健常人における Mexazolam 経口投与後の生体内動態

長沼英夫* 山崎泰志*

山崎洋子* 川原幸則*

(受付: 1984年8月8日)

Pharmacokinetics in Man Following Oral Administration of Mexazolam

Hideo NAGANUMA* Yasushi YAMAZAKI*

Yoko YAMAZAKI* and Yukinori KAWAHARA*

* Product Development Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

A simple and sensitive method for quantifying 2-chlorophenyl-N-desmethyldiazepam (CND), which is the major metabolite in plasma after administration of mexazolam, has been developed using gas-liquid chromatography equipped with electron capture detector (GC-ECD). After extraction with benzene from 2 ml of plasma specimens, CND could be quantitated to a lower limit of 0.1 ng/ml. A single oral dose of mexazolam was administered to ten healthy subjects in order to reveal the pharmacokinetics of mexazolam. The time course of CND in plasma followed the equation of a two-compartment model with an appearance lag time. The mean peak plasma level, 6.80 ± 0.68 ng/ml, was attained at 2.01 ± 0.55 hours after administration of mexazolam, and the apparent elimination half life was 76.4 ± 6.35 hours. The speculated plasma CND profiles reached approximately 90% of the steady state levels on the 11th day after the initiation of repetitive doses of mexazolam. The calculated average plasma level at steady state, C_{ss} following the hypothetical dosage schedule (3 mg of mexazolam administered per day), was about 65 ng/ml.

Key words : mexazolam, CND, gas-liquid chromatography, plasma concentration, pharmacokinetics, repetitive oral administrations, steady state level

* 三共株式会社第一生産技術研究所
〒140 東京都品川区広町 1-2-58

はじめに

Mexazolam は当社開発の一連の benzodiazepin-oxazole 誘導体の 1 つであり, 他の minor-tranquilizer と比較して抗不安, 抗痙攣作用が有意に高い反面, これらに共通する副作用である筋弛緩作用が弱いことが報告されている¹⁾²⁾. Oxazolam を対照薬とした比較臨床試験でも mexazolam の有意な安全性と有効性が確認されている³⁾.

本剤のヒトにおける生体内動態については, 第 1 相臨床試験に際して吸収, 排泄ならびに代謝物の検討がなされている⁴⁾. ヒトに mexazolam 2~4 mg を経口投与したときの代謝経路を Fig. 1 に示す. Mexazolam 自身は消化管と肝臓における pre-systemic な first-pass effect によって, 速やかに代謝されるため血中には検出されていない. 一方, 血中には oxazole 環の開裂した薬理活性体, 2-chlorophenyl-N-desmethyldiazepam (CND) および 2-chlorophenyloxazepam (COX) が確認されているが, 後者は単回投与では測定限界以下であった.

今回, 我々は今後の臨床の場での動態研究や薬物モニタリングおよび mexazolam 製剤の生物学的同等性試験に応用可能な electron capture detector gas-chromatography (GC-ECD) 法による迅速かつ高感度な血中 CND 測定法を開発した. また, CND の血中半減期は 60~150 hr と長いにもかかわらず, mexazolam は通常の臨床用法では 1 日 1.5~3 mg を分 3 にて服用するとされているため, 長期間にわたる連用による体内への蓄積性を明らかにする必要がある. そこで, 10 名の健康成人に mexazolam 1 mg を 1 回経口投与後の体内動態について薬物速度論的検討を加え, これに基づき mexazolam 連用時の CND の血中動態の予測を行った.

試験方法

1. 被験者の選定

心電図, 血圧, 血液一般, 尿, 血液生化学および問診の各検査項目について正常であった健康成

Fig. 1 Metabolic pathway of mexazolam.

人男子 10 名を被験者として選定した. 被験者の平均年齢は 34.4 ± 2.2 歳, 平均体重は 63.2 ± 1.4 kg であった. なお, 被験者には本試験の目的, 方法および本剤の薬理作用など十分な説明を行い文書による同意を得た. また, 本試験に当たり試験 1 カ月前より本試験期間中, 睡眠剤ならびに他の minor-tranquilizer の服用を禁止した.

2. 被験薬物および試験スケジュール

試験前夜より絶食した被験者に mexazolam 1 mg 錠 (メレックス錠[®]) を 1 錠午前 9 時より 200 ml の水とともに服用させた. 被験者には服薬後 4 hr までは食事と飲み物の摂取を禁止した. 採血は第 1 相試験⁴⁾の際の血中 CND 濃度推移を参考として, 吸収相で 1 点以上, 消失相で 3 点以上を含むように服薬前および服薬後 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96, 168, 216, 336 hr に肘静脈より 5 ml ずつ行った. 血液は採血後ただちに 3000 r.p.m. にて 10 min 遠心分離し, 得られた血漿は定量に供するまで凍結保存した.

3. 血中 CND の定量方法

第 1 相試験で用いた GC-ECD 法を改良して行った. すなわち, 血漿 2 ml を共栓試験管に取り, 内部標準物質の N-desmethyldiazepam 20 ng を

添加した後各 6 ml の benzene で 2 回抽出, 得られた benzene 層を蒸発乾固した. 残渣に benzene 100 μ l を加えよく混和した後, その 2 μ l を gas-chromatography 装置に注入した. 検量線は服薬前の血漿 2 ml に最高 20 ng の既知量の CND を添加し, 前記の操作と同様に処理した. GC-ECD の諸条件を Tab. 1 に示した.

4. 薬物速度論的解析

i) 薬物速度論モデル

今回対象としたいいずれの被験者においても血漿中 CND は, 最高値到達以降その片対数値が 2 相性の減衰を示したことから, 血漿中への CND の出現遅れ時間, t_{lag} を想定した two-compartment model (Fig. 2) を採用し, 各被験者毎および平均血漿中濃度について解析した. 出現遅れ時間以後の血漿中 CND 濃度推移は, 次式によって表される.

$$C = C_1 e^{-\lambda_1(t-t_{lag})} + C_2 e^{-\lambda_2(t-t_{lag})} - (C_1 + C_2) e^{-k_m(t-t_{lag})}$$

$$C_1 = \frac{k_m F D (k_{21} \lambda_1)}{V_c (k_m - \lambda_1) (\lambda_2 - \lambda_1)} \quad C_2 = \frac{k_m F D (k_{21} \lambda_2)}{V_c (k_m - \lambda_2) (\lambda_1 - \lambda_2)}$$

.....(1)

ここで, C は薬物血漿中濃度, λ_1 および λ_2 は消失相の混成速度定数 ($\lambda_1 > \lambda_2$), k_m は mexazolam から CND の変換速度定数, k_{21} はコンパートメント間の移行速度定数, F は投与量 D のうち CND の生成に有効であった割合, V_c は central compartment の分布容積である. 曲線のあてはめ計算は, IBM 4341 に移植された非線形最小二乗プログラム NONLIN 1974 年版⁹⁾で行った. データの重みは, すべての測定点における誤差分散が等しいものとして, 等誤差重み付けを採用した.

ii) Mexazolam 連続投与後の血中 CND 濃度計算

Mexazolam を繰り返し投与した時の血中 CND 濃度推移を前項で求めた 1 回経口投与の解析値に基づいて計算した. 想定した投与計画は, Tab. 2 に示した 3 通りについてである. シミュレーションは(2)式で表される重ね合せの原理⁹⁾にて

Tab. 1 Gas Chromatographic Conditions for Determination of CND in Biological Fluid

Apparatus	: Hewlett-Packard Model 5730 A
Column	: 2% OV-225-GHP, 100-120 mesh (Hewlett-Packard) 3.0mm ϕ x 180cm
Column temperature	: 270°C
Detector temperature	: 300°C
Injection port temperature	: 300°C
Detector	: Electron captured detector (⁶³ Ni; 15 mCi)
Carrier gas	: 5% Argon in methane
Flow rate	: 30 ml/min

F : Fraction of dose D available for CND formation
 D : Mexazolam dose administered
 t_{lag} : Appearance lag time
 k_m : Rate constant for formation of CND
 k_{12} : Transfer rate constant from central to peripheral compartment
 k_{21} : Transfer rate constant from peripheral to central compartment
 k_{10} : Elimination rate constant from central compartment

Fig. 2 Two-compartment model used for pharmacokinetic analysis of CND in plasma.

Tab. 2 Hypothetical Dosage Schedules for Chronic Mexazolam Therapy

Schedule	dose/time	Daily times of administration	Time interval of administration
A	1.0 mg	3	8-8-8 hour
B	1.0	3	5-7-12
C	1.0	2	12-12

行った.

$$C_{(n)} = C_1 \sum_{i=1}^n e^{-\lambda_1(t-t_{lag}-T_i)} + C_2 \sum_{i=1}^n e^{-\lambda_2(t-t_{lag}-T_i)} - (C_1 + C_2) \sum_{i=1}^n e^{-k_m(t-t_{lag}-T_i)} \quad \text{.....(2)}$$

ここで, $C_{(n)}$ は mexazolam n 回連続投与後の血中 CND 濃度, T_i は投与開始から i 回投与までの投与間隔の総和を表す.

iii) 定常状態における血漿中濃度と到達時間 投与間隔が等しい投与スケジュール (A および

C) では、定常状態に達した時の最高、最低および平均血中 CND 濃度は、(3)~(5)式より算出できる。

$$C_{\max}^{ss} = \frac{C_1}{1 - e^{-\lambda_1 \tau}} e^{-\lambda_1 t_p} + \frac{C_2}{1 - e^{-\lambda_2 \tau}} e^{-\lambda_2 t_p} - \frac{(C_1 + C_2)}{1 - e^{-k_m \tau}} e^{-k_m t_p} \dots\dots\dots(3)$$

$$C_{\min}^{ss} = \frac{C_1}{1 - e^{-\lambda_1 \tau}} e^{-\lambda_1 \tau} + \frac{C_2}{1 - e^{-\lambda_2 \tau}} e^{-\lambda_2 \tau} - \frac{(C_1 + C_2)}{1 - e^{-k_m \tau}} e^{-k_m \tau} \dots\dots\dots(4)$$

$$C_{av}^{ss} = \left\{ \frac{C_1}{\lambda_1} + \frac{C_2}{\lambda_2} - \frac{(C_1 + C_2)}{k_m} \right\} \frac{1}{\tau} \dots\dots\dots(5)$$

Fig. 3 Gas-liquid chromatograms of human plasma extracts. Key : A, CND 5 ng/ml added plasma ; B, control plasma ; and C, plasma specimen after single-dose oral administration of 1 mg of mexazolam. ∇ , CND ; $\blacktriangledown$, N-desmethyldiazepam as internal standard

ここで、 t_p は定常状態における最高血中濃度到達時間、 τ は投与間隔を表す。

投与間隔が一定でないスケジュールBの場合は、これらの値はシミュレーションの計算値によった。また、定常状態の一定の割合、 f^{ss} にまで達するのに要する時間 t^{ss} は(6)式より求めた。

$$t^{ss} = \frac{-\ln(1-f^{ss})}{\lambda_2} \dots\dots\dots(6)$$

今回 f^{ss} は 90, 95 および 99%とした。

結 果

1. 血漿中 CND 定量方法

試験方法3で示した操作手順と gas-chromatography の条件で得られた CND を含むヒト血漿抽出物の gas-chromatogram の一例を Fig. 3 に示した。CND および内部標準物質の保持時間は、それぞれ 8.2 min., 5.9 min であった。Mexazolam 投与前の血漿に CND を添加して作成した標準曲線は、 $r=0.99$ で原点を通る良好な直線

Fig. 4 Typical calibration curve for the GC-ECD analysis of CND.

が得られた (Fig. 4). 本定量法の再現性は, Tab. 3 に示したように 2 水準の CND 濃度のいずれにおいても, 変動係数 3 % 以内であった.

2. Mexazolam 1 回経口投与後の体内動態

Mexazolam を 10 名の被験者に 1 回経口投与後の平均血漿中 CND 濃度推移を Fig. 5 に, また, two-compartment model による薬物速度論パラメータを Tab. 4 に示した. 最高血中濃度は投与後 2 hr に 6.80 ± 0.68 ng/ml であり, 個体別にみると, 最高値到達時間が 1.1~6.9 hr の範囲にあり, その時の血漿中 CND 濃度は 3.6~9.3 ng/ml であった. 最高値到達以降は, 2 相性で減衰しており, 速い部分 (λ_1 phase) の半減期は 1.41 hr, 遅い部分 (λ_2 phase) の半減期は 76.4 hr であった.

Tab. 3 Reproducibility of CND Assay by GC-ECD

Run No.	CND added in plasma expressed as peak height	
	10 ng/ml	5 ng/ml
1	9.70	4.75
2	9.89	4.95
3	10.09	4.66
4	10.28	4.85
5	9.99	4.95
Mean	9.98	4.83
± S.D.	0.20 (2.0%)	0.13 (2.6%)

Parenthesis express the coefficient of variance.

Fig. 5 Plasma concentrations of CND after oral administration of mexazolam (1 mg tablet) in healthy humans.

Each value was expressed in mean $\pm$ s.e. of 10 subjects.

Inset was the detail of plasma levels in the initial 24 hours.

Tab. 4 Pharmacokinetic Parameters of after a Single Oral Administration of Mexazolam in Healthy Humans
Mean $\pm$ S.E. of 10 subjects

Parameter	
λ_1	$0.490 \pm 0.097 \text{ hr}^{-1}$
λ_2	$0.0088 \pm 0.0011 \text{ hr}^{-1}$
k_m	$7.126 \pm 1.362 \text{ hr}^{-1}$
k_{12}	$0.170 \pm 0.052 \text{ hr}^{-1}$
k_{21}	$0.315 \pm 0.070 \text{ hr}^{-1}$
k_{10}	$0.0142 \pm 0.0018 \text{ hr}^{-1}$
V_d/F	$151.3 \pm 19.8 \text{ L}$
t_{lag}	$0.74 \pm 0.09 \text{ hour}$
C_{max}	$6.80 \pm 0.68 \text{ ng/ml}$
t_{max}	$2.01 \pm 0.55 \text{ hour}$
$t_{1/2}$	$76.4 \pm 6.35 \text{ hour}$
AUC_0^∞	$626.8 \pm 115.3 \text{ ng}\cdot\text{hr/ml}$

V_d : Apparent volume of distribution of λ_2 phase
 C_{max} : Peak plasma concentration of CND
 t_{max} : Time to reach peak plasma concentration
 $t_{1/2}$: Elimination half life of λ_2 phase
 AUC_0^∞ : Area under plasma concentration-time curve

た。AUC は被験者間で 325~1607 ng·hr/ml と大きく変動しており、その平均値は 627 ± 115 ng·hr/ml であった。みかけの分布容積 (V_d/F) は、 151 ± 20 L と体重の 2~3 倍であり 20 mg の oxazolam を経口投与した時の N-desmethyldiazepam の値とほぼ等しかった⁷⁾。

3. Mexazolam 連続投与時の血中 CND のシミュレーション

Mexazolam を 3 通りの異なる投与スケジュールに従って、3 週間にわたり連続的に服用した時の血中 CND 濃度推移を Fig. 6 に示した。各スケジュールの投与間隔の違いによって、日内の血中濃度推移は若干異なっていたが、長期的な推移は

Fig. 6 Plasma concentration of CND after repetitive oral administrations of mexazolam for three weeks in human.

スケジュール間で大きな差を認めなかった。定常状態における血漿中 CND 濃度、また、それに到達するまでの服用期間を Tab. 5 に記した。1 回 1 mg 1 日 3 回を服用した場合、定常状態における血漿中 CND 濃度の予測値は 65.6 ng/ml であった。また、mexazolam 連続投与後約 11 日目には定常状態の 90% に、14 日目には 95% にまで達するものと推察された。

Tab. 5 Steady State Plasma Concentrations of CND and Time Required to Reach Them after Repetitive Oral Administrations of Mexazolam in Healthy Human

Schedule	A	B	C
Dose/time	1.0mg	1.0mg	1.0mg
Daily times	3	3	2
Time interval	8-8-8hr	5-7-12hr	12-12hr
C_{max}^{ss}	69.1	70.1	47.6
C_{min}^{ss} ng/ml	62.4	61.1	40.8
C_{av}^{ss}	65.6	65.6	43.7
90 %	260.5 hr	(10.9 day)	
t^{ss} 95 %	338.9 hr	(14.1 day)	
99 %	520.9 hr	(21.7 day)	

C_{max}^{ss} : Peak steady state plasma concentration χ
 C_{min}^{ss} : Trough steady state plasma concentration χ
 C_{av}^{ss} : Average steady state plasma concentration χ
 t^{ss} : Time required to reach a certain per cent of steady state level

考 察

Benzodiazepine 系 minor-tranquilizer として開発された mexazolam は、薬理活性の点で diazepam, clobazepam 等の同系薬剤と比較してすぐれているため¹⁾、臨床における常用量も 1 日当たり 1.5~3 mg と低い用量で十分な効果が発現するとされている²⁾。これに伴って、mexazolam 投与時の薬理活性体 CND の血中濃度は、2 mg 1 回投与で高々 10 ng/ml とかなり低濃度で推移することが知られている³⁾。この時の血中濃度の測定は、GC-ECD 法によって行われたが、1 回投与では血中には検出されない未変化体や COX についても測定対象としていた点で前処理が煩雑であり、一検体当たりの分析時間も長いのが欠点であった。従って、今後の臨床の場での mexazolam の薬物モニタリングや製剤の生物学的同等性試験に際しては、感度、精度ともに良好でかつ操作性の簡便な生体試料中 CND の微量定量法の確

立が望まれていた。従来、生体試料中の benzodiazepine の測定法は、HPLC 法⁸⁾⁹⁾、GC 法¹⁰⁾¹¹⁾あるいは GC/MS 法¹²⁾等が一般的であるが、今回は上記の点も考慮して GC-ECD 法による CND 定量法を検討した。本定量法によれば 2 ml のヒト血漿を用いて 0.1 ng/ml までの測定が可能であり、一検体当たりの分析は 10 min 以内に完了する。これらは、感度ならびに再現性の点でも所期の目的を十分満足するものであった。

次いで、健常成人 10 名に 1 mg の mexazolam を経口投与後の血漿中 CND 濃度について検討した。CND の時間的推移は、血中への出現に遅れ時間を有する two-compartment model によって解析され、終末部分の消失半減期は 76.4 ± 6.4 hr、みかけの分布容積は 151 ± 20 L と体重の 2~3 倍の値であった。同じ benzodiazepinoxazole 骨格を有する oxazolam を健常成人に 20 mg 経口投与した時の CND に相当する血中主代謝物、N-des-methyldiazepam の消失半減期が 61.3 hr、みかけの分布容積が 3.34 L/kg 体重であり、体内動態の点で両薬剤は類似した性質であると考えられる⁷⁾。一般に minor-tranquilizer は、一時的な睡眠障害の改善や手術期の麻酔前投薬の目的で短期的に用いられることもあるが、精神科領域では多くの場合は比較的長期間にわたって連用されている。一方、これらの薬剤自身および生体内で変換した活性代謝物はヒトにおいてとりわけ体内からの消失が遅いものが多い。従って、連用するにつれて血中濃度は漸次増加し、これに伴う蓄積性が懸念される。Mexazolam を連用した時の CND および COX の血中動態については、すでに検討がなされているが⁴⁾、服薬期間が 5 日間と短かったことから血中 CND 濃度は上昇過程にあり長期間の投薬による定常状態下の pharmacokinetics に関する考察はなされていない。

Mexazolam 1 回投与の薬物動態値より、3 通りの投与方法を想定して 3 週間連用した時の血中 CND 濃度推移をシミュレーションした結果、定常状態のレベルは 1 日当たりの投与量によって異なるが、1 回 1 mg 1 日 3 回の服用により 65.6

ng/ml の平均血中濃度に到達し、全体的な推移は1日の中の服薬時間には依らないことが示唆された。第1相試験では、mexazolam 1回投与と連続投与とではCNDの血中半減期に有意な違いはみられなかった⁴⁾。また、Kaplanらは健常人にdiazepamを1日1回10mg 15日間にわたって連続投与したとき、血中の未変化体濃度推移は1回投与時の pharmacokinetic parameter よりシミュレーションした値と良く一致していたことから、diazepamの連用による予期しえない体内への蓄積や代謝酵素の誘導など体内動態に変化をもたらす現象は起こらないことを結論している¹³⁾¹⁴⁾。同様の知見は、chlordiazepoxide¹⁵⁾、flunitrazepam¹⁶⁾でも確認されている。従って、主要代謝物のCNDがこれらと構造的に類似したmexazolamも投与量に対して線形の体内動態を示すものと推察され、今回の予測値は概ね実際にmexazolamを連用した際のCNDの血中濃度推移を反映していると思われる。

文 献

- 1) 長谷川和雄, 石橋智恵子: CS-386の扁桃核刺激による後発射および行動におよぼす作用. 日薬理誌, 73: 287-295 (1977).
- 2) 増田 裕, 木村邦男, 山下和男ほか: CS-386の安全性試験—実験動物に対する急性, 亜急性ならびに慢性毒性試験. 三共研究年報, 30: 175-192 (1978).
- 3) 鈴木仁一, 並木正義, 梶巖ほか: 向精神薬Maxazolam (CS-386)の心身症, 神経症に対する臨床評価. 心身医学, 20: 301-316 (1980).
- 4) 比嘉康宏, 渡辺礼次郎: 抗不安薬CS-386の臨床薬理学的研究(第一相臨床試験). 診療と新薬, 16: 984-1000 (1979).
- 5) Metzler, C. M., Elfring, G. L. and McEwen, A. J.: A user's manual for NONLIN and associated programs. Up-john Co., Kalamazoo, Michigan, April 20, (1974).
- 6) Wagner, J. G.: Dosage regimen calculation. In Fundamentals of clinical pharmacokinetics, 1st ed., Drug Intelligence Publications, Hamilton, Illinois, pp. 129-172 (1975).
- 7) Naganuma, H. and Kawahara, Y.: Prediction of pharmacokinetic profiles of oxazolam following chronic oral dosage regimens in man. Ann. Rep. Sankyo Res. Lab., 34: 76-84 (1982).
- 8) Kabra, P. M., Stevens, G. L. and Marton, L. J.: High-pressure liquid chromatographic analysis of diazepam, oxazepam and N-desmethyldiazepam in human blood. J. Chromatogr., 150: 355-360 (1978).
- 9) Vree, T. B., Baar, A. M., Hekster, Y. A. et al.: Simultaneous determination of diazepam and its metabolites, N-desmethyldiazepam, oxydiazepam and oxazepam in plasma and urine of man and dog by mean of high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., 162: 605-614 (1979).
- 10) De Gier, J. J. and 't Hart, B. J.: Sensitive gas chromatographic method for the determination of diazepam and N-desmethyldiazepam in plasma. J. Chromatogr., 163: 304-309 (1979).
- 11) Weinfeld, R. E., Posmanter, H. N., Khoo, K. C. et al.: Rapid determination of diazepam and nordiazepam in plasma by electron capture gas-liquid chromatography. J. Chromatogr., 143: 581-595 (1977).
- 12) Higuchi, S., Urabe, H. and Shiobara, U.: Simple determination of lorazepam and oxazepam in biological fluids by gas-chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr., 164: 55-61 (1979).
- 13) Kaplan, S. A., Jack, M. L., Alexander, K. et al.: Pharmacokinetics profiles of diazepam in man following single intravenous and oral administrations. J. Pharm. Sci., 62: 1789-1796 (1973).
- 14) Eatman, F. B., Colburn, W. A., Boxenbaum, H. G. et al.: Pharmacokinetics of diazepam following multiple-dose oral administration to healthy human subjects. J. Pharmacokin. Biopharm., 5: 481-494 (1977).
- 15) Boxenbaum, H. G., Geintner, K. A., Jack, M. L. et al.: Pharmacokinetic and biopharmaceutical profile of chlor-diazepoxide HCl in healthy subjects-multiple-dose oral administration. J. Pharmacokin. Biopharm., 5: 25-39 (1977).
- 16) Boxenbaum, H. G., Posmanter, H. N., Macasieb, T. et al.: Pharmacokinetics of flunitrazepam following single and multiple-dose oral administration to healthy human subjects. J. Pharmacokin. Biopharm., 6: 283-293 (1978).