

血中薬物濃度の測定

新潟大学医学部附属病院薬剤部 丹野慶紀

Assay of Plasma Concentrations of Drugs

Keiki TANNO

Department of Hospital Pharmacy, Niigata University School of Medicine

はじめに

薬物の bioavailability に及ぼすおもな要因としては、薬物の剤形と性質、製造工程の条件、薬物の物理化学的性質、調剤の条件などの医薬品そのものの品質と、患者自身の消化管分泌液の強弱、消化管内での食物などを含む薬剤の移動速度、吸収部位における薬物吸収の強弱などの生理的条件があげられる。

さらに上記以外の重要な要因として、患者の noncompliance (服薬不履行) があげられる。その頻度は最低でも20~30%程度であり、最高50~60%に達することも希ではない。新潟県下の病院における外来患者の服薬状況については、noncompliance の比率は約23%で、その理由は「のみ忘れた」、「病気がよくなったと判断した」が大部分を占めている¹⁾。すなわち患者の自己判断によって服薬が中止されている。しかし薬物によっては服薬中断によって疾病の増悪やリバウンド現象が起こることがある。

薬物療法の目的は、品質の優れた医薬品を患者へ適用して、目的とする治療効果を有益かつ安全に発揮せしめることにあるが、フェニトインのように個々の患者により必ずしも同一の有用性を示さない場合や noncompliance によって有用性が阻害される場合がある。また薬物によってはジギタリス製剤や炭酸リチウムのように治療有効血中濃度の範囲が狭く、用量に細心の注意を必要とするものもある。

したがって bioavailability が問題となる医薬品の場合は、患者の体液中薬物濃度を測定しながら、常に有効で安全な量の薬剤を投与する必要がある。

1. *in vivo* における薬物の体内動態測定法

本法は、薬物に放射性同位元素または安定同位元素を標識して、薬物の体内動態または疾病の診断に用いるものである。

a. 薬物の化学構造に変化を与えないもの

^{14}C , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{15}O , ^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , ^{13}N などの核種化合物。 ^{14}C と ^3H の標識化合物は、ヒトに用いられることはなく、新医薬品開発の前臨床試験などにおいて、実験動物での薬物の吸収、分布、代謝、排泄などのファルマコキネティクスの実験に用いる。 ^{13}C は安定同位体で、その標識薬物はヒトに投与して血液、尿などの試料を質量分析計を用いて測定する。 ^{11}C は物理的半減期の短い β^+ 放射体で、その標識薬物を患者へ投与して病巣部または標的臓器における薬物の動態を体外から計測する。 ^{15}O , ^{13}N は、 C^{15}O , $^{13}\text{NH}_3$ などの化学形で疾病の診断に用いられる。 ^{131}I , ^{125}I , ^{123}I は、化学構造にヨードをもつ薬物、たとえば造影剤、甲状腺製剤などの体内動態を動物で調べるのに用いる。

b. 薬物の化学構造に変化を与えるもの

^{131}I , ^{125}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, $^{113\text{m}}\text{In}$, ^{18}F などの核種化合物。これらの核種は、薬物に標識した場合に元の薬物の化学構造に変化を与えるので、一般には薬物の体内動態を調べる目的では使用されない。主として検査・診断に利用される。 ^{131}I と ^{125}I はラジオイムノアッセイの標識抗原として、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ と $^{113\text{m}}\text{In}$ の化合物は核医学におけるシンチグラフィ用、 ^{18}F はブドウ糖などに標識して脳の病態を調べる目的で用いられる。

2. *in vitro* での体液中薬物濃度測定法

本法にはガスクロマトグラフィーなどを用いる物理的方法とエンザイムイムノアッセイなどによる免疫学的方法がある。

a. 物理的方法

- 1) gas chromatography (GC)
- 2) GC mass spectrometry
- 3) mass fragmentgraphy
- 4) mass chromatography
- 5) high performance liquid chromatography (HPLC)
- 6) atomic spectrophotometry

病院で臨床に利用されるおもな方法は、GC、HPLC および原子吸光分析である。

b. 免疫学的方法

抗原・抗体反応を利用して、生体中に微量に存在するホルモン等の物質を測定できるようになったのは約25年前からで、最初にこれを実現したのは、医師 Berson と女性核物理学者の Yalow である。2人は¹³¹Iで標識したインスリンの体内動態を調べている過程で、¹³¹I-インスリンと結合するものがインスリンに対する抗体であることを証明し、さらに抗体をめぐって¹³¹I-インスリンとインスリンが競合するという事実を発見して、血液中のインスリンを *in vitro* で測定するラジオイムノアッセイ (RIA) 法を1959年に開発した²⁾。以来、免疫学的方法によるホルモンをはじめとする生体微量成分および薬物の測定法が、RIA を中心に数多く開発され、現在では酵素を利用しエンザイムイムノアッセイ (EIA) など種々の方法が急速に開発利用されるに至った。

1) ラジオイムノアッセイ (RIA)

本法は免疫反応の基本的な原理に基づくものである。

図1のように試料の抗原(血中薬物)に一定量の抗体と標識抗原を加えることにより、抗原・抗体結合物が生成するが、このとき抗原と標識抗原が一定量の抗体に対して競合的に結合する。すなわち抗体と結合しなかった遊離の標識抗原が多く存在する場合は、試料中の抗原(薬物)は少なく、遊離の標識抗原が少ない場合は試料中の抗原は多くなる。したがって遊離の標識抗原あるいは抗原・抗体結合物の放射活性を測定することにより抗原(薬物)の量を知ることができる。RIA 以外の免疫学的測定法も原理的にまったく同様である。RIA の場合

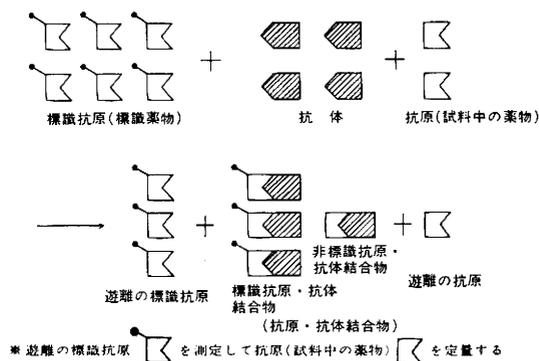


図1 ラジオイムノアッセイの原理

は、遊離の標識抗原と抗原・抗体結合物を遠心分離などの適当な方法で分離 (B/F 分離) して測定しなければならないが、EIA などに比べて10倍以上の感度を有し、生体内ホルモンなどの定量には必要不可欠の測定法である。

2) 非放射免疫測定法

RIA の有用性が高まるとともに、その最大の欠点である放射性物質の取り扱い上の問題を解決すべく、非放射免疫測定法が開発利用されるに至った。これは放射性同位元素の代わりに酵素、スピン、蛍光物質などを標識物質に使う方法と抗原・抗体反応を直接みる方法とに大別される。

a) エンザイムイムノアッセイ (EIA)

homogeneous enzyme immunoassay 血中薬物濃度測定に最も繁用されている方法で Emit® が知られている。本法は図1と同じ原理で、抗原の標識に酵素を用い、基質と共存させた場合に酵素標識抗原・抗体結合物の酵素活性が消失するので、遊離の酵素標識抗原の酵素活性を測定することによって試料中の抗原(薬物)の量を知る方法であり、B/F 分離の必要はない。

competitive binding enzyme immunoassay 本法は、抗体と結合した酵素標識抗原の量あるいは結合しなかった酵素標識抗原の量を測定することによって試料中の抗原(薬物)を定量する方法で、B/F 分離を行ったのちに、その酵素活性を吸光度法で定量する。Markit® が市販されている。

substrate-labeled fluorescence immunoassay (SLFIA) 本法は、抗原を酵素で標識するのではなく、酵素の基質で標識して、これと試料中の抗原(薬物)とを共通の抗体に対して競合的に反応させる方法である。

基質のウンベリフェロン β -D-ガラクトシドを標識した抗原は、それ自身無蛍光性であるが、 β -ガラクトシダーゼで水解され発蛍光性のウンベリフェロンを遊離する。しかし、このものは抗体と結合した状態では標識基質は酵素水解を受けない。したがって試料中の抗原(薬物)の量が増すと、結合型の割合は減少し、逆に遊離型が多くなるので酵素水解によって蛍光は強くなる。この原理を応用したものにエームス TDA[®] がある。

b) fluorescence polarization's immunoassay (FPIA)

本法は、抗原の標識に酵素や基質を用いるのではなく、フルオルエッセンを抗原に標識する方法である。標識抗原が抗体に結合するとその結合量によってフルオルエッセンの蛍光偏光値が変化するので、その蛍光偏光値を測定して試料中の抗原(薬物)を定量する。このシステムに Abbott-TDX[®] がある。

c) competitive nephelometric immunoassay

本法は抗原抗体反応を直接みる方法である。試料中の抗原(薬物)と多価抗原が共通の抗体に対して競争的に結合するが、多価抗原・抗体結合物は不溶性沈降物となる。この不溶性微粒子は光散乱を示すのでレーザー・ネフロメータを用いてその散乱光の強度を測定して試料中の抗原(薬物)を定量する。このシステムとしては i-PiT[®] がある。

3) radioreceptor assay (RRA)

抗体の代わりにホルモンなどの受容体を用いる方法である。RIA が免疫活性物質を測定するのに対し、RRA は生物活性を対象とするため、薬物のあらかず薬効の解析により適切な情報が得られる。

3. ジゴキシンの血漿中濃度

経口剤の投与では、一部は胃から吸収されるが、大部分は小腸より吸収される⁹⁾。錠剤の吸収速度と吸収率は、薬剤の調製法、薬物の粒子径や結晶形、賦形剤や添加剤によって異なり、製品間で bioavailability が大きく異なることが知られている⁴⁾。ほとんどの患者で満足すべき治療効果を得る血漿中濃度は 0.8~2.0ng/ml とされている⁹⁾。血中からの消失は、一次速度過程に従い、その半減期は約36時間⁶⁾であり、体内動態の解析は2-コンパートメントモデルで表わし得る。

臨床では一般に患者の血漿中ジゴキシンの濃度測定を RIA または EIA によって行っている。しかし腎障害患者⁷⁾、未熟児・満期産児⁸⁾、異常血清タンパク患者⁹⁾、

および肝疾患患者¹⁰⁾の血清中には内因性のジゴキシンの様免疫反応物質が存在するとされ、そのみかけ上の濃度は 0.3~14nmol/l と治療濃度域に匹敵するため、このような患者での RIA または EIA によるジゴキシンの濃度測定では、その有用性が損なわれる危険がある。現在のところこの妨害物質の正体は明らかにされていないが、Nanji と Greenway は、蛍光偏光法 fluorescence polarization's immunoassay ではジゴキシンの様免疫反応物質に影響されないとしている¹⁰⁾。

4. フェントイン (DPH) の血漿中濃度

DPH の抗てんかん薬としての治療濃度範囲は成人の血漿中で 10~20 μ g/ml、唾液中で 1.0~2.2 μ g/ml¹¹⁾、小児の血漿中で 5~20 μ g/ml¹²⁾ と狭い。一方個体間における DPH の血漿中濃度はきわめて大きな差が生じやすい¹³⁾。この原因の一つとして DPH の物理的性質と生体側の要因との相互作用があげられる。すなわち DPH は水に難溶で、かつぬれが悪いことである。このことは経口投与における DPH の消化管吸収には、DPH の粒子径と賦形剤が関与することを意味している。一般に DPH は散剤よりも錠剤の方がよく効くといわれるが、これは錠剤中の賦形剤によってぬれが良くなって吸収されやすくなるためである。原末単味の投与の場合は、ぬれが悪く消化管内で塊となって分散を悪くして吸収されにくくなる。粒子径との関係では、DPH の原末(平均粒径 190 μ m)と微末(平均粒径 4.1 μ m)をてんかん症例に服用させると、DPH の最高血漿中濃度は微末投与が原末に比べて約3倍高い値を示す¹⁴⁾。また DPH は体内で 5-(p-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin (p-HPPH) に代謝される過程が飽和されることから、体内動態の解析にはおもに消失を Michaelis-Menten 速度過程で近似の1-コンパートメントモデルが用いられる。すなわち、てんかん症例の薬物療法は厳密な臨床観察とともに、定期的な抗てんかん薬の血中濃度測定を必要とし、最終的には症例ごとの clinical pharmacokinetics に基づいた投与方法の検討が必要である。

5. テオフィリンの血漿中濃度

テオフィリンの治療血漿中濃度範囲は 5~20 μ g/ml である¹⁵⁾¹⁶⁾。20 μ g/ml 以上の濃度で悪心、頭痛、下痢がみられ、さらに高濃度になると嘔吐、消化管出血、発作、心不整脈が生じる。テオフィリンの投与方法として

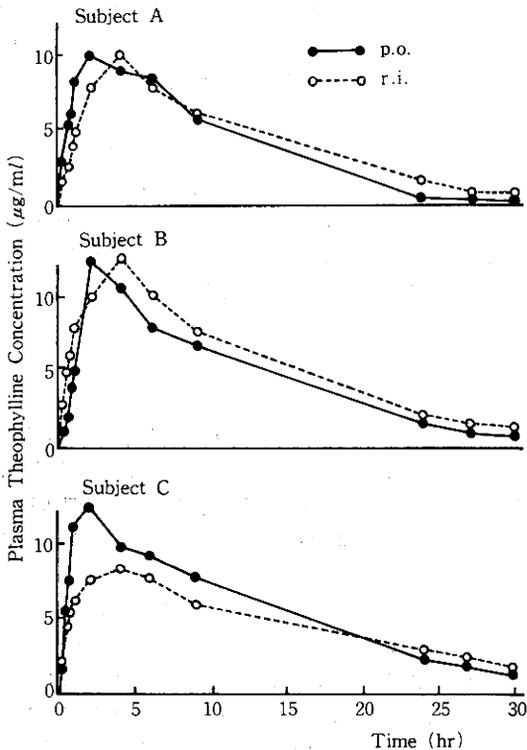


図2 健常男子3名にアミノフィリン 500mg を経口(錠剤)および直腸投与(カカオ脂坐剤)したときの血漿中テオフィリン濃度

は静注、経口、直腸投与などがあり、一般にはテオフィリンの約20倍の水溶性をもつアミノフィリンの形で使用される。このものはテオフィリンとエチレンジアンから成りテオフィリンを84~86% 含んでいる。アミノフィリンの経口・直腸投与における bioavailability は、個体間および剤形の性質により著しく異なる。図2は健常男子3名に錠剤とカカオ脂を基剤とした坐剤のそれぞれ 500mg を1回投与したときの血漿中濃度である¹⁷⁾。このときの最高血中濃度に到達する時間は、経口で2時間、直腸投与で3時間である。また最高血中濃度は経口で 9.9~12.8 $\mu\text{g/ml}$ 、直腸投与で 8.2~12.4 $\mu\text{g/ml}$ で、消失半減期は経口・直腸投与ともに7~10時間である。

また、アミノフィリン坐剤の基剤と血漿中濃度との関係については、ヒトあるいは動物の個体差が影響して明確でないが、図3に4種類の基剤を使用したアミノフィリン坐剤の1回投与後の家兎血漿中テオフィリン濃度(各群5例)の例を示す¹⁸⁾。すなわち Witepsol

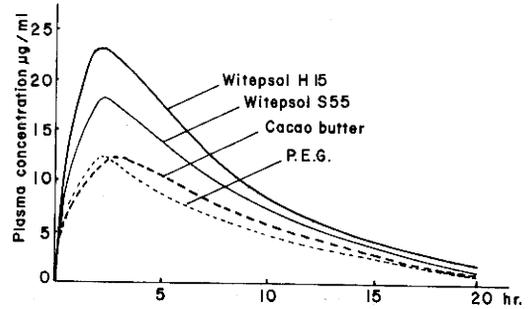


図3 各種基剤を用いたアミノフィリン坐剤の直腸吸収(家兎 20mg/kg)

H-15 使用時の血漿中濃度が最も大きく、ついで S-55、カカオ脂、ポリエチレングリコール(PEG)の順になる。

さらにヒトにおける連続投与では、カカオ脂基剤のアミノフィリン坐剤 250mg を12時間ごとに投与した場合、投与3日目より 5~8 $\mu\text{g/ml}$ の血漿中濃度を示シプラトーに達する。

また、油脂性剤のアミノフィリン坐剤では、保存期間の影響を受け、室温保存で経日的に融点の上昇、溶融時間の著しい延長が認められ、調製後6~12か月で融点が 33° から 40~50° となり¹⁹⁾、坐剤の bioavailability は著しく低下すると考えられる。

6. 経皮デリバリー製剤の血漿中濃度

近年、各種の長時間作用型の持効性製剤の開発が進められている。これらの剤形は治療有効濃度範囲に薬物を長期間滞留させることによって、薬物の副作用を軽減させるとともに、のみ忘れなどによる noncompliance を防止して薬物を有効かつ安全に患者に適用するためのものである。経口用の浸透圧剤²⁰⁾、ブドウ糖センサー付のインスリンポンプ²¹⁾、眼治療システムのピロカルピオキユサート²²⁾ および経皮治療システムの経皮性スコポラミン製剤²³⁾ などがあるが、ここでは最も利用度が高いと思われる経皮デリバリー製剤について述べる。この製剤は厚さ 0.15~0.2mm の貼付粘着剤で、薬物貯蔵層、放出速度制御膜および粘着剤から構成される多層構造になっている。

図4は、このシステムによるニトログリセリンとクロニジンの予測された血漿中濃度とヒトにおける *in vivo* 実験データを比較したものである²⁴⁾。両者は合理的に一致し、予測データはこれらの薬物のヒトの皮膚での透過

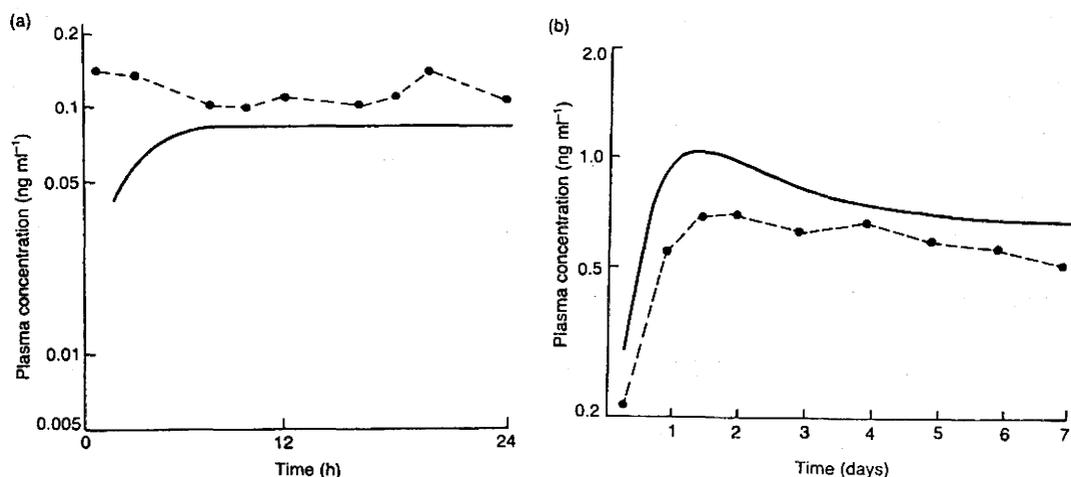


図4 経皮デリバリーシステムによる (a) ニトログリセリンと (b) クロニジンの血漿中濃度
—: 理論値,: 実験値

研究において見いだされた生物学的偏差内に入っている。したがってニトログリセリンでは1日1回、クロニジンでは7日に1回の貼付で治療有効濃度範囲に維持することが可能である。

7. 薬物の血漿中非結合形濃度の測定

多くの薬物は血漿中で血漿タンパクと結合して存在するが、その結合状態は薬物により異なり、薬物ごとに一定の結合率を示す。たとえば血糖降下薬のグリペンクラミドは99%のタンパク結合率を示すが、病態によりあるいは併用薬物により、分子型の非結合形の薬物濃度が高まると血糖降下作用は増強される。このように薬物の作用の強さは非結合形の濃度に依存することから、その薬物濃度を測定することが望ましいことは当然のことである。しかし結合形と非結合形の分離技術に難点がありあまり普及していない。分離法としては平衡透析法、限外濾過法、超遠心分離法およびゲル濾過法があるが、臨床的には限外濾過法が操作が簡単であり、所要時間が短かくて済むことから繁用されている。

おわりに

以上、血中薬物濃度測定と医薬品の剤形・製造法の相違による血漿中濃度差について述べたが、特に治療有効濃度域の狭い薬物、bioavailability が問題となる薬物、または服薬を中断することによってリバウンド現象など

が起こる薬物にあっては、つねに患者の体液中濃度をモニターして適切な薬物療法を行うことが望まれる。

参考文献

- 1) 丹野慶紀, ほか: 医薬品相互作用使用研究, 7: 79 (1983).
- 2) 入江 實: Isotope news, No. 335, p. 16, 日本アイソトープ協会 (1982).
- 3) Doherty, J.E.: Ann. Int. Med., 79: 229 (1973).
- 4) Lindenbaum, J., et al.: New Engl. J. Med., 285: 1344 (1971).
- 5) Mallis, G.I., et al.: Clin. Pharmacol. Therap., 18: 761 (1975).
- 6) Smith, T.W.: Eng. Med., 288: 719 (1973).
- 7) Graves, S.W., et al.: Ann. Intern. Med., 99: 604 (1983).
- 8) Pudek, M.R., et al.: Clin. Chem., 29: 1972 (1983).
- 9) Vinge, E., et al.: N. Engl. J. Med., 310: 725 (1984).
- 10) Nanji, A.A. and Greenway, D.: Br. Med. J., 290: 432 (1985).
- 11) a) Eadie, M.J.: Clin. Pharmacokin., 1: 52 (1976).
b) Hvidberg, E.F. and Dam, M.: Clin. Pharmacokin., 1: 161 (1976).

- 12) **Borofsky, L.G., et al.:** J. Pediatr., **81**: 995 (1972).
 - 13) 間中信也, ほか: 脳と神経, **27**: 583 (1975).
 - 14) 新熊傳治, ほか: 薬剤学, **39**: 121 (1979).
 - 15) **Mitenko, P.A. and Ogilvie. J.I.:** New Engl. J. Med., **289**: 600 (1973).
 - 16) **Levy, G. and Koysooko.:** J. Pediatr., **86**: 789 (1975).
 - 17) **Sugawara, K. and Tanno, K., et al.:** Pharmacometrics, **24**: 829 (1982).
 - 18) 丹野慶紀, ほか: 医薬品相互作用研究, **5**: 159 (1981).
 - 19) 藤井忠男, ほか: 病院薬学, **5**: 148 (1979).
 - 20) **Theeuwes, F.:** Pharmacy International, **5**: 293 (1984).
 - 21) **Franetzki, M.:** Pharmaceutical Research, 1984, 237.
 - 22) **Heilmann, K.:** Therapeutic Systems, p. 66, Thieme, New York (1978).
 - 23) **Banker, G.S., et al.:** Pharmacy International, **4**: 9 (1983).
 - 24) a) **Good, W.R.:** Drug Dev. Ind. Pharm., **9**: 647 (1983).
b) **Arndts, D. and Arndts, K.:** Eur. J. Clin. Pharmacol., **26**: 79 (1984).
-