.8	6.1	1.66		9.2	34.7
	38/12/33	12.1	7.1	18.2	13.1	1.68		19.4	45.1
	39/13/53	9.4	6.4	15.1	16.1	2.50		10.7	25.2
	40/13/43	12.0	5.8	14.0	8.8	3.10		4.2	20.7
41/13/51	9.9	6.4	11.9	11.7	4.10		3.8	15.7	
42/13/65	7.7	5.5	9.2	10.5	4.67		2.9	11.7	
43/13/48	10.4	3.5	14.6	8.9	3.82		3.2	19.8	
44/13/40	10.0	6.9	12.5	14.0	4.12		4.5	16.5	
45/13/39	10.4	7.4	15.5	14.3	1.90		15.9	32.7	
46/13/30	10.0	4.5	13.3	7.2	1.82		8.8	29.6	
47/14/40	10.0	5.2	15.0	11.2	2.31		8.6	26.5	
48/14/46	10.9	5.6	13.0	9.2	3.34		3.9	18.6	
49/14/32	12.5	11.2	18.8	22.9	2.07		21.4	36.3	
Mean 10.2/32.7	11.4*	7.0	17.0*	14.5	2.52		13.0	32.2*	
= SD 2.5/10.5	2.3	2.8	4.9	4.9	0.91		7.5	11.5	
Adult	1/22/57	8.8	4.5	14.0	11.5	2.63		7.0	22.6
	2/23/60	8.3	8.0	10.0	10.8	1.71		15.2	24.1
	3/23/68	5.9	6.4	7.4	9.2	1.72		12.8	17.7
	4/28/59	8.5	8.7	10.2	12.2	2.01		12.1	20.3
	5/28/45	11.1	9.0	17.8	25.4	3.02		12.6	26.6
	6/38/59	6.8	8.4	8.5	12.1	1.76		15.9	19.7
	7/38/54	9.3	6.5	11.1	11.6	4.05		3.8	14.7
	8/41/47	8.5	11.0	10.8	17.7	2.25		14.2	19.4
	9/42/53	7.5	4.2	9.4	5.8	1.50		11.5	28.1
	10/43/66	7.6	7.7	10.6	13.5	1.91		14.9	22.3
	11/44/50	10.0	5.8	12.0	7.7	1.64		12.1	30.8
	12/45/33	15.2	9.1	21.2	16.9	2.17		14.4	39.3
	13/45/62	8.0	7.0	9.7	12.7	3.83		4.5	13.1
	14/46/60	8.3	7.8	13.3	15.5	1.64		42.3	14.1
	15/47/54	9.3	4.4	14.8	18.8	5.53		4.2	18.1
	16/49/62	6.5	11.7	8.1	16.9	1.81		21.0	18.2
	17/52/60	8.3	6.9	10.0	12.0	3.61		4.6	13.8
	18/56/58	8.6	10.2	10.3	13.9	1.84		16.6	22.6
	19/57/65	7.7	10.6	9.2	16.8	3.00		8.4	13.8
	20/58/65	7.7	9.9	10.8	18.7	2.21		15.5	19.7
	21/60/46	10.8	9.0	13.0	15.2	3.38		6.4	18.5
	Mean 42.1/56.3	8.7	7.9	11.5	14.0	2.53		12.9	21.8
	= SD 11.5/ 8.3	1.9	2.1	3.2	4.3	1.02		8.1	6.7

When children were subdivided into the two groups, those <10 years ( $n = 24$ ) and those >11 years of age ( $n = 25$ ), the following mean  $\pm$  SD data in the younger versus older age groups were obtained: the lower dose, 12.0  $\pm$  3.0 versus 10.7  $\pm$  1.1 mg/kg/day, resulting in plasma theophylline concentrations of 7.0  $\pm$  2.9 versus 7.1  $\pm$  2.6  $\mu\text{g/ml}$ ; the higher dose, 19.3  $\pm$  5.6 versus 14.8  $\pm$  2.5 mg/kg/day, resulting in plasma concentrations of 15.2  $\pm$  4.3 versus 13.9  $\pm$  5.2  $\mu\text{g/ml}$ ; ratio of  $\Delta\%$  concentration/ $\Delta\%$  dose, 2.25  $\pm$  0.68 versus 2.79  $\pm$  1.01;  $K_m$ , 15.0  $\pm$  7.8 versus 11.1  $\pm$  6.7  $\mu\text{g/ml}$ ; and  $V_{max}$ , 37.8  $\pm$  11.6 versus 26.8  $\pm$  8.3 mg/kg/day, respectively. The mean data reaching statistically significant differences between the two subdivided pediatric age groups include the higher doses ( $p < 0.001$ ), ratio values ( $p < 0.05$ ), and  $V_{max}$  ( $p < 0.001$ ). The mean data of the lower and higher doses and  $V_{max}$  in the younger age children were significantly ( $p < 0.001$ ) different from those in the adult patients. The mean data significantly differing between the older age children and adults include the lower and higher doses ( $p < 0.001$  for both) and  $V_{max}$  ( $p < 0.05$ ).

\* Statistically significant ( $p < 0.001$ ) difference from the adult group.

Table II.

Clinical Characteristics of Patients and Their Michaelis-Menten Pharmacokinetic Parameters

Study group	age (yr)	weight (kg)	lower dosage regimens of theophylline		higher dosage regimens of theophylline		$K_m$ (ug/ml)	$V_{max}$ (mg/kg/day)	
			dose (mg/kg/day)	conc. (ug/ml)	dose (mg/kg/day)	conc. (ug/ml)			
Pediatric age patients									
Mean	10.2	32.7	11.4*	7.0	17.0*	14.5	13.0	32.2*	
$\pm$ SD	2.5	10.5	2.3	2.8	4.9	4.9	7.5	11.5	
Adult patients									
Mean	42.1	56.3	8.7	7.9	11.5	14.0	12.9	21.8	
$\pm$ SD	11.5	8.3	1.9	2.1	3.2	4.3	8.1	6.7	

Asterisk (\*) indicates a statistically significant ( $p < 0.001$ ) difference from the adult group.

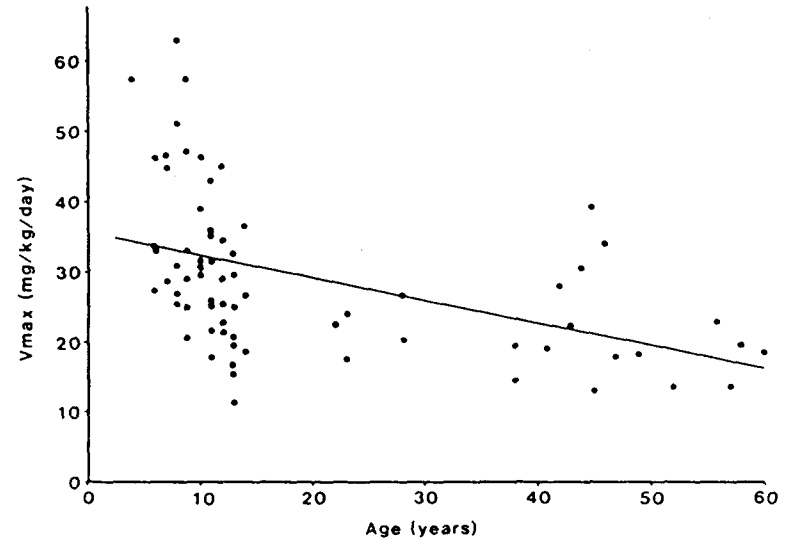
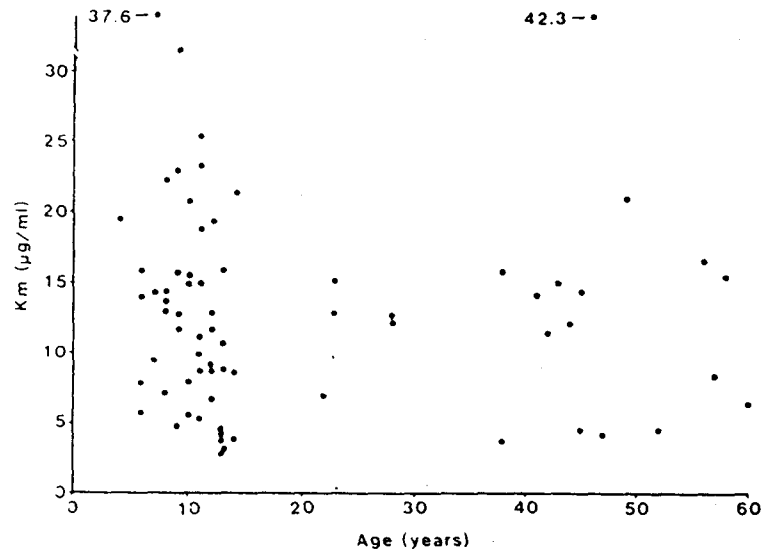


Fig. 2. Relationship between age and Michaelis-Menten kinetic parameters in 70 asthmatic patients ranging in age from 4 to 60 years. For  $V_{max}$ , Y intercept = 13.27, slope =  $-0.323$ , coefficient value ( $r$ ) =  $-0.459$ ,  $p < 0.001$ ; for  $K_m$ , Y intercept = 13.27, slope =  $-0.016$ ,  $r = -0.034$ , not statistically significant ( $p > 0.5$ ).

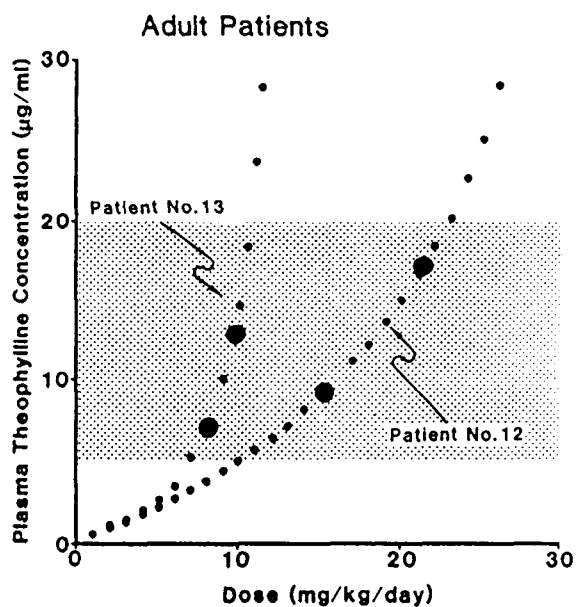
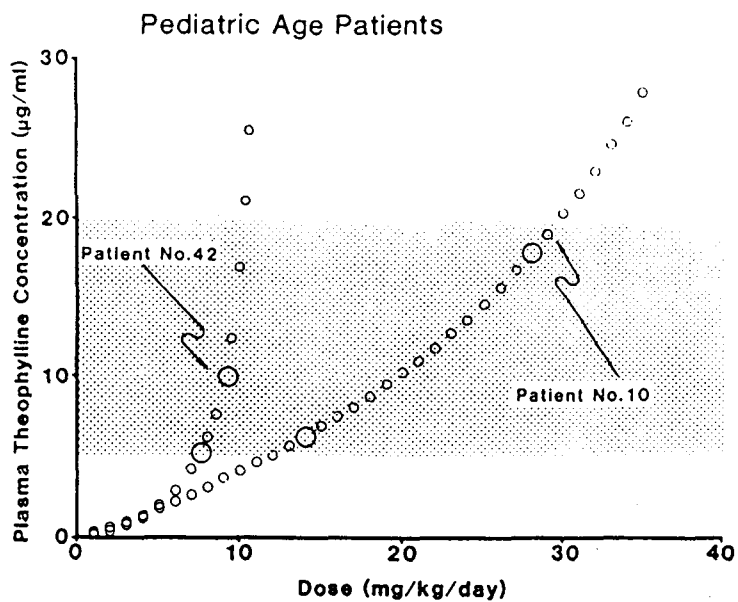


Fig. 3. Relationship between dose and plasma concentration of theophylline in the two extremes with the smallest and greatest  $V_{\text{max}}$  among 49 pediatric and 21 adult patients. The larger symbols ( $\bigcirc$ ,  $\bullet$ ) indicated observed values.

によって大きく異なっている。上述した本研究の結果は、これまでに報告されてきた発現頻度のほぼ中間の値となり、また、小児患者で得られた $K_m$ および $V_{max}$ 値の変動域もWeinbergerとGinchansky<sup>19)</sup>が小児について報告している値と類似していた。一方成人患者から得られた $K_m$ および $V_{max}$ の平均値はこれまでに欧米で報告<sup>21, 63, 64)</sup>されてきた値より低く、人種による代謝の差が存在する可能性が示唆された。

Table IIで示した小児および成人のMichaelis-Menten kineticsのパラメータの中から、投与量のわずかな変更が血中濃度の大幅な変動を生むことが最も予想される患者例、およびその危険性が最も少ない患者例を、両極端に位置する患者として各1名ずつ選択し、その $K_m$ および $V_{max}$ 値を基にMichaelis-Menten曲線を予測したものをFig. 3に示した。Fig. 3に示したような危険性の高い域に位置する患者に、現在のような線形モデルに従った投与量調節を行う場合には細心の注意が必要となる。体内動態の型は、投与量を変更する前後での定常状態下での血中濃度を測定すれば判定できるため、線形モデルに従わない場合には、フェニトインで報告されて来たMichaelis-Menten理論を応用した投与適正化法<sup>54, 65)</sup>をテオフィリンにも応用し、副作用の発現を回避することは可能であると考えられる。

### 第3節 急性小児喘息発作時のテオフィリンクリアランスの個人内変動

喘息患者におけるテオフィリンのクリアランスが個人間で大きく異なることはこれまでも数多く報告されてきた<sup>7, 8)</sup>。一方、クリアランスの個人内変動は比較的小さく短期間で大きく変動することはないと一般的には考えられている<sup>7, 8, 23)</sup>。しかしながら、これらの研究はすべて症状の安定した喘息患者を対象としており、最も積極的かつ慎重で適確な治療を必要とする急性喘息発



作時の患者を対象とした研究はほとんどない。従って、本研究では小児喘息患者を対象として急性発作時から回復時までの短期間内でのテオフィリンクリアランスの個人内変動性について検討することを目的とした<sup>24)</sup>。

対象は72時間以上アミノフィリンの持続点滴静注を必要とした13名の小児喘息患者で、テオフィリンクリアランスに影響を及ぼすことが知られている薬物を投与されている患児、肝臓および腎臓疾患を持つ患児、および喘息重積発作を起こしている患児はあらかじめ対象から除外した。対象患児の患者特性をTable IIIに示した。対象患児には来院時すみやかに十分な補液を行った後、アミノフィリン投与を開始した。アミノフィリンの初回負荷量(5.0 - 7.1 mg/kg)は血中テオフィリン濃度が治療域の10-20  $\mu\text{g/ml}$ になるようにアミノフィリン投与前の血中濃度に応じて調節し、これを30分以上かけて投与し、以後1 mg/kg/hrで持続点滴静注を行った。

アミノフィリン持続点滴静注後の患児個々の血中テオフィリン濃度の経時的变化をFig. 4に示した。点滴開始24、48および72時間後の平均血中濃度は各15.1 (10.7-22.5)  $\mu\text{g/ml}$ 、13.6 (6.2-23.3)  $\mu\text{g/ml}$ および11.5 (4.4-17.7)  $\mu\text{g/ml}$ となり、点滴速度は一定に保っていたにもかかわらず定常状態の血中濃度は経時的に有意に低下した。また、Table IIIに示したように、アミノフィリン持続点滴静注開始24、48および72時間後のテオフィリンクリアランスは経時的に増加し、72時間値のクリアランスは24および48時間値に比較して有意に(各 $p < 0.02$ および $p < 0.01$ )高い値を示した。アミノフィリン投与後72時間のクリアランス値は、これまでに同年齢群の患児で報告されてきた平均値(約80 ml/hr/kg)<sup>7, 66)</sup>とほぼ一致していたが、投与後24時間でのクリアランス値は著しく低く、むしろ成人の喫煙者(約50 ml/hr/kg)<sup>58, 59)</sup>の平均値に近いことが示された。

本研究で認められたようなテオフィリンクリアランスの短時間内の急激な変化はこれまでにうっ血性心不全<sup>11)</sup>や肺炎<sup>12)</sup>などの症状変化を伴った患者で

Table III.

Demographic data, individual and mean plasma theophylline clearances in 13 children, at three periods after initiation of intravenous aminophylline infusion

Patient	Sex	Age (yr)	Weight (kg)	Medication before admission*	Clearance (ml/hr/kg)		
					24 Hour	48 Hour	72 Hour
1	M	4.0	15.0	Cromolyn	50.7	69.9	77.7
2	M	4.3	17.8	Cromolyn	46.6	54.7	54.4
3	M	5.0	18.6	Cromolyn	60.1	72.3	82.4
4†	M	5.5	18.0	Cromolyn	76.6	130.2	186.4
5	M	6.8	21.5	Salbutamol	76.9	72.1	79.4
6	M	6.9	20.0	Salbutamol	59.9	128.6	129.4
7†	M	7.0	22.0	Salbutamol	48.9	51.5	64.1
8	M	8.0	26.0	Salbutamol	84.4	76.0	81.0
9	M	8.0	26.0	Salbutamol	60.2	63.5	92.0
10	M	9.0	35.0	Ketotifen	52.6	54.1	61.1
11	M	9.2	22.8	Ketotifen	60.7	56.4	88.9
12†	M	11.0	40.0	Cromolyn + ketotifen	35.6	40.6	47.6
13	F	12.8	33.6	Salbutamol	42.1	35.6	48.5
Mean ± SD		7.5 ± 2.5	24.3 ± 7.3		58.1 ± 13.8‡	69.7 ± 28.0§	84.1 ± 36.3

\*Intermittent (salbutamol) or long-term (cromolyn, ketotifen, or cromolyn plus ketotifen).

†Received sustained-release theophylline preparation before admission.

‡P < 0.02 compared with third clearance value.

§P < 0.05 compared with third clearance value.

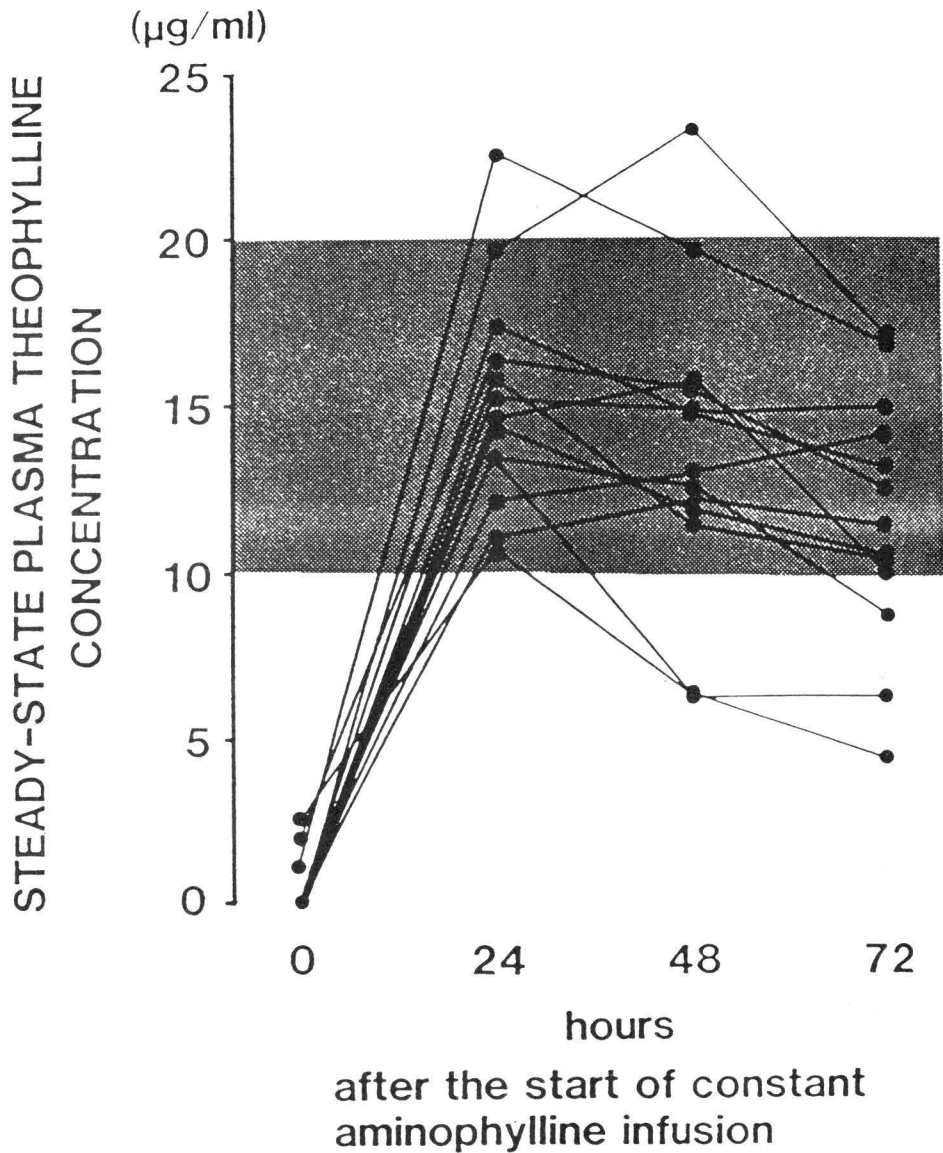


Fig. 4. Plasma theophylline concentrations measured before and at 24, 48, and 72 hours after initiation of constant aminophylline infusion (1 mg/kg/hr) in 13 patients (4 to 12.8 yr of age). Shaded area, postulated therapeutic range of theophylline concentration.

報告されたことがあるが、このような基礎疾患を持たない場合には、クリアランスの個人内変動はほとんど無いと一般には考えられている<sup>7, 8, 23)</sup>。しかしながら本研究で対象とした患児は喘息以外の併病は無く、また、併用薬もケトチフェンおよびクロモリンのみでこれらはテオフィリンの体内動態に影響を与えないと考えられる。クリアランスの急激な変動の原因として急性喘息発作時に見られる脱水症状に関係して、テオフィリンの体内分布容積が変動した可能性が考えられるが、対象患児はすべて通常の処置通り、来院時に十分な水分を点滴により摂取していたため、このことは原因となりにくい。一方、近年、低酸素血症がテオフィリンクリアランスの低下を引き起こす原因となることが報告されてきた<sup>2, 12, 67-69)</sup>。Kishimoto ら<sup>69)</sup> はテオフィリンのクリアランスは動脈血中酸素分圧(PaO<sub>2</sub>)の変動に伴って急激に変化し、PaO<sub>2</sub>の低下は短期間で大幅なクリアランスの低下を生む原因となることを明らかにしている。これらの研究から、喘息発作による低酸素状態が肝臓でのテオフィリンの代謝能の低下を引き起こし、テオフィリンの排泄を遅らせ、また、症状の緩解によって代謝能が速やかに回復したという可能性も考えられるが、この点に関しては更に詳細な検討が必要である。

本研究の結果から、急性喘息発作時にはそれ以外の危険因子がなくてもテオフィリンのクリアランスは大きく変動することが明らかとなり、投与初期のクリアランス値はその後の維持投与量を決定する指標にはならないことが示唆された。

#### 第4節 本章のまとめ

小児および成人喘息患者を対象として、テオフィリンの体内動態の変動性およびMichaelis-Menten kinetics への適合性について検討し、以下の知見を得

た。

- 1) テオフィリンの体内動態がMichaelis-Menten kinetics に適合する患者は少なからず存在し、投与量の増減から予測される以上に血中濃度が大幅に変動する場合は、小児および成人の両方において同程度にあることが示唆された。
- 2) Michaelis-Menten kinetics に適合する患者においては、テオフィリン最大代謝速度 $V_{max}$ は年齢と相関し、年齢が低いほど大きい傾向が示された。一方、 $K_m$ にはこのような相関性は認められず、フェニトインと類似の体内動態を持つことが明らかとなった。
- 3) 急性喘息発作の初期のクリアランスは、これまでに同年齢群の患児の中で報告されてきたクリアランス値に比較して著明に低く、発作初期にはテオフィリンの代謝能が低下している可能性が示唆された。
- 4) 急性喘息発作を起こした患者のテオフィリンクリアランスは経時的に上昇する傾向を示し、静注開始72時間後のクリアランスに比較し、24時間値は平均 25.4 % (最大 58.9 % )、48時間値は 16.1 % (最大 36.6 % ) 減少していた。このことから、喘息発作の憎悪期に得られたクリアランス値はその後の維持投与設計を行なうための正確な動態値にならない可能性が示唆された。

## 第5節 実験の部

### 1-2-1) 試験薬剤

テオロング® (エーザイ株式会社) を用いた。

### 1-2-2) 試料の採取方法

血液採取は定常状態に達した後に、使用したテオロング® の最高血中濃度時間と考えられる投与4時間後に行った。検体は採取後ただちに遠心分離し、分取した血漿を-20℃で測定まで保存した。

### 1-2-3) 血中テオフィリン濃度の測定方法

血中濃度の測定はAdams ら<sup>70)</sup> の方法を改良したIshizakiら<sup>71)</sup> の方法を用いて、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法で行なった。測定条件および測定方法をFig. 5に示した。

### 1-2-4) Michaelis-Menten kinetics の解析方法

Luddenら<sup>65)</sup> およびChiba ら<sup>54)</sup> の方法に従って、定常状態下の血中濃度から(1)式を用いて算出した。

$$R = V_{\max} \cdot C_p / (K_m + C_p) \quad \text{----- (1)}$$

ここでRはテオフィリンの一日あたりの投与量 (mg/kg/day) を、 $C_p$  は定常状態下の血中濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) を、 $V_{\max}$  はその患者の最大に代謝し得るテオフィリン投与量 (mg/kg/day) を、 $K_m$  は投与量が $\frac{1}{2}V_{\max}$  になった時の血中濃度を意味する。

Fig. 5. Determination of plasma theophylline concentrations by high performance liquid chromatography

1) Instruments and Instrumental conditions

liquid chromatograph	: Hitachi Model 635 with UV detector
analytical column	: 4 mm ID x 250 mm
packing	: Lichrosorb RP-18
column temperature	: 50°C
eluate	: 0.1 % perchloric acid, 2.5 % methanol and 10.0 % isopropanol in water
flow rate	: 1.2 ml/min
pressure	: 190 kg/cm <sup>2</sup>
detector wavelength	: 254 nm
range	: 0.04
recorder range	: 5 mm/min
extractant	: 20 µg/ml of 8-Cl-TP in chloroform and isopropanol (1:1 V/V)

2) Procedures

200 µl plasma to an 8 cm centrifuge tube with a cap  
| extractant 1 ml  
mix vigorously for 1 min with a vortex mixer  
|  
centrifuge at 600 x g for 7.5 min  
|  
organic phase (lower CHCl<sub>3</sub> layer) to a 12.5 x 75 mm glass  
tube  
|  
evaporate the solvent at 50°C in a stream of air  
|  
dissolve the residue in 60 µl of methanol  
|  
inject 10 µl into the HPLC

### 1-2-5) 統計学的解析方法

統計学的検討はStudent の t 検定および  $\chi^2$  検定法を用いて行い、p 値 0.05以下を有意とした。回帰直線は最小自乗法を用いて算出した。

### 1-3-1) 試験薬剤

ネオフィリン<sup>®</sup> (エーザイ株式会社) を用いた。

### 1-3-2) アミノフィリン投与方法

アミノフィリン持続点滴静注はIVAC 530定速静注ポンプ (IVAC Corp.) を用いて行った。

### 1-3-3) 試料の採取方法

血液採取はアミノフィリン投与前および定常状態に達した後、血中濃度のモニタリングの必要に応じて行なった。検体は採取後ただちに遠心分離し、血漿中テオフィリン濃度を測定した。

### 1-3-4) 血中テオフィリン濃度の測定方法

蛍光偏光免疫測定法を利用した全自動血中濃度測定装置 (TDX System、ダイナボット株式会社) によって、50  $\mu$ l の血漿を用いて測定した。

### 1-3-5) テオフィリンクリアランスの算出方法

クリアランス (Cl) は定常状態下の血中濃度から (2) 式を用いて算出した。

$$Cl = R / C_{pss} \text{ ----- (2)}$$

ここで R は投与速度 (mg/hr) を、 $C_{pss}$  は定常状態における血中濃度を



意味する。小児の生体内半減期（平均±SD）は1.3-4.4才で $3.38 \pm 1.11$ 時間<sup>72)</sup>、6.08-16.75才で $3.69 \pm 1.13$ 時間<sup>23)</sup>と報告されているため、アミノフィリン投与後24、48および72時間の血中濃度は定常状態における値と判断した。

#### 1-3-6) 統計学的解析方法

統計学的検討はANOVAを用いて行い、Duncan multiple-range testにより検定し、p値 0.05 以下を有意とした。

## 第2章 テオフィリンの交感神経系に及ぼす影響

### 第1節 序論

1962年にButcher とSutherland<sup>73)</sup> がcAMP分解酵素である PDE活性をメチルキサンチン類が阻害することを発見して以来、テオフィリンの気管支拡張作用は PDE活性阻害によるcAMPの細胞内レベルの増加によるものであるという仮説が広く認められてきた。しかしながら近年の研究の結果から、テオフィリンの治療有効濃度域でのcAMP分解抑制作用は弱く<sup>74-77)</sup>、また、強力な PDE活性阻害作用を有するジピリダモールを喘息患者に投与しても気管支拡張作用は認められず、さらにこの薬物はβ-交感神経刺激剤との併用においても相乗効果を示さない<sup>78)</sup> ことなどが次々に明らかとなり、PDE活性阻害作用以外の因子の関与の可能性が示唆されてきた。テオフィリンの気管支拡張作用以外の主な薬理作用として、中枢神経刺激作用、胃液分泌作用および利尿作用などが上げられるが、これらは最近ではアデノシン受容体拮抗作用で説明できることが明らかとなった<sup>79-81)</sup>。アデノシンは生体内に存在する生理機能調節物質であり、アデノシンの作用とテオフィリンの作用とは相反する部分が多く、これにより多くの点でテオフィリンの薬理作用の説明が可能となったが、アデノシン受容体拮抗作用を持たない新規キサンチン誘導体のエンプロフィリンがテオフィリンよりも気管支拡張作用が約 4-5倍強いことが明らかとなり<sup>82-84)</sup>、気管支拡張作用に関してはこの説で十分に説明できない。テオフィリンの他の細胞レベルの作用としては、プロスタグランジン拮抗作用<sup>85)</sup>、カルシウムの結合促進作用<sup>86)</sup>、交感神経系からのカテコールアミンの遊離作用<sup>27, 87-90)</sup> および甲状腺ホルモン分泌促進作用<sup>91)</sup> 等多数報告されている。また、テオフィリンの

臨床効果も気管支喘息以外に呼吸中枢刺激作用<sup>92, 93)</sup>、粘液線毛輸送能増加作用<sup>94)</sup>、新生児無呼吸症<sup>95-97)</sup>、Cheyne-Stokes 呼吸症<sup>98)</sup>、不可逆性の気道閉塞を有する慢性気管支炎<sup>99-101)</sup>、肺線維症<sup>102)</sup>等多岐にわたり、従ってこれらの臨床効果は、多くの薬理作用が総合的に働くことによりもたらされるのではないかと推察される。

テオフィリンの循環器系に見られる副作用である頻脈、心悸亢進、不整脈、期外収縮などは、カテコールアミンを介する心臓刺激作用に負うところが大きく<sup>74)</sup>、近年Vestalら<sup>27)</sup>は治療血中濃度域内でのテオフィリンによる血漿中エピネフリン濃度の有意な増大を報告している。内因性のエピネフリンは気管支平滑筋の緊張の正常化に重要な役割を果している。従って、テオフィリンによる交感神経系からのカテコールアミンの遊離増加作用はその治療効果に関連していると推察されるが、まだ明らかにされていない。以上の知見から本章ではテオフィリンの交感神経系に及ぼす影響について検討した。

## 第2節 急性小児喘息発作時のアミノフィリン点滴静注後の血中カテコールアミン濃度の変動

近年、テオフィリンの作用機序のひとつとして、交感神経系からのカテコールアミンの遊離増加作用の可能性が示唆されている<sup>27, 87-90)</sup>。特にメチルキサンチン類の心臓に対する作用におけるカテコールアミンの重要性はVestalら<sup>27)</sup>が明らかにしており、テオフィリンはその治療濃度域内で濃度依存的にエピネフリンとノルエピネフリンの血中濃度を上昇させ、それに関連した心拍数および収縮期圧の上昇、また、血中グルコース、脂肪酸およびインスリン濃度の増加をもたらすことが報告されている。一方、生理学的には内因性のカテコールアミンは平滑筋の緊張の調節に関与しているが、テオフィリンの治療血

Table IV.

Individual demographic and baseline data of nine children with an acute exacerbation of asthma when they were admitted

Subject No.	Sex	Age (yr)	Weight (kg)	Plasma theophylline ( $\mu\text{g/ml}$ )	Plasma E (pg/ml)	Plasma NE (pg/ml)	PEF (% of predicted)	Medication before admission*
1	M	6	21.5	0	47.0	99.6	48.1	Salbutamol
2	M	7	22.0	2.0	93.4	497.3	45.5	Salbutamol
3	M	7	26.0	0	141.9	448.6	11.1	Salbutamol
4	M	8	26.0	0	76.8	440.1	30.4	Cromolyn
5	F	9	22.8	0	75.4	702.7	13.0	Ketotifen
6	F	10	30.0	0	44.5	305.2	9.2	Cromolyn
7	M	10	35.0	0	58.2	290.0	18.8	Ketotifen plus cromolyn
8	F	12	33.6	0	19.2	292.0	21.5	Salbutamol
9	M	12	40.0	1.1	52.0	378.3	70.0	Cromolyn

\* Administered as intermittent (salbutamol) or long-term (cromolyn, ketotifen, or ketotifen plus cromolyn) oral doses; none of these drugs was used throughout the study period.

中濃度域内でのカテコールアミンの遊離促進作用が喘息症状の改善にどの程度関与しているかはまだ明らかにされていない。また、喘息患者における血中カテコールアミン動態に関する詳細な検討も行われていない。従って、本研究では急性発作時の小児喘息患者を対象として、アミノフィリン点滴静注後の血中カテコールアミン濃度の変動性について検討することを目的とした<sup>28)</sup>。

対象は9名の小児喘息患者で、その患者特性をTable IVに示した。入院時の最大呼出速度 (peak expiratory flow: PEF) は平均29.7%で $\beta$ 刺激剤単独では反応しない気道収縮を起こしており、全員アミノフィリン投与の対象であった。対象患児は感染症や肝臓あるいは腎臓疾患は無く、またテオフィリン代謝に影響する薬物も併用されておらず、また、重積発作を起こしている患児は対象からはずした。アミノフィリンの初回負荷量は血中テオフィリン濃度が治療域の10-20  $\mu\text{g/ml}$ になるようにアミノフィリン投与前の血中濃度に応じて調節し、以後1 mg/kg/mlで持続点滴静注を行った。また、患児のクリアランスが変動しやすいことを考慮して血中濃度を定期的に測定し、血中濃度が一定となるように維持量を調節した。

対象患児の入院時のPEF値、血中テオフィリンおよびカテコールアミン濃度をTable IVに示した。アミノフィリンの持続点滴静注によりPEF値は著明に改善し、テオフィリン血中濃度とPEF値は有意な相関を示した (Fig. 6)。Fig. 7にアミノフィリン投与後の血中エピネフリンおよびノルエピネフリン濃度の変化を示し、各時点での平均値をTable Vに示した。個人差は大きいものの、アミノフィリンの投与により血中エピネフリンおよびノルエピネフリン濃度は共に投与前値に比較して有意に増加した。しかしながら両カテコールアミンの経時変化には違いが認められ、ノルエピネフリンは投与72時間後も投与前値より高い濃度を示していたが、一方、エピネフリンは投与24時間値を最大としてその後血中濃度は低下していた。血中テオフィリン濃度はPEF値と強い相関性を有していたが、ノルエピネフリンおよびエピネフリンにはPEF値との相

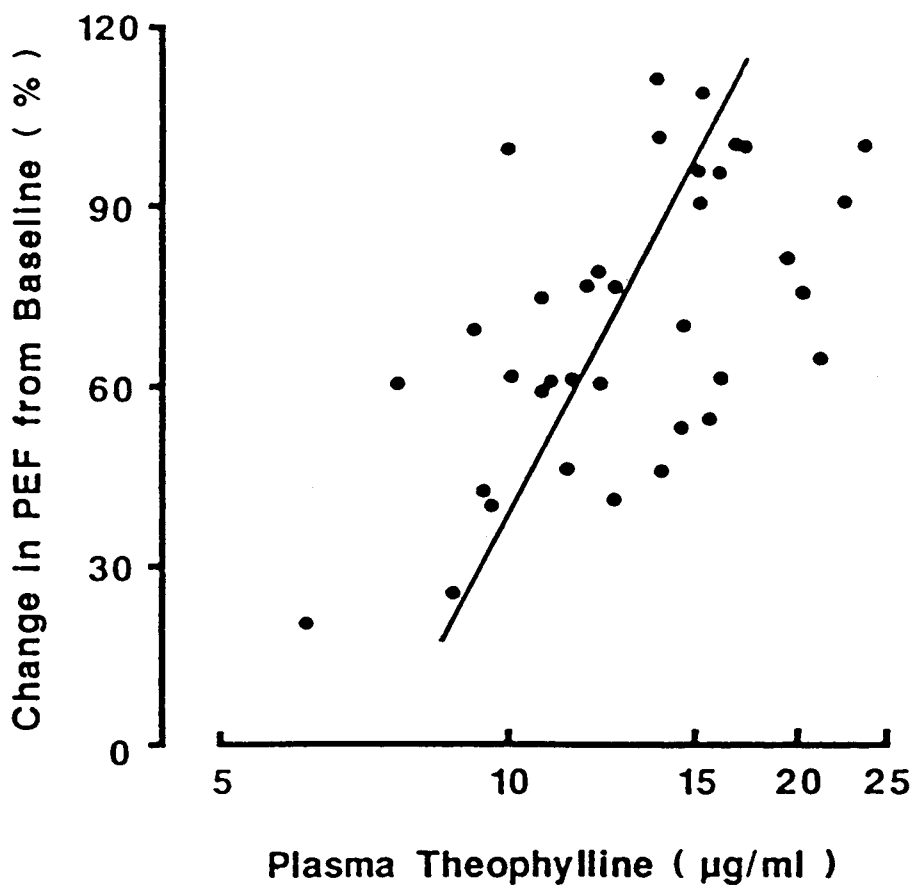


Fig. 6. Relationship between changes in peak expiratory flow (PEF) from baseline values and plasma theophylline concentrations. The coefficient of correlation ( $r = 0.504$ ) was statistically significant ( $p < 0.002$ ). The least-squares regression line is  $y = 381.7 \cdot \log x - 353.3$ .

関性は認められなかった。

アミノフィリン投与前の血中エピネフリン濃度は平均67.6 pg/mlでこの値はこれまでに健常成人で報告されてきた値<sup>27, 90, 103)</sup>とほぼ一致するが、血中ノルエピネフリン濃度は平均 383.8 pg/mlで健常人での値<sup>27, 90, 103)</sup>の約2倍であった。近年、本研究と同様の結果をIndら<sup>104)</sup>が15人の成人急性喘息患者で報告しており、これらの結果は、喘息の急性発作時には副腎髄質からのエピネフリン分泌より、交感神経終末からのノルエピネフリンの分泌のほうが優位であることを示唆するものである。Indらはまた、急性発作時にはエピネフリンの分泌が損なわれている可能性を示唆している<sup>104)</sup>。一方、アミノフィリン投与24時間後には、血中エピネフリンおよびノルエピネフリン濃度は投与前値に比較して各々平均257.2 および73.6 %増加しており、アミノフィリンにより副腎髄質における分泌がより強く引き起こされている可能性が示唆された。同様の結果は、カフェインについても報告されている<sup>105)</sup>。

本研究の結果では、血中エピネフリン濃度はアミノフィリン投与初期に $C_{max}$ を持ち、その後は投与前値に近づく傾向を示し (Fig.7)、PEF 値との相関性は認められなかった。しかし、これまでのいくつかの動物における実験では、テオフィリンの薬理効果が一部エピネフリンを介するものであるということを示唆されており<sup>89, 106)</sup>、また、nocturnal asthmaを対象とした臨床研究<sup>107)</sup>では血中エピネフリン濃度とPEF 値との有意な相関性が認められていることなどから、テオフィリンの投与初期に誘発されるエピネフリンは他の薬理作用と相加的あるいは相乗的に働いて気管支平滑筋の弛緩作用をもたらしたと推察される。一方、アミノフィリンによって引き起こされる心室細動も二相性のパターンを持っており<sup>108)</sup>、また、アミノフィリンの急速静注はしばしば不整脈を惹起する<sup>109-111)</sup>ことから、本研究で認めたような投与初期の血中エピネフリン濃度の急激な上昇はむしろアミノフィリンの心臓に対する副作用の原因となっている可能性もあり、この点に関して更に詳細な検討が必要である。

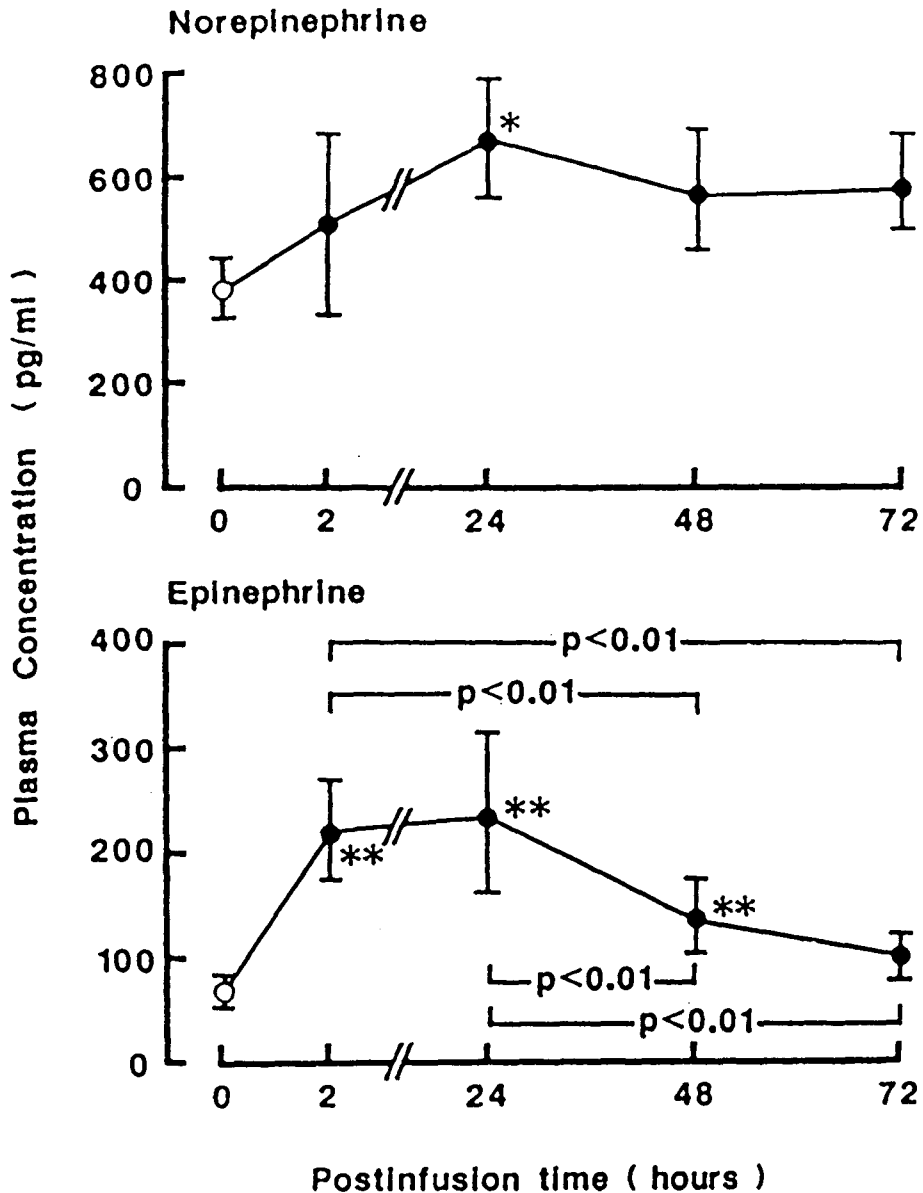


Fig. 7. Plasma norepinephrine and epinephrine concentrations before and during the 72-hour aminophylline infusion. The mean  $\pm$  SEM values are shown. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$  from the respective baseline values.



Table V. Plasma theophylline, PEF, and plasma catecholamine values before and after aminophylline infusion

	Baseline (preinfusion)	Time after aminophylline infusion			
		2 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Plasma theophylline concentration (µg/ml)	0.3 ± 0.2	9.4 ± 0.6	15.3 ± 1.2	16.1 ± 1.1	14.1 ± 1.3
PEF (% of predicted)	29.7 ± 6.9	49.1 ± 7.2*	64.4 ± 7.2*	89.4 ± 5.9*††	91.0 ± 5.6*††
Plasma NE concentration (pg/ml)	383.8 ± 56.0	505.4 ± 175.2	664.3 ± 125.1§	556.0 ± 138.8	570.0 ± 118.4
Plasma E concentration (pg/ml)	67.6 ± 11.8	214.9 ± 57.8*	233.7 ± 82.2*	137.6 ± 39.4*††	99.7 ± 24.1††

Values are mean ± SEM.

\**p* < 0.01 from the baseline value.

†*p* < 0.01 from the postinfusion 2-hour value.

‡*p* < 0.01 from the postinfusion 24-hour value.

§*p* < 0.05 from the baseline value.

### 第3節 本章のまとめ

急性発作時の小児喘息患者を対象としてアミノフィリン投与後の血中カテコールアミン動態に関する検討を行い、以下の知見を得た。

- 1) アミノフィリンの持続点滴静注により血中カテコールアミン濃度は投与前値に比較して有意に増加し、テオフィリンは副腎髄質に対しては一過性の、交感神経ニューロンには比較的持続性の刺激をもたらす可能性が示唆された。
- 2) 血中テオフィリン濃度はPEF値と強い相関性が認められたが、エピネフリンおよびノルエピネフリンにはこのような相関性は認められず、テオフィリンの抗喘息効果へのカテコールアミンの関与は、あるとしても投与初期である可能性が示唆された。
- 3) 急性喘息発作時の血中エピネフリン濃度は非発作時とほぼ一致するが、血中ノルエピネフリン濃度は非発作時の約2倍の値となっていることが明らかとなった。

## 第4節 実験の部

### 2-2-1) 試験薬剤

ネオフィリン® (エーザイ株式会社) を用いた。

### 2-2-2) アミノフィリン投与方法

アミノフィリン持続点滴静注はIVAC 530定速静注ポンプ (IVAC Corp.) を用いて行った。

### 2-2-3) 試料の採取方法

血液採取 (5 ml) はテオフィリン投与前および投与 2、24、48、72 時間後に行い、これ以外にも血中濃度のモニタリングの必要に応じて行った。検体は直ちに遠心分離し、分取した血漿を測定まで-80 °Cで凍結保存した。

### 2-2-4) PEF の測定方法

PEF はWright peak flow meterを用いて投与直後に3回測定を行い、その中で最も成績の良い値を使用した。

### 2-2-5) 血中テオフィリン濃度の測定方法

蛍光偏光免疫測定法を利用した全自動血中濃度測定装置 (TDX System、ダイナボット株式会社) によって50  $\mu$ l の血漿を用いて測定した。

### 2-2-6) 血中カテコールアミン濃度の測定方法

血中濃度は電気化学的検出器 (electrochemical detector: ECD) によりHPLC法<sup>112-114)</sup>で行った。測定条件および測定方法をFig. 8に示した。

Fig. 8. Determination of plasma catecholamine concentrations by high performance liquid chromatography

1) Instruments and Instrumental conditions

liquid chromatograph : Yanaco HPLC System with EC detector  
analytical column : 4 mm ID x 250 mm  
packing : Yanapak ODS-A C<sub>18</sub>  
column temperature : 25°C  
eluate : 88:12 (v/v) mixture of 0.1 mol/l of potassium phosphate buffer (pH 3.2) and methanol, with 2.5 mmol/l of octane sulfonate sodium and 10 µmol/l of sodium EDTA  
flow rate : 1.0 ml/min  
pressure : 100 kg/cm<sup>2</sup>  
applied electrode potential : 0.65 V against Ag/AgCl reference electrode  
recorder range : 5 mm/min

2) Procedures

2.0 ml plasma to a 8 cm centrifuge tube contained 30 mg activated alumina  
|  
1 ml of 1 mol/l Tris buffer (pH8.6) contained 3,4-dihydroxybenzylamine as an internal standard  
shake for 1 min  
|  
centrifuge at 600 x g for 3 min  
|  
remove the supernatant by aspiration  
|  
wash alumina with water by three times  
|  
extract by 200 µl of 0.2 N HCl with mixing  
|  
centrifuge at 600 x g for 3 min  
|  
inject 10 µl into the HPLC

#### 2-2-7) 統計学的解析法

統計学的検討は ANOVAを用いて行い、the least significant difference testにより検定した。p値 0.05以下を有意とした。回帰直線は最小自乗法を用いて算出した。

### 第3章 テオフィリン徐放性製剤の 正常人における体内動態の 比較および徐放性製剤の 溶出試験法の改善

#### 第1節 序 論

効果的なテオフィリンのRTC療法を行うためには、テオフィリンの血中濃度を10-20  $\mu\text{g/ml}$ に維持することが必要であることは良く知られている。しかしながら、喫煙者や小児は消失半減期が短いため<sup>7, 23, 60, 72, 115)</sup>、頻用されてきた裸錠の投与により血中濃度を有効域に保つためには、投与間隔を1日4-6時間にしなければならない<sup>7)</sup>。また、血中濃度を有効域に維持していてもその中での変動率が大きい場合には、喘息に対する効果もそれに付随して変動することが報告されている<sup>116, 117)</sup>。従って、血中濃度の変動を少なくすることによって効果を一定に保ち、さらに患者の服薬回数を減らすことによってコンプライアンスの向上を図るためには、吸収が完全でかつ吸収速度が適度に遅延しているような徐放性製剤の使用が必要不可欠である。テオフィリンの徐放性製剤は欧米では数多く開発されており、その数は約30種にもものぼると言われている<sup>16, 17)</sup>。近年それらの製剤に対し詳細な製剤学的評価の検討が行われているが、製剤の崩壊と薬物の溶出は異なる製薬会社が種々の異なる方法によってデザインしているため、吸収量や速度が製剤によって大きく違うことが報告されている<sup>14, 16)</sup>。従ってより効果的なRTC療法を行うためには、製剤間の吸収挙動の違いを的確に把握した上で適切な製剤を選択し、患者個々に適した投与間隔を設定することが必要となる。我が国においても2、3の徐放性製剤が入手可能であり、これらに対する各種病態および条件下での体内動態の検討が数多

く必要である。

一方、徐放性製剤のin vivoにおける生物学的利用能をin vitroで効率よく反映させた溶出試験法は現在までに確立されていない。本来溶出試験法は生体内での溶出性と高い相関性が得られるものが望ましいが、生体内では製剤は共存する食物、消化管の蠕動運動およびpHなどによって影響を受けるため、徐放性製剤の場合は特に薬物の溶出挙動に影響が出やすい。現在の日局における溶出試験法は品質保持のための試験であるため、試験液と回転数だけでin vivoとin vitroとの最も相関の高い試験条件を設定するのは難しいと考えられる。以上の知見から、本章では我が国で独自に開発されたテオフィリン徐放性製剤テオロング<sup>®</sup>の吸収特性およびビーズ法を用いた徐放性製剤のための溶出試験法の有用性について検討した。

## 第2節 テオドール<sup>®</sup>と新しい徐放性テオフィリン製剤の生物学的利用能および体内動態の比較検討

理想的な徐放性製剤は、薬物の吸収が完全でしかも個人内および個人間で吸収量に大きな差が無く、さらにある程度一定の速度で吸収されるような製剤である。本研究ではこのような製剤を目標として我が国で独自に開発された徐放性テオフィリン製剤テオロング<sup>®</sup>の吸収特性を、欧米ですでに広く用いられその有用性が認められているテオドール<sup>®</sup>と比較し、両製剤間の生物学的同等性と血中濃度-時間データよりその動態的挙動を比較検討することを目的とした<sup>29)</sup>。対象は非喫煙者の健康成人男子8名で、年齢20-29歳(25.8±2.8 平均値±SEM)、体重57.0-65.0 kg(59.8±2.8)であった。体内動態の比較試験方法は、両製剤の単回投与試験(400 mg)をランダム化して行った。テオロング<sup>®</sup>およびテオドール<sup>®</sup>を投与した後の各被験者の血中テオフィリン濃度-

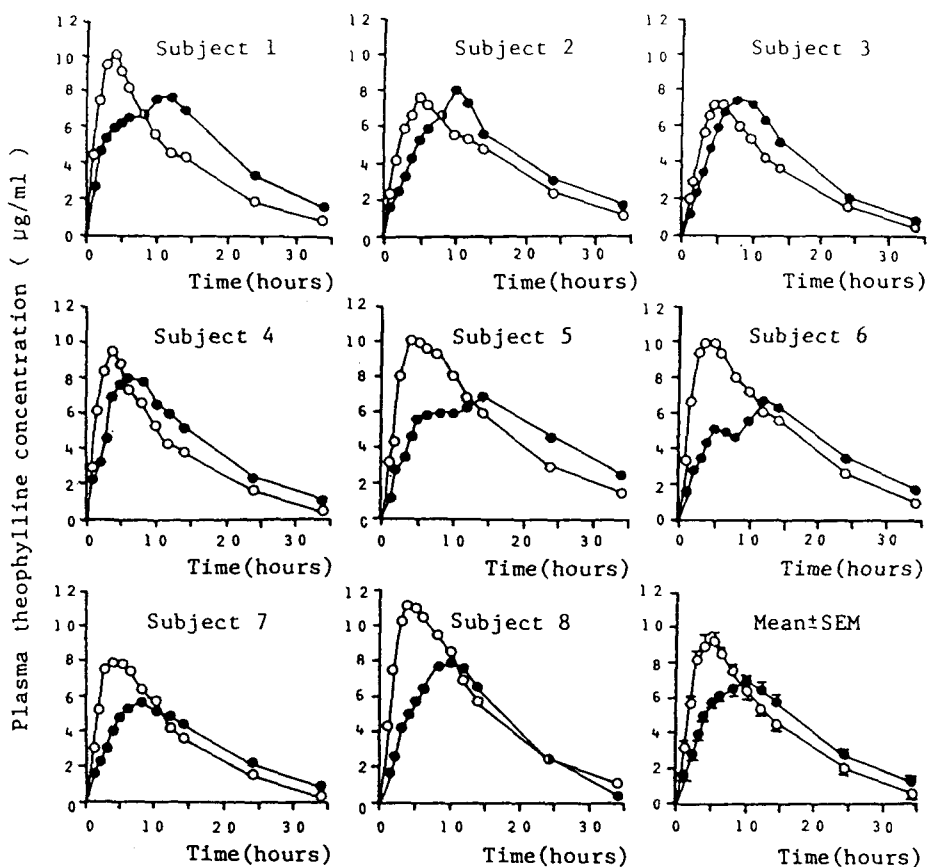


Fig. 9. Individual and mean ( $\pm$ SEM) plasma concentration-time profiles of theophylline after an oral administration of E-0686 400mg (○) or Theodur® (●) to 8 normal subjects.

Table VI.

Comparison of absorption characteristics between a newly developed slow-release theophylline formulation (E-0686) and the standard formulation (Theodur®) used as a reference (Mean $\pm$ SEM, n=8)

Formulation	AUC <sub>0-∞</sub> ( $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{ml}$ )	Relative bioavailability (%)	C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	T <sub>max</sub> (h)	MRT (h)
E-0686	153.9 $\pm$ 10.2 (116.3-194.8)	103.9 $\pm$ 2.8 (77.0-131.8)	9.3 $\pm$ 0.6* (7.2-11.3)	4.5 $\pm$ 0.2** (4.0-5.0)	14.5 $\pm$ 0.5* (13.1-16.4)
Theodur®	160.1 $\pm$ 10.7 (121.6-215.5)	—	7.3 $\pm$ 0.3 (5.7-8.1)	9.8 $\pm$ 0.9 (6.0-14.0)	18.1 $\pm$ 1.3 (14.4-25.8)

The observed ranges are indicated in parentheses. \* $p$ <0.01 and \*\* $p$ <0.001 compared to the value of reference product.



時間曲線をFig. 9に示した。これらの血中濃度-時間曲線から算出した両製剤の吸収特性の平均値および8名の被験者において観察された範囲をTable VIに示した。テオロング®の $AUC_{0-\infty}$ （血中濃度-時間曲線下面積）はテオドール®のそれにほぼ匹敵する値が得られ $AUC_{0-\infty}$ の比較によって算出された相対的生物学的利用能は、Table VIに示すように103.9%であった。従って、両製剤間の薬物吸収量は同等であることが認められた。

吸収速度の指標となる $T_{max}$ （最高血中濃度到達時間）および $C_{max}$ （最高血中濃度）に関しては、テオロング®の $T_{max}$ は全例が投与4-5時間後に現れ、テオドール®に比較して $T_{max}$ が有意に短いことが示された。 $C_{max}$ は8名中6名においてテオロング®の方が高い値を示し、有意なレベルに達していた。従って、テオロング®の方が吸収がより速やかに起こることが示唆された。また、モーメント解析により得られたMRT（mean residence time、平均体内滞留時間）はテオロング®の方が有意に短く約4時間の差が認められた。しかしながらTable VIに示すように個人間のバラツキは $T_{max}$ 、MRT共にテオドール®の方が大きかった。

Wagner-Nelson法<sup>11b)</sup>による累積吸収率の時間的推移をFig. 10に示した。テオロング®は投与後2時間で約50%が吸収され、4-5時間で約90%吸収されることが示された。一方、テオドール®は4時間で約50%、10-12時間で約90%吸収された。12時間までのテオドール®の吸収はテオロング®のそれに比較してより一定の速度で行われており、0次吸収に近い挙動を示した。

連続投与時の定常状態における予測血中濃度-時間曲線をFig. 11に示した。テオロング®およびテオドール®を半減期が8.2時間の患者に投与した場合、予測される最高血中濃度 $C_{max}$ はそれぞれ10.5  $\mu\text{g/ml}$ および12.5  $\mu\text{g/ml}$ であった。また $C_{max}$ と投与直前の予測血中濃度の差をとったpeak trough differenceはそれぞれ6.8  $\mu\text{g/ml}$ および2.8  $\mu\text{g/ml}$ であった。同様に半減期が3.7時間の患者に投与した場合の $C_{max}$ はテオロング®が18.6  $\mu\text{g/ml}$ 、テオ

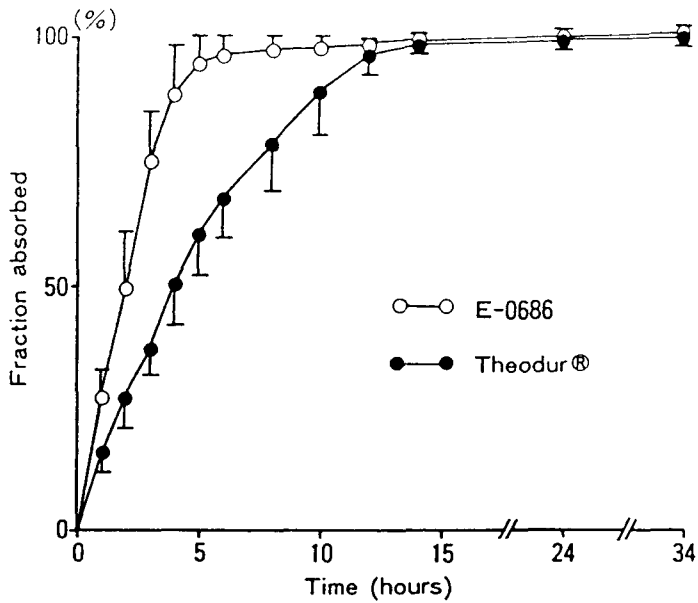


Fig. 10. Comparison of the fraction absorbed-time profiles between the two sustained-release theophylline formulations.

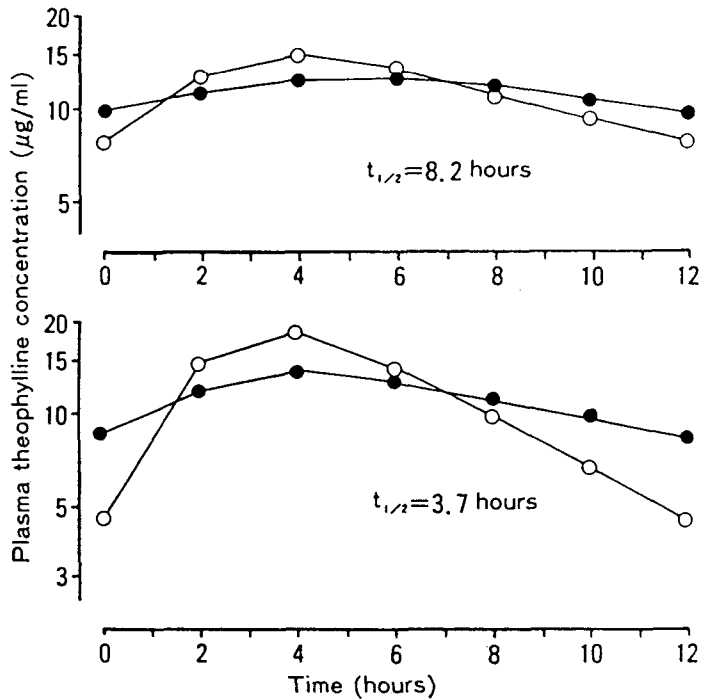


Fig. 11. Predicted steady-state plasma theophylline concentrations for an average adult ( $t_{1/2}=8.2$  hours, top graph) and an average child ( $t_{1/2}=3.7$  hours, bottom graph) receiving E-0686 (○) or Theodur® (●) every 12 hours.

ドール<sup>®</sup>が13.7  $\mu\text{g/ml}$ で、peak trough differenceはそれぞれ13.9  $\mu\text{g/ml}$ および4.9  $\mu\text{g/ml}$ であった。

テオドール<sup>®</sup>は100%の生物学的利用能を持ち、0次で薬物の溶出と吸収が行われると報告されており<sup>119, 121)</sup>、より理想に近い徐放性製剤である。Table VIおよびFig. 11に示すように、テオドール<sup>®</sup>の $T_{\text{max}}$ は十分に遅延しており、また、12時間にわたって吸収が持続することが示され、1日2回投与に見合う十分な持続性を有している徐放性製剤と考えられる。このことはHendelesら<sup>17)</sup>の方法に基づいて算出された連続投与時の予測血中濃度-時間曲線からも十分に裏付けられる。実際、この製剤は小児のように短い半減期を持つ場合にも、12時間の投与間隔で血中濃度を有効域に維持することができると報告されている<sup>16, 121)</sup>。一方、テオロング<sup>®</sup>の吸収量はテオドール<sup>®</sup>のそれに匹敵する値が得られたが $T_{\text{max}}$ はTable VIに示すように4-5時間で、個人差は少ないがテオドール<sup>®</sup>に比べて約半分の値であった。またFig. 10に示すように累積吸収率は投与後4-5時間で約90%のレベルに達しており、テオドール<sup>®</sup>に比較して吸収がより早いことが明らかにされた。患者の半減期が8時間程度であれば、テオロング<sup>®</sup>は1日2回投与でも有効域を大幅にはずれることなく、血中濃度を維持することができると予測されるが、それより短い半減期を持つ患者の場合は、血中濃度の変動率がテオドール<sup>®</sup>に比較して大きくなる可能性はFig. 11からも明らかである。いわゆる"rapid theophylline metabolizers"といわれる合併症を有していない小児喘息患者には、テオドール<sup>®</sup>の投与が臨床的には好ましいであろう。しかし心不全や肝硬変を伴う喘息患者<sup>45, 122)</sup>や、テオフィリンの肝代謝を遅延させる薬物<sup>35, 36)</sup>を併用している患者、高齢者<sup>34, 123)</sup>などは"slow theophylline metabolizers"と考えられることより、このような患者群へのテオロング<sup>®</sup>の適用は理論的には良いと考えられる。従って、これらの製剤の吸収特性を把握した上で、個々の患者のテオフィリンの代謝能に見合った投与計画を立てることが望まれる。

### 第3節 ビーズ法を用いた徐放性製剤の溶出試験法の改善

徐放性製剤の溶出試験法として、従来よりあるパドル法にビーズを併用することで、共存する食物や消化管の蠕動運動の溶出に対する影響をビーズの個数やパドルの回転数の変化として捕らえた方法を考案し、本研究ではその有用性について検討することを目的とした<sup>30)</sup>。ヒドロキシプロピルセルロース・H (HPC) および粉末状分離大豆タンパク (SBP) を用いて試験錠剤を調製し、ビーズ (材質: ポリスチレン、比重:  $1.05\text{g/cm}^3$ 、直径:  $6.3\text{ mm}$ 、ダイナボット株式会社) の個数およびパドル回転数を種々に変化させて溶出挙動を比較した。ビーズを200個または800個加えた場合の各回転数におけるビーズの挙動をFig. 12 に示した。

各回転数におけるSBP錠からのテオフィリンの溶出挙動に及ぼすビーズ個数の影響をFig. 13 に示した。SBP錠はどの回転数においてもビーズ個数の影響をほとんど受けていなかった。SBP錠での63.2%溶出時間 ( $T_{63.2\%}$ ) および24時間における溶出率 ( $D_{24}$ ) に対する回転数とビーズの個数の影響をFig. 14 に示した。回転数110 r/min、ビーズ約300個の条件で $T_{63.2\%}$  (a) が最も短くなっており、溶出が最も速い事が明らかとなった。従ってSBP錠の場合は、回転数やビーズの個数に比例はせず、錠剤に加えられる力が最大になる条件が存在する事が考えられた。 $D_{24}$  (b) を指標とした場合では、回転数では約100 r/minが、ビーズにおいてはほぼ800個のところで溶出率が最高となっている。また、4時間までの溶出率 ( $D_4$ ) については、回転数およびビーズの個数との間に相関性は認められなかった。SBPは水分を取り込み、粒子が膨潤するが錠剤自身は崩壊も溶解もせず、スポンジ様の構造を形成する。テオフィリンは膨張した錠剤の構成粒子間に存在する毛細管を通して放出される事により徐放化されていると推察されるが<sup>124, 125)</sup>、このような形はビーズの機械的な刺激や回転数の影響を受けにくいと考えられる。従って、SBP錠は試験条件の

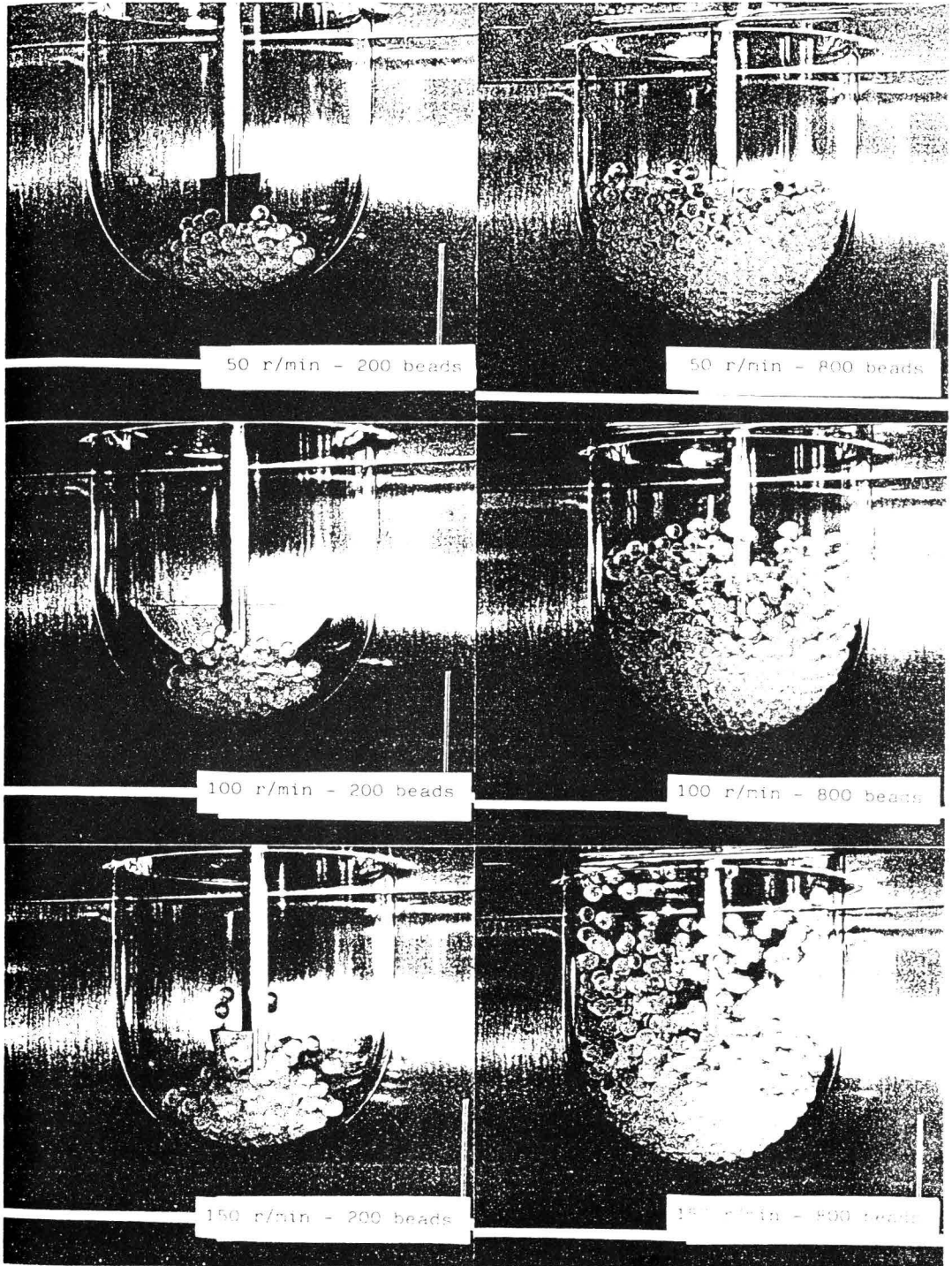


Fig. 12. The dissolution apparatus and behaviour of beads under different conditions.

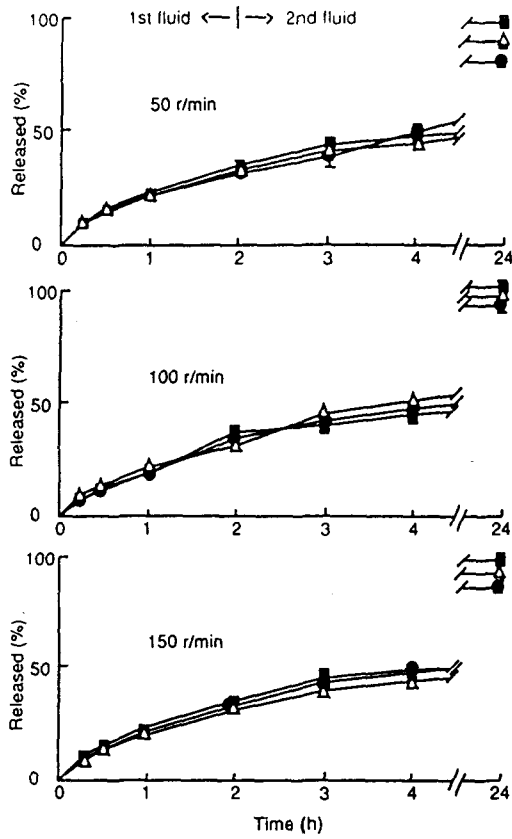


Fig. 13. Effect of beads on the release of theophylline from SBP tablet at three rotation speeds. Number of beads: 0 (●), 200 (Δ), 800 (■). Each point represents the mean  $\pm$  SD of three determinations.

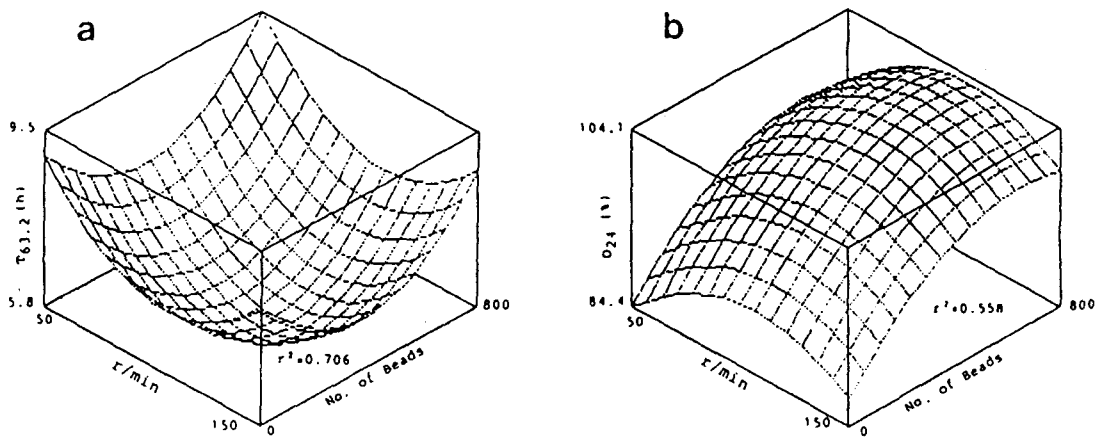


Fig. 14. Three-dimensional plots of  $T_{6.3.2}$  (a) and  $D_{24}$  (b) for SBP tablets as a function of the rotation speed and the number of beads

影響を受けにくく、持効性製剤として優れた点を備えていると判断される。

Fig. 15 に各条件におけるHPC錠からのテオフィリンの溶出曲線を示した。 $T_{63.2\%}$ 、 $D_4$ および $D_{24}$ と試験条件の関係をFig. 16に示した。ビーズ個数が少ない場合には、回転数の増加に伴い $T_{63.2\%}$  (a)は短くなり溶出が促進されていたが、ビーズ個数が多くなるに従い、回転数の影響はほとんど見られなくなっていた。 $D_4$  (b) および $D_{24}$  (c) 共にビーズ個数の増加と共に回転数の影響は小さくなり、800個ではすべての回転数で同様に最大溶出率を示していた。HPCは水分を取り込む事によって膨潤しゲル状となり、このゲルマトリックスが障壁効果を現す事によって薬物は徐放化される<sup>126, 127)</sup>。しかし、このゲル層はビーズが接触する事によって削り取られその結果、溶出が促進されると考えられる。このためビーズの影響が大きく現れ、その個数が多い場合には、回転数の影響はほとんど打ち消されてしまうのではないかと推察された。

回転数100 r/min、ビーズ個数0個および回転数150 r/min、ビーズ個数800個の2つの条件で測定した3種類の市販製剤の溶出曲線をFig. 17に示した。テオドール<sup>®</sup>とテオロング<sup>®</sup>は条件100 r/min - 0個に比べて条件150 r/min - 800個で溶出が明らかに促進されていた。一方、スロービッド<sup>®</sup>では100 r/min - 0個と150 r/min - 800個の間にほとんど差は認められず、これは徐放顆粒が溶解型ではなくSBP錠と同様に顆粒内に存在する間隙を通して放出するタイプであるためと推察された。テオドール<sup>®</sup>は種々の徐放顆粒とやはりテオフィリンを含むマトリックスからなるSingle-unit systemの錠剤であり、消化管内で完全に崩壊されるまでテオフィリンの溶出が続くように設計されている<sup>128)</sup>。おそらくHPC錠と同様にビーズの機械的刺激が崩壊を速め、溶出を促進したものと考えられる。テオロング<sup>®</sup>は徐放顆粒と薬物を含まない賦形剤よりなるMulti-unit systemの錠剤であるが、テオフィリンの放出はスロービッド<sup>®</sup>と比較してはるかに速い事が報告されている<sup>28, 129)</sup>。以上の結果から、製剤の原形を保ち、薬物放出が十分にコントロールされている製剤はビ

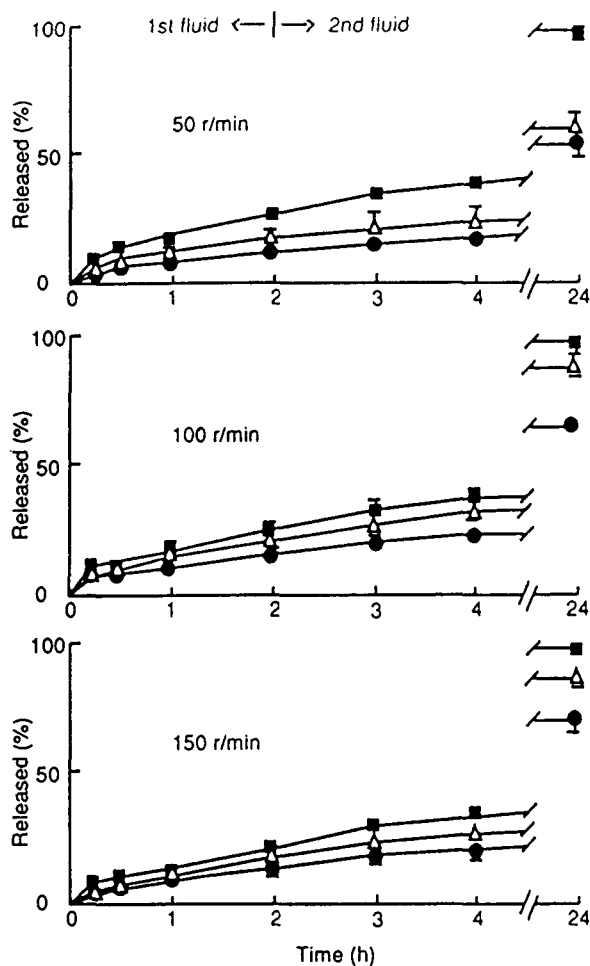


Fig. 15. Effect of beads on the release of theophylline from HPC tablet at three rotation speeds. Number of beads : 0 (●), 200 (Δ), 800 (■). Each point represents the mean  $\pm$  SD of three determinations.



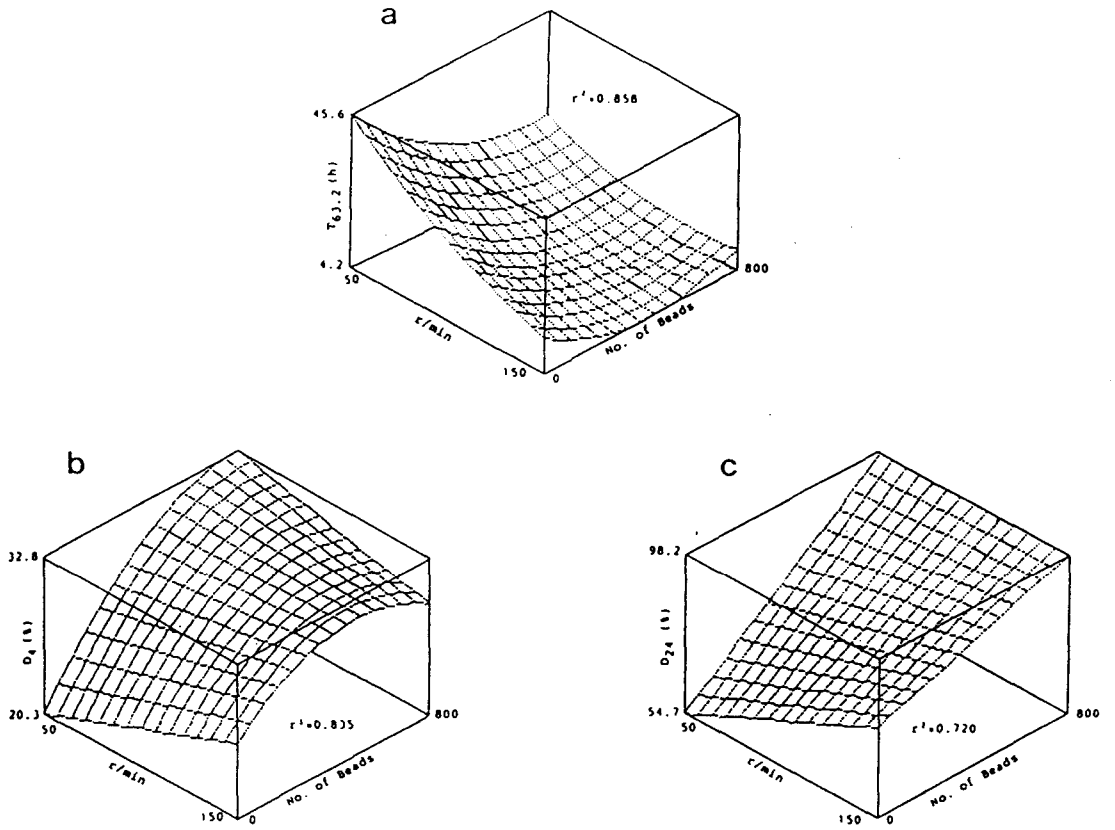


Fig. 16.

Three-dimensional plots of  $T_{63.2}$  (a),  $D_4$  (b) and  $D_{24}$  (c) for HPC tablets as a function of the rotation speed and the number of beads.

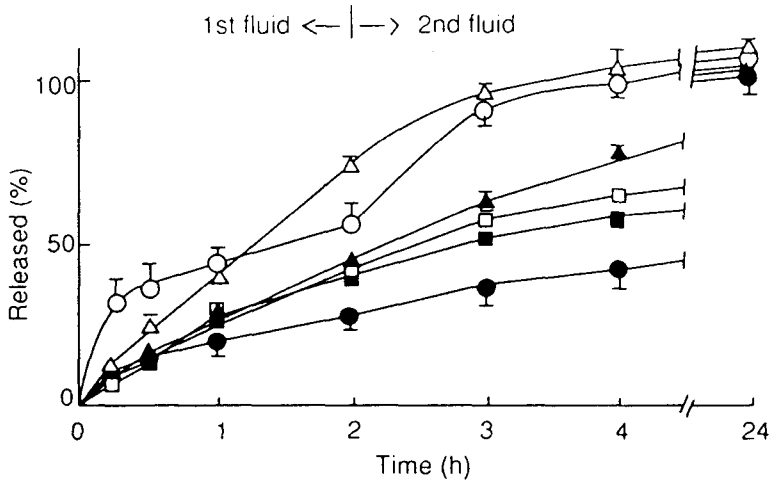


Fig. 17. Effect of testing conditions on the release profiles of theophylline from three commercial sustained-release preparations, Theo-Dur® (○, ●), Theolong® (△, ▲) and Slo-bid® (□, ■). The open and filled symbols represent mean ± SD of three determinations under the conditions of 150 r/min with 800 beads, and 100 r/min without beads, respectively.

Table VII. The *in vitro/in vivo* correlation parameters for Theo-Dur® tablets obtained by linear regression analysis.

Test condition		<i>In vitro/in vivo</i> correlation	
Rotation speed	Number of beads	Slope	r
50 r/min	0	2.721	0.918
	200	0.796	0.968
	800	1.055	0.993
100 r/min	0	0.843	0.968
	200	0.961	0.983
	800	0.916	0.922
150 r/min	0	1.004	0.991
	200	1.085	0.997
	800	0.940	0.888

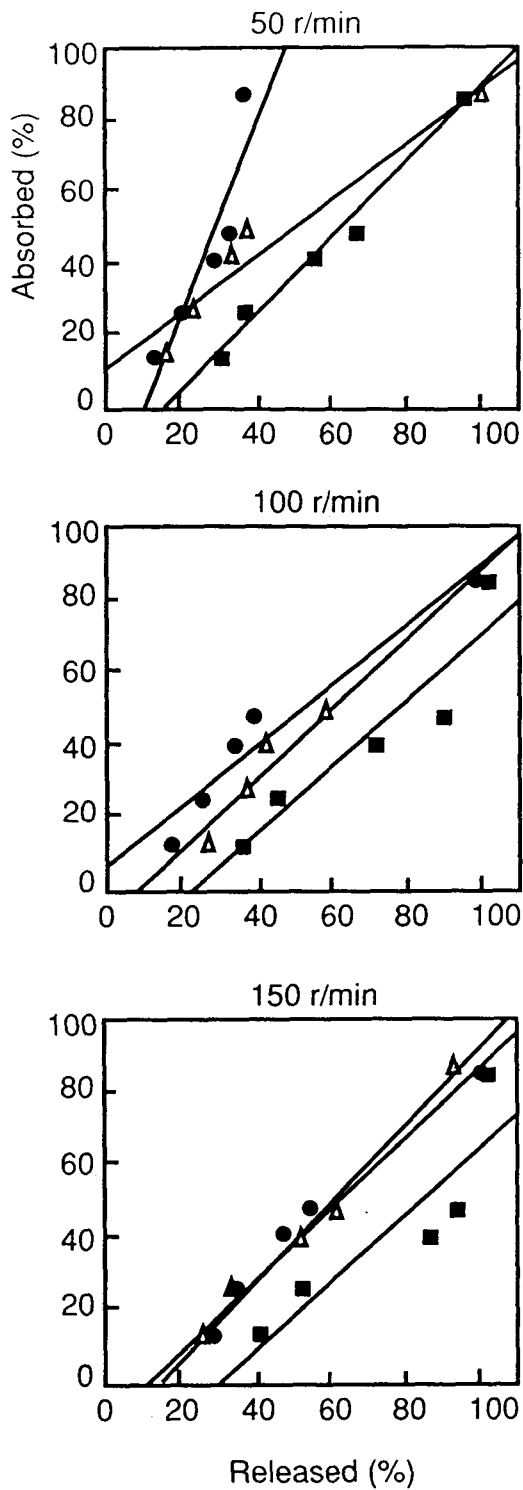


Fig. 18. Plots of the percentage absorbed *in vivo* versus the percentage dissolved *in vitro* from Theo-Dur<sup>®</sup> measured under the various conditions.

Number of beads : 0 (●), 200 (Δ), 800 (■).

ーズ法に影響を受けないと考えられる。

回転数を50、100、150 r/min、ビーズの個数を0、200、800個とした計9種類の条件で行った結果から得られた溶出曲線と文献値<sup>130)</sup>から算出したin vivoでの薬物の吸収曲線を比較し、Table VIIおよびFig. 18に各溶出条件における溶出率とin vivoにおける吸収率の関係を示した。この直線の傾きと相関係数が1に近いほど、その溶出試験条件は本製剤のin vivoでの溶出を予測するのに適した条件であると考えられるが、Table VIIに示したように9種類の条件のうちで50 r/min - 800個および150 r/min - 200個の条件における測定値が特に高い相関性を持つ事が明らかとなった。

#### 第4節 本章のまとめ

テオフィリン徐放性製剤のin vivoにおける体内動態およびin vitroにおける溶出試験法について検討した結果、以下の知見を得た。

- 1) テオロング<sup>®</sup>とテオドール<sup>®</sup>の生物学的同等性を検討した結果、量的な生物学的利用能は同等であるが、速度的な生物学的利用能には有意な差が認められた。
- 2) テオロング<sup>®</sup>に比較してテオドール<sup>®</sup>の $T_{max}$ は十分に遅延しており、また、12時間に渡って吸収が持続することが示され、1日2回投与に見合う十分な持続性を有している徐放性製剤と考えられる。従って、テオドール<sup>®</sup>の方が製剤学的評価からはより好ましい製剤である事が明らかとなった。

- 3) パドルの回転数とビーズの個数を組み合わせる事により徐放性製剤の生体内での溶出に最も近い条件を設定する事が可能となった。
- 4) ビーズの添加によって溶出性が大きく変動しない製剤は、in vivo においても食事などの機械的刺激の影響を受けにくい製剤である事が予測され、本法を用いる事により食事の影響を検討する際の補助的な情報を得る事が可能となった。

## 第5節 実験の部

### 3-2-1) 試験薬剤

テオドール<sup>®</sup> (三菱化成工業株式会社) およびテオロング<sup>®</sup> (エーザイ株式会社) を用いた。

### 3-2-2) 試験方法

被験者には投与24時間前から試験終了までキサントシン含有飲食物 (例えばコーヒー、コーラなど) の摂取を禁止した。試験方法はテオフィリン400 mgの単回経口投与試験とし、cross-over法で行い、少なくとも一週間の休薬期間をおいた。吸収の日内変動を考慮して、2回の薬物投与は正確に同時刻に行った。被験者を一晩絶食させた後、テオドール<sup>®</sup> とテオロング<sup>®</sup> のそれぞれ 2錠 (総投与量400 mg) を投与した。被験者は 4時間目の採血まで絶食とし、それ以降の飲食物の摂取は自由とした。

### 3-2-3) 試料の採取方法

採血は投与直前および投与各1、2、3、4、5、6、8、10、12、14

24、34時間後に行い、各々3 mlを採取した。検体は測定まで-20 °Cで凍結保存した。

### 3-2-4) 血中濃度の測定方法

HPLC法によりFig. 5に示した方法で測定した。

### 3-2-5) 体内動態の解析方法

両製剤の血中濃度-時間曲線から $C_{max}$ 、 $T_{max}$  および $AUC_{0-\infty}$  を求め、また、モーメント解析法<sup>131)</sup>を用いて平均体内滞留時間を算出した。さらに吸収後の体内挙動が1-コンパートメントモデルで表されるものと仮定して、Wagner-Nelson法<sup>119)</sup>に従い各製剤からの累積吸収率の時間的推移を算出した。また、この累積吸収率の値を用いて、Hendeleら<sup>17)</sup>の方法に従いこれらの製剤を半減期 3.7時間(小児の平均値)<sup>66)</sup> および 8.2時間(健康非喫煙成人の平均値)<sup>132)</sup>の患者に連続投与した時の定常状態における予測血中濃度-時間曲線を算出した。ただし両製剤とも投与間隔は12時間、定常状態における平均血中濃度は12  $\mu\text{g/ml}$ に設定した。相対的生物学的利用能は血中濃度-時間曲線のテオフィリン減退スロープ(apparent declining slope、徐放性製剤であるのでいわゆる裸錠投与後の排泄速度定数  $K_{el}$ とは異なる)を補正した(4)式で算出した。

相対的生物学的利用能 =  $([AUC]_0^{\infty} \text{テオロング}^{\text{®}} / [AUC]_0^{\infty} \text{テオドール}^{\text{®}}) \times$

$[\text{declining slope}] \text{テオロング}^{\text{®}} / ([\text{declining slope}] \text{テオドール}^{\text{®}})$

----- (4)

### 3-2-6) 統計学的解析方法

統計学的検討はStudent のt 検定を用いて行い、p値0.05以下を有意とした。

### 3-3-1) 試薬および試験薬剤

テオフィリン (Sigma Chemical Co.)、HPC-H (日本曹達株式会社)、SBP (富士製油株式会社)、テオドール<sup>®</sup> (三菱化成工業株式会社)、テオロング<sup>®</sup> (エーザイ株式会社)、スローピッド<sup>®</sup> カプセル (ローラージャパン株式会社) をそれぞれ用いた。

### 3-3-2) 試験錠剤の調製方法

1錠あたりテオフィリン 100 mg を含有するようにSBP またはHPC をそれぞれ単独で賦形剤として配合し乳鉢内でよく混和した後、1錠あたり 300 mgとなるように秤取して1615 kg/cm<sup>2</sup>、15 秒の条件でIR用油圧式プレス (シリンダー径 4.27 cm、島津産業株式会社) を用い直接圧縮法により製錠した。

### 3-3-3) 溶出試験方法

パドル法に準じ、プラスチックビーズの個数を 0、200、800個、パドル回転数を50、100、150 r/min とし、これらを組み合わせた条件で行った。試験液は 2時間までは第 1液、以後は第 2液をそれぞれ 800 ml 用いた。試験開始、15、30 分、1、2、3、4、24時間後にそれぞれ試験液を10 ml ずつ採取し採取後は同量の試験液を補充した。

### 3-3-4) テオフィリン濃度の測定方法

紫外外部吸収により、分光光度計 (U best-30、日本分光株式会社) で測定

波長271nm の吸光度を測定し、検量線より求めた。

### 3-3-5) 溶出試験結果の解析方法

各時間の溶出率を用いてWeibull 法<sup>133)</sup>によりカーブフィッティングを行い、各製剤の各条件における $T_{63.2\%}$ を求めた。また、 $D_4$ 、 $D_{24}$  および  $T_{63.2\%}$ と試験条件との関係は重回帰分析により解析し、これを 3次元グラフ化した。テオドール<sup>®</sup>については文献値<sup>130)</sup>から得た 200 mg 経口投与後の血中濃度データとテオフィリン静注後の血中濃度を(5)式を用いてシュミレーションして得た経時的血中濃度を用い、Wagner- Nelson法<sup>118)</sup>によりテオドール<sup>®</sup> 経口投与後の経時的吸収率を求め、各条件で得た *in vitro* での溶出曲線と比較した。

$$\text{血中濃度 } (\mu\text{g/ml}) = C_0 \times e^{-k_{el} \cdot t} \quad \text{----- (5)}$$

ここで $C_0$ は初濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) を、 $k_{el}$  は排泄速度定数 ( $\text{h}^{-1}$ ) を、 $t$  は投与後の時間 ( $\text{h}$ ) を意味する。



## 総 括

気管支喘息治療薬であるテオフィリンを有効かつ安全に臨床使用するためにこの薬物の臨床薬理学および薬剤学的検討を行い、以下のような知見を得た。

- 1) 喘息患者の中にはテオフィリンの体内動態がMichaelis-Menten kinetics に適合する患者が少なからず存在し、これらの患者においてはテオフィリン最大代謝速度 $V_{max}$ は年齢と相関し、フェニトインと類似した体内動態を持つ事が明らかとなった。
- 2) 急性喘息発作を起こしている小児の初期クリアランスは非発作時に比較して著明に低く、また、クリアランスは経時的にまたは症状の改善と共に上昇し短時間内に大きく変動する事が明らかとなった。このことから喘息発作の急性期に得られたクリアランス値はその後の維持投与設計を行うための正確な動態値とならない事が示唆された。
- 3) アミノフィリンの持続点滴静注により血中カテコールアミン濃度は有意に増加し、エピネフリンは一過性の、ノルエピネフリンは持続的な増加の傾向を示した。血中テオフィリン濃度はPEF 値と有意に相関したが、血中カテコールアミン濃度にはこのような相関性は認められなかった。従って、増加したカテコールアミンの抗喘息効果への関与は、あるとしても投与初期である可能性が示唆された。
- 4) テオロング® の相対的生物学的利用能と体内動態をテオドール® を対照標準薬剤として比較検討した結果、両製剤の量的な生物学的利用能は同等であるが、その速度に差がある事が明らかとなった。従ってテオロング® を

排泄速度の速い慢性喘息あるいは慢性閉塞性肺疾患患者に投与する場合には、テオドール<sup>®</sup>より頻回の投与回数が必要であると考えられる。

- 5) 徐放性製剤のための溶出試験法として従来からある溶出試験のパドル法にビーズ法を取り入れた方法について検討し、パドル回転数とビーズ個数を組み合わせる事により生体内での薬物の溶出に最も近い条件を設定する事が可能となった。

近年我が国では血中濃度を指標として個々の患者に至適投与量を決定して管理する個別投与設計、すなわち TDM (Therapeutic Drug Monitoring) が推奨されている。現在では特定薬剤治療管理料としてテオフィリン血中濃度測定が健康保険適用となり“診断のための検査”とは別な“治療のための検査”が確立しつつある。TDM の導入は副作用発現頻度の低下、入院日数の短縮、併用薬物の減量、ステロイド依存症例の減少等、経済的効果も含め著明な効果を認めたと具体的な報告もなされている<sup>134)</sup>。しかし、患者個々の病態に対応した TDMを行うためには、各種病態下での臨床薬物動態値に基づいて薬物動態理論を応用し、至適投与量と投与間隔を決定し、その場合でも病態(増悪期か慢性期か)、年齢、肝および腎機能などを考慮しながら再調整を繰り返していくことが必要である。今後 TDM が益々定着し患者個々にきめ細かいテオフィリン療法が行われる事が望まれるが、本研究で得られた知見はテオフィリンの TDM を行っていくに当たり有益な情報となるものと考えられる。

## 謝 辞

本研究に際しまして終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました星薬科大学永井恒司教授、国立病院医療センター臨床研究部部長 石崎高志博士並びに前国立病院医療センター小児科医長 山口正司博士に深甚なる謝意を表します。

また、有益なる御助言と御指導を賜りました国立病院医療センター臨床薬理研究室並びに小児科の諸先生方に深く感謝申し上げます。

さらに本研究の遂行に当たり、絶えざる御助言、御協力を賜りました星薬科大学 町田良治助教授、高山幸三講師並びに星薬科大学薬剤学教室教室員の方々に深く感謝申し上げます。

## 引 用 文 献

- 1) C.W. Zwillich, F.D. Jr. Sutton, T.A. Neff, W.M. Cohn, R.A. Matthay and M. Weinberger, *Ann. Intern. Med.*, 82, 784 (1975).
- 2) R.I. Ogilvie, *Clin. Pharmacokinet.*, 3, 267 (1978).
- 3) L. Hendeles, M. Weinberger and G. Johnson, *Clin. Pharmacokinet.*, 3, 294 (1978).
- 4) K.M. Piafsky and R.I. Ogilvie, *New Engl. J. Med.*, 292, 1218 (1975).
- 5) L. Hendeles, M. Weinberger and R. Wyatt, *Am. J. Dis. Child.*, 132, 876, (1978).
- 6) J.W. Jenne, E. Wyze, F.S. Rood and F.M. McDonald, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 13, 349 (1972).
- 7) E. Ginchansky and M. Weinberger, *J. Pediatr.*, 91, 655 (1977).
- 8) P. Rangsitienchai and R.W. Newcomb, *J. Pediatr.*, 91, 325 (1977).
- 9) 石崎高志、鈴木洋通、治療、61, 99 (1979).
- 10) M.J. Gardner and W.J. Jusko, *Pediatr. Pharmacol.*, 2, 157 (1982).
- 11) J.R. Powell, S. Vozeh, P. Hopewell, J.F. Costello, L.B. Sheiner and S. Riegelman, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 118, 229 (1978).
- 12) S. Vozeh, J.R. Powell, S. Riegelman, J.F. Costello, L.B. Sheiner and P. Hopewell, *J.A.M.A.*, 240, 1882 (1978).
- 13) A.H. Staib, D. Loew, S. Harder, E.H. Graul and R. Pfab, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 30, 691 (1986).
- 14) M. Weinberger, L. Hendeles and L. Bighley, *N. Engl. J. Med.*, 299, 852 (1978).
- 15) M. Weinberger, L. Hendeles, L. Wong and L. Vaughan, *J. Pediatr.*,

- 99, 145 (1981).
- 16) L. Hendeles and M. Weinberger, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 76, 285 (1985).
  - 17) L. Hendeles, R.P. Lafrate and M. Weinberger, *Clin. Pharmacokinet.*, 9, 95 (1984).
  - 18) L.J. Lesko, *Clin. Pharmacokinet.*, 4, 449 (1979).
  - 19) M. Weinberger and E. Ginchansky, *J. Pediatr.*, 91, 820 (1977).
  - 20) E. Sarrazin, L. Hendeles, M. Weinberger, K. Muir and S. Riegelman, *J. Pediatr.*, 97, 825 (1980).
  - 21) S. Pancorbo, J. Benson, D. Goetz, K. Moore, A. Vaida and D. Johnson, *Ther. Drug Monit.*, 5, 173 (1983).
  - 22) T. Ishizaki and M. Kubo, *Ther. Drug monit.*, 9, 11 (1987).
  - 23) T. Wyatt, M. Weinberger and L. Hendeles, *J. Pediatr.*, 92, 125 (1978).
  - 24) M. Kubo, Y. Odajima, T. Ishizaki, S. Kanagawa, M. Yamaguchi and T. Nagai, *J. Pediatr.*, 108, 1011 (1986).
  - 25) M.S. Amer and W.E. Kreighbaum, *J. Pharm. Sci.*, 64, 1 (1975).
  - 26) 黒沢元博、石塚 全、小林節雄、医学のあゆみ、134, 1121 (1985).
  - 27) R.E. Vestal, C.E.Jr. Eiriksson, B. Musser, L.K. Ozaki and J.B. Halter, *Circulation*, 67, 162 (1983).
  - 28) T. Ishizaki, A. Minegishi, M. Morishita, Y. Odajima, S. Kanagawa, T. Nagai and M. Yamaguchi, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 82, 146 (1988).
  - 29) 森下真莉子、永井恒司、石崎高志、菅沼利之、串田桂子、峰岸明美、アレルギー、35, 1099 (1986).
  - 30) Y. Machida, M. Morishita, M. Iwata, K. Takayama and T. Nagai,

- S.T.P. PHARMA SCIENCES, 2, 235 (1992).
- 31) J.W. Jenne, H.T. Nagasawa and R.D. Thompson, Clin. Pharmacol. Ther., 19, 375 (1976).
  - 32) H.H. Cornish and A.A. Christman, J. Biol. Chem., 228, 315 (1957).
  - 33) D.D. Tang-Liu, R.L. Williams and S. Riegelman, Clin. Pharmacol. Ther., 31, 358 (1982).
  - 34) L. Hendeles and M. Weinberger, Drug Intell. Clin. Pharm., 14, 522 (1980).
  - 35) J.E. Jackson, J.R. Powell, M. Wandell, J. Bentley and R. Dorr, Am. Rev. Resp. Dis., 123, 615 (1981).
  - 36) M. Weinberger, D. Hudgel, S. Spector and C. Chidsey, J. Allergy Clin. Immunol., 59, 228 (1977).
  - 37) R.A. Upton, Clin. Pharmacokinet., 20, 66 (1991).
  - 38) L. Hendeles and M. Weinberger, Pharmacol. Ther., 18, 91 (1982).
  - 39) P.P. Kozak, L.H. Cummins and S.A. Gillman, J. Allergy Clin. Immunol., 16, 149 (1977).
  - 40) J.J. Crowley, B.J. Cusack, S.G. Jue, J.R. Koup, B.K. Park and R.E. Vestal, J. Pharmacol. Exp. Ther., 245, 513 (1988).
  - 41) K.C. Chang, B.A. Lauer, T.D. Bell and H. Chai, Lancet, 1, 1132 (1978).
  - 42) M.J. Kraemer, C.T. Furukawa, R.K. Jeffrey, G.G. Shapiro, W.E. Pierson and C.W. Bierman, Pediatrics, 69, 476 (1982).
  - 43) A. Kappas, K.E. Anderson and A.H. Conney, Clin. Pharmacol. Ther., 18, 425 (1975).
  - 44) S. Pedersen and J. Moeller-Retersen, Allergy, 37, 531 (1982).
  - 45) C.K. Svensson, D.J. Edwards, P.M. Mauriello, S.H. Barde, Clin.

- Pharmacol. Ther., 34, 316 (1983).
- 46) S.N. Hunt, W.J. Jusko and A.N. Yurchak, Clin. Pharmacol. Ther., 19, 546 (1976).
- 47) Y. Horai, T. Ishizaki, T. Sasaki, M. Watanabe and J. Kabe, Eur. J. Clin. Pharmacol., 23, 111 (1982).
- 48) K.M. Piafsky, D.S. Sitar, R.E. Rango and R.L. Ogilvie, N. Engl. J. Med., 296, 1495 (1977).
- 49) P.R. Yarnell and N. Chu, Neurology, 25, 819 (1975).
- 50) S.M. Ehlers, D.E. Zaske and R.J. Sawchuk, J.A.M.A., 240, 474 (1978).
- 51) G.D. Park, R. Spector, R.J. Roberts, M.J. Goldberg, D. Weismann, A. Stillerman and M.J. Flanigan, Am. J. Med., 74, 961 (1983).
- 52) R. Gugler, C.V. Manion and D.L. Azarnoff, Clin. Pharmacol. Ther., 191, 135 (1976).
- 53) P. Mullen and R. Foster, J. Pharm. Pharmacol., 31, 100 (1979).
- 54) K. Chiba, T. Ishizaki, H. Miura and K. Minagawa, J. Pediatr., 96, 479 (1980).
- 55) G.H. Koeter, J.H.G. Jonkman, K.de Vries, R. Schoenmaker, J.E. Greving and R.A. de Zeeuw, Br. J. Clin. Pharmacol., 12, 647 (1981).
- 56) V. Rovei, F. Chanoine and S. Benedetti, Br. J. Clin. Pharmacol., 14, 769 (1982).
- 57) P.A. Brown, L.J. Dusci and G.M. Shenfield. Eur. J. Clin. Pharmacol., 24, 525 (1983).
- 58) Y. Horai, T. Ishizaki, T. Sasaki, K. Chiba, T. Suganuma, H. Echizen, and A. Onishi, Eur. J. Clin. Pharmacol., 24, 79 (1983).

- 59) T. Ishizaki, Y. Horai, T. Sasaki, K. Chiba, A. Onishi, T. Suganuma, G. Tsujimoto and H. Echizen, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 24, 361 (1983).
- 60) J.J. Grygiel and D.J. Birkett, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 30, 491 (1981).
- 61) A.S. Nies, D.G. Shand and G.R. Wilkinson, *Clin. Pharmacokinet.*, 1, 135 (1976).
- 62) J.J. Grygiel, H. Ward, M. Ogborne, A. Goldin and D.J. Birkett, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 24, 529 (1983).
- 63) J.G. Wagner, *Clin. Pharmacokinet.*, 10, 432 (1985).
- 64) R. Dahlqvist, B. Billing, J.O. Miners, D.J. Birkett., *Ther. Drug Monit.*, 6, 290 (1984).
- 65) T.M. Ludden, J.P. Allen, W.A. Valutsky, A.V. Vicuna, J.M. Nappi, S.F. Hoffman, J.E. Wallace, D. Laika and J.L. McNay, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 21, 287, (1977).
- 66) E.F. Ellis, R. Koysooko and G. Levy, *Pediatrics*, 58, 542 (1976).
- 67) P. Souich, A.J. Mclean, D. Laika, S. Erill and M. Gibaldi, *Clin. Pharmacokinet.*, 3, 257 (1982).
- 68) J. W. Jenne, *Chest*, 81, 529 (1982).
- 69) I. Kishimoto, Y. Tanigawara, K. Okumura and R. Hori, J. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 248, 1237 (1988).
- 70) R.F. Adams, F.L. Vandemark and G.J. Schmidt, *Clin. Chem.*, 22, 1903 (1976).
- 71) T. Ishizaki, M. Watanabe and N. Morishita, *Br. J. Clin. Pharmacol.* 7, 333 (1979).
- 72) P.M. Loughnan, D.S. Star, R.I. Ogilvie, A. Eisen, Z. Fox and A.H.



- Neims, J. *Pediatr.*, 88, 874 (1976).
- 73) R.W. Bucher and E.W. Sutherland, *J. Biol. Chem.*, 237, 1244 (1962).
- 74) T.W. Rall., In: A.G. Gilman, L.S. Goodman, T.W. Rall and F. Murad, eds. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7th ed. New York: MacMillan, 589 (1985).
- 75) D.F. Horrobin, M.S. Manku, D.J. Franks and P. Hamet, *N. Engl. J. Med.*, 297, 1181 (1977).
- 76) J.B. Polson, J.J. Krzanowski, D.F. Fitzpatrick and A. Szentivanyi, *Biochem. Pharmacol.*, 27, 254 (1978).
- 77) J.B. Polson, J.J. Krzanowski, A.L. Goldman and A. Szentivanyi, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 5, 535 (1978).
- 78) R.E. Ruffin and M.T. Newhouse, *Eur. J. Respir. Dis.*, 62, 123 (1981).
- 79) C.G.A. Persson, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 78, 780 (1986).
- 80) C.G.A. Persson, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 78, 817 (1986).
- 81) 守時英喜、薬局、42, 161 (1991).
- 82) L.C. Laursen, *Dan. Med. Bul.*, 34, 289 (1987).
- 83) B.B. Fredholm and C.G.A. Persson, *Eur. J. Pharmacol.*, 81, 673 (1982).
- 84) C.G.A. Persson, *Agents Actions*, 13, 115 (1983).
- 85) D.F. Horrobin, M.S. Manku, D.J. Franks and P. Hamet, *Prostaglandins*, 13, 33 (1977).
- 86) R.C. Kolbeck, W.A. Jr. Speir Jr., G.O. Carrier and E.D.C. Jr. Bransome, *Lung*, 156, 173 (1979).
- 87) M.J. Peach, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69, 834 (1972).

- 88) A.M. Poisner, *Biochem. Pharmacol.*, 22, 469 (1973).
- 89) O. Strubelt, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 179, 215 (1969).
- 90) M.D. Higbee, M. Kumar and S.P. Galant, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 70, 377 (1982).
- 91) M. Hiratani, K. Muto, Y. Oshida, S. Ito, M. Kasei, S. Ueda and T. Sato, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 70, 481 (1982).
- 92) T. Gerhardt, J. MacCarthy and E. Bancalari, *Pediatr. Res.*, 17, 188 (1983).
- 93) 関 雅彦、吉田 稔、呼吸と循環、35, 423 (1987)。
- 94) P.P. Sutton, D. Pavia, J.R.M. Bateman and S.W. Clarke, *Chest*, 80, 889 (1981).
- 95) R. Uauy, D.L. Shapiro, B. Smith and J.B. Warshaw, *Pediatrics*, 55, 595 (1975)。
- 96) T. Gerhardt, J. MacCarthy and E. Bancalari, *Pediatr. Res.*, 17, 188 (1983).
- 97) K.E. Krieter and J. Blanchard, *Clin. Pharm.*, 8, 577 (1989).
- 98) O.A.S. Marais and J. McMichael, *Lancet*, 2, 437 (1937).
- 99) M.R. Alexander, W.L. Dull and J.E. Kasik, *J.A.M.A.*, 244, 2286 (1980).
- 100) G. Anderson, E.T. Peel, T. Pardoe and R. Jones, *Br. J. Dis. Chest*, 76, 261 (1982).
- 101) J. Barclay, B. Whiting and G.J. Addis, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 22, 389 (1982).
- 102) S.B. Valet, R.H. Schwartz and J.G. Brooks, *Ann. Allergy*, 50, 161 (1983).
- 103) P.E. Cryer, *N. Engl. J. Med.*, 303, 436 (1980).

- 104) P.W. Ind, R.C. Causon, M.J. Brown and P.J. Barnes, Br. Med. J., 290, 267 (1985).
- 105) D. Robertson, J.C. Frolich, R.K. Carr, J.T. Watson, J.W. Hollifield D.G. Shand and J.A. Oates, N. Engl. J. Med., 298, 181 (1978).
- 106) G.W. James, J. Pharm. Pharmacol., 19, 797 (1967).
- 107) P. Barnes, G. FitzGerald, M. Brown and C. Dollery, N. Engl. J. Med., 303, 263 (1980).
- 108) L.M. Horowitz, J.F. Spear, E.N. Moor and R. Rogers, Am. J. Cardiol., 35, 376 (1975).
- 109) L. Hendeles, L. Bighley, R.H. Richardson, C.D. Hepler and J. Carmichael, Drug Intell. Clin. Pharm., 11, 13 (1977).
- 110) A.K. Patel, J.B. Skatrud and J.H. Thomsen, Chest, 80, 661 (1981).
- 111) G.W. Josephson, H.L. Kennedy, E.J. Mackenzie and G. Gibson, Chest, 8, 429 (1980).
- 112) I.N. Mefford, M.M. Ward, L. Miles, B. Taylor, M.A. Chesney, D. Keegan and J.D. Barchas, Life Sci., 28, 477 (1981).
- 113) A. Onishi, A. Minegishi, T. Sasaki, T. Sukanuma and T. Ishizaki, Br. J. Clin. Pharmacol., 23, 339 (1987).
- 114) A. Onishi, A. Minegishi and T. Ishizaki, J. Cardiovasc. Pharmacol., 10, 667 (1987).
- 115) J.P. Rosen, M. Danish, M.C. Ragni, C.L. Saccar, S.J. Yaffe and H.I. Lecks, Pediatrics, 64, 248 (1979).
- 116) C. Richer, M. Mathier, H. Bah, C. Thuliez, P. Duroux and J. Guidicelli, Clin. Pharmacol. Ther., 31, 579 (1982).
- 117) F.E.R. Simons, F.H. Lucink and K.J. Simons, Am. J. Dis. Child.,

- 136, 790 (1982).
- 118) J.G. Wagner and E. Nelson, J. Pharm. Sci., 53, 1392 (1964).
- 119) M. Weinberger and L. Hendeles, N. Engl. J. Med., 308, 760 (1983).
- 120) D.L. Spangler, D.D. Kalof, F.L. Bloom and H.J. Wittig, Ann. Allergy, 40, 6 (1978).
- 121) H.W. Kelly and S. Murphy, Pediatrics, 66, 97 (1980).
- 122) Y. Horai, T. Ishizaki, T. Sasaki, M. Watanabe and J. Kabe, Eur. J. Clin. Pharmacol., 23, 111 (1982).
- 123) W.J. Jusko, J.R. Koup, J.W. Vance, J.J. Schentag and P. Kuritzky, Ann. Intern. Med., 86, 400 (1977).
- 124) Y. Machida, T. Tokumura and T. Nagai, Drug Des. Delivery, 1, 179 (1987).
- 125) Y. Machida, T. Tokumura and T. Nagai, Drug Des. Delivery, 1, 187 (1987).
- 126) Y. Machida and T. Nagai, Chem. Pharm. Bull., 26, 1652 (1978).
- 127) Y. Machida and T. Nagai, Chem. Pharm. Bull., 28, 1082 (1980).
- 128) A.L. Golub, R.W. Frost, C.J. Betlach and M.A. Gonzalez, J. Allergy Clin. Immunol., 78, 689 (1986).
- 129) J.R. Haltom and S.J. Szeffler, J. Pediatr., 107, 805 (1985).
- 130) M. Nakajima, K. Nishijima, Y. Ihashi and S. Izawa, Yakuri-to-rinsho 9, 17 (1981).
- 131) K. Yamaoka, K. Nakazawa and T. Uno, J. Pharmacokin. Biopharm., 6, 547 (1978).
- 132) L. Hendeles, M. Weinberger and L. Bighley, Am. Rev. Resp. Dis., 118, 97 (1978).
- 133) F. Langenbucher, J. Pharm. Pharmacol., 24, 979 (1972).

- 134) 豊島協一郎、林田道昭、安浪 純、土居 悟、井上寿茂、高松 勇、  
アレルギーの臨床、9, 329 (1989).