[Jpn. J. Hosp. Pharm.]
一般論文
25(1) 28 — 33 (1999)

アミオダロンおよびデスエチルアミオダロンの 簡易測定法ならびにその臨床応用

正置耕一^{†1}, 上野和行^{*†1}, 辻 美里^{†1}, 平木精一^{†1},
高田充隆^{†1}, 鎌倉史郎^{†2}, 柴川雅彦^{†1}
国立循環器病センター薬剤部^{†1}, 同内科^{†2}

A Simple Assay for Amiodarone and Desethylamiodarone and its Clinical Application

KOICHI MASAKI^{†1}, KAZUYUKI UENO^{*†1}, MIRI TSUJI^{†1}, KIYOKAZU HIRAKI^{†1},
MITSUTAKA TAKADA^{†1}, SHIRO KAMAKURA^{†2} and MASAHICO SHIBAKAWA^{†1}

Department of Pharmacy^{†1} and Internal Medicine^{†2}, National Cardiovascular Center

(Received August 6, 1998
Accepted November 11, 1998)

A simple reverse-phase high-performance liquid chromatographic (HPLC) assay for the measurement of amiodarone and its metabolite, desethylamiodarone in the serum was established. The ODS-2 column was used and the absorbance of the effluent from the column at 254 nm was measured. The standard curves for amiodarone and desethylamiodarone were linear up to 5 $\mu\text{g/ml}$. The coefficient of variation (CV) was within 10% at a concentration of 100 ng/ml, and the CV of the intra- and interday variation was within 10% at concentrations of 0.25, 0.5 and 1 $\mu\text{g/ml}$, respectively. These results suggest that the limit of detection is 100 ng/ml for amiodarone and desethylamiodarone, and this assay is thus considered to be a reliable method in clinical practice. On the other hand, the serum amiodarone and desethylamiodarone concentrations were measured in 10 inpatients who received amiodarone for at least 1 month. No significant correlation was observed between the doses and serum drug concentrations. These findings therefore suggest that TDM (Therapeutic Drug Monitoring) should be performed on anyone taking amiodarone.

Key words — Amiodarone, desethylamiodarone, HPLC, assay, TDM

緒 言

一般に、抗不整脈薬は有効治療濃度域の幅が狭いため、TDM (Therapeutic Drug Monitoring) の実施が必要であるとされている。アミオダロン

は、Vaughan Williams 分類のクラスⅢに属する不整脈治療薬であり、難治性不整脈に対して高い有効性が認められている¹⁾。しかし、アミオダロンは副作用発現頻度が高いうえ、致死的な副作用を引き起こすために、適用は他の抗不整脈薬が無効あるいは使用できない重症不整脈のみに限られている。また、代謝物も親化合物と同等の活性を持つ

^{†1,2} 大阪府吹田市藤白台5-7-1; 5-7-1, Fujishirodai,
Suita, Osaka, 565-8565 Japan

ているとされており^{2,3)}, 両者を含めた薬物動態学的な解析が必要であるが, 有効血中濃度域に関する明確な報告は非常に少ない⁴⁻⁶⁾. また, アミオダロンの血中濃度測定に関しては種々報告されているが, 脂溶性が高いこと, また代謝物をも含めた同時測定が必要であるため, 臨床現場で比較的簡単な操作方法では測定しがたい欠点がある. そのため, アミオダロンの TDM が臨床においてルーチン的にはほとんど行われていないのが現状であると考ええる.

そこで我々は, TDM の実施および日本人における薬物動態を検討することを目的として, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるアミオダロンおよびその主要活性代謝物である N-デスエチルアミオダロンの薬物血中濃度測定方法の確立およびその臨床応用について検討を行った.

実験材料および方法

1. 試薬

アミオダロンおよび N-デスエチルアミオダロンはサノフィ製薬 (フランス) より提供を受けた. 内標準物質として用いた塩酸アミトリプチリンはシグマ社製を用いた. メタノールは HPLC 用規格品, その他の試薬は特級品を用いた.

2. HPLC 法によるアミオダロン測定方法

1) HPLC 条件

装置は島津製作所 LC 6 A を用いた. カラム条件は島津製作所 ODS-2 (4.6mm I.D.×25cm), 移動相はメタノール:水:アンモニア水(28%)=91:8.8:0.2, 流速 1.3ml/min, 検出波長254nm の条件下で行った.

2) 抽出方法

アミオダロンの脂溶性が高いため, 弱酸性領域においても有機溶媒抽出が可能である. Mostow らの方法⁴⁾では pH4.8 で, Brien ら⁵⁾では pH 6.0 で抽出している. 本法では塩酸の添加で pH を 6.0 とし抽出した. 血清 1 ml を 10 ml の試験管にとり, 内標準物質 (塩酸アミトリプチリン水溶液 100 µg/ml) 10 µl, 1.2M 塩酸 30 µl (pH 6.0) およびジエチルエーテル 5 ml を加え 1 分間振盪した. 3000rpm で 10 分間遠心分離後, 上層のジエチルエーテル層 4 ml を別の試験管に採取した. これを 50℃ の湯浴槽にて蒸発乾固し, 残渣にメタノール 200 µl を加え振盪した後, その溶液の 50 µl を HPLC に注入した. 抽出方法を図 1 に示した.

3) 検量線作成

ヒトブランク血清にアミオダロンならびにデス

図1. ヒト血清中アミオダロン抽出操作手順

エチルアミオダロン濃度がそれぞれ0.25, 0.5, 1, 2.5および5 $\mu\text{g/ml}$ となるように標準物質を添加し, 標準液を作成した. これを抽出方法に従い抽出した測定試料を HPLC にて測定した. それぞれの薬物の検出されたピークの面積と内標準物質のピーク面積との比を求め, 検量線を作成した.

4) 再現性試験

再現性試験ではヒトブランク血清にアミオダロンならびにデスエチルアミオダロン濃度がそれぞれ0.25, 0.5および1 $\mu\text{g/ml}$ となるように標準物質を添加し, 標準液を作成した. これを前述の抽出方法に従い抽出した測定試料を HPLC にて測定した. 日内変動の検討では5回くり返し測定した. また, 日間変動の検討では5日間にわたり測定した.

3. 臨床応用

アミオダロン服用開始後少なくとも1カ月以上経過した患者10例 (男性6名, 女性4名) についてアミオダロンおよびデスエチルアミオダロンの血清中濃度を測定した. 本研究対象患者は10例ともにアミトリプチリンを服用していないことをカルテ等より確認した.

結 果

1. HPLC 法による血清中アミオダロンおよびデスエチルアミオダロン濃度測定結果

1) HPLC クロマトグラムの検討

HPLC で測定した結果のクロマトグラムを図2に示した. 内標準物質, デスエチルアミオダロンおよびアミオダロンの保持時間はそれぞれ6.1, 11.7, 19.2分であった. 1試料あたり分析は20分以内に完了した. また, 各ピークの分離状態は良好であった.

2) 検量線の検討

ヒトブランク血清より作成したアミオダロンおよびデスエチルアミオダロン標準液を用いて測定した検量線を図3に示した. 回帰直線はそれぞれ $Y = -0.0382 + 1.069X$ および $Y = -0.0701 + 1.091X$, ならびに $r^2 = 0.999$ および 0.998 であった. また, ほぼ原点を通る良好な直線性および相関を示した.

3) 再現性の検討

(1) 日内変動

アミオダロンおよびデスエチルアミオダロンをそれぞれ0.25, 0.5および1 $\mu\text{g/ml}$ に調製した試料を5回測定し, 相対誤差を算出した結果を表1Aに示した. その結果, デスエチルアミオダロンが0.25 $\mu\text{g/ml}$ の場合 5.68 ± 3.32 (平均 $\pm$ SD) % であったが, 他の条件ではすべて5.0% 以下であった.

(2) 日間変動

アミオダロンおよびデスエチルアミオダロンの0.25, 0.5および1 $\mu\text{g/ml}$ を調製した試料を5日

図2. ヒト血清中のアミオダロン, デスエチルアミオダロンおよび内標準を抽出した場合のクロマトグラム

図3. 内標準法によるアミオダロンおよびデスエチルアミオダロンの検量線

○ Amiodarone $y = -0.0382 + 1.069x$ $R^2 = 0.999$
 ● Desethylamiodarone $y = -0.0701 + 1.091x$ $R^2 = 0.998$

表1. アミオダロンおよびデスアミオダロンの血清中濃度測定時の相対誤差

A) 日内変動の検討

薬物	濃度 (μg/ml)		
	0.25	0.5	1.0
アミオダロン	4.28±2.95	1.96±3.42	3.78±2.38
デスアミオダロン	5.68±3.32	3.36±2.06	1.84±1.66

B) 日間変動の検討

薬物	濃度 (μg/ml)		
	0.25	0.5	1.0
アミオダロン	3.20±1.50	2.80±1.75	3.70±2.31
デスアミオダロン	2.96±2.48	5.92±1.72	1.96±1.00

相対誤差; (測定値-測定値の真値)/測定値の真値
 データ; 平均値±標準偏差

間測定し、相対誤差を算出した結果を表1Bに示した。その結果、デスエチルアミオダロンが0.5 μg/mlの場合5.92±1.72%であったが、他の条件ではすべて5.0%以下であった。

4) 測定限界

アミオダロンおよびデスエチルアミオダロンの100ng/mlを3回測定した結果、相対誤差はそれぞれ4.77±3.37および2.94±2.12であった。

図4. アミオダロン服用患者における投与量と薬物血中濃度の関係

2. アミオダロン測定方法の臨床応用

アミオダロン服用患者における投与量と血清中薬物濃度の関係を図4に示した。投与量と血清中薬物濃度の関係は非常にバラツキが大きくアミオダロンは薬物体内動態の個人差が大きな薬物であることが示唆された。また、年齢、腎機能および肝機能の検査値と血清中薬物濃度とを比較したところ、有意な相関は見られなかった。

考 察

抗不整脈薬アミオダロンおよびその活性代謝物であるデスエチルアミオダロンのHPLC内標準法による血清中薬物濃度測定法について検討を行った。従来用いられてきた測定方法のうち、Mostowらの方法では⁴⁾移動相が5種類の溶媒の混合で調製法が煩雑であり、かつ抽出の溶媒としてヘキサンを用いているため、留去が容易でない。Jandreskiら⁶⁾の方法では抽出用のカラムを通す必要があるなどで手順が煩雑である。また、Brienら⁵⁾の方法は比較的簡便な方法であるが内標準を用いない絶対検量線である。したがって、

これらの方法は臨床現場において、分析機器の設備が十分でない場合、ルーチン的な測定には不向きと考えられる。本法は内標準としてアミトリプチリンを用い、また抽出溶媒としてエーテルを用いることにより比較的簡便な方法で、かつ機器の設備が十分でなくても測定が可能であると考えられた。また、通常投与量で得られる血中濃度域^{3,7-9)}における精度が十分であり、かつ測定限界が100ng/mlであることから、臨床応用上十分満足できる測定法であると考えられる。また、今回は血清1mlを用いたが、0.5mlの血清でも十分測定可能である。ただし、本法は内標準としてアミトリプチリンを用いているため、アミトリプチリンを服用中の症例においては本法は用いられないことに留意する必要がある。

一方、本法を用いて実際のアミオダロン服用患者における血中薬物濃度測定を行った。投与量に対するアミオダロンおよびデスエチルアミオダロンの血清中濃度の関係より、本剤は個体間変動の非常に大きい薬物であることが認められた。以上より、アミオダロンはTDMを行う必要のある薬

物であると考えられた。また、今後さらにアミオダロン服用患者のTDMを実施し、個体間の変動する要因について明らかにすることによって、個々の患者の最適な投与方法を確立する予定である。

引用文献

- 1) B. A. Weinberg, W. M. Miles, L. S. Klein, J. E. Bolander, R. E. Dusman, M. S. Stanton, J. J. Heger, C. Langefeld and D. P. Zipes, *Am. Heart J.*, **125**, 109-120 (1993).
- 2) D. W. Holt, G. T. Tucker, P. R. Jackson, and G. C. A. Storey, *Am. Heart J.*, **106**, 840-847 (1983).
- 3) M. D. Freedman and J. C. Somberg, *J. Clin. Pharmacol.*, **31**, 1061-1069 (1991).
- 4) N. D. Mostow, D. L. Noon, C. M. Myers, L. Rakita and J. L. Blumer, *J. Chromatogr.*, **227**, 229-237 (1983).
- 5) J. F. Brien, S. Jimmo and P. W. Armstrong, *Can.J.Physiol. Pharmacol.*, **61**, 245-248(1983).
- 6) M. A. Jandreski and W. E. Vanderslice, *Clin. Chem.*, **39**, 496-500 (1993).
- 7) A. T. Canada, L. J. Lesko, C. I. Haffajee, B. Johnson and G. K. Asdourian, *Drug Intell. Clin. Pharm.*, **17**, 100-104 (1983).
- 8) M. Staubli, J. Bircher, R. L. Galeazzi, H. Remund and H. Studer, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **24**, 485-494 (1983).
- 9) C. I. Haffajee, L. C. Love, A. T. Canada, L. J. Lesko, G. Asdourian and J. S. Alpert, *Circulation*, **67**, 1347-1355 (1983).