薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
113 (10) 698-704 (1993)

家兎十二指腸内及び直腸内投与時のサルブタモールの 吸収と初回通過効果

黒澤菜穂子, 大和田栄治,* 伊藤圭二
北海道薬科大学

Absorption and First-Pass-Effect of Salbutamol after Intraduodenal and Intrarectal Administration in Rabbits

Nahoko KUROSAWA, Eiji OWADA,* and Keiji ITO
Hokkaido Institute of Pharmaceutical Sciences, 7-1 Katsuraoka-
cho, Otaru, Hokkaido 047-02, Japan

(Received May 10, 1993)

To understand the previous result of higher bioavailability of rectal salbutamol (SB) compared with oral SB, *in situ* experiments using rabbit duodenal and rectal loop were carried out.

After the intravenous (i.v.) and intraportal (i.p.) dosing of SB, fraction of dose which avoids the hepatic first-pass-effect (F_h) was calculated from the areas under the blood concentration-time curve (AUC). The F_h was about 10% and unchanged significantly with increasing i.p. dose (5–20 mg).

Intraduodenal (i.d.) or intrarectal (i.r.) dosing of SB was made after the i.v. and i.p. dosing, and the AUC 's and the residual amount in the loop were obtained to estimate the parameters. The results of the i.d. and i.r. dosing were as follows; for the extent of bioavailability (EBA), $7.7 \pm 1.5\%$ and $14.5 \pm 2.3\%$, for the fraction of dose absorbed (f_a), $93.9 \pm 3.7\%$ and $33.8 \pm 3.3\%$, and for the fraction of absorbed SB which avoids first-pass-effects (F), $8.4 \pm 1.9\%$ and $43.0 \pm 6.0\%$ (mean $\pm$ S. E., $n=4$).

Consequently, SB dosed i.d. was absorbed completely, and received first-pass-metabolism in the mucosa (about 20%) and then in the liver (about 90%), which caused the low bioavailability. While, in i.r. dosing, SB absorption was poor. However, higher bioavailability was obtained owing to about 40% of rectal venous blood flow which bypasses the liver and negligible first-pass-metabolism in the mucosa (about 4%).

Keywords—salbutamol; absorption; first-pass-effect; intrarectal administration; intraduodenal administration; rabbit

緒 言

我々は喘息発作の治療を目的としたサルブタモール (SB) 直腸投与製剤の開発をめざし, SB 直腸投与に関する基礎的検討を行ってきた. 前報¹⁾においては, 家兎に SB を直腸及び経口投与し, SB 未変化体とそのグルクロン酸抱合体 (SBG)²⁾ の血中濃度及び尿中排泄から, それら投与経路のバイオアベイラビリティについて比較した. その結果, 直腸投与は経口投与に比べ吸収率が低いにもかかわらず比較的高いバイオアベイラビリティを与え, それは主として初回通過効果の違いによることが示唆された. しかし, 家兎では SB のグルクロン酸抱合は肝だけでなく消化管粘膜でも起こる

と推察される³⁾こと、また吸収率に関する正確な数値も得られなかったことから、これら投与経路における初回通過効果の実態について明らかにすることはできなかった。

従来、経口投与時の初回通過効果において、粘膜代謝と肝代謝の寄与を定量的に推定した報告⁴⁾は少ない。さらに、直腸投与時の初回通過効果に関しては、粘膜代謝の無視しうるリドカインのような薬物について定量的解析が行われているにすぎない。⁵⁾SBは肝のみならず粘膜代謝による初回通過効果を受ける可能性もあり、このような薬物の経口及び直腸投与時のそれらの寄与の割合を比較することは、投与経路によるバイオアベイラビリティの差を理解する上で重要となる。

今回、このような目的で、同一家兎にSBの静脈内、門脈内、十二指腸内又は直腸内投与を行い、各投与経路における血中濃度曲線下面積(AUC)と吸収率から十二指腸内及び直腸内投与時の粘膜内及び肝初回通過効果回避率について算出を試み、比較検討したので報告する。

実 験 の 部

薬物及び試薬 硫酸SBはChemische Fabrik Schweizerhall (Basel, Switzerland)から購入し、硫酸テルブタリンは藤沢薬品工業株式会社より提供を受けた。また、SB定量分析にはHPLC用試薬を使用した。

動物実験 1) 静脈内及び門脈内投与実験(実験1)——日本白色雄性家兎(体重3.5—4.0 kg)12匹を用い、静脈内投与(SBとして10 mg)を行い、その後2週間以上の休薬期間において、1群4匹に分け、各群に異なった投与量の門脈内投与を行った。静脈内投与は家兎を背位に固定し耳静脈に輸注ポンプ(アトム株式会社、東京)を用いてSBとして10 mgを注射用生理食塩水10 mlに溶解し、30分間で定速注入した。門脈内投与は、家兎を背位に固定後エーテル麻酔下開腹し、門脈内にカニューレ(ポリエチレンチューブ外径1 mm)を挿入し静脈内投与と同様に調製した薬液(SBとして5, 10, 又は20 mg)を輸注ポンプを用いて30分間で定速注入した。採血は静脈内投与においては注入開始後5.5時間まで、また、門脈内投与においては注入開始後5時間まで経時的に耳静脈より2 mlずつ行い、採取した血液は直ちにヘパリン存在下遠心分離(5000 g, 2分間)し、分離した血漿は定量時まで凍結保存した。

2) 静脈内及び門脈内-十二指腸内投与実験(実験2)——家兎4匹に実験1と同様の方法で静脈内投与実験を行い、その後2週間以上の休薬期間をおき、門脈内-十二指腸内投与実験を行った。門脈内-十二指腸内投与実験は、はじめに実験1と同じ要領でSBとして10 mgを30分間で門脈内に定速注入し、注入開始後3時間まで採血した。この間、門脈内注入終了後に、*in situ* 十二指腸ループの作成を行った。十二指腸ループには総胆管接合部の含まれていない胃の幽門から3 cmと18 cmの間の十二指腸部分(15 cm)を使用した。使用腸管部両端から2 cmのところを切開し、各々にポリエチレンチューブ(外径7 mm)を連結し、その十二指腸内部を生理食塩水100 mlで洗浄後空腸側を結紮した。門脈内注入開始3時間後に十二指腸ループ内にSBとして10 mgを精製水3 mlに溶解したものを投与後、もう一方も結紮した。十二指腸内投与後3時間まで経時的に採血を行った。実験終了後直ちに、十二指腸ループの内部を生理食塩水約100 mlで洗浄しその洗浄液をすべて回収し、その容積を測定した。得られた血液試料は実験1と同様に処理し、また、洗浄液も定量時まで凍結保存した。

3) 静脈内及び門脈内-直腸内投与実験(実験3)——家兎4匹に実験1と同様の方法で静脈内投与実験を行い、その後2週間以上の休薬期間をおき、門脈内-直腸内投与実験を行った。門脈内-直腸内投与実験は、はじめに実験1と同じ要領でSBとして10 mgを30分間で門脈内に定速注入し、注入開始後3時間まで採血した。この間、門脈内注入終了後に、*in situ* 直腸ループの作成を行った。直腸ループは肛門から15 cmまでの直腸部分を使用した。使用腸管の2 cm上部を切開

し、ポリエチレンチューブ (外径 7 mm) を連結させ生理食塩水 100 ml を肛門方向に流して直腸内部を洗浄し、その後ポリエチレンチューブをはずし結紮した。門脈内注入開始 3 時間後に SB として 10 mg を精製水 3 ml に溶解し、肛門より直腸ループ内に投与した。薬液漏れ防止のため実験終了時まで肛門をクリップで止め、投与後 3 時間まで経時的に採血を行った。実験終了後直ちに、実験に用いた直腸ループの内部を生理食塩水約 100 ml で洗浄しその洗浄液をすべて回収し、その容積を測定した。得られた血液試料及び洗浄液は実験 2 と同様に処理し、保存した。

定量法 SB の定量は Tan らの ECD 検出器を用いた HPLC 法⁶⁾の一部を改良し行った。すなわち、セップパック C₁₈ カートリッジ (Waters Associates, Milford, U.S.A.) をあらかじめ 70 mm リン酸緩衝液 (pH 6.8) 5 ml, メタノール 10 ml, 精製水 20 ml の順で洗浄した後、これに血漿 0.5 ml 及び内部標準物質 (IS) として硫酸テルブタリン 50 ng/ml を含む水溶液 100 µl を精製水 10 ml と共に注入し、SB 及び IS を保持させた。その後、これを 70 mm リン酸緩衝液 10 ml で洗浄し、ついでメタノール 6 ml で溶出させた。この溶出液を 30°C で減圧乾固したのち、イオンペア化剤含有リン酸緩衝液 (2.0 mm ヘプタンスルホン酸ナトリウムを含有する 70 mm pH 6.8 リン酸緩衝液) 0.3 ml と 1% di-(2-ethylhexyl)phosphate (DEHP) クロロホルム溶液 0.5 ml を加えて振とうし、このクロロホルム層を精製水 0.3 ml で洗浄後、30 mm 塩酸 0.2 ml を加えて振とうし、この塩酸層 90 µl を HPLC に注入した。

HPLC 用カラムは逆相タイプ (Ultrasphere ODS 3 µm, 4.6 mm×75 mm, Beckman, San Ramon, U.S.A.) を用い、移動相にはメタノール:イオンペア化剤含有リン酸緩衝液 (15:85, v/v) を用いた。カラム温度は 30°C, 流速は 0.5 ml/min で行った。ECD 検出器の印加電圧は +800 mV であった。なお、本定量法による最低検出感度は、SB として 0.4 ng/ml であった。

データ解析 1) 吸収率の算出——十二指腸及び直腸内投与時の SB の吸収率は、実験終了後にループ内洗浄液を定量し得られたループ内残存量から算出した。

2) 初回通過効果回避率の算出——SB の初回通過効果回避率は AUC を用い、⁷⁾ 以下のごとく計算した。なお、ここで各添え字は投与経路を示し、iv は静脈内投与、id は十二指腸内投与、ir は直腸内投与である。

静脈内投与 (実験 1 から 3) における AUC は、5.5 時間までは台形公式により求め、以降無限大時間までは 5.5 時間の血中濃度、C_(5.5) を静脈内投与時の末端相の消失速度定数 (λ_z) で除して求め、(1) 式のごとく両者の和として算出した。

$$AUC_{iv} = AUC_{(0-5.5)} + C_{(5.5)} / \lambda_z \quad (1)$$

門脈内投与 (実験 1) における AUC は、5 時間までは台形公式により求め、以下、静脈内投与と同様に (2) 式のごとく算出した。また、肝初回通過効果回避率 (Fh) は (3) 式から求めた。

$$AUC_{ip} = AUC_{(0-5)} + C_{(5)} / \lambda_z \quad (2)$$

$$Fh = AUC_{ip} \cdot D_{iv} / (AUC_{iv} \cdot D_{ip}) \quad (3)$$

門脈内-十二指腸内投与 (実験 2) における総 AUC (AUC_{total}) は、門脈内投与開始後 3 時間までの AUC₍₀₋₃₎ とそれに続く十二指腸内投与から 3 時間までの AUC₍₃₋₆₎ を台形公式により求め、さらに 6 時間から無限大時間までの AUC は実験開始 6 時間後の血中濃度、C₍₆₎ を λ_z で除して求め、(4) 式のごとくこれらの和として算出した。門脈内投与による AUC は (5) 式から求め、十二指腸内投与による AUC は (6) 式から計算した。

$$AUC_{total} = AUC_{(0-3)} + AUC_{(3-6)} + C_{(6)} / \lambda_z \quad (4)$$

$$AUC_{ip} = AUC_{(0-3)} + C_{(3)} / \lambda_z \quad (5)$$

$$AUC_{id} = AUC_{total} - AUC_{ip} \quad (6)$$

門脈内-直腸内投与（実験 3）においても同様に，総及び門脈内投与による AUC は (4) 及び (5) 式を用いて計算し，(7) 式から直腸内投与の AUC を算出した。

$$AUC_{ir} = AUC_{total} - AUC_{ip} \quad (7)$$

また，十二指腸内及び直腸内投与時の生物学的利用率 (EBA) は各投与時の AUC 及び投与量 (D) を用いて (8) 及び (9) 式から，全初回通過効果回避率 (F) は各々の吸収率 (fa) を用いて (10) 及び (11) 式から， Fh は (3) 式から算出した。

$$EBA_{id} = AUC_{id} \cdot D_{iv} / (AUC_{iv} \cdot D_{id}) \quad (8)$$

$$EBA_{ir} = AUC_{ir} \cdot D_{iv} / (AUC_{iv} \cdot D_{ir}) \quad (9)$$

$$F_{id} = EBA_{id} / fa_{id} \quad (10)$$

$$F_{ir} = EBA_{ir} / fa_{ir} \quad (11)$$

粘膜内初回通過効果回避率 (Fm) については，十二指腸内投与時には (12) 式から求めた。直腸内投与の場合は，ループ部位支配静脈のうち肝を通らず直接全身循環血に入る血流の割合を fnh とすれば， EBA_{ir} と Fm_{ir} には (13) 式のような関係がある。これを変形し (14) 式から Fm_{ir} を算出した。なお， fnh は同一実験条件下でリドカイン投与により推定した値，0.41⁸⁾ を用いた。

$$Fm_{id} = AUC_{id} \cdot D_{ip} / (AUC_{ip} \cdot D_{id} \cdot fa_{id}) \quad (12)$$

$$EBA_{ir} = fa_{ir} \cdot Fm_{ir} \cdot ((1 - fnh) \cdot Fh + fnh) \quad (13)$$

$$Fm_{ir} = F_{ir} / ((1 - fnh) \cdot Fh + fnh) \quad (14)$$

3) 統計処理——門脈内投与時の各パラメーターに対する投与量の影響の検定は 1 way ANOVA により行った。また，十二指腸内投与と直腸内投与における各パラメーターの有意差検定は unpaired t -test により行った。

結 果

静脈内及び門脈内投与実験

実験 1 における平均 SB 血中濃度曲線を Fig. 1 に示す。曲線から明らかなように両投与とも血中濃度は投与終了後，多指数関数的に減少した。末端相における直線の傾きは，静脈内投与と門脈内投与で差は認められなかった。投与終了直後の血中濃度は SB10 mg の静脈内投与で 2362 ± 60.8 ng/ml (平均 $\pm$ S.E., $n=12$) であった。一方，門脈内投与ではこれに比べると著しく低く 10 mg 投与で 233 ± 37.3 ng/ml ($n=4$) であった。門脈内 SB 投与量の異なる 3 群における静脈内及び門脈内投与時の AUC 及びこれらから算出した Fh を Table I に示す。SB の Fh はいずれの門脈内投与量においても 10% 程度と小さかった。また，SB 投与量を 5 mg から 20 mg に増加しても Fh に有意の変化は認められなかった。

Fig. 1. Salbutamol (SB) Plasma Concentration Curves during and after Intravenous (●, 10 mg/30 min, $n=12$) or Intraportal (□, 5 mg/30 min, ▲, 10 mg/30 min, △, 20 mg/30 min, $n=4$) Dosing of SB in Rabbits (Mean $\pm$ S.E.)

TABLE I. Relationship between Fraction of Dose Which Avoids Hepatic First-Pass-Effect (Fh) and Intraportal Dose of Salbutamol (SB) in Rabbits (Mean $\pm$ S.E., $n=4$)

	Group of intraportal dose			ANOVA (1 way)
	5 mg/30 min	10 mg/30 min	20 mg/30 min	
AUC_{iv}/D_{iv} ($kg^a \cdot h/l$)	663 $\pm$ 37.2	698 $\pm$ 18.1	682 $\pm$ 22.7	NS ^{b)}
AUC_{ip}/D_{ip} ($kg^a \cdot h/l$)	64.3 $\pm$ 2.5	59.5 $\pm$ 12.0	68.0 $\pm$ 15.2	NS ^{b)}
Fh	0.097 $\pm$ 0.005	0.086 $\pm$ 0.017	0.098 $\pm$ 0.020	NS ^{b)}

a) Body weight. b) Not significantly different ($p>0.05$).

静脈内及び門脈内-十二指腸内投与実験

実験 2 に関する平均 SB 血中濃度曲線を Fig. 2 に示す. 静脈内及び門脈内投与の血中濃度曲線は実験 1 とほとんど変わらなかった. また, 十二指腸ループ内投与後の SB 血中濃度の立ち上がりは速く, 投与後約 30 分にピークを示した. 投与 3 時間後の十二指腸内 SB 残存率は $6.1 \pm 3.7\%$ (平均 $\pm$ S.E., $n=4$) であった. また, この実験から得られたバイオアベイラビリティに関するパラメーターは Table II 中に示した.

Fig. 2. Salbutamol (SB) Plasma Concentration Curves during and after Intravenous (10 mg/30 min) Dosing (●) or Intraportal (10 mg/30 min)-Intraduodenal (10 mg) Dosing (○) of SB in Rabbits (Mean $\pm$ S.E., $n=4$)

Fig. 3. Salbutamol (SB) Plasma Concentration Curves during and after Intravenous (10 mg/30 min) Dosing (●) or Intraportal (10 mg/30 min)-Intrarectal (10 mg) Dosing (○) of SB in Rabbits (Mean $\pm$ S.E., $n=4$)

TABLE II. Comparison of Bioavailability between Intraduodenal and Intrarectal Dosing of Salbutamol (SB) in Rabbits (Mean $\pm$ S.E., $n=4$)

	Experiment-2 (Intraduodenal)	Experiment-3 (Intrarectal)	Unpaired t -test
AUC_{iv}/D_{iv} ($kg^a \cdot h/l$)	752.3 $\pm$ 63.2	698 $\pm$ 37.0	NS ^{b)}
AUC_{ip}/D_{ip} ($kg^a \cdot h/l$)	78.7 $\pm$ 13.9	54.9 $\pm$ 5.14	NS ^{b)}
$AUC_{id or ir}/D_{id or ir}$ ($kg^a \cdot h/l$)	57.3 $\pm$ 11.0	102 $\pm$ 19.5	NS ^{b)}
EBA	0.077 $\pm$ 0.015	0.145 $\pm$ 0.023	$p < 0.05$
fa	0.939 $\pm$ 0.037	0.338 $\pm$ 0.033	$p < 0.01$
F	0.084 $\pm$ 0.019	0.430 $\pm$ 0.060	$p < 0.05$
Fh	0.104 $\pm$ 0.013	0.079 $\pm$ 0.007	NS ^{b)}
Fm^c	0.784 $\pm$ 0.104	0.962 $\pm$ 0.139	NS ^{b)}

a) Body weight. b) Not significantly different ($p>0.05$). c) Fraction of absorbed dose which avoids first-pass-effect in the mucosa.

静脈内及び門脈内-直腸内投与実験

実験 3 に関する平均 SB 血中濃度曲線を Fig. 3 に示す. この実験においても, 静脈内及び門脈内投与の血中濃度曲線は実験 1 とほぼ同様であった. 直腸内投与後の SB 血中濃度は投与後 30 分にピークを示したが, 以後の血中濃度の低下は十二指腸内投与に比べ緩やかであった. 投与 3 時間後の直腸内 SB 残存率は $66.2 \pm 3.3\%$ (平均 $\pm$ S. E., $n=4$) であり, 十二指腸内投与に比べ大きかった. また, この実験から得られたバイオアベイラビリティに関するパラメーターは Table II に示した.

考 察

多くの薬物について直腸投与は経口投与に比べ高いバイオアベイラビリティを示すことが知られている. この理由として, 直腸投与では吸収された薬物の一部が直接全身循環血に入るため, 肝での初回通過効果を受けにくいこと,⁹⁾ また, 直腸は小腸に比べ粘膜代謝の寄与も少ないと考えられること¹⁰⁾などが挙げられる. しかし, 実際に薬物を直腸投与したときに得られるバイオアベイラビリティに関し, それらの寄与を定量的に明らかにした例は少ない.

我々は前報¹⁾で SB の家兎直腸投与は経口投与に比べ比較的高いバイオアベイラビリティを示し, その原因として投与経路による初回通過効果の差が関与することを推察した. しかしながら, 技術的に尿中排泄量から吸収率を正確に推定することは難しく, このため初回通過効果の内訳についてまでは明らかにすることはできなかった.

今回は, 吸収部位を限定し, かつ実験終了時の残存量から吸収量を推定しうる *in situ* ループ法を用い, 家兎十二指腸内及び直腸内投与実験を行った. なお, 本実験法はループ内投与に先立ち門脈内投与を行うことができるので, ほぼ同一の生理条件下での F_h と F の比較が可能となり, F_m 推定の誤差が小さいという利点がある.

AUC を用いて両投与経路における初回通過効果のパラメーターを推定する⁸⁾ためには, 最初に肝における初回通過効果の線形性を確かめねばならない. 静脈内投与と門脈内投与の比較 (Fig. 1) から算出された F_h は約 10% となり SB は肝で著しく代謝を受けることが明らかとなった. また, 投与量 5—20 mg/30 分間の範囲では F_h に有意の差は認められず, 肝での消失に関し線形性が保たれていることが示された (Table I). これらの結果は SB 4—80 mg の経口投与で SB と SBG の AUC の比がほぼ一定であり, この範囲で代謝に飽和が見られないとする前報¹⁾の結果と良く一致した.

In situ ループ法を用いた SB の十二指腸内 (Fig. 2) と直腸内投与 (Fig. 3) の結果を比較すると (Table II), EBA は直腸内投与の方が大きい (7.7% vs. 14.5%) が, 逆に, 投与後 3 時間までの fa は直腸内投与の方が小さく (93.9% vs. 33.8%), したがって F は十二指腸内投与よりも直腸内投与の方が著しく大きくなることが分かった (8.4% vs. 43.0%) (Table II). このことは, 経口投与に比べ直腸投与の方が, 総 SB 尿中排泄率は低く (77.3% vs. 9.8%), 一方, バイオアベイラビリティは高い (1.1% vs. 7.8%) という *in vivo* の結果¹⁾を反映している. 今回, fnh を 0.41⁸⁾として直腸内投与での F_m を推定したところ約 96% となり, 直腸内での粘膜代謝はほとんど無視しうることが示された. このことは直腸粘膜上皮細胞の薬物代謝活性は低いという従来の予測¹⁰⁾を裏付けるものと思われる. 一方, 十二指腸内投与での F_m は約 78% と直腸内投与に比して小さいため, 全初回通過効果に対する十二指腸粘膜の初回通過効果の寄与は無視しえないことが示唆された.

以上をまとめると, 十二指腸内投与された SB はほぼ完全に吸収された後, 粘膜及び肝初回通過効果を受けることにより, そのバイオアベイラビリティは 8% 程度にまで著しく低下する. 一方, 直腸内投与時には, SB の吸収は 34% 程度と低いが, 粘膜代謝はほとんど認められず, 直腸支配静脈が肝を一部回避するために肝初回通過効果を受ける割合が低く, 結局, 経口投与に比べ約 2 倍高

いバイオアベイラビリティを与えることが明らかとなった。このような *in-situ* の十二指腸及び直腸ループ内投与における定量的結果は、実験条件の違いもあり、*in vivo* の経口と直腸投与時のバイオアベイラビリティ¹⁾を完全に説明するものではないが、SB の直腸投与における有用性を経口投与と比較して評価するには十分なものと思われる。

謝辞 本研究にあたり硫酸テルブタリンを提供していただいた藤沢薬品工業株式会社に深謝します。

引用文献

- 1) 黒澤菜穂子, 大和田栄治, 伊藤圭二, 薬誌, **113**, 321 (1993).
- 2) L. E. Martin, J. C. Hobson, J. A. Page, C. Harrison, *Eur. J. Pharmacol.*, **14**, 183 (1971).
- 3) G. J. Mulder, M. W. H. Coughtrie, B. Burchell, "Conjugation Reactions in Drug Metabolism: An Integrated Approach," ed. by G. J. Mulder, Taylor & Francis Ltd., London, 1990, pp. 51—105.
- 4) S. K. Podder, T. Nakamura, M. Nakashima, H. Sasaki, J. Nakamura, J. Shibasaki, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **11**, 324 (1988).
- 5) A. G. deBoer, D. D. Breimer, H. Mattie, J. Pronk, J. M. Gubbens-Stibbe, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **26**, 701 (1979).
- 6) Y. K. Tan, S. J. Soldin, *J. Chromatogr.*, **311**, 311 (1984).
- 7) M. K. Cassidy, J. B. Houston, *J. Pharm. Pharmacol.*, **32**, 57 (1980).
- 8) N. Kurosawa, E. Owada, K. Ito, *Biopharm. Drug Dispos.*, 「執筆中」.
- 9) E. J. vanHoogdalem, A. G. deBoer, D. D. Breimer, *Clin. Pharmacokinet.*, **21**, 11 (1991).
- 10) A. G. deBoer, F. Moolenaar, L. G. J. deLeede, D. D. Breimer, *Clin. Pharmacokinet.*, **7**, 285 (1982).