薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
102 (12) 1162—1170 (1982)

固形製剤の処方設計における Bioavailability の評価に関する研究 (第 5 報¹⁾)
ビスベンチアミン実験錠の Bioavailability に及ぼす食事の影響
ならびにその生理的, 製剤的要因との関連²⁾

溝辺雅一,* 河野啓一
田辺製薬, 製品研究所

Studies on the Evaluation of Bioavailability of Oral Solid Formulation. V.¹⁾
Effects of Diets on the Bioavailability of Bisbentiamine Experimental
Tablets and Their Relation to Physiological
and Formulation Factors²⁾

MASAKAZU MIZOBE* and KEIICHI KOHNO
Products Formulation Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.,
16-89, Kashima 3-chome, Yodogawa-ku, Osaka

(Received June 3, 1982)

Effects of diet intake on the bioavailability of experimental tablets and suspension containing bisbentiamine, a lipophylic thiamine prodrug with pH-dependent solubility, were systematically investigated by measuring urinary thiamine excretion in man. A standard breakfast as well as high carbohydrate, high protein and high fat meals were given at fixed time of 9:00 A.M., and the dosing time of bisbentiamine varied in relation to the breakfast time otherwise specified.

Approximately in common with the two dosage forms, the extent and the rate of bioavailability decreased significantly on preprandial administration and also tended to decrease in postprandial conditions as compared to that of between meals and fasted conditions. The high protein diet decreased greatly and the high fat meal increased slightly the bioavailability. A decrease in the bioavailability was not always accompanied with the delay in gastric emptying in postprandial conditions estimated by maximum urinary excretion time. Good correlations were found between bioavailability and the gastric acidity determined by concomitant administration of commercial diagnostic agent for gastric secretion. Extreme inter-individual variation was noted in the bioavailability of tablets administered in fasted conditions, though situation was greatly different with formulation of tablets.

On the basis of the above findings, possible interaction of pharmaceutical and physiological factors affecting bioavailability of bisbentiamine are discussed.

Keywords—bisbentiamine; bioavailability; effect of diet; effect of dosing time; physiological factor; formulation factor; gastric acidity

チアミン誘導体 bisbentiamine は酸性で易溶, 中性 pH で難溶な pH-溶解度プロフィールをもち, 溶解律速型の吸収を示す薬物である。著者らはこれ迄に製剤処方系列が異なる十数種の実験錠を作成して, 処方や溶出特性などの製剤的要因と bioavailability との相関を検討して来た^{1,3-5)} この薬物は *in vivo* での溶解部位がほとんど胃内に限定される^{1,5)} ことから, 被験者に固有の, あるいは投与条件により変化する生体側の要因によって bioavailability が左右される可能性が大きい。そこで本報では胃酸度, 胃内容物の排出速度 (GER), 消化液の分泌, 門脈系血流量などの主要な生理的要因^{6,7)} に最大の影響を与える外的条件として, 食事の摂取条件と bioavailability の関係を検討した。ヒト尿中チアミン排泄動態を指標として食前, 食後, 食間, 絶食時, 早朝, 夕刻など種々の投与条件下で bioavailability を評価し, 生体側の要因と製剤的要因の相互関係を追究した結果, 若干の興味ある知見を得たと考えるので報告する。

実 験 の 部

1. 製剤 1) 第1報³⁾と同じ bisbentiamine 実験錠 L2 および C2 錠を用いた。いずれも1錠重量 300 mg 中に主薬 100 mg を含み、それぞれ乳糖顆粒あるいはクエン酸 Ca を主賦形薬とする径 9 mm, 厚さ 3.9 mm, 硬度 6 および 10 kg/cm² の裸錠である。

2) 標準剤形としては同様に主薬 100 mg を 30 ml の水に浮遊させた水懸濁液を使用した。なお, bisbentiamine の平均粒子径は 10 μ m 以下であった。

2. 被験者 医師による定期健康診断によって異常のないことが確認された8名の成人男子志願者(年齢 24—39 才, 体重 55—72 kg) が試験の目的, 計画, 手順を熟知した上で試験に参加した。

3. 服用条件 特に断わらない限り, 製剤の服用時刻を午前9時とし, その前後の所定の時間(2時間前—2時間後)に下記の食事のいずれかを摂取した。錠剤および懸濁液は 100 ml の水で, 投与した。服用後2時間は飲食物の摂取を禁じ, また昼食は服用 3.5 時間後にとるようにした。

4. 食事の組成 下記 a—d の食事内容とした。b—d は現実的ではないが実験上のモデル食として設定した。

a. 軽食: パン 160 g, 牛乳 180 ml.

b. 高でんぷん食: 米飯 200 g, 漬物, 塩こぶ少量。

c. 高たんぱく食: ゆで卵 1 個, ビーフステーキ 150 g, チーズ 30 g.

d. 高脂肪食: パン 25 g, バター 50 g, たまねぎフライ 100 g.

5. 採尿および尿中チアミン排泄量の測定 前報¹⁾に準じ, 服用後3時間迄は 0.5 時間間隔, それ以後は 4, 6, 8, 24 時間の各時点で総量を採尿し, それぞれにつきチオクローム法⁸⁾により尿中チアミン量を測定した。なお 24 時間総排泄量 (E_{24h}), 排泄ピーク時間 (T_{max}) およびピーク排泄速度 (E_{max}) の各パラメータはそれぞれ各被験者ごとに実測値を求め, 平均値±標準偏差によって示した。ただし投与時刻の関係で経時的な採尿のできない夜間の実験では, 随時蓄尿して E_{24h} を測定した。また下記ガストロテスト錠を併用して被験者の胃酸度を推定した場合には, 尿中チアミンの測定に際しパームチャットカラム⁸⁾への吸脱着操作を挿入した。

6. 胃酸度の測定 市販のガストロテスト(中外製薬)の黄色錠3錠を投与して, 1.5 時間迄の尿を集め, 添付の比色図より酸度を判定し, 併せて 500 nm の吸光度を測定して定量的に表現した。

実 験 結 果

1. 胃酸度と Bisbentiamine の Bioavailability

Bisbentiamine 100 mg を含む錠剤 (L2) または懸濁液を, 市販の胃酸度測定錠と共にいくつかの条件下で

Fig. 1. Comparison of Urinary Excretion Rates following Administration of Bisbentiamine to Normal- and Hypoacidic Subjects

○: means of hypoacidic subjects ($n=3$),
●: means of normal subjects ($n=5$).
Bars denote the standard errors.

Fig. 2. Changes in Estimated Gastric Acidity and Cumulative Urinary Excretion in Pre- and Postprandial Conditions

○: 2 h after standard meal (bread and milk).
●: immediately after high carbohydrate meal.
Arrows indicate the changes in a same subject.

6—8名の被験者に投与し、尿中チアミン排泄量を指標として bisbentiamine の bioavailability を評価した。まず8名の被験者を胃酸度により低酸と正酸に層別化したときの平均尿中排泄パターンを Fig. 1 に示す。排泄パターンは胃酸度により明らかに異なると推定された。次に Fig. 2 に示すように同一の被験者6名において食間と食後と比較すると、食事の摂取により胃酸度が低下し、それと連動して E_{24h} が減少することが認められた。

Fig. 3 にはすべての検討例を一括して、 T_{max} 、 E_{max} および E_{24h} の各パラメーターと胃酸度との対応関係を示した。被験者、剤形、食事の内容、服用時刻などが若干異なっているが、全体として胃酸度と bioavailability パラメーターの間には良好な相関関係が成立した。

2. 食事の種類と Bisbentiamine の Bioavailability

4種の異なったモデル食と同時に懸濁液または L2 錠をチェンジオーバー投与し bioavailability を測定した。

Fig. 3. Relationship between Estimated Gastric Acidity and Bioavailability Parameters

- : administered suspension at 2 h after standard meal.
- ▲: administered tablet L2 at 2 h after standard meal.
- : administered suspension immediately after high carbohydrate meal.

Fig. 4. Urinary Excretion Rates following Administration of Bisbentiamine concomitantly with Different Diets

- : bread and milk,
 - △: high fat diet,
 - : high carbohydrate diet,
 - : high protein diet.
- Each point represents the mean of six subjects.

TABLE I. Effects on the Bioavailability of Bisbentiamine of the Component of Diet

Formulation	Diet component ^{a)}	Bioavailability parameter ^{b)}		
		$T_{\max}$ (h) ^{c)}	$E_{\max}$ (mg/0.5h) ^{d)}	E_{24h} (mg) ^{e)}
Suspension	High carbohydrate	2.7±0.4	1.0±0.1	8.6±1.7
	High protein	2.1±0.7	0.6±0.1	7.2±1.2
	High fat	2.4±0.2	1.6±0.3	14.2±1.5
	Bread and milk	2.8±0.4	1.3±0.3	11.6±2.3
Tablet L 2	High carbohydrate	2.5±0.6	1.4±0.3	12.4±2.5
	High protein	2.1±0.5	0.7±0.3	6.9±2.5
	High fat	1.8±0.5	1.7±0.5	16.4±2.6
	Bread and milk	2.9±0.6	1.1±0.3	9.5±3.0

a) Drug was simultaneously administered with meal.

b) Each formulation equivalent to 100 mg bisbentiamine was administered to 6 volunteers and the bioavailability was evaluated from urinary thiamine excretion.

c) The time to reach the maximum excretion rate.

d) The maximum excretion rate.

e) Cumulative amount excreted for 24h.

TABLE II. Effect of High Protein Diet on the Bioavailability of Bisbentiamine

	E_{24h} (mg)	% bioavailability ^{a)}
With meal	7.2±1.2	52.9
After 10 min	7.1±1.0	52.2
After 60 min	10.0±1.1	73.3
After 120 min	11.8±1.6	86.6

a) % availability is expressed by the ratio to E_{24h} in fasted condition.

TABLE III. Effects of Dosing Condition on the Bioavailability of Bisbentiamine

Formulation	Dosing condition ^{a)}	Bioavailability parameter ^{b)}		
		$T_{\max}$ (h)	$E_{\max}$ (mg/0.5h)	E_{24h} (mg)
Suspension	Fast	1.0±0	1.8±0.4	14.0±3.3
	1 h before meal	1.3±0.3	1.8±0.6	13.6±3.1
	10 min before meal	1.6±0.9	1.0±0.3	9.3±2.5
	With meal	2.7±0.4	1.1±0.3	10.8±3.4
	10 min after meal	3.0±0.6	1.4±0.3	14.4±2.7
	2 h after meal	1.7±0.8	1.7±0.5	15.2±3.5
Tablet L 2	Fast	1.8±0.5	1.3±0.9	10.2±6.8
	1 h before meal	1.4±0.4	1.4±0.6	10.4±4.7
	10 min before meal	1.5±0.5	0.6±0.5	5.5±3.4
	With meal	2.9±0.6	1.1±0.3	9.5±3.0
	10 min after meal	2.5±0.8	1.1±0.5	10.0±4.0
	2 h after meal	2.1±1.2	1.6±0.4	13.9±1.3

a) Dosing time was fixed at 9:00 A.M. and the meal (bread and milk) time was changed.

b) Same abbreviations were used as in Table I.

各6例平均の結果を Fig. 4, Table I に示す. 両剤形にはほぼ共通した食事組成の影響が観察された. すなわち, パンと牛乳の軽食を標準としたとき, 高たんぱく食は E_{24h} , $E_{\max}$ の低下が著しく, 錠剤の場合推計学的有意差は必ずしも明確でなかったが, 懸濁液では $p<0.01$ の有意差を示した. 一方, 高脂肪食では両剤形とも逆に bioavailability が増大する傾向が認められた ($p<0.1-0.01$).

もっとも大きな影響がみられた高たんぱく食につき, 時間的な影響を検討した. 食事と同時に, 食後10分, 食後1および2時間の各時点で懸濁液を投与したときの E_{24h} を Table II に示す. 食事の時刻と投薬時間の間隔が

延びるに従い E_{24h} は徐々に回復したが、完全な回復には高たんぱく食摂取後少なくとも2時間を要すると推定された。

3. 食事と投薬の時間間隔と Bisbentiamine の Bioavailability

Bisbentiamine の bioavailability は食事の摂取で速度、量共に変化し、また時間的にも変り得ることが明らかになったので、次に現実的な観点から食事の内容を標準朝食（パンと牛乳）に固定してさらに詳しく検討した。午前7時の朝食を基準として次の6条件下に懸濁液と L2 錠を投与し bioavailability を測定した結果を Fig. 5, Table III に示す。

- 1) 1夜絶食状態, 2) 食前1時間, 3) 食前10分, 4) 食事と同時に, 5) 食後10分, 6) 食間（食後2時間）。

Fig. 5. Urinary Excretion Rates following Administration of Bisbentiamine in Different Dosing and Meal Intervals

●: fast, ○: 1 h before standard breakfast, □: before 10 min,
■: with meal, △: after 10 min, ▲: after 2 h.
Each point represents the mean of six subjects.

Fig. 6. Changes in Bioavailability Parameters by Dosing and Meal Intervals

△: E_{24h} , ○: E_{max} , ●: T_{max} .
Each point represents the mean of six subjects.

軽食の場合にも絶食時と比較して食事条件の影響が認められ、両剤形に共通して食間の投与が平均的に高い bioavailability を与えた。食事に対する相対的な投与時間と bioavailability パラメータ（平均値）との関係を Fig. 6 に示したように、錠剤、懸濁液ともに食前 10 分の投与で $E_{\max}$ と E_{24h} の低下が著しかった。 $T_{\max}$ はこれとやや異なり、食事と同時に、あるいは食後 10 分の投与でもっとも大きく変化した。すなわち食事に対して投薬時間を変えて行くと、食前投与では $T_{\max}$ の延長を伴わずに $E_{\max}$ と E_{24h} が低下し、食後 $T_{\max}$ が延長し始めた時点で $E_{\max}$ と E_{24h} が回復し始めることになる。

$E_{\max}$, $T_{\max}$, E_{24h} の相互の関係はすべての個別データをプールして Table IV のようになった。 $E_{\max}$ と E_{24h} の相関および $T_{\max}$ と $E_{\max}$ の逆相関が推定されたが、 $T_{\max}$ と E_{24h} の間には特別の関係は認められなかった。ただし食前 10 分と食後 10 分に限定すると、Fig. 7 のように食事の前後ではほとんど例外なく $T_{\max}$ と E_{24h} が連動して動くことがわかった。

個人間のばらつきを変動係数で Fig. 8 に示した。*In vivo* での崩壊過程を伴う錠剤において $E_{\max}$, E_{24h} とともに概して変動係数が大きく、特に絶食時と食前 10 分の投与で著しい個人差が認められた。

4. 空腹状態での Bioavailability と製剤処方

以上の実験ではすべて午前 9 時に bisbentiamine を投与したが、さらに服用時刻を変えて 2, 3 の検討を加えた。絶食条件下での大きな bioavailability の変動に着目して、起床直後（午前 7 時）と夕刻の空腹時（午後

TABLE IV. Correlation among Bioavailability Parameters for Suspension and Tablets

	$n^a)$	Coefficient of correlation ^{b)}	
		Suspension	Tablet
$T_{\max}$ — $E_{\max}$	36	-0.506**	-0.308†
$T_{\max}$ — E_{24h}	36	-0.084	-0.039
$E_{\max}$ — E_{24h}	36	0.725**	0.904**

a) Number of the paired data.

b) † $p < 0.10$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Fig. 7. Changes in E_{24h} and $T_{\max}$ following Administration of Bisbentiamine before and after 10 min of Standard Breakfast

○: administered 10 min before standard meal (bread and milk).
●: administered 10 min after the same meal.
Arrows indicate the changes in a same subject.

Fig. 8. Coefficients of Variation of Bioavailability Parameters in Different Dosing Condition

F: fast, B: 1 h before standard breakfast, B': before 10 min,
W: with meal, A': after 10 min, A: after 2 h.
□: suspension, ■: tablets.

TABLE V. Effect of Co-administration of Calcium Citrate on the Bioavailability of Bisbentiamine

	Bioavailability parameter		
	T_{max} (h)	E_{max} (mg/0.5h)	E_{24h} (mg)
With calcium citrate ^{a)}	1.5 ± 0.4	1.7 ± 0.4	13.5 ± 2.1
Alone	1.4 ± 0.2	2.0 ± 0.7	14.8 ± 2.5

a) 100 mg calcium citrate was co-administered.

Fig. 9. Comparison of Bioavailability and Variation of Two Experimental Tablets administered at Different Times in Fasting Condition

Horizontal bars denote the averages.

考 察

薬剤の bioavailability に及ぼす食事の影響は複雑で、薬剤の物性、剤形、食事の種類、併用水量などによっても異なるとされている。⁹⁾ 原則として食事は薬剤の吸収を阻害すると考えられるが、¹⁰⁾ 逆の場合も多く、¹¹⁾ 例え

5時)にL2錠を投与した。またあわせて製剤処方の影響を検討するため、前報³⁾で平均して高い bioavailability を与えた C2 錠についても実験した。安定した bioavailability を示す軽食2時間後の成績と対比してそれらの結果を Fig. 9 に示す。

乳糖顆粒を主賦形剤とする L2 錠は標準条件下で安定した E_{24h} を与えるものの、早朝、夕刻いずれの投与条件下でも著しく低い bioavailability を示す被験者があった。一方、クエン酸 Ca を主賦形剤とする C2 錠は同じ空腹条件下でほとんど吸収効率が低下せず、個人差も明らかに小さかった。なお両製剤の溶出特性や含量均一性には特別の差は認められなかった。

試みにクエン酸 Ca と bisbentiamine を粉末の形で混合投与した結果、Table V に示すように少なくともクエン酸 Ca が bisbentiamine の吸収が促進するとの成績は得られなかった。

ばエリスロマイシン,¹²⁾ テトラサイクリン,¹³⁾ アンピシリン,¹⁴⁾ リファンピシリン,¹⁵⁾ アスピリン,¹⁶⁾ レボドパ¹⁷⁾などは bioavailability の量あるいは速度が低下し、グリセオフルビン,¹⁸⁾ リボフラビン,¹⁹⁾ プロプラノロール,²⁰⁾ フェニトイン²¹⁾ では吸収の増大が観察されている。ある種の抗生物質²²⁾を除き、食事に対する薬剤の投与時刻を詳しく検討した報告は少ないが、今回の著者らの実験ではいくつかの食餌組成と2種類の剤形で、食事一投薬の時間間隔に応じほぼ共通の規則性をもって bisbentiamine の bioavailability が変化することが見出された。これ迄の諸知見とあわせていくつかの bioavailability 影響要因の交絡が推定される。

まず食事の摂取による bisbentiamine の bioavailability の低下は、胃酸度の低下が主な原因であると推定された。このことは本薬物の pH-溶解度プロファイル³⁾および *in vivo* での溶解部位特異性¹⁾と矛盾なく対応している。特殊なモデル食として用いた高たんぱく食と高脂肪食の場合、胃酸度は検討しなかったが、高たんぱく食で胃酸が中和されることは予想されるところであり、一方高脂肪食の場合には別個の機作が考えられる。この場合恐らくグリセオフルビン^{18b)}やトコフェロール誘導体²³⁾で考えられているのと同様、胆汁酸の分泌促進を介し小腸での可溶化が促進されたものと考えられる。なお、ラット小腸の灌流実験でグリコール酸が bisbentiamine の吸収を促進することは先に報告した。²⁴⁾

3つの bioavailability パラメーターのうち、アセトアミノフェンで実証されているように、²⁵⁾ T_{max} は GER と逆比例すると考えられる。従って bisbentiamine の場合 Table IV のように T_{max} と E_{max} の間に逆相関が推定されたことは、多くの薬物で考えられているのと同様、食事の摂取で低下した GER のため bisbentiamine の小腸への移送が遅れ吸収速度が低下すると解釈される。一方、食後よりもむしろ食前の投薬で、 T_{max} と無関係に E_{24h} および E_{max} が低下したことは (Fig. 6) こうした常識的な GER との関係では説明できない。食前10分と食後10分を対比する限り、むしろ T_{max} と E_{24h} の間に正方向の対応関係がみられたことから (Fig. 7)、食後には GER が低下して bisbentiamine の胃内滞留時間が延び、逆に *in vivo* での溶出が促進されている可能性が高い。抗コリン剤の併用で人為的に GER を遅らせた場合、ジゴキシンのような難溶性薬物で bioavailability が増加する²⁶⁾といわれていることもこうした推論を支持するものと思われる。

Bioavailability の個人差に関し、食前10分および絶食時の投与で L2 錠の E_{max} と E_{24h} が大きなばらつきを示したことは注目される。その原因は胃酸度の個人差もさることながら上述のような bisbentiamine の胃内滞留時間との関連で解釈されよう。即ち今回の実験で用いたパンと牛乳の軽食は、液状食の GER と同程度に速やかに胃から排出されると予想されるので、その直前に投与された崩壊済みの錠剤が完全に溶出しきらないうちに小腸へ押し出されるのではないかと考えられる。また、絶食条件下では、併用した水 100 ml の GER は極めて速いと考えられるので崩壊の速い素錠が同様に溶解不十分のまま幽門を通過するとして説明できる。なお、bisbentiamine が小腸でほとんど溶解しないと考えてよいことは前報⁵⁾で報告した。

いずれにせよ以上により、bisbentiamine の bioavailability は製剤的要因よりもむしろ胃酸度や GER のような生理的要因の影響を受け、しかも主薬の物性と密接な関連を示すことが推定される。一方、事例研究の域を出ないものの L2 錠と処方異なる C2 錠において、早朝、夕刻の空腹時にもほとんど bioavailability が低下しなかったことは製剤処方の重要性を示唆しており興味深い。ただし、賦形薬の直接の影響ではないと推定されたものの両製剤の違いの原因を明らかにすることは出来なかった。この C 系列の錠剤が *in vivo-in vitro* の相関に関し L 系列のそれと異なった回帰直線を与える³⁾ことと何らかの関係があるのかも知れない。

一般に bioavailability の評価は絶食状態での投薬が普通であるが、²⁷⁾ 以上の bisbentiamine の例からもわかるように空腹状態での試験には2つの側面があると考えられる。製剤的要因の検出に好都合な反面、主薬の性質によっては大きなばらつきを生じ、例えば生物学的同等性の試験では非現実的な多数の被験者を必要とすることが起こり得るであろう。最近、江島ら²⁸⁾は被験者の胃酸度といくつかの市販製剤の溶出特性が bioavailability に及ぼす影響を検討し、胃酸度の個人差の重要性を指摘している。胃酸度には日間変動が知られており、²⁹⁾ また、絶食一食後の変化にもかなり個人差が大きい。³⁰⁾ Bioavailability の評価においてはこれらの諸要因を考慮し、評価の目的と主薬の物性に適応した条件を設定する必要があると思われる。

なお、実験錠の bioavailability と胃酸度の相関関係を利用すれば、安全度の高い簡易な胃酸度の推定用に bisbentiamine 実験錠を代用し得る可能性があると思われるが、この点についてはさらに多くのデータが必要であろう。

謝辞 本研究にご協力を賜った竹内由和博士, 掛見正郎博士, 垣江喜明博士, 高田 功博士, 三浦 博, 村田一夫の諸氏ならびに関係各位に深謝する。

引用文献および注

- 1) 第4報: 溝辺雅一, 江藤 晃, 竹内由和, 掛見正郎, 河野啓一, 薬剤学, 受理.
- 2) 日本薬学会第93年々会, 東京, 1973年4月.
- 3) 河野啓一, 溝辺雅一, 野田和夫, 竹内由和, 掛見正郎, 薬剤学, **42**, 294 (1982).
- 4) 溝辺雅一, 竹内由和, 河野啓一, 薬剤学, **42**, 306 (1982).
- 5) 溝辺雅一, 河野啓一, 薬剤学, **42**, 314 (1982).
- 6) M. Mayersohn, "Principles and Perspectives in Drug Bioavailability," J. Blanchard *et al.* eds., Karger, 1979, p. 211.
- 7) D. Toothaker, P.G. Welling, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **20**, 173 (1980).
- 8) 佐橋佳一編, "ビタミン学," 金原出版, 東京, 1956.
- 9) a) P.G. Welling, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **5**, 291 (1977); b) J. Koch-Weser, *New Eng. J. Med.*, **291**, 233 (1974).
- 10) a) J.G. Wagner, *Drug Inform. Bull.*, **3**, 45 (1969); b) W.S. Nimmo, *Clin. Pharmacokinet.*, **1**, 189 (1976).
- 11) A. Melander, *Clin. Pharmacokinet.*, **3**, 337 (1978).
- 12) L.E. Josselin, J.C. Sylvester, *Antibiot. Chemother.*, **3**, 63 (1952).
- 13) a) W.M. Kirby, C.E. Roberts, R.E. Burdeck, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1961, 286; b) P.G. Welling, P.A. Koch, C.C. Lau, W.A. Craig, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **11**, 462 (1977).
- 14) P.G. Welling, H. Haung, P.A. Koch, W.A. Craig, O. Madsen, *J. Pharm. Sci.*, **66**, 549 (1977).
- 15) D.I. Fiegler, M. Dryant, D.M. Burley, K.M. Citron, S.M. Standen, *Lancet*, **2**, 197 (1974).
- 16) a) J.H. Wood, *Lancet*, **2**, 212 (1967); b) G.N. Volans, *Brit. J. Clin. Pharmacol.*, **1**, 137 (1974).
- 17) J.R. Bianchine, L.R. Calimlin, J.P. Morgan, C.A. Dujuvne, L. Lasagna, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **179**, 126 (1971).
- 18) a) R.G. Crounse, *J. Invest. Dermatol.*, **37**, 529 (1961); b) P. Kabasakalian, M. Katz, B. Rosenkrantz, E. Townley, *J. Pharm. Sci.*, **59**, 595 (1970).
- 19) G. Levy, W.J. Jusko, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 285 (1966).
- 20) A. Melander, K. Danielson, B. Schersten, E. Wahlin, *Clin. Pharmacol. Therap.*, **22**, 108 (1977).
- 21) a) A. Melander, G. Brante, O. Johansson, T. Lindberg, E. Wahlin, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **15**, 269 (1979); b) H. Sekikawa, M. Nakano, M. Takada, T. Arita, *Chem. Pharm. Bull.*, **28**, 2443 (1980).
- 22) G.A. Cronk, W.B. Wheatley, G.F. Fellers, H. Albright, *Am. J. Med. Sci.*, **240**, 219 (1960).
- 23) J. Hasegawa, Y. Tomono, T. Fujita, K. Sugiyama, K. Hamamura, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **19**, 216 (1981).
- 24) I. Ustumi, K. Kohno, Y. Takeuchi, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 676 (1974).
- 25) a) R.C. Heading, J. Nimmo, L.F. Prescott, P. Tothill, *Brit. J. Pharmacol.*, **47**, 415 (1973); b) J.A. Clements, R.C. Heading, W.S. Nimmo, L.F. Prescott, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **24**, 420 (1978).
- 26) V. Manninen, A. Apajalahti, J. Melin, M. Karesoja, *Lancet*, **1**, 398 (1973).
- 27) Am. Pharm. Assoc., Guidelines for Biopharmaceutical Studies in Man, 1972.
- 28) a) 鹿庭なほ子, 緒方宏泰, 青柳伸男, 鯉淵昌信, 柴崎利雄, 江島 昭, 第12回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム, 金沢, 1980年10月, p. 54; b) 江島 昭, 第2回日本臨床薬理学会, 千葉, 1981年12月, p. 3; c) H. Ogata, N. Aoyagi, N. Kaniwa, M. Koibuchi, T. Shibazaki, A. Ejima, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **20**, 166 (1982).
- 29) J.G. Moore, E. Englert, *Nature (London)*, **226**, 1261 (1970).
- 30) 飯沼竜一, 遠山富也, 薬剤学, **21**, 48 (1961).