

## 抗生物質の生体内動態に関する基礎的研究

## 第2編 肝 microsome 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

著者は第1編において、penicillin 他 31 種類の抗生物質と血清蛋白との結合について、1, 2 の検討を加え、penicillin 類抗生物質では、不活性化率と結合活性率、glycoside 群抗生物質では結合活性率、tetracycline 群抗生物質では再生率、macrolide 群抗生物質では不活性化率、結合活性率および chloramphenicol 群抗生物質では不活性化率がそれぞれ他の結合分画よりも多いことをうかがい得た。また、結合率と pH との関係について pH 5.0~8.0 の範囲内では、それぞれの抗菌作用のもつとも高い pH よりもはなれた点において高い結合率を求めた。

つづいて第2編では肝臓での抗生物質の動態をうかがうために、主として結合率を中心に検討し、次下に述べる成績を得た。

## II. 実験材料ならびに実験方法

## A 供試薬物

## B 抗菌価測定用材料および測定方法

## C 限外濾過法

以上は第1編と同一である。

D ウサギ肝臓 microsome<sup>72,76)</sup> および mitochondria<sup>73,74)</sup>は、体重 2.5kg 前後の雄性ウサギを放血致死させ、直ちに肝臓を摘出し、生塩水中で軽く洗滌し、余分の血液、水分を除き、なるべく速やかに秤量の後、下記の方法により microsome および metochondria 分画を分離した。すなわち、Warinblend の homogenizer を用いて氷冷下に最終濃度が 5% となるように 0.25M sucrose 液を加えて肝 homegenate を作り、3,000rpm で15分間遠心分離し、次の上清をさらに 9,000g—30分間遠心分離して得た上清を microsome 分画として沈渣を 0.25M sucrose で懸濁液としたものを mitochondria 分画とし、それぞれ氷室に保存した。調製後 10 カ月を経過したものは実験に用いなかた。

## E ラット肝臓 microsome は体重 200~250g の雄性

および雌性ラットについて上述のウサギの場合と同様に操作して得られたものを氷室に保存し、調製後 2 日を経過したものは実験に用いなかた。

## III. 実験成績

## A 肝 microsome による不活性化

PCG 他 14 種類の抗生物質とウサギ肝 microsome の混液を 37°C, 1 時間培養した際の抗菌価の低下を不活性化率とした。表1に示すように、LM では 74.5% でもつとも高値であり、PCG は 3.1% で最低値であつた。PC 群抗生物質では 3.1% (PCG)~24.8% (ABPC),

表1 抗生物質のウサギ肝 microsome による不活性化率 (37°C 1 hr. incubate) (%)

Antibiotics	不活性化率
Leucomycin	75.4
Acetylspiramycin	59.3
Spiramycin	55.1
Aminosidine	39.5
Streptomycin	39.3
Methacycline	35.7
Rifampicin	31.2
Gentamicin	27.9
Erythromycin	26.8
Oleandomycin	26.6
Chloramphenicol	25.8
Ampicillin	24.8
Lincomycin	24.7
Chlorabulin	23.2
Tetracycline	20.6
Kanamycin	20.4
Thiopenicol glycinate	15.0
Demethylchlortetracycline	14.7
Thiopenicol	13.9
Novobiocin	9.0
Phenoxyethylpenicillin	8.8
Phenoxypropylpenicillin	6.6
Methyldichlorophenyl- isoxazolympenicillin	5.3
Cephaloridine	5.2
Penicillin G	3.1

\* 広島大学名与教授, 長崎大学長

表2 抗生物質のウサギ肝 microsome, mitochondria による不活性化率 (37°C, 1hr, incubate) (%)

Antibiotics	Microsome	Mitochondria
Leucomycin	74.5	51.9
Acetylspiramycin	59.3	47.6
Spiramycin	55.12	35.7
Aminosidine	39.5	10.9
Streptomycin	39.3	43.2
Rifampicin	31.2	30.6
Erythromycin	26.8	29.2
Oleandomycin	26.6	10.2
Chloramphenicol	25.8	21.2
Ampicillin	24.8	17.6
Tetracycline	20.6	10.4
Kanamycin	20.4	26.0
Thiopenicol glycinate	15.0	16.8
Thiopenicol	13.9	12.9
Novobiocin	9.0	18.4
Penicillin G	3.1	2.2

表3 抗生物質とウサギ肝 microsome(雄性)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	結合活性率	再生率 不活性化率
Penicillin G	75.55	34.55	3.34	37.67	9.67
Carbenicillin	69.75	13.22	24.66	31.87	186.54
Ampicillin	60.10	0.89	18.59	40.62	2088.76
Kanamycin	98.32	30.64	58.48	9.20	190.86
Gentamicin	97.37	36.93	55.29	5.15	149.72
Aminosidine	96.94	29.12	63.75	4.06	218.92
Streptomycin	93.48	29.14	44.76	19.60	153.60
Aminodeoxykanamycin	69.75	13.22	24.66	31.87	186.54
Doxycycline	95.84	33.73	39.16	22.46	116.10
Methacycline	94.43	50.99	26.67	16.76	52.32
Minocycline	94.04	51.54	28.20	14.31	54.71
Oxycycline	84.75	28.34	16.75	39.65	59.10
Demethylchlor-tetracycline	83.53	29.38	31.07	23.08	105.75
Tetracycline	82.60	29.10	30.77	22.73	105.74
Josamycin	92.18	74.99	1.84	15.35	2.45
Leucomycin	91.96	87.68	1.82	2.46	2.08
Rifampicin	86.49	49.33	13.71	23.45	27.79
Lincomycin	82.33	52.26	0.	30.07	0
7-Chlorolincomycin	76.37	23.05	10.31	43.01	44.73
Erythromycin	74.80	11.40	22.41	40.99	196.58
Thiopenicol	76.62	46.77	3.99	25.86	8.53
Chloramphenicol	73.34	16.13	14.35	42.86	88.96

glycoside 群抗生物質では 20.4%(KM)~39.5%(AMS), TC 群抗生物質では 14.7%(DMCT)~35.7%(MTC), macrolide 群抗生物質では 24.7%(LCM)~75.4%(LM) および CP 群抗生物質では 13.9%(TP)~25.8%(CP) であつた。すなわち, 肝 microsome による不活性化はそれぞれの抗生物質により差はあるが, これを各群で見ると macrolide 群抗生物質での不活性化が最も大でありついで glycoside 群抗生物質, TC 群抗生物質, CP 群抗生物質および PC 群抗生物質の順となつた。

つぎに, microsome と mitochondria による不活性化を比較すると, 表2に示すように, mitochondria による不活性化は LM では 51.9% で最も高く, PCG では 2.2% で最も小さく, 上述の microsome と同一傾向の結果がみられた。Microsome による不活性化は mitochondria によるものよりも概して大であるが, ALM, KM, TP, TP-G および EM ではむしろ低値であつた。

以上のように, 抗生物質は肝 microsome および mitochondria のいずれによつても不活性化され, 両者による不活性化は概して microsome による不活性化が大きく (AMS 他 9 種), mitochondria による不活性化はやや大きいもの (ALM 他 4 種) もあつた。また, microsome による不活性化の高いものは mitochondria でも大きく, また microsome による不活性化の低いものは mitochondria でも小さかつた。

## B 肝 microsome

### a ウサギ肝 microsome の場合

PCG 他 21 種類の抗生物質とウサギ肝 microsome の結合状態を限外濾過法により検討し, 表3に示すように, PC 群抗生物質では 60.1%(ABPC)~75.55%(PCG), 不活性化率は 0.89%(ABPC)~34.55%(PCG), 再生率は 3.34%(PCG)~24.66%(CBPC) および結合活性率は 31.87%(CBPC)~40.62%(ABPC) であり, 結合したもののほぼ半量は結合活性率であつた。

Glycoside 群抗生物質では結合率は 69.75%(AKM)~98.32%(KM), 不活性化率は 13.22%(AKM)~36.92%(GM), 再生率は 24.66%(AKM)~63.75%(AMS) および結合活性率は 4.06%(AMS)~31.87%(AKM) であり, 結合したもののほぼ半量は AKM を除き再生率であつた。TC 群抗生物質では結合率は 82.6%(TC)~95.84%(OTC), 不活性化率は 28.34%(OTC)~50.99%(MTC), 再生率は 16.75%(OTC)~39.16%(OTC) および結合活性率は 14.31%(MC)~39.65%(OTC) であり, 結合したものの

ほぼ半量は再生率 (DTC, DMCT, TC), 不活性化率 (MTC, MC) および結合活性率 (OTC) であつた。

Macrolide 群抗生物質では結合率は 74.8% (EM) ~ 92.18% (JM), 不活性化率は 11.4% (EM) ~ 74.99% (JM), 再生率は 1.82% (LM) ~ 22.41% (EM) および結合活性率は 2.46% (LM) ~ 40.01% (7-CILCM) であり, 結合したもののほぼ半量は不活性化率 (JM, LM, RM, LCM) および再生率 (7-CILCM, EM) であつた。CP 群抗生物質の結合率は 73.34% (CP) ~ 76.62% (TP), 不活性化率は 16.13% (CP) ~ 46.77% (TP), 再生率は 3.99% (TP) ~ 14.35% (CP) および結合活性率は 25.86% (TP) ~ 42.86% (CP) であり, 結合したものの過半量は結合活性率 (CP), 不活性化率 (TP) であつた。

以上のように, 抗生物質とウサギ肝 microsome との結合状態は, 各抗生物質により差があるが, 結合率は TC 群抗生物質, glycoside 群抗生物質および macrolide 群抗生物質で高値をしめし, PC 群抗生物質および CP 群抗生物質でやや低値であつた。さらに結合率のうち半量をしめすものは, PC 群抗生物質では結合活性率, glycoside 群抗生物質では再生率, macrolide 群抗生物質では不活性化率または再生率ならびに CP 群抗生物質では結合活性率であるのに対し, もつとも少ない結合画分は, PC 群抗生物質では不活性化率 (または再生率), glycoside 群抗生物質では結合活性率 (または不活性化率), TC 群抗生物質では結合活性率 (または再生率), macrolide 群抗生物質では再生率 (または不活性化率) ならびに CP 群抗生物質では再生率であつた。さらに再生率と不活性化率との比をみると, PC 群抗生物質, glycoside 群抗生物質および CP 群抗生物質では再生率が高く, TC 群抗生物質では同一程度であり, macrolide 群抗生物質では不活性化率が高値であつた。

#### b ラット肝 microsome の場合

PCG 他 21 種類の抗生物質とラット肝 microsome との結合状態を上述のウサギの場合と同一方法により検討し, 表 4 にしめすように, PC 群抗生物質では結合率は 49.68 ~ 71.01%, 不活性化率は 23.73 ~ 32.93%, 再生率は 2.21 ~ 2.76% および結合活性率は 23.19 ~ 35.83% であり, 結合活性率または不活性化率がもつとも大きな結合画分であつた。つぎに, glycoside 群では結合率は 96.96 ~ 98.92%, 不活性化率は 26.1 ~ 46.4%, 再生率は 45.87 ~ 59.21% および結合活性率は 5.98 ~ 17.95% であり, 結合画分のうち再生率がほぼ半量であつた。

TC 群抗生物質では結合率は 81.42 ~ 94.6%,

不活性化率は 18.52 ~ 60.52%, 再生率は 7.81 ~ 42.48% および結合活性率は 14.16 ~ 33.49% であり, 再生率または不活性化率がもつとも大きな結合画分であつた。

Macrolide 群抗生物質では, 結合率は 44.81 ~ 96.16%, 不活性化率は 2.27 ~ 83.89%, 再生率は 1.28 ~ 21.08% および結合活性率は 4.88 ~ 54.0% であり, 不活性化率または結合活性率がもつとも大きな結合画分であつた。CP 群抗生物質では結合率は 63.06 ~ 88.66%, 不活性化率は 5.81 ~ 64.13%, 再生率は 8.57 ~ 21.23% および結合活性率は 16.11 ~ 57.14% であり, 結合活性率または不活性化率がもつとも大きな結合画分であつた。

以上のように, 抗生物質とラット肝 microsome との結合状態は, PC 群抗生物質では結合活性率, glycoside 群抗生物質では再生率, TC 群抗生物質では不活性化率または再生率, macrolide 群抗生物質では不活性化率または活性率がもつとも大きい結合画分であつた。

また, 上述のウサギ肝 microsome の場合にくらべ, 概して結合率およびそのうちの主な結合画分は概して同一傾向であつた。

#### c ラット microsome との結合率における性差につ

表 4 抗生物質とラット肝 microsome (雄性) との結合について (限外焔過法) (%)

Antibiotics	結合率	不活性化率	再生率	結合活性率	再生率 不活性化率
Penicillin G	71.01	32.93	2.21	35.85	6.71
Ampicillin	49.68	23.73	2.76	23.19	11.63
Gentamicin	98.92	34.04	58.90	5.98	173.03
Aminosidine	98.87	46.40	45.87	6.61	98.86
Kanamycin	98.62	26.10	59.21	13.31	226.86
Streptomycin	96.96	31.39	47.87	17.95	152.50
Doxycycline	94.60	60.52	16.28	17.80	26.90
Methacycline	93.86	33.15	42.48	18.23	128.14
Minocycline	93.85	47.47	32.23	14.16	67.90
Tetracycline	87.57	31.61	34.96	21.0	110.60
Demethylchlor-tetracycline	82.83	18.52	36.65	27.67	197.89
Oxytetracycline	81.84	40.12	7.81	33.49	19.47
Acetylspiramycin	96.16	83.89	7.41	4.88	8.84
Josamycin	90.19	42.63	12.52	35.64	29.37
Rifampicin	86.38	21.16	12.28	52.94	58.03
7-Chlorolincomycin	77.80	50.52	8.84	18.45	17.50
Oleandomycin	62.51	5.03	4.20	53.28	83.50
Erythromycin	60.25	2.27	5.98	54.0	263.44
Spiramycin	47.34	0.	21.07	26.27	
Lincomycin	44.81	5.08	1.28	38.46	20.16
Thiophenicol	88.66	64.13	8.57	13.96	13.36
Chloramphenicol	63.06	5.81	21.23	36.06	365.40

いて

PCG, SM, TC および OLM とラット肝 microsome との結合状態における性差は、表5に示すように、結合率では雌、雄性間に差はみられない。つぎに PCG では不活性化率、TC では結合活性率および OLM では不活性化率がそれぞれ雌性ラットで高値をしめた。

#### d 肝 microsome との結合の安定性

PCG 他 21 種類の抗生物質とウサギおよびラット肝 microsome との結合の安定性 (4°C における結合状態を 1 日あたりの百分率) は、表6に示すように、ラットの場合、結合率は 0.01~12.36% の低下がみられ、不活性化率は TP 他 7 種で 0.2~12.03%、および再生率では KM 他 9 種で 1.04~13.13% と低下した。したがって抗生物質とラット肝 microsome との結合の安定性は各抗生物質で差があり、TP, PCG, AB-PC および SPM

表5 抗生物質とラット肝 microsome と結合における性差について (限外濾過法) (%)

Antibiotics	sex	結合率	不活性化率	再生率	結合活性率
Penicillin G	male	71.01	32.93	2.21	35.85
	female	83.11	44.75	5.73	32.63
Streptomycin	male	96.96	31.39	47.87	17.95
	female	97.28	33.46	50.25	13.57
Tetracycline	male	87.57	31.61	34.96	21.0
	female	87.82	36.20	13.30	38.32
Oleandomycin	male	62.51	5.03	4.20	53.28
	female	67.70	17.74	5.84	44.13

では不活性化の減少, CP および TC では再生率の減少, CER を OLM では結合活性率の減少ならびに KM, GM および SM では不活性化の増加, AMS では再生率の増加, EM では結合活性率の増加がみられた。つぎに、ウサギの場合、結合率は TP を除き 0.05~2.5% 低下がみられ、不活性化率では CP 他 3 種で 0.78~1.89%、再生率では TC 他 4 種で 0.11~0.56%、結合活性率では TC を除き 0.15~6.2% 低下した。したがって、抗生物質とウサギ肝 microsome との結合の安定性はラットの場合と同様各抗生物質による差はあるが、TP, PCG, KM および GM では不活性化率の増加, CP および TC では不活性化率の低下, AMS では再生率の増加ならびに CER, OLM, EM, SPM, AB-PC および SM では結合活性率の低下がもつとも大きかつた。

このように結合率は TP を除き程度に差はあるが、経日的に低下し、penicillin 群抗生物質などではラットでの低下率および、glycoside 群抗生物質ではウサギでの低下率がそれぞれ高値であつた。このような傾向は不活性化率でもみられた。いつぼう、再生率および結合活性率では減少あるいは増加するが、それは抗生物質により差がみられ、また、動物の種に差がみられ、概してラットでの低下率が高値をしめす場合が多く、したがってラットの肝 microsome にくらべウサギ肝 microsome では抗生物質との結合が安定であることがうかがわれる。

#### IV. 小 括

PCG 他 28 種類の抗生物質の肝臓における結合状態を限外濾過法により検討し、上述の成績を得た。

肝 microsome との結合状態はウサギ(雌性)の場合、結合率は 60.1% (ABPC)~98.32 (SM)%, 不活性化率は 0.89 (ABPC)~87.68 (LM)%, 再生率は 0 (LCM)~

表6 抗生物質と肝 microsome との結合について (経日的変化) (%/day)

Antibiotics	Animal	結合率		不活性化率		再生率		結合活性率	
		Rat	Rabbit	Rat	Rabbit	Rat	Rabbit	Rat	Rabbit
Thiophenicol		-12.36	0.29	-12.03	1.55	-2.67	-0.22	2.01	-1.05
Penicillin G		-8.67	-0.20	-5.18	2.52	1.04	1.71	-4.53	-6.20
Cephaloridine		-7.18	-0.75	-1.21	0.25	-2.51	0.65	-3.46	-1.65
Oleandomycin		-6.14	-1.64	-0.2	-0.98	-1.28	0.60	-4.66	-1.32
Chloramphenicol		-4.94	-1.66	1.86	-1.89	-5.09	1.01	-1.69	-0.78
Tetracycline		-4.66	-1.33	-3.61	-0.78	-4.50	-0.56	3.70	0.16
Erythromycin		-1.80	-2.50	0.51	1.77	-3.14	0.14	10.67	-2.16
Spiramycin		-1.55	-0.56	-4.36	1.42	-1.19	0.33	4.0	-2.04
Ampicillin		-0.63	-1.36	-0.8	0.04	0.03	0.67	0.15	-2.07
Kanamycin		-0.16	-0.02	15.93	0.97	-13.13	-0.55	-2.64	-0.45
Gentamicin		-0.03	-0.11	5.66	0.20	-4.60	-0.11	-0.75	-0.20
Aminosidine		-0.02	-0.05	-1.06	-0.90	0.94	1.26	0.08	-0.15
Streptomycin		-0.01	-0.56	3.0	0.3	-2.04	-0.18	-1.21	-0.68

- : decrease rate

63.75 (AMS) % および結合活性率は 2.46 (LM) ~ 43.01 (7-CILCM) % であり、結合状態がそれぞれの抗生物質により特徴のあることは第 1 編の血清蛋白との結合状態とはほぼ同一傾向であった。

各抗生物質群別にみると、PC 群抗生物質では結合率は 60~75% で結合活性率もつとも高く、glycoside 群抗生物質では結合率は 70~98% で再生率がそのほぼ半量であった。TC 群抗生物質では結合率は 80~95% で、不活性化率のそのほぼ半量であり、macrolide 群抗生物質では結合率は 75~92% でそのうち不活性化率もしくは再生率がほぼ半量であった。CP 群抗生物質では結合率は 75% で不活性化率もしくは再生率がほぼ半量であった。同様の結合状態を動物の種を変えラットで検討した。大略ウサギと同一傾向の結果を得た。

肝臓における抗生物質の結合について、肝臓分画の mitochondria および microsome の 2 分画について、37°C 1 時間培養した際の抗生物質の力価の低下-不活性化率を検討し、PC 群抗生物質では mitochondria 分画 (2.2~17.6%)、microsome 分画 (3.1~24.8%)、glycoside 群抗生物質では mitochondria 分画 (10.9~43.2%)、microsome 分画 (20.4~39.5%)、TC 群抗生物質では mitochondria 分画 (1.0~17.2%)、microsome 分画 (14.7~35.7%)、macrolide 群抗生物質では mitochondria 分画 (10.2~47.6%)、microsome 分画 (9.0~59.3%) および CP 群抗生物質では mitochondria 分画 (12.9~21.2%)、microsome 分画 (13.9~25.8%) であり、mitochondria 分画では glycoside 群抗生物質 < macrolide 群抗生物質 > CP 群抗生物質 > TC 群抗生物質 > PC 群抗生物質 および microsome 分画では macrolide 群抗生物質 > TC 群抗生物質 > PC 群抗生物質 > glycoside 群抗生物質 > PC 群抗生物質の順となった。

なお、PC 群抗生物質、TC 群抗生物質および macrolide 群抗生物質では microsome 分画による不活性化が大きく、glycoside 群抗生物質では mitochondria による不活性化が大であるが、CP 群抗生物質では mitochondria および microsome の両分画での不活性化は同一程度であった。

つぎに、ラットにおける性差を PC, SM, TC および OLM の 4 種類で比較すると、雌性/雄性は結合率は 100~117.4% でありほとんど性差のないことがみられた。

以上のように、抗生物質と肝 microsome との結合は抗生物質の化学構造による分類にはほぼ大別され、動物の種による差および性差はほとんどないものと考えられる。

## V. 第 1 編と第 2 編の考按

抗生物質の体内分布における 1, 2 因子に関する研究の

一端として、生体成分のうち血清蛋白および肝臓画分との結合について検討し、第 1 編および第 2 編に述べる成績を得た。

さて、薬物の体内消長 (吸収, 分布, 排泄代謝) は薬効と直結する問題であり、多くの人々により報告されている。いまその 1, 2 を述べると、薬物が種々の経路から投与された場合、血流を介して Target organ 中に運搬されるが、血液の中では血清蛋白と可逆的もしくは不可逆的に結合し、薬物の毒性が低下するとともに薬効も失なわれることがある。Albumin は血清蛋白のほぼ半量をしめ、したがって多くの薬物は albumin と結合することが知られている。

いつぼう、lipid を含む他の血清蛋白分画との結合は、特に脂溶性薬物では見逃すことの出来難いものであり、薬物の物理化学的性状により albumin 分画により多く結合するか、または lipoprotein を含む分画との結合が優るかが決定され得る。このような現象は薬物の膜透過の場合にもあてはめて考えられるものである。ところで、薬物と血清蛋白との結合について、既に檜井らの報告<sup>14,15)</sup>にもあるように方法により差がみられるが、著者は膜として celophane を用い膜を透過したものを遊離型薬物とし、残余のものについて、燐酸緩衝液で稀釈することにより蛋白濃度を低下させ、可逆的結合分画 (再生率) と不可逆的結合分画 (不活性化率)、さらに結合活性率にわたる檜井の方法を用いた。

さらにこれらの結合状態は生体内での動態のうち血流中での薬物の担体、運搬ないしは貯蔵庫としての血清蛋白の意義をも知りたいとして、代謝の面がほとんど否定される 4°C の低温下での結合状態を検討した。

薬物と血清蛋白との結合については既に多くの報告があり、化学療法剤としては抗マラリヤ薬、sulfonamide<sup>6-12)</sup>、PAS<sup>8,18)</sup>、INAH、penicillin など抗生物質<sup>14-37)</sup>について検討されている。それらの方法を分類してみると、限外濾過法<sup>6,14,15,16,38,40)</sup>、透析平衡法<sup>8,14,15,41)</sup>、Sephadex-filtration<sup>19)</sup>、超遠心法<sup>9)</sup> およびイオン交換樹脂<sup>21)</sup>等があり、その際の pH は至適 pH (燐酸緩衝液) を用いたものが多く、温度は 4°C, 8, 37°C および室温 (22°C) があり、抗生物質を除く多くの薬物では化学的測定法であり、抗生物質では生物学的測定法が用いられている。著者は先にも述べたように抗生物質の体内分布ひいては治療効果を中心とした研究の一環として血清蛋白および肝 microsome との結合状態を検討したので、その生物学的測定法により研究を進めた。

つぎに、抗生物質と血清蛋白との結合率に関する先人の報告と著者の成績を比較すると、檜井<sup>14,15)</sup>、KEEN<sup>25, 17-21)</sup>らは PCG-65.0~68.0%, SM-62.4%, PE-PPC-85

%と述べ、それらとはほぼ類似の成績を得た。いつぼう、五味<sup>8)</sup>らはウマ血清蛋白との結合を透析法で検討し、PCG-21.4%, PEPC-46.0%, CB-PC-43.0%, MCI-PC-54.2%, KM-22.5%, LCM-13.1%, 7-CI-LCM-50.4%, OLM-19.9%, CER-69.3% および JM-71.1% が結合すると述べ、真下<sup>84)</sup>らは同様に透析法でヒト血清蛋白との結合率をしらべ、PCG-58.0%, SM-24.0%, TC-18.0%, CTC-66.0%, OTC-17.0%, EM-11.0%, OLM-24.0% および ALB-87% であると述べている。ウシ血清を用いた著者の成績は概して高値であり、血清の種類により差があることがわかった。すなわち、PCG ではウサギ血清-46.2%, ウマ血清-21.4%, ヒト血清-58.0~66.7% およびウシ血清-64.9% であり、それは各血清の総蛋白量あるいは albumin 量の差によるものと考えられるが、lipoprotein 分画と関与しているであろう。

さて、KEEN<sup>25)</sup>らの蛋白結合に対する pH の影響を PCG を中心に検討した成績では、結合における至適 pH は PCG-pH 4.5, 合成 PC-pH 4.0 の酸性側と PCG, 合成 PC とともに pH 9.0 のアルカリ側の2つにみられたと述べ、また KUNIN<sup>21)</sup>はヒトとウサギ血清 albumin と PCG との結合を <sup>14</sup>C を標識した(母核の acetyl) ものを用いての実験から、母核に接する Radical, いわゆる phenyl 基は結合の重要な点であり、このことはより結合率の高い合成 PC により PCG の結合が阻害されることから推測されている。著者は前述のように、PCG および合成 PC ならびに近似の構造をもつ CER を中心に pH の影響を検討し、抗菌作用での至適 pH での結合率は PCG が最も小さく、したがって Radical が結合点の1つであることが充分推測される。つぎに結合画分(不活性, 再生, 結合活性)の至適 pH が異なることは結合点、2~3コあるものと考えられる。Glycoside 群抗生物質では結合率は低い抗菌作用での至適 pH がアルカリ側であるのに対し pH 5.0 で最高の結合率をしめた。したがって、いちおうイオン結合も考えられる。TC 群抗生物質の結合率および結合画分は各 pH によりそれぞれ特異的であり、TC 群抗生物質が、3.3, 7.7 および 9.7 の3つの pKa をもつことも考え合せ、複数の結合点をもつことが考えられる。Macrolide 群抗生物質でも SM でみられたイオン結合の他に、再生率と結合活性率では抗菌作用での至適 pH 7.0~8.0 に近いところでみられることから、不活性化と再生とはやや結合点異なるものと推測される。CP 群抗生物質でも各結合画分での最高値をしめす pH は一定の傾向がみられず、したがって結合点も複数であろうと考えられる。

ところで、肝における薬物の運命については既に多くの先人により報告<sup>47-52)</sup>され、薬物の体内代謝のほとんど

表7 抗生物質と血清蛋白および肝 microsome との結合について(血清蛋白/肝 microsome) (%)

Antibiotics	結合率	不活性化率	再生率	結合活性率
Ampicilline	135.6	262.1	113.4	91.3
Carbenicillin	103.0	90.5	104.4	107.0
Penicillin G	85.9	72.9	610.8	51.2
Aminodeoxy-kanamycin	75.1	80.6	0	130.9
Streptomycin	65.7	25.4	73.3	108.2
Kanamycin	45.9	8.8	21.9	321.7
Aminosidine	15.9	0	0.8	367.2
Gentamicin	0.01	0	0	0
Demethylchlor-tetracycline	119.6	75.7	228.6	28.9
Tetracycline	115.7	55.0	220.0	56.3
Oxytetracycline	107.6	69.2	342.1	36.1
Minocycline	105.9	74.4	201.8	30.3
Methacycline	105.5	90.6	168.8	50.1
Doxycycline	98.5	84.1	114.9	93.8
7-Chlorolincomycin	113.8	113.2	305.6	68.1
Rifampicin	108.8	94.5	220.1	73.7
Josamycin	93.5	76.5	859.8	84.4
Leucomycin	75.5	39.9	1026.9	638.2
Erythromycin	73.8	388.1	5.9	23.6
Lincomycin	70.0	54.7	0	37.6
Thiophenicol	102.3	30.7	562.7	160.6
Chloramphenicol	99.0	141.1	127.5	73.5

が肝臓で行なわれると言つても過言ではない。またその中で肝 microsome での代謝は最近十数年間に急速に進歩し、注目されて来た。抗生物質のうち、macrolide 系抗生物質は肝 microsome での N-demethylation により抗菌作用が低下することが報告<sup>29,30,42,60)</sup>されている。さらに N-demethylation 活性と薬物の脂溶性との関係について MAZEL<sup>79,86)</sup>らや BRODIE らは密接な関係があると述べている。そこで代謝の前段階である結合の問題を血清蛋白と同じ条件のもとに検討した。

抗生物質を血清蛋白または肝 microsome とを比較すると、表7にしめすように、結合率では glycoside 群抗生物質を除き同一程度であり、不活性化率は肝 microsome で高値をしめし、再生率は PC 群および TC 群抗生物質では血清蛋白で高い値をしめし、その他の群では肝 microsome で高い値をしめした。結合活性率は肝 microsome で高値をしめすものと同一程度のものであった、なお抗生物質と肝 microsome との結合状態では動物の種による差または性差はほとんどみられなかつた。またその安定性はラットにくらべウサギ肝 microsome ではより安定であり、ラットでも1日あたりの結合率の低下は約13%が最高値であるに過ぎなかつた。

以上のように、抗生物質の体内動態のうち血清蛋白お

よび肝 microsome との結合はその物理化学的性状、とくに水溶性、脂溶性あるいは等電点により支配される面が多く、結合部位もイオン結合や水素結合など複数の結合があることが推測される。抗生物質の体内消長あるいは分布において、PCG や SM にくらべ TC や CP は長時間作用型であり、また臓器や組織内移行率の高いなどの事実は、抗生物質の膜透過性にくらべて、血流中および臓器内での貯溜型抗生物質量と結合率およびその結合分画とが密接な関係をもつことを示唆する成績を得た。

## VI. 結 言

抗生物質の体内動態に関する研究の一端として、肝 microsome などとの結合について検討し、つぎの結論を得た。

1) 肝 microsome および mitochondria による抗生物質の抗菌作用の低下 (37°C-1 時間) は microsome では 3.1~74.5% および mitochondria では 2.2~51.9% であり、概して microsome による不活性化が大であった。

2) 肝 microsome と抗生物質との結合は (限外濾過法, 4°C), PC 群抗生物質では結合率-49.68~75.55%, 不活性化率-0.89~34.55%, 再生率-2.21~18.59% および結合活性率-23.19~40.62%, glycoside 群抗生物質では結合率-93.48~98.92%, 不活性化率-26.1~46.4%, 再生率-45.87~63.75% および結合活性率-5.98~19.60%, TC 群抗生物質では結合率-81.42~95.84%, 不活性化率-18.52~60.52%, 再生率-7.81~42.48% および結合活性率-14.16~39.65%, macrolide 群抗生物質では結合率-44.81~92.18%, 不活性化率-2.27~52.26%, 再生率-0~22.41% および結合活性率-15.35~54.0% ならびに CP 群抗生物質では結合率-63.06~88.66%, 不活性化率-5.81~64.13%, 再生率-8.57~21.23% および結合活性率-13.96~43.01% であつた。

3) 肝 microsome と抗生物質との結合におけるラットとウサギでの種差はほとんどみられなかつた。またその際の性差もほとんどなかつたが、結合率の安定性はラットよりもウサギで安定であつた。

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 教授に深甚の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授に衷心から感謝の意を表します。

## 引 用 文 献

- 1) TURMER D.C. & BRAND L.: Quantitative estimation of protein binding site polarity fluorescence of N-arylamino-naphthalene sulfonate. *Biochemistry (Wash.)* 7: 3381~3390, 1968
- 2) GOLDBAUM L.R. & SMITH P.K.: The interaction of barbiturates with serum albumin and

its possible relation to their disposition and pharmacological actions. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* 111: 197~209, 1954

- 3) 北川晴雄, 門沢弘行: 薬物代謝の研究 (第5報), ベントバルビタールと血清蛋白との結合について, その1。薬学雑誌 88: 1512~1515, 1968
- 4) POLAK R.L. & COHEN E.M.: The binding of sarin in the blood plasma of the rat. *Biochem. Pharm.* 19: 877~881, 1970
- 5) MCMENAMY R.H., MADEJA M.I. & WATSON F.: Effects of salts and pH on the binding of thiocyanate with bovine plasma albumin. *J. B. C.* 243: 2328~2335, 1968
- 6) 酒井克治: Sulfisomezole と Sufisoxazole の蛋白結合に関する2, 3の問題。最新医学 14: 3139~3146, 1959
- 7) KAPLAN K.: Studies of sulfomethoxydiazine. 11. Antibacterial activity. *Chem. Pharm. & Therap.* 6: 316~320, 1965
- 8) 五味二郎, 青柳昭雄, 小穴正治, 山田幸寛: 化学療法の現状と将来。化学の領域 91: 143~159, 1970
- 9) MCQUEEN E.G.: Displacement from protein binding of sulphormethoxine by phenylbutazone using *in vivo* dialysis in rats. *Brit. J. Pharm.* 36: 29~34, 1969
- 10) DAVIS B.D. & WOOD W.B.: Studies on antibacterial action of sulfonamide drugs. 111. Correlation of drug activity with binding to plasma proteins. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 51: 283~385, 1942
- 11) DAVIS B.D.: Binding of sulfonamides by plasma proteins. *Science* 95: 78, 1942
- 12) DAVIS B.D.: The binding of sulfonamide drugs by plasma protein a factor in determining the distribution of drugs in the body. *J. Clin. Invest.* 22: 753~762, 1943
- 13) 青柳昭雄: PAS およびその誘導体に関する研究。慶応医学 34: 483~507, 1957
- 14) 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。前編, 血清蛋白ならびに該分画との結合について。広島大学医学雑誌 13: 601~636, 1965
- 15) 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。後編, 血清蛋白分画相互間ならびに血清蛋白と肝組織蛋白相互間の結合配分について。広島大学医学雑誌 13: 637~664, 1965
- 16) 中川晃: Spiramycin に関する薬理学的研究。第3編, 体内運命を中心に。広島大学医学雑誌 12: 491~511, 1964
- 17) KUNIN C.M.: Enhancement of antimicrobial activity of penicillins and other antibiotics in human serum by competitive serum binding inhibitors. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 117: 69~73, 1964
- 18) KUNIN C.M.: Inhibitors of penicillin binding to serum proteins. *J. Lab. & Clin. Med.* 65:

- 416~431, 1965
- 19) 村川武雄, 西田実: Penicillin 類と血清タン白との結合性に関する研究。第3報, Penicillin 類および他の抗生物質のタン白結合とゲル親和性との関連性について。Jap. J. Antibiotics 23 : 223~227, 1970
- 20) MEYER M. C. & GUTTMAN D. E. : The binding of drugs by plasma proteins. J. Pharmac. Sci. 57 : 895~918, 1968
- 21) KUNIN C. M. : Effect of serum binding on the distribution of penicillins in the rabbit. J. Lab. Med. 65 : 406~415, 1965
- 22) WOZNIAC L. A. : Studies on binding of tetracyclines by dog and human plasma. Proc. Soc. Biol. & Med. 105 : 430~433, 1960
- 23) KUNIN C. M. : Comparative serum binding, distribution and excretion of tetracycline and a new analogue. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 110 : 311~315, 1962
- 24) HALPERN B., DOLKART R. E. KUTZ J. B., DEY E. E. & WOLNAK B. : The relationship of the human plasma protein in the action and transport of penicillin. J. Pharmacol. Exper. Therap. 103 : 202~208, 1951
- 25) KEEN P. M. : The binding of three penicillins in the plasma several mammalian species as studied by ultrafiltration at body temperature. Brit. J. Pharmacol. 25 : 507~514, 1965
- 26) ROLINSON G. N. : The significance of protein binding of penicillins. Postgrad. Med. J. 40 : 20~22, 1964
- 27) KUNIN C. M. : Clinical significance of protein binding of penicillins. Ann. New York Acad. Sci. 145 : 282~290, 1967
- 28) 加藤康道, 買手哲美, 島崎日出基, 斎藤玲, 中山一朗: 新しい合成 PC 剤 P-12 の研究。Chemotherapy 13 : 185, 1962
- 29) 北本治, 深谷一太: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究, スピラマイシンについて Chemotherapy 11 : 57~60, 1963
- 30) 化本治, 深谷一太: 抗微生物剤の生体内動態に関する研究, Acetylspiramycin に関する検討。Chemotherapy 16 : 762, 1968
- 31) 加藤康道, 宮沢磨須美, 千葉亨, 千秋肇, 小島愛司, 松本幹弥, 斎藤玲, 中山一朗: Methylchlorophenyl-isoxazolympenicillin の研究。Chemotherapy 13 : 89~93, 1965
- 32) 大久保晃, 藤本安男, 岡本綾子, 東田次郎, 福田佳助, 高橋博子, 影山テル: Gentamicin の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 15 : 316~319, 1967
- 33) 清水喜八郎, 島田肇, 陣立恒夫, 奥村有史: Thio-phenicol の基礎的臨床的研究。Chemotherapy 14 : 399~403, 1966
- 34) 加藤康道, 芝木秀俊, 買手哲美, 島崎日出基, 中山一朗, 斎藤玲, 千葉亨, 富沢磨須美: Novobiocin 及び Chloramphenicol の生体内代謝に関する研究, 特に臓器による不活性化作用に就て。Chemotherapy 8 : 350~353, 1960
- 35) 黒田善雄: 抗生物質の体内活性機転に関する研究。Chemotherapy 6 : 343~360, 1958
- 36) ZINNEMAN H. H., HALL W. H., HONG L. & SRAL U. S. : Binding of erythromycin, novobiocin, chloramphenicol, chlortetracycline and nitrofurantoin by serum proteins. Antimicrob. Agents & Chemoth. 637~643, 1962
- 37) TORII T. & KOHORIUCHI Y. : Antigenicity of penicillin and its relation to albumin binding. Nature 192 : 429~431, 1961
- 38) FLEXNER L. B. : A thermodynamic analysis of ultrafiltration. J. B. C. 121 : 615~630, 1937
- 39) BOYER P. D., BALLOU G. A. & LUCK J. M. : The combination of fatty acids and related compounds with serum albumin. III. The nature and extent of the combination. J. B. C. 167 : 407~424, 1947
- 40) LAVIETES P. H. : Anaerobic ultrafiltration. J. B. C. 126 : 267~275, 1949
- 41) KEEN P. M. : The binding of penicillins to bovine serum albumin. Biochem. Pharmacol. 15 : 447~463, 1966
- 42) MAO J. C. H. & TARDREW P. L. : Demethylation of erythromycin by rabbit tissues *in vivo*. Biochem. Pharmacol. 14 : 1049~1059, 1965
- 43) MAO J. C. H., PUTTERMAN M. & WIEGAND R. K. : Biochemical basis for the selective toxicity of erythromycin. Biochem. Pharmacol. 19 : 391~399, 1970
- 44) KATO R., CHIESARA E. & FRONTINO G. : Influence of sex difference on the pharmacological action and metabolism of some drugs. Biochem. Pharmacol. 11 : 221~227, 1962
- 45) 加藤隆一: 肝ミクロゾームにおける薬物代謝酵素の誘導形成。蛋白質, 核酸, 酵素 10 : 848~858, 1965
- 46) KATO R., CHIESARA E. & VASSANELLI P. : Further studies on the inhibition and stimulation of microsomal drug-metabolizing enzymes of rat liver by various compounds. Biochem. Pharmacol. 13 : 69~83, 1964
- 47) 加藤隆一: 薬の代謝と薬効。中外医学双書, 1968
- 48) 加藤隆一: 薬の代謝と薬効。医学のあゆみ 55 : 101~106, 1965
- 49) 赤木満州雄: 薬物代謝の生化学, 南山堂, 1965
- 50) 中垣正幸: 薬物の体内移行, 南山堂, 1965
- 51) 中塚正行: 薬物の体内運命, 日本医師会医学講座 金原出版 1967
- 52) 中塚正行: 解毒 (薬理学から), 日本医師会医学講座, 金原出版, 1967
- 53) 藤本安男: 諸種抗生物質の臓器内分布と胆汁内排泄態度に関する研究, 第2編, 諸種抗生物質の胆汁内排泄に関する研究 1. 健康家兎における胆汁排泄。J. Antibiotics, Ser. B 9 : 277~282, 1956
- 54) SCHLITZ T. C., ADAMSON J. M., WORKMAN

- W. E. & NORMAN T. D. : Fetal liver disease after intravenous administration of tetracycline in high dosage. *New Engl. J. Med.* 269 : 999~1004, 1963
- 55) LEPPER M. : Metabolic effects of tetracycline. *Ann. Int. Med.* 58 : 553~555, 1963
- 56) DOEWLING H. F. & LEPPER M. H. : Hepatic reactions to tetracycline. *J. A. M. A.* 188 : 207~309, 1961
- 57) EISNER H. J. & WULF R. J. : The metabolic fact of chlortetracycline and some comparisons with other tetracyclines. *J. Pharm. Exper. Therp.* 142 : 122~131, 1963
- 58) KELLY R. G. & KANEGIS L. A. : Tissue distribution of tetracycline and chlortetracycline in the dogs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 11 : 114~120, 1967
- 59) HARRISON P. M. & STUART G. T. : Excretion of antibiotics in bile. *Brit. J. Pharmacol.* 17 : 420~423, 1961
- 60) 古川博 : Erythromycin およびその誘導体の体内動態および代謝に関する研究。 *Chemotherapy* 16 : 799~804, 1968
- 61) POMER C. D., HOFFMAN H. N., SHORTER R. G., THURBER D. L. & BARTHDOMEW L. G. : Intrahepatic cholestasis associated with the ingestion of erythromycin estolate (Ilosone). *Castroenterology* 45 : 157~160, 1963
- 62) GILBERT F. I. : Cholestatic hepatitis caused by ester of erythromycin and oleandomycin. *J. S. M. S.* 182 : 1048~1050, 1962
- 63) LEE C. C., ANDERSON R. C. & CHEN K. K. : The biliary and renal excretion of erythromycin dogs. *Antibiotics Ann.* 485~492, 1953
- 64) JOHNSON D. F. & HALL W. H. : Allergic hepatitis caused by propionyl erythromycin ester of lauryl sulfate. *New Engl. J. Med.* 265 : 1200~1202, 1961
- 65) TICKTIN H. E. & ZIMMERMAN H. J. : Hepatic dysfunction and jaundice in patients receiving triacetyloleandomycin. *New Engl. J. Med.* 276 : 964~968, 1962
- 66) ROBINSON M. M. : Antibiotics increase incidence of hepatitis. *J. A. M. A.* 178 : 89, 1961
- 67) MECHAEAL A. F. & SUTHERLAND J. M. : Antibiotic toxicity in newborn and adult rats. *Am. J. Disease of Children* 101 : 442~446, 1961
- 68) 青柳昭雄 : 化学療法と副作用 : 薬剤の血中濃度, 蛋白質結合度と副作用。 *日本医事新報* 2375 : 24~25, 1968
- 69) CALESMICK B., HARRIS W. H. & JONES R. S. : Antithyroid action of antibiotics. *Science* 119 : 128~129, 1954
- 70) LIBBY D. A. & MEITES J. : Negative effects of antibiotics on thyroid gland. *Science* 120 : 345, 1960
- 71) FOSTER J. W. & WOODRUFF H. B. : Microbiological aspects of penicillin. VI. Procedure for the cup assay for penicillin. *J. Bact.* 47 : 43, 1944
- 72) 伊藤明夫 : 小胞体 (ミクロソーム) の調製法と細分画法。 *生体の科学* 19 : 291~297, 1968
- 73) 荻原文二, 川口久美子 : 酵母のミトコンドリアの調製法。 *生体の科学* 18 : 203~212, 1967
- 74) 小田琢三, 林英生 : ミトコンドリアの subfragments の調製法。 *生体の科学* 18 : 252~260, 1967
- 75) DUVE C., PRESSMAN B. C., GIANETTO R., WATTIAND R. & APPELAMAN F. : Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. *Biochem. J.* 60 : 604~614, 1955
- 76) CHAUVEAU J., MOULE Y., ROUILLER C. & SCHNEEBELI J. : Isolation of smooth vesicles and free ribosome from rat liver microsomes. *J. Cell Biology* 12 : 17~29, 1962
- 77) ABRAHAM E. P., GARDNER A. D., CHAIN E., HEATLEY N. G., FILTCHER C. H., JEMNINGS M. A. & FLOREY H. W. : Further observations on penicillin. *Lancet* 177~189, 1941
- 78) SCHMIDT W. H. & MOYER A. J. : Penicillin. 1. Methods of assay. *J. Bact.* 47 : 199~208, 1944
- 79) COLAIZZI J. L. & KLIMK P. R. : pH-Partition behavior of tetracyclines. *J. Pharmac. Sci.* 58 : 1184~1189, 1969
- 80) DAWKINS P. D., MCARTHUR J. N. & SMITH M. J. H. : The effects of sodium salicylate on the binding of long-chain fatty acids to plasma proteins. *J. Pharm. Pharmac.* 22 : 405~410, 1970
- 81) 荒木嘉雄, 加島政昭, 大菅俊明 : 血漿蛋白質の代謝回転。 *医学のあゆみ* 43 : 208~213, 1963
- 82) CURRY H. : Theoretical changes in drug distribution resulting from changes in binding to plasma protein and tissues. *J. Pharm. Pharmac.* 22 : 753~757, 1970
- 83) ACRED P., BROWN P. M. HARDY T. L. & MANSFORD K. R. L. : A new approach to studying the protein binding properties of penicillins. *Nature* 199 : 758~759, 1963
- 84) 真下啓明, 堀内淑彦, 柴田皓二 : 薬物免疫, ペニシリンをモデルとして。 *日本臨床* 23 : 1578~1589, 1965
- 85) 真下啓明, 黒田善雄, 清水喜八郎, 原田敏雄, 大河内一雄, 畠山正巳, 国井正彦 : Oleandomycin に関する基礎的ならびに臨床的研究。 9 : 113~117, 1958
- 86) MAZEL P. & HENDERSON J. F. : On the relationship between lipid solubility and microsomal of drugs. *Biochem. Pharmacol.* 14 : 92~94, 1965

FUNDAMENTAL STUDIES ON PHARMACOKINETICS OF ANTIBIOTICS.  
PART 2. BINDING OF ANTIBIOTICS TO LIVER MICROSOMES

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 rabbit or rat liver microsomes, a part of the pharmacokinetics of antibiotics, was investigated by the ultrafiltrating technique at 4°C.

The rates of inactivation of antibiotics by liver microsomes were 3.1 to 74.5% and those by liver mitochondria were 2.2 to 51.9%. Most of antibiotics were inactivated by microsomes more greatly than by mitochondria.

As the rates of the binding, inactivation, recovery and binding activity, following values were obtained in order : 49.68 to 75.55%, 0.89 to 34.55%, 2.21 to 18.59% and 23.19 to 40.62% in penicillin antibiotics ; 93.48 to 98.92%, 2.61 to 46.4%, 45.87 to 63.75% and 5.98 to 19.6% in glycoside antibiotics ; 81.42 to 95.84%, 18.52 to 60.52%, 7.81 to 42.48% and 14.16 to 39.65% in tetracycline antibiotics ; 44.81 to 92.18%, 2.27 to 52.26%, 0 to 22.41% and 15.35 to 54.0% in macrolide antibiotics ; and 63.06 to 88.66%, 5.87 to 64.13%, 8.57 to 21.23% and 13.96 to 43.01%, respectively.

Species or sex differences in the binding of antibiotics to liver microsomes were hardly observed.

---

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