

ウサギにおけるレボフロキサシン単回経口投与後の眼内移行

望月 清文¹⁾, 大久保真司¹⁾, 鳥崎 真人¹⁾, 山下 陽子¹⁾
 棚橋 俊郎¹⁾, 神 義容²⁾, 岡本 裕一²⁾, 田中 眞³⁾

¹⁾金沢大学医学部眼科学教室, ²⁾第一化学薬品株式会社東海研究所

³⁾第一製薬株式会社開発研究所代謝分析研究センター

要 約

フルオロキノロン剤のレボフロキサシン (levofloxacin, LVFX) 経口投与後の眼内動態を白色および有色ウサギで検討した。 ¹⁴C-LVFX 20 mg/kg をウサギに経口投与し、投与1, 2 および6時間後のそれぞれの時点における眼球のオートラジオグラムを作製した。また、経口投与2時間後の各組織における放射能濃度を測定した。白色ウサギ眼のオートラジオグラムでは、眼球全体の放射能は投与1時間後に最も高く、時間経過とともに漸減したのに対し、有色ウサギでは1, 2 および6時間後の各時点で放射能強度はほぼ同程度であった。LVFX の放射能濃度は角膜においては、有色ウサギに比し白色ウ

サギで有意に高かったが、他のメラニン非含有組織においては、白色ウサギと有色ウサギでほぼ同程度であった。一方、メラニン含有組織におけるLVFXの放射能濃度は、白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かった。LVFXの眼内動態は有色ウサギと白色ウサギで明らかに異なり、LVFXのもつメラニン親和性に強く影響される。(日眼会誌 98:1085-1090, 1994)

キーワード: レボフロキサシン, オフロキサシン, メラニン, ウサギ, 眼内動態

Intraocular Penetration of Oral Levofloxacin in Rabbits

Kiyofumi Mochizuki¹⁾, Shinji Ohkubo¹⁾, Makoto Torisaki¹⁾,
 Yohko Yamashita¹⁾, Toshiro Tanahashi¹⁾, Yoshitaka Jin²⁾,
 Yuichi Okamura²⁾ and Makoto Tanaka³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine

²⁾Tokai Research Laboratories, Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd.

³⁾Drug Metabolism and Analytical Chemistry Research Center, Development Research Laboratories, Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.

Abstract

The intraocular penetration of levofloxacin was studied in albino and pigmented rabbits after oral administration of ¹⁴C-levofloxacin at a dose of 20 mg/kg. The radioactivity of the eyeball of albino rabbits in the autoradiogram was much higher at 1 hr than at 2 or 6 hr after administration. On the other hand, the distribution of radioactivity in pigmented rabbits was similar at 1, 2, and 6 hr after administration. The radioactivity levels in melanin-containing tissues such as the iris-ciliary body and the choroid-retina were significantly higher in pig-

mented rabbits than in albino rabbits 2 hr after oral administration. The radioactivity levels in the ocular tissues without melanin except for the cornea were similar in albino and pigmented rabbits. These results indicate that the intraocular pharmacokinetics of levofloxacin are markedly affected by its affinity for melanin. (J Jpn Ophthalmol Soc 98:1085-1090, 1994)

Key words: Levofloxacin, Ofloxacin, Melanin, Rabbit, Ocular pharmacokinetics

別刷請求先: 920 石川県金沢市宝町13-1 金沢大学医学部眼科学教室 望月 清文
 (平成6年4月18日受付, 平成6年7月6日改訂受理)

Reprint requests to: Kiyofumi Mochizuki, M.D. Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine, 13-1 Takara-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa-ken 920, Japan
 (Received April 18, 1994 and accepted in revised form July 6, 1994)

I 緒 言

フルオロキノロン剤の一つであるオフロキサシン (ofloxacin, 以下 OFLX) は, 2種の光学異性体, S体とR体を1:1の割合に含むラセミ体であり, そのS体がレボフロキサシン (levofloxacin, 以下 LVFX), R体がDR-3354である。緑膿菌, 黄色ブドウ球菌および表皮ブドウ球菌などをはじめとする主要な眼感染症の起原因菌に対するLVFXの抗菌活性はOFLXのほぼ2倍であり, これに対しDR-3354の抗菌活性が著しく低いことから, LVFXがOFLXの抗菌活性の本体であると考えられている¹⁾。そこで, LVFXのみの分離がすすめられ, 近年になりLVFXが臨床応用されるに至った。眼科領域においても, 今後LVFXを使用する機会が増えていくと考えられるが, フルオロキノロン剤は高度のメラニン親和性を有し, 虹彩毛様体や網脈絡膜内に大量に濃縮蓄積されてクロロキン網膜症のような網膜障害を引き起こす可能性が指摘されている²⁾ので, その使用にあたっては副作用の発現に十分な注意が必要である。一方, 眼球には血液眼関門が存在するため, 一般に薬剤の眼内移行は不良とされている。したがって, 眼感染症に対するLVFXの有効性および安全性を予測する上で, 全身投与されたLVFXの眼内動態の検討は極めて重要である。

全身投与されたLVFXないしOFLXの体内動態については, 既に¹⁴C-LVFX³⁾⁻⁵⁾あるいは¹⁴C-OFLX⁶⁾のラット, イヌおよびサルへの経口投与で検討され, サルにおいてメラニン含有組織であるぶどう膜および毛嚢にLVFXおよびOFLXが最も高濃度に分布することが報告されている⁵⁾。しかし, LVFX経口投与後の眼各組織内への詳細な移行動態についてはこれまで明らかにされておらず, また, 有色種と白色種での比較検討はなされていない。そこで今回, ¹⁴C-LVFXを有色および白色ウサギに経口投与した際の眼内動態をオートラジオグラムを用いて検討した。

II 実験方法

1. 標識化合物

¹⁴C-LVFX (第一製薬) を使用した。その比放射能は2.88 MBq/mgで, 薄層クロマトグラフィーのかき取り法で測定した放射化学的純度は96%以上であった。薄層クロマトグラフィーに際しては, 吸着剤としてシリカゲル60 F₂₅₄ (ガラスプレート, 厚さ0.25 mm, E. Merck), 展開溶媒としてクロロホルム:メタノール:28%アンモニア水=2:2:1, エタノール:28%アンモニア水=7:3および2-プロパノール:10%アンモニア水=3:2を用いた。

2. 被験動物

被験動物として, 体重2.40~2.95 kgのJW系SPF白色ウサギ (北山ラベス) および体重1.78~2.10 kgの

ダッチ系有色ウサギ (市川屋) を用いた。

ウサギを1ケージに1匹ずつ収容し, 固型飼料 (GM-1, 船橋農場) 約90 g/日を与え, 水を自由に摂取させた。温度を23±2°C, 湿度を55±15%とし, 12時間照明 (午前6時~午後6時まで) の下で予備飼育を2週間以上行った。さらに, ¹⁴C-LVFX投与1週間前から飼料を午後1時頃に与え, 2時間以内に摂取するように習慣付けたのち実験に供した。眼球のオートラジオグラフィーによる検討では各測定時点ごとに有色ウサギおよび白色ウサギそれぞれ1匹を, 眼組織内放射能濃度の測定では有色ウサギおよび白色ウサギそれぞれ4匹を使用した。

3. 投与液の調整および投与方法

測定感度を考慮して, ¹⁴C-LVFXに非標識LVFX (第一製薬) を比放射能が1.85 MBq/kgとなるように加えた。混合した薬剤を注射用蒸留水 (大塚製薬) に溶解し, LVFXとして10 mg/mlの濃度に調整した。薬剤投与に際し, 上記投与液2 ml/kg (LVFXとして20 mg/kg) をカテーテル (ネラトンカテーテル No. 8, 出雲ゴム工業) を用いて強制的に胃内に投与した。投与に際しては絶食処置を施さなかった。

4. 眼球のオートラジオグラフィー

白色および有色ウサギに¹⁴C-LVFXを経口投与し, 1, 2および6時間後の各時点で白色および有色ウサギそれぞれ1匹においてペントバルビタールナトリウム (ネンブタール®, 大日本製薬) 100 mg/kgを静脈内投与して麻酔死させた。直ちに眼球を摘出し, -70°Cのドライアイス・アセトンで凍結した。次いで, 5%カルボキシメチルセルロースで眼球をマイクロトームステージ上に包埋し, -70°Cのドライアイス・アセトンで再度凍結した。その後, クライオマイクロトーム (PMW 450 MP, LKB) に固定し, -25°C前後で厚さ約35 μmの凍結切片を接着テープ (No. 810, 住友スリーエム) に貼り付けて削り取った。得られた凍結切片を-25°C前後で凍結乾燥し, 切片表面を保護膜 (4 μm, ダイアホイル) で覆った後にX線フィルム (MARG³Hタイプ, コニカ) と密着させた。4°Cで28日間露出したのちX線フィルムを現像し, 眼球のオートラジオグラムを作製した。次いで, ビデオカメラを用いた画像処理システムにより得られた眼球切片像およびそのオートラジオグラムを拡大疑似カラー表示し, それぞれを重ね合わせた像を各時点毎に作製した。また, 同時に標準線源 (ステアケース, 室町化学) についてもカラー画像変換し, ステアケースの各疑似カラーに対応させ, 組織中濃度を求めた。網膜, 脈絡膜および強膜は画像上識別困難であったので, 三者を一塊として扱った。虹彩毛様体では画像上の部位から虹彩と毛様体を分けて計測した。

5. 眼組織内放射能濃度の測定

白色ウサギおよび有色ウサギ各4匹に¹⁴C-LVFXを経口投与した。投与2時間後にペントバルビタールナトリ

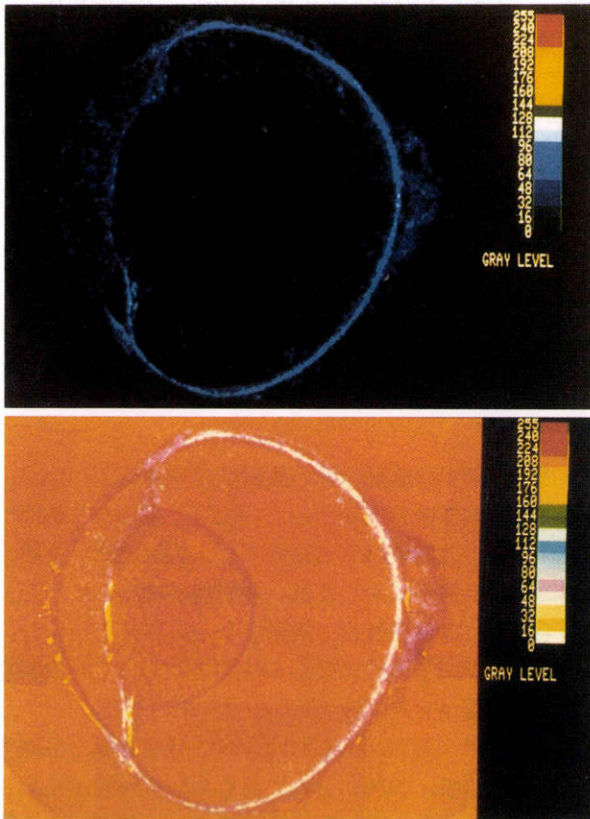


図1 白色ウサギへの¹⁴C-レボフロキサシン (20 mg/kg) 単回投与 1 時間後のオートラジオグラム。
 図1～4において、上半は疑似カラー化オートラジオグラム、下半は眼球切片像と疑似カラー化オートラジオグラムを重ね合わせた像を示す。

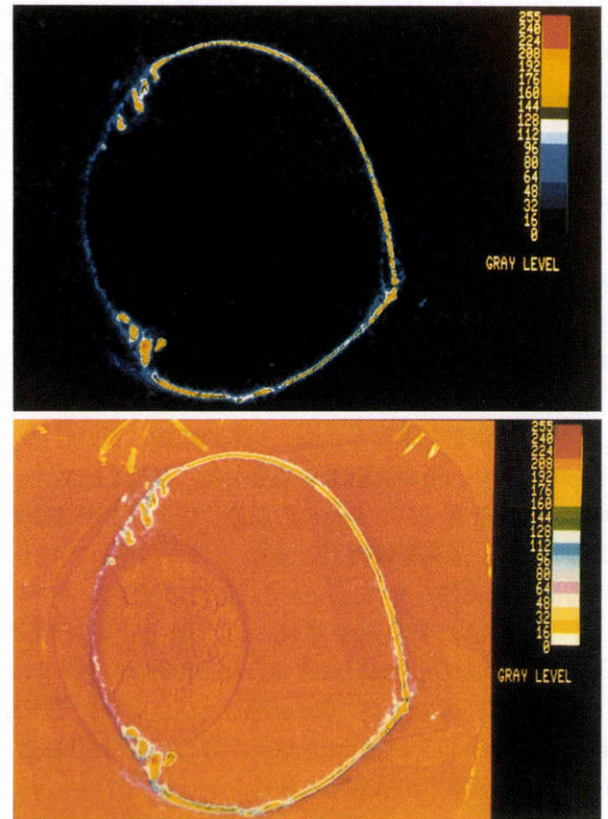


図3 有色ウサギへの¹⁴C-レボフロキサシン (20 mg/kg) 単回投与 1 時間後のオートラジオグラム。

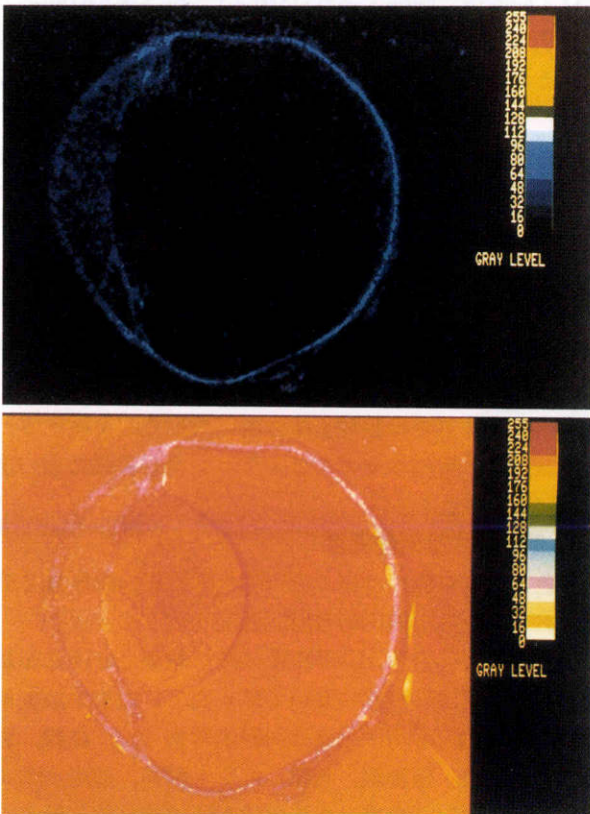


図2 白色ウサギへの¹⁴C-レボフロキサシン (20 mg/kg) 単回投与 2 時間後のオートラジオグラム。

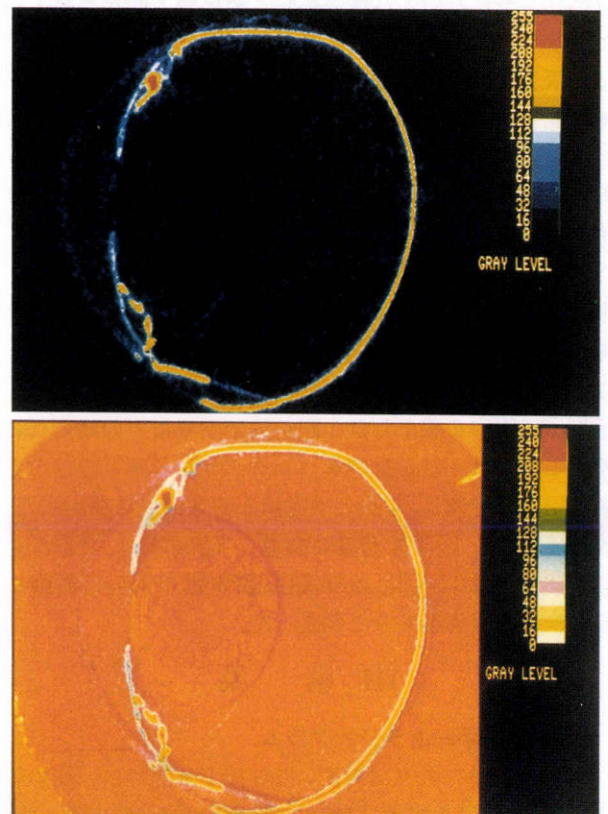


図4 有色ウサギへの¹⁴C-レボフロキサシン (20 mg/kg) 単回投与 2 時間後のオートラジオグラム。

ウム (ネンプタル®) 50 mg/kg の静脈内投与による麻酔を施し、腹大動脈から採血を行い致死させた。得られた血液から 500 μ l を採取し、残りの血液を遠心分離 (1,800 \times g, 4°C, 15分) して得られた血清 500 μ l とともに放射能測定用試料とした。続いて、各ウサギにおいて右眼球を摘出し、前房水を吸引した後に実体顕微鏡下で角膜、結膜、外眼筋、強膜、虹彩毛様体、水晶体、硝子体、網脈絡膜および視神経の各組織に分割した。組織採取にあたっては、他の組織が混入しないように十分に注意した。また、大脳および小脳組織片も採取した。

血液および血清を除く各組織ではその湿重量を測定し、放射能測定用試料とした。一部の組織については小片を切り取り、その湿重量を測定した。濾紙を詰めた自動燃焼用の紙コップにこれらの血液、血清および各組織試料を入れ、電気乾燥機 (IC-102, ヤマト科学) で 40°C, 24 時間以上乾燥させた。次いで、自動燃焼装置 (ASC-113, ALOKA) で試料を燃焼し、二酸化炭素吸収剤 Oxisorb-CO₂ (Du Pont NEN Research Products) 6 ml およびシンチレーター-Oxiprep-2 (Du Pont NEN Research Products) 12 ml を加えたのちに放射能測定に供した。各試料中の放射能を液体シンチレーションカウンター (LSC-903, ALOKA) で 2 分間計数した。計数効率の補正は外部標準線源によるチャンネル比法によった。

得られた値から各試料内放射能濃度を求めた。なお、有色ウサギにおいては神経網膜と脈絡膜・網膜色素上皮とを分画して測定した。すなわち、摘出した眼球を前後に分割し、硝子体を除いた後に視神経を中心に後眼部を 4 分割した。5% グルタルアルデヒド液に 1~2 分浸して組織を固定したのちに、視神経乳頭部からピンセットで神経網膜を剝離した。また、虹彩毛様体では分離せず、一塊として計測した。

放射能濃度測定の結果を白色および有色ウサギ 4 匹の平均値と標準偏差 (SD) で表示した。放射能の検出限界をバックグランド値 (dpm) の 2 倍とした。4 眼中 3 眼以上が検出限界以下の場合には ND (not detected) と表示し、4 眼中 2 眼または 1 眼が検出限界以下の場合には検出限界以下を示した例もバックグランド値との差の数値を用いて計測し、4 眼の平均値と標準偏差を算出した。放射能濃度を LVFX 濃度に換算して表示した。2 群間の有意差検定には Wilcoxon 順位和検定を用い、危険率 5% 未満を有意差ありと判定した。

III 結 果

1. 眼球のオートラジオグラム

白色ウサギへの¹⁴C-LVFX 投与後 1 時間では、網脈絡膜、強膜、虹彩毛様体において高い放射能が検出された。角膜および前房水には低い放射能しか検出されず、水晶体および硝子体には放射能は検出されなかった (図 1)。

表 1 白色および有色ウサギへの¹⁴C-レボフロキサシ (20 mg/kg) 単回投与後の眼組織内放射能強度 (GV)

眼組織	放射能強度 (GV)						
	投与後の時間 (hr)	1		2		6	
		ウサギ	白色	有色	白色	有色	白色
角膜		23	15	34	22	18	22
網脈絡膜・強膜		83	155	65	197	17	197
虹彩		52	64	28	103	ND	122
毛様体		83	189	44	204	ND	197
前房水		15	12	20	13	7	5

ND: 測定限界以下

投与後 2 時間では眼球全体の放射能はやや低下したが、1 時間後と同様の分布を示した (図 2)。投与後 6 時間では眼球全体の放射能はさらに低下し、網脈絡膜、強膜、角膜および前房水において低い放射能が検出されたが、虹彩毛様体には痕跡程度の放射能しかみられなかった。水晶体および硝子体には投与 6 時間後においても放射能は検出されなかった (表 1)。

有色ウサギへの¹⁴C-LVFX 投与後 1 時間では、毛様体および網脈絡膜、強膜において最も高い放射能が検出され、次いで、虹彩に高い放射能がみられた (図 3)。角膜および前房水には低い放射能しか検出されず、水晶体および硝子体には放射能は検出されなかった。投与後 2 時間では眼球全体の放射能はやや上昇したが、放射能の分布は 1 時間後と同様であった (図 4)。投与後 6 時間における眼球全体の放射能は 2 時間後に比しほとんど低下せず、その放射能分布も 2 時間後とほぼ同様であった (表 1)。

放射能濃度および分布を白色ウサギと有色ウサギで比較すると、投与 1 および 2 時間後では、白色および有色ウサギともに網脈絡膜、強膜、毛様体および虹彩において高い放射能が検出されたが、メラニン含有組織への放射能の分布は白色ウサギに比し有色ウサギで明らかに高かった。一方、メラニン非含有組織への分布は白色ウサギと有色ウサギとでほぼ同様であった。投与 6 時間後では、白色ウサギでは眼球全体に低い放射能しか検出されなかったが、有色ウサギではメラニン含有組織に高い放射能が検出された。

2. 眼組織内放射能濃度

白色および有色ウサギへの¹⁴C-LVFX 経口投与後 2 時間における眼各組織内の放射能濃度を表 2 に示す。

白色ウサギへの¹⁴C-LVFX 投与後 2 時間における組織内放射能濃度は外眼筋において最も高く、血清中放射能濃度 (3.78 μ g eq/ml) とほぼ同程度であった。結膜、強膜、網脈絡膜、視神経、角膜、虹彩毛様体、前房水および硝子体の放射能濃度は血清中放射能濃度に比し低く、血清中放射能濃度の約 10~55% を示した。また、水晶体では最も放射能濃度が低く、血清中放射能濃度の約 3%

表2 ^{14}C -レボフロキサシン(20 mg/kg)単回投与2時間後の組織内放射能濃度

組 織	放射能濃度 (平均値±標準偏差, $\mu\text{g eq/g}$ or $\mu\text{g eq/ml}$)	
	白 色	有 色
血清	3.78±0.77	4.40±1.68
血液	3.53±0.88	3.93±1.55
大脳	0.56±0.18	0.49±0.15
小脳	0.57±0.18	0.40±0.13
角膜	1.46±0.49	0.71±0.27†
結膜	2.43±1.10	1.15±0.30
外眼筋	4.02±1.45	4.05±0.94
強膜	1.93±0.56	0.90±0.72
虹彩毛様体	1.30±0.32	14.08±1.56†
前房水	0.77±0.21	0.57±0.12
水晶体	0.11±0.04	0.06±0.02
硝子体	0.43±0.12	0.41±0.11
網脈絡膜	1.72±0.54	
神経網膜		0.76±0.11
脈絡膜・網膜色素上皮		30.56±9.35†
視神経	1.71±0.66	0.93±0.39†

†は白色ウサギと有色ウサギとの間で有意差があることを示す(Wilcoxon 順位検定, $p < 0.05$).

であった。

有色ウサギへの ^{14}C -LVFX投与後2時間における組織内放射能濃度は脈絡膜・網膜色素上皮および虹彩毛様体において高く、それぞれ血清中放射能濃度(4.40 $\mu\text{g eq/ml}$)の約8.1倍および約3.4倍を示した。外眼筋の放射能濃度は血清中放射能濃度とほぼ同程度であり、また、視神経、強膜、結膜、網膜、角膜、前房水および硝子体での放射能濃度は低く、血清中放射能濃度の約10~29%を示した。水晶体の放射能濃度は最も低く、血清中放射能濃度の約2%であった。

眼各組織での放射能濃度を白色ウサギと有色ウサギで比較すると、角膜および視神経の放射能濃度は有色ウサギに比し白色ウサギで有意に高く、他のメラニン非含有組織(結膜、外眼筋、強膜、前房水、水晶体および硝子体)での放射能濃度は白色ウサギと有色ウサギではほぼ同程度であった。これに対して虹彩毛様体や脈絡膜・網膜色素上皮といったメラニン含有組織での放射能濃度は白色ウサギに比し有色ウサギで有意に高かった。

IV 考 按

フルオロキノロン剤がメラニン親和性を有し、虹彩毛様体、脈絡膜や網膜色素上皮に蓄積し眼障害を引き起こす可能性が近年指摘されており²⁾、LVFXにおいても経口投与後の眼内移行濃度の検討は重要と思われる。しかし、高速液体クロマトグラフィー(high-performance liquid chromatography, 以下 HPLC)によるメラニン含有組織内のフルオロキノロン剤濃度の測定では、そのメラニン親和性から従来用いられてきた中性抽出ではフル

オロキノロン剤の抽出は不十分であるとされている²⁾。そこで、強アルカリを用いた種々の抽出法が検討されており²⁾⁷⁾⁸⁾、小室ら⁸⁾は ^{14}C -ノルフロキサシン(norfloxacin, 以下 NFLX)を投与したウサギにおいてメラニン含有組織からのNFLX抽出法を検討した結果、6 N KOHを加えてホモジナイズし、一晚室温に放置した後に遠心分離すると95%以上の放射能が回収され、その定量法を用いて ^{14}C -NFLXを投与した有色ウサギの眼組織内薬物濃度をHPLCにより測定したところ、燃焼法により測定した放射能濃度とほぼ一致したと報告している。しかし、LVFXに関してはHPLCによる濃度測定に際してのメラニン含有組織からの抽出率の検討はなされていないので、LVFXの抽出率に影響されず最も信頼できる値を得るために、今回は ^{14}C -LVFXを用いて放射能濃度により眼組織内薬物濃度を測定した。また、LVFXの代謝産物としては、ヒトの血清中ではdesmethyl LVFXおよびLVFX N-oxideがそれぞれLVFXの1.2%および0.6%程度検出されるのみと報告されている⁹⁾。種差のある可能性もあるが、代謝はわずかであると推定されるので、本研究では検出される放射能は ^{14}C -LVFXからのものであると考えた。

オートラジオグラムによる検討において、眼球全体の放射能は白色ウサギでは経口投与1時間後に最も高く、2時間後、6時間後と時間の経過とともに放射能が徐々に低下していくのに対して、有色ウサギでは1、2および6時間後のすべての時間において類似した強度および分布を示しており、有色ウサギでは長時間かつ、高濃度に分布する傾向がみられた。また、有色ウサギではメラニン含有組織における放射能は極めて高かったが、メラニン非含有組織における放射能は白色ウサギとほぼ同程度であった。さらに、経口投与2時間後における眼組織内放射能濃度の詳細な検討において、角膜、視神経での放射能濃度は有色ウサギに比し白色ウサギで有意に高く、他のメラニン非含有組織での放射能濃度は白色ウサギと有色ウサギではほぼ同程度であった。一方、虹彩毛様体や脈絡膜・網膜色素上皮といったメラニン含有組織での放射能濃度は白色ウサギに比し有色ウサギでは有意に高かった。これら有色ウサギと白色ウサギにおけるLVFXの眼内分布および各組織内濃度の比較から、LVFXのメラニン親和性がその眼内動態に強く影響することが明らかになった。

井上ら¹⁰⁾は、ヒトにおいてフルオロキノロン剤のロメフロキサシン(lomefloxacin, 以下 LFLX)内服(400 mg/日×3日)後の前房水内および血清中のLFLX濃度を測定し、内服終了24時間後には前房水内濃度が血清中濃度を凌駕することを報告し、その理由として内服したLFLXが虹彩毛様体のメラニンに捕捉集積され、血清中のLFLX濃度が低下すると毛様体からLFLXが放出される可能性を指摘している。Fukudaら¹¹⁾は、合成メラニ

ンを用い各種抗菌剤のメラニンとの結合率ならびにメラニンとの結合が抗菌活性に及ぼす影響について検討した。その結果、LFLX および OFLX のメラニン結合率はそれぞれ4.2~8.6%および14.3~37.1%であり、両薬剤ともにメラニンと結合しても抗菌活性は低下しなかったという。よって、虹彩毛様体や網脈絡膜内のメラニンにLVFXが捕捉され、その後長期にわたって徐々に放出されるとすれば薬効の持続が期待される。しかし、その反面長期間にわたり薬剤が局所に高濃度に存在する可能性があるため、虹彩毛様体や網膜などに悪影響を及ぼすことが危惧される。今回の結果から、LVFXの眼内動態がそのメラニン親和性に強く影響を受けることが明らかになったので、長期あるいは大量にLVFXを全身あるいは局所投与する際には眼組織における毒性の発現に十分な注意が必要と思われる。

稿を終えるにあたり、ご校閲を賜りました河崎一夫教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 五島嗟智子, 宮崎修一, 石田佳久: ニューキノロン系抗菌剤 levofloxacin (DR-3355) の *in vitro*, *in vivo* 抗菌作用. *Chemotherapy* 40(s-3): 14-26, 1992.
- 2) 三井幸彦: フルオロキノロン剤の問題点. *あたらしい眼科* 9: 215-223, 1992.
- 3) 青木浩之, 岡崎 浩, 倉田忠司, 新谷尚三, 立澤晴男, 伯水英夫: DR-3355の体内動態 (第1報): ラットにおける単回経口投与時の吸収, 分布および排泄. *薬物動態* 6: 793-803, 1991.

- 4) 青木浩之, 岡崎 浩, 伯水英夫, 江角凱夫, 三次孝一, 片身好春, 他: DR-3355の体内動態 (第3報): イヌにおける単回経口投与時の吸収および排泄. *薬物動態* 6: 817-822, 1991.
- 5) 倉田忠司, 青木浩之, 岡崎 浩, 伯水英夫, 江角凱夫, 三次孝一, 他: DR-3355の体内動態 (第4報): サルにおける単回経口投与時の吸収, 分布および排泄. *薬物動態* 6: 823-832, 1991.
- 6) 岡崎 浩, 倉田忠司, 橋本浩一, 須藤賢一, 津村光義, 立澤晴男: DL-8280の体内動態 (第2報): ¹⁴C-DL-8280の各種動物における吸収, 分布, 排泄. *Chemotherapy* 32(S-1): 1185-1202, 1984.
- 7) 福田正道, 佐々木一之: フルオロキノロン系抗菌剤 ノルフロキサシンの有色家兎眼への移行動態. *あたらしい眼科* 10: 431-434, 1993.
- 8) 小室正勝, 小宮千鶴, 堀 弥, 石田了三, 大久保秀夫: 高速液体クロマトグラフィーによるメラニン含有組織中 Norfloxacin 濃度測定方法の検討. *あたらしい眼科* 10: 1755-1759, 1993.
- 9) Okazaki O, Aoki H, Hakusui H: High-performance liquid chromatographic determination of (S)-(-)-ofloxacin and its metabolites in serum and urine using a solid-phase clean-up. *J Chromatog* 563: 313-322, 1991.
- 10) 井上慎三, 松村香代子, 西原 勝, 三崎昌史: ヒトにおけるロメフロキサシン内服後の特異な房水内動態—とくにメラニンの関与について—. *あたらしい眼科* 10: 87-90, 1993.
- 11) Fukuda M, Sasaki K: Changes in antibacterial activity of melanin-bound drugs. *Ophthalmic Res* 22: 123-127, 1990.