

## 抗生物質の体内消長に関する基礎的研究 第4編

## 1, 2 抗生物質の体内分布に関する 1, 2 因子についての検討

中 川 辰 雄

広島大学医学部薬理学教室

(前任: 中塚正行教授\*)

(現主任: 竹屋範英教授)

(昭和 46 年 12 月 6 日受付)

## I 緒 言

抗生物質の体内消長について、第1報<sup>1)</sup>では健常マウスに同一量を同一経路から適用した際の血中および臓器内濃度について、第2報<sup>2)</sup>では四塩化炭素など肝臓毒の影響、つづいて、第3報<sup>3)</sup>ではいわゆる allithiamine,  $\alpha$ -lipoic acid, l-methionine, glucuronic acid および aspartic acid など肝臓薬の影響を検討し、水溶性抗生物質では、血中濃度は臓器内濃度より高値を示し、肝臓毒は血中および臓器内濃度を充める。そして、肝臓薬では肝臓毒と相反する態度をしめした。

いつぼう、脂溶性抗生物質では血中と臓器内濃度はほぼ同一程度であり、肝臓薬は血中濃度を充めるが、肝臓内濃度は低下した。そして、肝臓薬では肝臓毒と相反する態度をしめした。

つづいて、抗生物質の体内動態のうち、血清および肝臓との結合状態(限外濾過法)(4°C)および平衡透析法(37°C)における結合率、不活性、再生および結合活性率を中心に検討し、上述の抗生物質の体内消長の機序の一端をうかがうこととした。

## II 実験材料ならびに実験方法

## 実験材料

1) 供試動物: 体重 17 g 前後の健常 dd 系雄性マウス, 体重 250 g 前後の健常 Wistar 系雄性ラットおよび体重 2.5 kg 前後の健常ウサギ(いずれも同一条件下に数日間飼育したもの)を用い、体重は早朝飼料などを与える前に測定した。

2) 供試薬物: 抗生物質としては penicillin G (PC-G)(日本化薬), streptomycin (SM)(明治製薬)および tetracycline (TC)(日本レダリー)をそれぞれ 1/15 M 磷酸緩衝液で溶解した。

3) 血清は牛血清を用い<sup>4,5)</sup>、肝 homogenate, 肝 microsome および肝 mitochondria は失血致死させたラットおよびウサギの肝臓を摘出して、秤量後 0.25 M 蔗糖液を用いて、10~25% の homogenate を作り、その

1部を 3,000 rpm, 20 分遠心分離した上清をさらに 9,000 G で 30 分間遠心分離した上清を microsome 分画および沈澱分画を mitochondria 分画とした。

4) 限外濾過法用材料および方法: 先に檜井<sup>6,7)</sup>が述べたと全く同様の器具および方法により、血清、肝 homogenateあるいは肝—microsome, 肝—mitochondria と上記抗生物質溶液を混合し、水銀柱 30 cm で 4°C—18 h 後セロファン膜を通過した濾液および残液とその稀釈液について抗菌価を測定し、檜井の方法により、結合率、不活性化率、再生率および結合活性率を算出した。

5) 平衡透析法用材料および方法: 檜井<sup>8)</sup>の方法に準拠して行ない結合率などの算出も檜井の方法にしたがつた。

6) 抗菌価測定用材料ならびに方法は前述と全く同一方法で行なつた。

## III 実験成績

## 1. 血清蛋白あるいは肝 homogenate との結合について

PC-G, SM および TC とウシ血清あるいはマウス肝 homogenate (25%) との結合状態を限外濾過法および平衡透析法で検討した。

## a. 限外濾過法の場合

表1にしめすように、PC-G では血清蛋白との結合率、再生率および結合活性率は肝 homogenate のそれよりも大であるが、不活性化率は肝 homogenate において高値をしめした。

SM では血清蛋白との結合率および不活性化率は肝 homogenate よりも低値であるが、再生率および結合活性率は高値であつた。

TC では血清蛋白との結合率、再生率および結合活性率は肝 homogenate よりも高値をしめすが、不活性化率は肝 homogenate で高値をしめした

以上のように、限外濾過法による PC-G など抗生物質と血清蛋白あるいは肝 homogenate との結合は、抗生物質の種類により差がみられた。すなわち、血清蛋白との

\* 広島大学名誉教授, 長崎大学長

表 1 1, 2 抗生物質と牛血清およびマウス肝臓 homogenate (25%) との結合 (限外濾過法) (%)

		Binding	Inactivation	Recovery	Bind-active
Penicillin <sub>G</sub>	Serum	63.5	18.65	27.15	17.7
	liver-homog.	40.6	24.16	10.0	6.44
Streptomycin	Serum	77.35	30.8	30.25	12.5
	liver-homog.	77.65	56.9	17.20	3.55
Tetracycline	Serum	87.05	19.05	53.8	14.2
	liver-homog.	60.4	28.70	28.6	3.1

結合状態では結合率もつとも高いのは TC であるが、不活性化率もつとも高値をしめすものは SM であつた。いつぼう、肝 homogenate では結合率は SM でもつとも高く、SM および PC-G ではその過半量が不活性化されていた。つぎに、血清蛋白と肝 homogenate の両者における結合状態を肝/血清比で比較すると、結合率は PC-G および TC では血清蛋白、SM では肝 homogenate でそれぞれ高値をみとめるのに対し、不活性化率は肝 homogenate および再生率は血清蛋白で高値をしめし、肝 homogenate では抗生物質が強く捕捉されていることがうかがわれる。

#### b. 平衡透析法の場合

表 2 にしめすように、PC-G では血清蛋白との結合率および不活性化率は肝 homogenate にくらべ低値であり、再生率は高値であつた。

SM では血清蛋白との結合率、不活性化率および再生率のいずれも肝 homogenate よりも低値であつた。

TC では血清蛋白との結合率、不活性化率および再生率はいずれも肝 homogenate よりも高値をしめした。

以上のように、平衡透析法による PC-G など抗生物質と血清蛋白あるいは肝 homogenate との結合は抗生物質の種類により差があり、また、上述の限外濾過のそれと

表 2 1, 2 抗生物質と牛血清および肝臓 homogenate (25%) との結合 (平衡透析法) (%)

		Binding	Inactivation	Recovery
Penicillin <sub>G</sub>	Serum	59.3	37.4	21.8
	liver-homog.	71.0	61.3	9.7
	1/S	120.0	163.0	44.5
Streptomycin	Serum	51.6	36.3	13.4
	liver-homog.	86.4	68.0	18.4
	1/S	167.0	187.0	137.0
Tetracycline	Serum	58.4	41.0	17.4
	liver-homog.	34.5	29.6	4.9
	1/S	59.1	72.2	28.2

もあきらかに差がみられた。すなわち、血清蛋白との結合に、各抗生物質の間には著明な差がみられないのにもかかわらず、肝 homogenate では血清蛋白にくらべ、SM で結合率および不活性化率が高値であり、PC-G でも同様の傾向がみられるが、TC ではないずれも低値であつた。なお、結合率のうち過半量が不活性化率であつた。

限外濾過法と平衡透析法とを比較すると、各抗生物質の血清蛋白との結合

率および再生率は平衡透析法では低値をしめすのに対し、不活性化率は高値をしめした。

いつぼう、肝 homogenate の場合 PC-G および SM では結合率および不活性化率は平衡透析法で高値をしめしたが、TC では結合率は平衡透析法で低値をしめし、不活性化率は両方法でほぼ同じような値であつた。

#### c. 血清蛋白と肝 homogenate との結合分配

血清 (蛋白量として) 34 mg % ~ 119 mg % と肝 homogenate (肝湿重量として) 75 mg ~ 450 mg との単独または各組合せにおける PC-G, SM および TC の不活性化率は、図 1 にしめすように、血清単独の場合は PC-G では 50~78%, SM では 42~50%, および TC では 22~87% であり、肝 homogenate の場合には PC-G では 40~43%, SM では 30~80%, および TC では 0~20% であるのに対し、混合の場合には PC-G では 58~90%, SM では 5~58%, および TC では 20~23% であり、したがって、PC-G では相加的であり、SM では肝 homogenate のそれが主役であるのに対し、TC では平均的態度をしめした。

#### 2. 肝 homogenate およびその分画における結合について

##### a. *In vitro* における不活性化について

PC-G, SM および TC をそれぞれ肝 homogenate (25%), 肝 microsome および肝 mitochondria と混合し、37°C に 1 時間培養した際の抗菌作用の消失、すなわち、不活性化は、表 3 にしめすように、PC-G では肝 homogenate でもつとも高く、ついで mitochondria, microsome の順となるのに対し、SM では肝 homogenate の過半量が microsome で行なわれ、TC では全く同一程度が肝 homogenate と microsome で行なわれていることがわかつた。

以上のことから、PC-G など抗生物質は肝 homogenate で不活性化されるが、PC-G では microsome や mitochondria 以外の分画も関与しているようであり、SM および TC では microsome での不活性化が主役であるこ

図1. 抗生物質の血清蛋白と肝臓 homogenate に対する結合分配

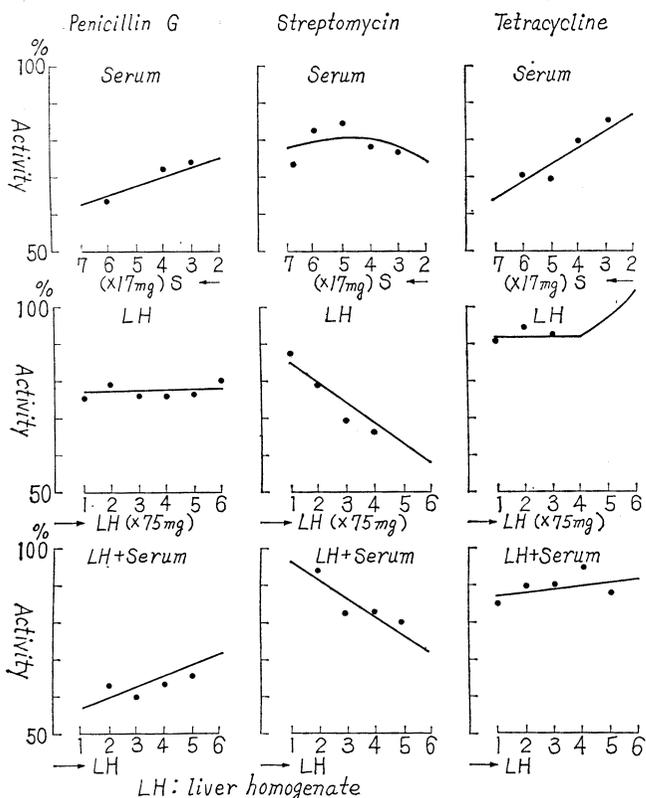


表3 1, 2 抗生物質の肝臓における不活性化 (37°C 1 h incubate) (%)

	microsome	mito- chondria	homo- genate
Penicillin G	7.36	8.93	29.0
Streptomycin	30.0	8.64	51.4
Tetracycline	22.7	13.72	22.6

表4 1, 2 抗生物質の肝臓 homogenate による不活性化に対する pH の影響

	pH	Inactivation (%)
Penicillin G	6.0	9.87
	6.5	8.51
	7.0	0.8
	7.5	34.8
Streptomycin	6.0	29.94
	6.5	36.8
	7.0	27.3
	7.5	29.82
Tetracycline	6.0	55.4
	6.5	47.5
	7.0	44.5
	7.5	52.0
	8.0	47.5

とがうかがわれる。

b. 肝 homogenate による不活性化に対する pH の影響

PC-G, SM および TC と肝 homogenate の pH 6.0~8.0 における不活性化率は、表4に示すように、PC-G の場合 pH 7.0 では 0.8% でありもつとも低く、pH 7.5 では 34.8% であり、概して酸性で低値をしめし、アルカリ性では高い値をしめた。SM では pH 7.0 で 27.3% でもつとも低く、pH 6.5 で 36.8% であり、各 pH による差は余り著明ではないが、酸性側でやや高値をしめた。TC では pH 6.0 で 55.4% でもつとも大であり、pH 7.0 では 44.5% で低値をしめし、各 pH による差は余り著明ではないが、酸性側でやや高値をしめた。

c. 肝 microsome との結合

PC-G, SM および TC のラットおよびウサギの肝 microsome との結合

状態は、表5にしめすように、PC-G では、結合率および結合活性率はウサギで大であり、不活性化率はラットで大であつた。

SM では結合率はほぼ同一であるが、不活性化率および結合活性率はウサギで大であり、再生率はラットで大であつた。

TC では結合率、不活性化率および再生率はウサギで大であり、結合活性率はラットで大であつた。

以上のように、肝 microsome と PC-G など抗生物質

表5 1, 2 抗生物質のラットおよびウサギ肝 microsome との結合 (限外濾過法) (%)

		Binding	Inactiva- tion	Recovery	Bind- active
Penicillin G	Rat	71.01	32.96	2.21	35.85
	Rabbit	77.40	22.19	2.15	53.06
Streptomycin	Rat	96.96	31.39	47.87	17.95
	Rabbit	96.86	41.22	33.69	21.97
Tetracycline	Rat	87.57	31.61	34.96	21.0
	Rabbit	94.05	38.91	37.25	17.89

の結合状態はウサギとラットでは幾分の差はあるが、各抗生物質により大略同一傾向であり、種による特異性はほとんどみとめられなかつた。

### 3. 肝 homogenate との結合に対する四塩化炭素の影響

#### a. *In vivo* における実験

マウスに四塩化炭素 1 ml/kg を前処置した際の肝 homogenate の PC-G, SM および TC 結合率を限外濾過法で検討した際の結合状態を無処置マウスのそれと比較し、表 6 にしめす結果を得た。

表 6 1, 2 抗生物質の四塩化炭素適用マウス肝臓 homogenate との結合 (限外濾過法) (%)

		Binding	Inactivation	Recovery
Penicillin G	normal	45.66	26.93	18.68
	CCl <sub>4</sub>	39.26	22.98	16.29
	CCl <sub>4</sub> /normal	86.00	85.30	87.20
Streptomycin	normal	79.00	41.10	37.90
	CCl <sub>4</sub>	31.00	11.80	19.10
	CCl <sub>4</sub> /normal	39.20	28.70	54.00
Tetracycline	normal	55.20	24.93	29.80
	CCl <sub>4</sub>	47.40	16.40	26.08
	CCl <sub>4</sub> /normal	85.80	65.80	87.00

PC-G では、結合率は対照群—45.66% および四塩化炭素—39.26% でその比は 86.0% であり、不活性化率は対照群—26.93% および四塩化炭素—22.98% でその比は 85.3% であり、結合率および不活性化率が減少した。

SM では、結合率は対照群—79.0% および四塩化炭素—31.0% でその比は 39.2% であり、不活性化率は対照群—41.1% でその比は 28.7% で結合率および不活性化率はあきらかに減少した。

TC では結合率は対照群—55.2% および四塩化炭素—47.4% でその比は 85.8% であり、不活性化率は対照群—24.93% であり、その比は 65.8% で、結合率および不活性化率は減少した。不活性化率が四塩化炭素によりもつとも低下したのは SM であつた。

以上のように、四塩化炭素処置マウスの肝 homogenate では PC-G, SM および TC のいずれにおいても結合率、不活性化率ならびに再生率は低下し、その度は SM でもつとも著明であつた。

#### b. *In vitro* における実験

マウス肝 homogenate の結合状態を平衡透析法で検討し、表 7 にしめすような結果を得た。

PC-G では結合率は対照群—71.0% および四塩化炭素—73.9%、不活性化率は対照群—61.3% および四塩化

表 7 1, 2 抗生物質の肝臓 homogenate との結合に及ぼす四塩化炭素の影響 (限外濾過法) (%)

		Binding	Inactivation	Recovery
Penicillin G	normal	71.0	61.3	9.7
	CCl <sub>4</sub>	73.9	57.1	17.8
	CCl <sub>4</sub> /normal	104.1	93.1	183.6
Streptomycin	normal	86.4	68.0	18.4
	CCl <sub>4</sub>	91.8	77.4	13.8
	CCl <sub>4</sub> /normal	106.3	115.3	75.0
Tetracycline	normal	34.50	29.6	4.9
	CCl <sub>4</sub>	11.2	11.2	0
	CCl <sub>4</sub> /normal	37.9	32.5	0

炭素—57.1% であり著明な影響はみられない。

SM では結合率は対照群—86.4% および四塩化炭素—91.8%、不活性化率は対照群—68.0% および四塩化炭素—77.4% であり、著明な影響がみられないのに対し、TC では結合率は対照群—34.5% および四塩化炭素—11.2% でその比は 37.9% ならびに不活性化率は対照群—29.6% および四塩化炭素—11.2% でその比は 32.5% と結合率および不活性化率はあきらかに低下した。

以上のように、*in vitro* の実験では PC-G および SM では結合率や不活性化率にはほとんど変化がみられないのにもかかわらず、TC では結合率と不活性化率のいずれもあきらかに低下した。なお、本実験で平衡透析法をも用いたのは上述の *in vivo* に近い条件 (37°C) を意図したからである。

表 8 1, 2 抗生物質と四塩化炭素と 1, 2 肝臓葉併用マウス肝臓 homogenate との結合 (限外濾過法) (%)

		Binding	Inactivation	Inactive/Binding
Penicillin G	normal	31.72	20.78	65.51
	CCl <sub>4</sub> 1 ml/kg	26.03	16.16	62.08
	// + allithiamine	27.90	15.00	53.76
	// + $\alpha$ -Liposan	37.03	24.90	67.24
	// + l-methionin	39.47	21.60	54.73
Streptomycin	normal	75.55	51.3	67.90
	CCl <sub>4</sub> 1 ml/kg	30.70	18.5	60.26
	// + allithiamine	56.85	15.7	27.62
	// + $\alpha$ -Liposan	39.40	31.2	79.19
	// + l-methionin	46.95	26.2	55.80
Tetracycline	normal	52.10	33.30	63.92
	CCl <sub>4</sub> 1 ml/kg	65.55	37.80	57.67
	// + allithiamine	70.40	50.95	72.37
	// + $\alpha$ -Liposan	55.85	30.75	55.06
	// + l-methionin	64.45	31.70	49.19

#### 4. 肝 homogenate との結合に及ぼす四塩化炭素と 1, 2 薬物の影響

四塩化炭素 1 ml/kg 経口投与 2 h 後から, allithiamine などを用いたマウスの肝臓 homogenate について, PC-G など抗生物質との結合率および不活性化率を検討した。

表 8 にしめすように, PC-G の場合, 対照群にくらべ, 四塩化炭素単独適用群では結合率および不活性化率はやや低下し, その不活性化率の割合も低下したが, allithiamine など併用群結合率および不活性化率は対照群よりも低値をしめし, 四塩化炭素単独適用群にくらべ allithiamine ではほぼ同一程度であるが, 他の薬物ではさらに高値をしめした。

SM の場合対照群にくらべ, 四塩化炭素単独適用群では結合率および不活性化率は減少し, その不活性化率の割合も減少し, PC-G とほぼ同一であった。これに対し, allithiamine など併用群では対照群にくらべ, 結合率および不活性化率は減少するが, 四塩化炭素単独適用群にくらべ, 結合率はいずれの薬物でも増加し, また, 不活性化率も allithiamine を除き増加した。したがって, 回復の傾向がみられた。

TC の場合対照群にくらべ, 四塩化炭素単独適用群では結合率および不活性化率は増加したが, 不活性化率の割合はやや低下した。これに対し, allithiamine など併用群では, 結合率で  $\alpha$ -lipoic acid を除き増加し, 不活性化率では allithiamine で増加した。四塩化炭素単独適用群にくらべ, 結合率では  $\alpha$ -lipoic acid, 不活性化率では  $\alpha$ -lipoic acid および l-methionine でそれぞれ減少した。したがって, 回復の傾向をみとめた。

以上のように, PC-G および SM では四塩化炭素により結合率および不活性化率が低下し, これに肝臓薬を伍用すると軽度ながら回復の傾向をしめし, いっぽう, TC では結合率および不活性化率はやや増加するが, 肝臓薬により回復の傾向がみられた。

#### IV 小 括

抗生物質の体内消長, とくに血清および肝における動態をうかがい 1, 2 の知見を得た。つづいて, その機序解明の一端として結合を検討し, 上述の成績を得た。

限外濾過法における血清蛋白および肝 homogenate との結合は, 結合率では SM で両者同一程度であるが, RC-G および TC では血清蛋白で高値をしめしたのに対し, 不活性化率はいずれの場合も肝 homogenate で高い値をしめした。いっぽう, 再生率と結合活性率では, 血清蛋白で高値をしめした。このことから, 抗生物質は血清蛋白と結合し, その一部は活性を有するが, 一部は活性を失なつても, 蛋白との結合が解離されることにより

活性をとりもどす分画が多く, したがって, 血流中での蛋白との結合は薬物の store および運搬役としての意義がもつとも多いように解釈される。

いっぽう, 肝 homogenate では, 不活性化率が他の分画にくらべ多く, 血清蛋白の場合と異なり, 肝では不活性化が主役をなしていることがうかがわれた。方法を変えて平衡透析法でこれを確かめると, 結合率は TC を除き肝 homogenate で高く, 不活性化率はさらに高くなる。したがって水溶性抗生物質の不活性化は 37°C で incubate することにより高くなるわけであり, 第 3 報<sup>9)</sup>で述べた肝臓薬による不活性化の増大とよく一致する。

つぎに脂溶性抗生物質である TC では, 結合率および不活性化率は血清蛋白でむしろ高く, また, 限外濾過法のそれにくらべると, 肝 homogenate による不活性化が 28.7% であるのに対し, 平衡透析法でも 29.6% とほぼ同一程度の値をしめした。したがって TC は肝 homogenate により不活性化されるのは, 温度などによると言うよりも, 肝 homogenate に含まれる lipid に対する溶解性によるものとも考えられる。つづいて検討した血清蛋白と肝 homogenate を種々の割合に混合した場合の不活性化は PC-G では両者の和がみられ, SM では肝 homogenate, そして TC では血清と肝 homogenate との平均的値をしめした。このことは物理学的性状とくに脂溶性であるかどうか, 言葉を替えて言うと, 薬物の lipid と体液との分配がまず因子となるが, 加えて, それぞれの不活性化機序も関与するものと考ええる。

肝における抗生物質の不活性化をその分画, すなわち mitochondria と microsome にわけて検討すると PC-G では両分画で同一程度であるが, SM と TC では microsome 分画が主役であることがわかった。

つぎに, 肝 homogenate による不活性化と pH の関係をしらべた。すなわち, PC-G では pH 7.5, SM では pH 6.0 および TC では pH 6.0 と 7.5 であり, 抗生物質の肝 homogenate による不活性化と抗生物質の pKa とはむしろ相対的な関係があると考えられる。

また, 肝 microsome との結合 (限外濾過法) はラットとウサギではほぼ同一傾向であり, 種による特異性はほとんどみられない。すなわち, PC-G では結合状態, SM および TC では不活性化~再生が主役であった。

このような抗生物質と肝との結合率に対する四塩化炭素の影響を *in vivo* および *in vitro* において限外濾過法により検討し, 四塩化炭素を処置したマウス肝 homogenate では PC-G, SM および TC のいずれも結合率, 不活性化率ならびに再生率が低下していた。その度は SM であきらかであった。

つぎに, 四塩化炭素を *in vitro* で肝 homogenate と

混合した際の結合率を平衡透析法で検討したところ、PC-G と SM では四塩化炭素の影響をうけないにもかかわらず、TC ではあきらかに低下した。この点は前に述べたように、TC が肝 homogenate により不活性化され、それは肝臓薬により影響され難い点もあるので、microsome の膜を形成している lipid が四塩化炭素により障害される点と併せ考え、lipid に対する溶解度に変化が起つたと考えるほうが妥当であろう。

また、肝臓薬を四塩化炭素障害マウスに2日間適用した際の結合状態は、PC-G および SM では四塩化炭素により結合率および不活性化率は減少するが、TC では結合率および不活性化率は軽度ながら増加した。このような数値が上述の四塩化炭素障害マウスのそれとやや傾向が異なるのは、四塩化炭素障害が 24 h を peak として次第に回復することによるものと考えられる。

肝臓薬適用群では四塩化炭素適用後 48 h に肝臓を摘出した。そして、その際肝臓薬は概して不活性化率を亢める傾向がみられた。したがって、回復期にある障害肝の諸機能を助けるために有効であろう。

ところで、薬物の体内成分との結合は、そこにおいて特異的な作用を現わすものと、普遍的ないわゆる一般的な結合基によるもので貯蔵されるものとに大別され、抗生物質では主作用である微生物との結合以外のものは、すべて一般的な結合と考えることができる。そして、そのさしめす生物学的意義<sup>7)</sup>が、体内消長における store であるのか、あるいは代謝をも含めるかは実験条件によつて決定されるであろう。そうした意味で、著者は store としての結合を知るために酵素活性などが出来るだけ少ない条件の1つである 4°C における限外濾過法を中心に検討したが、血清および肝 homogenate における結合状態は 4°C では著明な差はないが、37°C での平衡透析法では肝における不活性化が亢くなつて来た。これらの成績は先人の報告<sup>8-28)</sup>と概ね一致している。そして、四塩化炭素は *in vivo* における結合率を低下させるが、*in vitro* では必ずしもそのような傾向はみられない。そこで、四塩化炭素の作用部位あるいは作用機序は第2編で述べたように、直接作用ばかりでは理解できないものと考え、microsome の膜 lipid に変化を与えることは一応うかがうことができる。

以上の諸事実から、抗生物質の体内消長と結合率はきわめて密接な関係があり、とくに肝での動態は重要であると考えられる。

## V 結 言

抗生物質 (PC-G, SM および TC) の体内消長の基礎的問題の1つとして、血清蛋白および肝臓との結合状態 (結合率, 不活性化率, 再生率および結合活性率) を検

討し、つぎの結論を得た。

1) 限外濾過法 (4°C) における血清蛋白と肝 homogenate 結合状態は、PC-G および TC では血清蛋白の結合率は肝 homogenate よりも高く、SM では同一程度である。つぎに、肝 homogenate の不活性化率は PC-G, SM および TC で血清よりも高く、肝 homogenate の再生率および結合活性率は血清蛋白よりも低値であつた。

2) 平衡透析法 (37°C) における血清蛋白と肝 homogenate の結合状態は、PC-G および SM では肝 homogenate での結合率および不活性化率は血清蛋白よりも高く、いつぼう、TC では逆の結果が得られた。

3) 抗生物質の肝 mitochondria および microsome による不活性は PC-G では同一程度であるのに対し、SM および TC では microsome で高値をみとめた。また、肝 microsome との結合状態はラットとウサギによる差はみられなかつた。

4) 抗生物質の肝 homogenate による不活性化は PC-G では pH 7.5, SM では pH 6.5 および TC では pH 6.0 と 7.5 で大であつた。

5) 四塩化炭素は *in vitro* および *in vivo* のいずれにおいても限外濾過法では、結合率, 不活性化率および再生率を低下させ、平衡透析法では、PC-G および SM で四塩化炭素は影響を与えないが、TC では結合率, 不活性化率は低下した。

以上の諸事実から、抗生物質の肝における運命の1つとして、結合状態はきわめて重要なものと考えられる。

## VI 総括ならびに考按

現代医学の主流である薬物療法の中でも、もつとも広く用いられている抗生物質の薬理学的研究の一端として、体内消長を中心に 3, 4 の検討を行ない、第1報<sup>1)</sup>では penicillin G 他 10 種類の抗生物質を健常マウスに同一量皮下適用した際の血中および臓器内分布および消長を検討し、PC-G 群および glycoside 系抗生物質では、最高血中濃度は臓器内最高濃度にくらべあきらかに大であり、とくに、肝臓と血中の最高濃度比は PC 群では 13.45~78.39% および glycoside 系抗生物質では 0.25~1.49% であり、PC 群にくらべ臓器内移行度は少ない。

つぎに、TC 群では血中および臓器内濃度は持続性であり、peak は 2~4 h であり、血中濃度と臓器内濃度はむしろ後者で高い場合もあり、最高値における肝臓と血清の比は 195.89~449.86% であつた。

このように、抗生物質の体内消長は各抗生物質の化学構造、すなわちその物理化学的性状に由来することの多いことを知つた。

つづいて第2報<sup>2)</sup>では、四塩化炭素他3種類の肝臓毒による抗生物質の体内消長の変化を検討し、PC-GおよびSMでは、血清および肝臓内濃度は肝臓毒で増加し、30分値での肝臓と血清の比は、PC-Gで四塩化炭素—232%およびchloroform—146%ならびにSMでは四塩化炭素—243%、chloroform—530%およびmethanol—376%となった。

TCでは血清内濃度はやや高くなるが、肝臓内濃度は低値をしめし、0.5h値での肝臓と血中の比は四塩化炭素—48%、chloroform—34%、methanol—35%およびhydrazin—25%となった。そして、このような肝臓毒の影響は一過性であり、四塩化炭素はPC-GおよびTCでは72h後に、また、SMでは48h後にほぼ回復した。すなわち、抗生物質のうちPC-GとSMは肝臓で不活性化が四塩化炭素などにより阻害され、TCの場合には代謝によると言うよりも肝障害による血流量やlipidなどの変化によるものと推測されるが、その際も抗生物質の物理化学的性状に由来するものと考えられる。

そこで、第3報<sup>3)</sup>では一般に肝臓薬と言われているallithiamine他3種類の薬物の抗生物質の体内消長に及ぼす影響をうかがった。

PC-GおよびSMでは肝臓薬により血清内濃度、肝臓内濃度および肝臓と血清の比が減少し、PC-Gではallithiamine, l-lipoic acidおよびl-methionineならびにSMではallithiamine, l-methionineおよびglucuronic acidでそのような傾向があきらかであった。

いづれ、TCでは血清内濃度、肝臓内濃度および肝臓と血清の比は各肝臓薬により増加し、このような傾向は第2報<sup>2)</sup>の肝臓毒のそれと相反する結果であり、肝臓が抗生物質の体内における重要代謝器官であることがうかがわれる。

そこで、四塩化炭素障害時の抗生物質の体内消長に対し肝臓薬が如何なる態度をしめすかを検討したが、概して、著明な回復作用はみられないが、PC-Gではallithiamineおよび $\alpha$ -lipoic acid, TCではl-methionineでやや回復の傾向がみられた。なお、*in vitro*における肝homogenateによる抗生物質の不活性化は肝臓薬により必ずしも亢まらないが、四塩化炭素との併用によりやや回復の傾向がみられた。

さらに、抗生物質の体内消長の基礎的問題の1つとして、血清蛋白および肝homogenateとの結合を第4報において検討した。

限外濾過法(4°C)において、PC-GとTCでは血清蛋白との結合率が肝homogenateよりも大きく、SMでは同一程度であるが、不活性化率は肝homogenateにおいて高値をしめた。

また、平衡透析法(37°C)では、PC-GおよびSMでは肝homogenateでの結合率および不活性化率は血清蛋白よりも高く、TCではむしろ逆の結果が得られた。そして、PC-Gでの肝mitochondriaとmicrosomeによる不活性化は同一程度であるが、SMおよびTCではmicrosomeで高値をしめし、また、ラットおよびウサギの肝microsomeと抗生物質の結合状態には、種による差はみられなかった。

そして、肝homogenateによる抗生物質の不活性化はPC-G—pH 7.5, SM—pH 6.0およびTC—pH 6.0, 7.5で大であった。なお、四塩化炭素は限外濾過での抗生物質と肝homogenateとの結合率、不活性化率および再生率を低下させるが、平衡透析法ではTCのそれは低下するが、PC-GやSMでは四塩化炭素の影響をうけないことがわかった。

以上の第1～第4報の結果を通覧し、抗生物質の体内消長は抗生物質の物理化学的性状が1義的に重要な因子の1つであり、そして、血流を介して臓器内に移行した抗生物質の運命としての代謝～保有を、体内でもつとも大きい臓器であり、栄養物や薬物の代謝を行ない、とくに、解毒機能をもつ肝臓を中心に検討し、四塩化炭素など肝臓毒は水溶性抗生物質では、肝における不活性化が低下し、そのために血中および肝臓内濃度が高くなった。このことは四塩化炭素が肝障害をひき起し、その結果、肝機能の低下、たとえばBSPの排泄能を低下させる。そして、肝臓内および血中酵素の活性の低下が起る四塩化炭素による肝mitochondria障害は1義的ではなく、肝dehydrogenaseは不活性化されるが、NADによつて補われる。そして、ニコチン酸、tryptophanやpyrimidine nucleotideの前駆物質は肝necroseを防止すると述べられていることから考え、PC-GやSMはそれぞれこれらの酵素系により分解されることを阻害されると考えるのが妥当であろう。

つぎに、四塩化炭素障害の機序ROCKNOGELやVILLELAの総説にも述べられているように、phospholipid説、mitochondria説およびcatecholamine説があり、とくにcatecholamineによるとの考えは中枢切断や副腎摘出により四塩化炭素障害が阻止され、また、phenerganやergotamineのようなadrenergic blocking agentはnecroseを阻止することから証明されている。そして、血管抵抗は四塩化炭素により高まる点から考え、TCでの肝臓内濃度の低下は説明される。

他方、肝臓薬が内因性の肝機能促進物質を外来性に与える際の肝機能促進については、必ずしも一致した意見を述べない人もあるが、著者の成績では抗生物質の肝臓内濃度を低下させ、それは不活性化および保有を充める

ことによることがわかった。しかしながら、薬物の肝臓内動態を中心に、肝臓毒と肝臓薬が相反する作用のある事実は、外来性の肝臓薬が適用量および時期を選ぶならば、その機序がただ単なる imbalance による一過性の機序亢進であるかもわからないが、充分目的を達することが出来るものとする。しかしながら、四塩化炭素によるあきらかな障害肝に対しては作用をみとめなかつた。このようなことは血清蛋白および肝 homogenate あるいはその分画との結合においても或る程度確めることができた。

### む す び

現在の薬物療法のうちでもつとも繁用されている抗生物質の体内分布ないしは運命に関する研究の一端として、同一量を同じ経路から適用した場合、肝臓毒および肝臓薬の影響を中心に検討し、抗生物質の体内分布は抗生物質の物理化学的性状に由来するところが大きく、そして、水溶性抗生物質では肝臓内濃度は肝臓毒により上昇し、肝臓薬はむしろ相反する態度をしめした。つぎに、脂溶性抗生物質では肝臓内濃度は低下し、肝臓薬はむしろ相反する態度をしめした。しかし、肝臓毒による障害のあきらかにみとめられる場合には肝臓薬の効果は余り著明ではなかつた。

また、その際の肝臓での結合状態は抗生物質の肝における消長～運命と密接な関係があることをうかがい得た。

したがって、抗生物質療法において肝機能はその体内運命に重要な意義をもち、反面肝臓薬の併用は肝障害等を考慮した副作用をより少なくし、そして抗生物質の応用にあたり、より効果的となるとの示唆をしめすものとする。

(稿を終るに臨み、御懇篤な御指導および御校閲を賜わった恩師 中塚教授ならびに御懇切なる御助言を頂いた荒谷助教授に衷心より感謝の意を表します。)

### 引 用 文 献

- 1) 中川辰雄：抗生物質の体内消長に関する基礎的研究。第1編, 1, 2 抗生物質の体内分布について。Chemotherapy 20 : 496~511, 1972
- 2) 中川辰雄：抗生物質の体内消長に関する基礎的研究。第2編, 1, 2 抗生物質の体内分布に及ぼす1, 2 肝臓毒の影響について。Chemotherapy 20 : 512~519, 1972
- 3) 中川辰雄：抗生物質の体内消長に関する基礎的研究。第3編, 1, 2 抗生物質の体内分布に及ぼす1, 2 肝臓薬の影響。Chemotherapy 20 : 520~530, 1972
- 4) 伊藤明夫：小胞体（ミクロゾーム）の調製法と細分画法。生体の科学 19 : 291~297, 1968
- 5) 伊藤明夫：ミクロゾームの分離と細分画法。生体の科学 20 : 13~20, 1962
- 6) 檜井秀夫：抗生物質と血清蛋白との結合に関する基礎的研究。広島大学雑誌 13 : 601~660, 1965
- 7) LAVIETES, P. H. : Anaerobic ultrafiltration. J. Biol. Chem. 120 : 267~275, 1937
- 8) 宇野豊三, 小西良士：薬物の生体内変化, 227~285, 中垣正幸編, 薬物の生体内移行。南江堂, 1968
- 9) HALPERN, B., DOLKART, R. E., LESH, J. B., KUNTZ, R. L., DEY, E. & WALNAK, B. : The relationship of the human plasma proteins on the action and transport of penicillin. J. P. E. T. 103 : 202~208, 1951
- 10) TORII, T. & KOHORIUCHI, Y. : Antigenicity of penicillin and its relation to albumin binding. Nature 192 : 429~431, 1961
- 11) TANFORD, C. : The effect of pH on the combination of serum albumin with metals. J. Amer. Chem. Soc. 74 : 211~215, 1952
- 12) ACRED, P., BROWN, D. M., HARDY, T. L. & MANSFORD, K. R. : A new approach to studying the protein-binding proteins of penicillins. Nature 199 : 758~759, 1963
- 13) KEEN, P. M. : The binding of three penicillins in the plasma of several mammalian species as studied by ultrafiltration at body temperature. Brit. J. Phar. 25 : 507~514, 1965
- 14) KIRBY, W. M. M., ROSENFELD, L. S. & BRODIE, J. : Oxacillin : laboratory and clinical evaluation. J. Amer. Med. Ass., 181 : 1962
- 15) SIROTA, J. H. & SALTZMAN, A. : The renal clearance and plasma protein binding of aureomycin in man. J. Pharm. Exper. Thera. 100 : 210~218, 1950
- 16) KUNIN, C. M. : Comparative serum binding, distribution and excretion to tetracycline and a new analogue methacycline. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110 : 311, 1962
- 17) WOZNIAK, L. A. : Studies on binding of tetracyclines by dog and human plasma. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 105 : 403~433, 1960
- 18) WITTENAU, M. S. & YEARY, R. : The excretion and distribution in body fluid of tetracyclines after intravenous administration to dogs. J. Phar. Exper. Ther. 140 : 258~266, 1963
- 19) KLOTZ, I. M., GELEWITZ, E. W. & URQUHART, J. M. : The binding of organic ions by protein interactions with cations. J. Amer. Chem. Soc. 74 : 209~211, 1952
- 20) 黒田善雄：抗生物質の体内活動機転に関する研究。Chemotherapy 6 : 343~360, 1958
- 21) MEYER, M. C. & GUTTMAN, D. E. : The binding of drugs by plasma protein. J. Pharmaceu. Sci. 57 : 895~918, 1968
- 22) ROLINSON, G. N. & SATHLAND, C. R. : The binding of antibiotics to serum protein. Brit.

- J. Pharm., 25 : 638~650, 1965
- 23) KEEN, O. M. : The binding of penicillins to bovine serum albumin. *Biochem. Pharm.* 15 : 447~463, 1966
- 24) ROLINSON, G. N. : The significance of protein binding of penicillins. *Postgrad. Med. J.* (London) 40 : 20~22, 1964
- 25) KUNIN, C. M. : Effect of serum binding on the distribution of penicillin in the rabbit. *J. Lab. Clin. Med.* 65 : 406~415, 1965
- 26) KUNIN, C. M. : Clinical significance of protein binding of penicillins. *Ann. New York Acad. Sci.* 145 : 282~290, 1967
- 27) 五味二郎, 青柳昭雄, 小六正治, 山田幸寛 : 化学療法の現状と将来。化学の領域増刊 91 : 143~159, 1970
- 28) 北本治, 深谷一太 : 抗微生物剤の生体内動態に関する研究, AB-PC および PP-PC について。J. Antibiotics, Ser. B 16 : 109~112, 1963
- 29) 堀内淑彦, 谷本普一, 高橋研二, 櫛引昭市, 島倉洋, 北山重伝, 河島 孝, 渡辺喜久雄 : ペニシリンアレルギーに関する研究。Chemotherapy 6 : 277~278, 1958
- 30) 塩田憲三, 大貝嘉弘 : PC-shock の実験的研究, 血圧の下降を指標とした実験。Chemotherapy 6 : 274~275, 1958
- 31) 加藤康道, 高沢磨須美, 千葉 享, 千秋 肇, 小島愛司, 松本義孝, 佐藤幹弥, 齋藤 玲, 中山一朗 : Methyl-chlorophenyl-isoxazolympenicillin の研究。Chemotherapy 13 : 89~93, 1965

## FUNDAMENTAL STUDIES ON THE DISTRIBUTION OF ANTIBIOTICS. PART 4. STUDIES ON SEVERAL FACTORS INVOLVED IN THE DISTRIBUTION OF ANTIBIOTICS

TATSUO NAKAGAWA

Department of Pharmacology, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima

(Former director : Prof. MASAYUKI NAKATSUKA\*)

(Director : Prof. NORIHIDE TAKEYA)

The binding of antibiotics to plasma proteins and liver homogenate, one of the fundamental subjects on the distribution of antibiotics, was investigated.

The binding rates of penicillin G and tetracycline to plasma proteins were greater than those to liver homogenate. However, the binding rate of streptomycin to plasma proteins was almost equal to that to liver homogenate.

The inactivation by liver homogenate was greater than those by plasma proteins. Optimum pH of the inactivation by liver homogenate were 7.5 for penicillin G, 6.0 for streptomycin, and 6.0 and 7.5 for tetracycline.

Carbon tetrachloride decreased the binding rate and inactivation rate either *in vitro* or *in vivo*. The inactivation of penicillin G by liver mitochondria and microsome was in almost equal degree. However, that of streptomycin and tetracycline by microsome was greater than that by mitochondria.

\* Present address : Professor Emeritus of Hiroshima University and President of Nagasaki University, Nagasaki.