

薬物性肝障害ラットにおける  
弱塩基性薬物の体内動態変動の機序  
—血漿  $\alpha_1$  酸性糖蛋白質の影響を中心にして—

杉原 成美、古野 浩二

**Mechanisms of the disposition of a weak basic drug  
in rats with chemical liver injury**  
—The influence of plasma  $\alpha_1$ -acid glycoprotein concentration—

Narumi SUGIHARA and Koji FURUNO

**ABSTRACT**

There has been little information on the disposition of weak basic drugs in either patients or experimental model animals with hepatic disease. We have investigated the last few years the influence of liver injury on plasma pharmacokinetic and physiological parameters for quinidine in carbon tetrachloride-intoxicated rats. The systematic analysis on the alteration of such parameters for quinidine revealed that the increase in the plasma protein binding of the drug as well as the reduction of liver functions played the important role in the drug disposition. The increased protein binding of the drug in the blood was attributed to the rise in the plasma  $\alpha_1$ -acid glycoprotein concentration, which has been found to occur as an acute phase reaction in response to various pathophysiological conditions. Lastly, the sole effect of the elevation of the plasma concentration of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein on the disposition of quinidine was also studied in turpentine-treated rats without any hepatic dysfunction.

**【はじめに】**

臨床における薬物療法は、薬物を如何に有効にかつ安全に標的臓器に送達するかにある。疾患時の薬物動態は正常時に比べ大幅に異なると予想されるにも関わらず、多くの薬物動態の研究は正常実験動物においてなされており、種々の疾患時における薬物動態に関する

情報は未だ十分とはいえない。この様な現状から、疾患時における薬物動態を、疾患に関する生理的パラメーターに基づき理解し、予測し得ることは薬物療法の分野においても有用な情報を与えるものと考えられる。

肝臓は、薬物の代謝・排泄をつかさどり、さらに、血漿蛋白質合成の場となっているなど、薬物の体内動態に関する最も重要な臓器となっている。従って、肝疾患時においては、肝血流速度の低下や薬物代謝能の低下に加え、血漿蛋白質組成や含量等が変動し、薬物の体内動態が大幅に変化することが考えられる。

肝障害時における薬物動態に関して、酸性薬物では比較的多くの報告がある<sup>1-6)</sup>。その大きな特徴として、肝代謝機能の低下によるクリアランスの減少、及び血漿蛋白質結合率の減少による分布容積の増大等があげられる。特に、分布容積の増大に関しては、ガラクトサミン肝障害ラットにおけるphenytoin<sup>7)</sup>についてなど、詳細な報告がなされている。

一方、弱塩基性薬物に関しては、肝疾患患者の血漿蛋白質結合率に関する臨床報告はあるものの、一定の見解は得られておらず、結合率の増加または低下といった相反する結果が報告されているのが現状である<sup>8-12)</sup>。また、肝障害動物モデルにおいても、弱塩基性薬物の体内動態を詳細に検討した報告は、我々が知るところでは未だなされていない。一般に弱塩基性薬物は、血中において中性や酸性薬物の結合蛋白質であるalbuminやlipoproteinに結合する他、特に $\alpha_1$ -acid glycoproteinと高い親和性をもって結合していることが知られている<sup>13,14)</sup>。また、弱塩基性薬物は、中性や酸性薬物に比べ、その組織移行性が高く、その組織分布率は臓器間で著しい差を示すことが知られている<sup>15-17)</sup>。この様に、弱塩基性薬物の体内動態は、中性、酸性薬物のそれらとは大きく異なっており、肝疾患時における弱塩基性薬物の体内動態の変化について検討することは、臨床上からも有用な知見を与えるものと考えられる。

最近我々の研究室では、実験的肝障害惹起化合物として広く用いられている四塩化炭素を用いて薬物性肝障害モデルを作製し、弱塩基性薬物であるquinidineの体内動態を検討した。そして、その体内動態の変化の要因として肝機能及び血漿蛋白質結合率を中心に総合的な解析を試みた。本論においては、これらの結果を中心に弱塩基性薬物の体内動態変動の要因について解説する。

## 1. 四塩化炭素肝障害モデルにおけるquinidineの体内動態<sup>18)</sup>

### 1-1. Quinidine単回静注投与後の血中消失

Fig. 1は正常及び四塩化炭素肝障害ラットにquinidineを静注した際の血漿中からの薬物の消失曲線である。Quinidineの血漿消失はbiexponential curveで示されることから、その体内挙動は2-コンパートメントモデルを用い解析することができる。2-コンパートメントモデルとは、血中に入った薬物と直ちに平衡となる組織の集まりからなるコンパート

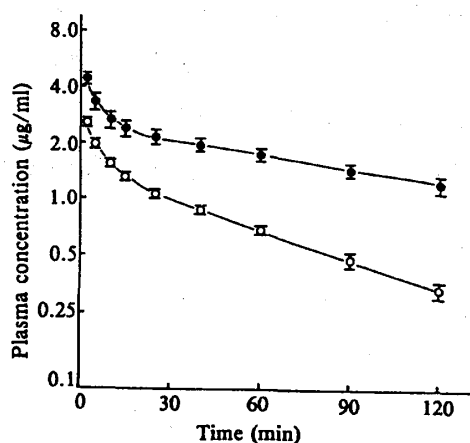


Fig. 1. Disappearance of Quinidine from Plasma after Intravenous Administration

Quinidine sulfate was injected at a dose of 12.5 mg/kg as quinidine base. Each point represents the mean  $\pm$  S.E. of 6 animals. O, control; ●, CCl<sub>4</sub>-intoxicated.

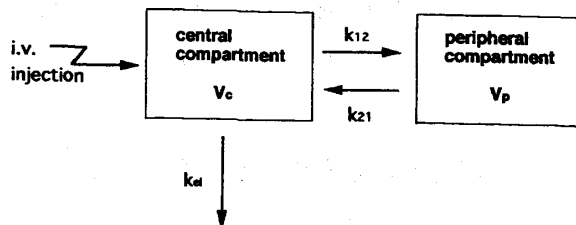


FIG. 2. 2-Compartment Model

Table I. Pharmacokinetic Parameters of Quinidine after Intravenous Administration

	Control	CCl <sub>4</sub>
A (µg/ml)	1.90 $\pm$ 0.11	3.50 $\pm$ 0.43 <sup>a)</sup>
B (µg/ml)	1.44 $\pm$ 0.07	2.52 $\pm$ 0.28 <sup>a)</sup>
$\alpha$ (min <sup>-1</sup> )	0.225 $\pm$ 0.026	0.268 $\pm$ 0.056
$\beta$ (min <sup>-1</sup> )	0.0124 $\pm$ 0.0008	0.0058 $\pm$ 0.0012 <sup>b)</sup>
k <sub>12</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.104 $\pm$ 0.013	0.152 $\pm$ 0.045
k <sub>21</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.107 $\pm$ 0.015	0.108 $\pm$ 0.012
k <sub>cl</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.0269 $\pm$ 0.0017	0.0133 $\pm$ 0.0020 <sup>b)</sup>
V <sub>c</sub> (l/kg)	3.79 $\pm$ 0.11	2.10 $\pm$ 0.13 <sup>b)</sup>
V <sub>dss</sub> (l/kg)	7.60 $\pm$ 0.33	4.89 $\pm$ 0.64 <sup>a)</sup>
AUC (µg·min/ml)	131.4 $\pm$ 9.4	481.2 $\pm$ 75 <sup>b)</sup>
CL <sub>tot</sub> (ml/min/kg)	101.7 $\pm$ 7.2	27.5 $\pm$ 3.3 <sup>b)</sup>

The drug concentrations in plasma from an individual animal were fitted to the equation  $C_t = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$  by non-linear least squares regression. Values are the means  $\pm$  S.E. of 6 animals. a)  $p < 0.01$ , b)  $p < 0.001$ .

メントと、血中の薬物と平衡になるにはある程度時間を要する組織の集まりからなるコンパートメントとを考慮に入れ、薬物の体内挙動を考えるモデルである (Fig.2)。2-コンパートメントモデルにおける薬物静注後の血中濃度 ( $C_t$ ) は式(1)に示され、種々の薬物速度論的パラメーターは式(2)–(5)から導かれる (Table I)。

$$C_t = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \dots\dots\dots (1)$$

$$AUC = A / \alpha + B / \beta \dots\dots\dots (2)$$

$$Cl_{tot} = Dose / AUC \dots\dots\dots (3)$$

$$V_c = Dose / (A + B) \dots\dots\dots (4)$$

$$V_{dss} = \text{Dose}(A/\alpha^2 + B/\beta^2)/(A/\alpha + B/\beta)^2 \dots\dots\dots (5)$$

すなわち、四塩化炭素肝障害群においては、血中からのquinidineの消失は著しく遅延し、 $\beta$ 相における半減期はcontrol値に比べて102%、AUCは266%増加し、全身クリアランス( $CL_{tot}$ )、消失速度定数( $k_{el}$ )、及び分布容積( $V_{dss}$ )は、それぞれ、73、51及び36%減少した。そこで、これらのパラメーターが変動した要因について以下に解説してみる。

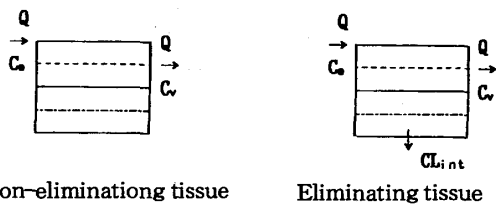
### 1-2. 薬物の組織分布が与える分布容積への影響

Table II. Tissue to Plasma Partition Coefficient ( $K_{p,vivo}$ ) of Quinidine in Various Tissues

	Control	$CCl_4$	Change (%) <sup>d)</sup>
Lung	73.1 ± 3.2	49.5 ± 4.0 <sup>b)</sup>	32
Spleen	26.0 ± 1.3	17.4 ± 0.8 <sup>b)</sup>	33
Heart	11.1 ± 1.1	7.4 ± 0.3 <sup>c)</sup>	34
Kidney	28.9 ± 1.5	17.7 ± 0.9 <sup>b)</sup>	39
Liver	26.4 ± 2.3	15.2 ± 0.8 <sup>b)</sup>	42
$R_p$ <sup>c)</sup>	1.55 ± 0.02	1.25 ± 0.05 <sup>b)</sup>	20

The plasma concentration of quinidine at the steady state condition was  $1.08 \pm 0.04 \mu\text{g/ml}$  in control and  $0.15 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$  in  $CCl_4$ -treated rats. Values are the means ± S.E. of four to eight animals. a)  $p < 0.01$ , b)  $p < 0.001$ . c) Blood-plasma concentration ratio. d) % = {(control -  $CCl_4$ )/control} × 100.

四塩化炭素肝障害モデルにおけるquinidineの $V_{dss}$ 減少を、組織分布の観点から解析する方法として、組織と血漿間における薬物の分配係数である $K_p$ 値の比較がある。そこで、quinidineの作用部位である心臓、高い移行性が知られている肺臓、消失臓器と考えられる肝臓、腎臓、及び脾臓を加えた主要な5種の組織の $K_p$ 値を求めてみた(Table II)。各組織中薬物濃度( $C_t$ )と体循環血漿中薬物濃度( $C_p$ )の比、 $C_t/C_p$ 値から $K_p$ 値を求める方法は以下に示される<sup>19)</sup>。



Non-eliminating tissue      Eliminating tissue

Fig.3 Schematic Diagram of Well-Stirred Model  
 Q: blood flow rate,  $C_a$ : drug concentration in arterial plasma,  $C_v$ : drug concentration in venous plasma,  $CL_{int}$ : intrinsic clearance,  
 -----: drug concentration in capillary,  
 -----: drug concentration in tissue.

まず、1つの組織における薬物の動きを見ると、Fig.3に示すように、薬物は組織血流速度(Q)、薬物濃度 $C_a$ で動脈から毛細血管に流れ込み、濃度 $C_v$ で静脈側に流れ出す。その間に薬物は毛細血管と組織間で濃度平衡に達するとともに、組織内で代謝、排泄等により消失する。そのため $C_a$ と $C_v$ の間に濃度差が生じる。組織分布を解析する主なモデルとして、毛細血管中の

薬物濃度を場所の関数と考えるparallel tube modelと、毛細血管中や組織中はよく攪拌され、瞬時に平衡が成立すると考えるwell-stirred modelの二つがある。

Parallel tube modelは実際の薬物の動きを反映するものと考えられるが、数学的な処理が

複雑なため、通常はwell-stirred modelで代用されることが多い。Well-stirred modelにおいては、毛細血管中薬物濃度は場所に依らず末端の組織静脈血中濃度  $C_v$  と等しいと考える。 $K_p$  値は、前述したように、組織と毛細血管の血漿間の薬物の分配係数であるので、well-stirred modelにおいては、次式で示すことができる。

$$K_p = C_t / C_v \dots\dots\dots (6)$$

(A) 非消失組織における $K_p$  値の求め方

代謝や排泄による消失を受けない非消失組織では、組織中の物質収支式は、

$$dX / dt = Q \cdot C_a - Q \cdot C_v \dots\dots\dots (7)$$

で表される。ここで、 $X$ は組織中の薬物量、 $Q$ は組織血流速度を示す。血漿中濃度が一定に保たれる定常状態では、組織中の薬物量は変化しないため、(7)式の左辺は0であり、 $C_a$  と $C_v$ は等しくなり、更に体循環血漿中の薬物濃度、 $C_p$ とも等しいことから、(8)式が得られる。

$$K_p = C_t / C_v = C_t / C_p \dots\dots\dots (8)$$

(B) 消失組織における $K_p$  値の求め方

代謝や排泄による消失を受ける消失組織では、物質収支式は次式で示される。

$$dX/dt = Q \cdot C_a - Q \cdot C_v - CL_{int} \cdot C_t \dots\dots\dots (9)$$

ここで、 $C_t$ は組織中の非結合型薬物濃度を表し、また、固有クリアランス  $CL_{int}$  は、組織が単位時間当りに組織内液から薬物を代謝、排泄によりクリアーする真の能力を表す。血液中と組織中の非結合型薬物濃度は等しいと考えられるため、

$$C_t = C_v \cdot f^B \dots\dots\dots (10)$$

となる。ここで、 $f^B$ は血液中薬物の非結合型分率を表す。また、定常状態では(9)式の左辺は0となるため、次式が得られる。

$$C_v = A \cdot C_a \dots\dots\dots (11)$$

ただし、

$$A = Q / (Q + CL_{int} \cdot f^B) \dots\dots\dots (12)$$

定常状態においては  $C_p = C_a$  となる。この $C_p$ より、control群においては $Q$ 及びquinidineの $CL_{int}$ 、 $f^B$ 値に関する文献値<sup>20)</sup>を用いて、(11)及び(12)式に従って $C_v$ を算出することができる。しかし、四塩化炭素肝障害群の $Q$ や $CL_{int}$ 及び $f^B$ の値に関しては、適当な文献値がないので、消失組織の $C_v$ は実測する必要がある。

ラットにおいてquinidineは、未変化体として尿中に排泄される割合は2.6%にすぎず、また、腎クリアランスの寄与は無視することが可能であり、全身クリアランスは肝クリアランスによりほぼ説明できることが知られている<sup>22)</sup>。以上のことから、肝臓のみを消失

臓器として扱い、肝臓における $K_p$ 値は肝静脈血漿中薬物濃度( $C_v^h$ )を実測し、他の組織では $C_p$ 値を用いて(6)式より求められる。

Quinidineの組織分布は、血漿中薬物濃度 $1 \mu\text{g/ml}$ の定常状態において測定された。定常状態を設定するためのquinidineのinfusion rate 及びbolus injection doseは、Table Iで示した急速静注後のパラメーターよりそれぞれ算出される。Quinidineの注入開始60分後には、血漿中濃度は一定となり定常状態が成立した。定常状態での実測血漿中濃度は、パラメーターから求めた理論値と差がなく、このことはパラメーターの妥当性を示すものである。完全な定常状態を確保するため、持続注入開始後90分に、肺臓、脾臓、心臓、腎臓及び肝臓の各組織中薬物濃度( $C_t$ )、頸静脈血漿中薬物濃度( $C_p$ )及び肝静脈血漿中薬物濃度( $C_v^h$ )を測定した。また、全血の薬物濃度( $C_b$ )も測定し、次式より血液-血漿間分配比、 $R_b$ 値を求めた。

$$R_b = C_b / C_p \dots\dots\dots (13)$$

Control群の $K_p$ 値は、肺臓が73.1と最も高く、以下、腎臓、肝臓、脾臓、心臓の順でそれぞれ、28.9、26.4、26.0、11.1となり、 $R_b$ 値は1.55となった。四塩化炭素肝障害群の $K_p$ 値は、control群に比べ、肺臓、脾臓、心臓、腎臓及び肝臓の各組織においてそれぞれ、32、33、34、39及び42%減少した。また、四塩化炭素肝障害群の $R_b$ 値はcontrol群の値に比べ20%減少した。以上の結果から、肝障害群におけるquinidine単回静注投与後の $V_{dss}$ の減少は、組織における $K_p$ 値と $R_b$ 値の減少によることが推察される。

次に、得られた $K_p$ 値を次式に代入して定常状態での分布容積( $V_{dss, K_p}$ )を求められる。

$$V_{dss, kp} = R_b \cdot V_b + \sum k_{p,i} \cdot V_{t,i} \dots\dots\dots (14)$$

ここで、 $V_b$ は全血液の容量、 $V_t$ は各組織の容量を示し、 $V_t$ は各組織の比重を1と考え、各組織の湿重量から得られた。 $V_b$ は、Bischoffら<sup>21)</sup>の式(15)によって求められる。

$$V_b = V_p / (1 - \text{Hematocrit}) \dots\dots\dots (15)$$

$$V_p = 44 \cdot (\text{body weight, kg})$$

$$\text{Hematocrit} = 0.42$$

Control群と肝障害群の $V_{dss, kp}$ 値はそれぞれ、1.91と1.21 l/kgであり、control群及び肝障害群の $V_{dss, kp}$ 値はともに、quinidineの静注後の血中消失曲線から得られた $V_{dss}$ 値のおよそ25%を示した。測定した臓器の全体重に対する割合が約14%であったことから、ほぼ妥当な数値と考えられる。肝障害群の $V_{dss, kp}$ 値は、control群の値に比べ約37%減少し、この値は、肝障害群の $V_{dss}$ の減少率(36%)とほぼ一致していた。以上の結果から、肝障害群における $V_{dss}$ の減少は、組織における $K_p$ 値と $R_b$ 値の減少に起因することが明かとなった。

### 1-3. 全身クリアランス減少と肝機能低下の関連

Table I に示したように、四塩化炭素肝障害時にquinidineの血中からの消失速度( $k_{el}$ )は著しく減少する。ラットにおけるquinidineの全身クリアランスは、腎クリアランスがわずかであることからほとんど肝クリアランスで説明できる。Well-stirred modelでは、薬物の肝クリアランスは次式で表される<sup>19)</sup>。

$$CL_h = Q_h \cdot E \quad \dots\dots\dots (16)$$

ここで、 $Q_h$ は肝血流量、 $E$ は肝抽出率(hepatic extraction ratio)である。従って、四塩化炭素肝障害による $k_{el}$ の減少は、肝血流量や肝抽出率を主とする肝機能の低下によるものと考えられる。そこで、肝血流量及び肝抽出率を求めて、肝障害時の全身クリアランス減少をこれらの値から解析してみた。

Table III. Hepatic Blood Flow(HBF), Hepatic Extraction Ratio(HER) and Metabolic Activity in the Liver(MA)

	Control	$CCl_4$	Change(%) <sup>e)</sup>
HBF <sup>a)</sup>	1.11 ± 0.07	0.59 ± 0.08 <sup>d)</sup>	47
HER <sup>b)</sup>	0.527 ± 0.011	0.228 ± 0.035 <sup>d)</sup>	57
MA <sup>c)</sup>	13.6 ± 0.2	2.21 ± 0.17 <sup>d)</sup>	84

- a) Hepatic blood flow(ml/min/g) was determined by using hydrogen monitor.
- b) Hepatic extraction ratios were calculated from the equation:  $HER = (C_{in} - C_{out}) / C_{in}$  where  $C_{in}$ : quinidine concentration in jugular vein;  $C_{out}$ : quinidine concentration in hepatic vein.
- c) Metabolic activity for quinidine was measured by using 9,000 x g supernatant of liver homogenates. The activity(ng/mg protein) was expressed as the amount of quinidine metabolized per mg protein for 10 min of incubation. Values are the means ± S.E. of 4 to 5 animals.
- d)  $p < 0.001$ .
- e)  $\% = \{(control - CCl_4) / control\} \times 100$ .

肝の血流量( $Q_h$ )は水素ガスクリアランス法<sup>22)</sup>により測定される。本法で求めた肝血流量( $Q_h$ )は、Table IIIに示したように、control群では1.11 ml/min/gであり、四塩化炭素肝障害群では47%減少した。一方、肝抽出率( $E$ )は、次式で求められる。

$$E = (C_a - C_v) / C_a \quad \dots\dots\dots (17)$$

$C_a$ は頸静脈中薬物濃度( $C_p$ )、 $C_v$ は肝静脈中薬物濃度( $C_v^h$ )を代入して求められる。Table IIIに示したように肝抽出率は、control群で0.527、肝障害群で0.228であり、四塩化炭素肝障害群の肝抽出率は57%減少した。

また肝抽出率は、次式によっても表される。

$$E = (f_p / R_b) \cdot CL_{int} / \{Q_h + (f_p / R_b) \cdot CL_{int}\} \quad \dots\dots\dots (18)$$

肝固有クリアランス( $CL_{int}$ )は、組織により単位時間当りに薬物が体液から代謝、排泄により除去される真の能力を示すものであり、四塩化炭素肝障害群におけるquinidineの肝抽出率の減少は、薬物の代謝酵素活性の低下によることが考えられる。そこで、(18)式より肝固有クリアランス( $CL_{int}$ )を求めた。Control群と肝障害群の $CL_{int}$ は、それぞれ229と

44 ml/min/kgであり、肝障害群値はcontrol群値に比べ81%低下していた。また、肝におけるquinidineの代謝能を、肝homogenateの9,000g上清を用いて測定した結果、肝障害群の薬物代謝能は、control群に比べ84%低下しており、肝固有クリアランスの低下率に近似している。以上の結果から、四塩化炭素肝障害群におけるquinidineの肝抽出率の減少には、肝のquinidine代謝活性の低下が大きく関与していることが明かである。

これらの実験によって得られたcontrol群と四塩化炭素肝障害群の肝血流速度( $Q_h$ )と肝抽出率(E)の値を、(16)式に代入して得られたquinidineの肝クリアランスは、control群で22.0、四塩化炭素肝障害群で5.7 ml/min/kgとなり、四塩化炭素肝障害群の肝クリアランスは、control群に比べて74%減少していた。一方、quinidine静注後の血中消失曲線から得られた血漿クリアランス( $CL_{tot}$ )は、control群で102、四塩化炭素肝障害群で27.5ml/min/kgであった(Table I)。これらの値を $R_b$ 値で割ることにより求めた全血クリアランスは、control群で65.8、四塩化炭素肝障害群で、22.0 ml/min/kgであり、四塩化炭素肝障害群の全血クリアランスは、control群に比べて67%減少していた。すなわち、この減少率は、四塩化炭素肝障害群における肝クリアランスの減少率(74%)に近似している。

## 2. 四塩化炭素肝障害モデルにおけるquinidineの組織分布変動の機序<sup>18)</sup>

四塩化炭素肝障害モデルにおいて、弱塩基性薬物であるquinidineの分布容積( $V_{dss}$ )が著しく減少するのは、組織と血漿間における薬物の分配係数( $K_p$ 値)が減少するためであることが明かとなった。この結果は、酸性薬物の分布容積が肝障害時には増大するという知見<sup>1-5)</sup>とは対照的な結果である。そこで、四塩化炭素肝障害モデルにおけるquinidineの $K_p$ 値の減少の要因について解析してみる。

### 2-1. 組織分布の理論的解析

血漿中や組織中の薬物濃度を、それぞれ結合型薬物濃度と非結合型薬物濃度の和と考えると、組織-血漿間分配係数( $K_p$ 値)は次式に書き換えることができる<sup>23)</sup>。

$$K_p = C_t / C_v \\ = (Cf^t + Cb^t) / (Cf^v + Cb^v) \dots\dots\dots (19)$$

ここで $C_t$ は組織中薬物濃度、 $C_v$ は血漿中薬物濃度、 $Cf^t$ は組織中非結合型薬物濃度、 $Cb^t$ は組織中結合型薬物濃度、 $Cf^v$ は血漿中非結合型薬物濃度、 $Cb^v$ は血漿中結合型薬物濃度を表す。(19)式は次式のように変形することができる。

$$K_p = (Cf^t/Cf^v) \cdot \{Cf^v/(Cf^v + Cb^v)\} \cdot (1 + Cb^t/Cf^t) \dots\dots\dots (20)$$

( $Cf^t/Cf^v$ )は、組織及び血漿間のpHの差による薬物分配を示すものであり、塩基性薬物の場合次式のように表すことができる。

$$Cf^t/Cf^v = (1 + 10^{pKa-pHi}) / (1 + 10^{pKa-pHv}) \dots\dots\dots (21)$$



ここで、 $pK_a$ は薬物の解離定数、 $pH_i$ は組織内pH、 $pH_v$ は血漿pHを表す。

$Cf^v/(Cf^v + Cb^v)$ は血漿中における薬物の非結合型分率を示す。

$(1 + Cb^t/Cf^t)$ は、組織における薬物の結合を示すもので、Langmuirの式により次式のように表すことができる。

$$1 + Cb^t/Cf^t = 1 + nKP / (1 + K \cdot Cf^t) \dots\dots\dots (22)$$

ここで、 $n$ は結合部位の数、 $K$ は結合定数、 $P$ は蛋白質またはphospholipidなどの組織結合因子の濃度を表している。薬物濃度が低く、また結合が線形領域では、 $K \cdot Cf^t \ll 1$ となるので(22)式は次式に変形される。

$$1 + Cb^t/Cf^t = 1 + nKP \dots\dots\dots (23)$$

以上のことから、弱塩基性薬物の $K_p$ 値は次式で表される。

$$K_p = (1 + nKP) \cdot \{(1 + 10^{pK_a - pH_i}) / (1 + 10^{pK_a - pH_v})\} \cdot \{Cf^v / (Cf^v + Cb^v)\} \dots\dots\dots (24)$$

つまり、薬物と組織成分との結合、組織と血漿間のpH差による薬物分布、ならびに血漿中における薬物の非結合率の関数として示すことができる。

## 2-2. 薬物と組織成分との結合

Table IV. Binding Ratios ( $k_{p,f,vitro}$ ) of Quinidine in Vitro in Various Tissue Homogenates

	Control	CCl <sub>4</sub>
Lung	34.7 ± 1.0	34.8 ± 4.6
Spleen	18.3 ± 0.5	17.8 ± 0.6
Heart	14.3 ± 0.7	16.4 ± 0.8
Kidney	17.4 ± 0.4	18.7 ± 0.9
Liver	19.2 ± 1.3	19.8 ± 0.6

The binding of quiniding in tissue homogenates was determined by the method of equilibrium dialysis. Values are the means ± S.E of 4 to 8 animals.

Hananoらは、酸性や中性薬物である barbiturates<sup>24)</sup>、ethoxybenzamide<sup>25)</sup>や adriamycin<sup>26)</sup>の *in vivo* 組織分布、及び弱塩基性薬物である quinidine<sup>27)</sup>の一部組織分布が、組織homogenateへの薬物結合実験から予測できることを報告している。そこで、四塩化炭素肝障害モデルにおける $K_p$ 値減少の要因を検討するため、組織homogenateへのquinidineの *in vitro* 結合を調べた。四塩化炭素投与24時間後に組織を摘出し、control群と同様に、直ちに4倍量のpH 7.0の等張bufferで組織homogenate溶液を作成した。Quinidineの組織 homogenate 結合実験は、平衡透析法でおこなった。 $K_{p,f,vitro}$ は、次式

に従って算出される。

$$\begin{aligned}
 K_{p,f,vitro} &= Ct / Cf \\
 &= (Cb + Cf) / Cf \\
 &= 1 + d \cdot C_{d,dil} / Cf \dots\dots\dots (25)
 \end{aligned}$$

ここで、Ct、Cf、Cbは、それぞれ quinidine の組織中 total 濃度、非結合型濃度、及び結合型濃度を表す。dは希釈係数を、C<sub>d,dil</sub> は希釈組織 homogenate 中の結合型 quinidine 濃度を表す。Table IV に示したように、肺 homogenate への quinidine の結合が最も高く、その他の組織 homogenate への quinidine の結合はほぼ同じ値であった。すなわち、四塩化炭素肝障害群の組織 homogenate への quinidine の結合は control 群値との間で有意な差を示さず、四塩化炭素肝障害モデルにおける quinidine の K<sub>p</sub> 値の減少は、薬物の組織への結合が低下したためではないことが明かとなった。

### 2-3. 組織と血漿間のpHによる薬物分布

四塩化炭素肝障害モデルにおける quinidine の K<sub>p</sub> 値の減少は、血液の acidosis に起因することも考えられる。すなわち、quinidine の pK<sub>a</sub> を 8.6、組織細胞内 pH は 7.0 で疾病による変化はないと仮定すると、四塩化炭素肝障害群における 32 から 42% の K<sub>p</sub> 値の減少は、(21) 式から、肝障害群の血漿 pH が 0.18 から 0.25 低下することで説明される。そこで、quinidine の K<sub>p</sub> 値の減少が血漿の acidosis に起因するものかどうか肝障害群の血液 pH の変化を調べた。測定には、注射筒型の pH 電極を用いた。四塩化炭素肝障害群の血漿 pH は 7.36 で、control 群 7.39 と有意な差は認められなかった。この結果より、肝障害群における K<sub>p</sub> 値の減少は、血漿の pH の変化によるものではないと考えられる。

### 2-4. 薬物と血漿蛋白質との結合

Table V. Plasma Free Fraction (f<sub>p</sub>) of Quinidine

	Control	CCl <sub>4</sub>	Change (%)
f <sub>p</sub>	0.315 ± 0.016	0.207 ± 0.011 <sup>a)</sup>	34

The plasma protein binding of quiniding was measured by the method of ultrafiltration. Values are the means ± S.E. of 5 animals. a) p < 0.01. b) Calculated by the equation: % = {(control - CCl<sub>4</sub>)/control} x 100.

K<sub>p</sub> 値を支配する第三番目の要因は薬物の血漿蛋白質結合率の変化である。ラット血漿中 quinidine 濃度が、1 μg/ml の定常状態を作成し、下大静脈より血液を採集した。弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合率は、pH の影響を大きく受けることから、採血後の pH 変動を抑えるため、phosphate buffer で血漿の pH を 7.4 に調整し、限外濾過法により測定した。

Table V に示したように、control群においてquinidineの血漿中非結合型分率( $f_p$ )は0.315であった。一方、四塩化炭素肝障害群において、quinidineの $f_p$ は、control群値に比べて34%減少した。肝障害群の各組織の $K_p$ 値の減少率は、32から42%であり、またquinidineを静注した際の分布容積( $V_{dss}$ )の減少は36%であった。以上の結果から、四塩化炭素肝障害群におけるquinidineの $K_p$ 値及び $V_{dss}$ の減少は、薬物の血漿蛋白質結合率の上昇に起因することが明かとなった。

### 3. 四塩化炭素肝障害モデルにおける弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合率増大の要因<sup>28)</sup>

前述した様に、四塩化炭素肝障害モデルでのquinidineの分布容積( $V_{dss}$ )の減少は、薬物の血漿蛋白質結合率の上昇によるものであることが明かとなった。これは、酸性薬物の血漿蛋白質結合率が肝障害時に減少するとされている<sup>1-5)</sup>ことと対照的な結果である。弱塩基性薬物は、albuminや、lipoproteinに結合するほか、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein (AGP)に高い親和性をもって結合することが知られている<sup>29,30)</sup>。 $\alpha_1$ -acid glycoproteinは、炎症性病変に反応して、肝臓で合成される急性期炎症蛋白質群の一種である<sup>31,32)</sup>。肝障害時においては、血漿中のalbuminやlipoprotein濃度が減少するのに対し<sup>4,33)</sup>、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は増加する可能性が考えられる。ここでは、四塩化炭素肝障害モデルにおけるquinidineの血漿蛋白質結合率上昇の原因を明らかにするため、弱塩基性薬物の *in vitro* 血漿蛋白質結合率と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度との関係について述べる。

#### 3-1. 薬物と血漿蛋白質との結合

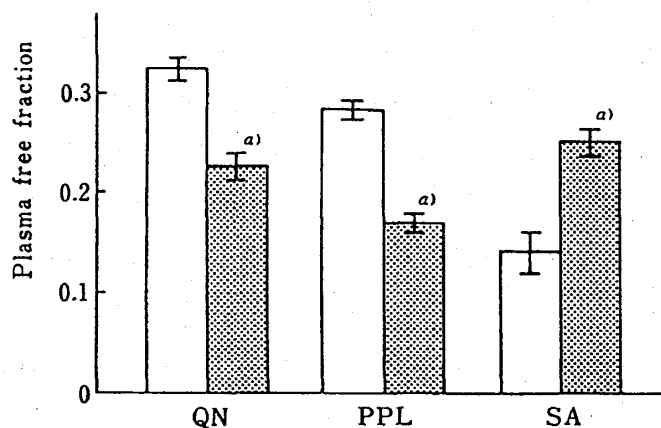


Fig. 4. Binding of Various Drugs to the Proteins from the Control and  $CCL_4$ -Intoxicated Rats

Animals were sacrificed 24 h after the injection. Plasma samples containing each drug at a concentration of  $1 \mu\text{g/ml}$  were ultrafiltered. Plasma free fractions of the drug were expressed as ratios of the amount of drug in the filtrate to the total amount of drug. Values are the means  $\pm$  S.E. of 6 to 9 animals. Significantly different from control; a)  $p < 0.01$  QN, quinidine; SA, salicylic acid  $\square$ , control;  $\blacksquare$ ,  $CCL_4$ .

四塩化炭素肝障害ラットにおけるquinidineの血漿蛋白質結合率をin vitroにおいて検討した。四塩化炭素投与24時間後のラット血漿へquinidine及びpropranololを、また比較として酸性薬物であるsalicylic acidを、薬物濃度が各々1  $\mu$ g/mlとなるように添加し、control群及び肝障害群の各薬物の血漿中非結合型分率( $f_p$ )を調べた。Fig.4に示したように、Salicylic acidの $f_p$ は四塩化炭素肝障害群ではcontrol群のそれに比べて71%増加した。この結果は同じく酸性薬物であるphenytoinの血漿蛋白質結合率が、ガラクトサミン肝障害ラットにおいて減少したというIthoらの報告<sup>7)</sup>と一致する。肝障害時の酸性薬物の蛋白質結合率減少の原因としては、albuminやlipoproteinなどの血漿蛋白質濃度の減少に加え、bilirubinやfree fatty acidsなど内因性競合物質の血漿中濃度増加のためと説明されている<sup>33-35)</sup>。酸性薬物とは対照的に、弱塩基性薬物であるquinidineやpropranololの $f_p$ は、四塩化炭素肝障害群ではcontrol群のそれに比べそれぞれ30及び41%減少した。Quinidineのin vitroでの $f_p$ は、in vivoにおける $f_p$ 値と同程度のものであった(Table V)。

### 3-2. 種々の血漿蛋白質の濃度

Table VI. The Plasma Concentrations of Total Proteins, Albumin, Lipoproteins and  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein (AGP) in Control and CCl<sub>4</sub>-Intoxicated Rats

Constituent	Concentration (mg/ml plasma)	
	Control	CCl <sub>4</sub>
Total proteins	73.2 $\pm$ 1.34	70.2 $\pm$ 1.13
Albumin	41.7 $\pm$ 0.7	40.6 $\pm$ 0.7
Lipoproteins	1.21 $\pm$ 0.073	0.62 $\pm$ 0.042 <sup>a)</sup>
AGP	0.168 $\pm$ 0.012	0.460 $\pm$ 0.025 <sup>a)</sup>

Animals were sacrificed 24 h after the injection. Values are the means  $\pm$  S.E. of 6 to 9 animals. Significantly different from control; a)  $p < 0.0001$ .

Table VIは、control群及び四塩化炭素肝障害群の血漿 total protein、albumin、lipoprotein及び $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の測定値である。Total protein並びにalbumin濃度は、control群と四塩化炭素肝障害群間で有意な差を示さなかった。Lipoprotein濃度は、四塩化炭素肝障害群ではcontrol群値の約半分に減少した。 $\alpha_1$ -Acid glycoprotein濃度は、control群では168  $\mu$ g/mlであったが、四塩化炭素肝障害群では、約2.7倍の460  $\mu$ g/mlに増加した。Fig.5は、四塩化炭素投与群における血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度とGPTの経時変化を示したものである。血漿中の $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は、四塩化炭素投与24時間後でcontrol値の2.7倍、48時間後では4.8倍に上昇し、その後漸次減少した。一方、GPTレベルは、投与24時間後に最高値を示し、以後48時間までに急速に減少した。

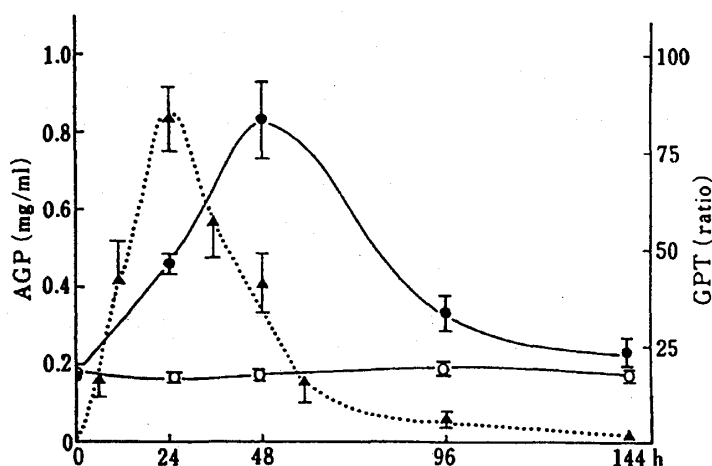


Fig.5 Changes in the Plasma Concentrations of  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein (AGP) and GPT in the Rat after the CCl<sub>4</sub>-Intoxication

Animal were sacrificed at definite times after the injection. Values are the means  $\pm$  S.E. of 6 to 8 animals. The AGP level;  $\circ$ , control group;  $\bullet$ , CCl<sub>4</sub> group. The GPT levels ( $\blacktriangle$ ) were expressed as ratios of the plasma concentrations in the CCl<sub>4</sub>-intoxicated rats to those in normal rats.

### 3-3. 血漿蛋白質結合率と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein 濃度の相関

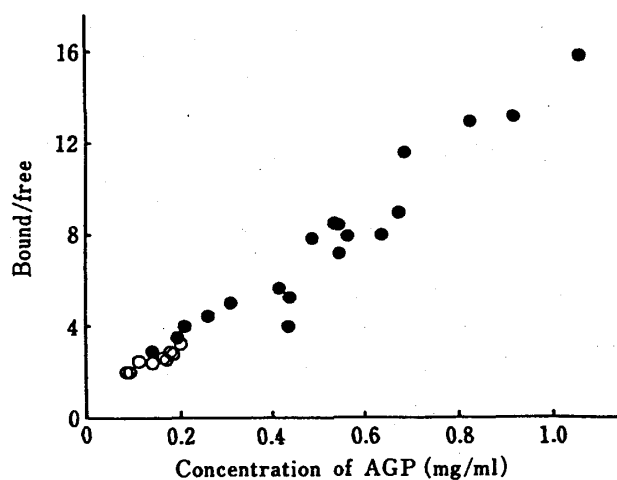


Fig.6. Relationship between the Ratios of Bound to Free Fraction of Propranolol and the Concentration of  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein (AGP) in the Plasma from Rats

Animals were sacrificed at various intervals after the injection.  $\circ$ , control group;  $\bullet$ , CCl<sub>4</sub> GROUP. Regressin line  $y = 13.95x + 0.415$ ;  $r = 0.978$ ;  $p < 0.001$ .

血漿  $\alpha_1$ -acid glycoprotein 濃度の変動が弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合率に著しく影響を及ぼす。血漿中の薬物は次式によって表される。

$$C_p = C_f + C_b^{AGP} + C_b^{Alb} + C_b^{Lip} \dots\dots\dots (26)$$

ここで、 $C_f$ は血漿中の遊離薬物濃度、 $C_b^{AGP}$ 、 $C_b^{Alb}$ 及び $C_b^{Lip}$ はそれぞれ、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein、albuminもしくはlipoproteinへの結合型薬物濃度を表す。Langmuirの式

に従うと、薬物の血漿蛋白質への結合は、線形領域において次式によって表される。

$$C^i = \sum n_i K_i P_i C_f \dots\dots\dots (27)$$

ここで、 $n_i$ 、 $K_i$ 及び $P_i$ は血漿蛋白質 $i$ の結合部位の数、結合定数及び蛋白質濃度を表す。従って(27)式を変形すると、

$$C_p / C_f = 1 + \sum n_i K_i P_i$$
$$(C_p - C_f) / C_f = \text{bound} / \text{free} = \sum n_i K_i P_i \dots\dots\dots (28)$$

従って、薬物の血漿蛋白質濃度と血漿蛋白質濃度との相関は、縦軸にbound/free、横軸に蛋白質濃度をとって調べられる。

Fig.6は、四塩化炭素投与ラット血漿において、propranololのbound/freeを縦軸に、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度を横軸にとりplotしたものである。これらのplotは、相関係数 $r = 0.978$ の直線性を示し、propranololの血漿蛋白質結合と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は高い相関性を有することが示された。以上の結果から、四塩化炭素肝障害モデルにおける弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合率増加の主な要因は、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の増加であると考えられる。また、ヒトにおいて、肝疾患は様々な原因で引き起こされるが、四塩化炭素肝障害のような重篤な肝障害時においても、肝臓組織における $\alpha_1$ -acid glycoproteinの生合成が増大していることは興味深い。

#### 4. 種々の薬物性肝障害モデルにおける弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合<sup>36)</sup>

$\alpha_1$ -Acid glycoprotein(AGP)は、急性期炎症蛋白質群の一種であり、外傷、リウマチ性関節炎、火傷、心筋梗塞及び癌などの疾患において、その血漿中濃度は著しく増加する。肝障害の際、本臓器が $\alpha_1$ -acid glycoprotein合成の場であることから、その病理学的状態によって血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は複雑に変動する<sup>13,37)</sup>。すなわち、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は、慢性の肝疾患あるいは肝硬変患者では減少するとされている<sup>38,39)</sup>。一方、急性ウイルス性肝疾患患者では上昇する報告がある<sup>40,41)</sup>。また、動物実験においても、ガラクトサミン肝障害モデルでは、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は低下すると報告<sup>42,43)</sup>されているが、前述した様に、四塩化炭素肝障害モデルでは、血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度が増加することが判明した。この様に、肝疾患時における血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の変動に関する報告は少なく、また、一致した見解が得られていない。

ここでは、種々の薬物性肝障害モデルを作製し、その血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度及びalbumin濃度の変動を調べると共に、弱塩基性薬物であるPropranololの血漿蛋白質結合率と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度との関係について述べる。

#### 4-1. 血漿蛋白質濃度の変動

肝障害惹起薬物として、四塩化炭素(CCl<sub>4</sub>, 1ml/kg)の他に、galactosamin(GalN, 500 mg/kg)、ethionine(EN, 800mg/kg)、N-nitrosodimethylamine(NDA, 50mg/kg)、allyl alcohol(AOH, 50mg/kg)、acetaminohen(AA, 900mg/kg)、あるいはbromobenzene(BB, 1ml/kg)を用いた。N-Nitrosodimethylamine、acetaminophen及びbromobenzeneは致死量に近い量を投与し、ethionineは肝障害を最も強く引き起こすと報告されている投与量を用いた。薬物投与群の血漿GPT値は、いずれもcontrol群値に比べて有意に増加しており、肝障害が惹起されたが、各々の肝障害モデル間においてGPT値に大きな差が認められた。

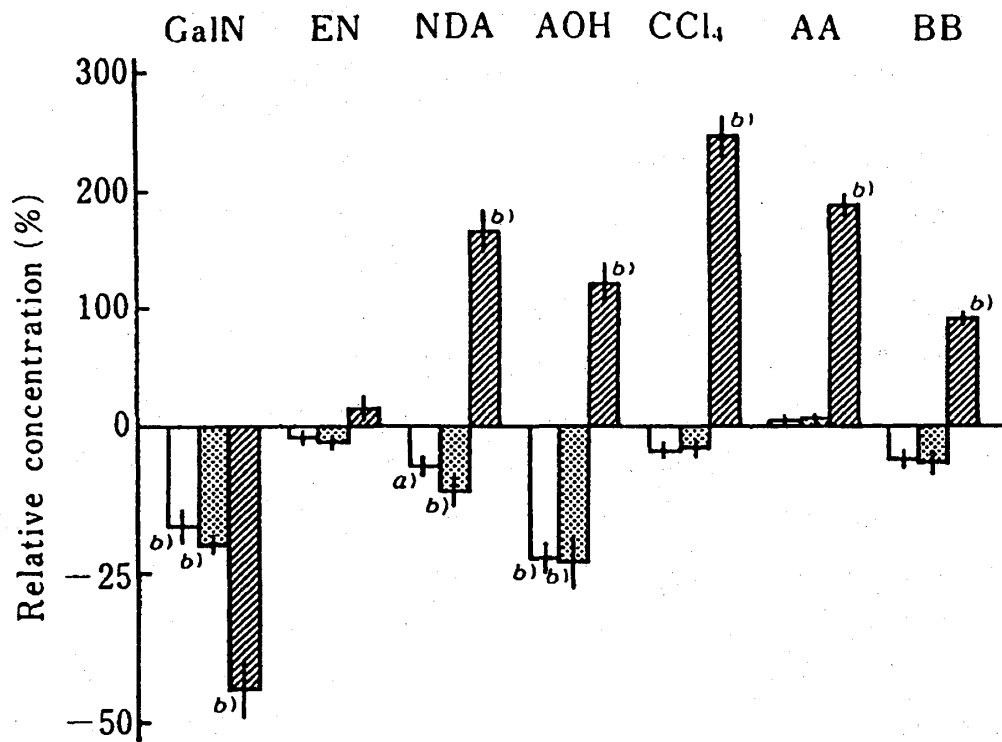


Fig.7 Relative Plasma Concentrations of Total Protein, Albumin and  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein (AGP) in Several Models of Chemically-Induced Liver Injury

The relative concentration (%) were calculated from the equation:  
 $\% = \{(P_i - P_c) / P_c\} \times 100$  where  $P_i$  is the Plasma protein in the rats with chemically-induced hepatic injury and  $P_c$  is the plasma protein concentration in the control rats. Values are the means  $\pm$  S.E. of 4 to 10 animals. Significantly different from control; a)  $p < 0.01$ . GalN, Ethionine; NDA, N-nitrosodimethylamine; AOH, allyl alcohol; AA, acetaminophen; BB, bromobenzene.

□, total protein;      ▨, albumin;      ▩, AGP.

Control群の血漿中total protein、albumin、及び $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は、それぞれ76.9、37.2及び0.137mg/mlであった。Fig.7は、それぞれの肝障害群の血漿蛋白質濃度を、control群値からの変化%で示している。Galactosamine投与群の血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度はcontrol群値に比べ45%減少した。この結果は、Monnetら<sup>43)</sup>の報告と一致している。対照的に、四塩化炭素、acetaminophen、N-nitroso-dimethylamine、allyl alcohol及びbromobenzeneの投与群では、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度はcontrol群値に比べて明らかに増加しており、その増加率は、それぞれ、244、188、166、122及び92%であった。一方、ethionine投与群の血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度には有

Table VI. Classification of Several Different Models of Chemically-Induced Liver Injury

Category 1	AGP ↑, Albumin →	CCl <sub>4</sub> , Acetaminophen, Bromobenzene
Category 2	AGP ↑, Albumin ↓	N-Nitrosodimethylamine, Allyl alcohol
Category 3	AGP →, Albumin →	Ethionine
Category 4	AGP ↓, Albumin ↓	Galactosamine

意な変化が認められなかった。

血漿albumin濃度は、allyl alcohol、galactosamine、及びN-nitrosodimethylamine投与群において、control値に比べそれぞれ、23、20及び11%減少した。また、血漿total protein濃度も、allyl alcohol、galactosamine及びN-nitrosodimethylamine投与群においては、albumin濃度の減少に対応して、それぞれ、23、17及び8%減少した。四塩化炭素、acetaminophen及びbromobenzene投与群の血漿中total protein及びalbumin濃度にはほとんど変化が認められなかった。従って、作製した種々の薬物性肝障害モデルは、その血漿蛋白質濃度の変動の違いから、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度のみ増加するもの(category I)、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度が増加し、albumin濃度が減少するもの(category II)、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度、albumin濃度ともに変化しないもの(category III)、及び $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度、albumin濃度ともに減少するもの(category IV)の四種に分類することができる(Table VII)。

#### 4-2. 肝障害度と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の関係

薬物性肝障害モデルにおける血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の増加の原因として、肝細胞障害にひき続いて起きる炎症性反応が考えられる。そこで、種々の肝障害モデルにおいて血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の増加と、肝細胞壊死の指標となる血漿中GPT増加との相関性を調べた。四種類の肝障害モデルのcategoryの中から肝障害惹起薬物として、



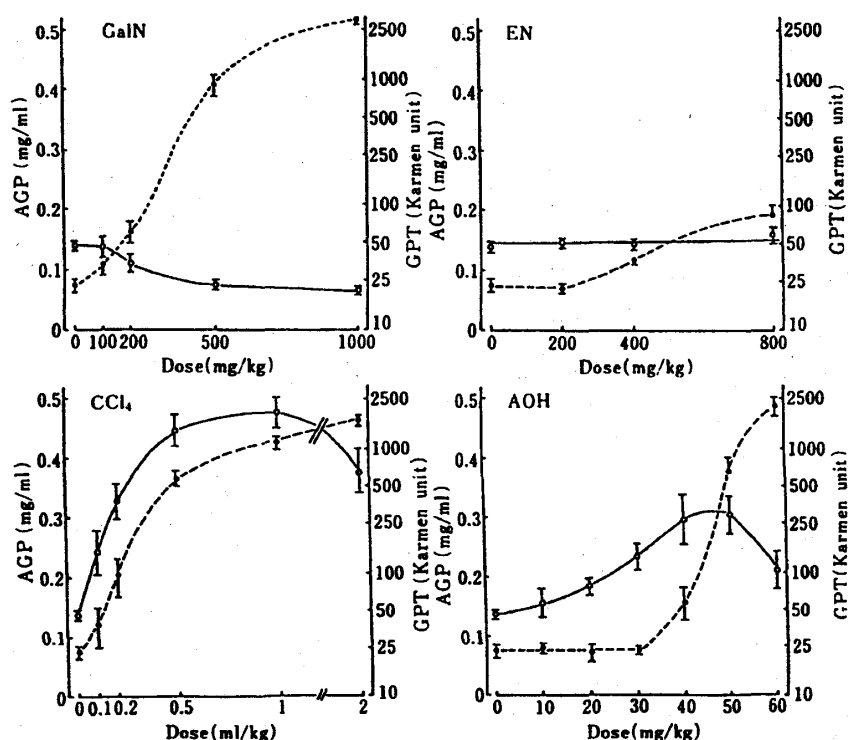


Fig.8 The Plasma Concentrations of  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein (AGP) and GPT in the Rats Treated with Various Doses of CCl<sub>4</sub>, Allyl alcohol, Galactosamine or Ethionine

Animals were sacrificed 24 after the injection of hepatotoxin. Various are the means  $\pm$  S.E. of 7 to 8 animals.  $\circ$ , AGP level;  $\bullet$ , GPT level. GalN, galactosamine; EN, ethionine; AOH, allyl alcohol.

それぞれ、四塩化炭素、allyl alcohol、galactosamine及びethionineを選択し、Fig.8に、横軸の投与量に対して血漿中の $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度とGPT活性を縦軸にplotした。四塩化炭素群の血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は、投与量の増加とともに、GPT活性の上昇とはほぼ平行して増加した。しかしながら、allyl alcohol投与群においては、GPTレベルが上昇する以前から、血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の増加が認められた。また、四塩化炭素、allyl alcohol投与群とも、重篤な肝障害の状態では、血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は逆に低下した。一方、galactosamine投与群では血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は、いかなる投与量においても増加することなく、肝障害の重篤度と共に漸次減少した。また、ethionine投与群においては、血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の有意な変化は認められなかった。以上の結果から、肝障害惹起薬物投与モデルにおいて、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の上昇は、肝障害の程度とは相関しないことが示された。

#### 4-3. 血漿蛋白質結合率と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度との相関

血漿albuminと $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の変動が弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合率に及ぼす影響を評価するため、血漿蛋白質濃度とpropranolol血漿蛋白質結合を同時に、

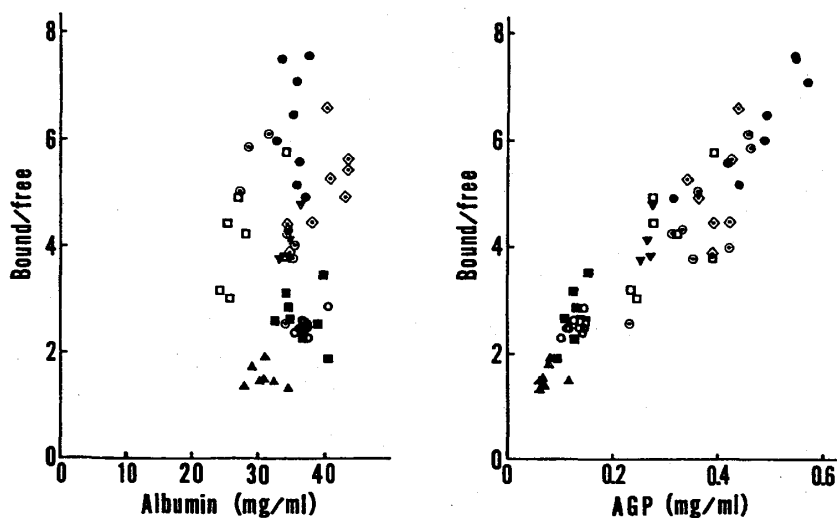


Fig.9 Relationships between the Bound to Free Fraction of Propranolol and the Concentrations of  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein(AGP) or Albumin in the Plasma from Control and Several Different Models of Chemically-Induced Liver Injury

The same plasma samples as those shown in Fig.7 were subjected to the experiments.  
 ○, control; ▲, galactosamine; ■, ethinonine; ▽, N-nitrosodimethylamine; □, allyl alcohol; ●, CCL<sub>4</sub>; ◊, acetaminophen; ▽, bromobenzene. Regression line for  $\alpha_1$ -acid glycoprotein  $y = 11.90x + 0.714$ ;  $r = 0.940$ ;  $p < 0.0001$ .

種々の薬物性肝障害モデル間で調べた。Fig.9は、propranololの血漿蛋白質結合性をbound/freeで表したものを縦軸に、albuminあるいは $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度を横軸にとりplotしたものである。Propranololの血漿蛋白質結合は、albumin濃度との間には相関性を示さず、一方、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度との間には相関係数 $r=0.940$ で高い相関性を示した。以上の結果から、種々の薬物性肝障害モデルにおいて、propranololの血漿蛋白質結合率は、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の変動に大きく影響を受け、一方albumin濃度の変動には影響をほとんど受けないことが判明した。

##### 5. 高 $\alpha_1$ -acid glycoprotein血漿モデル（テレピン油投与ラット）におけるquinidineの体内動態<sup>44)</sup>

前述のように、四塩化炭素肝障害モデルでは、血漿中の $\alpha_1$ -acid glycoprotein(AGP)濃度が上昇することにより、quinidine等の弱塩基性薬物の血漿蛋白質結合率が増加することが判明した。また蛋白質結合率の増加は、四塩化炭素肝障害モデルにおいて、quinidineの分布容積( $V_{dss}$ )を減少し、更にplasma total body clearance( $CL_{tot}$ )や消失速度定数( $K_{el}$ )の減少にも影響を及ぼしていると考えられた。しかしながら、四塩化炭素肝障害モデルにおいては、quinidineの体内動態変化の要因として、血漿蛋白質結合率の増加の他に、肝代謝能、肝血流量の著しい減少も充分考慮しなくてはならない。従って、quinidineの血漿蛋白質結合率の増加が及ぼす本薬物の体内動態への影響について詳細に

検討するためには、肝障害及び肝血流低下を伴わず、 $\alpha_1$ -acid glycoprotein 濃度のみが上昇する動物モデルが必要と考えられる。

テレピン油をラットに皮下投与すると、投与部位に肉芽を形成するとともに、血漿中  $\alpha_1$ -acid glycoprotein 濃度が著しく上昇することが知られている<sup>45,46)</sup>。ここでは、ラットにテレピン油を投与して高  $\alpha_1$ -acid glycoprotein 血漿モデルを作製し、その肝機能を検討すると共に、quinidine の血漿蛋白質結合率の増加が本薬物の体内動態に及ぼす影響について述べる。

### 5-1. 生理学的パラメーター

Table VIII. Physiological Parameters in Turpentine Oil-Treated Ras

	Control	Turpentine <sup>a)</sup>	
		16 h	48 h
GPT(Karmen unit)	19.5 ± 1.0	20.6 ± 1.01	18.6 ± 1.3
Albumin(mg/ml)	37.2 ± 1.2	38.6 ± 0.7	39.4 ± 0.5
AGP(mg/ml)	0.142 ± 0.011	0.466 ± 0.045 <sup>f)</sup>	2.18 ± 0.13 <sup>f)</sup>
HBF(ml/min/g) <sup>b)</sup>	1.11 ± 0.07	—	1.13 ± 0.10
$f_p$ <sup>c)</sup>	0.332 ± 0.009	0.234 ± 0.020 <sup>e)</sup>	0.079 ± 0.006 <sup>f)</sup>
$R_b$ <sup>d)</sup>	1.50 ± 0.02	1.19 ± 0.03 <sup>f)</sup>	0.704 ± 0.020 <sup>f)</sup>

a) Determined at 16 h and 48 h after the injection of turpentine oil at a dose of 0.5 ml per 100g body weight. b) Hepatic blood flow was measured hydrogen gas clearance method. c) Free fraction of quinidine in the plasma. The concentration of quinidine in plasma was 1  $\mu$ g/ml. d) Blood-to plasma concentration ratio. Significantly different from the control group, e)  $p < 0.01$ , f)  $p < 0.001$ . Values are the means  $\pm$  S.E. of 4 to 6 animals.

テレピン油をラットに皮下投与し、16、48時間後に（以後16h-テレピン群、48h-テレピン群と表す）血漿中albuminや $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度、quinidineの血漿中非結合型薬物分率( $f_p$ )及び血液-血漿間分配比( $R_b$ )、さらに肝機能を示すものとして血漿GPTと肝血流量をTableVIIIに示している。テレピン油投与群の肝血流量及びGPT値は、

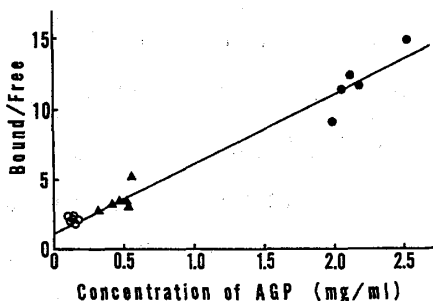


Fig.10 Relationship between the Ratio of the Bound to Free Fraction of Quinidine and the Plasma  $\alpha_1$ -Acid Glycoprotein(AGP) Concentration in Rats

Control( $\circ$ ), 16 h-( $\Delta$ ) and 48 h-( $\bullet$ ) turpentine oil-treated rats. The line represents regression line ( $r = 0.987, p < 0.001$ ).

control群値と比べて有意な変化が認められなかった。従って、テレピン油投与によってラットに肝障害は惹起されていないことが推察される。一方、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度は、16h-及び48h-テレピン群で、それぞれcontrol群値の約3倍及び約15倍に増加した。しかし、血漿中albumin濃度はcontrol群

値と比べて有意に変化しなかった。16h-及び48h-テレピン群から、血漿中quinidine濃度が $1\mu\text{g/ml}$ の定常状態で採集した血漿におけるquinidineの $f_p$ は、それぞれ0.234と0.079であり、control群値と比べて30%及び76%減少した。Fig.10は、quinidineの血漿蛋白質結合性をbound/freeで表したものを縦軸に、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度を横軸にとりplotしたものである。これらのplotから、相関係数 $r=0.987$ が得られ、quinidineの血漿蛋白質結合と血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の間には、非常に高い相関性があることが示された。

## 5-2. Quinidine単回静注投与後の血中消失

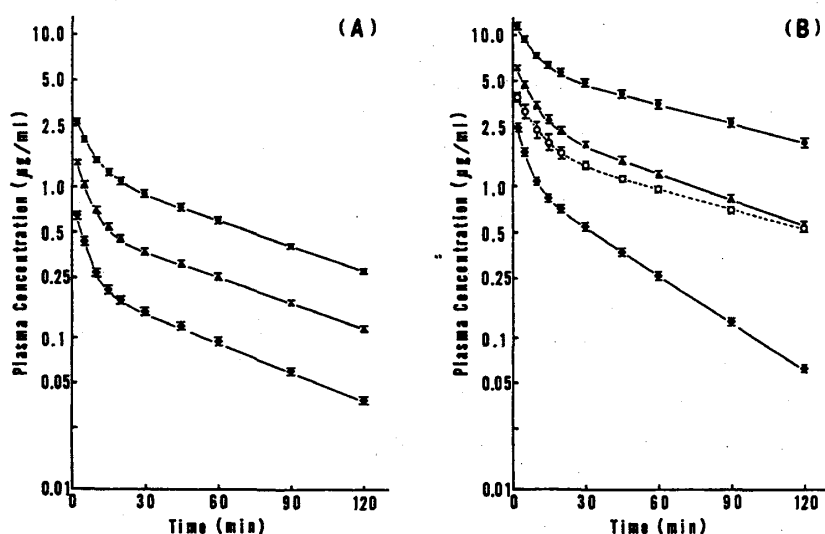


Fig.11 Disappearance of Quinidine from Plasma after Intravenous Injection in Control(A) and Turpentine Oil-Treated(B) Rats

Quinidine aulfate was injected at a dose of 3.0( $\blacklozenge$ ), 7.0( $\blacktriangle$ ) or 12.5( $\bullet$  or  $\circ$ ) mg/kg as quinidine base. Each point represent the mean  $\pm$  S.E. of 4 to 6 animals. ( $\blacklozenge$ ,  $\blacktriangle$ ): 48 h-turpentine oil-treated rats, ( $\circ$ ): 16 h-turpentine oil-treated rats.

Quinidineをcontrol及びテレピン群に静注した際の、quinidineの経時的血漿中濃度をFig.11に示している。テレピン群においては、quinidineの血漿中濃度はいずれの投与量においてもcontrol値に比べて高く、また、血漿からのquinidineの消失の遅延が認められた。Control、テレピン群ともに、quinidineの血漿からの消失はbiexponential curveで示され、two compartment modelに従って解析したpharmacokinetics parameterをTable IXに示している。Control群及びテレピン群の $R_b$ 値はすべてのquinidine濃度において一定であり、 $CL_p$ と $R_b$ 値から算出した全身血液クリアランス( $CL_b$ )は、投与量の増加とともに漸次減少していった。このようなquinidineの血漿中挙動のdose-dependencyは、分布容積( $V_c$ )にdose-dependencyが認められないことより、肝におけるquinidineの薬物代謝の飽和、即ち $K_{d1}$ の減少によるものと考えられる。 $CL_b$ は、テレピン群ではcontrol群に比べ、より著しいdose-dependencyを示した。48h-テレピン群における $CL_b$ は、投与量

Table IX. Pharmacokinetic Parameters of Quinidine after Intravenous Administration

	Control			48 h-Turpentine			16h-Turpentine
	3.0mg/kg	7.0mg/kg	12.5mg/kg	3.0mg/kg	7.0mg/kg	12.5mg/kg	12.5mg/kg
A (μg/ml)	1.09 ±0.21	1.26 ±0.05	2.03 <sup>a)</sup> ±0.19	2.41 <sup>a)</sup> ±0.10	4.59 <sup>c,f)</sup> ±0.20	7.05 <sup>c,f)</sup> ±0.67	2.86 <sup>a)</sup> ±0.16
B (μg/ml)	0.232 ±0.013	0.560 <sup>a)</sup> ±0.015	1.29 <sup>a)</sup> ±0.11	1.14 <sup>f)</sup> ±0.04	2.77 <sup>c,f)</sup> ±0.20	6.45 <sup>c,f)</sup> ±0.45	1.79 <sup>a)</sup> ±0.03
α (min <sup>-1</sup> )	0.223 ±0.016	0.178 ±0.011	0.186 ±0.027	0.253 ±0.016	0.158 <sup>a)</sup> ±0.022	0.163 <sup>a)</sup> ±0.028	0.144 ±0.036
β (min <sup>-1</sup> )	0.0148 ±0.0007	0.0131 ±0.0003	0.0126 ±0.0006	0.0244 <sup>f)</sup> ±0.0006	0.0131 <sup>a)</sup> ±0.0006	0.00978 <sup>c,a)</sup> ±0.00044	0.0101 <sup>a)</sup> ±0.0002
k <sub>12</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.121 ±0.010	0.0908 ±0.0079	0.0856 ±0.0116	0.117 ±0.010	0.0722 <sup>a)</sup> ±0.0112	0.0696 <sup>a)</sup> ±0.0144	0.0685 ±0.0212
k <sub>21</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.0698 ±0.0076	0.0640 ±0.0043	0.0837 ±0.0189	0.0982 ±0.0082	0.0687 ±0.0112	0.0839 ±0.0147	0.0621 ±0.0147
k <sub>el</sub> (min <sup>-1</sup> )	0.0476 ±0.0012	0.0363 <sup>a)</sup> ±0.0009	0.0291 <sup>a)</sup> ±0.0011	0.0629 <sup>f)</sup> ±0.0022	0.0304 <sup>c,f)</sup> ±0.0004	0.0191 <sup>c,f)</sup> ±0.0006	0.0232 <sup>f)</sup> ±0.0002
V <sub>c</sub> (l/kg)	3.41 ±0.18	3.86 ±0.11	3.80 ±0.16	3.80 ±0.021	0.845 <sup>f)</sup> ±0.042	0.957 <sup>f)</sup> ±0.042	2.70 <sup>f)</sup> ±0.11
V <sub>dss</sub> (l/kg)	9.32 ±0.32	9.32 ±0.29	7.97 <sup>a)</sup> ±0.36	1.84 <sup>f)</sup> ±0.06	1.98 <sup>f)</sup> ±0.12	1.65 <sup>f)</sup> ±0.06	5.59 <sup>a)</sup> ±0.36
AUC (μg·min/ml)	18.7 ±0.7	50.2 <sup>a)</sup> ±1.3	114 <sup>a)</sup> ±3	56.7 <sup>f)</sup> ±0.7	241 <sup>c,f)</sup> ±9	709 <sup>c,f)</sup> ±43	201 <sup>f)</sup> ±9
CL <sub>p</sub> (ml/min/kg)	162 ±6	140 <sup>a)</sup> ±4	110 <sup>a)</sup> ±4	53.0 <sup>f)</sup> ±0.7	29.1 <sup>c,f)</sup> ±1.1	17.9 <sup>c,f)</sup> ±1.1	62.6 <sup>f)</sup> ±2.9
CL <sub>b</sub> (ml/min/kg)	108 ±4	93.2 <sup>a)</sup> ±3.6	73.4 <sup>a)</sup> ±3.6	75.3 <sup>f)</sup> ±1.0	41.3 <sup>c,f)</sup> ±1.5	25.4 <sup>c,f)</sup> ±1.5	52.6 <sup>a)</sup> ±2.4

The values except CL<sub>b</sub> were estimated from concentration. The value of CL<sub>b</sub> was calculated by the equation: CL<sub>b</sub>=CL<sub>p</sub>/R<sub>b</sub>

Values are the means ± S. E. of 4 to 6 animals. Significantly different from a dose of 3.0mg/kg. a) p<0.05, b) p<0.01, c) p<0.001. Significantly different from the control at each dose d) p<0.05, e) p<0.01, f) p<0.001.

3.0、7.5、12.5mg/kgにおいて、control群値と比べてそれぞれ30、56、65%減少した。テレピン油投与群における分布容積は、各投与量間で一定の値を示したものの、control群に比べて大幅に低下したことから、テレピン群におけるCL<sub>b</sub>の減少は、分布容積(V<sub>c</sub>)と消失速度定数(k<sub>el</sub>)の両パラメーターの減少によることが判明した。また、投与量12.5mg/kgのquinidineの分布容積(V<sub>dss</sub>)は、16h-及び48hテレピン群において、control群値と比べてそれぞれ30と79%減少した。このV<sub>dss</sub>の減少は、四塩化炭素肝障害モデルにおける結果と同様、血漿中α<sub>1</sub>-acid glycoprotein濃度の増加によるf<sub>p</sub>の減少によるものと考えられる。

### 5-3. 肝抽出率の肝クリアランスに与える影響

ラットにおいて、quinidineはほとんど肝臓で代謝除去される<sup>22)</sup>ことから、単回静注後のquinidineのCL<sub>b</sub>の減少は、肝クリアランスの減少によるものと考えられる。肝クリアランスは、well-stirred modelに従うと、(16)式で示したように肝血流と薬物の肝抽出率の積として表される。Table VIIIに示したように、肝血流量は、テレピン油投与の影響をほとんど受けなかった。そこで、quinidineの肝クリアランス減少のもう一方の要因である肝抽出率をcontrol及び48h-テレピン群間で比較した。Fig. 12に示したように、control及びテレピン両群とも、quinidineの肝抽出率は血中濃度の増加に従い漸次減少した。これ

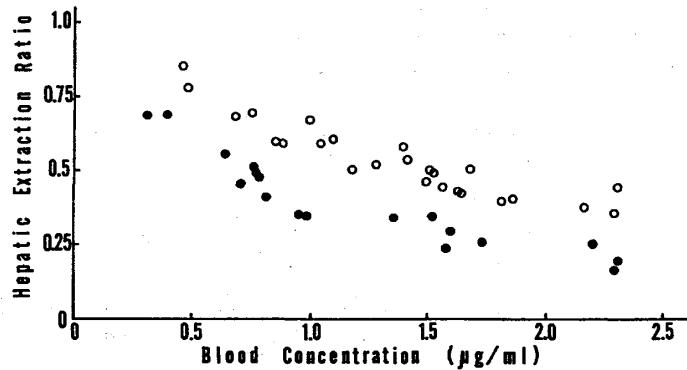


Fig. 12 Hepatic Extraction Ratio as a Function of Blood Concentration of Quinidine in Control and 48 h-Turpentine Oil-Treated Rats

The hepatic extraction ratio was determined in control(○) and 48 h-turpentine oil-treated(●) rats under the steady state blood concentration of quinidine ranging from 0.5 to 2.3  $\mu\text{g/ml}$ .

らの結果は、単回静注時に認められたdose-dependencyの結果と一致するものである。テレピン群の肝抽出率は、いずれのquinidine血中濃度においてもcontrol群値に比べて低く、その低下率はquinidine血中濃度の上昇と共に、約15から40%に増大した。実測した肝抽出率から(18)式に従って肝臓におけるquinidineの代謝能を示す $CL_{int}$ を求めたところ、control及びテレピン両群の間に有意な差は認められなかった。従って、テレピン群においては、血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の増加に基づくquinidineの血漿蛋白質結合率の増加が、肝抽出率の低下を引き起こし、更には $CL_b$ の減少を招くものと考えられた。

これまで肝臓で主として代謝される薬物の血漿蛋白質結合率の変動が及ぼす $CL_b$ への影響について、肝抽出率の観点から多くの研究がなされている<sup>47-50</sup>)。WilkinsonやShandら<sup>51</sup>)は、肝固有クリアランス( $CL_{int}$ )の小さい薬物の肝抽出率は、血漿蛋白質結合率に依存するが、大きな $CL_{int}$ をもった薬物の肝抽出率は、血漿蛋白質結合率の変動の影響を殆ど受けないことを報告している。しかし、quinidineのような中程度の $CL_{int}$ をもった薬物に関しては、血漿蛋白質結合と肝抽出率の関係について未だ一致した見解が得られていない。Guentert及び $\phi$ ieらは<sup>52</sup>)、虚血した家兎において、quinidineの $CL_p$ が、その血漿蛋白質結合率の減少の影響を受けないことを報告している。一方、Mansorらは<sup>53</sup>)、単離ラット肝臓の灌流実験において、 $\alpha_1$ -acid glycoproteinの添加によるquinidineの血漿蛋白質結合率の増加が、quinidineの $CL_h$ を有意に減少させることを報告している。テレピン群において得られた結果は、Mansorらの報告を支持するものである。

#### 5-4. 組織分布と血漿蛋白質結合率との相関

Control群とテレピン群において肺、腎臓、脾臓、肝臓、心臓におけるquinidineの $K_p$ 値をTable Xに示している。組織の $K_p$ 値はcontrol群値に比べ、16h-テレピン群では28-39%、48h-テレピン群では76-81%減少し、これらの値は $V_{dss}$ の減少率に近似した。従って、

Table X. Tissue to Plasma Partition Coefficients ( $K_{p,vivo}$ ) of Quinidine in Various Tissues in Control and Turpentine Oil-Treated Rats

	Control	16 h-Turpentine (change%) <sup>a)</sup>	48 h-Turpentine (change%) <sup>a)</sup>
Lung	73.5 ± 4.6	49.2 ± 5.7( 33 ) <sup>b)</sup>	14.8 ± 2.4( 80 ) <sup>c)</sup>
Kidney	29.5 ± 1.6	20.2 ± 2.0( 32 ) <sup>b)</sup>	5.63 ± 0.22( 81 ) <sup>c)</sup>
Spleen	24.7 ± 0.5	17.8 ± 1.2( 28 ) <sup>c)</sup>	5.92 ± 0.66( 76 ) <sup>c)</sup>
Liver	24.5 ± 1.3	14.9 ± 1.2( 39 ) <sup>c)</sup>	5.59 ± 0.44( 77 ) <sup>c)</sup>
Heart	9.88 ± 0.43	7.02 ± 0.72( 29 ) <sup>b)</sup>	1.98 ± 0.29( 80 ) <sup>c)</sup>

Values are the means ± S.E. of 5 to 6 animals. a) Calculated by the equation: % =  $\{(K_{p \text{ in control}} - K_{p \text{ in turpentine}}) / K_{p \text{ in control}}\} \times 100$ .  
b)  $p < 0.01$ , c)  $p < 0.001$ .

テレピン群における $V_{dss}$ の減少は、組織分布の減少に起因するものと考えられる<sup>54-56</sup>。薬物の $f_p$ の変動が分布容積( $V_{dss}$ )に大きな影響を与えること、更には $f_p$ と組織分布( $K_p$ )との関係を論じた報告はあるが、実際に、薬物の組織分布と $f_p$ との相関性について実測した報告はなかった。そこで、controlと16h-、48h-テレピン群における個々のラットの $K_p$ 値と $f_p$ 値をplotして両者の相関性を調べた。Fig.13に示すように、検討したすべての組織において、 $K_p$ 値と $f_p$ の間には、原点を通る高い相関性が認められた。このことは、テレピン油投与による各組織の $K_p$ 値の減少が、 $f_p$ の減少によってのみ引き起こされたものであることを示している。すでにFig.10で示したように、control及びテレピン群間におけ

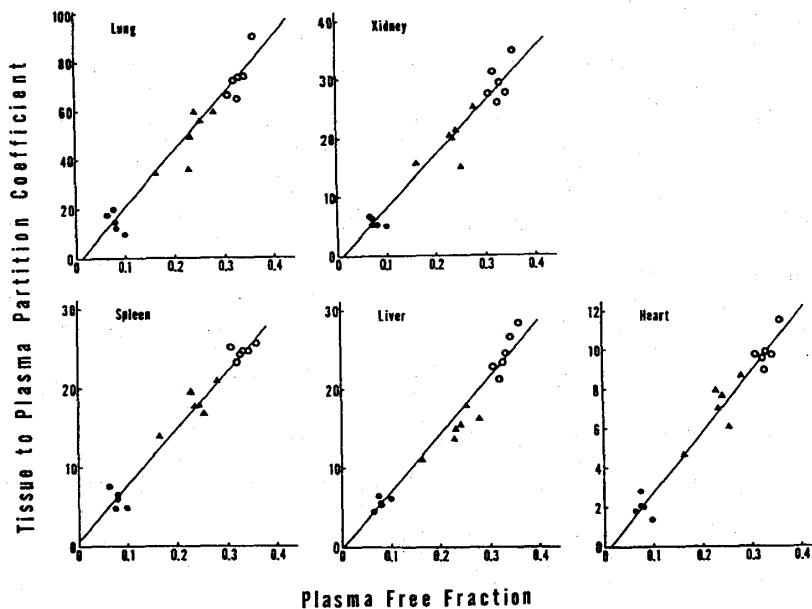


Fig.13 Relationship between the Tissue to Partition Coefficient ( $K_p$ ) and the Plasma Free Fraction of Quinidine

Control(○), 16 h-(▲) and 48 h-(●) turpentine oil-treated rats. Each line represents the regression line ( $r = 0.970 - 0.982$ ,  $p < 0.001$ ).

る血漿中の $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度とquinidineの $f_p$ の間には、相関係数 $r=0.987$ と非常に高い相関性が認められている。従って、テレピン群における $V_{dss}$ あるいは $K_p$ 値の減少は、血漿中 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の上昇に起因するものと結論される。

#### 【おわりに】

本論は、肝障害動物モデルにおける弱塩基性薬物の体内動態を生理学的速度論に基づいて解析を試みたものである。その結果、弱塩基性薬物であるquinidineの四塩化炭素肝障害モデルにおける体内動態変動を各生理学的パラメーターの変動として表現し理解することができた。なかでも肝障害時の血漿 $\alpha_1$ -acid glycoprotein濃度の上昇が、quinidineの体内挙動変動の重要な因子となることを、全身クリアランス、肝抽出率及び組織分布の面から明らかにすることができた。これらの知見は、臨床における弱塩基性薬物のより安全で有効な投与計画確立に有用な情報を与えるものと考えられる。

#### 参考文献

- 1) W.D.Hooper, F.Bochner, M.J.Eadie and J.H.Tyrer: Plasma protein binding of diphenylhydantoin, Clin. Pharmacol. Ther., **15**, 276-282 (1973).
- 2) T.F.Blaschke, P.J.Meffin, K.L.Melmon and M.Rowland: Influence of acute viral hepatitis on phenytoin kinetics and protein binding, Clin. Pharmacol. Ther., **17**, 685-690 (1975).
- 3) U.Klotz: Pathophysiological and disease-induced changes in drug distribution volume: Pharmacokinetic Implications, Clin. Pharmacokinet., **1**, 204-218 (1976).
- 4) T.F.Blaschke: Protein binding and kinetics of drugs in liver diseases, Clin. Pharmacokinet., **2**, 32-44(1977).
- 5) M.Perez-Mateo and S.Erill: Protein binding of salicylate and quinidine in plasma from patients with renal failure, chronic liver disease and chronic respiratory insufficiency, Eur. J. Clin. Pharmacol., **11**, 225-231(1977).
- 6) C.Li, S.Nakayama, Y.Kurosaki, T.Nakayama and T.Kimura: Pharmacokinetics of cefpiramide in rats acutely intoxicated with carbon tetrachloride, J. Pharmacobio-Dyn., **13**, 186-194(1990).
- 7) T.Itoh, Y.Sawada, T.H.Lin, T.Iga and M.Hanano: Kinetic analysis of phenytoin disposition in rats with experimental renal and hepatic disease, J. Pharmacobio-Dyn., **11**, 289-308(1988).
- 8) M.Affrime and M.M.Reidenberg: The protein binding of some drugs in plasma



- from patients with alcoholic liver disease, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **8**, 267-269(1975).
- 9) R.A.Branch, J.James and A.E.Read: A study of factors influencing drug disposition in chronic liver disease using the model drug(+)-propranolol, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **3**, 243-249 (1976).
  - 10) J.P.Tillement, F.Lhoste and J.F.Giudicelli: Diseases and drug protein binding, *Clin. Pharmacokinet.*, **3**, 144-154 (1978).
  - 11) K.M.Kessler, W.C.Humphries, M.Black, J.F.Spann: Quinidine pharmacokinetics in patients with cirrhosis or receiving propranolol, *Am. Heart J.* **96**, 627-635(1978).
  - 12) C.Aguirre, R.Caloo and J.M.Rodriguez Sasiain: Serum protein binding of pen-butolol in patients with hepatic cirrhosis, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **26**, 566-569(1988).
  - 13) K.M.Piafsky: Disease-induced changes in the plasma binding of basic drugs, *Clin. Pharmacokinet.*, **5**, 246-262(1980).
  - 14) S.A.Bai, F.P.Abramson: Interactions of phenobarbital with propranolol in the dog, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **222**, 589-594(1982).
  - 15) A.Hayes and R.G.Cooper: Studies on the absorption, distribution and excretion of propranolol in rat, dog and monkey, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **176**, 302-311(1971).
  - 16) N.Kita, N.Sugihara, K.Furuno: Accumulation of propranolol in cultured rat fibroblasts, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **15**, 181-189(1992).
  - 17) A.Nishiura, J.Higashi, T.Murakami, Y.Higashi and N.Yata: A possible contribution of phospholipids in tissue distribution of quinidine in rats, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, 819-828(1986).
  - 18) N.Sugihara, K.Furuno, N.Kita, T.Kurakaki, N.Yata: Distribution of quinidine in rats with carbon tetrachloride-intoxicated hepatic disease, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **15**, 167-174(1992).
  - 19) K.S.Pang and M.Rowland: Hepatic of drugs. I. Theoretical considerations of a "well-stirred" model and a "parallel tube" model. Influence of hepatic blood flow, plasma and blood cell binding, and the hepatocellular enzymatic activity on hepatic drug clearance, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **5**, 625-653(1977).
  - 20) H.G.Chen and J.F.Gross: Estimation of tissue-to-plasma partition coefficients used in physiological pharmacokinetic models, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*,

- 7, 117-125(1979).
- 21) K.B.Bischoff, R.L.Dedrick, D.S.Zaharko and J.A. Longstreth: Methotrexate pharmacokinetics, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1128-1133(1971).
  - 22) K.Aukaland, B.F.Bower and R.W.Berliner: Measurement of local blood flow with hydrogen gas, *Circulation Res.*, **14**, 164-187(1964).
  - 23) 花野学、梅村甲子郎、伊賀立二：医薬品のためのファーマコキネティクス実験法、p.383 ソフトサイエンス社
  - 24) Y.Igari, Y.Sugiyama, S.Awazu and M.Hanano: Comparative physiologically based pharmacokinetics of hexobarbital, phenobarbital, and thiopental in the rats, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **10**, 53-75(1982).
  - 25) J.H.Lin, Y.Sugiyama, S.Awazu and M.Hanano: Physiological pharmacokinetic s of ethoxybenzamide based on biochemical data obtained in vitro as well as on physiological data, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **10**, 649-661(1982).
  - 26) T.Terasaki, T.Iga, Y.Sugiyama and M.Hanano: Experimental evidence of characteristic tissue distribution of adriamycin, tissue DNA concentration as a determinant, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 597-600(1982).
  - 27) H.Harashima, Y.Sugiyama, Y.Sawada, T.Iga and M.Hanano: Comparison between in-vivo and in-vitro tissue-to-plasma unbound concentration ratios( $K_p, f$ ) of quinidine in rats, *J. Pharm. Pharmacol.*, **36**, 340-342 (1984).
  - 28) N.Sugihara, K.Furuno, N.Kita, T.Kurakaki, N.Yata: Increase in the plasma protein binding of weakly basic drugs in carbon tetrachloride-intoxicated rats, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2671-2673 (1991).
  - 29) O.G.Nilsen, P.Leren, I.Aakesson and S.Lacobsen: Binding of quinidine in sera with different levels of triglycerides, cholesterol, and orosomucoid protein, *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 871-876 (1977).
  - 30) S.Glasson, R.Zini, P.D'Athis, J.P.Tillement and J.R.Boissier: The distribution of bound propranolol between the different human serum proteins, *Mol. Pharmacol.*, **17**, 187-191 (1980).
  - 31) G.Schreiber, G.Howlett, M.Nagashima, A.Millership, H.Martin, J.Urban and L. Kotler: The acute phase response of plasma protein synthesis during experi-mental inflammation, *J. Biol. Chem.*, **257**, 10271-10277 (1982).
  - 32) P.C.Heinrich, J.V.Castell and T.Andus: Interleukin-6 and the acute phase response, *Biochem. J.*, **265**, 621-636 (1990).
  - 33) J.J.Thiessen, E.M.Sellers, P.Denbeigh and L.Dolman: Plasma protein binding

- of diazepam and tolbutamide in chronic alcoholics, *J. Clin. Pharmacol.*, 16, 345-351 (1976).
- 34) R.Gugler, D.W.Shoeman and D.L.Azarnoff: Effect of in vivo elevation of free fatty acids on protein binding of drugs, *Pharmacology*, 12, 160-165 (1974).
  - 35) K.M.Kessler, R.C.Leech and J.F.Spann: Blood collection techniques, heparin and quinidine protein binding, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 25, 204-210 (1979).
  - 36) N.Sugihara, K.Furuno, N.Kita, T.Kurakaki, N.Yata: Plasma  $\alpha_1$ -acid glycoprotein concentration in rats with chemical liver Injury, *Chem. Pharm. Bull.*, 40, 2516-2519 (1992).
  - 37) K.M.Piatsky, O.Borga, I.Odar-Cederlof, C.Johansson and F.Sjoqvist: Increased plasma protein binding of propranolol and chlorpromazine mediated by disease induced elevations of plasma acid glycoprotein, *N. Engl. J. Med.*, 299, 1435-1439 (1978).
  - 38) H.Echizen, S.Saima, N.Umeda and T.Ishizaki: Protein binding of disopyramide in liver cirrhosis and in nephrotic syndrome, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 40, 274-280 (1983).
  - 39) R.Meliconi, O.Parracino, A.Facchini, A.M.Morselli-labate, F.Bortolotti, F.Tremolada, M.Martuzzi, F.Miglio and G.Gasbarrini: Acute phase proteins in chronic and malignant liver disease, *Liver*, 8, 65-74 (1988).
  - 40) J.V.Gool: Profiles of acute-phase reactants and clinical significance of  $\alpha_2$  macroglobulin in acute hepatitis, *Inflammation*, 7, 277-289 (1983).
  - 41) R.Meliconi, O.Parracino and A.Facchini: Serum protease-inhibitors in acute viral hepatitis, *Ric. Clin. Lab.*, 17, 53-59 (1987).
  - 42) A.Koj and A.Dubin: Inhibition of the liver and plasma protein acute-phase response in mice by D-galactosamine, *Br. J. Exp. Path.*, 57, 733-741 (1976).
  - 43) D.Monnet, D.Durand, D.Biou, J.Feger and G.Durand: D-galactosamine-induced liver injury: A rat model to study the heterogeneity of the oligosaccharide chains of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 23, 249-253 (1985).
  - 44) N.Sugihara, K.Furuno, N.Kita, T.Kurakaki, N.Yata: The influence of increased plasma protein binding on the disposition of quinidine in turpentine-treated rats, *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 63-67 (1993).
  - 45) J.C.Jamieson, F.E.Ashton, A.D.Friesen and B.Chou: Studies on acute phase proteins of rat serum.6. Determination of the contents of  $\alpha_1$ -acid

- glyco-protein,  $\alpha_2$ -macroglobulin, and albumin in serum from rats suffering from induced inflammation, *Can. J. Biochem.*, 50, 871-880 (1972).
- 46) D.A.Darcy: Granuloma weight and the  $\alpha_1$ -acute phase protein response in rats injected with turpentine, *Br. J. Exp. Path.*, 51, 59-72 (1970).
  - 47) A.Yacobi, J.A.Udall and G.Levy: Serum protein binding as a determinant of warfarin body clearance and anticoagulant effect, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 19, 552-558 (1976).
  - 48) R.Gucler, D.W.Shoeman, D.H.Huffman, J.B.Cohlmiia and D.L.Azarnoff: Pharmacokinetics of drugs in patients with the nephrotic syndrome, *J. Clin. Invest.*, 55, 1182-1189 (1975).
  - 49) C.D.Klaassen and G.L.Plaa: Plasma disappearance and biliary excretion of indocyanine green in rat, rabbits and dogs, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 15, 374-384 (1969).
  - 50) G.H.Evans and D.G.Shand: Disposition of propranolol 8. Independent variation in steady-state circulating drug concentrations and half-life as a result of plasma drug binding in man, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 14, 494-500 (1973).
  - 51) G.R.Wilkinson and D.G.Shand: A physiological approach to hepatic drug clearance, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 18, 377-390 (1975).
  - 52) T.W.Guentert and S.ϕie: Effect of plasma protein binding on quinidine kinetics in the rabbit, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 215, 165-171 (1980).
  - 53) S.M.Mansor, S.A.Ward, G.Edwards, P.E.Hoaksey and A.M.Breckenridge: The influence of  $\alpha_1$ -acid glycoprotein on quinine and quinidine disposition in the rats isolated perfused liver preparation, *J. Pharm. Pharmacol.*, 43, 650-654 (1991).
  - 54) A.Yacobi and G.Levy: Comparative pharmacokinetics of coumarin anticoagulants XXI: Effect of plasma protein binding on distribution kinetics of warfarin in rats, *J. Pharm. Sci.*, 66, 567-572 (1977).
  - 55) M.Gibaldi and P.J.McNamara: Apparent volumes of distribution and drug binding to plasma proteins and tissues, *Clin. Pharmacol.*, 13, 373-378 (1978).
  - 56) S.Qie and T.Tozer: Effect of altered plasma protein binding on apparent volume of distribution, *J. Pharm. Sci.*, 68, 1203-1205 (1979).