ドーパミンプロドラッグ・TA-870の生体内動態（第4報）： ヒト，ラットおよびイヌにおける蛋白結合

遠藤 洋，吉川 正美，星野久美子，高市 雄之

田辺製薬(株)生物研究所 〒335 埼玉県戸田市川岸2-2-50

Key words : Dopamine, Dopamine prodrug, TA-870, Docarpamine, Protein binding
Renal vasodilator, Cardiotonic agent

Metabolic Fate of Dopamine Prodrug TA-870 (4) : Protein Binding of TA-870 in Humans, Rats and Dogs.

Hiroshi ENDO, Masayoshi YOSHIKAWA,

Kumiko HOSHINO and Osasi TAKAITI

Biological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.,
2-2-50, Kawagishi, Toda, Saitama, Japan

Summary

The protein binding of TA-870 was investigated in human, dog and rat plasma with centrifugal ultrafiltration method.

The *in vitro* binding extent of TA-870 to dog and human plasma were 52-56 and 41%, respectively. The binding extent of TA-870 to human plasma was not influenced by other drugs. The binding of TA-870 to purified human albumin, α -acid glycoprotein and γ -globulin accounted for 56, 47 and 5%, respectively. The binding extent of radioactive substances to rat plasma, after oral administration of ^3H -TA-870, were 26-55%.

緒言

N-(N-Acetyl-L-methionyl)-O, O-bis (ethoxycarbonyl) dopamine (TA-870) は、経口投与可能なドーパミンプロドラッグとして腎および心機能改善に優れた作用を有する化合物である^{1,2)}。本化合物のラット^{3,4)}、イヌ^{3,4)} およびヒト⁵⁾ における体内動態については、すでに吉川らによって報告されている。今回、本化合物の体内動態究明の一環としてヒト、イヌおよびラットにおける蛋白結合性について検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 使用化合物

実験に供した TA-870, 脱エトキシカルボニル TA-870 (DEC-TA-870) および dopamine は Fig. 1 に示した化学構造を有する。標識体は芳香環を³Hでユニフォームラベルしたもの、および7位の炭素を¹⁴Cで標識したものである。各標識体の比放射能は³H-TA-870 1.114MBq/mg, ³H-DEC-TA-870 1.606MBq/mg, ³H-dopamine 1.036MBq/mg, ¹⁴C-dopamine 10.9MBq/mg であり、薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 CHCl₃:MeOH:AcOH=85:15:3, v/v) による放射化学的純度はすべて98%以上であった。

精製血漿蛋白として使用したヒトアルブミン (fatty acid free), γ -グロブリン (Cohn Fraction II, III) および α 1-酸性糖蛋白 (Cohn Fraction IV) は Sigma 社より購入した。その他の試

薬については市販の特級品を使用した。

2. 血漿

実験に用いた血漿は、Slc:SD 系雄性ラット (7週齢, 体重約200g), 雑種成犬およびヒトボランティア (男子, 29~52歳) より採取した血液にヘパリンを加え3,000rpm で10分間 (4℃) 遠心分離し, その上清を使用した。

3. 試料の調製

in vitro での実験では, 各種標識体を50 μ g/50~100 μ l, 5 μ g/50~100 μ l, 0.5 μ g/50~100 μ l の濃度で純水を用いて溶解し, 血漿に添加した。

併用薬剤共存下の実験では, ³H-TA-870 および各共存薬物をそれぞれ5 μ g/50 μ l の濃度で純水に溶解し, 血漿に添加した。

in vivo の実験では, ³H-TA-870 および非標識の TA-870 を約5:1の割合で混合し, 0.1% Tween 80水溶液を加えて乳鉢で良く粉碎して懸濁液を作製した。この投与液を30mg/5ml/kg の用量で胃ゾンデを用いてラットに経口投与した。

4. *in vitro* の実験

イヌ血漿0.9ml に³H-TA-870あるいは³H-dopamine の溶液 (0.5, 5, 50 μ g/100 μ l) をそれぞれ加え, 後に述べる測定法により結合率を求めた。また, ヒト血漿を用いた場合には, ヒト血漿0.9ml に³H-TA-870, ³H-DEC-TA-870, ¹⁴C-dopamine の溶液 (5 μ g/100 μ l) をそれぞれ加え, 結合率を測定した。

Fig. 1 Chemical structure of TA-870, DEC-TA-870 and dopamine

5. *in vivo* の実験

ラットに ^3H -TA-870 を 30 mg/kg の用量で経口投与し、15分、1時間および6時間後にエーテル麻酔下、ヘパリンを加えた注射筒を用いて腹部大動脈より採血した。採取した血液は 3,000 rpm で10分間遠心分離し、得られた血漿 1 ml を用いて血漿中放射性物質の蛋白結合率を測定した。

6. 蛋白結合に及ぼす共存薬物の影響

ヒト血漿 0.9 ml に ^3H -TA-870 の溶液 (5 μg /50 μl) および他薬物 (ジアゼパム, フェニルブタゾン, ワルファリン, ジゴキシン, ニフェジピン, フロセミド, スピロノラクトン 各 5 μg /50 μl) をそれぞれ加え結合率を測定した。

7. 蛋白溶液の調製

ヒトアルブミン, α_1 -酸性糖蛋白および γ -グロブリンをそれぞれ 40 mg/0.9 ml, 1 mg/0.9 ml および 7 mg/0.9 ml の濃度で 1/15 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解した。これらの溶液 0.9 ml に ^3H -TA-870 の溶液 (5 μg /100 μl) を加え、それぞれ結合率を測定した。

8. 結合率の測定

遠心限外濾過法⁶⁾により蛋白との結合率を測定した。血漿または 1/15 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 9 容に対して標識体の溶液 1 容を加えた。混合液を透析用セルロースチューブ (Visking company, size 8/32) に入れ、試験管内に懸垂し、1,000 $\times$ g で30分間 (室温約 25 $^{\circ}\text{C}$) 遠心分離を行った。それぞれの濾液の放射能を測定し、計算式(1)により結合率を算出した。

また、セントリフリー (MPS-3, アミコン) を用いた測定も実施した。血漿と標識体の混合液をセントリフリーに入れ、25 $^{\circ}\text{C}$ で遠心限外濾過を行った。遠心条件は濾液が添加液量の 20% 以下になるように予備実験により決定した。濾過前の試料中放射能濃度と濾液中の放射能濃度を測定し、計算式(2)から結合率を測定した。

計算式(1)

$$\text{結合率}(\%) = (1 - X/Y) \times 100$$

X : 血漿を用いた場合の濾液中放射能濃度

Y : リン酸緩衝液を用いた場合の濾液中放射

能濃度

計算式(2)

$$\text{結合率}(\%) = (1 - \text{濾液中放射能濃度} / \text{濾過前試料中放射能濃度}) \times 100$$

9. 結合率測定時の分解

TA-870 のヒト血漿あるいはヒト精製蛋白溶液における結合率を測定した際の TA-870 の分解を見るため、結合率測定終了時の蛋白溶液を直ちにメタノールを加えて除蛋白した。その遠沈上清を濃縮し、TLC プレートに塗布して展開溶媒 (CHCl_3 : MeOH : AcOH = 85 : 15 : 3, v/v) で展開した。その後、各標品の R_f 値に相当する部分の放射能を TLC より抽出し、放射能の割合を求めた。

10. 放射能の測定

蛋白溶解剤として Soluene 350[®] (Packard), シンチレーターとしてトルエントライトン系シンチレーター (DPO 12g, dimethyl POPOP 0.3g, Triton X-100 1,000 ml, Toluene 2,000 ml) および Hionic Fluor[™] (Packard) を用い、液体シンチレーションカウンター (Tri-Carb 460CD あるいは 2,200CA, Packard) で放射能を測定した。

11. 統計学的処理

有意差検定は Student の t-test により行い、 $p < 0.05$ の場合、有意差ありとした。

実験結果

1. *in vitro* における結合率

^3H -TA-870 および ^3H -dopamine のイヌ血漿試料との結合率を Table I に示した。血漿中 ^3H -TA-870 濃度が 0.5, 5, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ における結合率の平均値は、それぞれ 55.7, 52.0 および 53.6% であり、 ^3H -dopamine の同濃度では、それぞれ 21.4, 22.4 および 19.8% であった。両化合物とも検討した濃度範囲では、薬物濃度に依存した結合率に有意な差は認められなかった。

^3H -TA-870, ^3H -DEC-TA-870 および ^{14}C -dopamine のヒト血漿試料との結合率を Table II に示した。血漿中各標識体濃度がそれぞれ 5 $\mu\text{g}/$

Table I Extent of binding to dog plasma of spiked ^3H -TA-870 and ^3H -dopamine by centrifugal ultrafiltration method (cellulose membrane)

Concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Percentage of bound	
	^3H -TA-870	^3H -dopamine
0.5	55.7 ± 0.7	21.4 ± 0.8
5	52.0 ± 0.6	22.4 ± 1.0
50	53.6 ± 0.0	19.8 ± 0.8

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4 experiments.

Table II Extent of binding to human plasma of spiked ^3H -TA-870, ^3H -DEC-TA-870 and ^{14}C -dopamine by centrifugal ultrafiltration method (cellulose membrane)

^3H -TA-870	Percentage of bound	
	^3H -DEC-TA-870	^{14}C -dopamine
40.5 ± 1.3	19.4 ± 0.8	16.4 ± 1.1

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 6 experiments.

The concentration of labelled compounds in all experiments are $5\mu\text{g}/\text{ml}$.

ml における平均結合率は ^3H -TA-870では40.5%, ^3H -DEC-TA-870では19.4%, ^{14}C -dopamineでは16.4%であった。

2. *in vivo* における結合率

ラットに ^3H -TA-870を $30\text{mg}/\text{kg}$ の用量で経口投与した際の血漿中放射性物質の結合率をTable IIIに示した。また、そのときの血漿中放射能濃度(未変化のTA-870に換算した値)をカッコ内に示した。投与後15分, 1時間および6時間目における平均血漿中放射能濃度は、それぞれ $7.7, 9.3$ および $2.4\mu\text{g}/\text{ml}$ ($16.4, 19.8$ および $5.1\text{nmol}/\text{ml}$)であり、すでに報告した³⁾ラットにおける血漿中放射能濃度と同程度であった。一方、このときの血漿中放射性物質の蛋白結合率の平均値は、それぞれ54.6, 45.0および26.3%であり、測定時点により結合率に変動が認められた。

3. 蛋白結合に及ぼす共存薬物の影響

ヒト血漿における他薬剤共存下での ^3H -TA-

Table III Extent of binding in rat plasma after oral administration of ^3H -TA-870 ($30\text{mg}/\text{kg}$) by centrifugal ultrafiltration method (cellulose membrane)

Percentage of bound		
15 min	1 hr	6 hr
$54.6 \pm 3.1^*$ (7.70)	$45.0 \pm 2.0^*$ (9.32)	$26.3 \pm 0.9^*$ (2.36)

* : $n = 4$

Figures in parentheses represent μg equivalent of TA-870/ ml plasma.

870 ($5\mu\text{g}/\text{ml}$)の蛋白結合率をTable IVおよびVに示した。Table IVは、蛋白結合率が高く、また、他の薬物の蛋白結合率を競合的に阻害することのある代表的な薬物としてジアゼパム、フェニルブタゾンおよびワルファリンを用いた結果を示した。ヒト血漿におけるTA-870単独での平均結合率は39.8%であった。一方、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ のジアゼパム、フェニルブタゾンおよびワルファリン共存下の平均結合率は、それぞれ38.9, 38.6および39.4%であった。他薬剤の濃度を $10\mu\text{g}/\text{ml}$ にした場合の平均結合率は、それぞれ43.7, 43.4および42.8%であり、本実験における濃度範囲では、他薬物共存下でのTA-870の結合率に有意な差は認められなかった。また、TA-870と併用が予想される薬物(ジゴキシン、ニフェジピン、フロセミド、スピロノラクトン)について検討し、その結果をTable Vに示した。このときのヒト血漿におけるTA-870単独での平均結合率は40.5%であった。一方、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ のジゴキシン、ニフェジピン、フロセミドおよびスピロノラクトンがそれぞれ共存した場合の平均結合率は、それぞれ44.2, 39.5, 39.9および38.3%であり、TA-870単独のそれと比較して有意な差は認められなかった。

4. 結合蛋白種の検討

TA-870のヒト血漿との結合がどの蛋白種に由来するのかを調べるため、精製した代表的なヒト血漿蛋白(アルブミン, α_1 -酸性糖蛋白および γ -グロブリン)を用いて測定し、その結果をTable VIに示した。アルブミンおよび α_1 -酸性糖蛋白と

Table IV Effect of diazepam, phenylbutazone and warfarin on extent of binding to human plasma of ^3H -TA-870 by centrifugal ultrafiltration method (cellulose membrane)

Drug	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Percentage of bound ^3H -TA-870
Control	—	39.8 $\pm$ 3.0
Diazepam	5	38.9 $\pm$ 1.4
	10	43.7 $\pm$ 0.3
Phenylbutazone	5	38.6 $\pm$ 1.6
	10	43.4 $\pm$ 1.9
Warfarin	5	39.4 $\pm$ 2.2
	10	42.8 $\pm$ 1.9

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 4 experiments.

The concentration of ^3H -TA-870 in all experiments are 5 $\mu\text{g/ml}$.

Table V Effect of digoxin, nifedipine, furosemide and spironolactone on extent of binding to human plasma of ^3H -TA-870 by centrifugal ultrafiltration method (Centrifree)

Durg	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Percentage of bound ^3H -TA-870
Control	—	40.5 $\pm$ 1.3
Digoxin	5	44.2 $\pm$ 2.7
Nifedipine	5	39.5 $\pm$ 1.3
Furosemide	5	39.9 $\pm$ 1.7
Spironolactone	5	38.3 $\pm$ 0.8

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 6 experiments.

The concentration of ^3H -TA-870 in all experiments are 5 $\mu\text{g/ml}$.

の平均結合率は、それぞれ56.0および47.1%であったが、 γ -グロブリンでは5%程度であった。

5. 結合率測定時の分解

TA-870のヒト血漿あるいはヒト精製蛋白溶液における結合率を測定した際の TA-870の分解について TLC により検討した。ヒト精製蛋白溶液における TA-870の残存率はアルブミン、 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白および γ -グロブリン溶液いずれの場合も90%以上であったが、ヒト血漿の場合には

Table VI Extent of binding to several human proteins of ^3H -TA-870 by centrifugal ultrafiltration method (Centrifree)

	Percentage of bound ^3H -TA-870
plasma	40.5 $\pm$ 1.3
albumin (40 mg/ml)	56.0 $\pm$ 0.9
$\alpha 1$ -acid glycoprotein (1 mg/ml)	47.1 $\pm$ 0.8
γ -globulin (7 mg/ml)	5.3 $\pm$ 0.8

Each value represents the mean $\pm$ S.E. of 6 experiments.

The Concentration of ^3H -TA-870 in all experiments are 5 $\mu\text{g/ml}$.

5～10%程度であった。

考 察

TA-870はカテコール骨格の水酸基をエトキシカルボニル基で、さらにアミノ基をアセチルメチオニル基で保護したドーパミンのプロドラッグである。著者らは TA-870の生体内動態究明の一環としてその蛋白結合性について検討した。

イヌ血漿における TA-870の結合率 (Table I) は約 52～56%であり、ヒト血漿 (Table IV, V) では40～41%と使用する血漿で結合率に若干差が見られた。このような動物間における結合率の差については Kucera⁷⁾ らが報告しており、各血漿蛋白と TA-870の親和性の違いによるものと思われる。一般に、薬物と血漿蛋白との結合性は酸性薬物であるか塩基性薬物であるか、また、その薬物の脂溶性に依存する⁸⁾ といわれているが、イヌ血漿における TA-870とドーパミンの結合率を比較するとドーパミンの結合率の方が低かった。TA-870とドーパミンの脂溶性を比較するとドーパミンの方が低く、これらの結合率が脂溶性に依存することが示唆された。また、今回検討した濃度範囲では薬物濃度に依存した結合率の変動は認められなかった。

ラット経口投与時においては、投与後15分～6時間で血漿中放射性物質の蛋白結合率の変動が認められた。吉川らは TA-870のエトキシカルボニル基のエステル結合は、各種動物の血漿中にお

いてエステラーゼにより加水分解され、DEC-TA-870を生成することを明かにしている（未発表）。それによると、ラット血漿中における TA-870の消失半減期は約1秒と極めて速やかであり、循環血中における未変化体はかなり少ないと考えられる。したがって、*in vivo*での結合率は、主として TA-870の代謝物の結合率を反映していることが推察された。投与初期には主として TA-870の脱エトキシカルボニル体である DEC-TA-870がその結合率を反映し、時間の経過とともにその血漿中主代謝物は DOPAC, HVA などの酸性代謝物やドーパミンの硫酸抱合体に変化して行くので⁵⁾、経時的な代謝物の組成の違いによって結合率が変動していることが推定される。

ヒト血漿蛋白と TA-870の結合率に及ぼす他薬剤の影響についてジアゼパム、フェニルブタゾン、ワルファリンを代表薬物として使用した。また、临床上併用が予想される薬物としてジゴキシン（強心剤）、ニフェジピン（冠血管拡張剤）、フロセミド（利尿剤）、スピロノラクトン（利尿剤）を用いた場合の影響についても検討した。血漿蛋白の同じ部位に結合する薬物が共存する場合、競合により親和性の大きな薬物がもう一方の薬物の遊離型を増加させることが知られており^{9,10,11,12)}、特にフェニルブタゾンはワルファリンやチオペンタールの蛋白結合を阻害することが報告されている^{9,10)}。今回検討した *in vitro*における実験では、高い結合率（98%以上）を有することが報告されているジアゼパム¹³⁾、フェニルブタゾン¹⁴⁾、ワルファリン⁹⁾は本薬物のヒト血漿蛋白との結合に対し影響を及ぼさなかった。また、临床上併用が予想されるジゴキシン¹⁵⁾、ニフェジピン¹⁶⁾、フロセミド¹⁷⁾およびスピロノラクトン¹⁸⁾の結合率は2~90%とされているが、これら薬物が共存しても TA-870のヒト血漿蛋白との結合に対し影響を及ぼさなかった。今回併用薬として用いた薬剤の臨床上の血中濃度はng/ml オーダーあるいはそれ以下であり、測定に用いた薬物濃度はかなり高いものであったが、TA-870とこれら薬物を併用しても蛋白結合率に差が生じないことが示された。

一般に、薬物の蛋白結合に関与する主な蛋白は

アルブミン、リボ蛋白、 α 1-酸性糖蛋白および γ -グロブリンであることが知られている^{19,20,21,22)}。今回、本薬物の蛋白結合における結合蛋白種を調べるため、市販のヒト精製蛋白（アルブミン、 α 1-酸性糖蛋白および γ -グロブリン）を用いて検討した。Table Vに示したように、アルブミン、 α 1-酸性糖蛋白および γ -グロブリンに対する TA-870の結合率は、それぞれ56、47および5%であった。したがって、本薬物とヒト血漿蛋白との結合は、主としてアルブミンおよび α 1-酸性糖蛋白にもとづくことが示された。TA-870は中性薬物であり、その蛋白結合性は脂溶性によるものと考えられる。また、これらの結果から本薬物のヒト血漿蛋白との結合率は56%以上の値であることが示唆されたが、実際に測定したヒト血漿における結合率は40.5%であった。すでに述べたように、TA-870は血漿中エステラーゼによりカテコールエステル部位が加水分解され DEC-TA-870を生成する。DEC-TA-870のヒト血漿における蛋白結合率を測定したところ、結合率は19.4%であり、TA-870とヒト血漿蛋白との結合率の40%より低い値であった。結合率測定時における TA-870の分解を見るため、限外濾過終了時の血漿中放射性物質をメタノールで抽出し、TLCにより検討したところ、5~10%が TA-870の未変化体として残存していたが、ほとんどは DEC-TA-870に変換していた。限外濾過開始時における血漿中放射性物質の大部分は、未変化の TA-870として存在しているはずであり、この TA-870が徐々に加水分解されて、最終的に DEC-TA-870が90~95%を占めるものと考えられる。したがって、血漿を用いた実験結果は、TA-870と DEC-TA-870がある割合で混合した場合の結合率を反映しているものと思われる。しかしながら、精製蛋白溶液を用いて結合率を測定した後の濾液について TLCにより検討したところ、9割以上が未変化体として存在していたことから、Table Vに示したアルブミン、 α 1-酸性糖蛋白および γ -グロブリンにおける結合率は TA-870としての結合率を示している。TA-870の主たる結合蛋白種はアルブミンおよび α 1-酸性糖蛋白であることから、ヒト血漿における TA-870の蛋白結合率（エステラーゼが存在しない場合の）は56

%以上と考えられる。

要 約

ドーパミンプロドラッグ TA-870 の蛋白結合について遠心限外濾過法により検討した。 *in vitro* における TA-870 のイヌおよびヒト血漿中結合率は、それぞれ52~56%および40~41%であった。また、ヒト血漿における TA-870 の結合は他薬剤共存下においても影響を受けなかった。 *in vitro* における結合率は、血漿中エステラーゼの存在により TA-870 と DEC-TA-870 の結合率

を反映していた。ヒト精製蛋白を用いた場合、アルブミンに56%、 α 1-酸性糖蛋白に47%が結合することが示された。また、ラット経口投与時の放射性物質の血漿中結合率は26~55%であった。

謝 辞

本研究に際し、終始御鞭撻を頂きました当研究所長竹山茂之博士に深謝致します。また、論文作成に御協力頂きました東郷陽子氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Yamaguchi, I., Nishiyama, S., Akimoto, Y., Yoshikawa, M. and Nakajima, H. : A novel orally active dopamine prodrug TA-870. I. Renal and cardiovascular effects and plasma levels of free dopamine in dogs and rats, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **13** : 879-886 (1989).
- 2) Nishiyama, S., Yamaguchi, I., Akimoto, Y., Yoshikawa, M. and Nakajima, H. : A novel orally active dopamine prodrug TA-870. II. Evidence that TA-870 is a dopamine prodrug, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **14** : 175-183 (1989).
- 3) 吉川正美, 遠藤 洋, 星野久美子, 高市雄之 : ドーパミンプロドラッグ TA-870 の生体内動態 (第1報) ラットおよびイヌにおける吸収, 分布, 排泄, 薬物動態, **6** (2) : 109-123 (1991).
- 4) Yoshikawa, M., Endo, H., Otsuka, M., Yamaguchi, I. and Harigaya, S. : Comparative study on the disposition of a new orally active dopamine prodrug, N-(N-acetyl-L-methionyl)-O, O-bis (ethoxycarbonyl) dopamine (TA-870) and dopamine hydrochloride in rats and dogs, *Drug Metab. Dispos.*, **16**(5) : 754-758 (1988).
- 5) Yoshikawa, M., Endo, H., Komatsu, K., Fujihara, M., Takaiti, O., Kagoishima, T., Umehara, M. and Ishikawa, H. : Disposition of a new orally active dopamine prodrug, N-(N-acetyl-L-methionyl)-O, O-bis (ethoxycarbonyl) dopamine (TA-870) in humans, *Drug Metab. Dispos.*, **18**(2) : 212-217 (1990).
- 6) 才川 勇, 久保 隆, 渡辺泰雄, 山本恵美子 : T-1220 の血清蛋白結合に関する研究, *Chemotherapy*, **25** : 810-814 (1977).
- 7) Kucera, J.L. and Bullock, F.J. : The binding of salicylate to plasma protein from several animal species, *J. Pharm. Pharmacol.*, **21** : 293-296 (1969).
- 8) Riddell, J. G., Harron, D.W.G. and Shanks, R.G. : *Clin. Pharmacokin.*, **12** : 305-320 (1987).
- 9) Solomon, H.M. and Schrogie, J.J. : The effect of various drug on the binding of Warfarin- 14 C to human albumin, *Biochem. Pharmacol.*, **16** : 1219-1226 (1967).
- 10) Kurz, H. and Trunk, H. : Der einfluss von phenylbutazon auf die binding von thiopental an a plasma proteine, *Naunyn-Schmied Arch. Pharmacol., Exp. Pathol.*, **257** : 300 (1967).
- 11) Anton, A. H. : A drug-induced change in the distribution and renal excretion of sulfonamides, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **134** : 291-303 (1961).
- 12) Borga, O., Azarnoff, D.L., Forshell, G.P. and Sjoqvist, F. : Plasma protein binding of tricyclic antidepressants in man, *Biochem. Pharmacol.*, **18** : 2135-2143 (1969).
- 13) Rudolph, W.L. and Claude, B.C. : The role of substituents in the hydrophobic binding of the 1.4-benzodiazepins by human plasma protein, *Mol.*

- Pharmacol.*, 12 : 612-619 (1976).
- 14) Burns, J.J. and Brodie, B.B. : The physiological disposition of phenylbutazone in man and a method for its estimation in biological material, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 109 : 346-357 (1953).
 - 15) Peter H. Ninderling : Kinetics of partitioning and binding of digoxin and its analogues in the subcompartments of blood, *J. Pharm. Sci.*, 73 : 1042-1052 (1984).
 - 16) Otto, J., Lesko, L.J. : Protein binding of nifedipine, *J. Pharm. Pharmacol.*, 38 : 399-400 (1985).
 - 17) Jozef Pandota and Albert W. Pruiff : Furosemide binding to human albumin and plasma of nephrotic children, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 127 : 159-166 (1975).
 - 18) Karim, A., Zagarella, J., Hribar, J. and Dooley, M. : Spironolactone. Disposition and metabolism, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 19 : 158-169 (1976).
 - 19) 津田恭介, 野上 寿 : 製剤設計法(1), 146 (1975).
 - 20) Piafsky, K.M. and Borga, O. : Plasma protein binding of basic drugs, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 22 : 545-549 (1977).
 - 21) Belpaire, F.M., Braeckman, R.A. and Bogaert, M.G. : Binding of oxprenolol and propranolol to serum, albumin and α 1-acid glycoprotein in man and other species, *Biochem. Pharmacol.*, 33 : 2065-2069 (1984).
 - 22) Kwong, T.C., Sparks, J.D. and Sparks, C.E. : Lipoprotein and protein binding of the calcium channel blocker diltiazem, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 178 : 313-316 (1985).