

学 位 論 文

経口バイオアベイラビリティの予測と評価に関する研究

2012 年

今 若 治 夫



## 内容

本文中で用いた記号及び略号 .....	1
緒言 .....	3
第1章 新規 PGI <sub>2</sub> アゴニスト, ONO-1301 の BA 決定要因の解析 .....	8
1) 要約 .....	8
2) 緒言 .....	9
3) 方法 .....	10
4) 結果 .....	15
5) 考察 .....	18
6) 図表 .....	22
第2章 新薬申請時に静脈内投与データの添付の有無に影響する要因の検討 .....	34
1) 要約 .....	34
2) 緒言 .....	35
3) 方法 .....	36
4) 結果 .....	37
5) 考察 .....	39
6) 図表 .....	42
第3章 経口投与後の絶対的 BA を静脈内投与データなしで予測する試み .....	46
1) 要約 .....	46
2) 緒言 .....	47
3) 方法 .....	48
4) 結果 .....	51
5) 考察 .....	53
6) 図表 .....	55
結論及び今後の展望 .....	70
引用文献 .....	74
主論文目録 .....	94
謝辞 .....	95
審査 .....	96

## 本文中で用いた記号及び略号

ABC	ATP binding cassette transporter
afe	the average fold-error
ATP	アデノシン三リン酸
AUC	血漿中濃度推移曲線下面積
$\beta$	消失速度定数
BA	バイオアベイラビリティ
BCRP	breast cancer resistance protein
$C_{a,ss}$	定常状態時の動脈血漿中濃度
$C_b$	結合型薬物濃度
$C_f$	遊離型薬物濃度
$C_{hv,ss}$	定常状態時の肝静脈血漿中濃度
$C_{liver}$	肝臓中薬物濃度
$C_p$	血漿中薬物濃度
$CL_{bile,liver}$	肝臓中薬物濃度基準の胆汁排泄クリアランス
$CL_{bile,plasma}$	血漿中薬物濃度基準の胆汁排泄クリアランス
$CL_H$	肝クリアランス
$CL_{int,all}$	全体肝固有クリアランス
$CL_{int,bile}$	胆汁排泄の固有クリアランス
$CL_{int,met}$	肝代謝の固有クリアランス
$CL_{po}$	経口クリアランス
$CL_{tot}$	全身クリアランス
$CL_{uptake,in vivo}$	肝取り込みクリアランス
$C_{max}$	最大血漿中濃度
C/M ratio	cell-medium 濃度比
CV	coefficient of variation
egrse	the exponential geometric root mean squared prediction error
Fa	吸収率
$f_B$	血液中非結合型薬物分率
FCCP	carbonylcyanide-p-(trifluoromethoxy)phenyl-hydrazone
$F_G$	小腸アベイラビリティ
$F_H$	肝アベイラビリティ
$f_p$	血漿中非結合型薬物分率

Hc	ヘマトクリット値
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
IVIVE	<i>in vitro/in vivo</i> extrapolation
$K_d$	蛋白結合の結合定数
$K_p$	肝/血漿中濃度比
$K_m$	ミカエリス定数
MRP	multidrug resistance-associated protein
$n(P)_t$	蛋白結合の結合能
Ntcp	$Na^+$ /taurocolate co transporting polypeptide
oatp	organic anion transporting polypeptide
$P_{dif}$	非特異的クリアランス
P-gp	P-glycoprotein
PGT	prostaglandine transporting polypeptide
$PS_{eff}$	肝臓から血液への efflux クリアランス
$PS_{inf}$	血液から肝臓への influx クリアランス
$Q_B$	肝血流速度
$R_B$	全血中濃度/血漿中濃度比
$R_{E/I}$	血漿中蛋白質量に対する細胞間隙中蛋白質量の比
S	基質濃度
SLC	solute carrier transporter
SULT	sulfotransferase
$t_{1/2}$	消失半減期
TCA	taurocholic acid
TLC	薄層クロマトグラフィー
UGT	UDP-glucuronosyltransferase
$V_0$	反応初速度
$V_{max}$	最大反応速度
$V_B$	全血容積
$Vd_{ss}$	定常状態分布容積
$Vd_\beta$	$\beta$ 相における分布容積
$V_E$	細胞間質中容積
$V_T$	組織容積
Xt	時間 t における肝臓中の薬物量

## 緒言

バイオアベイラビリティ (BA) は薬物の製剤からの利用性を評価するために用いる指標であり、投与された薬物 (製剤) が全身循環に入り、薬効発現に関連する割合を表す。BA は投与経路間、剤型間の比較を行う際に用いられる相対的 BA と、静脈内投与された薬物は全て循環血液中に到達し、ほぼ完全に生体で利用されることから、静脈内投与時の血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) に対して定義された絶対的 BA が使われている (以下、本論文では、BA は絶対的 BA を表す)。経口剤は最も望まれる投与形態であり、市販薬の多くの割合を占める。服用の容易さからコンプライアンスも高く、医薬品開発において候補化合物はまず経口剤としての開発を検討するのが常である。経口で服用された薬物は、消化管で溶解したのち、小腸で血液中へと吸収される。さらに、門脈を経て肝臓を通過した後、循環血液中へと吸収され、薬効発現に至る (Fig. 1)。肝臓は生体内での主要な異物排泄臓器であり、肝臓を通過する間に代謝あるいは胆汁中への排泄を受け、これは肝初回通過効果と呼ばれている。すなわち BA を決定する要因は、消化管管腔内での溶解性、脂質膜の透過性、肝臓や小腸の代謝・排泄能である。

こうした解剖学的特徴のため、生物学的に高活性な化合物であっても、十分な BA が得られなければ、*in vivo* では薬効が確認できない場合がある。医薬品開発の初期段階で、*in vitro* での薬効の強さ (例えば受容体、酵素などに対する親和性など) に過度に依存して、化合物が最適化されると、薬物動態特性の悪さで開発が中止となるリスクが高まる。実際、Kola らの報告<sup>1)</sup>によると、1991 年当時、医薬品が開発中止となった理由として、薬物動態特性の悪さが 40%と、最も大きな割合を占めた。標的とする受容体に対する親和性が高い化合物であるほど、高脂溶性であることが多く、脂質膜透過性は高くなるものの、消化管管腔内での溶解性とトレードオフの関係にあること、また、小腸や肝臓における代謝・排泄を受けやすくなるため、そうした化合物は極端に BA が低くなることは、多くの企業研究者が経験するところである。いかに BA が十分に高い医薬品を創製するかが、医薬品開発の成功を決定する重要な要因の一つである。審査側にとっても、承認申請時に申請資料として提出される BA の情報は医薬品の特性や特殊患者の動態、薬物間相互作用リスクを予測する上で重要である。BA の低さは血中濃度及び AUC の個体間変動の大きさ、ひいては薬効、副作用の発現に大きな影響を及ぼし、特に安全域の狭い薬物においては臨床上の問題となり得る。また、医療従事者にとって添付文書に記載される BA の情報は、薬物の服用に当たって患者に注意を喚起する際や投与スケジュールの設計においても有用で、特に患者個別の医療を提供する上で重要な情報である。このように BA の評価の意義は、開発企業、審査側及び医療従事者などによって異なるが、BA の情報はいずれにおいても必要であることには変わらない。

前述の通り，BA の決定要因は (1) 薬物の経口投与量，消化管内での溶解性と膜透過性，に加えて (2) 消化管・肝臓における代謝・排泄である．吸収率 ( $F_a$ ) ，小腸アベイラビリティ ( $F_G$ ) ，肝アベイラビリティ ( $F_H$ ) を用いて，

$$BA = F_a \cdot F_G \cdot F_H$$

と表すことができる．小腸上皮細胞には，多くの医薬品の代謝に関わる CYP3A4 が発現していること，また上皮細胞管腔側への排泄を促進する P-glycoprotein (P-gp) や breast cancer resistance protein (BCRP) など ATP binding cassette transporter (ABC トランスポーター) が発現しており，血液中への薬物移行を妨げる要因となっている．Kato らは BA と  $F_H$  との比較から，ベラパミル，ニフェジピンなどの薬物の  $F_G$  が低い要因として CYP3A4 による小腸代謝をあげている<sup>2)</sup>．小腸上皮細胞は高濃度の医薬品が暴露されることから， $F_G$  が小さい薬物では薬物間相互作用のリスクも高く，実際に，グレープフルーツジュースとの相互作用では， $F_G$  の小さい薬物ほど，相互作用の影響が大きい<sup>3)</sup>．肝臓は生体内の主要な異物排泄臓器であり，その実細胞である肝細胞には，CYP3A4 をはじめとした P-450 群，UDP-glucuronosyl-transferase (UGT) や sulfotransferase (SULT) などの抱合酵素，類洞側・胆管側細胞膜に種々のトランスポーターが発現し，医薬品の代謝・排泄を行っている．BA を予測するためには，溶解性や脂質膜透過性のほか，小腸・肝臓における代謝・排泄能力を定量的に予測することが不可欠となる．さらに，溶解度，小腸・肝臓における代謝・排泄は，飽和といった非線形性を生じる要因となり，ニカルジピン<sup>4)</sup>，フェニトイン<sup>5)</sup>やテルミサルタン<sup>6)</sup>などの薬物で見られるように，AUC や最大血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) が投与量に比例しない現象 (非線形) が認められる．こうした薬物では，臨床試験成績のばらつきの要因となり，開発を困難とするだけでなく，患者ごとに投与設計を最適化する際の不確実性を高め，使用する側にも過大な負担を強いる医薬品となる．そのため，BA の絶対値予測に加えて，非線形性の有無について予測する必要がある．

このことは医薬品開発に関わる創薬・創剤研究者が十分に理解している問題であり，BA の高い候補化合物を選択するために *in vitro* 評価及び動物の *in vivo* 評価に精力的に取り組んでいる．ヒト肝クリアランスを予測する方法として，*in vivo* の実験動物での動態に基づいてヒトでの動態特性を予測するアニマルスケールアップは，動物の体重と生理学的パラメータ (主にクリアランスまたは分布容積) の相関をアロメトリック式で表現したものである<sup>7),8)</sup>．これは経験則に基づいた手法であり，代謝の種差を考慮していないという欠点があり，実際に，肝代謝型の医薬品について，本手法を適用した場合，非常に大きな見積もり誤差 (>10) を生じる．よりメカニズムに基づいた手法として，ヒト肝ミクロソーム，凍結肝細胞など，ヒト組織を用いた *in vitro* 試験から得られた *in vitro* パラメータを，細胞数や肝重量などの生理学的補正項を用いて *in vivo* パラメータに外挿する IVIVE (*in vitro/in vivo extrapolation*) が，

現在主流である<sup>9)</sup>。また、IVIVEを組み込んだアロメトリック方式も行われている<sup>10)</sup>。このような手段によりヒトに経口投与時のBAや血中濃度推移も予測されるようになった<sup>11)</sup>。近年、薬物の吸収、分布及び排泄過程におけるトランスポーターの重要性が広く認識されるようになり、トランスポーターが関与する膜透過過程の予測も行われている。代謝課程と同様にトランスポーターが関与する膜透過についても実験動物において*in vitro*と*in vivo*の比較を行い、*in vitro*から*in vivo*へのスケールアップファクターを求め、ヒトの*in vitro*実験結果とスケールアップファクターからヒトの*in vivo*を外挿し、ヒトの血漿中濃度推移、組織中濃度推移及び薬物間相互作用が予測されている<sup>12), 13)</sup>。しかし、小腸や肝臓での薬物の膜透過及び代謝の実態が明らかになりつつある現在においてもなお、ヒトにおけるBAを予測することは容易ではない。最近では、候補化合物選択の段階で、ヒトで十分なBAが得られない懸念がある場合には、薬効用量よりもはるかに少ない投与量での臨床試験(マイクロドーズ試験)を実施し、ヒトのBAを確認することも提唱されているが、まだルーチンで使用するツールとなるほどには成熟していない。こうした技術的限界のため、多くの場合、ヒトでのBAは不明のまま臨床ステージへと移行する。臨床移行から申請のどの段階でヒトでのBAを評価するかについて定まった考えはなく、個々のケースごとにBAの評価が実施されている。第I相試験において、静脈内投与も実施してBAを評価する場合もあれば、マスバランス試験や肝機能障害及び腎機能障害患者における臨床薬物動態試験などのように、開発の後期において静脈内投与試験を実施してヒトのBAを評価する場合もある。さらには、BAを評価しない場合もある。このような判断はどのようにされるのか、判断のための要因とは何かについて考える材料となることを期待して本研究を行った。

私は第1章において、開発企業の視点から、BAを決定する要因について実際の開発化合物を用いて検討した。ONO-1301は高活性なプロスタグランジン(PG)アゴニストであり、経口剤としての開発が期待された。動物の経口投与において、用量比以上に血漿中濃度が増加する正の非線形が認められた。ONO-1301は肝排泄型薬物であり、非線形性の要因として、肝初回通過効果の飽和が考えられた。ONO-1301は治療濃度域の狭い薬剤であり、非線形が生じることは临床上危険である。そこで、ヒト予測につなげるために、実験動物においてこの非線形現象を定量的に解析した。非線形による血漿中濃度の変動は経口投与製剤ではBAの変動につながる。BAの変動要因としては、 $F_a$ 、 $F_G$ 及び $F_H$ が考えられる。非線形の要因として消化管や肝臓における代謝の飽和だけでなく、トランスポーターの関与についても検討した。ONO-1301の非線形の要因の解明は、とりもなおさずBAを決定する要因の解明になると考えた。

絶対的BAの評価にはヒトでの静脈内投与試験が必須であるが、規制の上での必要性について検討した。日本の医薬品承認申請において、以前はヒトにおける経口投与製剤の絶対的



BA のデータは要求されなかった。倫理上の問題もあり、注射剤の開発が伴わない限り絶対的 BA を求めるのは難しい状況にあった。2001 年 6 月に医薬品を適正に使用する際に必要な情報を確保することに重点をおいた『医薬品の臨床薬物動態試験について』が通知され<sup>14)</sup>、経口投与製剤においても静脈内投与試験を実施し、絶対的 BA を求めて医薬品承認申請時の資料に添付することが推奨された。規制での必要性は、企業側からみた必要性、すなわち実施可能性や申請品目の説明力を強める必要と、審査側から見た必要性、すなわち医薬品の薬物動態や有効性や安全性を予測するために求められる最小限の情報、のバランスで決定されると考える。通知の後も静脈内投与データの添付なしに承認申請される薬物もあり、実際にヒトで BA を評価するか否か、開発ステージのどの段階で評価するのかは企業によって、あるいは化合物によって判断の異なるところである。私は第 2 章において、本通知が医薬品承認申請時におけるヒト静脈内投与データの添付に与える影響を確認した。また、医薬品開発において開発主体である製薬企業が静脈内投与を必要であると考えた要因を明らかにするため、通知以外にも、薬物の溶解性、治療域、動物の BA、個体間変動の大きさなどについてロジスティック回帰分析による推計を行った。

さらに、静脈内投与データを取得することは理想的であるが、開発スケジュール・ストラテジーにより静脈内投与データがない場合に、動物実験等から得られた薬物動態データならびにヒト経口投与時のデータを活用することで、BA を推定できるか検討した。本手法は絶対値の推定には十分ではないものの、対象化合物の BA の大小を分類するには有用であり、申請資料を規定するルール策定や承認審査での使用にあたって、十分実用に耐えるものである。

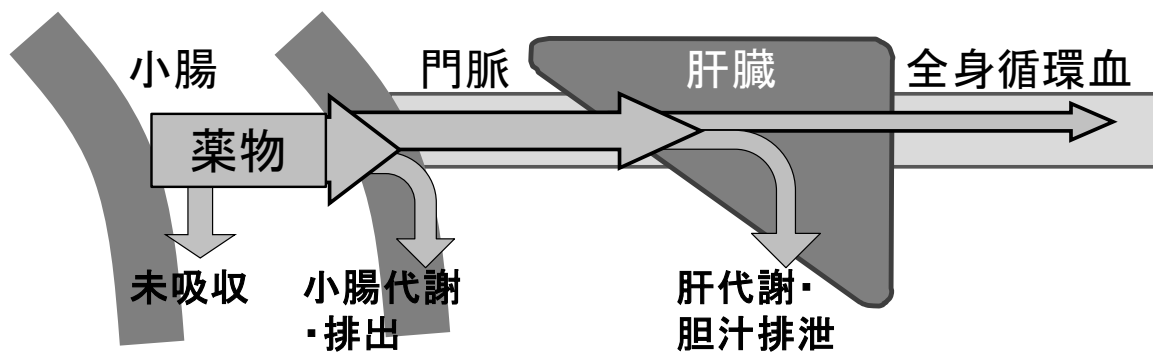


Fig. 1 薬物の消化管吸収過程.

## 第1章 新規PGI<sub>2</sub>アゴニスト, ONO-1301 のBA決定要因の解析

### 1) 要約

新規プロスタグランジン (PG) I<sub>2</sub>アゴニストである ONO-1301 をラットに経口投与したとき、血漿中濃度は用量比以上に増加する非線形を示し、BA の変動が認められた。本化合物をラットに静脈内持続注入し、定常状態の動脈血、肝静脈血及び肝組織中の薬物濃度を測定し、胆汁排泄速度を算出して肝胆系移行動態を検討した。低い持続注入速度において、ONO-1301 の肝初回通過率は30%であり、主要なクリアランス臓器は肝臓であった。全身クリアランス (CL<sub>tot</sub>)、肝抽出率 (E<sub>H</sub>)、肝/血漿中濃度比 (K<sub>p</sub> 値) は、持続注入速度の増加に伴い減少したことから、非線形性の原因として肝取込みの飽和が考えられた。これを確認するために、種々の用量 (0.01-25 mg/kg) でラットに静脈内投与した際の血漿中濃度推移と肝臓中濃度を解析した。低用量 (0.01-1 mg/kg) の肝取込みクリアランスは 28 mL/min/kg であり、肝血漿流量とほぼ一致したが、高用量での肝取込みクリアランスは減少した。次にラット遊離肝細胞を用いて肝取込み機構を検討した。Na<sup>+</sup>依存性及び非依存性の取込みが認められ、これは低温や代謝阻害剤で阻害されたことから、トランスポーターの関与が示された。初期取込み速度は濃度依存性を示し、速度論的パラメータは以下のように得られた、K<sub>m</sub>; 7 μmol/L (Na<sup>+</sup>), 4 μmol/L (Na<sup>-</sup>), V<sub>max</sub>; 10.1 nmol/min/mg (Na<sup>+</sup>), 4.7 nmol/min/mg (Na<sup>-</sup>)。これらの *in vitro* 輸送パラメータと血漿中非結合型分率及び肝血流量を用いて肝取込みクリアランスを算出したところ、ONO-1301 の肝取込みは非常に早く、肝血流律速であることが示された。以上のことから、ONO-1301 は肝取り込み過程に関与するトランスポーターの飽和に起因する非線形の体内動態を示し、トランスポーターが関与する肝取り込み過程が BA を決定する要因となり得ることが明らかになった。

## 2) 緒言

ONO-1301 (7,8-Dihydro-5-[(E)-[[a-(3-pyridyl)benzylidene]aminoxy]ethyl]-1-naphthoxy]acetic acid) は経口投与可能な持続性の PGI<sub>2</sub> アナログとして見出された。本化合物は PG 骨格を持たないが、*in vitro* 及び *in vivo* で強い PGI<sub>2</sub> 活性と thromboxane A<sub>2</sub> の阻害活性を示した<sup>15)</sup>。

腎排泄に加えて、肝代謝及び胆汁排泄が生体異物のクリアランス経路である。Miyachi らの定量的な解析により、いくつかの薬物において肝取込み過程が肝クリアランスの律速となることが示された<sup>16), 17)</sup>。このような場合に、膜透過の飽和は肝取込みクリアランスの非線形の原因の一つであることが報告されている<sup>18)</sup>。さらに、トランスポーターが肝取込みと胆汁排泄に関与していることが報告されている<sup>19), 20)</sup>。有機アニオン系化合物の肝取込み過程には Na<sup>+</sup>依存性及び非依存性の両輸送システムが存在する。タウロコール酸を代表的な基質とする Na<sup>+</sup>依存性の Na<sup>+</sup>/taurocolate co transporting polypeptide (Ntcp) は Na<sup>+</sup>と共輸送されることが知られており<sup>21), 22), 23)</sup>、トランスポーターの DNA クローニングが既に報告されている<sup>24), 25), 26)</sup>。一方、leukotriene C<sub>4</sub> 及び pravastatin 等の有機アニオン類については Na<sup>+</sup>非依存性の organic anion transporter (oatp) を介して肝取込みされることが知られており、これも既にクローニングされている<sup>27), 28), 29)</sup>。一方で、PG 類に対するトランスポーター (PGT) についてもその遺伝子配列が報告され、肝臓に存在することやキャリア蛋白のアミノ酸配列及び基質認識性に oatp と相同性を有することが示されている<sup>30)</sup>。

胆汁排泄に関しては、ATP の加水分解と共役する一次性能動輸送の存在が報告されており<sup>31), 32)</sup>、胆汁酸や有機アニオンに対する canalicular multispecific organic anion transport system (cMOAT) や、抗がん剤を含む有機カチオンの関与する P-glycoprotein (P-gp) の存在が示されている<sup>20), 31), 33), 34), 35)</sup>。ONO-1301 はカルボン酸を有する有機アニオンであり、PG レセプターに特異的に結合するアゴニストであり、肝取込みと胆汁排泄過程に上記のトランスポーターが関与する可能性が考えられる。この研究において、本化合物の肝胆系移行動態の速度論的解析と肝取込み及び胆汁排泄の機構を解明することで、新規経口剤 ONO-1301 の非線形の要因を明らかにし、BA を決定する要因について検討した。

### 3) 方法

#### 1) 化合物

[<sup>14</sup>C]ONO-1301 (1.10 GBq/mmol) と非標識 ONO-1301 は小野薬品工業 (株) から提供された。rotenone は Sigma Chemical (St. Louis, MO) より購入した。carbonylcyanide-*p*-(trifluoromethoxy)-phenylhydrazone (FCCP) は Aldrich Chemical (Milwaukee, WI) より購入した。他の全ての化学薬品は試薬グレードのものを用いた。ONO-1301 の構造式を Fig. 1-1 に示した。

#### 2) 動物

雄性 SD 系ラット (250-300g, 日本医化学動物資材研究所, 東京, 日本) を用いた。

#### 3) *in vivo* 持続注入試験

エーテル麻酔下, SD ラット (280-320g) の大腿動・静脈及び総胆管にカニューレを施した。また, Yokota らの方法<sup>36)</sup>に従い, 肝静脈にカニューレを施した。大腿静脈より ONO-1301 を 0.8, 8 及び 80 mg/kg/hr の速度で 30 分間定速注入した後, 目的とする 0.2, 2 及び 20 mg/kg/hr で定速注入した。経時的に大腿動脈及び肝静脈より血液及び胆汁を採取した。最終サンプリング後, 速やかに放血致死させ, 肝臓を摘出した。血液は, 採取後, 10,000 g で 2 分間遠心分離し, 血漿を得た。

#### 4) HPLC による ONO-1301 測定

血漿, 胆汁及び肝臓中濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定した。血漿及び胆汁 (5-100 µL) に内部標準品として AP-501-01 (0.2 µg, ONO-1301 の異性体) を添加し, エタノール (1 mL) を加え, 除蛋白した。遠心分離後, 上清を濃縮乾固し, 移動相に溶解して HPLC に注入した。肝組織 (0.1 mg) は 1 mL のエタノールでホモジネートし, 遠心分離後, 一定量の上清 (30-100 µL) に内部標準品を加えて濃縮乾固し, 移動相に溶解して HPLC に注入した。HPLC 条件を以下に示した。

カラム	CAPCELLPAK C18 UG-120 (6 mm i.d. × 150 mm, 5 µm, 資生堂)				
移動相	A : 0.02 mol/L リン酸緩衝液 (pH 9.0) / アセトニトリル混液 (4 : 1) B : 0.02 mol/L リン酸緩衝液 (pH 9.0) / アセトニトリル混液 (3 : 2)				
グラジエント	Time (min)	0	25	40	40.1
	移動相 B (%)		55	100	100 55
流速	1.0 mL/min				
検出波長	265 nm				

典型的なクロマトグラムを Fig. 1-2 に示した。ONO-1301 の濃度は得られたクロマトグラムから ONO-1301 と内部標準のピーク面積の比を添加濃度の最小二乗法により作成した検量線を用いて算出した。

5) 薬物速度論パラメータの算出

全身クリアランス ( $CL_{tot}$ ), 肝抽出率 ( $E_H$ ) 及び肝/血漿中濃度比 ( $K_p$  値) を次式により求めた.

$$CL_{tot} = \frac{I}{C_{a,ss}} \quad (\text{Eq. 1-1})$$

$$E_H = \frac{(C_{a,ss} - C_{hv,ss})}{C_{a,ss}} \quad (\text{Eq. 1-2})$$

$$K_p = \frac{C_{liver}}{C_{hv,ss}} \quad (\text{Eq. 1-3})$$

ここで,  $I$  は ONO-1301 の定速注入速度,  $C_{a,ss}$  は投与開始 65 分後の定常状態の動脈血漿中濃度,  $C_{hv,ss}$  は投与開始 65 分後の定常状態の肝静脈血漿中濃度,  $C_{liver}$  は投与開始 65 分後の定常状態の肝臓中濃度を示す.

胆汁排泄クリアランスは血漿中濃度基準 ( $CL_{bile, plasma}$ ) と肝臓中濃度基準 ( $CL_{bile, liver}$ ) で算出した.

$$CL_{bile, plasma} = \frac{V_{bile}}{C_{hv,ss}} \quad (\text{Eq. 1-4})$$

$$CL_{bile, liver} = \frac{V_{bile}}{C_{liver}} \quad (\text{Eq. 1-5})$$

ここで,  $V_{bile}$  は ONO-1301 の胆汁排泄速度を示す.

6) ONO-1301 の血清中及び肝細胞中蛋白結合の測定

[ $^{14}C$ ]ONO-1301 の蛋白結合は平衡透析法を用いて決定した. 透析膜は Visking sheet VC-10 (サンプルラテック) を用いた. 血清及び 33% 肝ホモジネート上清 (サイトゾル) は 400  $\mu$ L を透析セルの片側のチャンバーにいれ, もう一方のチャンバーには同じ容量のリン酸緩衝液 (pH 7.4) を入れた. ONO-1301 は 3-1000  $\mu$ mol/L の濃度となるように, 血清またはサイトゾルに加えて, 血清は 37°C で 6 時間, サイトゾルは 4°C で 48 時間インキュベーションした. 十分に平衡に達した後, 血清またはサイトゾル及び緩衝液中の ONO-1301 濃度を測定した. 実験データは結合パラメータを求めるために次の式にフィッティングした.

$$C_b = \frac{n(P)_t \cdot C_f}{K_d + C_f} \quad (\text{Eq. 1-6})$$

$$C_b = \frac{n(P)_t \cdot C_f}{K_d + C_f} + \alpha \cdot C_f \quad (\text{Eq. 1-7})$$

ここで,  $C_b$  は結合型薬物濃度,  $C_f$  は遊離型薬物濃度,  $n(P)_t$  は結合能,  $K_d$  は結合定数,  $\alpha$  は非特異的結合に対する比例定数を示す. 結合親和性及び結合能は肝ホモジネートの希釈に影響しないと仮定して, 33% 肝ホモジネート上清 (サイトゾル) を用いて得られた結合パラメータを生理的条件下での結合パラメータとした.

#### 7) サイトゾル中の結合蛋白の同定

ONO-1301 の結合蛋白の同定はゲル濾過法で行った。3 例のラットから肝臓を採取し、50 mmol/L のリン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) で 33% 肝ホモジネートを調製し、100,000 g で遠心分離してサイトゾル分画を得た<sup>37), 38), 39)</sup>。0.5 mL のサイトゾルに 10 μmol/L となるように ONO-1301 を加え、37°C で 15 分インキュベーションした後、その 0.2 mL についてゲル濾過カラム (Asahipak GS-510, 7.6 mm i.d. ×, 50 cm, 旭化成工業) を装てんした HPLC システムで分析した。50 mmol/L のリン酸緩衝液 (pH 7.4) を 0.5 mL/min の速度で流し、0.5 mL 毎にフラクションを採取した。各フラクションの蛋白濃度は 280 nm の光吸収を測定し、放射能濃度は液体シンチレーションカウンターで測定した。各フラクションのグルタチオン転移酵素 (GST) 活性の測定は Sugiyama らの方法<sup>40)</sup>に従い、GST の基質である 1-chloro-2,4-dinitrobenzene へのグルタチオン転移活性を 340 nm の光吸収を測定することにより行った。

#### 8) 肝血流量の測定

麻酔下、大腿静脈にカニューレションし、ONO-1301 を 0.2, 2 及び 20 mg/kg/hr で持続投与した。ラットの腹部を横隔膜から約 8 cm 下方に正中切開した。生理食塩液を浸したガーゼで肝中葉を左上に持ちあげた。肝動脈と門脈は緩やかに切り離し、脂肪を取り除き、血流速度測定用のプローブを装着した。肝中葉をもとに戻し、腹部を閉じた。薬物投与の前後に小動物血流計 (T106, Transonic Systems 社) を用いて肝血流量を測定した。

#### 9) *In vivo* 肝取込みクリアランス (integration plot analysis)

エーテル麻酔下、大腿静脈と動脈にカニューレションした。全ての用量 (25.7 kBq, 0.01-25 mg/kg) の ONO-1301 は生理食塩液に溶解して大腿静脈を介して投与した。そして、血液サンプルは 20 秒間隔で大腿動脈より採取した。2 分から 5 分に、ラットを屠殺し、肝臓を採取し、重量を測定したのち、一部を放射能測定に供した。ONO-1301 のトレーサー量を静脈内投与し、親化合物の肝臓からの排出、胆汁排泄及び代謝が無視できる短い時間内に肝取込みを測定したとき、ONO-1301 の肝取込みは、以下の微分方程式によって説明される：

$$\frac{dX_t}{dt} = CL_{\text{uptake, in vivo}} \cdot C_p \quad (\text{Eq. 1-8})$$

ここで、 $X_t$  は時間  $t$  における肝臓中の ONO-1301 の量であり、 $CL_{\text{uptake, in vivo}}$  は肝取込みクリアランスであり、 $C_p$  は時間  $t$  における ONO-1301 の血漿中濃度である。薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析の結果、血漿中放射能の 90% 以上が未変化体であったことから、 $C_p$  の値は、放射能を測定して求めた。Eq. 1-8 を積分することで次式を得た。

$$X_t = CL_{\text{uptake, in vivo}} \cdot AUC_{(0-t)} \quad (\text{Eq. 1-9})$$

ここで、 $AUC_{(0-t)}$  は時間 0 から  $t$  まで血漿中濃度 - 時間曲線下面積を表す。Eq. 1-9 の両辺を  $C_p$  で除することで以下の式を得た。

$$\frac{Xt}{C_p} = CL_{uptake, in vivo} \cdot \frac{AUC_{(0-t)}}{C_p} \quad (\text{Eq. 1-10})$$

$CL_{uptake, in vivo}$  は,  $Xt/C_p$  対  $AUC_{(0-t)}/C_p$  のプロット (integration plot) の傾きから得られる<sup>41)</sup>.

#### 10) ラット遊離肝細胞の調整

遊離肝細胞は SD ラットから Baur らの方法<sup>43)</sup>を修正したツーステップ・コラゲナーゼ灌流法によって調整した. 分離した肝細胞は 12.5 mmol/L HEPES (4-(2-Hydroxyethyl)-1-pipetazineethanesulfonic acid) で補足したアルブミンフリーの Krebs-Henseleit 緩衝液 (pH 7.3, 0°C) に懸濁化 (1 mg protein/mL) した. 肝細胞の生存率はトリパンブルー染色で細胞数を計数して求めた. 生存率は 85%から 95%であった.

#### 11) ラット遊離肝細胞の取込み試験

[<sup>14</sup>C]ONO-1301 (0.5 μmol/L) の取込みは, プレインキュベーション (37°C, 3分) した細胞懸濁液にリガンドを添加することで開始した. 指定の時間に遠心濾過によって細胞を媒体から分離することによって反応を終了させた<sup>44)</sup>. すなわち, 細胞懸濁液 200 μL を 2N NaOH 50 μL 及びシリコン-ミネラルオイル (比重: 1.015) 100 μL を重層した遠心用チューブに入れ, 15-20 秒間, 10,000g で遠心して取込みを停止するとともに, 細胞を分離した. 遠心によって細胞はオイル層を通過してアルカリ溶液に沈殿される. 細胞がアルカリ溶液に溶けた後, 遠心用チューブをオイル層で切断して, メディウム画分と細胞画分を分け, それぞれシンチレーションバイアルに移した. 細胞画分は 2N HCl 50 μL を加えて中和した後, 液体シンチレーションを加えて放射能を測定した (LS 6000SE, Beckman, Fullerton, CA).

ONO-1301 の取込みの時間推移において, 取り込まれた薬物の量をその時のメディウム中濃度で除することによって得られる μL/mg protein の単位で表した. ONO-1301 の初期取込み速度は取込み開始後 20 秒と 60 秒の差を直線回帰により算出した. ONO-1301 の Na<sup>+</sup>イオン非依存性の取込みを評価する場合は, NaCl と NaHCO<sub>3</sub> をそれぞれ同当量の塩化コリンと重炭酸コリンで置換した Krebs-Henseleit 緩衝液を用い, Na<sup>+</sup>イオンのない条件で取込み実験を実施した. Na<sup>+</sup>依存性の ONO-1301 取込みは, Na<sup>+</sup> (142 mmol/L) を含む Krebs-Henseleit 緩衝液で測定した全取込みからコリン緩衝液での取込みを引いて計算した.

#### 12) ラット遊離肝細胞の速度論的パラメータの算出

ONO-1301 の取込み速度の速度論的パラメータは次式に基づいて算出した.

$$V_0 = \frac{V_{max} \cdot S}{K_m + S} + P_{dif} \cdot S \quad (\text{Eq. 1-11})$$

ここで,  $V_0$  は ONO-1301 の取込み初速度 (pmol/min/mg protein) を表し,  $S$  は ONO-1301 のメディウム中濃度 (μmol/L) を表し,  $K_m$  及び  $V_{max}$  はミカエリス定数 (μmol/L) 及び最大取込み速度 (pmol/min/mg protein) を表す. また,  $P_{dif}$  は非特異的取込みクリアランス



( $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$ ) を示す。速度論的パラメータは非線形最小二乗法 MULTI program<sup>45)</sup>を用いて、上記の式をデータにフィッティングさせることによって算出した。

### 13) *In vitro* データから肝取込みクリアランスの見積もり

遊離肝細胞で得られた速度論的パラメータを用い、ラットの肝臓あたりの固有クリアランス  $PS_{\text{influx}, \text{in vitro}}$  ( $\text{mL}/\text{min}/\text{kg rat}$ ) は次式により算出した。

$$\frac{V_0}{S} = PS_{\text{influx}, \text{in vitro}} = \left[ \left( \frac{V_{\text{max}}}{K_m} \right) + P_{\text{dif}} \right] \cdot \left( \frac{\alpha}{\beta} \right) \cdot \gamma \quad (\text{Eq. 1-12})$$

ここで、 $\alpha = 1.25 \times 10^8 \text{ cells/g of liver}$ <sup>46)</sup>,  $\beta = 1.0 \times 10^6 \text{ cells/mg of protein,}$ ,  $\gamma = 44 \text{ g of liver/kg rat}$ <sup>47)</sup>である。さらに、 $PS_{\text{influx}, \text{in vitro}}$  から  $CL_{\text{uptake}, \text{in vivo}}$  ( $\text{mL}/\text{min}/250 \text{ g rat}$ ) は dispersion model (Eq. 1-13)<sup>48)</sup>に基づいて計算した。

$$CL_{\text{uptake}, \text{in vivo}} = Q_B \cdot \left[ 1 - \frac{4a}{(1+a)^2 \cdot \exp\{(a-1)/2D_N\} - (1-a)^2 \cdot \exp\{-(a+1)/2D_N\}} \right] \quad (\text{Eq. 1-13})$$

ここで、

$$a = (1 + 4R_N \cdot D_N)^{1/2} \quad (\text{Eq. 1-14})$$

$$R_N = \frac{f_P \cdot PS_{\text{influx}, \text{in vitro}}}{Q_B \cdot R_B} \quad (\text{Eq. 1-15})$$

$D_N$  は拡散定数  $0.17$ <sup>9)</sup>,  $Q_B$  はラットの肝血流量,  $f_P$  は ONO-1301 の血漿中非結合型分率,  $R_B$  は全血/血漿濃度比を表す。

## 4) 結果

### 1) *in vivo* 持続注入試験

ラットに 0.2, 2 及び 20 mg/kg/hr で持続注入し、定常状態下での動脈血、肝静脈血中濃度、肝臓中濃度及び胆汁排泄を測定し、算出した  $CL_{tot}$ 、 $E_H$  及び  $K_p$  値を Table 1-1 に示した。いずれの用量またはパラメータも、持続注入開始後 50 分値と 60 分値において有意な差は認められず、50 分で既に定常状態に達しているものと判断できた。0.2 mg/kg/hr で持続注入した際に肝抽出率は 0.31 であり、肝一回通過で 31%が除去されることが示された。0.2-2 mg/kg/hr で肝クリアランス ( $CL_H: Q_B \cdot (1-H_c) \cdot E_H$ ) は 6.7-12.2 mL/min/kg であり、 $CL_{tot}$  (5.7-6.5 mL/min/kg) にほぼ等しく、主なクリアランス臓器は肝であることが示された。また、 $CL_{tot}$ 、 $E_H$  及び  $K_p$  値はいずれも持続注入速度の上昇に伴い低下した (Table 1-1)。定常状態における ONO-1301 の胆汁排泄速度の持続注入速度に対する割合 ( $V_{bile}/I$ ) は 0.2, 2 及び 20 mg/kg/hr でそれぞれ  $9.15 \pm 0.71$ 、 $10.6 \pm 1.1$  及び  $4.96 \pm 0.89$  %であった。血漿中濃度基準の胆汁排泄クリアランス ( $CL_{bile,plasma}$ ) は用量の増加に伴い減少したのに対して、肝臓中濃度基準の胆汁排泄クリアランス ( $CL_{bile,liver}$ ) は逆に増加した (Table 1-1)。

### 2) 血清蛋白結合の検討

ONO-1301 のラット血清蛋白との結合を平衡透析法で検討した。血球への分布についても検討したところ、本化合物は血球への移行がないことが確認された。血清蛋白との結合の解析結果を Fig. 1-3 に示した。これより、1 種類の結合部位を持つことが示された。フィッティングにより、結合能 ( $n(P)_i$ ) は  $1860 \mu\text{mol/L}$ 、結合定数 ( $K_d$ ) は  $38.2 \mu\text{mol/L}$  と算出された。血清中のアルブミン濃度は  $0.4-0.6 \text{ mmol/L}$  であることより、アルブミン 1 分子当たりの最大結合数 ( $n$ ) は 4 であった。非結合型分率 ( $f_p$ ) は  $3-50 \mu\text{mol/L}$  では  $1.81 \pm 0.03\%$  と一定であり、 $100 \mu\text{mol/L}$  以上で増加した。持続注入試験の最大用量 20 mg/kg/hr における血漿中 ONO-1301 濃度 (約  $420 \mu\text{mol/L}$ ) に相当する  $400 \mu\text{mol/L}$  の非結合型分率は  $2.62 \pm 0.13\%$  であり、 $1 \text{ mmol/L}$  では  $4.17 \pm 0.19\%$  であった。

### 3) 肝細胞中蛋白への結合

肝臓中のサイトゾル分画への ONO-1301 の分配率は 23%であった。ONO-1301 の 33%サイトゾルとの結合を平衡透析法で検討し、解析結果を Fig. 1-4 に示した。飽和性と非飽和性の部分が認められた。フィッティングで得られた  $K_d$  は  $5.4 \mu\text{mol/L}$  であり、100%サイトゾルを外挿して求めた  $n(P)_t$  は  $117 \mu\text{mol/L}$  であった。非結合型分率は、 $3-20 \mu\text{mol/L}$  では  $2.50-2.86\%$  と一定であり、 $50 \mu\text{mol/L}$  以上で増加した。持続注入試験の最大用量 20 mg/kg/hr における肝臓中 ONO-1301 濃度 (約  $670 \mu\text{mol/L}$ ) に相当する  $600 \mu\text{mol/L}$  の非結合型分率は  $4.95 \pm 0.60\%$  であった。

### 4) 肝細胞中の結合蛋白の同定

肝細胞中の結合蛋白をゲル濾過法により同定した。 [ $^{14}\text{C}$ ]ONO-1301 とサイトゾル蛋白の溶出パターンを Fig. 1-5 に示した。 溶出液の GST 活性を測定したところ、放射能のピークと一致したことから、ONO-1301 の結合蛋白が ligandin であると示唆された<sup>49), 50)</sup>。

#### 5) 肝血流速度の測定

ラットに ONO-1301 を持続注入 (0.2, 2 及び 20 mg/kg/hr) し、ONO-1301 の肝血液流量に及ぼす影響を検討した。 投与前の肝血液流量の平均値は 59.1 mL/min/kg であった。 生理食塩液の持続注入は肝血液流量に影響しなかったが、ONO-1301 は用量依存的に肝血液流量を増加させ、2 mg/kg/hr で約 30%の増加を示した (Table 1-2)。

#### 6) *In vivo* 肝取込みクリアランス (integration plot analysis)

肝取込みの飽和が生じていることをより直接的に測定するため、種々の投与量 (0.01-25 mg/kg) の ONO-1301 をラットに静脈内投与後、ONO-1301 の血漿中濃度推移と肝臓中濃度を解析した (Fig. 1-6)。 本化合物の *in vivo* 肝取込みクリアランス ( $\text{CL}_{\text{uptake, in vivo}}$ ) は線形領域 (0.01-1 mg/kg) では 27-30 mL/min/kg とほぼ肝血漿流量に等しかった。  $\text{CL}_{\text{uptake, in vivo}}$  は用量の増加に伴い減少し、25 mg/kg では 14.3 mL/min/kg となった (Fig. 1-7)。

#### 7) 遊離肝細胞

ONO-1301 のラット遊離肝細胞への取込みは時間と共に増加し、細胞内対メディウム濃度比 (C/M ratio) は約 8000 と濃縮的な取込みが観察された。  $\text{Na}^+$ 存在下と非存在下で検討したところ、本化合物の取込みは  $\text{Na}^+$ 依存性の取込みと非依存性の取込みが認められた (Fig. 1-8)。 両取込みとも飽和を示し、 $\text{Na}^+$ 存在下の  $K_m$ 、 $V_{\text{max}}$  及び  $P_{\text{dif}}$  はそれぞれ  $15.6 \pm 5.4 \mu\text{mol/L}$ 、 $5.9 \pm 1.6 \text{ nmol/min/mg protein}$  及び  $12.9 \pm 5.4 \mu\text{L/min/mg protein}$  であり、 $\text{Na}^+$ 非存在下での  $K_m$ 、 $V_{\text{max}}$  及び  $P_{\text{dif}}$  はそれぞれ  $3.8 \pm 0.8 \mu\text{mol/L}$ 、 $4.8 \pm 0.6 \text{ nmol/min/mg protein}$  及び  $29.3 \pm 4.8 \mu\text{L/min/mg protein}$  であった (Fig. 1-9)。 さらに、代謝阻害剤 (rotenone 及び FCCP) により取込みが抑制され、低温でも顕著に阻害された (Table 1-3)。  $\text{Na}^+$ 依存性胆汁酸トランスポーター (Ntcp) と  $\text{Na}^+$ 非依存性の organic anion transporter (oatp) の代表的な基質である taurocholate (TCA) と pravastatin を用いて相互阻害効果を検討したところ、TCA 及び pravastatin は ONO-1301 の取込みを用量依存的に阻害し、ONO-1301 もそれぞれの取込みを用量依存的に阻害した (Table 1-3)。

#### 8) 肝取り込みクリアランスの推定

実験より得られた  $\text{PS}_{\text{influx, in vitro}}$  は Eq. 1-12 より 9400 mL/min/kg であり、血漿中非結合型分率 ( $f_p = 0.018$ ) を考慮すると  $f_p \cdot \text{PS}_{\text{influx, in vitro}}$  は 171 mL/min/kg となり、肝血液流量 (59.1 mL/min/kg) とヘマトクリット値 (0.45) を考慮した肝血漿流量 (32.5 mL/min/kg) よりも約 5 倍大きな値であるため、血流律速の取込みであることが伺える。 実際に Eq. 1-13, 14, 15 により予測した  $\text{CL}_{\text{uptake, in vivo}}$  は 31.5 mL/min/kg であり、肝血漿流量とほぼ等しく血流律速の取込

みが示された. 0.01 mg/kg の *in vivo* 肝取り込みクリアランス (28 mL/min/kg) とも一致した.

## 5) 考察

ラットにおける ONO-1301 の肝胆系移行動態を検討し、本化合物の非線形の要因を解明し、BA を決定する要因について検討した。ONO-1301 の  $CL_{tot}$  は用量の増加に伴い減少し、非線形性が認められた (Table 1-1) 。また、 $[^{14}C]$ ONO-1301 をラットに経口投与した結果、投与した放射能のほとんどが胆汁中に排泄された (unpublished data) ことより、本化合物においては、肝取込み、肝代謝及び胆汁排泄過程が極めて重要な体内動態の支配要因であり、BA を決定する要因となると考えられる。

$CL_{tot}$  と  $E_H$  の用量による変動は共に用量依存的な減少を示したものの、 $CL_{tot}$  は 2 mg/kg/hr で約 90%程度に減少したのに対して、 $E_H$  は約 1/2 に減少した。20 mg/kg/hr でも  $CL_{tot}$  が 30% に減少したのに対し、 $E_H$  が 8%に減少し、 $E_H$  の方がより顕著な減少を示した (Table 1-1)。これは、ONO-1301 の投与で肝血液流量 ( $Q_B$ ) が増大したことによると考えられる。そこで、血流計を用いてラットの  $Q_B$  をエーテル麻酔下に直接測定し、ONO-1301 の  $Q_B$  に及ぼす影響を検討した。エーテル麻酔は肝代謝と同様に肝血液流量にも影響を与える<sup>51)</sup>。この実験において観察された肝血液流量が生理的な肝血液流量かどうかは疑わしいが、本研究の全ての *in vivo* 実験は同様にエーテル麻酔下で実施されており、肝血液流量に関して、ONO-1301 の用量依存的な影響は議論できると考えられた。投与前の肝血液流量は 59.1 mL/min/kg であり、報告値<sup>52), 36)</sup>と同程度であった。ONO-1301 の持続注入により肝血液流量は投与量依存的に増加し、0.2, 2 及び 20 mg/kg/hr でそれぞれ 21%, 31%及び 34%増加した (Table 1-2)。 $CL_{tot}$  の減少が  $E_H$  の低下ほど顕著でないのは肝血液流量の増加も一因と考えられるが、肝血液流量を考慮した  $CL_H$  の減少も  $CL_{tot}$  に比べると大きく、これだけでは説明できない。 $CL_H$  は一般に  $Q_B$ ,  $f_B$ ,  $CL_{int,all}$  の関数として表現できる。ここで、 $f_B$  は血液中非結合型分率、 $CL_{int,all}$  は全体肝固有クリアランスであり、次式で表される<sup>16), 53)</sup>。

$$CL_{int,all} = PS_{inf} \cdot \frac{CL_{int,met} + CL_{int,bile}}{PS_{eff} + CL_{int,met} + CL_{int,bile}} \quad (\text{Eq. 1-16})$$

ここで、 $PS_{inf}$  と  $PS_{eff}$  は肝取込み過程及び排出過程の膜透過クリアランス、 $CL_{int,met}$  及び  $CL_{int,bile}$  は固有の代謝及び胆汁排泄クリアランスである。この式からも解るように、持続注入速度の上昇に伴う  $CL_H$  の減少が認められた原因として、(1) 肝取込み過程の飽和 ( $PS_{inf}$  ↓), (2) 胆汁排泄過程の飽和 ( $CL_{int,bile}$  ↓), (3) 代謝の飽和 ( $CL_{int,met}$  ↓) 等の可能性が考えられる。ここで (3) の代謝の飽和の可能性については、 $[^{14}C]$ 体を投与した実験で投与量によらず、血漿中及び胆汁中代謝物の比率が一定であった (unpublished data) ことより除外できる。そこで、(1) と (2) の可能性について明らかにするために定常状態での各種薬物動態パラメータを解析した。血漿中濃度基準の胆汁排泄クリアランス ( $CL_{bile,plasma}$ ) は 0.2 mg/kg/hr で 0.86 mL/min/kg と  $CL_H$  (12.2 mL/min/kg) に比較して小さく、本化合物でみられたクリアランスの低下に対する寄与は少ないものと考えられる。また、 $CL_{bile,plasma}$  は用量の増

加に伴い減少したのに対して、肝臓中濃度基準の胆汁排泄クリアランス ( $CL_{\text{bile,liver}}$ ) は逆に増加したことから、本化合物の  $CL_H$  の減少の原因が胆汁排泄の飽和でないことが示唆される。この  $CL_{\text{bile,liver}}$  の用量依存的な増加については、組織内結合が飽和したために  $CL_{\text{bile,liver}}$  が増加するものと考えられた。肝細胞中の蛋白との結合実験より ONO-1301 の肝細胞中の結合タンパクは ligandin であることが示され、 $CL_{\text{bile,liver}}$  が増加する 2 mg/kg/hr での肝臓中濃度 (150  $\mu\text{mol/L}$ ) は肝細胞中の ligandin 濃度 (50-100  $\mu\text{mol/L}$ )<sup>39), 54)</sup> より高かった。Fig. 1-4 の結果より、高親和性結合の結合能が 100  $\mu\text{mol/L}$  であったことはこのことを支持する。

以上の考察に加え、持続注入速度の上昇に伴い、 $K_p$  値が  $E_H$  同様に低下することからも、本化合物の非線形性の原因として、肝臓への取込み飽和の可能性が考えられた。本化合物は約 98% が血漿蛋白と結合しているにも関わらず、 $K_p$  値が約 26 と大きかった。このような高い  $K_p$  値の説明として 2 つの可能性が考えられる。一つは、トランスポーターの関与であり、もう一つは組織結合が血漿蛋白以上に高いことである。100% サイトゾルに外挿したときのサイトゾル蛋白に対する結合率は 97% であり、血漿蛋白との結合率 98% とほぼ同等であった。組織結合では、 $K_p$  値 26 を説明できず、トランスポーターの関与を考えなければならない。

そこで、肝取込みの飽和について直接検討するために、種々の投与量 (0.01-25 mg/kg) の ONO-1301 を静脈内投与後、ONO-1301 の血漿中濃度推移と肝臓中濃度を解析した。初期の肝取込みクリアランス ( $CL_{\text{uptake, in vivo}}$ ) は 0.01-1 mg/kg の線形領域では 29 mL/min/kg (Fig. 1-7) であり、肝血漿流量 (32.5 mL/min/kg) に近い値であった。このような定常状態の  $CL_{\text{tot}}$  と  $K_p$  値の非線形は取込みの飽和で説明された。

さらにラット遊離肝細胞を用いて、速度論的な解析を行った。 $\text{Na}^+$  依存性及び非依存性の取込みはいずれも飽和性を示し、 $K_m$  はそれぞれ 15.6 及び 3.8  $\mu\text{mol/L}$  であり、 $V_{\text{max}}$  はそれぞれ 5.9 及び 4.8 nmol/min/mg protein であった。 $\text{Na}^+$  存在下でのパラメータを用いて Eq. 1-12 より計算した  $PS_{\text{influx, in vitro}}$  は 9400 mL/min/kg であった。 $f_p$  と  $PS_{\text{influx, in vitro}}$  に基づき、Eq. 1-13, 14, 15 により求めた  $CL_{\text{uptake, in vivo}}$  は 31.5 mL/min/kg であり、肝血漿流量とほぼ等しく、*in vivo* 実験の 0.01 mg/kg の結果 (29 mL/min/kg) と一致した。以上、*in vitro* 実験ならびに *in vivo* 実験より、本化合物の肝取込みクリアランスがほぼ肝血漿流量に近いことが示されたが、定常状態の  $E_H$  は 1 よりもはるかに小さく、0.31 であった。これは Eq. 1-16 により容易に判断できるように、 $PS_{\text{eff}}$  が  $CL_{\text{int,met}}$  及び  $CL_{\text{int,bile}}$  に比べ、十分に大きいことによるものと考えられる。

ONO-1301 のラット遊離肝細胞への取込みは  $\text{Na}^+$  依存性及び非依存性の取込みが認められ、定常状態での C/M ratio は約 8000 と濃縮的な取込みが観察された。また、温度依存性と代謝阻害剤による抑制が認められ、担体介在性の  $\text{Na}^+$  依存性及び非依存性の両輸送システムによ

るものと考えられた。ONO-1301 は分子内にカルボン酸を有する有機アニオン系化合物であり、PG レセプターに特異的に結合するアゴニストであり、その肝取込みには Ntcp, epoxide hydrolase, oatp 及び PGT といったトランスポーターが関与する可能性が考えられる。ONO-1301 の肝取込みにどのトランスポーターが関与するかを確認するために、取込みに対する相互阻害効果を検討した。ONO-1301 の肝取込みは、Na<sup>+</sup>存在下及び非存在下で TCA と pravastatin によって部分的に阻害された。TCA と pravastatin の 50%阻害濃度はそれぞれ 20 及び 50 µmol/L で、TCA の取込みの K<sub>m</sub> (Na<sup>+</sup>依存性：15 µmol/L, 非依存性：57 µmol/L<sup>21)</sup>) と pravastatin の取込みの K<sub>m</sub> (29 µmol/L<sup>55)</sup>) とほぼ一致していた。ONO-1301 は TCA と pravastatin の取込みを阻害し、その 50%阻害濃度は 10 µmol/L であり、ONO-1301 取込みの K<sub>m</sub> 値 (4-7 µmol/L) と近い値であった。これらの相互阻害の結果より、ONO-1301 は少なくとも一部が Na<sup>+</sup>依存性の Ntcp と Na<sup>+</sup>非依存性の oatp を介して肝取込みされる可能性が示された。PGT の関与については不明であった。

ONO-1301 は肝取り込み過程に関与する輸送系の飽和に起因する非線形の体内動態を示し、肝取込み輸送は肝クリアランスを決定する重要な過程であることが示された。経口投与製剤である ONO-1301 の非線形は BA の変動につながる。一般的に、BA に影響を及ぼすのは消化管及び肝臓における初回通過代謝であるが、ONO-1301 においては肝取り込み過程が BA を決定する要因になることを明らかにした。

BA は吸収率 (F<sub>a</sub>)、小腸アベイラビリティ (F<sub>G</sub>)、肝アベイラビリティ (F<sub>H</sub>)を用いて、

$$BA = F_a \cdot F_G \cdot F_H$$

と表すことができる。また、F<sub>H</sub> と CL<sub>uptake, in vivo</sub> の関係は以下の式で表される。

$$F_H = 1 - E_H$$

$$E_H = CL_{uptake, in vivo} / Q_B \cdot (1 - H_c)$$

ONO-1301 で認められた肝取り込みの飽和によって、CL<sub>uptake, in vivo</sub> は低下する。上記の式から明らかのように、CL<sub>uptake, in vivo</sub> の低下によって E<sub>H</sub> は低下し、F<sub>H</sub> は増加する。したがって、BA は増大する方向に変動する。

上述したように、*in vitro* 実験ならびに *in vivo* 実験より求めた ONO-1301 の肝取込みクリアランス CL<sub>uptake, in vivo</sub> がほぼ肝血漿流量に近いことが示された。E<sub>H</sub> は 1 に近い値となり、F<sub>H</sub> は 1 よりかなり小さな値となることから、肝取り込みの飽和による F<sub>H</sub> の変動幅は大きく、BA の変動も大きいと考えられる。

*In vitro* ラット遊離肝細胞の実験結果より得られた K<sub>m</sub>, V<sub>max</sub> を用いて *in vivo* 持続注入試験の各用量における定常状態濃度での CL<sub>uptake, in vivo</sub> を求めた。Na<sup>+</sup>非依存性のトランスポーターの CL<sub>uptake, in vivo</sub> が 0.2, 2, 20 mg/kg/hr の定常状態動脈血漿中遊離型薬物濃度において、それぞれ 30.5, 30.3, 24.0 mL/min/kg であった。それぞれの F<sub>H</sub> は 0.134, 0.139, 0.318 と計算

され、20 mg/kg/hr で 0.2 mg/kg/hr に比較して 2.4 倍になった。

ONO-1301 を 10, 30, 100 mg/kg で経口投与したときの投与後 24 時間までの AUC は、それぞれ 22.65, 145.93, 1254.54  $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$  であった。ONO-1301 を静脈内投与した際の ONO-1301 濃度を測定した結果がないために BA は求められないが、AUC は用量比以上の増加を示した。



6) 図表

**Table 1-1 Dose-dependence of the kinetic parameters for ONO-1301 at steady-state  
(60 min after the beginning of the intravenous infusion)**

	Infusion rate (I)		
	0.2 mg/kg/hr	2 mg/kg/hr	20 mg/kg/hr
$C_{a,ss}$ [ $\mu\text{g/mL}$ ]	0.518 $\pm$ 0.027	5.90 $\pm$ 0.11	175 $\pm$ 2
$C_{hv,ss}$ [ $\mu\text{g/mL}$ ]	0.358 $\pm$ 0.018	4.96 $\pm$ 0.15	171 $\pm$ 2
$CL_{tot}$ [mL/min/kg]	6.48 $\pm$ 0.35	5.65 $\pm$ 0.10*	1.90 $\pm$ 0.02***, \$\$\$
$E_H$	0.306 $\pm$ 0.034	0.158 $\pm$ 0.026**	0.024 $\pm$ 0.014***, \$
$V_{bile}^a$ [ $\mu\text{g/min/kg}$ ]	0.305 $\pm$ 0.024	3.53 $\pm$ 0.37	16.5 $\pm$ 3.0
$V_{bile} / I^b$ [%]	9.15 $\pm$ 0.71	10.58 $\pm$ 1.10	4.96 $\pm$ 0.89*, \$\$
$C_{liver}$ [ $\mu\text{g/g}$ ]	9.34 $\pm$ 0.95	74.8 $\pm$ 4.6	286 $\pm$ 17
$K_p$ ( $C_{liver}/C_{hv,ss}$ )	26.4 $\pm$ 3.7	15.2 $\pm$ 1.4*	1.68 $\pm$ 0.11***, \$\$
$CL_{bile,plasma}^c$ [mL/min/kg]	0.86 $\pm$ 0.10	0.714 $\pm$ 0.089	0.097 $\pm$ 0.017***, \$\$
$CL_{bile,liver}^d$ [mL/min/kg]	0.033 $\pm$ 0.003	0.047 $\pm$ 0.004	0.057 $\pm$ 0.008*

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of three rats.

Statistically significant: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , vs. 0.2 mg/kg/hr. \$  $P < 0.05$ , \$\$  $P < 0.01$ , \$\$\$  $P < 0.001$ , vs. 2 mg/kg/hr

a) measured from 55 - 65 min.

b) calculated by dividing  $V_{bile}$  by the infusion rate, I.

c) calculated by dividing  $V_{bile}$  by  $C_{hv,ss}$

d) calculated by dividing  $V_{bile}$  by  $C_{liver}$

**Table 1-2 Hepatic blood flow rates**

The hepatic blood flow rates were measured before and at steady-state (60 min) after the beginning of the intravenous infusion of ONO-1301 in rats. <sup>a)</sup>

	Steady State <sup>b)</sup>
	[% increase]
Saline	-3.1 ± 5.3
0.2 mg/kg/hr	21.4 ± 7.1
2 mg/kg/hr	30.5 ± 6.4
20 mg/kg/hr	33.3 ± 12.9

a) The average (± S.E.) hepatic blood flow rate before infusion was 59.1 ± 2.7 ml/min/kg (n = 20)

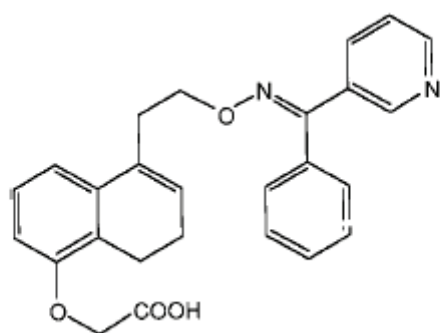
b) % increase compared to that before infusion; mean ± S.E. of 5 rats.

**Table 1-3 Effects of various inhibitors and hypothermia on uptake of ONO-1301, and effects of ONO-1301 on the uptake of TCA and pravastatin by isolated rat hepatocytes**

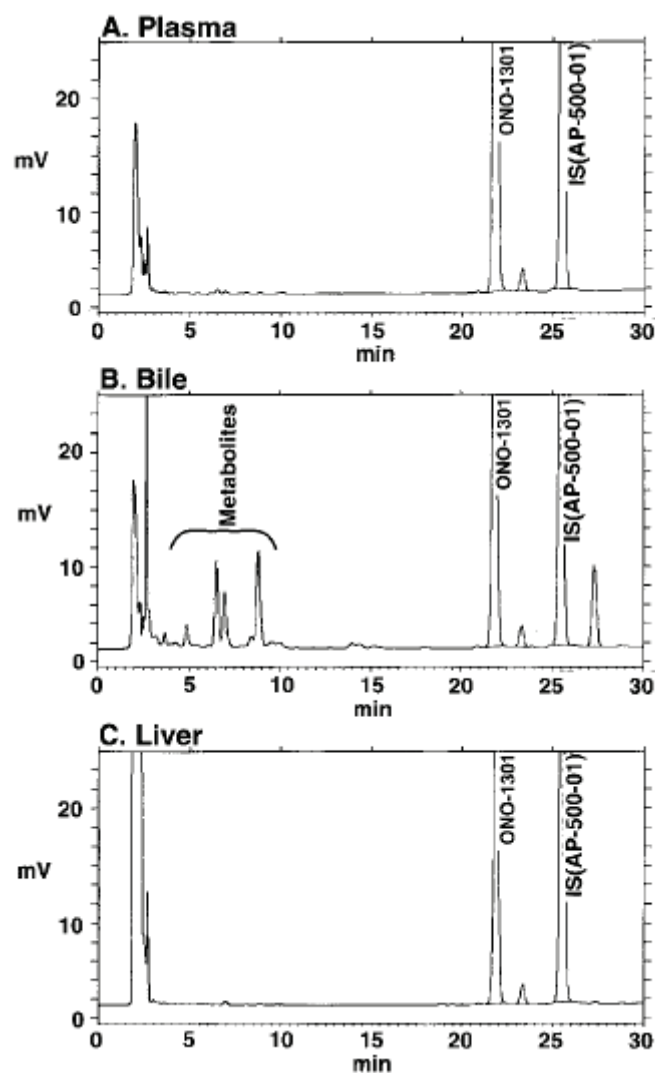
	Na <sup>+</sup> -dependent uptake [%] <sup>a)</sup>	Na <sup>+</sup> -independent uptake [%] <sup>a)</sup>	uptake in presence of Na <sup>+</sup> [%] <sup>a)</sup>
<b>ONO-1301 uptake</b>			
control	100	100	100
0°C	1.2 ± 1.2 *** <sup>b)</sup>	5.0 ± 1.6 *** <sup>b)</sup>	2.7 ± 0.6 *** <sup>b)</sup>
rotenone 30µmol/L	51.5 ± 17.2	47.4 ± 1.8 *** <sup>b)</sup>	52.9 ± 5.6 ** <sup>b)</sup>
FCCP 2µmol/L	82.2 ± 27.9	34.3 ± 2.2 *** <sup>b)</sup>	43.1 ± 5.9 ** <sup>b)</sup>
ONO-1301 500µmol/L	13.4 ± 7.2 *** <sup>b)</sup>	4.0 ± 1.4 *** <sup>b)</sup>	4.4 ± 1.7 *** <sup>b)</sup>
TCA 20µmol/L	64.2 ± 17.7 * <sup>b)</sup>	78.4 ± 3.2	73.7 ± 6.2 ** <sup>b)</sup>
TCA 50µmol/L	109.4 ± 65.7	53.1 ± 5.6 *** <sup>b)</sup>	62.8 ± 18.0 *** <sup>b)</sup>
TCA 100µmol/L	71.4 ± 18.9	50.0 ± 2.7 *** <sup>b)</sup>	57.0 ± 7.8 *** <sup>b)</sup>
TCA 500µmol/L	23.4 ± 11.8 *** <sup>b)</sup>	44.3 ± 3.9 *** <sup>b)</sup>	38.0 ± 2.2 *** <sup>b)</sup>
pravastatin 20µmol/L	33.9 ± 14.2 ** <sup>b)</sup>	95.1 ± 4.9	78.1 ± 4.0 * <sup>b)</sup>
pravastatin 50µmol/L	51.3 ± 15.7 * <sup>b)</sup>	74.1 ± 3.1 * <sup>b)</sup>	67.2 ± 5.0 ** <sup>b)</sup>
pravastatin 100µmol/L	44.4 ± 20.6 ** <sup>b)</sup>	67.6 ± 2.6 ** <sup>b)</sup>	57.6 ± 4.3 *** <sup>b)</sup>
pravastatin 500µmol/L	49.4 ± 19.4 * <sup>b)</sup>	45.5 ± 2.8 *** <sup>b)</sup>	44.9 ± 3.5 *** <sup>b)</sup>
<b>Pravastatin uptake</b>			
control		100	
pravastatin 500µmol/L		16.8 ± 1.1 *** <sup>b)</sup>	
ONO-1301 1µmol/L		87.1 ± 4.1	
ONO-1301 10µmol/L		40.3 ± 3.1 *** <sup>b)</sup>	
ONO-1301 100µmol/L		6.5 ± 1.1 *** <sup>b)</sup>	
ONO-1301 500µmol/L		4.6 ± 2.0 *** <sup>b)</sup>	
<b>TCA uptake</b>			
control	100	100	100
TCA 500µmol/L	4.3 ± 0.6 *** <sup>b)</sup>	6.9 ± 3.3 *** <sup>b)</sup>	5.3 ± 0.5 *** <sup>b)</sup>
ONO-1301 1µmol/L	90.2 ± 4.0	95.6 ± 13.5	89.8 ± 3.3
ONO-1301 10µmol/L	44.7 ± 3.5 * <sup>b)</sup>	60.4 ± 6.1 * <sup>b)</sup>	46.5 ± 2.9 *** <sup>b)</sup>
ONO-1301 100µmol/L	9.2 ± 1.8 *** <sup>b)</sup>	28.8 ± 5.2 *** <sup>b)</sup>	11.4 ± 1.6 *** <sup>b)</sup>
ONO-1301 500µmol/L	2.5 ± 0.7 *** <sup>b)</sup>	19.2 ± 3.3 *** <sup>b)</sup>	4.5 ± 0.6 *** <sup>b)</sup>

a) Each value represents the mean ± S.E. of 6 determinations in 2 different preparations.

b) statistically significant (ANOVA), \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001, vs control

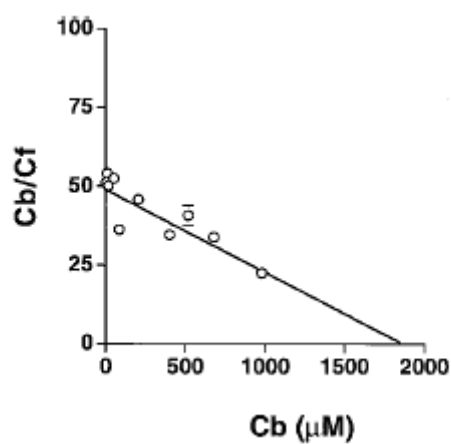


**Fig. 1-1 Chemical structure of ONO-1301.**



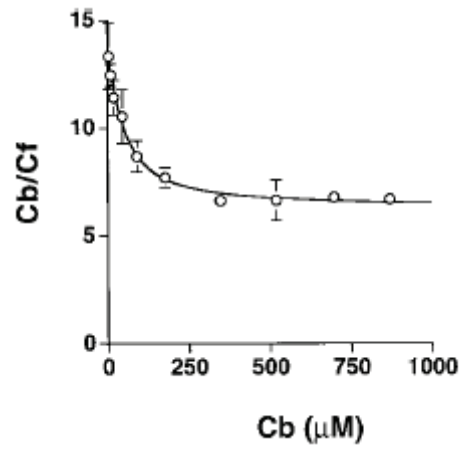
**Fig. 1-2 Typical HPLC chromatograms of biological samples.**

(A) Plasma sample 60 min after the beginning of the infusion; (B) bile sample from 55 min to 65 min after the beginning of the infusion; (C) liver sample 65 min after the beginning of the infusion. No metabolite peaks occurred in plasma and liver, but as far as the bile samples were concerned, some peaks were considered to be caused by metabolites.



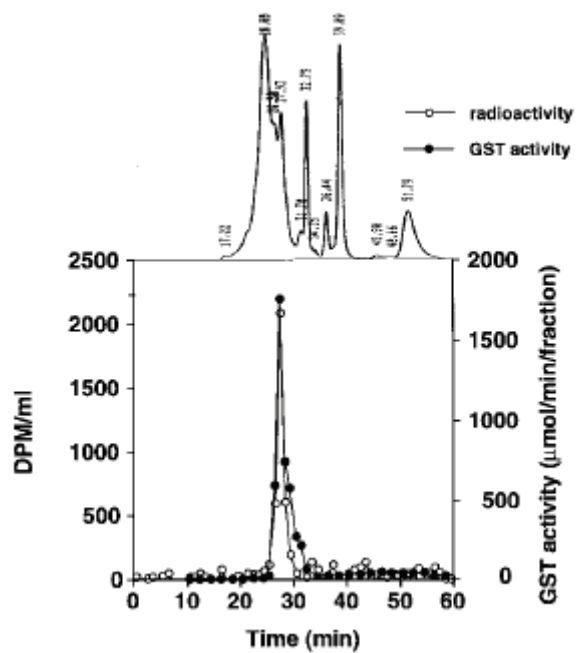
**Fig. 1-3 Scatchard plot for serum protein binding of ONO-1301.**

ONO-1301 was added to the serum side of the dialysis cell to produce final concentrations of 3 to 1000 mM. The dialysis cells were then incubated at 37°C for 6 hr.  $C_b$  and  $C_f$  represent the concentration bound to serum protein and the unbound concentration of ONO-1301, respectively. Each symbol and vertical bar represents the mean  $\pm$  S.E. of three data points. The solid line represents the fitted line (Eq. 1-6).



**Fig. 1-4 Scatchard plot for cytosol protein binding of ONO-1301.**

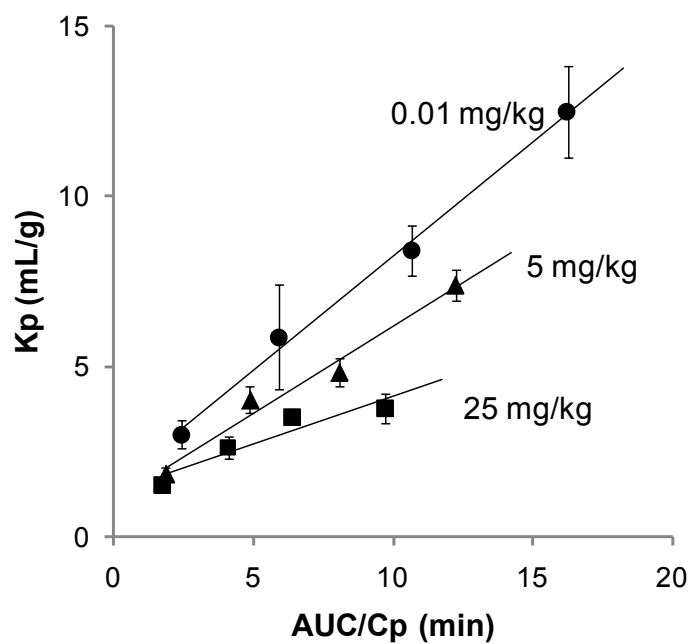
ONO-1301 was added to the cytosol side of the dialysis cell to produce final concentrations of 3 to 1000 mM. The dialysis cells were then incubated at 4°C for 48 hr. Cb and Cf represent the concentration bound to cytosol protein and the unbound concentration of ONO-1301, respectively. Each symbol and vertical bar represents the mean  $\pm$  S.E. of three data points. The solid line represents the fitted line (Eq. 1-7).



**Fig. 1-5 Elution pattern for the binding of ONO-1301 to the liver cytosol of rats.**

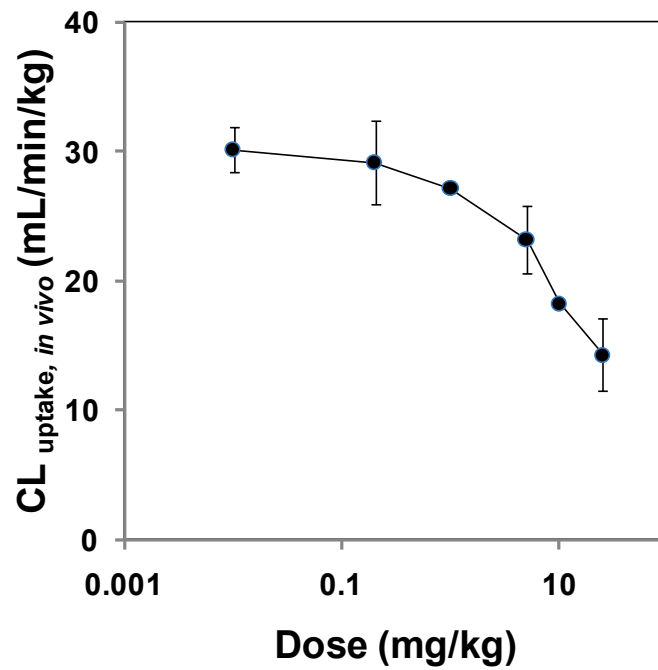
[<sup>14</sup>C]ONO-1301 was added to 0.5 mL of liver cytosol to produce final concentrations of 10 mmol/L. Specimens were incubated at 37°C for 15 min and then applied to HPLC with a gel filtration column (Asahipak GS-510, 7.6 mm i.d. × 50 cm). The solvent system used was 50 mmol/L potassium phosphate buffer (pH 7.4) at a flow rate of 0.5 mL/min. See details in the text. Solid line, protein absorbance (UV 280 nm), ○; radioactivity of [<sup>14</sup>C]ONO-1301, ●; GST activity.





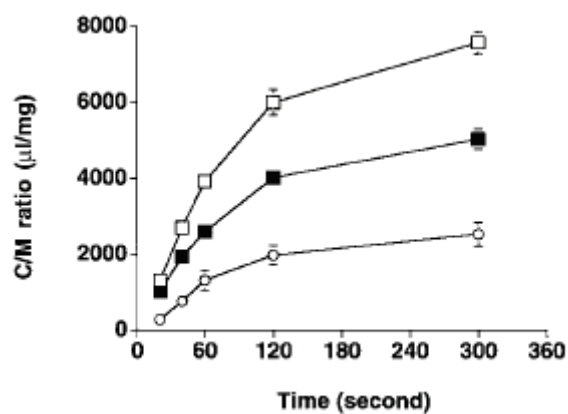
**Fig. 1-6 Dose-dependent change in the “integration plot” for the hepatic uptake of ONO-1301 after intravenous administration to rats.**

After intravenous administration of [<sup>14</sup>C]ONO-1301 (●, 0.01 mg/kg; ▲, 5 mg/kg; ■, 25 mg/kg), both plasma concentration ( $C_p$ ) time profiles and uptake by the liver were measured and the data expressed as an integration plot (Eq. 1-10). The slope represents  $CL_{\text{uptake, in vivo}}$ .



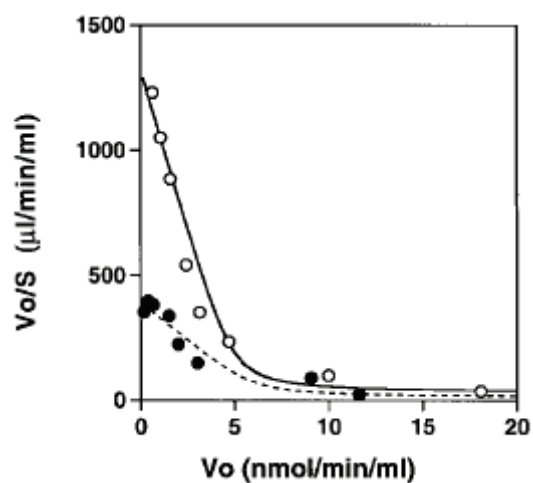
**Fig. 1-7 Dose dependence of ONO-1301 uptake clearances ( $CL_{\text{uptake, in vivo}}$ ).**

ONO-1301 was administered at 0.01, 0.2, 1, 5, 10 and 25 mg/kg, and  $CL_{\text{uptake, in vivo}}$  was estimated by integration plot analysis as shown in Fig. 1-6.



**Fig. 1-8 Time course of ONO-1301 uptake by isolated rat hepatocytes.**

Uptake of [<sup>14</sup>C]ONO-1301 was measured by incubating the isolated rat hepatocytes in Krebs-Henseleit buffer (pH 7.3) containing 0.5 mmol/L [<sup>14</sup>C]ONO-1301 in the presence (□) and absence (■) of Na<sup>+</sup> at 37°C after preincubation for 3 min. Na<sup>+</sup>-dependent ONO-1301 uptake (○) was calculated by subtracting the uptake with choline buffer from the total uptake measured. The uptake value (C/M ratio) means the cellular uptake amount divided by the extracellular concentration. Each symbol and vertical bar represents the mean ± S.E. of nine determinations in three different preparations.



**Fig. 1-9 Eadie-Hofstee plot of ONO-1301 uptake by isolated rat hepatocytes.**

Uptake of ONO-1301 was measured at concentrations of 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 100 and 500 mmol/L in the absence ( $\text{Na}^+$ -independent uptake,  $\circ$ ) and presence of  $\text{Na}^+$ .  $\text{Na}^+$ -dependent ONO-1301 uptake ( $\bullet$ ) was calculated by subtracting the uptake with choline buffer from the total uptake measured. Solid ( $\text{Na}^+$ -independent uptake) and dotted ( $\text{Na}^+$ -dependent uptake) lines represent the fitted line.

## 第2章 新薬申請時に静脈内投与データの添付の有無に影響する要因の検討

### 1) 要約

バイオアベイラビリティ (BA) , クリアランス及び分布容積などの基本的な薬物動態学的パラメータを計算する際に, ヒトでの静脈内投与試験は必須である。日本において, 2001年に『医薬品の臨床薬物動態試験について』が通知され, 経口製剤においても静脈内投与試験を実施し, 絶対的 BA を求めて医薬品の承認申請時に資料を添付することが推奨されたが, 静脈内投与データは必ずしも添付される訳ではない。本通知がヒト静脈内投与データの添付の有無に与える影響を確認するために, 通知の前後で静脈内投与データの添付の有無を比較し, 関連する要因の探索を行った。調査対象は 1999 年 9 月から 2009 年 4 月までに承認された全 117 品目の新規経口剤とした。各要因が静脈内投与データの添付の有無とどのように関連しているのかを確認するためにロジスティック回帰分析を行った。通知後に申請された内資企業の自社品では静脈内投与データの添付が著しく増えていた (オッズ比 [OR]=30-41)。さらに, 個体間変動が大きい薬物で静脈内投与データの添付の多いことが示された。しかし, 最も関連する可能性が高いと思われた溶解性は解析の結果, 影響しないことが示された。これらのことから, 静脈内投与データの添付の有無には, 物理化学的な実施可能性よりもむしろ, 申請資料としての説明力を強めるという開発者の意図が反映されていると考えられた。

## 2) 緒言

バイオアベイラビリティ (BA) は経口投与可能な開発化合物を選択する上で、最も重要な薬物動態特性の一つである。テルフェナジンと CYP3A4 阻害剤<sup>56), 57)</sup>、またはフェロジピンとグレープフルーツジュース<sup>58), 59)</sup>の薬物相互作用の例から、BA の顕著な増加が血中薬物濃度の変化を引き起こし、高度な副作用を発現させることが明らかになった。低い BA は、不十分な有効性の要因となるだけでなく、薬物動態パラメータの個体間変動の要因となる可能性もある<sup>60), 61), 62)</sup>。さらに、BA データは臨床薬剤師が個別医療の投与計画を立案し、薬の安全かつ有効な使用を促進するために必要である。BA データが新薬申請時の申請資料に含まれないと、製品の添付文書にも含まれないため、これらの業務に支障をきたすことになる。

2001 年 6 月に医薬品を適正に使用する際に必要な情報を確保することに重点をおいた『医薬品の臨床薬物動態試験について』が通知された<sup>14)</sup>。静脈内投与によって得られるクリアランスや分布容積といった重要な薬物動態の特性を把握することは、医薬品の適正使用に有用であることから、本通知では経口投与製剤においても静脈内投与試験を実施し、BA を求めて医薬品の承認申請時に資料を添付することを推奨した。通知の後もなお、静脈内投与データを添付せずに申請承認される医薬品はある。実際には、治療域の狭い薬物、重篤な有害事象を有する薬物、動物の BA の低い薬物及び個体間変動の大きい薬物については、静脈内投与試験を実施すべきとの認識である。

ヨーロッパにおいて、臨床薬物動態試験のガイダンスが 1987 年に出された<sup>63)</sup>。FDA は、1987 年に BA 試験のガイダンス<sup>64)</sup>を出し、1998 年に小児<sup>65)</sup>及び腎障害患者<sup>66)</sup>のための臨床薬物動態試験に関するガイダンスを出した。日本において、上記通知の前にこれらの臨床薬物動態試験を含まない申請書類が提出されることは珍しくはなかった。当時、日本の添付文書に肝機能障害患者、腎機能障害患者及び小児の薬物動態学的データ、または BA データなどの臨床薬物動態学的情報は含まれなかった。最近 18 種の中枢神経系薬剤について、日本における本通知の影響と 9 種類の臨床薬物動態試験の実施率に焦点を当てた研究が報告されている<sup>67)</sup>。この報告は、臨床薬物動態試験の実施率が健常成人と肝機能障害患者以外の全てのタイプでこの通知の後に増加することを示した。静脈内投与データの申請資料への添付に対する開発者の意思決定に関連する要因をさらに調査するために、私はこの包括的な研究を実施した。

### 3) 方法

調査対象は1999年9月から2009年4月までに承認された新規経口剤とし、効能追加や用法用量の変更を除外した。117品目の新規経口剤を選択して、静脈内投与データの添付の有無を調べ、静脈内投与データの添付の有無と関連する要因の探索を行った。新規経口剤の情報は公表されている国内承認医薬品の承認申請概要書及び審査報告書<sup>68), 69)</sup>より収集した。被説明変数を二項値となる「ヒト静脈内投与データの添付の有無」とし、説明変数を連続変数の「溶解性」, 「尿中排泄率」, 「動物のBA」, 「個体間変動」, 「therapeutic window」とカテゴリー変数となる「申請時期」, 「申請企業」, 「薬効分類」としたロジスティック回帰分析による推計を行った。さらに各要因と申請時期の交互作用についても検討した。統計ソフトはSTATAを用いた。BAを求める際の静脈内投与において、活性体を用いる場合と親化合物を用いる場合が混在したが、申請資料に記載されているBAの値を採用した。また、吸収の改善を目的としたプロドラックでは、主に活性体が血液中に存在し、この様な薬剤では活性体のAUCを用いた。一方、ある種の抗癌剤などのように腫瘍部位で活性体に変換するプロドラックでは、主に親化合物が血液中に存在する。そのような薬剤では親化合物のAUCを評価した。企業の国籍について、中外製薬は内資企業としており、万有製薬は外資企業として解析した。今回の調査で用いた中外製薬の薬物はいずれも企業買収・合併(M&A)前に申請された薬物であり、万有製薬の薬物はM&A後であった。静脈内投与データの添付に関係すると考えられる要因と仮定される関係をTable 2-1に示した。個体間変動のパラメータとして使用したAUCのCV値について、日本人のデータであること、最終製剤または最終製剤と同等の処方であることを原則とし、複数の用量でそれぞれCV値が得られている場合はその平均値を用いた。日本人のデータがない場合には外国人のデータを用いた。尿排泄については、マスバランス試験の結果で尿中に排泄される総放射能の割合を解析に用いた。動物のBAについて、複数の動物でBAが求められている場合は、その平均値を用いた。

申請資料への静脈内投与データの添付と関係する要因を説明する適切なモデルや変数セットを検討するため、幾つかのモデルで回帰分析した。まずは基本的な説明変数を用いて解析した(Model 1)。次に、通知の前後で各説明変数の変化を説明するために、申請時期との交互作用を検討した(Model 2)。さらに薬効分類を加えて解析を行った。薬効分類は、中枢神経系用薬、循環器官用薬、消化器官用薬、泌尿器官用薬、血液・体液用薬、代謝性医薬品、腫瘍用薬、抗アレルギー用薬及び化学療法剤の9種をダミー変数のセットとして解析した(Model 3)。

#### 4) 結果

全 117 品目の新規経口剤を調査した。収集・検討した変数の基本統計量を Table 2-2 に示した。通知前に申請された薬剤は 50 品目あり、その中で静脈内投与データが添付されたものは 46% (23/50) であった。通知後に申請された薬剤は 67 品目あり、58% (39/67) で静脈内投与データが添付されていた。

対象薬剤を申請した企業によって外資と内資に分類すると、内資企業の申請した 53 品目の内、27 品目は海外の企業からの導入品であり、63% (17/27) で静脈内投与データが添付されており、内資企業の自社品は 26 品目であり、38% (10/26) で静脈内投与データが添付されていた。外資企業が申請した 64 品目の内、53% (34/64) で静脈内投与データが添付されていた。外資企業で静脈内投与データが添付された新規経口剤は通知の前後でそれぞれ 56% (15/27) 及び 54% (20/37) であり、内資導入品では通知の前後でそれぞれ 70% (7/10) 及び 59% (10/17) であり、通知の前後で大きな違いは無かった。しかし、内資自社品において静脈内投与データが添付された新規経口剤は通知の前後でそれぞれ 8% (1/13) 及び 69% (9/13) であり、通知後には著しく増加し、内資導入品と同程度になった。

ロジスティック回帰分析の結果を Table 2-3 に示した。申請時期については、Model 1 で有意差はないものの『医薬品の臨床薬物動態試験について』の通知後に静脈内投与データの添付が多い傾向が認められた。申請時期との交互作用を検討した Model 2 において、内資企業の自社品で外資企業の薬剤に比べて静脈内投与データの添付が有意に少ない (オッズ比 (OR) = 0.06, Table 2-3, Model 2) が、通知後は逆に内資企業の自社品で静脈内投与データの添付が有意に増えていた (OR = 30.3, Table 2-3, Model 2)。薬効分類を加えてさらに解析した Model 3 において、循環器官用薬で静脈内投与データの添付が多く (OR = 4.11, Table 2-3, Model 3)、消化器官用薬及び腫瘍用薬で静脈内投与データの添付が有意に少ない結果 (OR = 0.097 及び 0.27, Table 2-3, Model 3) であった。すなわち、循環器官用薬ではその他の薬物と比べて静脈内投与データの添付が 4.11 倍多く、消化器官用薬及び腫瘍用薬では他に薬物と比べて、静脈内投与データの添付がそれぞれ 0.097 倍及び 0.27 倍少ないことを示している。また、想定通り、個体間変動の大きな薬物で静脈内投与データの添付が多かった (OR = 8.23; Table 2-3, model 3)。すなわち、個体間変動を表現する CV 値が 1 大きくなると、静脈内投与データの添付が 8.23 倍多くなることを示している。Model 2 の回帰結果より、3 種の企業特性毎に個体間変動に沿った静脈内投与データの添付確率の推移を通知の前後で求め、Fig. 2-1 に示した。いずれにおいても、個体間変動が大きいもので静脈内投与データの添付確率が高かった。外資企業の開発品と内資企業の導入品では、通知の影響がほとんどみられなかったが、内資企業の自社品では顕著に認められた。予想に反して、溶解度はいずれのモデルにおいても OR がほぼ 1 であり、静脈内投与データの添付の有無との関係はなかった。



また，動物の BA，尿中排泄率，及び治療域はいずれのモデルにおいても静脈内投与データの添付の有無との関係はなかった。

## 5) 考察

経口投与は非侵襲的であり、特別な器材を必要としないことから、最も利便性の高い投与経路である。一方、臨床薬理学的な観点からすると、経口製剤は注射剤と比較してより多くの要因が関与しているため、解析は複雑である。経口投与された薬物は、全身循環に入る前に消化管吸収と初回通過代謝を受ける。これらのプロセスで個体間変動が生じることも多い。こうした薬物の暴露の変動は後期臨床試験と上市後の薬の有効性の違いにつながることも考えられる。開発者は薬物の個体間変動が許容できるかどうかを考慮し、静脈内投与データの取得の意思決定を行う。しかし、開発者にとって、静脈内投与試験の実施は時間と費用のかかるものであり、できれば避けたいものである。

この研究において、静脈内投与データの添付に対する通知の影響を確かめるために、私は新薬申請時の静脈内投与データの添付の有無を通知の前後で比較した。単に通知の前後で各々の疑わしい要因を比較するだけでは、有意な関係は観察されなかった。日本の申請資料に添付される臨床薬物動態試験の約 90%は海外の被験者で実施されていたとの報告がある<sup>67)</sup>。このことは日本における開発が海外で実施されたのちに行われることが多いからと考えられる<sup>70)</sup>。このような状況を考慮して、私は内資企業と外資企業では静脈内投与データの添付の意思決定において何らかの違いがあるものと考えた。したがって、全 117 種の薬物についてその企業特性によって (すなわち内資と外資に) 分類し、さらに内資企業については、その開発品目によって導入品と自社品に分類した。そして、企業特性と申請時期との交互作用についても評価した。その結果、内資企業の自社品で静脈内投与データの添付が通知後に顕著に増加した。ところが、外資企業の開発品及び内資企業の導入品については顕著な変化が認められなかった。通知によって、内資企業の自社品でも、外資企業の開発品及び内資企業の導入品の世界的なトレンドに沿うように静脈内投与データの添付が増加した。外資企業の開発品及び内資企業の導入品は、通常日本における臨床開発の前に海外で開発される。静脈内投与試験を行うかどうかの決定は日本での臨床開発までに終了しており、必要に応じて海外の静脈内投与データが使用されるものと推測される。

個体間変動の大きな薬物の申請資料には静脈内投与データの添付が多かった。しかし、個体間変動が大きくても静脈内投与データが添付されない薬物もあった。それらは ivermectin, perospirone, pilocarpine, raltegravir 及び delavirdine であり、その AUC の CV 値はそれぞれ 86, 72, 68, 56 及び 56%であった。これら 5 つの薬物のうち、ivermectin, raltegravir 及び delavirdine はオーファンドラッグであり、いくつかの試験が免除されていた。静脈内投与試験は、薬物動態学的特性の評価か、または規制当局の調査に対する準備のいずれかとして実施される。報告書のレビューによって 2 つの動機を区別することは難しいが、本研究結果は、個体間変動の大きな薬物において、円滑に審査を進めるために薬物動態学的データパッケー

ジを補完する意味合いで、静脈内投与データが申請資料に含まれていることを示す。

また、本研究において薬効分類と静脈内投与データの添付の間の有意な関係が見出された。循環器官用薬では静脈内投与データの添付が多く、消化器官用薬、抗アレルギー薬及び腫瘍用薬では静脈内投与データの添付が少ないことが示された。しかし、各々の薬効分類の薬剤の数が少ないためにこれらの結果の解釈は不明である。

薬物の溶解性は、投与ルートを決める上で重要である。溶解性の低い薬物では、静脈内投与試験において、非現実的な投与ボリュームとなるために実施できないと思われる。しかし、溶解性は静脈内投与データの添付と有意な関係は認められなかった。静脈内投与液の調製には単純に溶解度だけでなく、投与量の大小も影響すると考えられる。溶解性が 0.01 mg/mL 以下である glimepiride, lornoxicam, gefitinib, telmisartan, aripiprazole, letrozole, dienogest 及び irbesartan は、申請資料に静脈内投与データが添付されていた。これらの薬物の投与量は、gefitinib を除くと、それぞれ 0.5, 4, 20, 6, 2.5, 1 及び 50 mg といずれも小さかった。薬物の溶解性と臨床用量の関係を考察するために、溶解度を承認用量と動物の BA の積で除した溶解性比を計算したところ、高い溶解性比を持つ薬物で静脈内投与データの添付が多い傾向が認められた (data not shown)。臨床用量は通常、第 II 相試験の用量反応試験で決定され、そこでは go/no-go 決定に関連する重要な薬物動態学的特徴はすでに明らかになっていると考えられる。さらに市場サイズの情報も既に検討されているのが通常である。治療域の狭い薬物、重篤な有害事象を有する薬物、動物の BA の低い薬物及び個体間変動の大きい薬物については、静脈内投与試験を実施すべきと、『医薬品の臨床薬物動態試験について』の通知では言及しているが、本研究ではこれらが必ずしも静脈内投与試験の実施を判断するための基準とはならないことを示した。私は動物における薬物動態データとヒトにおける経口投与のデータからヒトでの BA の予測する方法を報告した<sup>71)</sup>。これらのように、より精度の高い予測法が開発され、薬物間相互作用や特定集団に対する PK 変化の予測に対する要求が高まり、ヒトの静脈内投与試験の実施の判断に、規制当局が BA 予測を利用する若干の余地があるようである。静脈内投与データの添付に対する決定要因は、単に開発企業の必要性だけでなく、規制遵守とデータの補強に対する開発企業の姿勢であると推測される。

静脈内投与試験の実施の判断及び申請資料への添付には、各企業の開発戦略や意思決定方針の違いが影響していると思われる。今回はこれらの要因については評価できていない。本検討は静脈内投与試験の実施の有無に関与する要因を全て包括したものではなく、申請資料から得られる情報に限定されている。

申請資料の内容が各企業の規制遵守の姿勢に強く依存することは何も新しいことではないが、異なった種類の薬物を持つ異なったタイプの企業が、規制遵守に向けた対応をどのように変化させるかを定量的に検討したことは新しいことである。当初私は、通知によって静脈

内投与データは原則的に申請資料として提出され、静脈内投与試験の実施可能性、すなわち薬物の水溶性に問題のあるものでは例外的に静脈内投与データが提出されないと考えていた。ところが、本研究を実施することにより、静脈内投与データの添付には、水溶性といった物理化学的性質よりもむしろ個体間変動などが影響しており、申請企業が申請医薬品の説明力を強めるために静脈内投与データを添付していることが分かった。同時に、申請企業の規制遵守に対する姿勢も伺えた。今回の私の研究結果は、開発企業の国籍や薬物の起源といった企業の特徴を反映しており非常に興味深いものであった。

結論として、この研究は申請資料への静脈内投与データの添付に関連する要因を調査すると共に、経口剤においても静脈内投与試験を実施してBAを求めることを推奨した通知の影響を検討した。通知は、内資企業起源の薬物においても外資企業の薬物と同様に、申請資料への静脈内投与データの添付を増加させた。規制遵守とデータの説明力を補強するという開発企業の姿勢が、実現可能性よりもむしろ、申請データとして静脈内投与データを提出する強い要因であることが示された。この研究は、ガイダンス遵守に向けての企業行動を定量的に評価し、規制とガイダンスの関係に更なる議論を提供することができた。

## 6) 図表

**Table 2-1 Explanatory Variables and our hypothesis on IV data inclusion**

Explanatory variables	Definition	Hypothesis
Submission time	Binary variable of before/after guidance	IV data inclusion would increase after the guidance.
BA in animals	Mean BA value of all animals investigated	Drugs with high BA in animals would have less IV data inclusion because BA is expected to be high in humans as well.
Solubility	Solubility in water or buffer [mg/mL]	Drugs with low solubility would have less IV data inclusion because of the feasibility to conduct IV studies.
Inter-individual variation	Coefficient of variation (CV) value of area under the plasma drug concentration-time curve (AUC) after oral administration in humans	Drugs with large inter-individual variation would have higher frequency of IV data inclusion, in order to explain whether the variation is attributed to BA or not.
Urinary excretion (between 0 and 1)	Urinary recovery rate of oral dose (measured by radioactivity in urine in human studies)	Drugs with high urinary excretion rate would have less IV data inclusion because high urinary excretion rate automatically means a higher BA.
Therapeutic window	Ratio of the maximum approved dose to the maximum dose in phase 1 study.	IV data would be included more frequently in drugs with a narrow therapeutic window.
Firm characteristics (nationality)	Non-Japanese/Japanese	Drugs submitted by non-Japanese firms may have undergone IV studies outside Japan.
Firm characteristics (Originator)	Originator (In-licensed/Self-originated) of drugs submitted by Japanese firms	In-licensed drugs may have undergone IV studies before license-in/out.
Therapeutic area	A set of 9 dummy variables representing the following categories of therapeutic drugs: central nervous system, cardiovascular system, gastrointestinal system, urinary system, hematologic, metabolism, antitumor, anti-allergic and chemotherapy	IV data inclusion status varies according to the therapeutic area.

**Table 2-2 Descriptive statistics of the drugs in this investigation**

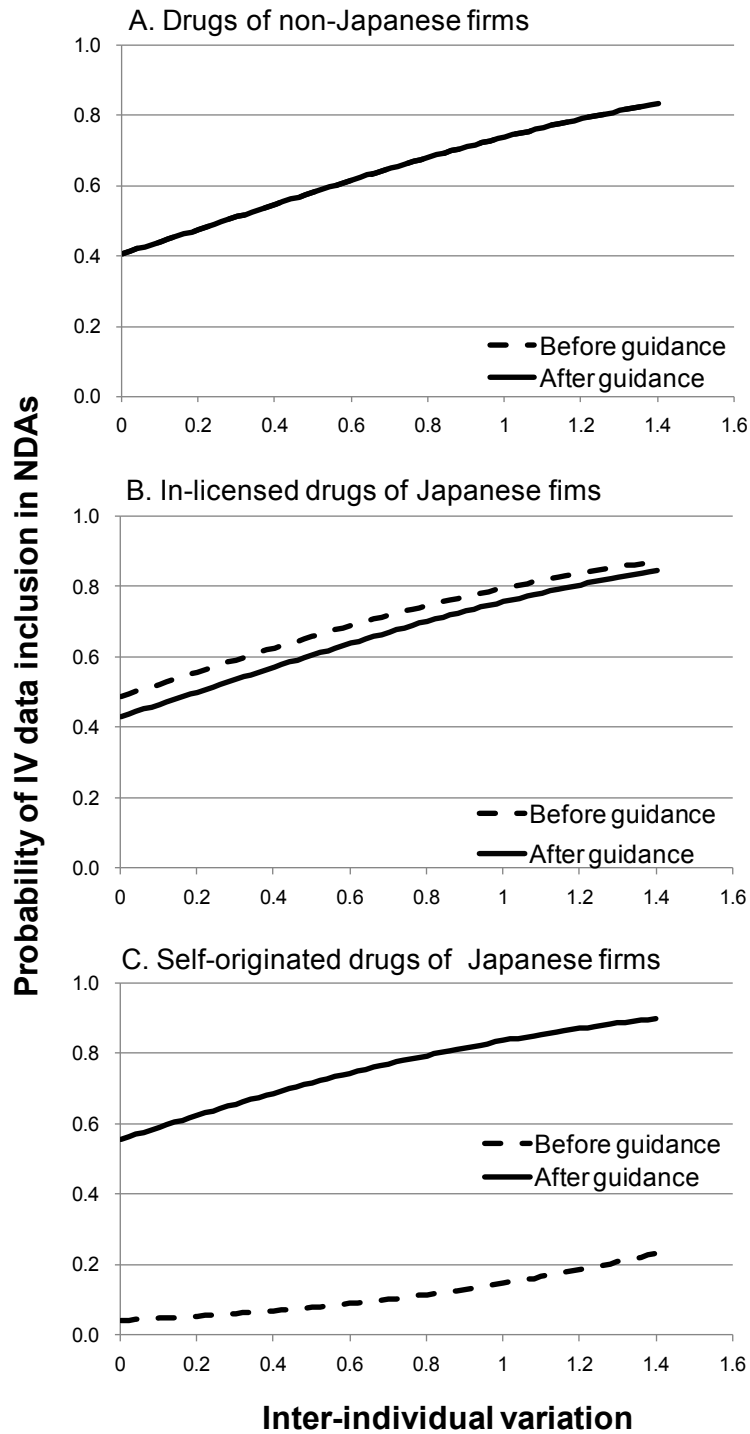
	n	mean [SD]	Frequency [%]
<u>Dependent variable</u>			
IV data (1 = IV data included in drug dossier)	117		62 [53.0%]
<u>Independent variables</u>			
Submission time (1 = drug submitted after guidance)	117		67 [57.3%]
BA in animals	106	0.37 [0.29]	
Solubility [mg/mL]	117	0.87 [0.30]	
Inter-individual variation	109	0.33 [0.23]	
Urinary excretion	114	0.43 [0.32]	
Therapeutic window	114	3.25 [4.45]	
Firm (1 = Japanese sponsor)	117		53 [45.2%]
Firm (1 = self-originated drug of Japanese sponsor)	117		26 [22.2%]
Therapeutic area			
1 = Cardiovascular drug	117		15 [12.8%]
1 = Gastrointestinal drug	117		5 [4.3%]
1 = Antitumor drug	117		14 [12.0%]
1 = Anti-allergy drug	117		9 [7.7%]

**Table 2-3 Results of logistic regression analysis**

Explanatory variables	Model 1	Model 2	Model 3
	OR [95% Conf. Interval]	OR [95% Conf. Interval]	OR [95% Conf. Interval]
Submission time	1.74 [0.78–3.85]	1.00 [0.35–2.91]	0.96 [0.29–3.24]
BA in animals	0.78 [0.16–3.88]	1.06 [0.20–5.62]	2.30 [0.35–14.87]
Solubility	1.00 [0.999–1.004]	1.00 [0.999–1.006]	1.00 [0.999–1.008]
Inter-individual variation	4.80 [0.59–38.85]	4.13 [0.52–33.04]	8.23 [0.77–88.52] *
Urinary excretion	2.61 [0.65–10.48]	2.01 [0.47–8.60]	2.01 [0.40–10.15]
Therapeutic window	1.09 [0.95–1.25]	1.07 [0.94–1.23]	1.09 [0.96–1.23]
Firm characteristics			
Non-Japanese (Basal)			
Japanese; In-licensed	1.14 [0.42–3.09]	1.39 [0.26–7.53]	1.24 [0.20–7.61]
Japanese; Self-originated	0.52 [0.19–1.45]	0.06 [0.006–0.65] **	0.071 [0.007–0.74] **
Firm characteristics ×Submission time (after guidance)			
Non-Japanese (Basal)			
Japanese; In-licensed		0.80 [0.09–6.68]	0.67 [0.06–7.27]
Japanese; Self-originated		30.3 [1.93–475.43] **	40.9 [2.48–674.8] ***
Cardiovascular			4.11 [0.87–19.49] *
Gastrointestinal			0.097 [0.007–1.28] *
Anti-allergy			0.16 [0.017–1.45]
Antitumor			0.27 [0.067–1.12] *
Number of observations	117	117	117
Pseudo R2	0.0943	0.1487	0.2457

OR: Odds Ratio. If the OR is greater than 1, the variable has a positive association with the probability that IV data is included in the NDA data package; if the OR is less than 1, *vice versa*.

\*: P < 0.1, \*\*: P < 0.05, \*\*\*: P < 0.01



**Fig. 2-1 Probability curve of IV data inclusion against inter-individual variations (CV values) .**

Panel A: drugs of non-Japanese firms; Panel B: in-licensed drugs of Japanese firms; Panel C: self-originated drugs of Japanese firms. The curves were drawn using the coefficients derived from the regression analysis (Table 2-3, Model 2) and using mean values for other variables.



### 第3章 経口投与後の絶対的BAを静脈内投与データなしで予測する試み

#### 1) 要約

ヒトでの経口投与時の絶対的 BA を予測した。まずは、ヒトでの消失相分布容積  $Vd_{\beta}$  を、動物における薬物動態データから3つの方法 (Method Ia, Ib 及び II) で予測した。次に、ヒトに経口投与時の消失速度定数  $\beta$  と  $Vd_{\beta}$  の積で静脈内投与データなしに全身クリアランスを算出し、ヒトの経口投与時の経口クリアランスとの比をとることにより BA を予測した。予測の妥当性を確認するために既にヒトでの静脈内投与データが報告されている 67 種の薬物について予測値と実測値の比較を行った。

$Vd_{\beta}$  の予測において、ラットの薬物動態データのみを用いた Method Ia 及び Ib は 72.1% の化合物で実測値の 2 倍以内の予測値が得られた。ラット以外の動物種の薬物動態データも用いた Method II は 75.0% の化合物で実測値の 2 倍以内の予測値が得られた。BA の予測において、Method Ia 及び Ib はそれぞれ 66.7% 及び 57.4% の化合物で実測値の 1.3 倍以内の予測値が得られ、Method II は 75.0% の化合物で実測値の 1.3 倍以内の予測値が得られた。ここで、医薬品開発の BA 評価で重要なのは定量でなくむしろ定性的な予測であることを踏まえ、67 種の薬物について BA の実測値が 30% 未満、30% 以上 70% 未満及び 70% 以上の 3 群に分類し、予測値の属する群と実測値の属する群の対応を比較した。その結果、30% 以下の BA の薬物群で 30% 以上の予測値が得られたのは、Method Ia 及び Ib において、それぞれ 2/12 及び 1/12 例のみであった。そして、70% 以上の BA の薬物群で予測値が 70% 以下であったのは、Method Ia, Ib 及び II でそれぞれ 3/30, 9/30 及び 1/11 種であった。BA の低い薬物は低い予測値が得られ、BA の高い薬物は高い予測値が得られるという目的は概ね達せられた。

結論としてヒトでの経口投与データと動物の薬物動態データからヒトにおける BA の予測の可能性を示し、本法により、静脈内投与データがない場合にも、ある程度 BA の予測が可能であることが示された。

## 2) 緒言

ヒトでの薬物の体内動態を予測する方法は大別してアロメトリック方式と IVIVE (*in vitro/in vivo extrapolation*)方式である。アロメトリック方式は *in vivo* の実験動物の動態からヒトを予測するアニマルスケールアップで、各種動物の解剖学的、生理学的、生物学的同等性に基づき、動物の体重と生理学的パラメータ (主にクリアランスまたは分布容積) の相関をアロメトリック式で表現したものである<sup>7), 8)</sup>。これは経験則に基づいた手法であり、代謝の種差を考慮していないという欠点がある。一方で、*in vitro* の代謝実験の結果から *in vivo* のクリアランスを予測する試みがラットを用いてなされ<sup>72), 73), 74)</sup>、これをヒトに当てはめ、ヒト肝ミクロソーム、肝細胞、肝スライスを用いた *in vitro* 試験からヒトの *in vivo* のクリアランスの予測が報告されている<sup>9)</sup>。これが IVIVE 法である。また、アロメトリック方式は分布容積の予測性が良いが、クリアランスについては予測性が悪い。そこで、低クリアランス薬について IVIVE を組み込んだアロメトリック方式も行われている<sup>10)</sup>。このような手段によりヒトに経口投与時の BA や血中濃度推移も予測されるようになった<sup>11)</sup>。これらの予測は、創薬及び開発ステージにおいてより良い動態特性をもつ化合物を選択する上では極めて有用である<sup>75)</sup>。しかし、現在行われている経口投与時の BA の予測の多くは、肝での初回通過代謝の予測にとどまっており、吸収率及び消化管での代謝は無視されている。

一方、本研究では動物データから予測した消失相分布容積  $Vd_{\beta}$  とヒト経口投与データの消失速度定数  $\beta$  を用いて全身クリアランス  $CL_{tot}$  を求め、ヒトの経口投与時の経口クリアランス  $CL_{po}$  との比をとることで絶対的 BA を算出した。本予測法ではヒトの経口投与のデータを用いており、肝での初回通過代謝のみでなく、吸収過程の全てが評価されている。現在、新規経口剤の開発に当たって、必ずしもヒトでの静脈内投与試験は実施されない。本研究では、本来静脈内投与データがないと得られない絶対的 BA を、静脈内投与データなしに予測することを目的とした。本予測法は、化合物選択時にいくつかの化合物を比較してよりよいものを選択するための予測ではなく、化合物選択後の開発化合物において、難溶解性や溶血性などの理由で静脈内投与が困難な化合物においても、静脈内投与データなしに絶対的 BA を見積もるための予測である。動物における薬物動態データとヒトにおける経口投与データからヒトでの BA の予測の可能性について、文献データを持って検証した。

### 3) 方法

#### 1) 動物の薬物動態データとヒトに経口投与時の薬物動態データの収集

Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics にヒトの BA が報告されている薬物 67 種について、動物の薬物動態パラメータ ( $\beta$  相における分布容積  $Vd_{\beta}$ , 血漿中非結合型分率  $f_p$ , 全血中濃度/血漿中濃度比  $R_B$  値) とヒトに経口投与時の薬物動態パラメータ ( $f_p$ ,  $R_B$  値, 消失相の消失速度定数  $\beta$  または消失半減期  $t_{1/2}$  と経口クリアランス  $CL_{po}$ ) の文献情報を収集した。検討に用いた化合物のリストを Table 3-1 に示した。  $R_B$  値についてはヒトまたは動物のいずれかで情報が得られたものについては他の種でも等しいとし、情報が得られなかったものについては情報が得られた 39 種の薬物の平均値 0.945 を用いた。

#### 2) $Vd_{\beta}$ の予測

定常状態において主たる分布組織に能動輸送が存在しないとき、非結合型薬物濃度は体内のどの場所でも等しい。定常状態分布容積  $Vd_{ss}$  と  $f_p$  の関係は次式で表せる<sup>76)</sup>。

$$Vd_{ss} = V_B \cdot R_B + f_p \cdot V_E + (1 - f_p) \cdot R_{E/I} \cdot V_B \cdot (1 - Hc) + V_T \cdot (f_p / f_T) \quad (\text{Eq. 3-1})$$

ここで、 $V_B$ ,  $V_E$  及び  $V_T$  はそれぞれ全血容積、細胞間質中容積及び組織容積を示す。また、 $R_{E/I}$  及び  $Hc$  はそれぞれ血漿中蛋白質量に対する細胞間隙中蛋白質量の比及びヘマトクリット値を示す。

ここでは  $Vd_{ss}$  の代わりに  $Vd_{\beta}$  を用いて Eq. 3-2 が成り立つものとした。

$$Vd_{\beta} = V_B \cdot R_B + f_p \cdot V_E + (1 - f_p) \cdot R_{E/I} \cdot V_B \cdot (1 - Hc) + V_T \cdot (f_p / f_T) \quad (\text{Eq. 3-2})$$

$V_B = 80 \text{ mL/kg}$ <sup>77)</sup>,  $V_E = 260 \text{ mL/kg}$ <sup>78), 79)</sup>,  $R_{E/I} = 1.4$ <sup>80)</sup>,  $Hc = 0.42$  とすると、遊離型薬物の分布容積  $V_T/f_T$  は次のように表現できる。

$$\frac{V_T}{f_T} = \frac{(Vd_{\beta} - 80R_B - 195f_p - 65)}{f_p} \quad (\text{Eq. 3-3})$$

例外はあるものの、血漿蛋白結合には種差があるが、組織結合には種差が少ない、すなわち、遊離型薬物の組織分布には種差が少ないことが報告されている<sup>76), 80)</sup>。今回、私はこの仮定に基づき、 $Vd_{\beta}$  の予測を 3 つの方法で行った。

#### Method Ia ;

実験動物として最も汎用され、データが得易いラットの薬物動態パラメータ ( $Vd_{\beta}$ ,  $R_B$ ,  $f_p$ ) を用いて Eq. 3-3 より、遊離型薬物の組織への分布容積 ( $V_T/f_T$ )<sub>rat</sub> を求め、上の仮定に基づきこれがヒトにおいても等しいとした<sup>80)</sup>。すなわち、次の関係が成り立つとした。

$$\left( \frac{V_T}{f_T} \right)_{human} = \left( \frac{V_T}{f_T} \right)_{rat} \quad (\text{Eq. 3-4})$$

$(V_T/f_T)_{human}$  とヒトの  $R_B$  及び  $f_p$  を Eq. 3-3 に代入し、ヒトの  $Vd_{\beta}$  を求めた。

#### Method Ib ;

$Vd_{\beta}$  の計算に間質を組織に含めて表現した次のような式を適用した<sup>81)</sup>.

$$Vd_{\beta} = V_B \cdot R_B + V_T \cdot (f_P / f_T) \quad (\text{Eq. 3-5})$$

$$\frac{V_T}{f_T} = \frac{(Vd_{\beta} - 80R_B)}{f_P} \quad (\text{Eq. 3-6})$$

Eq. 3-6 により, ラットの  $(V_T/f_T)_{\text{rat}}$  及びヒトの  $(V_T/f_T)_{\text{human}}$  は, 本研究のデータと Sawada らの報告<sup>82)</sup>から求めた.  $(V_T/f_T)_{\text{rat}}$  と  $(V_T/f_T)_{\text{human}}$  の相関を Fig. 3-1 に示した.

Fig. 3-1 の相関式から, Eq. 3-7 を用いてヒトの  $(V_T/f_T)_{\text{human}}$  を得た.

$$(V_T/f_T)_{\text{human}} = 0.6628(V_T/f_T)_{\text{rat}}^{1.096} \quad (\text{Eq. 3-7})$$

$(V_T/f_T)_{\text{human}}$  とヒトの  $R_B$  及び  $f_P$  を Eq. 3-7 に代入し, ヒトの  $Vd_{\beta}$  を求めた.

#### Method II ;

ラットのみならず, 各種動物のデータを用いて, Method Ia と同様にして動物毎に  $V_T/f_T$  を求め, 全ての動物種において遊離型薬物の組織分布容積  $V_T/f_T$  は等しいとの仮定より, 各動物より求めた  $V_T/f_T$  の平均値をヒトの  $V_T/f_T$  と等しいとして, 以下, Method Ia と同様にヒトの  $Vd_{\beta}$  を求めた<sup>80)</sup>.

#### 3) BA の予測

絶対的 Bioavailability (BA) は Eq. 3-8 のように示される.

$$BA = \frac{AUC_{po} / Dose_{po}}{AUC_{iv} / Dose_{iv}} \quad (\text{Eq. 3-8})$$

$AUC_{po}$  及び  $Dose_{po}$  は経口投与時の血漿中濃度時間曲線下面積 (AUC) と投与量 (Dose) ,  $AUC_{iv}$  及び  $Dose_{iv}$  は静脈内投与時の AUC と Dose である. 式を変換すると次のように表せる.

$$BA = \frac{CL_{tot}}{CL_{po}} \quad (\text{Eq. 3-9})$$

$CL_{tot}$  は全身クリアランスである. 一方で,  $CL_{tot}$  は  $\beta \cdot Vd_{\beta}$  と表せることより, BA は Eq. 3-10 のように表せる.

$$BA = \frac{\beta \cdot Vd_{\beta}}{CL_{po}} \quad (\text{Eq. 3-10})$$

すなわち, 静脈内投与データなしに  $\beta$  及び  $Vd_{\beta}$  が得られれば BA が求められる. ここで, フリップフロップが生じていないと仮定して経口投与のデータから  $\beta$  を求めて使用した.

#### 4) 予測の精度

ヒトの BA と  $Vd_{\beta}$  の実測値は文献情報から得 (Table 3-1) , 本方法で得られた予測値と比較した. 3 つの予測方法の精度を比較するために, the exponential geometric root mean squared

prediction error (egrse) と the average fold-error (afe) を求め、それぞれ精度とバイアスを評価した。予測誤差の過大評価と過小評価が相殺されることがないように評価し、少数の異常値で偏った結論に至るのを避けた。全ての実測値が完全に予測された場合に値は1となり、平均的に実測値の2倍の変動(実測値の200%または50%)であった場合に値は2となる。

$$afe = 10 \frac{1}{N} \sum \left| \log \frac{\text{Predicted}}{\text{Observed}} \right|$$
$$egrse = 10 \sqrt{\frac{1}{N} \sum \left( \log \frac{\text{Predicted}}{\text{Observed}} \right)^2}$$

## 4) 結果

### 1) $Vd_{\beta}$ の予測

全 67 種の薬物のうち、ラットの薬物動態パラメータが得られた 61 化合物について、Method Ia 及び Method Ib による  $Vd_{\beta}$  の予測を実施した。ラット以外の動物種の薬物動態パラメータが得られた 28 化合物について Method II による  $Vd_{\beta}$  の予測を行った。動物データからヒトにおける  $Vd_{\beta}$  の予測値と文献より得られたヒトでの実測値との対応を Fig. 3-2 及び Table 3-2 に示した。ラットの薬物動態パラメータのみを用いた Method Ia 及び Method Ib において実測値の 2 倍以内の予測値が得られた化合物はいずれも 61 化合物中 44 化合物 (72.1%) であった。ラット以外の動物種の薬物動態パラメータも用いた Method II において実測値の 2 倍以内の予測値が得られた化合物は 28 化合物中 21 化合物 (75.0%) であった。3 種の予測の統計学的比較を Table 3-3 に示した。Method Ia, Ib 及び II の afe はそれぞれ 1.85, 1.80 及び 1.56 であり、egrse はそれぞれ 2.20, 2.25 及び 1.76 であった。予測値が実測値の 2 倍以内に含まれる割合が最も高かったこと及び統計学的な精度から、Method II による予測の精度が最も高かった。

### 2) BA の予測

BA の予測値と実測値の対応を Fig. 3-3 及び Table 3-4 に示した。予測値が 100%を越えるものは 100%として示した。ラットの薬物動態パラメータのみを用いた Method Ia 及び Method Ib において実測値の 2 倍以内の予測値が得られた化合物はそれぞれ 61 化合物中 53 化合物 (86.9%) 及び 49 化合物 (80.3%) であり、実測値の 1.3 倍以内の予測値が得られた化合物はそれぞれ 61 化合物中 40 化合物 (66.7%) 及び 35 化合物 (57.4%) であった。ラット以外の動物種の薬物動態パラメータも用いた Method II において実測値の 2 倍以内の予測値が得られた化合物は 28 化合物中 26 化合物 (92.9%) であり、実測値の 1.3 倍以内の予測値が得られた化合物は 28 化合物中 21 化合物 (75.0%) であった。3 種の予測の統計学的比較を Table 3-2 に示した。Method Ia, Ib 及び II の afe はそれぞれ 1.41, 1.48 及び 1.30 であり、egrse はそれぞれ 1.70, 1.86 及び 1.48 であった。予測値が実測値の 2 倍または 1.3 倍以内に含まれる割合が最も高かったこと及び統計学的な精度から、Method II による予測の精度が最も高かった。

BA の実測値の低い薬物群と高い薬物群について予測値と実測値の対応をみるために、BA の実測値が 30%未満、30%以上 70%未満及び 70%以上の 3 群に分類し、方法毎に予測値との対応を見た結果を Table 3-5 に示した。動物のデータとしてラットのみを用いた Method Ia, Ib において予測値と実測値の対応をみると、BA の実測値が 30%以下の全 12 種の薬物群で 30%以上の予測値が得られたのは Method Ia の 2 種 (pentazocin, cyclosporin: 18.4 及び 23%の

実測値に対してそれぞれ 32.2 及び 31.7%の予測値), Method Ib の 1 種 (cyclosporin: 23%の実測値に対して 32.1%の予測値) であった。そして, BA の実測値が 70%以上の 30 種の薬物群で予測値が 70%以下であったのは, Method Ia については 3 種 (S-etodolac, acetaminophen 及び hexobarbital: 73, 88 及び 90%の実測値に対してそれぞれ 37.0, 42.2 及び 62.8%の予測値), Method Ib については 9 種 (carbamazepine, digoxin, S-etodolac, acetaminophen, hexobarbital, Phenytoin, flurbiprofen, tolbutamide 及び warfarin: 70, 70, 73, 88, 90, 90, 92, 93 及び 93%の実測値に対してそれぞれ 57.2, 57.1, 36.3, 32.6, 44.2, 60.6, 63.3, 69.9 及び 67.3%の予測値) であった。実測値が 30-70%の全 19 種の薬物群は Method Ia 及び Method Ib でそれぞれ 11 及び 12 種が 30-70%の予測値が得られ, 30%以下の予測値が得られたものが Method Ia 及び Method Ib で共に 2 種 (R-carvedilol 及び fluoxetine: 32 及び 60%の実測値に対して Method Ia でそれぞれ 9.4 及び 27.4%の予測値, Method Ib でそれぞれ 6.1 及び 28.9%の予測値), 70%以上の予測値が得られたものが Method Ia で 6 種 (metoprolol, midazolam, nifedipine, ranitidine, fluorouracil 及び zolpidem: 38, 44, 50, 52, 55 及び 67%の実測値に対してそれぞれ 100, 100, 100, 100, 100 及び 84.4%の予測値), Method Ib で 5 種 (metoprolol, midazolam, nifedipine, ranitidine 及び fluorouracil: 38, 44, 50, 52 及び 55%の実測値に対してそれぞれ 100, 100, 100, 100 及び 100%の予測値) であった (Table 3-5)。

ラット以外の動物のデータを用いた Method II については, 実測値が 30%以下の全 8 種の薬物群ではいずれも 30%以下の予測値が得られた。実測値が 70%を越える全 11 種の薬物群の 1 種で 70%以下の予測値 (S-etodolac : 73%の実測値に対して 56.5%の予測値) が得られた以外はいずれも 70%以上の予測値が得られた。実測値が 30-70%の薬物群は 9 例中 6 例が 30-70%の予測値が得られ, 3 例で 70%以上の予測値 (midazolam, cefixime 及び zolpidem: 44, 47 及び 67%の実測値に対してそれぞれ 100, 70.5 及び 100%の予測値) が得られた (Table 3-5)。

## 5) 考察

本研究において、本来静注データがないと得られない  $CL_{tot}$  を経口データの  $\beta$  と動物データから予測した  $Vd_{\beta}$  より求め、BA を算出した。この方法の適用にはいくつかの仮定が必要となる。まず、第一に、経口データの  $\beta$  を用いるには、静脈内投与の消失相と経口投与の消失相が等しいという、すなわち、フリップフロップが生じないという仮定が必要である。この仮定が成立しているかどうかは、少なくとも実験動物で確認することができる。フリップフロップが生じないためには吸収過程に比べて消失過程が遅くなければならない。吸収過程を律するのは多くの場合、膜透過であり、能動輸送が存在する等の特殊な例を除けば種差は少ない。しかし、消失過程には代謝、排泄等のクリアランスが大きく寄与し、特に代謝クリアランスにおいては、ヒトよりも小動物などの実験動物で大きいことが一般的に知られている。従って、吸収過程はヒトと実験動物で差は少ないが、消失過程はヒトにおいて遅いことが一般的と考えると、実験動物でフリップフロップが生じていなければ、ヒトでも生じないと仮定することの妥当性がある程度支持される。今回、検討に用いた薬物について、ヒトに経口投与時の消失半減期とヒトに静脈内投与時の消失半減期の比較を Fig. 3-4 に示した。図から明らかなように、経口投与時の消失半減期と静脈内投与時の消失半減期は 1 対 1 の対応を示し、今回検討に用いた薬物においてフリップフロップは生じていなかった。また、今回の予測においては  $Vd_{ss}=Vd_{\beta}$  としているが、この仮定の成り立たない例も存在する。この 2 つの分布容積の大小関係を示すと次のようになる。

$$Vd_{\beta} > Vd_{ss}$$

これら分布容積の中で  $Vd_{ss}$  はクリアランスの大きさによる影響を受けず、真に分布の大きさを表すパラメーターである。 $Vd_{\beta}$  はクリアランスの大きい場合には真の分布容積 ( $Vd_{ss}$ ) を過大評価する。しかし、一般的に多くの薬物において、ヒトでは低クリアランス薬物に分類されることが多く、 $Vd_{\beta}$  が  $Vd_{ss}$  を近似できることが多い。総計 67 種の薬物についてヒトの  $Vd_{ss}$  と  $Vd_{\beta}$  の情報が収集できたものが 44 種、その内、4 種の薬物 (cimetidine, cyclosporin, nifedipine 及び omeprazole) で  $2 \times Vd_{ss} \leq Vd_{\beta}$  であったが、それらの化合物で特に  $Vd_{\beta}$  の予測性が悪くはなかった。

予測がうまくいかなかったものもいくつかみられ、その原因について考察した。BA の予測値と実測値の比と  $Vd_{\beta}$  の予測値と実測値の比の関係を Fig. 3-5 に示した。BA の予測がよく一致したものは縦軸の値が 1 になり、予測性の悪かったものは 1 から離れるが、そのような薬物でも BA の比と  $Vd_{\beta}$  の比は 1 対 1 の対応を示し、BA の予測性が悪かった理由として  $Vd_{\beta}$  の予測性の悪さが示された。予測からはずれる大部分において分布容積の予測性が悪かったことの原因のひとつとして、非結合型薬物の組織分布性について動物種差がないという仮定の成立しない例が存在することが考えられた。分布容積の予測性の悪さは何に起因する



のか、薬物の脂溶性 (logP 値) ,  $f_p$  値,  $Vd_\beta$  及び CL 等, 相関するパラメーターを検索したが, 何一つ相関するものはなかった (data not shown) .

もうひとつの方法として, 体重あたりの  $Vd_\beta$  は, 蛋白結合で補正した単純なアロメトリックを仮定して動物の体重あたりの  $Vd_\beta$  から次式によって予測できる.

$$Vd_{\beta, human} = Vd_{\beta, animal} \cdot \frac{f_{p, human}}{f_{p, animal}}$$

しかし, この簡易的な方法を使った予測値は, 小さな  $Vd_\beta$  を持つ薬物については本方法の予測値と異なった (data not shown) . 簡易な方法と比較して, 小さな  $Vd_\beta$  を持つ薬物でさえも, 本方法は理論式により誠実で,  $Vd$  と BA のより良い予測が得られた.

予測の確認に用いた薬物は実際に経口投与で使用されている薬物であり, BA の小さいものは少なく, BA の大きいものが多い選択となった. 臨床上で BA が問題となるのは BA が低い薬物に対してであり, 予測の必要性を問われるのはこのような低い BA の薬物である. 本方法の有用性を確認するためには BA の低い薬物に対して低い BA が予測されるかを検討すべきである. 今回の予測の目的は, 実測値と同じ値を得ることではなく, BA の低い薬物は低い予測値が得られ, BA の高い薬物は高い予測値が得られることにあると考えている. BA の実測値の低い薬物群と高い薬物群について予測値と実測値の対応をみると, 30%以下の BA の薬物群の予測値は Method Ia において 2/12 例, Method Ib において 1/12 例, 30%以上の予測値が得られている以外はいずれも 30%以下の予測値が得られ, BA が低いことが予測されている. そして, 70%以上の BA の薬物群で予測値が 70%以下であったのは, Method Ia については 3/30 種, Method Ib については 9/30 種, Method II については 1/11 種であった. BA の高い薬物は高い予測値が得られ, BA の低い薬物は低い予測値が得られるという目的は達せられていると考える.

以上, ヒトでの経口投与データと動物の薬物動態データからヒトにおける BA の予測の可能性を示し, 本法により, 静脈内投与データがない場合にもある程度 BA の予測が可能であることが示された. BA の低さは血中濃度及び AUC の個体間変動の大きさ, ひいては薬効, 副作用の発現に大きな影響を及ぼし, 安全域の狭い薬物においては臨床上の問題となり得る. 本方法により, BA の低さがある程度予測できれば, 薬物の服用に当たって注意を促すことができ, 投与スケジュールの設計においても有用であると考えられる.

## 6) 图表

**Table 3-1 Pharmacokinetic parameters of Drugs in animals and humans**

		$Vd_{\beta}$	$f_p$	$R_B$	$\beta^a$	$CL_{po}$	BA	References	
		[L/kg]			[1/hr]	[L/hr/kg]	[%]		
Acetaminophen	Rat	0.845	0.200	0.945 <sup>b</sup>				83)	
Acetaminophen	Human	1.077	0.181	0.945 <sup>b</sup>	0.248	0.458 <sup>d</sup>	88±15	84)	
Acyclovir	Dog	1.170	0.700	0.945 <sup>b</sup>				85)	
Acyclovir	Human	1.150	0.846	0.945 <sup>b</sup>	0.239	2.029	22.5±7.5	86)	
Betaxolol	Rat	9.600	0.592	0.788				87)	
Betaxolol	Dog	6.800	0.575	0.788				88), 89)	
Betaxolol	Human	5.370	0.460	0.788	0.044	0.252	89±5	90)	
Bisoprolol	Rat	8.380	0.850	0.580				91)	
Bisoprolol	Dog	2.530	0.750	0.580				92)	
Bisoprolol	Monkey	3.060	0.740	0.580				91)	
Bisoprolol	Human	2.897	0.700	0.580	0.063	0.239	91±10	93)	
Carbamazepine	Rat	1.466	0.314	1.370				94)	
Carbamazepine	Human	0.950	0.260	1.370	0.046	0.078	>70	95)	
Carvedilol	Rat	R	3.425	0.018	0.810			96)	
Carvedilol	Rat	S	4.789	0.046	1.011			96)	
Carvedilol	Human	R	2.697	0.005	0.670	0.130	1.305	32±12	97)
Carvedilol	Human	S	4.805	0.006	0.740	0.137	3.605	18±7	98)
Cefixime	Rat		0.478	0.389	0.897			99)	
Cefixime	Dog		0.245	0.072	1.073			99)	
Cefixime	Human		0.282	0.298	1.003	0.204	0.136	47±15	100)
Chlorpheniramine	Rabbit		15.500	0.560	1.850			101)	
Chlorpheniramine	Dog		5.103	0.300	0.833			102)	
Chlorpheniramine	Human		3.360	0.270	1.200	0.029	0.364	45.45±8.8	103), 104)
Cimetidine	Rat		1.470	0.904	0.945 <sup>b</sup>			105)	
Cimetidine	Dog		1.490	0.933	0.945 <sup>b</sup>			106)	
Cimetidine	Human		1.200	0.820	0.945 <sup>b</sup>	0.348	0.698	62±6	107), 108)
Ciprofloxacin	Rat		2.130	0.750	0.700			109), 110), 111)	
Ciprofloxacin	Human		2.320	0.600	0.700	0.169	0.661	60±12	112)
Codeine	Rat		4.900	0.925	0.945 <sup>b</sup>			113), 114)	
Codeine	Human		5.250	0.930	0.945 <sup>b</sup>	0.257	1.840	50±7	115)
Cyclosporin	Rat		4.940	0.060	1.283			116)	
Cyclosporin	Human		3.810	0.070	1.500	0.124	2.237	23±7	117)
Dexamethasone	Rat		0.980	0.129	0.800			118)	
Dexamethasone	Human		0.920	0.230	0.800	0.092	0.144	78±14	119)
Diazepam	Rat		7.260	0.140	1.040			120)	
Diazepam	Cat		3.010	0.170	1.040			121)	
Diazepam	Human		0.950	0.032	1.040	0.014	0.020	100	120)
Diflunisal	Rat		0.170	0.003	0.945 <sup>b</sup>			122)	
Diflunisal	Human		0.099	0.002	0.945 <sup>b</sup>	0.058	0.007	~90	123), 124)

Digoxin	Rat		5.792	0.800	2.130				125), 126)
Digoxin	Human		8.160	0.750	0.955	0.019	0.145	70±13	127), 128)
Diltiazem	Rat		2.866	0.160	0.810				129), 130)
Diltiazem	Human		4.260	0.220	1.000	0.124	1.212 <sup>d</sup>	44±10	131), 132)
Disopyramide	Dog		1.990	0.844	1.000				133)
Disopyramide	Human		0.910	0.343	1.000	0.136 <sup>c</sup>	0.153	81.3±13	134)
Etodolac	Rat		0.864	0.010	0.945 <sup>b</sup>				135)
Etodolac	Dog		3.690	0.021	0.945 <sup>b</sup>				136)
Etodolac	Human	R	0.216	0.003	0.945 <sup>b</sup>	0.105	0.022	73	137)
Etodolac	Human	S	2.192	0.007	0.945 <sup>b</sup>	0.161	0.288	97	138)
Felodipine	Rat		12.400	0.005	0.680				139)
Felodipine	Dog		7.800	0.005	0.680				139)
Felodipine	Human		15.700	0.004	0.700	0.048	4.308	15±8	139)
Flecainide	Rat		11.510	0.453	0.945 <sup>b</sup>				140)
Flecainide	Human		5.500	0.430	0.945 <sup>b</sup>	0.064	0.472 <sup>d</sup>	70±11	141)
Fluorouracil	Rat		0.899	1.000	0.930				142)
Fluorouracil	Human		0.659	0.900	0.900	3.923	1.290 <sup>d</sup>	55±12	143)
Fluoxetine	Rat		17.100	0.130	0.830				144)
Fluoxetine	Human		43.900	0.091	0.830	0.013	0.576	>60	145)
Flurbiprofen	Rat		0.317	0.003	0.945 <sup>b</sup>				146), 147)
Flurbiprofen	Human		0.188	0.0005	0.945 <sup>b</sup>	0.097	0.017	~92	148), 149)
Furosemide	Rat		0.493	0.032	0.945 <sup>b</sup>				150)
Furosemide	Human		0.187	0.012	0.945 <sup>b</sup>	0.289	0.188	61±17	151), 152)
Hexobarbital	Rat		0.850	0.619	1.000				120), 153)
Hexobarbital	Human		1.270	0.534	1.000	0.187	0.225	>90	154)
Ibuprofen	Rat		0.815	0.055	0.945 <sup>b</sup>				155)
Ibuprofen	Human		0.112	0.008	0.945 <sup>b</sup>	0.331	0.069	>80	156), 157)
Imipramine	Rat		21.900	0.170	1.670				158), 159)
Imipramine	Human		11.500	0.115	1.670	0.035	1.200 <sup>d</sup>	41.9±9.5	160), 161)
Lidocaine	Monkey		1.570	0.392	0.720				162), 163)
Lidocaine	Human		2.010	0.287	0.760	0.480 <sup>c</sup>	2.604	12.8±2.4	164), 165)
Meperidine	Rat		5.000	0.570	1.010 <sup>e</sup>				166)
Meperidine	Sheep		4.710	0.460	1.010 <sup>e</sup>				167)
Meperidine	Human		4.510	0.357	1.010	0.102	0.751	57.7±4.9	168), 169)
Methylpredonisolone	Rat		2.828	0.276	0.945 <sup>b</sup>				170)
Methylpredonisolone	Human		1.350	0.220	0.945 <sup>b</sup>	0.389	0.523	82±13	171)
Metoprolol	Rat		8.800	0.940	1.240				172)
Metoprolol	Human		2.900	0.880	1.240	0.257	1.700	38±14	173)
Mexiletine	Rat		13.600	0.340	0.945 <sup>b</sup>				174)
Mexiletine	Human		6.020	0.250	0.945 <sup>b</sup>	0.081	0.627 <sup>d</sup>	87±13	175), 176)
Midazolam	Rat		4.500	0.046	0.945 <sup>b</sup>				177)
Midazolam	Cat		2.990	0.090	0.945 <sup>b</sup>				121)
Midazolam	Human		0.970	0.037	0.945 <sup>b</sup>	0.365	0.553	44±17	178)
Morphine	Rat		2.820	0.857	0.945 <sup>b</sup>				179)
Morphine	Human		3.920	0.650	0.945 <sup>b</sup>	0.365	6.435 <sup>d</sup>	24±12	180)
Nadolol	Rat		8.048	0.900	0.850				181)

Nadolol	Human	2.270	0.700	0.850	0.067	1.066 <sup>d</sup>	34±5	182), 183)
Nicardipine	Rat	3.291	0.084	0.945 <sup>b</sup>				184)
Nicardipine	Dog	3.450	0.024	0.945 <sup>b</sup>				185)
Nicardipine	Monkey	1.944	0.054	0.945 <sup>b</sup>				184), 185)
Nicardipine	Human	4.020	0.068	0.945 <sup>b</sup>	0.198	7.061	18±11	186)
Nifedipine	Rat	0.346	0.002	0.945 <sup>b</sup>				187)
Nifedipine	Human	1.140	0.040	0.945 <sup>b</sup>	0.277	0.707	50±13	188)
Nimodipine	Rat	1.928	0.040	0.945 <sup>b</sup>				189)
Nimodipine	Dog	2.510	0.030	0.945 <sup>b</sup>				189)
Nimodipine	Human	0.590	0.020	0.945 <sup>b</sup>	0.258	3.712	10±4	190)
Nitrendipine	Rat	2.000	0.040	1.460				191)
Nitrendipine	Dog	3.380	0.020	1.460				191)
Nitrendipine	Human	7.299	0.014	1.460	0.210	12.629	11±5	192)
Nizatidine	Rat	5.230	0.860	0.890				193)
Nizatidine	Dog	1.520	0.820	0.770				193)
Nizatidine	Human	1.282	0.580	0.870	0.433	0.622	90	194)
Ofloxacin	Rat	2.086	0.588	0.800				195)
Ofloxacin	Monkey	2.420	0.567	1.000				196)
Ofloxacin	Human	2.520	0.750	1.000	0.099	0.188	100	197)
Omeprazole	Rat	0.966	0.125	0.660				198)
Omeprazole	Dog	0.561	0.097	0.600				199)
Omeprazole	Human	0.340	0.042	0.590	1.260	0.979	53±29	199)
Pentazocine	Rat	11.600	0.540	1.550				165)
Pentazocine	Human	5.560	0.389	1.060	0.235	6.115 <sup>d</sup>	18.4±7.8	200)
Phenobarbital	Rat	1.040	0.639	1.590				120)
Phenobarbital	Human	0.624	0.490	1.120	0.007	0.004	100±11	201), 202)
Phenylpropanolamine	Dog	2.850	1.000	0.945 <sup>b</sup>				203)
Phenylpropanolamine	Human	2.087	1.000	0.945 <sup>b</sup>	0.161	0.560	>70	204)
Phenytoin	Rat	0.977	0.227	0.994				205)
Phenytoin	Human	0.640	0.120	0.610	0.047	0.032	90±3	206)
Prednisolone	Rat	3.260	0.600	0.945 <sup>b</sup>				207)
Prednisolone	Human	0.570	0.250	0.945 <sup>b</sup>	0.277	0.117 <sup>d</sup>	84±13	208)
Propranolol	Rat	5.300	0.078	0.800				209)
Propranolol	Monkey	0.600	0.010	0.850				209)
Propranolol	Dog	1.710	0.034	0.850				209)
Propranolol	Human	3.620	0.068	0.810	0.235	5.267 <sup>d</sup>	26±10	210)
Quinine	Rat	7.700	0.250	1.930				211)
Quinine	Human	1.810	0.095	2.000	0.080	0.238	~90	212), 213)
Qunidine	Rat	6.000	0.325	1.400				162)
Qunidine	Mouse	5.210	0.363	1.560				214)
Qunidine	Rabbit	5.030	0.140	1.050				215)
Qunidine	Monkey	0.388	0.030	1.230				216)
Qunidine	Human	3.020	0.230	0.920	0.063	0.264	87±7	162)
Ranitidine	Rat	4.040	0.770	1.000				217)
Ranitidine	Human	1.380	0.850	1.000	0.300 <sup>c</sup>	0.896	52±11	218)
Salicylic acid	Rat	0.274	0.063	0.945 <sup>b</sup>				219)

Salicylic acid	Human		0.114	0.020	0.945 <sup>b</sup>	0.198	0.021	100	220), 221)
Sotalol	Rat		5.600	0.910	0.945 <sup>b</sup>				222)
Sotalol	Dog		1.710	0.910	0.945 <sup>b</sup>				223)
Sotalol	Human		1.350	0.910	0.945 <sup>b</sup>	0.087	0.154	95	224)
Sumatriptan	Rat		3.000	0.850	0.945 <sup>b</sup>				225)
Sumatriptan	Rabbit		4.600	0.850	0.945 <sup>b</sup>				225)
Sumatriptan	Dog		2.500	0.860	0.945 <sup>b</sup>				225)
Sumatriptan	Human		2.700	0.840	0.945 <sup>b</sup>	0.330	8.503	14±5	225)
Tacrine	Rat		6.150	0.438	1.640				226)
Tacrine	Human		6.660	0.250	0.600	0.462	13.426	17±3	227)
Tolbutamide	Rat		0.216	0.268	0.752				120)
Tolbutamide	Human		0.112	0.093	0.752	0.077	0.010	93±10	120)
Trazodone	Rat		2.220	0.103	0.945 <sup>b</sup>				228), 229)
Trazodone	Human		1.040	0.070	0.945 <sup>b</sup>	0.141	0.169	81±29	230)
Triazolam	Cat		1.840	0.200	0.945 <sup>b</sup>				121)
Triazolam	Dog		0.520	0.120	0.945 <sup>b</sup>				231)
Triazolam	Human		0.630	0.099	0.945 <sup>b</sup>	0.236	0.330	44	232), 233)
Valproate	Rat		1.660	0.366	0.740				120)
Valproate	Human		0.137	0.113	0.580	0.056	0.007	94.5±6.4	234), 235)
Verapamil	Rat		5.080	0.054	0.850				236)
Verapamil	Human	dl	5.490	0.100	0.850	0.197	5.469	22±8	236)
Warfarin	Rat		0.220	0.020	0.945 <sup>b</sup>				120)
Warfarin	Human		0.108	0.008	0.945 <sup>b</sup>	0.018	0.003	93±8	237)
Zalcitabine	Rat		2.362	0.550	0.945 <sup>b</sup>				238)
Zalcitabine	Human		0.648	0.960	0.945 <sup>b</sup>	0.257	0.324	88±17	239), 240)
Zidovudine	Rat		1.500	0.760	0.945 <sup>b</sup>				241)
Zidovudine	Mouse		1.110	0.800	0.945 <sup>b</sup>				242)
Zidovudine	Rabbit		1.665	0.950	0.945 <sup>b</sup>				242)
Zidovudine	Dog		2.310	0.830	0.945 <sup>b</sup>				242)
Zidovudine	Macaque		1.210	0.760	0.945 <sup>b</sup>				242)
Zidovudine	Rhesus Monkeys		1.850	0.800	0.945 <sup>b</sup>				242)
Zidovudine	Human		2.060	0.750	0.945 <sup>b</sup>	0.693	2.066 <sup>d</sup>	63±13	243), 244)
Zolpidem	Rat		2.200	0.130	0.860				245)
Zolpidem	Monkey		2.280	0.060	0.810				245)
Zolpidem	Human		0.760	0.040	0.660	0.336	0.300	67±20	245)

a  $\beta$  was calculated with the following equation.  $\beta = \ln 2 / t_{1/2}$ .

b Assumed values.

c  $R_B$  for animals was used the value in human.

d  $\beta$  was used the reported values.

e  $CL_{po}$  was calculated with the following equation.  $CL_{po} = \text{Dose}_{po} / AUC_{po}$ .

**Table 3-2 Relationship between predicted and observed values of volume of distribution in Human**

Drugs	Observed $V_{d\beta}$		Predicted $V_{d\beta}$			Predicted $V_{d\beta}$ /Observed $V_{d\beta}$ <sup>a</sup>		
	[L/kg]		[L/kg]			[L/kg]		
			Method Ia	Method Ib	Method II	Method Ia	Method Ib	Method II
Acetaminophen		1.077	0.778	0.601		0.722	0.558	
Acyclovir		1.150			1.385			1.204
Betaxolol		5.370	7.488	6.477	6.477	1.394	1.206	1.206
Bisoprolol		2.897	6.921	5.710	4.063	2.389	1.971	1.403
Carbamazepine		1.400	1.244	0.966		0.889	0.690	
Carvedilol	R	2.697	0.942	0.616		0.349	0.228	
Carvedilol	S	4.805	0.760	0.502		0.158	0.104	
Cefixime		0.282	0.407	0.287	0.471	1.444	1.020	1.671
Chlorpheniramine		3.360			6.083			1.811
Cimetidine		1.200	1.346	0.950	1.337	1.122	0.791	1.114
Ciprofloxacin		2.320	1.728	1.269		0.745	0.547	
Codeine		5.250	4.926	3.843		0.938	0.732	
Cyclosporin		3.810	5.734	5.800		1.505	1.522	
Dexamethasone		0.920	1.650	1.374		1.793	1.493	
Diazepam		0.950	1.774	1.670	1.230	1.867	1.758	1.295
Diflunisal		0.099	0.159	0.130		1.604	1.312	
Digoxin		8.160	5.351	4.289		0.656	0.526	
Diltiazem		4.260	3.907	3.440		0.917	0.808	
Disopyramide		0.910			0.895			0.983
Etodolac	S	2.192	0.661	0.648	1.009	0.302	0.296	0.461
Etodolac	R	0.216	0.350	0.306	0.491	1.618	1.414	2.266
Felodipine		15.700	8.963	12.527	7.307	0.571	0.798	0.465
Flecainide		5.500	10.933	9.883		1.988	1.797	
Fluorouracil		0.659	0.821	0.555		1.245	0.842	
Fluoxetine		43.900	12.006	12.686		0.273	0.289	
Flurbiprofen		0.188	0.167	0.112		0.889	0.597	
Furosemide		0.187	0.273	0.209		1.461	1.117	
Hexobarbital		1.270	0.753	0.530		0.593	0.417	
Ibuprofen		0.112	0.235	0.164		2.098	1.461	
Imipramine		11.500	14.879	15.683		1.294	1.364	
Lidocaine		2.010			1.186			0.590
Meperidine		4.510	3.240	2.641	3.464	0.719	0.586	0.768
Methylprednisolone		1.350	2.283	1.889		1.691	1.399	
Metoprolol		2.900	8.249	6.784		2.844	2.339	
Mexiletine		6.020	10.028	9.463		1.666	1.572	
Midazolam		0.970	3.647	3.732	2.480	3.760	3.847	2.556
Morphine		3.920	2.173	1.618		0.554	0.413	
Nadolol		2.270	6.289	5.141		2.771	2.265	
Nicardipine		4.020	2.691	2.524	4.873	0.669	0.628	1.212

Nifedipine	1.140	4.249	5.817		3.727	5.102	
Nimodipine	0.59	1.034	0.963	1.377	1.753	1.632	2.335
Nitrendipine	7.299	0.818	0.749	1.619	0.112	0.103	0.222
Nizatidine	1.282	3.570	2.808	2.345	2.785	2.191	1.829
Ofloxacin	2.520	2.641	2.005	2.898	1.048	0.795	1.150
Omeprazole	0.340	0.397	0.293	0.352	1.169	0.863	1.035
Pentazocine	5.560	8.370	7.433		1.505	1.337	
Phenobarbital	0.624	0.805	0.570		1.290	0.913	
Phenylpropanolamine	2.087			2.850			1.366
Phenytoin	0.640	0.554	0.408		0.865	0.637	
Prednisolone	0.570	1.440	1.108		2.527	1.944	
Propranolol	3.620	4.621	4.577	3.769	1.276	1.264	1.041
Quinine	1.810	3.068	2.796		1.695	1.545	
Quinidine	3.020	4.259	3.721	4.399	1.410	1.232	1.457
Ranitidine	1.890	4.445	3.471		2.352	1.836	
Salicylic acid	1.380	0.183	0.122		0.133	0.089	
Sotalol	1.350	5.600	4.429	3.655	4.148	3.281	2.707
Sumatriptan	2.700	2.966	2.232	3.320	1.099	0.827	1.230
Tacrine	6.660	3.511	2.976		0.527	0.447	
Tolbutamide	0.112	0.157	0.094		1.402	0.841	
Trazodone	1.040	1.554	1.368		1.494	1.316	
Triazolam	0.630			0.532			0.844
Valproate	0.137	0.586	0.424		4.274	3.094	
Verapamil	<sup>d</sup> 1 5.490	5.424	5.329		0.988	0.971	
Warfarin	0.108	0.172	0.122		1.596	1.129	
Zalcitabine	0.648	1.990	1.469		3.071	2.267	
Zidovudine	2.060	1.482	1.065	1.486	0.719	0.517	0.721
Zolpidem	0.760	0.754	0.621	1.152	0.992	0.818	1.516

<sup>a</sup> Percent difference between observed and predicted values.

**Table 3-3 Statistical Data Comparing the Accuracy of Predictions**

	Vd <sub>β</sub> Prediction			BA Prediction		
	Method Ia	Method Ib	Method II	Method Ia	Method Ib	Method II
<i>afe</i>	1.85	1.80	1.56	1.41	1.48	1.30
<i>egrse</i>	2.20	2.25	1.76	1.70	1.86	1.48
<i>r</i> <sup>2</sup>	0.666	0.661	0.682	0.664	0.573	0.821
N	61	61	28	61	61	28

*afe*: average fold-error

*egrse*: exponential geometric root mean squared prediction error



**Table 3-4 Relationship between predicted and observed values of bioavailability in human**

Drugs	Observed BA		Predicted BA			Predicted BA/Observed BA <sup>a</sup>		
	[%]		[%]					
			Method Ia	Method Ib	Method II	Method Ia	Method Ib	Method II
Acetaminophen	88	± 15	42.2	32.6		0.480	0.370	
Acyclovir	22.5	± 7.5			16.3			0.725
Betaxolol	89	± 5	100.0	100.0	100.0	1.124	1.124	1.124
Bisoprolol	91	± 10	100.0	100.0	100.0	1.099	1.099	1.099
Carbamazepine	70		73.7	57.2		1.053	0.818	
Carvedilol	R	32 ± 12	9.4	6.1		0.294	0.192	
Carvedilol	S	18 ± 7	2.9	1.9		0.161	0.106	
Cefixime		47 ± 15	60.9	43.1	70.5	1.296	0.916	1.501
Chlorpheniramine		45.5 ± 8.8			48.0			1.056
Cimetidine		59.9 ± 22.6	67.1	47.3	66.6	1.120	0.790	1.112
Ciprofloxacin		69 ± 7	44.1	32.3		0.639	0.469	
Codeine		50 ± 7	68.9	53.8		1.378	1.075	
Cyclosporin		23 ± 7	31.7	32.1		1.380	1.396	
Dexamethasone		78 ± 14	100.0	88.3		1.282	1.132	
Diazepam		100	100.0	100.0	85.8	1.000	1.000	0.858
Diflunisal		90	100.0	100.0		1.111	1.111	
Digoxin		70 ± 13	71.2	57.1		1.018	0.816	
Diltiazem		44 ± 10	39.9	35.1		0.907	0.799	
Disopyramide		81.3 ± 13			79.8			0.981
Etodolac R-		73	100.0	100.0	100.0	1.031	1.031	1.031
Etodolac S-		97	37.0	36.3	56.5	0.507	0.497	0.774
Felodipine		15 ± 8	10.0	14.0	8.2	0.668	0.933	0.544
Flecainide		70 ± 11	100.0	100.0		1.429	1.429	
Fluorouracil		55 ± 12	100.0	100.0		1.818	1.818	
Fluoxetine		60	27.4	28.9		0.456	0.482	
Flurbiprofen		92	94.3	63.3		1.025	0.688	
Furosemide		61 ± 17	42.0	32.1		0.688	0.526	
Hexobarbital		90	62.8	44.2		0.698	0.491	
Ibuprofen		80	100.0	78.9		1.250	0.986	
Imipramine		41.9 ± 9.5	43.8	46.1		1.044	1.101	
Lidocaine		12.8 ± 2.4			21.9			1.707
Meperidine		57.7 ± 4.9	44.0	35.9	47.0	0.763	0.622	0.815
Methylprednisolone		82 ± 13	100.0	100.0		1.220	1.220	
Metoprolol		38 ± 14	100.0	100.0		2.632	2.632	
Mexiletine		87 ± 13	100.0	100.0		1.149	1.149	
Midazolam		44 ± 17	100.0	100.0	100.0	2.273	2.273	2.273
Morphine		24 ± 12	12.3	9.2		0.513	0.382	
Nadolol		34 ± 5	39.3	32.1		1.156	0.945	
Nicardipine		18 ± 11	7.5	7.1	13.7	0.419	0.393	0.759

Nifedipine	50 ± 13	100.0	100.0		2.000	2.000	
Nimodipine	10 ± 4	7.2	6.7	9.6	0.718	0.668	0.956
Nitrendipine	11 ± 5	1.4	1.2	2.7	0.124	0.113	0.245
Nizatidine	90	100.0	100.0	100.0	1.111	1.111	1.111
Ofloxacin	100	100.0	100.0	100.0	1.000	1.000	1.000
Omeprazole	53 ± 29	51.2	37.8	45.3	0.965	0.713	0.854
Pentazocine	18.4 ± 7.8	32.2	28.6		1.748	1.552	
Phenobarbital	100 ± 11	100.0	98.2		1.000	0.982	
Phenylpropanolamine	70			82.0			1.172
Phenytoin	90 ± 3	82.4	60.6		0.915	0.673	
Prednisolone	82 ± 13	100.0	100.0		1.220	1.220	
Propranolol	26 ± 10	20.7	20.4	16.8	0.796	0.785	0.646
Quinine	90	100.0	93.6		1.111	1.040	
Quinidine	87 ± 7	100.0	88.7	100.0	1.149	1.020	1.149
Ranitidine	52 ± 11	100.0	100.0		1.923	1.923	
Salicylic acid	100	100.0	100.0		1.000	1.000	
Sotalol	95	100.0	100.0	100.0			1.053
Sumatriptan	14 ± 5	11.5	8.7	12.9	0.822	0.619	0.920
Tacrine	17 ± 3	12.1	10.2		0.711	0.603	
Tolbutamide	93 ± 10	100.0	69.9		1.075	0.752	
Trazodone	81 ± 29	100.0	100.0		1.235	1.235	
Triazolam	44			38.0			0.863
Valproate	94.5 ± 6.4	100.0	100.0		1.058	1.058	
Verapamil	22 ± 8	19.6	19.2		0.890	0.875	
Warfarin	93 ± 8	85.6	67.3		0.920	0.723	
Zalcitabine	88 ± 17	100.0	100.0		1.136	1.136	
Zidovudine	63 ± 13	49.7	35.7	49.8	0.789	0.567	0.791
Zolpidem	67 ± 20	84.4	69.6	100.0	1.260	1.038	1.493

<sup>a</sup> Percent difference between observed and predicted values.

**Table 3-5 Classification of predicted bioavailability in each prediction methods**

Method Ia			
Observed BA	<30%	30-70%	>70%
number of drugs	12	19	30
Good estimation	10	11	27
Over estimation	2 [31.7 (23) , 32.2 (18.4) ]	6 [100 (55) , 100 (38) , 100 (44) , 100 (50) , 100 (52) , 84.4 (67) ]	-
Under estimation	-	2 [9.4 (32) , 27.4 (60) ]	3 [42.2 (88) , 37.0 (73) , 62.8 (90) ]
Method Ib			
Observed BA	<30%	30-70%	>70%
number of drugs	12	19	30
Good estimation	11	12	21
Over estimation	1 [32.1 (23) ]	5 [100 (55) , 100 (38) , 100 (44) , 100 (50) , 100 (52) ]	-
Under estimation	-	2 [6.1 (32) , 28.9 (60) ]	9 [32.6 (88) , 57.2 (70) , 57.1 (70) , 36.3 (73) , 63.3 (92) , 44.2 (90) , 60.6 (90) , 69.9 (93) , 67.3 (93) ]
Method II			
Observed BA	<30%	30-70%	>70%
number of drugs	8	9	11
Good estimation	8	6	10
Over estimation	0	3 [70.5 (47) , 100 (44) , 100 (67) ]	-
Under estimation	-	0	1 [56.5 (73) ]

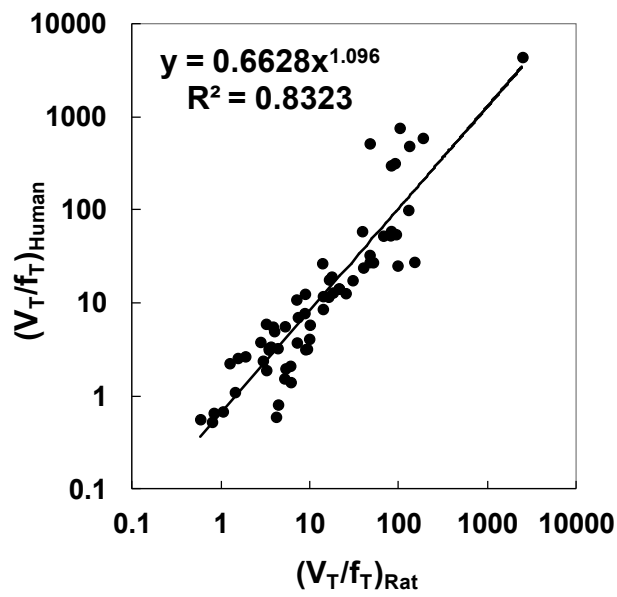
[ ] : The parenthetic values represent the predicted bioavailability.

( ) : The parenthetic values represent the observed bioavailability.

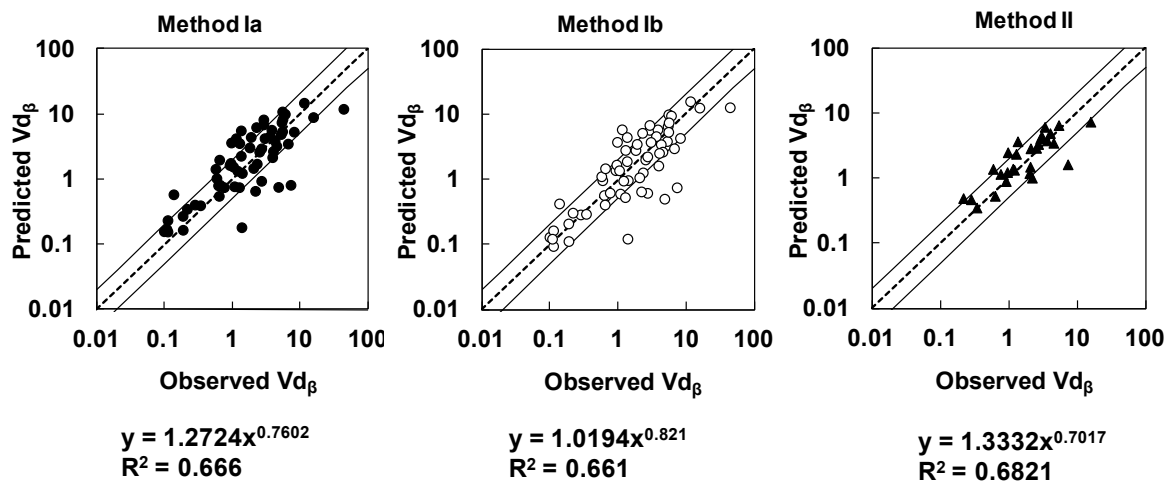
Good estimation: The drug which have <30%, 30-70% and >70% of the observed bioavailability predicted <30%, 30-70% and >70% of bioavailability, respectively.

Over estimation: The drug which have <30% and 30-70% of the observed bioavailability predicted >30% and >70% of bioavailability, respectively.

Under estimation: The drug which have 30-70% and >70% of the observed bioavailability predicted <30% and <70% of bioavailability, respectively.

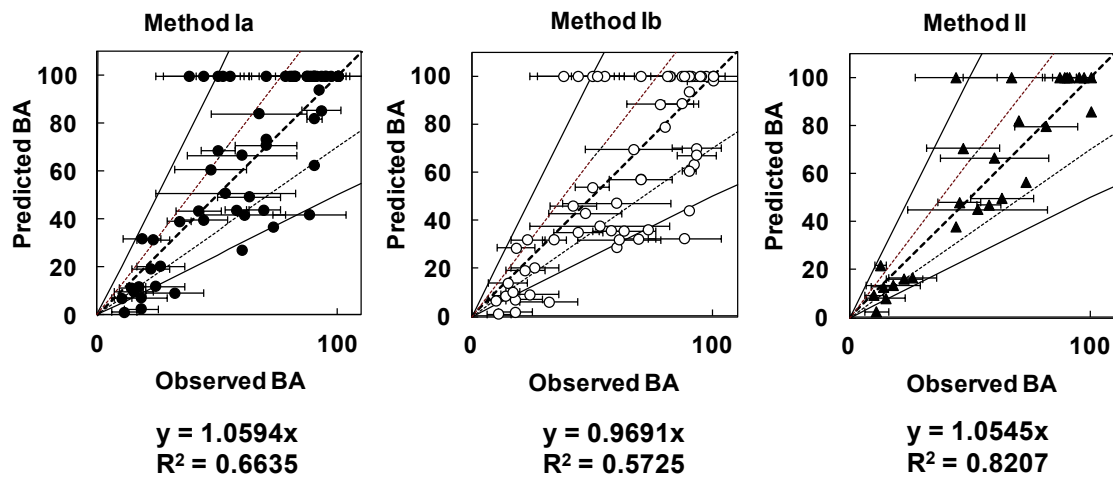


**Fig. 3-1 Correlation between the values of  $(V_T/f_T)_{rat}$  and  $(V_T/f_T)_{human}$ .**  
The broken line indicates the regression curve.



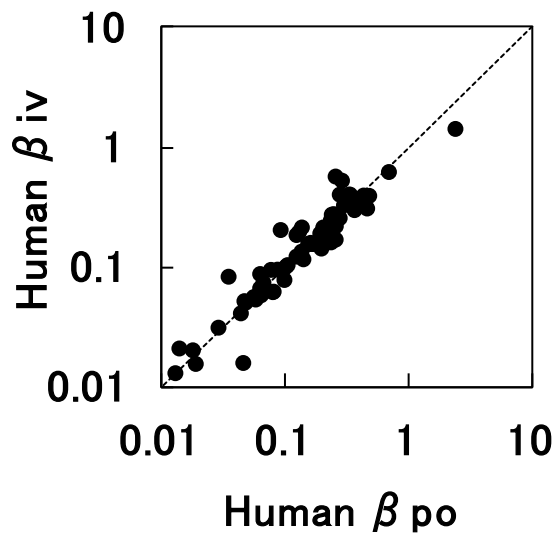
**Fig. 3-2 Correlation between the predicted and observed volumes of distribution of 61 (Methods Ia and Ib) and 21 (Method II) drugs.**

The broken line indicates 1:1 correspondence. The area between the solid lines represents the area within twofold error. The original data for each compound are summarized in Table 3-2.



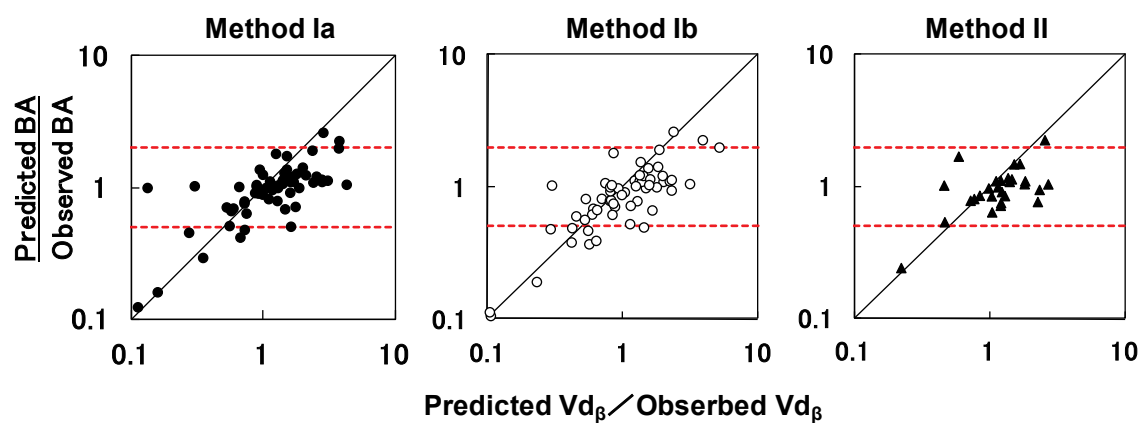
**Fig. 3-3 Correlation between the predicted and observed bioavailability of 61 (Methods Ia and Ib) and 21 (Method II) drugs.**

The broken line indicates a 1:1 correspondence. The thin broken lines indicate the 30% variable limit of the estimation. The area between the solid lines represents the area within twofold error. Predicted values over 100% are indicated as 100% in this figure. The original data for each compound are summarized in Table 3-4.



**Fig. 3-4 Correlation of the elimination rate constants in the terminal phase between intravenous administration and oral administration.**

The broken line indicates 1:1 correspondence.



**Fig. 3-5 Correlation of the predicted/observed ratio between the volume of distribution and bioavailability.**

The solid line indicates 1:1 correspondence. The dotted lines indicate ratios of the predicted BA to the observed BA of 0.7 and 1.3, respectively.



## 結論及び今後の展望

企業の医薬品開発において、BA の十分に高い医薬品を創製できるかどうかは成功を決定する重要な要因の一つである。開発企業においては、BA の高い候補化合物を選択するために *in vitro* 評価及び動物の *in vivo* 評価を精力的に実施している。しかし、小腸や肝臓での薬物の膜透過及び代謝の実態が明らかになりつつある現在においてもなお、ヒトにおける BA を予測することは容易ではないのが現状である。最近では、候補化合物選択の段階で薬効用量よりもはるかに少ない投与量での臨床試験 (マイクロドーズ試験) を実施し、ヒトの BA を確認することも提唱されているが、まだ実施例は少ない。したがって、多くの場合、ヒトでの BA は不明のまま臨床ステージへと移行する。臨床に移行してから申請までのどの段階でヒトでの BA を評価するかについて定まった考えはなく、企業や化合物によってさまざまな対応がされている。第 I 相試験において、静脈内投与も実施して BA を評価する場合、マスバランス試験や肝機能障害及び腎機能障害患者の臨床薬物動態試験と同様に開発後期に評価する場合、さらに評価しない場合もある。BA の評価方法や時期に影響を与える化合物の特性あるいは企業の特性について考える材料となることを期待して本研究を実施した。

第 1 章において、新規経口剤 ONO-1301 の非線形の要因を解明し、BA を決定する要因について検討した。ONO-1301 の非線形は、肝取り込みの飽和に起因することが示され、その肝取り込みには、トランスポーターの関与が示された。一般的に、BA の決定要因は薬物の消化管吸収と消化管や肝臓における初回通過代謝であるが、本検討結果から肝取り込みトランスポーターが BA を決定する要因となることが示された。BA に影響を与えるトランスポーターとしては、小腸上皮細胞に発現し、消化管の膜透過に関与するトランスポーターが第一に考えられる。小腸上皮細胞に発現するトランスポーターは、その輸送機構により 2 種類に分類される。一つは solute carrier transporter 群 (SLC family) であり、主たる機能は主に細胞外から細胞内への物質の取り込みであり、吸収の第一段階である管腔内から上皮細胞内への膜輸送には必須のトランスポーターである。もう一つは、ATP binding cassette transporter 群 (ABC family) である。これらは細胞内から細胞以外への排出・汲み出し輸送活性を有している<sup>246), 247)</sup>。取り込みに働く SLC トランスポーターについて、pKa が低く、生理的 pH においては大部分がアニオンとして存在し、細胞膜透過が不利と考えられるループ利尿薬の良好な消化管吸収に、SLC トランスポーターが関与したとの報告があり<sup>248)</sup>、他にもヒトでの吸収が良好な場合にはトランスポーターの関与が考えられるが、吸収に関与する SLC トランスポーター分子が同定された報告はまだ少ない。また、排出型トランスポーターの代表である P-gp は、経口投与された薬物の膜透過を低下させる要因の 1 つであると考えられている。したがって、医薬品開発において P-gp の基質であることが消化管吸収の低下につながると危惧され、新薬開発では P-gp の基質になるかが通常検討される。しかしながら、医薬

品の中には P-gp の基質でありながら経口投与後の消化管吸収性が良好である薬物も存在し、薬物の消化管吸収における P-gp の影響は十分に評価できていない。

また、製薬企業においては薬物の *in vivo* 消化管吸収性評価にラット、イヌ、サルが用いられているが、これらの種で得られる消化管吸収性が異なる場合、ヒト消化管吸収の予測はどの動物種を用いるべきかについて迷うことが多い。こうした消化管吸収の種差にもトランスポーターの種差が関与している可能性がある。以上、近年のトランスポーター研究の発展によって、薬物動態におけるトランスポーターの重要性が広く認識されている。BA の決定要因として、今回の検討で示した肝取り込みの他に消化管での吸収・排出、胆汁排泄にも、トランスポーターが関与し、薬物の吸収評価においてもトランスポーターの検討がされるようになってきている。医薬品開発における薬物の吸収性の評価法に関しては、*in vivo* から *in vitro*、*in silico* に至る様々な方法論が開発されてきた。しかし、それでもヒトの BA の予測は容易ではないのが現状であり、臨床での BA 評価は必要である。

製薬企業において、BA 評価の重要性については十分に理解されている。さらに 2001 年 6 月に『医薬品の臨床薬物動態試験について』が通知され、経口投与製剤においても静脈内投与試験を実施し、絶対的 BA を求めて医薬品承認申請時の資料に添付することが推奨された。それにも関わらず、通知の後も静脈内投与データの添付なしに承認申請される薬物がある。そこで、第 2 章の検討において、本通知が医薬品承認申請時におけるヒト静脈内投与データの添付に与える影響を確認し、通知以外にも、ヒト静脈内投与データの添付に影響を与える要因について検討した。その結果、内資企業の自社品で静脈内投与データの添付が『医薬品の臨床薬物動態試験について』の通知の後に顕著に増加した。ところが、外資企業の開発品及び内資企業の導入品については顕著な変化が認められなかった。また、個体間変動の大きな薬物の申請資料には静脈内投与データの添付が多かった。薬物の溶解性は、静脈内投与試験の実施可能性に影響するものと思われたが、溶解性は静脈内投与データの添付と有意な関係は認められなかった。すなわち、静脈内投与データの添付には、水溶性といった物理化学的性質よりもむしろ個体間変動などが影響しており、申請企業が申請医薬品の説明力を強めるために静脈内投与データを添付していることが分かった。同時に、申請企業の規制遵守に対する姿勢も伺えた。以上の結果より、ヒトでの静脈内投与試験を実施して BA の情報を得るか否かは、企業の判断や規制によって影響されていることが明らかとなった。

一方、第 3 章より、ヒトでの静脈内投与データなしに絶対的 BA を予測する方法を示し、ヒトでの経口投与データと動物の薬物動態データからヒトにおける BA の予測の可能性を示した。BA の実測値の低い薬物群と高い薬物群について予測値と実測値の対応をみると、30%以下の BA の薬物群の予測値は Method Ia において 2/12 例、Method Ib において 1/12 例、30%以上の予測値が得られている以外はいずれも 30%以下の予測値が得られ、BA が低いこ

とが予測されている。そして、70%以上のBAの薬物群で予測値が70%以下であったのは、Method Iaについては3/30種、Method Ibについては9/30種、Method IIについては1/11種であった。今回の予測の目的は、実測値に近い値を精度よく予測することではなく、BAの低い薬物は低い予測値が得られ、BAの高い薬物は高い予測値が得られることにある。なぜなら、医薬品の特性としてBAが問題となるのはBAが低い薬物に対してであり、予測の必要性を問われるのはこのような低いBAの薬物である。今回の予測において、BAの高い薬物は高い予測値が得られ、BAの低い薬物は低い予測値が得られており、特にBAの低い薬物で予測が外れる例が少なかったことから、予測の目的は達せられていると考える。本法により、ヒトでの静脈内投与データがない場合にもある程度BAの予測が可能であることを示した。

本研究の結果を踏まえて、製薬企業と規制当局に向けて、静脈内投与試験の実施を判断するための提案をする。第1章の検討において、BAの決定要因の解明として、薬物の消化管吸収と消化管や肝臓における初回通過代謝だけでなく、トランスポーターの検討も必要であることが示された。医薬品開発における薬物の吸収性の評価法に関しては、様々な方法論が開発されてきたが、それでもヒトのBAの予測は容易ではないのが現状であり、臨床でのBA評価は必要である。したがって、原則として、ヒトでの静脈内投与試験は実施すべきであるが、どうしてもできない場合に、第3章のBAの予測を用いる。どのような場合にBAを実測する必要があるか、どのような場合に、第3章の予測法を用いるかを検討した。第2章の検討において、静脈内投与データの添付に影響した要因は個体間変動であった。個体間変動を考慮する場合には当然、薬物の治療域も同時に考える必要がある。また、静脈内投与試験を実施するためには、注射用投与液を調製しなければならず、溶解性も判断の材料となる。さらに、医薬品開発においてBAが問題となるのは、BAの低い薬物の場合である。BAの値が問題となるほど低いのか、問題とはならない程度に高いのかを見積もることは十分に意味があると考えられる。このように、個体間変動、治療域、溶解性及び予測BAを静脈内投与試験の実施の判断基準とするのが妥当と考える。

製薬企業はBAが十分に高い医薬品の創製を目指す。化合物選択の段階で、*in vitro*試験及び動物を用いた*in vivo*試験でヒトのBAを予測し、可能な限りヒトのBAが高いと予測される候補化合物を選択する。前述したように、通常はヒトでのBAを確認されることもなく、臨床ステージへ移行する。第I相試験では経口投与時の血漿中濃度推移を確認でき、同時に個体間変動の大きさも確認できる。次に、第II相試験では有効用量が明らかになり、第I相試験の耐用量との比較から治療域の大きさも確認できる。その後、第III相試験と進み、有効性が確認されれば申請となる。静脈内投与試験の実施について、製薬企業においては申請前に最終的に判断されるものと思われる。すなわち、基礎及び臨床試験結果を踏まえて、個体

間変動の大きい薬物、治療域が狭い薬物、及び予測 BA が低い薬物は BA 評価の必要性が高まると考えられる。そして、溶解性が十分かについても考慮して静脈内投与試験の実施が判断される。規制当局においては申請時に静脈内投与試験のデータが添付されていない場合にデータの提出を要求するか否かの判断をすることになる。

私はここで、静脈内投与試験の実施を判断する方法を提案する。すなわち、製薬企業に対しては、治療域が広く、個体間変動が小さく、第3章の予測法を用いた時に高い予測値が得られた場合、または静脈内投与試験の実施が困難なほど溶解性が低い場合に、BA の値として予測値を使用する。それ以外の場合は静脈内投与試験を実施すべきである。すなわち、治療域が広くて個体間変動の小さいものについて、予測 BA が高い場合は BA が問題となるほど低い訳ではないので、BA として予測値を使用する。また、溶解性について、静脈内投与試験を実施する側の製薬企業が、実施が困難と判断するほどのものであれば、やむを得ないとの考えである。規制当局に対しては、治療域が広く、個体間変動が小さく、溶解性が低い場合に第3章の予測法で高い BA が予測された場合は特に静脈内投与試験の実施を要求しないが、それ以外は要求するというものである。すなわち、治療域が狭い、個体間変動が大きい、溶解性が高いのいずれかに該当する薬物については、すべて静脈内投与試験の実施を要求し、治療域が広くて、個体間変動が小さくて、溶解性が低い薬物についても、BA の予測値が低いものは静脈内投与試験の実施を要求するというものである。経口剤において BA の情報は、審査でも市販後でも非常に重要であり、経口剤においても静脈内投与を実施して BA を評価するのが原則である。私の提言は、必ずしも全ての経口医薬品で静脈内投与試験が実施されていない現状を踏まえ、また、BA の予測法も考慮し、少なくとも BA の情報が必要な薬物を選定し、そのような薬物については静脈内投与の実施を働き掛けるものである。このような判断基準が規制として採用されれば、医薬品開発者にとっては効率的な医薬品開発の一助となるであろう。

## 引用文献

- 1) I. Kola and J. Landis. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature Rev Drug Discov* **3**: 711-716 (2004).
- 2) M. Kato, K. Chiba, A. Hisaka, M. Ishigami, M. Kayama, N. Mizuno, Y. Nagata, S. Takakuwa, Y. Tsukamoto, K. Ueda, H. Kusuhara, K. Ito, and Y. Sugiyama. The intestinal first-pass metabolism of substrates of CYP3A4 and P-glycoprotein-quantitative analysis based on information from the literature. *Drug Metab Pharmacokinet* **18**:365-72 (2003).
- 3) 澤田康文, 村上秀康, 児玉裕克, 大谷壽一. 医療現場のファーマコキネティクス ABC 薬をどう育ててどう正しく使うか? 育薬・医薬品適正使用と医療現場からの情報発信. *薬事* **44**: 1587-1608 (2002).
- 4) D. J. Graham, R. J. Dow, D. J. Hall, O. F. Alexander, E. J. Mroszczak, and D. Freedman. The metabolism and pharmacokinetics of nicardipine hydrochloride in man. *Br J Clin Pharmacol* **20**: 20S-28S (1985).
- 5) A. Richens. Clinical Pharmacokinetics of phenytoin. *Clin Pharmacokinet* **4**: 153-169 (1979).
- 6) 荻原 俊男, 南英美子, 甲斐沼正, 浅井保志, 岡田洋一, 福與健介, 中村祐一郎, 大坂渥巳, 多々見真司. 高血圧患者におけるアンジオテンシン II 受容体拮抗薬 BIBR277(テルミサルタン)の薬物動態試験. *薬理と治療* **30** (Suppl. 1): S271-S283 (2002)
- 7) R.L. Dedrick, K.B. Bischoff, and D.S. Zaharko. Inter-species correlation of plasma concentration history of methotrexate. *Cancer Chemother* **1**. **52**: 95-101 (1970).
- 8) H. Boxenbaum. Interspecies scaling, allometry, physiological time, and the ground plan of pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Biopharm* **10**: 201-227 (1982).
- 9) T. Iwatsubo, N. Hirota, T. Ooie, H. Suzuki, and Y. Sugiyama. Prediction of *in vivo* drug disposition from *in vitro* data based on physiological pharmacokinetics (review). *Biopharm Drug Dispos* **17**: 273-310 (1996).
- 10) T. Lave, P. Coassolo, and B.G. Reigner. Prediction of hepatic metabolite clearance based on interspecies scaling techniques and *in vitro-in vivo* correlations. *Clin Pharmacokinet* **36**: 211-231 (1999).
- 11) T. Izumi, S. Enomoto, K. Hoshiyama, K. Sasahara, A. Shibukawa, T. Nakagawa and Y. Sugiyama. Prediction of the human pharmacokinetics of troglitazone, a new and extensively metabolized antidiabetic agent, after oral administration, with an animal scale-up approach. *J Pharmacol Exp Ther* **277**: 1630-1641 (1996).
- 12) T. Watanabe, H. Kusuhara, K. Maeda, Y. Shitara, and Y. Sugiyama. Physiologically based pharmacokinetic modeling to predict transporter-mediated clearance and distribution of

- pravastatin in human. *J Pharmacol Exp Ther* **328**: 652-662 (2009).
- 13) T. Watanabe, H. Kusuhara, T. Watanabe, Y. Debori, K. Maeda, T. Kondo, H. Nakayama, S. Horita, B. W. Ogilvie, A. Parkinson, Z. Hu, and Y. Sugiyama. Prediction of the overall renal tubular secretion and hepatic clearance of anionic drugs and a renal drug-drug interaction involving organic anion transporter 3 in humans by in vitro uptake experiments. *Drug Metab Dispos* **39**: 1031-1038 (2011).
  - 14) Ministry of Health, Labour and Welfare. Pharmaceutical and Food Safety Bureau Notification No. 796 on Clinical Pharmacokinetic Studies of Pharmaceuticals (2001).
  - 15) K. Kondo, K. Machii, M. Narita, A. Kawamoto, S. Yamasaki, and N. Hamanaka. ONO-AP-500-02: A non prostanoid prostaglandin I<sub>2</sub> mimetic with inhibitory activity against thromboxane synthase, in *Advances in Prostaglandin, Thromboxane, and Leukotriene Research (Samuelsson B, Ramwell PW, Paoletti R, Folco G, Granström E and Nicosia S, eds) vol 23, pp 401-403, Raven Press, Ltd., New York (1995).*
  - 16) S. Miyauchi, Y. Sugiyama, Y. Sawada, T. Iga, and M. Hanano. Kinetics of hepatic transport of 4-methylumbelliferone in rats: Analysis by multiple indicator dilution method. *J Pharmacokinetic Biopharm* **15**: 25-38 (1987).
  - 17) S. Miyauchi, Y. Sawada, T. Iga, M. Hanano, and Y. Sugiyama. Comparison of the hepatic clearance of fifteen drugs with a wide range of membrane permeabilities determined using isolated rat hepatocytes and perfused rat livers. *Pharmacol Res* **10**: 434-440 (1993).
  - 18) M. Yamazaki, H. Suzuki, and Y. Sugiyama. Recent advances in carrier-mediated hepatic uptake and biliary excretion of xenobiotics: *Pharmacol Res* **13**: 497-513 (1996).
  - 19) E. Petzinger. Transport of organic anions in the liver. An update on bile acid, fatty acid, monocarboxylate, anionic amino acid, cholephilic organic anion, and anionic drug transport. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol* **123**: 47-211 (1994).
  - 20) R.P.J.O. Elferink, D.K.F. Meijer, F. Kuipers, P.L.M. Jansen, A.K. Groan, and G.M.M. Groothuis. Hepatobiliary secretion of organic compounds: Molecular mechanisms of membrane transport. *Biochim Biophys Acta* **1241**: 215-268 (1995).
  - 21) M.S. Anwer, and D. Hegner. Effect of NaI on bile acid uptake by isolated rat hepatocytes. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* **359**: 181-192 (1978).
  - 22) M. Inoue, R. Kinne, T. Tran, and I.M. Arias. Taurocholate transport by rat liver sinusoidal membrane vesicles: Evidence of sodium co-transport. *Hepatology* **2**: 572-579, (1982).
  - 23) M. Yamazaki, H. Suzuki, M. Hanano, and Y. Sugiyama. Different relationships between cellular ATP and hepatic uptake among taurocholate, cholate, and organic anions. *Am J Physiol* **264**:

- G693–G701 (1993).
- 24) B. Hagenbuch, B. Stieger, M. Foguet, H. Lübbert, and P.J. Meier. Functional expression cloning and characterization of the hepatocytes Na<sup>+</sup>/bile acid cotransport system. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**: 10629–10633 (1991).
  - 25) B. Hagenbuch and P.J. Meier. Molecular cloning, chromosomal localization, and functional characterization of a human liver Na<sup>+</sup>/bile acid cotransporter. *J Clin Invest* **93**: 1326–1331 (1994).
  - 26) P. von Dippe, M. Amoui, R.H. Stellwagen, and D. Levy. The functional expression of sodium-dependent bile acid transport in Madin-Darby canine kidney cells transfected with the cDNA for microsomal epoxide hydrolase. *J Biol Chem* **271**: 18176–18180 (1996).
  - 27) E. Jacquemin, B. Hagenbuch, B. Stieger, A.W. Wolkoff, and P.J. Meier. Expression of the hepatocellular chloride-dependent sulfobromophthalein uptake system in *Xenopus laevis* oocytes. *J Clin Invest* **88**: 2146–2149 (1991).
  - 28) E. Jacquemin, B. Hagenbuch, B. Stieger, A.W. Wolkoff, and P.J. Meier. Expression cloning of a rat liver Na<sup>+</sup>-independent organic anion transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* **91**: 133–137 (1994).
  - 29) G.A. Kullak-Ublick, B. Hagenbuch, B. Stieger, C.D. Schtengart, A.F. Hofmann, A.W. Wolkoff, and P.J. Meier. Molecular and functional characterization of an organic anion transporting polypeptide cloned from human liver. *Gastroenterology* **109**: 1274–1282 (1995).
  - 30) N. Kanai, R. Lu, J.A. Satriano, Y. Bao, A.W. Wolkoff, and V.L. Schuster. Identification and characterization of a prostaglandin transporter. *Science* **268**: 866–869 (1995).
  - 31) T. Ishikawa, M. Muller, C. Klunemann, T. Schaub, and D. Keppler. ATPdependent primary active transport of cystenyl leukotrienes across liver canalicular membrane: Role of ATP-dependent transport system for glutathione Sconjugates. *J Biol Chem* **265**: 19279–19286 (1990).
  - 32) K. Kobayashi, Y. Sogame, H. Hara, and K. Hayashi. Mechanism of glutathione S-conjugate transport in canalicular and basolateral rat liver plasma membrane vesicles. *J Biol Chem* **265**: 7737–7741 (1990).
  - 33) K. Ito, H. Suzuki, T. Hirohashi, K. Kume, T. Shimizu, and Y. Sugiyama. Molecular cloning of canalicular multispecific organic anion transporter defective in EHBR. *Am J Physiol* **272**: G16–G22 (1996).
  - 34) D.K.F. Meijer, W.E.M. Mol, M. Muller, and G. Kurz. Carrier-mediated transport in the hepatic distribution and elimination of drugs, with special reference to the category of organic cations. *J Pharmacokinet Biopharm* **18**: 35–70 (1990).
  - 35) R. Mayer, J. Kartenbeck, M. Büchler, G. Jedlitschky, I. Leier, and D. Keppler. Expression of the MRP gene-encoded conjugate export pump in liver and its selective absence from the canalicular

- membrane in transport-deficient mutant hepatocytes. *J Cell Biol* **131**: 137–150 (1995).
- 36) M. Yokota, T. Iga, S. Awazu, and M. Hanano. Simple method of hepatic venous blood sampling in the rat. *J Appl Physiol* **4**: 349–441 (1976).
- 37) S.C. Tsao, Y. Sugiyama, K. Shinmura, Y. Sawada, S. Nagase, T. Iga, and M. Hanano. Protein mediated uptake of rose bengal in an albuminemic rats (NAR); Albumin is not indispensable to the protein mediated transport of rose bengal. *Drug Metab Dispos* **16**: 482–489 (1988).
- 38) Y.B. Chung, S. Miyauchi, Y. Sugiyama, H. Harashima, T. Iga, and M. Hanano. Effect of various organic anions on the plasma disappearance of 1-anilino-8-naphthalene sulfonate (ANS). *J Hepatol* **11**: 240–251 (1990).
- 39) K. Sathirakul, H. Suzuki, K. Yasuda, M. Hanano, O. Tagaya, T. Horie, and Y. Sugiyama. Kinetic analysis of hepatobiliary transport of organic anions in eisai hyperbilirubinemic mutant rats. *J Pharmacol Exp Ther* **265**: 1301–1312 (1993).
- 40) Y. Sugiyama, T. Yamada, and N. Kaplowitz. Glutathione S-transferase in elasmobranch liver: Molecular heterogeneity, catalytic and binding properties and purification. *Biochem J* **199**: 749–756 (1981).
- 41) D.C. Kim, Y. Sugiyama, H. Satoh, T. Fuwa, T. Iga, and M. Hanano. Kinetic analysis of *in vivo* receptor-dependent binding of human epidermal growth factor by rat tissues. *J Pharm Sci* **77**: 200–207 (1988).
- 42) M. Yanai, Y. Sugiyama, T. Iga, T. Fuwa, and M. Hanano. Kinetic analysis of the downregulation of epidermal growth factor receptors in rats *in vivo*. *Am J Physiol* **258**:C593–C598 (1990).
- 43) H. Baur, S. Kasperk, and E. Pfaff. Criteria of viability of isolated liver cells. *Heppe-Seyler's Z Physiol Chem* **356**: 827–838 (1975).
- 44) M. Schwenk. Transport systems of isolated hepatocytes. Studies on the transport of biliary compounds. *Arch Toxicol* **44**: 113–126 (1980).
- 45) K. Yamaoka, Y. Tanigawara, Y. Nakagawa, and T. Uno. A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J Pharmacobiodyn* **4**: 879–885 (1981).
- 46) J.H. Lin, Y. Sugiyama, S. Awazu, and M. Hanano. Kinetic studies on the deethylation of ethoxybenzamide: A comparative study with isolated hepatocytes and liver microsomes of rats. *Biochem Pharmacol* **29**: 2826–2830 (1980).
- 47) O. Sugita, Y. Sawada, Y. Sugiyama, T. Iga, and M. Hanano. Physiologically based pharmacokinetics of drug-drug interaction: A study of tolbutamide-sulfonamide interaction in rats. *J Pharmacokinet Biopharm* **10**: 297–316 (1982).
- 48) M.S. Roberts and M. Rowland. A dispersion model of hepatic elimination. 2. Steady state



- considerations. Influence of blood flow, protein binding and hepatocellular enzymatic activity. *J Pharmacokinet Biopharm* **14**: 261–288 (1986).
- 49) Y. Sugiyama, T. Yamada, and N. Kaplowitz. Newly identified bile acid binders in rat liver cytosol: Purification and comparison with glutathione S-transferases. *J Biol Chem* **258**: 3602–3607 (1983).
  - 50) O. Takenaka, T. Horie, H. Suzuki, K. Kobayashi, and Y. Sugiyama. Kinetic analysis of hepatobiliary transport for conjugative metabolites in the perfused liver of mutant rats (EHBR) with hereditary conjugative hyperbilirubinemia. *Pharmacol Res* **12**: 1746–1755 (1995).
  - 51) J.B. Watkins and C.D. Klaassen. Chemically-induced alteration of UDPglucuronic acid concentration in rat liver. *Drug Metab Dispos* **11**: 37–40 (1983).
  - 52) O. Nagata, M. Murata, H. Kato, T. Terasaki, H. Sato, and A. Tsuji. Physiological pharmacokinetics of a new muscle-relaxant, inaperisone, combined with its pharmacological effect on blood flow rate. *Drug Metab Dispos* **18**: 902–910 (1990).
  - 53) K.S. Pang and R. Gillette. Kinetics of metabolite formation and elimination in the perfused rat liver preparation: Difference between the elimination of preformed acetaminophen and acetaminophen formed from phenacetin. *J Pharmacol Exp Ther* **207**: 178–194 (1978).
  - 54) I.M. Arias, G. Fleischner, R. Kirsch, S. Mishkin, and Z. Gatmaitan. On the structure, regulation, and function of ligandin, in *Glutathione: Metabolism and Function* (Arias IM and Jakoby WB, eds) pp 175, Raven Press, New York (1976).
  - 55) M. Yamazaki, H. Suzuki, M. Hanano, T. Tokui, T. Komai, and Y. Sugiyama. Na<sup>+</sup>-independent multispecific anion transporter mediates active transport of pravastatin into rat liver. *Am J Physiol* **264**: G36–G44 (1993).
  - 56) S. Pohjola-Sintonen, M. Viitasalo, L. Toivonene, and P. Neuvonen. Torsades de pointes after terfenadine-itraconazole interaction. *B M J* **306**: 186 (1993).
  - 57) P.K. Honig, D.C. Wortham, K. Zamani, D.P. Conner, J.C. Mullin, and L.R. Cantilena. Terfenadine-ketoconazole interaction. Pharmacokinetic and electrocardiographic consequences. *JAMA* **269**: 1513-1518 (1993).
  - 58) G.K. Dresser, D.G. Bailey, and S.G. Carruthers. Grapefruit juice--felodipine interaction in the elderly. *Clin Pharmacol Ther* **68**: 28-34 (2000).
  - 59) D.G. Bailey, J.D. Spence, C. Munoz, and J.M. Arnold. Interaction of citrus juices with felodipine and nifedipine. *Lancet* **337**: 268-269 (1991).
  - 60) G.K. Dresser, J.D. Spence, and D.G. Bailey. Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet* **38**: 41-57 (2000).

- 61) A.S. Gross, Y.D. Goh, R.S. Addison, and G.M. Shenfield. Influence of grapefruit juice on cisapride pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* **65**: 395-401 (1999).
- 62) K.S. Lown, D.G. Bailey, R.J. Fontana, S.K. Janardan, C.H. Adair, L.A. Fortlage, M.B. Brown, W. Guo, and P.B. Watkins. Grapefruit juice increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J Clin Invest* **99**: 2545-2553 (1997).
- 63) European Medicines Evaluation Agency (EMA). Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Pharmacokinetic Studies in Man (1987).
- 64) US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Evaluation and Research (CDER). Guidances for Industry: Guideline for the Format and Content of the Human Pharmacokinetics and Bioavailability Section of an Application (1987). <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072112.pdf>
- 65) US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry: General Considerations for Pediatric Pharmacokinetic Studies for Drugs and Biological Products —Draft (1998). <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072114.pdf>
- 66) US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry: Pharmacokinetics in Patients with Impaired Renal Function – Study Design, Data Analysis, and Impact on Dosing and Labeling (1998). <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072127.pdf>
- 67) S. Nakade, J. Kitagawa, T. Ohno, C. Amano, N. Honda, Y. Kodama, and M. Ogawa. Impact of “guidance for industry: clinical pharmacokinetic studies of pharmaceuticals” on new drug approvals of central nervous system drugs in Japan. *Drug Metab Pharmacokinet* **26**: 117-120 (2011).
- 68) <http://www.nihs.go.jp/phar/material/material2/CIPkEng011122.pdf>
- 69) <http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/ewp/3cc3aen.pdf>
- 70) Y. Hirai, H. Kinoshita, M. Kusama, K. Yasuda, Y. Sugiyama, and S. Ono. Delays in new drug applications in Japan and industrial R&D strategies. *Clin Pharmacol Ther* **87**: 212-218 (2010).
- 71) H. Imawaka, K. Ito, Y. Kitamura, K. Sugiyama, and Y. Sugiyama. Prediction of human bioavailability from human oral administration data and animal pharmacokinetic data without

- data from intravenous administration of drugs in humans. *Pharm Res* **26**: 1881-1889 (2009).
- 72) A. Rane, G.W. Wilkinson, and D.G. Shand. Prediction of hepatic extraction ratio from *in vitro* measurement of intrinsic clearance. *J Pharmacol Exp Ther* **200**: 420-424 (1977).
  - 73) M.S. Roberts and M. Rowland. Correlation between *in vitro* microsomal enzyme activity and whole organ hepatic elimination kinetics: analysis with a dispersion model. *J Pharm Pharmacol* **38**: 177-181, 1985.
  - 74) K. Ito and J.B. Houston. Comparison of the use of liver models for predicting drug clearance using *in vitro* kinetic data from hepatic microsomes and isolated hepatocytes. *Pharm Res* **21**: 785-792, 2004.
  - 75) R.S. Obach, J.G. Baxter, T.E. Liston, B.M. Silber, B.C. Jones, F. Macintyre, D.J. Rance, and P. Wastall. The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and *in vitro* metabolism data. *J Pharmacol Exp Ther* **283**: 46-58 (1997).
  - 76) Y. Sawada, M. Hanano, Y. Sugiyama, H. Harashima and T. Iga. Prediction of the volumes of distribution of basic drugs in humans based on data from animals. *J Pharmacokinetic Biopharm* **12**: 587-596 (1984).
  - 77) J.W. Prothero. Scaling of blood parameters in mammals. *Comp Biochem Physiol* **67A**: 649-657 (1980).
  - 78) N. Benowitz, R.P. Forsyth, K.L. Melmon and M. Rowland. Lidocaine disposition kinetics in monkey and man I. Prediction by a perfusion model. *Clin Pharmacol Ther* **16**: 87 (1974).
  - 79) D.S. Greens, R. Quintiliani, and C.H. Nightingale. Physiological perfusion model for cephalosporin antibiotics 1: model selection based on blood drug concentrations. *J Pharm Sci* **67**: 191 (1978).
  - 80) Y. Sawada, M. Hanano, Y. Sugiyama, and T. Iga. Prediction of the disposition of  $\beta$ -lactam antibiotics in humans from pharmacokinetic parameters in animals. *J Pharmacokinetic Biopharm* **12**: 241-261 (1984).
  - 81) O. Sugita, Y. Sawada, Y. Sugiyama, T. Iga, and M. Hanano. Effect of sulfaphenazole on tolbutamide distribution in rabbits. Analysis of interspecies difference in tissue distribution of tolbutamide. *J Pharm Sci* **73**: 631-634 (1984).
  - 82) Y. Sawada, M. Hanano, Y. Sugiyama, and T. Iga. Prediction of the disposition of nine weakly acidic and six weakly basic drugs in human from pharmacokinetic parameters in rats. *J Pharmacokinetic Biopharm* **13**: 477-492 (1985).
  - 83) T. Nakayama, T. Sawamoto, T. Karino, M. Matsumura, K. Sasaki, Y. Kurosaki, and T. Kimura. Biopharmaceutical studies on drug/conjugated-metabolite interactions. III. Effect of

- acetaminophen sulfate and its positional isomers on the pharmacokinetics of acetaminophen in rats. *Biol Pharm Bull* **20**: 522-529 (1997) .
- 84) M.D. Rawlins, D.B. Henderson, and A.R. Hijab. Pharmacokinetics of paracetamol (acetaminophen) after intravenous and oral administration. *Eur J Clin Pharmacol* **11**: 283-286 (1977).
- 85) P. de Miranda, HC. Krasny, D.A. Page, and G.B. Elion. Species differences in the disposition of acyclovir. *Am J Med* **73**: 31-35 (1982).
- 86) P. de Miranda and M.R. Blum. Pharmacokinetics of acyclovir after intravenous and oral administration. *J Antimicrob Chemother* **12** (Suppl B): 29-37 (1983).
- 87) S. Iida, T. Inokuchi, M. Iwamoto, M. Suzuki, and Y. Yoneyama. Studies on the metabolic fate of betaxolol hydrochloride (1): Absorption, distribution, metabolism and excretion after single administration to rats. *Drug Metab Pharmacokinet* **5**: 675-697 (1990).
- 88) M. Iwamoto, M Suzuki, Y. Yoneyama, T. Inokuchi, and S. Iida. Studies on the metabolic fate of betaxolol hydrochloride (3): Absorption, distribution, metabolism and excretion after single administration to dogs. *Drug Metab Pharmacokinet* **5**: 711-721 (1990).
- 89) 丹羽卓郎, 野沢美奈子, 飯田成宇. Betaxolol hydrochloride の体内動態 (第 5 報) ラット, イヌおよびヒトにおける蛋白結合. *薬理と治療* **18** (Suppl. 7): S1827-S1833 (1990).
- 90) T.M.Ludden, D.A. Boyle, D. Giesecker, G.T. Kennedy, M.H. Crawford, L.K. Ludden, and W.A. Clementi. Absolute bioavailability and dose proportionality of betaxolo in normal healthy subjects. *J Pharm Sci* **77**: 779-783 (1988) .
- 91) K.U. Buhning, H. Sailer, H.P. Faro, G. Leopold, J. Pabst, and A. Garbe. Pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol-14C in three animal species and in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* **8** (Suppl 11): S21-S28 (1986) .
- 92) Y. Horikiri, T. Suzuki, and M. Mizobe. Stereoselective pharmacokinetics of bisoprolol after intravenous and oral administration in beagle dogs. *J Pharm Sci* **86**: 560-564 (1997).
- 93) G. Leopold. Balanced pharmacokinetics and metabolism of bisoprolol. *J Cardiovasc Pharmacol* **8** (Suppl 11) : S16-S20 (1986).
- 94) R.P. Remmel, M.W. Sinz, and J.C. Cloyd. Dose-dependent pharmacokinetics of carbamazepine in rats: Determination of the formation clearance of carbamazepine-10,11-epoxide. *Pharm Res* **7**: 513-515 (1990).
- 95) A. Gerardin, J.P. Dubois, J. Moppert, and L. Geller. Absolute bioavailability of carbamazepine after oral administration of a 2 % syrup. *Epilepsia* **31**: 334-338 (1990).
- 96) M. Fujimaki. Stereoselective disposition and tissue distribution of carvedilol enantiomers in rats.

- Chirality* **4**: 148-154 (1992).
- 97) G. Neugebauer, W. Akpan, B. Kaufmann, and K. Reiff. Stereoselective disposition of carvedilol in man after intravenous and oral administration of the racemic compound. *Eur J Clin Pharmacol* **38**: S108-S111 (1990).
- 98) M. Fujimaki, Y. Murakoshi, and H. Hokusui. Assay and disposition of carvedilol enantiomers in humans and monkeys: Evidence of stereoselective presystemic metabolism. *J Pharm Sci* **79**: 568-572 (1990).
- 99) H. Sakamoto, T. Hirose, Y. Mine, S. Goto, M. Nishida, and S. Kuwahara. Pharmacokinetics of cefixime, a new oral cephalosporin, in experimental animals. *Chemotherapy* **33**(S-6): 157-168 (1985).
- 100) R.D. Faulkner, P. Fernandez, G. Lawrence, L.L. Sia, A.J. Falkowski, A.I. Weiss, M.S.A. Yacobi, and B.M. Silber. Absolute bioavailability of cefixime in man. *J Clin Pharmacol* **28**: 700-706 (1988).
- 101) S.M. Huang and W.L. Chiou. Pharmacokinetics and tissue distribution of chlorpheniramine in rabbits after intravenous administration. *J Pharmacokinetic Biopharm* **9**: 711-723 (1981).
- 102) N.K. Athanikar and W.L. Chiou. Chlorpheniramine. II. Effect of the first-pass metabolism on the oral bioavailability in dogs. *J Pharmacokinetic Biopharm* **7**: 383-396 (1979).
- 103) S.M. Huang, N.K. Athanikar, K. Sidhar, Y.C. Huang, and W.L. Chiou. Pharmacokinetics of chlorpheniramine after intravenous and oral administration in normal adults. *Eur J Clin Pharmacol* **22**: 359-365 (1982).
- 104) M.M. Rumore. Clinical pharmacokinetics of chlorpheniramine. *Drug Intel Clin Pharmacy* **18**: 701-707 (1984).
- 105) 金庭延慶, 船木朋雄, 古田盛, 涉信敏. シメチジンの吸収に及ぼす胃排出速度の影響. *薬学雑誌* **105**: 966-972 (1985).
- 106) 野口英世, 多田慶太郎, 牛嶋晶子, 古座谷醇, 大木俊光, 沢田たき子, 広島義勉. ヒトおよびイヌにおける Cimetidine の Bioavailability に関する研究. *基礎と臨床* **14**: 2841-2849 (1980).
- 107) G.W. Mihaly, D.B. Jones, J.A. Anderson, R.A. Smallwood, and W.J. Louis. Pharmacokinetic studies of cimetidine and ranitidine before and after treatment in peptic ulcer patients. *Br J Clin Pharmacol* **17**: 109-111 (1984).
- 108) D.C. Taylor, P.R. Cresswell, and D.C. Bartlett. The metabolism and elimination of cimetidine, a histamine H<sub>2</sub>-receptor antagonist, in the rat, dog, and man. *Drug Metab Dispos* **6**: 21-30 (1979).
- 109) K.I. Al-Khamis, L.K. Jim, S.A. Bawazir, L.F. Ashour, N. El-Sayed, and Y.M. El-Sayed. Effect of

- famotidine on ciprofloxacin pharmacokinetics after single intravenous and oral doses in rats. *J Clin Pharmacy Ther* **19**: 335-339 (1994).
- 110) F. Sorgel, U. Jaehde, K. Naber, and U. Stephan. Pharmacokinetic disposition of quinolones in human body fluids and tissues. *Clin Pharmacokinet* **16**(Suppl. 1): 5-24 (1989).
- 111) K. Naora, Y. Katagiri, N. Ichikawa, M. Hayashibara, and K. Iwamoto. A possible reduction in the renal clearance of ciprofloxacin by fenbufen in rats. *J Pharm Pharmacol* **42**: 704-707 (1990).
- 112) G.L. Drusano, K.I. Plaisance, A. Forrest, and H.C. Standiford. Dose ranging study and constant infusion evaluation of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* **30**: 440-443 (1986).
- 113) J. Shah and W.D. Mason. A dose-ranging study of the pharmacokinetics of codeine phosphate following intravenous administration to rats. *J Pharm Sci* **80**: 229-231 (1991).
- 114) J.D. Baggot and L.E. Davis. Species differences in plasma protein binding of morphine and codeine. *Am J Vet Res* **34**: 571-574 (1973).
- 115) D.R.P. Guay, W.M. Awni, J.W.A. Findlay, C.E. Halstenson, P.A. Abraham, J.A. Opsahi, E.C. Jones, and G.R. Matzke. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of codeine in end-stage renal disease. *Clin Pharmacol Ther* **43**: 63-71 (1988).
- 116) A. Bernareggi and M. Rowland. Physiologic modeling of cyclosporin kinetics in rat and man. *J Pharmacokinet Biopharm* **19**: 21-50 (1991).
- 117) S.K. Gupta, R.C. Manfro, S.J. Tomlanovich, J.G. Gambertoglio, M.R. Garovoy, and L.Z. Benet. Effect of food on the pharmacokinetics of cyclosporine in healthy subjects following oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol* **30**: 643-653 (1990).
- 118) D.R. Varma and S. Mulay. Anti-inflammatory and ulcerogenic effects and pharmacokinetics of dexamethasone in protein-deficient rats. *J Pharmacol Exp Ther* **214**: 197-202 (1980).
- 119) S.E. Tsuei, R.G. Moore, J.J. Ashley, and W.G. McBride. Disposition of synthetic glucocorticoids. I. Pharmacokinetics of dexamethasone in healthy adults. *J Pharmacokinet Biopharm* **7**: 249-264 (1979).
- 120) Y. Sawada, M. Hanano, Y. Sugiyama, and T. Iga. Prediction of the disposition of nine weakly acidic and six weakly basic drugs in human from pharmacokinetic parameters in rats. *J Pharmacokinet Biopharm* **13**: 477-492 (1985).
- 121) B.M. Arendt, D.J. Greenblatt, R.H. de John, J.D. Bonin, D.R. Abernethy, B.L. Ehrenberg, H.G. Giles, E.M. Sellers, and R.I. Shader. *In vitro* correlates of benzodiazepine cerebrospinal fluid uptake, pharmacodynamic action and peripheral distribution. *J Pharmacol Exp Ther* **227**: 98-106 (1983).
- 122) J.H. Lin, E.H. Ulm, and D.E. Duggan. Possible mechanisms for reduced plasma clearance of

- diflunisal in rat experimental renal failure. *J Pharmacol Exp Ther* **238**: 978-984 (1986).
- 123) B. Nuernberg and K. Brune. Buffering the stomach content enhances the absorption of diflunisal in man. *Biopharm Drug Dispos* **10**: 377-387 (1989).
- 124) J.H. Lin. Species differences in protein binding of diflunisal. *Drug Metab Dispos* **17**: 221-223 (1989).
- 125) Y. Kato, N. Yagi, S. Yamada, M. Sato, and R. Kimura. Nasal absorption of digoxin rats. *J Pharmacobio-Dyn* **15**: 1-6 (1992).
- 126) U. Abshagen, H. Kewitz, and N. Rietbrock. Distribution of digoxin, digitoxin and ouabain between plasma and erythrocytes in various species. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **270**: 105-116 (1971).
- 127) J.G. Wagner. Loading and maintenance doses of digoxin in patients with normal renal function and those with severely impaired renal function. *J Clin Pharmacol* **14**: 329-338 (1974).
- 128) J.R. Koup, W.J. Jusko, C.M. Elwood, and R.K. Kohli. Digoxin pharmacokinetics: Role of renal failure in dosage regimen design. *Clin Pharmacol Ther* **18**: 9-21 (1975).
- 129) J.R. Isanta, B. Lasheras, D. Fos, and E. Cenarruzabeitia. Comparative diltiazem plasma clearance in normotensive and hypertensive rats. *J Pharm Sci* **76**: 862-865 (1987).
- 130) S. Nakamura, T. Suzuki, Y. Sugawara, S. Usuki, Y. Ito, T. Kume, M. Yoshikawa, H. Endo, M. Ohashi, and S. Harigaya. *Arzneim-Forsch Drug Res* **37**: 1244-1252 (1987).
- 131) S.C. Montamat and D.R. Abernethy. Calcium antagonists in geriatric patients: Diltiazem in elderly person with hypertension. *Clin Pharmacol Ther* **45**: 682-691 (1989).
- 132) J.F. Thiercelin, J. Necciari, H. Caplain, A. Cournot, M. Combes, H. Desmolin, and B. Flouvat. Development and pharmacokinetics of a new sustained-release formulation of diltiazem. *J Cardiovasc Pharmacol* **16**(Suppl 1): S31-S37 (1990).
- 133) C.S. Cook, A. Karin, and P. Sollman. Stereoselectivity in the metabolism of disopyramide enantiomers in rat and dog. *Drug Metab Dispos* **10**: 116-121 (1982).
- 134) J. Braun, G. Sorgel, W.P. Gluth, and S. Oie. Bioavailability of disopyramide in normal volunteers using unbound concentration. *Eur J Clin Pharmacol* **32**: 625-629 (1987).
- 135) T. Ogiso, T. Kitagawa, M. Iwaki, and T. Tanino. Pharmacokinetic analysis of enterohepatic circulation of etodolac and effect of hepatic and renal injury on the pharmacokinetics. *Biol Pharm Bull* **20**: 405-410 (1997).
- 136) 本田一義, 中村明生, 森野昭, 野村彰. Etodolac の生体内運命 (第 1 報) マウス, ラット及びイヌにおける単回投与後の吸収, 分布及び排泄. *医薬品研究* **22**: 109-123 (1991).
- 137) D.R. Brocks, F. Jamali, A.S. Russell and K.J. Skeith. The stereoselective pharmacokinetics of

- Etodolac in young and elderly subjects, and after cholecystectomy. *J Clin Pharmacol* **32**: 982-989 (1992).
- 138) D.R. Brocks, F. Jamali, and A.S. Russell. Stereoselective disposition of etodolac enantiomers in synovial fluid. *J Clin Pharmacol* **31**: 741-746 (1991).
- 139) C. Baarnhielm, H. Dahlback, and I. Skanberg. *In vivo* pharmacokinetics of felodipine predicted from *in vitro* studies in rat, dog and man. *Acta Pharmacol Toxicol* **59**: 113-122 (1986).
- 140) D. Piavan, R. Padrini, M. Furlanut, R. Moretto, and M. Ferrari. Plasma and tissue levels of flecainide in rats. *Pharmacological Res Commun* **18**: 739-745 (1986).
- 141) T.B. Tjandra-maga, R. Verbesselt, A. Van Hecken, A. Mullie, and P.J. de Schepper. Flecainide: single and multiple oral dose kinetics, absolute bioavailability and effect of food and antacid in man. *Br J Clin Pharmacol* **22**: 309-316 (1986).
- 142) L.L-S. Au, J.S. Walker, and Y. Rustum. Pharmacokinetic studies of 5-fluorouracil and 5'-deoxy-5-fluorouridine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* **227**: 174-180 (1983).
- 143) S.D. Baker, S.P. Khor, A.A. Adjei, M. Doucette, T. Spector, R.C. Donehower, L.B. Grochow, S.E. Sartorius, D.A. Noe, J.A. Hohneker, and E.K. Powinsky. Pharmacokinetic, oral bioavailability, and safety study of fluorouracil in patients treated with 776C85, an inactivator of dihydropyrimidine dehydrogenase. *J Clin Oncol* **22**: 3085-3096 (1996).
- 144) S. Caccia, M. Cappi, C. Fracasso, and S. Garattini. Influence of dose and route of administration on the kinetics of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine in the rat. *Psychopharmacology* **100**: 509-514 (1990).
- 145) S. Schenker, R.F. Bergstrom, R.L. Wolen, and L. Lemberger. Fluoxetine disposition and elimination in cirrhosis. *Clin Pharmacol Ther* **44**: 353-359 (1988).
- 146) F. Jamali, B.W. Berry, M.R. Tehrani, and A.S. Russell. Stereoselective pharmacokinetics of flurbiprofen in human and rats. *J Pharm Sci* **77**: 666-669 (1988).
- 147) H.W. Frijlink, E.J.F. Franssen, A.C. Eissens, R. Oosting, A.F. Lerk, and D.K.F. Meijer. The effects of cyclodextrins on the disposition of intravenously injected drugs in the rat. *Pharm Res* **8**: 380-384 (1991).
- 148) G.J. Szpuar, K.S. Albert, G.G. Bole, J.N. Dreyfus, G.F. Lockwood, and J.G. Wagner. *Biopharm Drug Dispos* **8**: 273-283 (1987).
- 149) M.P. Knadler, D.C. Brater, and S.D. Hall. Plasma protein binding of flurbiprofen: Enantioselectivity and influence of pathophysiological status. *J Pharmacol Exp Ther* **249**: 378-385 (1989).
- 150) S.H. Kim, Y.M. Choi, and M.G. Lee. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of furosemide in



- protein-calorie malnutrition. *J Pharmacokinet Biopharm* **21**: 1-17 (1993).
- 151) A. Ebihara, K. Tawara, and T. Oka. Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of a slow-release formulation of furosemide in man. *Arzneimittel-Forsch* **33**: 163-166 (1983).
- 152) M. Hammarlund-Udenaes and L.Z. Benet. Furosemide pharmacokinetics and pharmacodynamics in health and disease-An update. *J Pharmacokinet Biopharm* **17**: 1-46 (1989).
- 153) Y. Igari, Y. Sugiyama, S. Awazu, and M. Hanano. Comparative physiologically based pharmacokinetics of hexobarbital, phenobarbital, and thiopental in the rat. *J Pharmacokinet Biopharm* **10**: 53-75 (1982).
- 154) N.P.E. Vermeulen, C.T. Rietveld, and D.D. Breimer. Disposition of hexobarbitone in healthy man: kinetics of parent drug and metabolites following oral administration. *Br J Clin Pharmacol* **15**: 459-464 (1983).
- 155) J.S. Kaka and A. Tekle. Bioavailability of ibuprofen from oral and suppository preparations in rats. *Res Commun Chem Pathology Pharmacol* **76**: 171-182 (1992).
- 156) H. Cheng, J.D. Rogers, J.L. Demetriades, S.D. Holland, J.R. Seibold, and E. Depuy. Pharmacokinetics and bioinversion of ibuprofen enantiomers in humans. *Pharm Res* **11**: 824-830 (1994).
- 157) A.M. Evans, R. Nation, L.N. Sansom, F. Bochner, and A.A. Somogyi. Stereoselective plasma protein binding of ibuprofen enantiomers. *Eur J Clin Pharmacol* **36**: 283-290 (1989).
- 158) T-H Lin, Y. Sawada, Y. Sugiyama, T. Iga, and M. Hanano. Effect of phenobarbitone on the distribution and elimination of imipramine in rats. *J Pharm Pharmacol* **37**, 735-738 (1985).
- 159) M. Okiyama, K. Ueno, S. Ohmori, T. Igarashi, and H. Kitagawa. Drug interactions between imipramine and benzodiazepines in rats. *J Pharm Sci* **77**: 56-63 (1988).
- 160) L.F. Gram, P.B. Andersen, K.F. Overo, and J. Christiansen. Comparison of single dose kinetics of imipramine, nortriptyline and antipyrine in man. *Psychopharmacology* **50**: 21-27 (1976).
- 161) M. Brinkschulte and U. Breyer-Pfaff. Binding of tricyclic antidepressants and perazine to human plasma. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **308**: 1-7 (1979).
- 162) Y. Sawada, M. Hanano, Y. Sugiyama, H. Harashima, and T. Iga. Prediction of the volumes of distribution of basic drugs in humans based on data from animals. *J Pharmacokinet Biopharm* **12**: 587-596 (1984).
- 163) N. Benowitz, R.P. Forsyth, K.L. Melmon, and M. Rowland. Lidocaine disposition kinetics in monkey and man II. Effects of hemorrhage and sympathomimetic drug administration. *Clin Pharmacol Ther* **16**: 99-109 (1974).
- 164) L.M.H. Wing, J.O. Miners, D.J. Birkett, D. Phil, T. Foenander, K. Lillywhite, and S.

- Wanwimolruk. Lidocaine disposition-sex differences and effects of cimetidine. *Clin Pharmacol Ther* **35**: 695-701 (1984).
- 165) B. Cusack, K. O'Malley, J. Lavan, J. Noel, and J.G. Kelly. Protein binding and disposition of lidocaine in the elderly. *Eur J Clin Pharmacol* **29**: 323-329 (1985).
- 166) R.G. Knodell, R.C. Allen, and W.T. Kyner. Effects of ethinyl estradiol on pharmacokinetics of meperidine and pentobarbital in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* **221**: 1-6 (1982).
- 167) H.H. Szeto, L.I. Mann, A. Bhakthavathsalam, M.Liu, and C.E. Inturrisi. Meperidine pharmacokinetics in the maternal-fetal unit. *J Pharmacol Exp Ther* **206**: 448-459 (1978).
- 168) R.J. Herman, C.B. McAllister, R.A. Branch, and G.R. Wilkinson. Effects of age on meperidine disposition. *Clin Pharmacol Ther* **37**: 19-24 (1985).
- 169) U. Klotz, T.S. McHorse, G.R. Wilkinson, and S. Schenkr. The effect of cirrhosis on the disposition and elimination of meperidine in man. *Clin Pharmacol Ther* **16**: 667-675 (1973).
- 170) A-N. Kong and W.J. Jusko. Disposition of methylprednisolone and its sodium succinate prodrug *in vivo* and perfused liver of rats: nonlinear and sequential first-pass elimination. *J Am Pharm Assoc* **80**: 409-415 (1991).
- 171) A.M.H. Al-Habet and H.J. Rogers. Methylprednisolone pharmacokinetics after intravenous and oral administration. *Br J Clin Pharmacol* **27**: 285-290 (1989).
- 172) F.M. Belpaire, F. de Smet, B. Chindavilak, N. Fraeyman, and M.G. Bogaert. Effect of turpentine-induced inflammation on the disposition kinetics of propranolol, metoprolol, and antipyrine in the rat. *Fundam Clin Pharmacol* **3**: 79-88 (1989).
- 173) L.J. Schaaf, S.C. Campbell, M.B. Mayersohn, T. Vagedes, and D.G. Perrier. Influence of smoking and gender on the disposition kinetics of metoprolol. *Eur J Clin Pharmacol* **33**: 355-361 (1987).
- 174) S. Nagasako, M. Hayashibara, Y. Katagiri, and K. Iwamoto. Effect of dose on salivary excretion of mexiletine after bolus intravenous administration in rats. *Int J Pharm* **81**: 127-132 (1992).
- 175) A.M. Gillis and R.E. Kates. Clinical pharmacokinetics of the newer antiarrhythmic agents. *Clin Pharmacokinet* **9**: 375-403 (1984).
- 176) N.P.S. Campbell, J.G. Kelly, A.A.J. Adgey, and R.G. Shanks. Mexiletine in normal volunteers. *Br J Clin Pharmacol* **6**: 372-373 (1978).
- 177) S. Hovinga, A.M. Stijnen, M.W.E. Langemeijer, J.W. Mandema, C.F.A. van Bezooijen, and M. Danhof. Pharmacokinetic-EEG effect relationship of midazolam in aging BN/BiRij rats. *Br J Pharmacol* **107**: 171-177 (1992).
- 178) P. Heizmann, M. Eckert and W.H. Ziegler. Pharmacokinetics and bioavailability of midazolam in man. *Br J Clin Pharmacol* **16**: 43S-49S (1983).

- 179) Y. Katagiri, T. Itakura, K. Naora, Y. Kanba, and K. Iwamoto. Enhanced bioavailability of morphine after rectal administration in rats. *J Pharm Pharmacol* **40**: 879-881 (1988).
- 180) P.J. Hoskin, G.W. Hanks, G.W. Aherne, D. Chapman, P. Littleton, and J. Filshie. The bioavailability and pharmacokinetics of morphine after intravenous, oral and buccal administration in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* **27**: 499-505 (1989).
- 181) 山口俊和, 鈴木玲子, 池田知左登, 関根豊.  $\beta$ 遮断薬 Nadolol のラットにおける生体内動態. *薬理と治療* **11**: 5139-5144 (1983).
- 182) R.A. Morrison, S.M. Singhvi, W.A. Creasey, and D.A. Willard. Dose proportionality of nadolol pharmacokinetics after intravenous administration to healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* **33**: 625-628 (1988).
- 183) J.J. Krukemyer, H. Boudoulas, P.F. Brinkley and J.J. Lima. Comparison of single-dose steady-state nadolol plasma concentrations. *Pharm Res* **7**: 953-956 (1990).
- 184) S. Higuchi and Y. Shiobara. Metabolic fate of nicardipine hydrochloride, a new vasodilator, by various species. *Xenobiotica* **10**: 889-896 (1980).
- 185) S. Higuchi and Y. Shiobara. Comparative pharmacokinetics of nicardipine hydrochloride, a new vasodilator, by various species. *Xenobiotica* **10**: 447-454 (1980).
- 186) M. Guerret, G. Cheymol, M. Hubert, C. Julien-Larose, and D. Lavene. Simultaneous study of the pharmacokinetics of intravenous and oral nicardipine using a stable isotope. *Eur J Clin Pharmacol* **37**: 381-385 (1989).
- 187) K.M. Boje, J.A. Dolce, and H-L. Fung. Oral ethanol ingestion altered nifedipine pharmacokinetics in the rat: a preliminary study. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* **46**: 219-226 (1984).
- 188) T.J. Rashid, U. Martin, H. Clarke, D.G. Waller, A.G. Renwick, and C.F. George. Factors affecting the absolute bioavailability of nifedipine. *Br J Clin Pharmacol* **40**: 51-58 (1995).
- 189) D. Maruhn, H.M. Siefert, H. Weber, K. Ramsch, and D. Suwelack. Pharmacokinetics of nimodipine I. Communication: Absorption, concentration in plasma and excretion after single administration of [<sup>14</sup>C]nimodipine in rats, dog and monkey. *Arzneim-Forsch Drug Res* **35**: 1781-1786 (1985).
- 190) P. Blardi, R. Urso, A. de Lalla, L. Volpi, T.D. Perri, and A. Auteri. Nimodipine: Drug pharmacokinetics and plasma adenosine levels in patients affected by cerebral ischemia. *Clin Pharmacol Ther* **72**: 556-561 (2002).
- 191) H.P. Krause, H-J. Ahr, D. Beermann, H.M. Siefert, D. Suwelack, and H. Weber. The pharmacokinetics of nitrendipine I. Absorption, plasma concentrations, and excretion after single

- administration of [<sup>14</sup>C]nitrendipine in rats and dogs. *Arzneim-Forsch Drug Res* **38**: 1593-1599 (1988).
- 192) P.A. Soons and D.D. Breimer. Stereoselective pharmacokinetics of oral and intravenous nitrendipine in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol* **32**: 11-16 (1991).
- 193) H. Sano, H. Sato, S. Furuta, M. Motogi, and Y. Matsuki. Pharmacokinetics of nizatidine in dogs and rats. *Xenobiotica* **21**: 1257-1264 (1991).
- 194) L. Danziger, K.M. Furmaga, K.A. Rodvold, C.T. Bombeck, and J.H. Fisher. Nizatidine suppression of basal gastric acid output: a comparison of two intravenous dosage regimens. *J Clin Pharmacol* **29**: 946-952 (1989).
- 195) Y. Katagiri, K. Naora, N. Ichikawa, M. Hayashibara, and K. Iwamoto. Absence of pharmacokinetic interaction between ofloxacin and fenbufen in rats. *J Pharm Pharmacol* **41**: 717-719 (1989).
- 196) O. Okazaki, T. Kurata, H. Hakusui, and H. Tachizawa. Species-related stereoselective disposition of ofloxacin in the rat, dog and monkey. *Xenobiotica* **22**: 439-450 (1992).
- 197) H. Lode, G. Hoffken, P. Olschewski, B. Sievers, A. Kirch, K. Borner, and P. Koeppe. Comparative pharmacokinetics of intravenous Ofloxacin and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* **22**(Suppl C): 73-79 (1988).
- 198) K. Watanabe, K. Furuno, K. Eto, R. Oishi, and Y. Gomita. First-pass metabolism of imeprazole in rats. *J Pharm Sci* **83**: 1131-4 (1994).
- 199) C.G. Regardh, M. Gabrielsson, K.J. Hoffman, I. Lofberg, and I. Skanberg. Pharmacokinetics and metabolism of omeprazole in animals and man-an overview. *Scand J Gastroenterol* **20**(Suppl 108): 79-94 (1985).
- 200) M. Ehrnebo, L.O. Boreus, and U. Lonroth. Bioavailability and first-pass metabolism of oral pentazocine in man. *Clin Pharmacol Ther* **22**: 888-892 (1977).
- 201) T.R. Browne, J.E. Evans, G.K. Szado, B.A. Evans, and D.J. Greenblatt. Studies with stable isotopes II: phenobarbital pharmacokinetics during monotherapy. *J Clin Pharmacol* **25**: 51-58 (1985).
- 202) I.H. Patel, R.H. Levy, and R.E. Culter. Phenobarbital-valproic acid interaction. *Clin Pharmacol Ther* **27**: 515-521 (1980).
- 203) M.A. Hussain, B.J. Aungst, G. Lam, and E. Ahrfter. Phenylpropanolamine pharmacokinetics in dogs after intravenous, oral and oral controlled-release doses. *Biopharm Drug Dispos* **8**: 497-505 (1987).
- 204) S.S. Schezinger, R. Dowse, and I. Kanfer. Steady state pharmacokinetics and dose-

- proportionality of phenylpropanolamine in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* **30**: 372-7 (1990).
- 205) T. Itoh, Y. Sawada, T.H. Lin, T. Iga, and M. Hanano. Kinetic analysis of phenytoin disposition in rats with experimental renal and hepatic diseases. *J Pharmacobio-Dyn* **11**: 289-308 (1988).
- 206) N. Barzaghi, M. Monteleone, C. Amione, C. Lecchini, E. Perucca, and G.M. Frigo. Lack of effect of cholestyramine on phenytoin bioavailability. *J Clin Pharmacol* **28**: 1112-1114 (1988).
- 207) V. Garg and W.J. Jusko. Effects of indomethacin on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of prednisolone in rats. *J Pharm Sci* **83**: 747-50 (1994).
- 208) V. Garg and W.J. Jusko. Bioavailability and reversible metabolism of prednisone and prednisolone in man. *Biopharm Drug Disposi* **15**: 163-72 (1994).
- 209) G.H. Evans, A.S. Nies, and D.G. Shand. The disposition of propranolol. III. Decreased half-life and volume of distribution as a result of plasma binding in man, monkey, dog and rat. *J Pharmacol Exp Ther* **186**: 114-22 (1973).
- 210) H. Liedholm, E. Wahlin-Boll, and A. Melander. Mechanisms and variations in the food effect on propranolol bioavailability. *Eur J Clin Pharmacol* **38**: 469-475 (1990).
- 211) N. Watari, A. Wakamatsu, and N. Kaneniwa. Comparison of disposition parameters of quinidine and quinine in the rat. *J Pharmacobio-Dyn* **12**: 608-615 (1989).
- 212) P.C. Ho, S.C. Chalcraft, P.F. Coville, and S. Wanwimolruk. Grapefruit juice has no effect on quinine pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol* **55**: 393-398 (1999).
- 213) S. Pukrittayakamee, S. Looareesuwan, D. Keeratithakul, T.M.E. Davis, P. Teja-Isavadharm, B. Nagachinta, A. Weber, A.L. Smith, D. Kyle, and N.J. White. A study of the factors affecting the metabolic clearance of quinine in malaria. *Eur J Clin Pharmacol* **52**: 487-493 (1997).
- 214) H. Iven. The pharmacokinetics and organ distribution of ajmaline and quinidine in the mouse. *Naunyn-schmiedeberg's Arch Pharmacol* **298**: 43-50 (1977).
- 215) T.W. Guentert, J.D. Huang, and S. Oie. Disposition of quinidine in the rabbit. *J Pharm Sci* **71**: 812-815 (1982).
- 216) C. Ueda, B. Ballard, and M. Rowland. Concentration-time effects on quinidine disposition kinetics in rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* **200**: 459-69 (1977).
- 217) V.A. Lee. Disposition kinetics of ranitidine in rats. *Drugs Exptl Clin Res* **11**: 837-42 (1983).
- 218) S.M. Grant, H.D. Langtry, and R.N. Brogden. Ranitidine An updated review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in peptic ulcer disease and other allied diseases. *Drugs* **37**: 801-70 (1989).
- 219) J. Hirate, Y. Kato, I. Horikoshi, S. Nagase, and C.T. Ueda. Further observations on the disposition characteristics of salicylic acid in albuminemic rats. *Biopharm Drug Disposi* **10**: 299-309

- (1989).
- 220) H.Y. Abdallah, M. Mayersohn, and K.A. Conrad. The influence of age on salicylate pharmacokinetics in humans. *J Clin Pharmacol* **31**: 380-387 (1991).
- 221) J. Shen, S. Wanwimolruk, R.D. Purves, E.G. McQueen, and M.S. Roberts. Model representation of salicylate pharmacokinetics using unbound plasma salicylate concentrations and metabolite urinary excretion rates following a single oral dose. *J Pharmacokinet Biopharm* **19**: 575-595 (1991).
- 222) B. Lemmer, H. Winkler, T. Ohm, and M. Fink. Chronopharmacokinetics of beta-receptor blocking drugs of different lipophilicity (propranolol, metoprolol, sotalol, atenolol) in plasma and tissues after single and multiple dosing in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **330**: 42-49 (1985).
- 223) T. Ishizaki and K. Tawara. Relationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics of the beta adrenergic blocking drug sotalol in dogs. *J Pharmacol Exp Ther* **211**: 331-7 (1979).
- 224) J.M. Poirier, P. Jaillon, B. Lecocq, V. Lecocq, A. Ferry, and G. Cheymol. The pharmacokinetics of d-sotalol and d,l-sotalol in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* **38**: 579-82 (1990).
- 225) C.M. Dixon, D.A. Sanor, P.D. Andrew, J. Oxford, A. Bradbury, and M.H. Tarbit. Disposition of sumatriptan in laboratory animals and humans. *Drug Metab Dispos* **21**: 761-9 (1993).
- 226) M. Teltung-Diaz and C.E. Lunte. Distribution of tacrine across the blood-brain barrier in awake, freely moving rats using *in vivo* microdialysis sampling. *Pharm Res* **10**: 44-48 (1993).
- 227) P. Hartvig, E. Pettersson, L. Wiklund, and B. Lindstrom. Pharmacokinetics and effects of 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine in the immediate postoperative period in neurosurgical patients. *J Clin Anesth* **3**: 137-142 (1991).
- 228) A. Rurak, M. Mezacka, and L. Danek. Pharmacokinetics of trazodone after different routes of administration. *Pol J Pharmacol Pharm* **33**: 341-348 (1981).
- 229) 栗田則男, 藤原茂, 川合良成, 平野豊, 宇田文昭, 古厩泰子, 野地めぐみ, 篠沢直子. 14C-塩酸トラゾドンのラットにおける生体内動態. *薬物動態* **3**: 155-173 (1988).
- 230) D.J. Greenblatt, H. Friedman, E.S. Burstein, J.M. Scavone, G.T. Blyden, H.R. Orchs, L.G. Miller, J.S. Harmatz, and R.I. Shader. Trazodone kinetics: Effect of age, gender, and obesity. *Clin Pharmacol Ther* **42**: 193-200 (1987).
- 231) F.S. Eberts, Jr. Disposition of triazolam, 8-chloro-6- (o-chlorophenyl) -1-methyl-4H-s-triazolo [4,3-a][1,4]benzodiazepine, in the dog. *Drug Metab Dispos* **5**: 547-555 (1977).
- 232) R.P. Vanderveen, J.L. Jirak, G.R. Peters, S.R. Cox, and P.A. Bombardt. Effect of ranitidine on the disposition of orally and intravenously administered triazolam. *Clin Pharmacol* **10**: 539-543

- (1991).
- 233) R. Jochemsen, J.G.J. Wesselman, C.J. van Boxtel, L. Hermans, and D.D. Breimer. *Br J Clin Pharmacol* **16**: 291S-297S (1983).
- 234) U. Klotz, T. Rapp, and W.A. Muller. Disposition of valproic acid in patients with liver disease. *Eur J Clin Pharmacol* **13**: 55-60 (1978).
- 235) U. Klotz and K.H. Antonin. Pharmacokinetics and bioavailability of sodium valproate. *Clin Pharmacol Ther* **21**: 736-743 (1977).
- 236) P. Manitriskul and W.L. Chiou. Intravenous verapamil kinetics in rats: marked arteriovenous concentration difference and comparison with humans. *Biopharm Drug Dispos* **14**: 555-566 (1993).
- 237) J.T. Slattery, G. Levy, A. Jain, and F.G. McMahon. Effect of naproxen on the kinetics of elimination and anticoagulant activity of a single dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther* **25**: 81-60 (1979).
- 238) S.S. Ibrahim and F.D. Boudinot. Pharmacokinetics of 2',3'-dideoxycytidine in rats: application to interspecies scale-up. *J Pharm Pharmacol* **41**: 829-834 (1989).
- 239) R.W. Klecker, J.M. Collins, R.C. Yarchoan, R. Thomas, N. McAtee, S. Broder, and C.E. Myers. Pharmacokinetics of 2', 3'-dideoxycytidine in patients with AIDS and related disorders. *J Clin Pharmacol* **28**: 837-842 (1988).
- 240) G.F. Vanhove, H. Kastrissios, J.M. Gries, D. Verotta, K. Park, A.C. Collier, K. Squires, L.B. Sheiner, and T.F. Blaschke. Pharmacokinetics of Saquinavir, Zidovudine, and Zalcitabine in combination therapy. *Antimicrob Agent Chemother* **41**: 2428-2432 (1997).
- 241) B.A. Patel, C.K. Chu, and F.D. Boudinot. Pharmacokinetics and saturable renal tubular secretion of zidovudine in rats. *J Pharm Sci* **78**: 530-534 (1989).
- 242) S.S. Good and P. de Miranda. Species differences in the metabolism and disposition of antiviral nucleoside analogues: 2. zidovudine. *Antivir Chem Chemother* **3**: 65-77 (1992).
- 243) R.W. Klecker, J.M. Collins, R. Yarchoan, R. Thomas, J.F. Jenkins, S. Broder, and C.E. Myers. Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of 3'-azido-3'-deoxythymidine: a novel pyrimidine analog with potential application for the treatment of patients with AIDS and related diseases. *Clin Pharmacol Ther* **41**: 407-412 (1987).
- 244) J.M. Collins and J.D. Unadkat. Clinical Pharmacokinetics of Zidovudine. -An overview of current data- *Clin Pharmacokinet* **17**: 1-9 (1989).
- 245) A. Durand, J.P. Thenot, G. Bianchetti, and P.L. Morselli. Comparative pharmacokinetic profile of two imidazopyridine drugs: zolpidem and alpidem. *Drug Metab Rev* **24**: 2369-266 (1992).

- 246) N. Mizuno, T. Niwa, Y. Yotsumoto, and Y. Sugiyama. Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. *Pharmacol Rev* **55**: 425-461 (2003).
- 247) N. Mizuno and Y. Sugiyama. Drug transporters: Their role and importance in the selection and development of new drugs. *Drug Metabol Pharmacokinet* **17**: 93-108 (2002).
- 248) T. Nishimura, Y. Kubo, Y. Kato, Y. Sai, T. Ogihara, and A. Tsuji. Characterization of the uptake mechanism of a novel loop diuretic, M17055, in Caco-2 cells: Involvement of organic anion transporting polypeptide (OATP)-B. *Pharm Res* **24**: 90-98 (2007).



## 主論文目録

本学位論文の内容は下記の発表論文による。

### 第1章

Kinetic Study of the Hepatobiliary Transport of a New Prostaglandin Receptor Agonist

Haruo Imawaka and Yuichi Sugiyama

The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 284, No. 3, 949-957, 1998

### 第2章

Inclusion of Human Intravenous Study Data in New Drug Applications - Impact of the Japanese Guidance

Haruo Imawaka, Makiko Kusama, Kiyomi Ito, Shunsuke Ono, Yuichi Sugiyama

Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 101, No. 7, 2557-2563, 2012

### 第3章

Prediction of Human Bioavailability from Human Oral Administration Data and Animal Pharmacokinetic Data Without Data from Intravenous Administration of Drugs in Humans

Haruo Imawaka, Kiyomi Ito, Yoshiaki Kitamura, Kiyoshi Sugiyama, and Yuichi Sugiyama

Pharmaceutical Research, Vol. 26, No. 8, 1881-1889, 2009

## 謝辞

本研究を進めるに際し，終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜りました東京大学大学院薬学系研究科元教授・杉山雄一博士に深甚なる謝意を表します。

本論文に関し終始有益な御指導とご鞭撻を賜りました千葉大学大学院教授・堀江利治博士に深く感謝の意を表します。

終始有益な御助言と御指導を頂きました武蔵野大学薬学部教授・伊藤清美博士，東京大学大学院薬学系研究科教授・楠原洋之博士，東京大学大学院薬学系研究科助教・草間真紀子博士に厚く感謝の意を表します。

有益な御助言と御指導を頂いた東京大学大学院薬学系研究科准教授・小野俊介博士，星薬科大学教授・杉山清博士に厚く感謝の意を表します。

本研究にご協力いただいた柴川公雄氏，松本一郎氏はじめ小野薬品工業(株)薬物動態研究部の諸氏及び北村嘉章博士はじめ東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学講座の諸氏に厚く感謝の意を表します。

## 審査

本学位論文の審査は千葉大学大学院薬学研究院で指名された下記の審査委員により行われた。

主査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 堀江利治

副査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 山本恵司

副査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 上野光一

副査 千葉大学大学院教授 (薬学研究院) 薬学博士 千葉 寛

副査 千葉大大学院学教授 (薬学研究院) 薬学博士 佐藤信範