

抗生物質の生体内動態に関する基礎的研究

第1編 血清蛋白との結合について

橋 本 孝 夫

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47年4月1日受付)

I 緒 言

抗生物質が治療界に登場して数十年を経た現在において、いくつかの変遷はあるが penicillin, streptomycin や tetracycline などの常用抗生物質は変らぬ評価と効果をしめしている。

これら抗生物質は抗菌像が特異的であるとともに、その物理化学的性状においても、等電点、溶解性、安定性などに差がある。この物理的性状は抗生物質の体内分布-運命または薬理作用-副作用、中毒の基盤となるものである。

著者は抗生物質の体内消長ないし運命に関する研究の一端として、もつとも普遍的な問題である生体成分のうち、血清蛋白および肝 microsome との結合について検討することとした。

ところで、薬物の体内動態のうち血清蛋白との結合については、色素¹⁾, barbital^{2,3)}, 抗 histamine⁴⁾ など⁵⁾ が報告されている。また、化学療法剤では抗マラリア剤, sulfa 剤⁶⁻¹²⁾, 抗結核剤^{8,13)} および抗生物質¹⁴⁻³⁷⁾ について報告されている。いつばう、結合率の測定方法は限外濾過法^{6,14-16,38,40)}, 透析法^{8,14,15,41)}, ゲル濾過法^{4,19)}, 超遠心法⁸⁾ およびイオン交換樹脂²¹⁾ を用いる方法などがあり、方法により結合率についての表現法および考え方も異なるが、著者は檜井^{14,15)} の考え方にちなみ、結合分画を不活性化, 再生, および結合活性の3つに大別し, penicillin 他 31 種類の抗生物質と血清蛋白との結合を検討することとした。

つぎに、肝臓は生体間でもつとも大きな実質臓器であり、薬物の体内運命において、第1の役割は解毒機能であり、その主役の1つは microsome での酵素によるものであることは既に多くの先人⁴⁴⁻⁵²⁾ により指摘されている。いつばう、肝臓機能に対し薬物はいくつかの影響を与えるが、抗生物質の場合も tetracycline などは肝臓やその他の組織に貯留⁵³⁻⁵⁹⁾,^{69,70)} され, erythromycin などは肝 microsome の N-demethylating enzyme により代謝されるとともに肝障害をひき起す, などの副作用

用が報告^{29,30,42,48,61-67)} されている。

そこで、肝 microsome での代謝の前段階としての結合状態を血清蛋白のそれと対比しながら検討することにより、抗生物質の体内動態の一端をうかがうことは、その臨床応用の基礎的研究としてもつとも意義あることと考え、本実験を企図し、血清蛋白との結合-第1編, および肝 microsome との結合-第2編, で述べる成績を得た。

II 実験材料ならびに実験方法

A. 供試薬物: penicillin G (PCG) (日本化薬), Ampicillin (ABPC) (明治製菓), phenoxymethylpenicillin (PEPC) (明治製菓), phenoxymethylpenicillin (PPPC) (明治製菓), carbenicillin (CBPC) (藤沢薬品), cephaloridine (CER) (鳥居), streptomycin (SM) (明治製菓), kanamycin (KM) (明治製菓), aminodeoxy-kanamycin (AKM) (明治製菓), aminosidine (AMS) (協和醸酵), gentamicin (GM) (シオノギ), tetracycline (TC) (日本レダリー), doxycycline (DTC) (台糖ファイザー), oxytetracycline (OTC) (台糖ファイザー), demethylchlortetracycline (DMCTC) (日本レダリー), minocycline (MC) (日本レダリー), erythromycin (EM) (シオノギ), oleandomycin (OLM) (台糖ファイザー), leucomycin (LM) (東洋醸造), spiramycin (SPM) (協和醸酵), acetylspiramycin (AC-SPM) (協和醸酵), josamycin (JM) (山之内), josamycin aspartate (JM-a) (山之内), lincomycin (LCM) (日本アブジョン), 7-chlorolincomycin (7-CILCM) (日本アブジョン), rifampicin (RP) (チバ製菓), chloramphenicol (CP) (山之内), chlorabulin (CB) (山之内), thiophenicol (TP) (エーザイ) および thiophenicolglycinate (TP-G) (エーザイ) の 31 種類の抗生物質を用いた。

B. 緩衝液

磷酸緩衝液 (SØRENSEN) は 1/15 M Na_2HPO_4 と 1/15 M KH_2PO_4 を混合し, Tris 緩衝液は 1/5 M tris(hydroxymethyl) aminomethane と 1/10 M の塩酸または 1/10 M NaOH を混合し, pH 5.0~8.0 を調製した。

* 広島大学名誉教授, 長崎大学長

表1 抗生物質と牛血清蛋白との結合について(限外濾過法)

| Antibiotics | 結合率 | 不活性化率 | 再生率 | 結合 | |
|---------------------------|-------|-------|-------|-----------|--------------|
| | | | | 結合 活性率 | 再生率 不活性化率 |
| Phenoxyethylpenicillin | 82.70 | 49.30 | 16.90 | 16.50 | 34.28 |
| Phenoxypropylpenicillin | 82.10 | 40.50 | 20.40 | 21.20 | 50.37 |
| Ampicillin | 81.50 | 23.33 | 21.08 | 37.10 | 90.36 |
| Cephaloridine | 73.51 | 56.85 | 7.77 | 8.90 | 13.67 |
| Carbenicillin | 71.81 | 11.96 | 25.74 | 34.11 | 215.22 |
| Penicillin G | 64.90 | 25.20 | 20.40 | 19.30 | 80.95 |
| Streptomycin | 61.40 | 7.40 | 32.80 | 21.20 | 448.24 |
| Aminodeoxykanamycin | 52.39 | 10.66 | 0 | 41.72 | |
| Kanamycin | 45.10 | 2.70 | 12.80 | 29.60 | 474.04 |
| Aminosidine | 15.40 | 0 | 0.49 | 14.91 | |
| Gentamicin | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Demethylchlortetracycline | 99.90 | 22.24 | 71.01 | 6.66 | 319.36 |
| Methacycline | 99.61 | 46.19 | 45.03 | 8.40 | 97.49 |
| Minocycline | 99.55 | 38.32 | 56.90 | 4.33 | 148.47 |
| Tetracycline | 95.60 | 16.0 | 67.70 | 12.80 | 423.13 |
| Doxycycline | 94.42 | 28.38 | 44.98 | 21.06 | 158.53 |
| Oxytetracycline | 91.20 | 19.60 | 57.30 | 14.30 | 292.35 |
| Rifampicin | 94.10 | 46.59 | 30.17 | 17.28 | 64.75 |
| C-Chlorlincomycin | 86.87 | 26.08 | 31.51 | 29.29 | 120.79 |
| Josamycin | 86.15 | 57.36 | 15.82 | 12.96 | 27.57 |
| Spiramycin | 74.47 | 51.15 | 17.10 | 22.30 | 33.43 |
| Acetylspiramycin | 71.79 | 33.58 | 28.10 | 26.20 | 83.68 |
| Leucomycin | 69.40 | 35.02 | 18.68 | 15.70 | 53.34 |
| Oleandomycin | 58.36 | 5.37 | 12.86 | 40.63 | 239.48 |
| Lincomycin | 57.60 | 28.60 | 17.70 | 11.30 | 61.89 |
| Erythromycin | 55.22 | 44.24 | 1.32 | 9.66 | 2.98 |
| Chlorabulin | 95.68 | 51.85 | 8.19 | 35.59 | 15.80 |
| Thiopenicol | 78.36 | 14.37 | 22.45 | 41.54 | 156.23 |
| Thiopenicol glycinate | 72.68 | 46.59 | 30.17 | 17.28 | 64.75 |
| Chloramphenicol | 72.60 | 22.80 | 18.30 | 31.50 | 80.26 |

pHは各抗生物質の至適pH(抗菌作用)

C. 牛血清: 新鮮牛全血液を無菌的に採血後, 約1時間静置し, 血餅を静かに除去したものを, 2,000rpmで遠心分離した上清を, 無菌フラスコ内に入れ, 氷室に保存し, 採血後2週間を経過したものは実験に用いられなかった。

D. 抗菌価測定用材料

a. 検定用菌: *Bacillus subtilis* PCI-219株の芽胞浮遊液を氷室に保存し, 用に臨みよく混和して用いた。

b. 1.5%寒天加ブイオン培地: ペプトン5g, 肉エキス3gおよび寒天1.5gを常水に加え全量1,000mlとし, それぞれの抗生物質の至適pHに補正した。

E. 限外濾過法: LAVIETES⁴⁰⁾および檜井^{14,15)}の方法に準拠し, 水銀柱40cm, 4°C, 18時間後にセロファン膜(No.300)を通して分離される分画と残余の画分をそれぞれの抗生物質の至適pH緩衝液で2~32倍に十倍希釈したものについて, 生物学的測定法により, 抗菌価を測定した。結合率などの計算は檜井の方法により行なつた。

F. 抗生物質の生物学的測定法^{71,77,78)}: 1.5%寒天加

ブイオン培地40mlを直径12cmのシャーレに基層として, 上述の検定用菌浮遊液0.1~0.05%加えた寒天加ブイオン8mlを重層した平板培地を作り, 同一平板培地上のカップ内に上記の濾液, 残液とその希釈液を分注し, 37°C, 16~18時間培養し, その阻止円直径を0.1mmまで正確に測定し, 抗菌価の算出は川上の計算式にしたがった。

III. 実験成績

A. 各抗生物質の至適pHにおける結合率

PCG他29種類の抗生物質とウシ血清蛋白との結合状態を, PCG, CER, CBPC, PPPC, PEPC, ABPC, DTC, MC, TC, DMCT, MTCおよびOTCはpH6.0, CP, CB, TPおよびTP-GはpH7.0ならびにGM, SM, AMS, AKM, KM, EM, OLM, SPM, AC-SPM, JM, LCM, 7-CILCMおよびLMではpH7.5で検討し, 以下に述べる結果を得た。

a. Penicillin群抗生物質

PCG他5種類のpenicillin群抗生物質と牛血清蛋白との結合状態は, 表1に示すように, 結合率は87.7%(PEPC)~64.9%(PCG), 不活性化率は56.85%(CER)~11.96%(CBPC), 再生率は25.74%(CBPC)~7.77%(CER)および結合活性率は34.11%(CBPC)~8.9%(CER)であった。つぎにこれらの値を結合に対する比率からみると, もつとも大きな画分が不活性化率であるものはPEPC, PPPC, CERおよびPCGならびに結合活性率であるものはABPCおよびCBPCであった。さらに, 再生率と不活性化率との比をみると, CBPCを除き不活性化率が高い値をしめしているが, かなりの量が結合から解離され, 生物学的活性をとりもどすことがうかがわれる。

以上のようにPC群は牛血清蛋白と過半量が結合し, そのうち不活性化されるものが多いが, いっぽう, 結合から解離され生物学的活性をしめすもの, および結合状態でも活性をしめす分画, があることがうかがわれた。

b. Glycoside群抗生物質

SM他4種類のglycoside群抗生物質と牛血清蛋白との結合状態は, 表1に示すように, 結合率は61.4%(SM)~ほとんど結合しないもの(GM), 不活性化率は10.66%(AKM)~ほとんどないもの(AMS, GM), 再生率は12.8%(KM)~0.49%(AKM)および結合活性率は41.72%(AKM)~14.91%(AMS)であった。つぎにこれらの値を結合率に対する比率からみると, もつとも大きな画分が再生率であるものはSMおよび結合活性率である

ものは KM および AMS であつた。さらに再生率と不活性化率との比からみると、AKM を除き再生率が圧倒的に多いことがうかがわれる。

次上のように glycoside 群抗生物質と牛血清蛋白との結合率は 0.01~61.4% で、上述の PC 群抗生物質にくらべ結合率が低く、その中で結合活性画分が大部分であり、再生画分はきわめて少なかった。

C. Tetracycline 群抗生物質

TC 他 5 種類の TC 群抗生物質と牛血清蛋白との結合は、表 1 にしめすように、結合率は 91.2~99.9% で各抗生物質ともほとんど同一程度であり、不活性化率は 46.19%(MTC)~16.0%(TC)、再生率は 71.01%(DMCT)~44.98%(DTC) および結合活性率は 21.06%(DTC)~4.33%(MC) であつた。つぎにこれらの値を結合率に対する比率からみると、もつとも大きな画分は MTC で不活性化率であるのを除き、いずれも再生率であつた。さらに再生率と不活性化率との比は MTC で同一程度であるのを除き、それぞれ再生率があきらかに高値であつた。

以上のように、TC 群抗生物質は牛血清蛋白と 91.2~99.9% 結合し、上述の PC 群や glycoside 群抗生物質にくらべあきらかに高値である。その中で再生率が圧倒的に高値をしめし、不活性化率は PCG よりも低いものが多く、結合活性率は低値であつた。したがつて TC 群抗生物質はそのほとんどが血清蛋白と結合し活性を失なうが、そのうち大部分は結合が解離されると再び生物学的活性をしめした。

d. Macrolide 群抗生物質

EM 他 8 種類の macrolide 群抗生物質と牛血清蛋白との結合状態は、表 1 にしめすように、結合率は 94.1%(RP)~55.22%(EM)、不活性化率は 57.36%(JM)~5.37%(OLM)、再生率は 31.51%(7-CILCM)~1.32%(EM) および結合活性率は 40.63%(OLM)~9.66%(EM) であつた。つぎにこれらの値を結合率に対する比からみると、もつとも大きな画分は、7-CILCM で再生率および OLM で結合率である他は、いずれも不活性化率であつた。さらに再生率と不活性化率との比をみると、7-CILCM を除き不活性化率が高値であつた。

以上のように、macrolide 群抗生物質は牛血清蛋白と 55.22~94.1% 結合し、上述の各抗生物質群にくらべ概して中間的値をしめした。結合したものの中で過半量が不活性化率のものが多く、ついで再生率、結合活性率の順となつた。すなわち、不活性化された多い点は上述の各抗生物質群にくらべ著明であつた。

したがつて macrolide 群抗生物質は血清蛋白と結合し生物学的活性を失ない、その結合が解離すると生物学的活性を再びとりもどすものと、結合状態でも活性を失な

わないものがあつた。

e. Chloramphenicol 群抗生物質

CP 他 3 種類の CP 群抗生物質と牛血清蛋白との結合状態は、表 1 にしめすように、結合率は 95.68(CB)~72.6%(CP)、不活性化率は 51.85%(CB)~14.37%(TP)、再生率は 30.17%(TP-G)~8.19%(CB)、および結合活性率は 41.54%(TP)~17.28%(TP-G) であつた。つぎに、これらの値を結合率に対する比率からみると、もつとも大きな画分が不活性化率である CB および TP-G ならびに結合活性率である TP および CP であつた。さらに再生率と不活性化率との比をみると、TP では再生率が高いが概して両者の間に著明な差はない。

以上のように、CP 群抗生物質と牛血清蛋白と 72.6%~95.68% 結合し、その中で不活性化率あるいは結合活性率もつとも高い値をしめした。これらの成績はやや PC 群抗生物質と類似している。したがつて CP 群抗生物質は血清蛋白と結合し一部は生物学的活性を失ない、その結合が解離のち生物学的活性をとりもどすものと、結合状態でも活性を失なわないものがある。

D. 抗生物質と血清蛋白との結合に及ぼす pH の影響

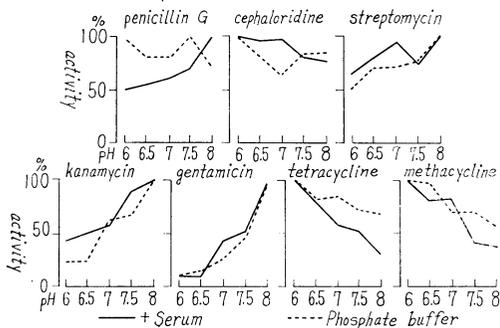
a. 磷酸緩衝液の場合

PCG 他 16 種類の抗生物質とウシ血清蛋白との結合状態に及ぼす磷酸緩衝液 (pH 6.0~8.0) の影響を、各抗生物質を磷酸緩衝液で溶解したものとウシ血清とを等量に混和した液を 37°C、1 時間培養した際の抗菌価をそれぞれの群での最高値をしめす pH の値に対する各 pH の抗菌価の百分率を、血清を加えない対照群のそれと比較すると、表 2 および図 1, 2 にしめすように、最高値をしめす表 2 抗生物質の抗菌作用に及ぼす血清蛋白の作用と pH の影響

| Antibiotics | pH | | | | |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 6.0 | 6.5 | 7.0 | 7.5 | 8.0 |
| Penicillin G | 49.36 | 54.74 | 61.83 | 66.06 | 100* |
| Cephaloridine | 100* | 97.07 | 99.76 | 78.90 | 74.70 |
| Streptomycin | 67.41 | 83.58 | 97.93 | 72.58 | 100* |
| Kanamycin | 40.05 | 51.78 | 61.95 | 86.18 | 100* |
| Gentamicin | 8.94 | 13.89 | 41.94 | 53.64 | 100* |
| Tetracycline | 100* | 76.51 | 59.28 | 53.05 | 30.88 |
| Methacycline | 100* | 78.75 | 82.26 | 40.85 | 37.68 |
| Erythromycin | 78.16 | 78.01 | 80.24 | 100 | 84.62 |
| Oleandomycin | 72.34 | 75.57 | 80.77 | 91.67 | 100* |
| Leucomycin | 82.30 | 91.27 | 94.61 | 100* | 59.73 |
| Spiramycin | 84.27 | 85.54 | 78.71 | 100* | 97.09 |
| Acetylspiramycin | 68.86 | 83.89 | 92.82 | 86.28 | 100* |
| Chloramphenicol | 59.66 | 79.28 | 78.42 | 95.70 | 100* |
| Chlorabulin | 39.28 | 45.42 | 53.36 | 99.80 | 100* |
| Thiophenicol | 47.18 | 64.14 | 67.13 | 78.57 | 100* |
| Thiophenicol 'glycinate | 100* | 94.05 | 77.08 | 85.18 | 99.49 |

数値は最高値との比。 * : 最高値

図1. 抗生物質の抗菌作用に及ぼす血清蛋白に対するpHの影響(磷酸緩衝液)



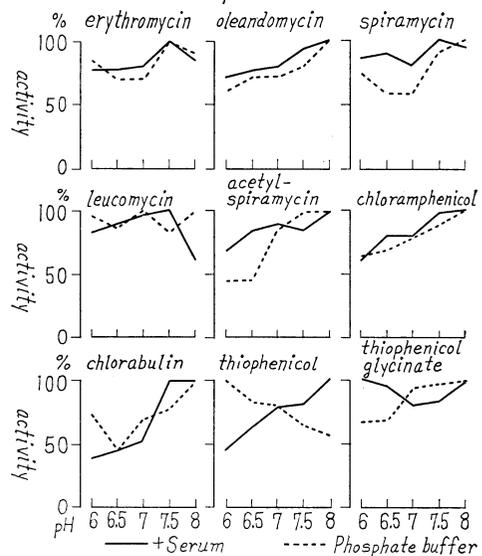
めず pH は概して同一であるが、PCG はアルカリ側に、また、LM, SPM, TP および TP-G では酸性側にみられた。つぎに最低値はほぼ半数の抗生物質では対照群と同一であるが、CER ではアルカリ側また PCG, KM, LM, CB, TP および TP-G ではそれぞれ酸性側にみられた。

その際の同一 pH における抗菌価を比較すると、概して抗菌価は低下するが、SM, KM, GM など glycoside 群抗生物質で増加し、また、SPM, AC-SPM, EM および OLM でも軽度ながら増加する場合もみられた。

以上のように、PCG 他 16 種類の抗生物質の血清蛋白による抗菌価の低下は pH 6.0~8.0 の間では、薬物の等電点およびその近くでは著変はみられず、その他の pH で変化するものが大多数であった。すなわち、水溶性抗生物質のうち酸性側に等電点のある PCG と CER は磷酸緩衝液単独で力価の低下する pH では血清蛋白の添加により力価の変化が起らないが、磷酸緩衝液単独ではほとんど力価に変化のない pH で血清蛋白の添加により力価が低下した。つぎに水溶性でアルカリ側に等電点のある glycoside 群抗生物質では pH 8.0 で力価が最高であり、これに血清蛋白を添加しても同様であった。いつぼう、その他の pH では SM, KM の力価は血清蛋白の添加により増加し、GM の力価は pH 6.0~6.5 で低下した。

いつぼう、脂溶性で酸性側に等電点のある TC 群抗生物質では pH 6.0 での力価が他の pH におけるよりも高いことは血清蛋白の添加によっても同様であるが、pH 6.5~8.0 での抗菌作用は低下した。つぎに脂溶性でアルカリ側に等電点のある macrolide 群抗生物質では抗菌作用の最高である pH で血清蛋白の添加により変化のないものと、アルカリ側に移動するものがあり、概して酸性側での抗菌作用の低下は蛋白結合により阻止される傾向がみられた。

図2. 抗生物質の抗菌作用に及ぼす血清蛋白の作用に対するpHの影響(磷酸緩衝液)



b. Tris 緩衝液の場合

Tris 緩衝液 (pH 5.0~8.0) での抗生物質の抗菌作用は、PC 群および TC 群抗生物質では pH 5.0~6.0, glycoside 群抗生物質では pH 7.0~8.0, macrolide 群抗生物質では pH 5.0~7.0 および CP 群抗生物質では pH 5.0~8.0 で最高値をしめし、最低値は 72.14% であり、上述の磷酸緩衝液にくらべ、安定であった。以上の結果をもととして PCG 他 13 種類の抗生物質と牛血清蛋白との結合状態を Tris 緩衝液 pH 5.0~8.0 で検討し、表 3 および図 3, 4 にしめす成績を得た。それぞれ最高値をしめす pH は PCG では結合率および不活性化率-pH 8.0, 再生率-pH 6.0 ならびに結合活性率-pH 7.0, ABPC では結合率, 不活性化率および再生率-pH 8.0 ならびに結合活性率-pH 7.0, CER では結合率および再生率-pH 5.0, 不活性化率-pH 8.0 ならびに結合活性率-pH 7.0, SM では結合率, 不活性化率および再生率-pH 5.0 ならびに結合活性率-pH 7.0, TC では結合率および結合活性率-pH 8.0, 不活性化率-pH 5.0 ならびに再生率-pH 6.0, MTC では結合率-pH 7.0, 不活性化率-pH 8.0, 再生率-pH 6.0 および結合活性率-pH 5.0, LM では結合率-pH 7.0, 不活性化率-pH 5.0, 再生率-pH 8.0 および結合活性率-pH 6.0, EM では結合率および不活性化率-pH 6.0 ならびに再生率および結合活性率-pH 7.0, OLM では結合率および不活性化率-pH 6.0, 再生率-pH 5.0 ならびに結合活性率-pH 8.0, ACSPM では結合率および不活性化率-pH 5.0, 再生率-pH 8.0 ならびに結合活性率-pH 7.0, CP では結合率-pH 7.0, 不活性化率-pH 5.0, 再生

率-pH 8.0 および結合活性率-pH 6.0, CB では結合率-pH 7.0, 不活性化率-pH 6.0, ならびに再生率および結合活性率-pH 8.0, TP では結合率-pH 8.0, 不活性化率-pH 6.0, 再生率-pH 5.0 および結合活性率-pH 7.0, TP-G では結合率および再生率-pH 8.0, 不活性化率-pH

表3 抗生物質の抗菌作用に及ぼす pH の影響 (Tris buffer) (%)

| Antibiotics | pH | 結合率 | 不活性化率 | 再生率 | 結合活性率 |
|------------------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| Penicillin | 5.0 | 62.75 | 31.09 | 16.06 | 15.61 |
| | 6.0 | 79.39 | 33.95 | 22.69 | 22.75 |
| | 7.0 | 80.05 | 33.47 | 17.17 | 29.42 |
| | 8.0 | 85.52 | 43.15 | 20.14 | 22.22 |
| Ampicillin | 5.0 | 70.37 | 28.99 | 12.46 | 28.92 |
| | 6.0 | 75.34 | 27.28 | 5.63 | 42.44 |
| | 7.0 | 81.50 | 23.33 | 21.08 | 37.10 |
| | 8.0 | 84.51 | 30.78 | 21.80 | 31.93 |
| Cephaloridine | 5.0 | 74.85 | 26.78 | 23.70 | 24.38 |
| | 6.0 | 58.80 | 20.32 | 18.14 | 19.54 |
| | 7.0 | 66.12 | 22.17 | 14.61 | 29.34 |
| | 8.0 | 68.02 | 44.48 | 10.01 | 13.46 |
| Streptomycin | 5.0 | 69.44 | 0.77 | 40.77 | 27.96 |
| | 6.0 | 56.58 | 0 | 19.61 | 36.97 |
| | 7.0 | 56.78 | 0 | 2.68 | 54.11 |
| | 8.0 | 51.06 | 0 | 5.93 | 45.33 |
| Tetracycline | 5.0 | 78.64 | 23.50 | 31.72 | 23.42 |
| | 6.0 | 91.46 | 9.94 | 41.47 | 40.05 |
| | 7.0 | 95.19 | 10.83 | 36.33 | 48.03 |
| | 8.0 | 97.91 | 12.14 | 27.81 | 57.97 |
| Methacycline | 5.0 | 96.48 | 27.13 | 39.32 | 30.0 |
| | 6.0 | 98.13 | 16.02 | 63.37 | 18.74 |
| | 7.0 | 99.70 | 35.20 | 53.23 | 11.26 |
| | 8.0 | 99.62 | 66.39 | 21.70 | 11.54 |
| Leucomycin | 5.0 | 88.63 | 44.29 | 12.18 | 32.16 |
| | 6.0 | 88.64 | 30.53 | 12.50 | 45.61 |
| | 7.0 | 92.22 | 40.67 | 19.28 | 32.27 |
| | 8.0 | 88.32 | 33.30 | 26.05 | 28.97 |
| Erythromycin | 5.0 | 87.50 | 41.52 | 19.40 | 26.58 |
| | 6.0 | 92.42 | 51.76 | 18.37 | 27.29 |
| | 7.0 | 82.26 | 27.43 | 19.45 | 35.39 |
| | 8.0 | 85.58 | 46.51 | 15.11 | 23.96 |
| Oleandomycin | 5.0 | 73.47 | 1.96 | 18.70 | 52.82 |
| | 6.0 | 76.09 | 12.74 | 12.81 | 50.54 |
| | 7.0 | 67.81 | 7.89 | 11.72 | 48.21 |
| | 8.0 | 76.06 | 5.40 | 0 | 70.65 |
| Acetylspiramycin | 5.0 | 78.06 | 27.58 | 5.60 | 44.88 |
| | 6.0 | 76.34 | 25.37 | 0.93 | 50.08 |
| | 7.0 | 69.05 | 14.85 | 0.52 | 53.63 |
| | 8.0 | 69.11 | 18.95 | 11.56 | 38.67 |
| Chloramphenicol | 5.0 | 88.63 | 44.29 | 12.18 | 32.16 |
| | 6.0 | 88.64 | 30.53 | 12.50 | 45.61 |
| | 7.0 | 92.22 | 40.67 | 19.28 | 32.27 |
| | 8.0 | 88.32 | 33.30 | 26.05 | 28.97 |
| Chlorabulin | 5.0 | 86.94 | 49.09 | 6.73 | 31.13 |
| | 6.0 | 91.67 | 52.91 | 7.07 | 31.69 |
| | 7.0 | 95.63 | 51.85 | 8.19 | 35.59 |
| | 8.0 | 95.17 | 45.89 | 11.13 | 38.15 |
| Thiophenicol | 5.0 | 76.19 | 20.67 | 8.99 | 46.54 |
| | 6.0 | 87.15 | 36.51 | 3.34 | 47.30 |
| | 7.0 | 84.39 | 29.13 | 0.94 | 54.82 |
| | 8.0 | 89.22 | 33.37 | 6.95 | 46.90 |
| Thiophenicol glycinate | 5.0 | 50.68 | 4.62 | 4.51 | 41.54 |
| | 6.0 | 75.96 | 11.02 | 8.92 | 54.02 |
| | 7.0 | 75.29 | 22.72 | 0.15 | 52.42 |
| | 8.0 | 80.47 | 14.07 | 22.21 | 44.19 |

7.0 ならびに結合活性率-pH 6.0 となつた。

以上のように, PCG 他抗生物質と血清蛋白との結合は pH により差があり, 結合率は PCG, ABPC, TC, TP および TP-G では pH 8.0, MTC, LM, CP および CB では pH 7.0, EM および OLM では pH 6.0 ならびに CER, SM および AC-SPM では pH 5.0 でそれぞれ最高値をしめし, 結合率と同じ pH に最高値をしめす画分は不活性化率(PCG, ABPC, SM, EM, OLM および AC-SPM), 再生率 (ABPC, CER, SM および TP-G), 結合活性率 (TC) であつた。

IV. 小 括

PCG 他 31 種類の抗生物質のウシ血清蛋白との結合状態を限外濾過法 (4°C) を用いて, それぞれの抗生物質の

図3. 抗生物質と牛血清蛋白との結合に対する pH の影響 (Tris 緩衝液)

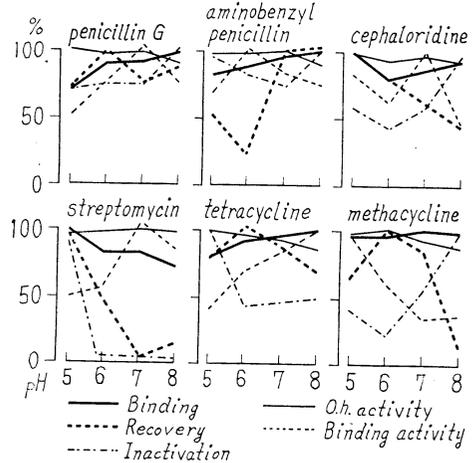
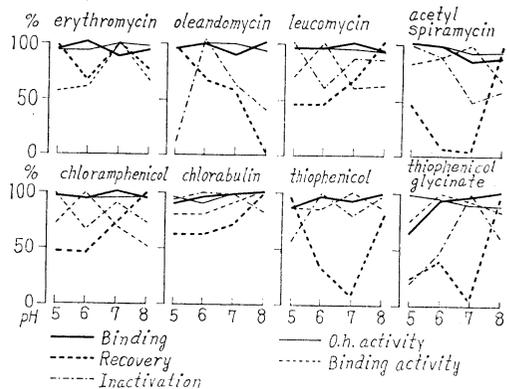


図4. 抗生物質と牛血清蛋白との結合に対する pH の影響 (Tris 緩衝液)



抗菌作用での至適に近い pH ならびに pH 5.0~8.0 で検討し、上述の成績を得た。

まず至適 pH での結合率は 15.4~99.9%, 不活性化率は 0~57.36%, 再生率は 0.49~71.01% および結合活性率は 6.66~41.72% であり、化学構造を中心とした各抗生物質群に別けてみると、PC 群抗生物質の結合率-64.9~82.7%, 不活性化率-11.96~56.85%, 再生率-7.77~25.74% および結合活性率-8.9~34.11%, glycoside 群抗生物質の結合率-0~61.4%, 不活性化率-0~10.66%, 再生率-0.49~12.8% および結合活性率-14.91~41.72%, TC 群抗生物質の結合率-91.20~99.90%, 不活性化率-16.0~41.19%, 再生率-44.98~71.01% および結合活性率-4.33~21.06%, macrolide 群抗生物質の結合率-55.22~94.10%, 不活性化率-5.37~57.36%, 再生率-1.32~31.51% および結合活性率-9.66~40.63%, ならびに CP 群抗生物質の結合率-72.6~95.68%, 不活性化率-14.37~51.85%, 再生率-8.19~30.12% および結合活性率-17.28~41.54% であり、各群別によりそれぞれ特徴のあることがうかがわれ、結合率では TC 群抗生物質>macrolide 群抗生物質>CP 群抗生物質>PC 群抗生物質>glycoside 群抗生物質の順となり、不活性化率は CP 群抗生物質=macrolide 群抗生物質>PC 群抗生物質>TC 群抗生物質>glycoside 群抗生物質、再生率は TC 群抗生物質>CP 群抗生物質>macrolide 群抗生物質>glycoside 群抗生物質ならびに結合活性率は CP 群抗生物質>glycoside 群抗生物質>macrolide 群抗生物質>PC 群抗生物質>TC 群抗生物質の順となる。

ところで上記の抗生物質とウシ血清蛋白との結合状態のうち、50% 以上をしめる結合画分が不活性化率であるものは PEPC, CER, JM, SPM, LM, EM, CB および TP-G, 再生率のものは SM, DMCTC, MC, TC および OTC ならびに結合活性率のものは KM, AKM, ASM, OLM および TP であつた。その他の抗生物質では3つの結合画分は著明な差をしめさないが、もつとも多い結合画分は不活性化率 (PP-PC, PCG, RP, 7-CILCM, AC-SPM, LCM), 再生率 (DTC) および結合活性率 (ABPC, CBPC, CP) であつた。

以上のように、水溶性の抗生物質では結合画分との結合は、PC 群抗生物質の場合 3 者ほぼ同一程度であり、glycoside 群抗生物質では再生率あるいは結合活性率が過半数であり、いずれも不活性化率が少ないことがうかがわれた。

つぎに脂溶性抗生物質では結合率は水溶性抗生物質にくらべ高値をしめし、抗菌作用における至適 pH が酸性の TC 群抗生物質では結合率がとくに高く、そのうち再生率と結合活性率が主な結合画分であるのに対し、至適

pH がアルカリ側にある macrolide 群抗生物質では他の群にくらべ不活性化率が高く、また至適 pH が中性である CP 群抗生物質では不活性化率あるいは再生率が主な結合画分であるなど、それぞれの群で結合状態に差のあることがうかがわれた。

つづいて抗生物質と血清蛋白との結合における pH の影響を検討し、荷電状態との関係をうかがうこととした。磷酸緩衝液および Tris 緩衝液での抗菌作用は pH 5.0~8.0 では概ね同一傾向であるが、前者での抗菌作用の低下がやや大きい傾向がみられた。これに血清を添加すると、PC 群抗生物質では緩衝液単独では抗菌作用の変化の少ない pH での抗菌作用が低下し、glycoside 群抗生物質では抗菌作用の増加がみられ、SM, KM ではアルカリ側、GM では酸性側であきらかであつた。TC 群抗生物質ではアルカリ側での抗菌作用の低下は血清蛋白の添加によりさらに大となつた。Macrolide 群抗生物質ではアルカリ側でもつとも高い抗菌作用をしめすが、血清蛋白の添加により酸性側の抗菌作用は減弱した。CP 群抗生物質では血清蛋白の添加により抗菌作用はさらに低下した。

Tris 緩衝液 (pH 5.0~8.0) での結合状態を検討した。結合率は PCG, ABPC, TC, TP および TP-G では pH 8.0, MTC, LCM, CP および CB では pH 7.0, EM および OLM では pH 6.0, ならびに CER, SM および AC-SPM では pH 5.0 でそれぞれ最高値をしめし、いつぼう、PCG, ABPC, TC, MTC, CB, TP および TP-G では pH 5.0, CER では pH 6.0, EM, OLM および AC-SPM では pH 7.0 ならびに SM, LCM および CP では pH 8.0 でそれぞれ最低値であつた。したがつて、結合率は抗生物質のほぼ至適 pH でもつとも少なく、それよりはなれた pH でもつとも大であつた。

このように抗生物質と血清蛋白との結合は pH により差があり、抗菌作用での至適 pH~等電点よりもそれをはなれた pH で結合が大であるが、結合画分のうち不活性化画分 (PCG, ABPC, SM, GM, OLM および AC-SPM), 再生画分 (CGR, TPG), 結合性画分 (TC) は結合率と同一傾向であるが、不活性化画分 (TC, TP), 再生画分 (PCG, TC, LM, ACSPM, TP-G) および結合活性画分 (ABPC, CER, SM, MTC, LM, OLM) はむしろ至適 pH で高い値をしめた。

V. 結 言

抗生物質の体内動態に関する研究の一端として、血清蛋白との結合状態を限外濾過法 (4°C) により検討し、つぎの結論を得た。

1) PC 群抗生物質では結合率-64.90~82.70%, 不活性化率-11.96~56.85%, 再生率-7.77~25.74%, お

よび結合活性率-8.90~34.11%であつた。

2) Glycoside 群抗生物質では結合率-0~61.40%, 不活性化率-0~10.66%, 再生率-0.49~12.80% および結合活性率-14.91~41.72%であつた。

3) TC 群抗生物質では結合率-91.20~99.90%, 不活性化率-16.0~46.19%, 再生率-44.98~71.01% および結合活性率-4.33~21.06%であつた。

4) Macrolide 群抗生物質では結合率-55.22~94.10%, 不活性化率-5.37~57.36%, 再生率-1.32~31.5% および結合活性率-9.66~40.65%であつた。

5) CP 群抗生物質では結合率-72.6~95.68%, 不活性化率-14.37~51.85%, 再生率-8.19~30.12% および

結合活性率-17.28~41.54%であつた。

6) 血清蛋白と抗生物質との最高結合率をしめす pH は, pH 5.0~8.0 の範囲内で, PC 群抗生物質-pH 8.0, glycoside 群抗生物質-pH 5.0, TC 群抗生物質では pH 7.0~8.0, macrolide 群抗生物質では pH 6.0~7.0 および CP 群抗生物質では pH 7.0~8.0 であり, それぞれの抗生物質の抗菌作用での至適 pH~等電点よりもはなれた pH で最高結合率をしめた。

稿を終るにあたり, 終始御懇篤な御指導を賜わり, 御校閲を頂いた恩師 中塚正行教授に深甚な謝意を捧げるとともに, 御懇切な御助言を頂いた荒谷助教に衷心から感謝の意を表します。

FUNDAMENTAL STUDIES ON PHARMACOKINETICS OF ANTIBIOTICS. PART 1. BINDING OF ANTIBIOTICS TO PLASMA PROTEINS

TAKAO HASHIMOTO

Department of Pharmacology, Hiroshima University

School of Medicine, Hiroshima

(Former director: Prof. MASAYUKI NAKATSUKA*)

(Director: Prof. NORIHIDE TAKEYA)

The binding of penicillin G and other 29 antibiotics to the bovine plasma proteins, a part of the pharmacokinetics of antibiotics, was investigated by the ultrafiltrating technique at 4°C.

As the rates of the binding, inactivation, recovery and binding activity, following values were obtained in order: 64.9 to 82.7%, 11.96 to 56.85%, 7.77 to 25.75% and 8.9 to 34.11% in penicillin antibiotics; 0 to 61.4%, 0 to 10.66%, 0.49 to 12.8% and 14.91 to 41.72% in glycoside antibiotics; 91.0 to 99.9%, 16.0 to 46.19%, 44.98 to 71.01% and 4.33 to 21.06% in tetracycline antibiotics; 55.22 to 94.1%, 5.37 to 57.36%, 1.32 to 31.5% and 9.66 to 40.65% in macrolide antibiotics; and 72.6 to 95.68%, 14.34 to 51.85%, 8.19 to 30.12%, and 17.28 to 41.54% in chloramphenicol antibiotics, respectively.

Optimum pH of the binding of antibiotics to the plasma proteins was in the range 5.0 to 8.0, *i.e.* 8.0 in penicillin antibiotics, 5.0 in glycoside antibiotics, 7.0 to 8.0 in tetracycline antibiotics, 6.0 to 7.0 in macrolide antibiotics, and 7.0 to 8.0 in chloramphenicol antibiotics, respectively.

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