

# FARELERDE PENTOBARBİTAL VE TİYOPENTALLE OLUŞTURULAN ANESTEZİ ÜZERİNE ERİTROMİSİNİN ETKİLERİ

Ali BİLGİLİ<sup>1</sup>

Sezai KAYA<sup>2</sup>

Abdullah DOĞAN<sup>3</sup>

**The effects of erythromycin on anaesthesia induced by pentobarbital and thiopental in mice**

**Summary:** *In this experiment, the effects of erythromycin used widely in veterinary practice on anaesthesia induced by pentobarbital and thiopental were studied.*

*Totally eighty-four white mice which were divided into fourteen experimental groups, each consisting of six animals, were used. The animals in the first and second groups were maintained as control and were anaesthetized by pentobarbital and thiopental, respectively. In the other groups of experiments, mice were administered of the dose level of 3 mg/50 g erythromycin intraperitoneally twice a day for 3 days. Two to 192 hours after the last antibiotic administration, mice in the groups 5, 7, 9, 11 and 13 were given intraperitoneally pentobarbital at the dose rate of 30 mg/kg body weight. Mice in the groups 6, 8, 10, 12 and 14 received an intraperitoneally injection of thiopental at the dose level of 50 mg/kg body weight. In the experimental groups, period of induction of anaesthesia, anaesthesia time and recovery of anaesthesia were determined and compared by controls.*

*After erythromycin, it was determined that the duration of induction of anaesthesia was shortened significantly ( $p < 0.05$ ) in the groups of pentobarbital treated, but anaesthesia and recovery times were prolonged significantly ( $P < 0.05$ ) in these groups. Moreover, there were highly significant ( $P < 0.05$ ) differences among the pentobarbital groups in relation to induction anaesthesia, anaesthesia times and recovery of anaesthesia ( $P < 0.001$ ). On the other hand, after the antibiotic administration, it was determined that the duration of induction of anaesthesia was not effected in all thiopental-treated groups of mice, but, the anaesthesia times and recovery of anaesthesia were prolonged significantly ( $p < 0.05$ ) and of the differences among the groups, it was highly significant ( $p < 0.001$ ) in relation to the anaesthesia times and it was significant ( $p < 0.01$ ) in relation to the recovery of anaesthesia.*

*It is concluded from the results that taking into consideration have to be necessary for the pharmacokinetic interaction among drugs that have been used in clinical and due to the depression of enzymatic activity, following, even though days later, ceasing the application of antibacterial drugs, effects of drugs metabolized by these enzymes would be changed in a manner of unpredictable.*

**Özet:** *Bu çalışmada, veteriner hekimliğinde geniş kullanım alanı bulan eritromisin'in pentobarbital ve tiyopentalle yol açılan anesteziye etkileri incelendi. Araştırmada toplam 84 beyaz fare kullanıldı; hayvanlar herbirinde 6 hayvan bulunan 14 gruba ayrıldı. Grup 1 ve 2 kontrol grubu olarak tutuldu ve bunlar, sırasıyla, pentobarbital ve tiyopentalle anestezi edildiler. Diğer gruplardaki hayvanlara periton içi yolla günde 2 kez, 3 gün süreyle 3 mg/50 g dozda eri-*

1 Doç. Dr., A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

2 Prof. Dr., A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

3 Doç. Dr., K.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

tromisin uygulandı. Eritromisin uygulanulamasının kesilmesini takiben 2 saat sonra 3 ve 4., 12 saat sonra 5 ve 6., 24 saat sonra 7 ve 8., 48 saat sonra 9 ve 10., 96 saat sonra 11 ve 12., 192 saat sonra da 13 ve 14. grupta bulunan hayvanlar, sırasıyla, pentobarbital ve tiyopentalle anestezi altına alındılar. Bunlardan anesteziye giriş, anesteziye kalış ve anesteziye uyanma süreleri tesbit edilerek, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldı.

Eritromisini takiben, pentobarbital uygulanan tüm gruplarda anesteziye giriş süresinin önemli ( $p < 0.05$ ) ölçüde kısaldığı, anesteziye kalış süresinin önemli ( $p < 0.05$ ) şekilde azaldığı ve anesteziye uyanma süresinin yine önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) uzadığı hesaplandı. Anesteziye giriş, anestezi süresi ve anesteziye uyanma bakımından gruplar arasındaki farkın çok önemli ( $p < 0.001$ ) olduğu belirlendi. Eritromisinden sonra, tiyopental verilen tüm gruplarda anesteziye giriş süresinin değişmediği; anesteziye kalış ve anesteziye uyanma sürelerinin önemli ( $p < 0.05$ ) ölçüde uzadığı belirlendi ve gruplar arasındaki farkın anesteziye kalış süresi bakımından çok önemli ( $p < 0.001$ ) ve anesteziye uyanma süresi yönünden önemli ( $p < 0.01$ ) olduğu belirlendi.

Araştırma sonuçlarından, klinikte ilaçlar arasında özellikle biyotransformasyon (BT) düzeyindeki farmakokinetik nitelikte etkileşimler için dikkatli olunması gerektiği; eritromisinle sağaltımın durdurulmasını takiben, günlerce sonra bile, enzim etkinliğinin baskılanması sebebiyle, bu enzimlerle metabolize edilen ilaçların etkilerinin önceden kestirilemeyecek şekilde değişebileceği sonucuna varıldı.

## Giriş

Vücut için yabancı bir madde olan ilaç ve diğer kimyasal maddelerin çoğu vücutta uygulandıkları veya girdikleri andan itibaren birçok metabolik değişikliğe uğrarlar. Bu değişiklikler vücutta, başlıca karaciğerde olmak üzere, enzimlerle gerçekleştirilir. İlaç ve benzeri maddelerin uğradıkları bu değişikliklere biyotransformasyon (BT) adı verilir. BT sonucu ilaçlar genellikle etkisiz veya zayıf etkili, suda kolay çözünen ve vücuttan hızla atılan metabolitlere çevrilirler. Bu durumda BT'a biyoetkinsizleşme adı verilir; birleşme tepkimelerinin ürünleri bu tür olayların örnekleridir. Yalnız, bazen ilaç ve diğer maddeler BT sonucu kendilerinden daha etkili veya zehirli metabolitlere çevrilirler; bu durumda da BT olayı biyoetkinleşme olarak bilinir. BT ile, ilaçların etkinlikleri yanında, farmakokinetikleri de değişir; moleküllerinde iyonlaşabilen veya iyonlaşmamakla beraber yağdaki çözünürlüğünü azaltan gruplar şekillenir ya da anılan özelliği kazandıran endojen gruplar bağlanır (4, 5, 11).

Bu tepkimelerin gerçekleştirilmesinde sitokrom P-450'ye bağlı monooksijenazlar önemli bir yer tutar; bu enzimlerin değişik türleri ve alt tipleri vardır ve miktarları organlara, türlere ve ırklara göre farklılık gösterir. Bu mikrozomal enzim sisteminin önemli özelliklerinden birisi çeşitli maddeler tarafından etkinliğinin artı-

rılabilmesi veya azaltılabilmesidir; bu durum özellikle sağaltımda kullanılan maddeler ile bazı çevre kirleticileri yönünden önem taşır. Zira, gerek sağaltım amacıyla kullanılan ilaçlar gerekse çevrede bulunan çeşitli kimyasal maddeler (ksenobiotikler diye bilinirler) az ya da çok bu enzim sistemini etkilerler. Doğal olarak, bu durumun hekimlik yönünden önemi çok fazladır (1, 7, 12, 13, 18, 19, 20).

Mikrozomal enzimlerin etkinliğinin artması bazı ilaçların etkilerinin azalmasına veya zayıflamasına, ön ilaç veya zayıf etkili madde halinde bulunan bazılarının ise etkinliklerinin artmasına sebep olur. Diğer bir ifadeyle, bu enzim sisteminin etkinliğinin azalması bazı ilaçlarda etkinliğin artışıyla ve bazılarında ise azalmasıyla sonuçlanır (2, 6, 17).

Eritromisin makrolid grubundan genişçe etki spektrumu olan bir antibiyotik olup, veteriner ve beşeri hekimlikte geniş kullanım alanı bulan bir maddedir. Yapılan bazı çalışmalarda (1, 10, 13), ilacın mikrozomal enzimlerin etkinliğini baskı altına aldığı ve bir dozunun etkisinin yaklaşık iki hafta sürdüğü bildirilmektedir. Eritromisin de aralarında bulunduğu makrolid ilaçların mikrozomal enzimler (sitokrom P-450 "p izotipi") tarafından etkin bir ara ürüne çevrildikleri ve bunun da sitokromdaki hem'in yapısında bulunan demiri bağladığı ve enzimin etkinliğini engellediği sanılmaktadır. Eritromi-

sinin çeşitli ester ve tuzlarının bu tür etkileri vardır; ama, bunlar içinde eritromisin propiyonat ile loril sülfatın birleşme ürünü olan eritromisin estolat etki gücü en fazla olmaktadır. Eritromisin molekülünün suyu sevme özelliği ve yapısında etkilenebilir N-dimetilamino grubunun bulunması bu olaydan sorumlu gibi görünmektedir. Buradaki hidrojen yerine flor atomunun (bu hidrojene göre izoesterik ya da daha elektro negatifdir) geçmesi molekülün veya grubun kimyasal ve biyolojik özelliklerini önemli derecede etkilemektedir; gerçekten de böyle bir bileşiğin dağılım katsayısı baz halindeki eritromisinden daha küçüktür. Bu durum ise molekülün monooksijenazları etkilemesini engellemektedir (21, 22, 23, 25). Barbitürat türevlerinden bazıları veteriner hekimlikte anesteziye giriş ve anestezinin sürdürülmesi için geniş olarak kullanılırlar; bunlar karaciğerde metabolize olurlar ve mikrozomal enzimlerin substratıdır.

Bu çalışmada, veteriner hekimliğinde geniş kullanım alanı bulan eritromisinin bazı barbitüratik asit türevi uyku ilaçlarıyla yol açılan anesteziye olabilecek etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

#### Kimyasal maddeler

- Eritromisin (Gallimycin-50mg/ml, Abfar).
- Serum fizyolojik (İzotonik sodyum klorür çözeltisi, Baxter).
- Pentobarbital (Nembutal sodium, Abfar).
- Tiyopental (Pentothal sodium, Abbott).

#### Çözeltiler

- Pentobarbital injeksiyonluk çözelti: Serum fizyolojik ile 750 mg/100 ml'lik çözelti hazırlandı.

• Tiyopental injeksiyonluk çözelti: Serum fizyolojik ile 1250 mg/100 ml'lik çözelti hazırlandı.

• Eritromisin injeksiyonluk çözelti: Gallimycin injeksiyonluk çözeltilerden serum fizyolojik ile 2.5 mg/ml'lik çözelti hazırlandı.

#### Deney Hayvanları

Bu çalışma, 30-40 g ağırlığında toplam 84 beyaz fare üzerinde gerçekleştirildi. Fareler, Tablo 1'de görüldüğü gibi, 6'şar hayvanlık 14 gruba ayrıldı.

Grup 1 ve 2 kontrol olarak tutuldu; bunlardan Grup 1'deki fareler pentobarbital gruplarının ve Grup 2'dekiler de tiyopental gruplarının kontrolü olarak görev yaptılar.

Grup 3-14'de bulunan hayvanlara günde 2 kez olmak üzere 3 gün süreyle periton içi yolla 3 mg/50 g dozda eritromisin uygulandı ve eritromisin sağaltımının kesilmesini takiben, Tablo 1'de görüldüğü gibi, değişik sürelerden sonra anestezi edildiler. Hayvanlara periton içi yolla pentobarbital 1.5 mg/50 g ve tiyopental de 2.5 mg/50 g dozda uygulandı.

Kontrol ve çalışma gruplarındaki farelerde anesteziye giriş, anestezide kalış ve anesteziden uyanma süreleri çeşitli refleksler ve ağrı duyusunun algılanması testleriyle tesbit edildi ve bu süreler dakika (dk) olarak ifade edildi. Ayrıca, istatistik analiz için t-testi, f-testi (9) ve Duncan-testi kullanıldı (24).

#### Bulgular

Kontrol grupları ile eritromisin sağaltımının durdurulmasını takiben 2, 12, 24, 48, 96 ve 192 saat sonra pentobarbital ve tiyopentalle anestezi edilen çalışma gruplarında ortalama anesteziye giriş, anestezide kalış anesteziden çıkış süreleri, Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1. Farelerin Kontrol ve Çalışma Grupları.  
Table 1. The control and test groups of mice.

Pentobarbital kontrol ve çalışma grupları		Tiyopental kontrol ve çalışma grupları	
Grup 1,	Kontrol, Pentobarbital	Grup 2,	Kontrol Tiyopental
Grup 3,	Eritromisinden 2 saat	Grup 4,	Eritromisinden 2 saat
Grup 5,	" 12 saat	Grup 6,	" 12 saat
Grup 7,	" 24 saat	Grup 8,	" 24 saat
Grup 9,	" 48 saat	Grup 10,	" 48 saat
Grup 11,	" 96 saat	Grup 12,	" 96 saat
Grup 13,	" 192 saat	Grup 14,	" 192 saat
sonra Pentobarbitalle anestezi		sonra Tiyopentalle anestezi	

Tablo 2. Eritromisin uygulamasının durdurulmasını takiben değişik süreler sonra pentobarbital ve tiyopentalle anesteziye giriş, anestezide kalış ve anesteziden uyanma süreleri (dk olarak).

Table 2. Following the stopping of the erythromycin application after different periods to induction anaesthesia, anaesthesia times and recovery of anaesthesia with pentobarbital and thiopental. (as minutes).

İlaç	Hayvan Grubu	Anesteziye giriş	Anestezide kalış	Anesteziden uyanma
Pentobarbital	Grup 1 (Kontrol)	9.83±0.48A	91.17±1.01A	22.17±1.14A
	Grup 3	4.50±0.50B	121.33±5.31B	31.83±1.30B
	Grup 5	5.67±0.33B	114.83±4.85B	28.17±1.25B
	Grup 7	6.17±0.31B	111.83±3.67B	26.00±1.37B
	Grup 9	7.50±0.43B	101.33±2.60A	23.33±1.23A
	Grup 11	7.50±0.43B	97.50±3.85A	23.17±1.08A
	Grup 13	8.33±0.42B	96.67±4.17A	22.83±0.48A
	f	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Tiyopental	Grup 2 (Kontrol)	5.17±0.31	54.00±1.48A	19.50±0.67A
	Grup 4	4.83±0.87	115.33±11.39B	35.00±2.24B
	Grup 6	5.67±0.99	106.67±10.77B	34.00±3.41B
	Grup 8	5.17±0.60	100.67±9.52B	30.83±2.87B
	Grup 10	5.67±1.26	100.50±14.06B	27.33±2.15B
	Grup 12	5.67±1.02	94.50±9.32B	26.67±2.33B
	Grup 14	5.83±0.70	74.67±8.52A	21.67±1.31A
	f	-	p<0.01	p<0.01

Not: Aynı sütunda kontrol grubundan farklı harf taşıyan grupla kontrol grubu arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 2'nin incelenmesi sonucunda, pentobarbitalle anesteziye giriş, anestezide kalış ve anesteziden uyanma ile tiyopentalle anestezide kalış ve anesteziden uyanma süreleri kontrole göre önemli (p<0.05) değişiklik gösterdiği, pentobarbitalle anesteziye giriş süresinin önemli şekilde (p<0.05) kısaldığı, hem pentobarbital hem de tiyopentalle anestezi süresi ve anesteziden uyanma süresinin önemli ölçüde (p<0.05) uzadığı görülecektir. Ayrıca, gruplar arasındaki farkın (f testi) son derece önemli (p<0.01-0.001) olduğu hesaplanmıştır.

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, veteriner hekimlikte anestezi ve/veya yatıştırıcı-uyku doğurucu olarak kullanılan Pentobarbital ve anestezi olarak kullanılan tiyopental gibi barbitürik asit türevi uyku ilaçlarının farelerde yol açtığı anestezi süreleri üzerine eritromisin etkileri incelenmiştir.

Eritromisin de dahil, makrolidlerin hayvanlarda mikrozomal enzim etkinliğini baskı altına alarak, bu enzimlerle BT'na uğratan ilaçların yıkımlanmasının yavaşlamasına ve etki sürelerinin uzamasına ve ayrıca, zehirlenme ve ölümlerine bile yol açabilmektedir (13). Eritromisinle karbamazepin, ergotamin, teofilin, varfarin, siklosporin gibi ilaçlar arasında önemli farmakokinetik ve farmakodinamik etkileşmelerin bulunduğu bilinmektedir (3, 14, 15, 16, 23). Eritromisin mikrozomal enzim etkin-

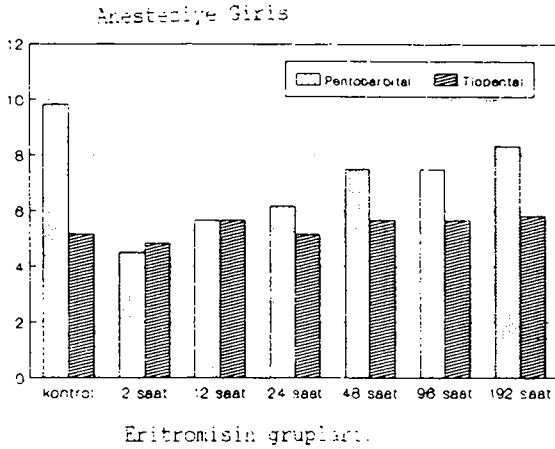
liğini baskı altına aldığı bilinmesine rağmen, barbitüratlarla arasında nasıl bir etkileşmenin bulunabileceği hususunda, elde yeterli bilgi olmadığı gibi, mevcut bilgide (8) tutarsız sonuçların bulunduğu görülmektedir. Aslında, eritromisin de, diğer makrolidler gibi, üçüncül bir amin türevidir ve rat karaciğerinde ilaç metabolize eden enzimlerin etkinliğini artırır; fakat, bu durum eritromisin sitokrom p-450'deki Fe<sup>2+</sup>ye dönüşümsüz olarak bağlanan ve böylece onu etkisizleştiren bir metabolite çevrilmesini de hızlandırır (14). Çeşitli eritromisin tuzu ve esterlerinin bu metabolik değişikliklere (deme-tillenme ve yükseltgenme) uğrayıp, ara metabolit oluşturma hızı ve oranları arasında fark vardır; bu yönden, eritromisin propiyonatanın, bir yüzeyde etkin madde loril sülfatla yaptığı bileşik olan eritromisin estolat bu yönden en etkin olanlarından birisidir (23). İşte, eritromisinle enzim etkinliği üzerine yapılan etkileşmelere ilişkin çalışmalar arasındaki farkın en önemli sebebi bu durumdur.

Tablo 2 ve Grafik 1'in incelenmesi durumunda görüleceği üzere, eritromisin kullanıldığını takiben, pentobarbital uygulanan gruplarda anesteziye giriş sürelerinin kontrole göre önemli derecede (p<0.05) kısaldığı; anestezide kalış ve anesteziden uyanma sürelerinin ise önemli ölçüde (p<0.05) uzadığı; anestezinin çeşitli dönemleri arasında gruplar arasında önemli (p<0.001) farkın bulunduğu; anesteziye giriş, anestezide kalış ve anesteziden çıkış süre-

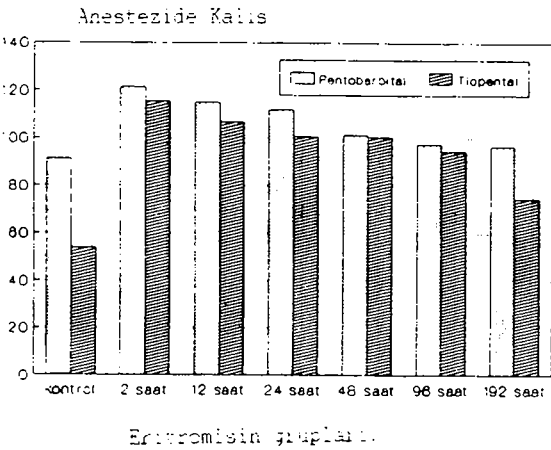
Grafik 1: Kontrol; pentobarbital ve tiyopentalle çalışma gruplarına göre ölçüm anesteziye giriş, anestezi-  
de kalış ve anesteziyenin uyanma süreleri.

Graphic 1. Control groups; according to the test groups,  
evaluated periods of induction to anaesthesia,  
anaesthesia times and recovery of anaesthesia  
with pentobarbital and thiopental.

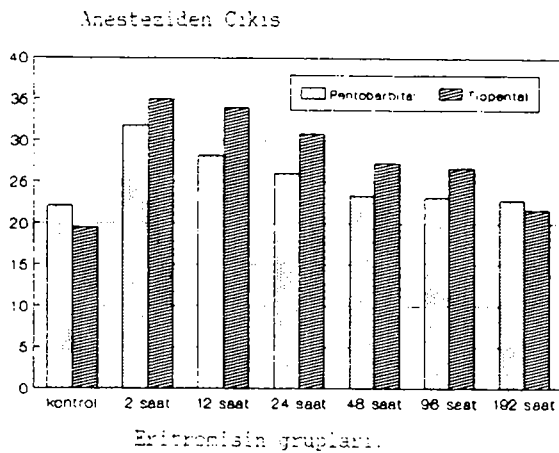
man. dk.



man. dk.



man. dk.



lerinin, eritromisin uygulamasının durdurulmasını takiben 192 saat sonra bile kontrol değerlerine ulaşamadığı; anesteziye giriş dışında, tiyopentalle anesteziyenin elde edilen sonuçların pentobarbitalle oluşana genelde benzediği ya da bunda anesteziye kalış süresinin pentobarbitalle göre daha kısa ve fakat anesteziyenin çıkışın daha uzun sürdüğü; tiyopentalle anesteziye girişin kontrollara göre pek değişmediği anlaşılmaktadır.

Yapılan çalışmayla doğrudan ilişkili az sayıda çalışmaya rastlanabilmektedir. Descotes ve Evreux (8) eritromisin etilsüksinat ve eritromisin propiyonatın, 3 gün süreyle, ağızdan 12.5-25 mg/kg dozda uygulamasını takiben 2 saat sonra pentobarbitalle yol açılan uykuya olabilecek etkilerini incelemişler; fakat, eritromisin uykü süresini önemli derecede ( $p>0.05$ ) değiştirmedeği ortaya koymuşlardır.

Çalışmada, eritromisin mikrozomal enzim etkinliğini baskı altına alabileceği göz önüne alınarak, bu antibiyotikle sağaltım görmüş hayvanlarda, uygulamanın üzerinden en azından 8 gün geçmeden, anestetik veya yatıştırıcı-sakinleştirici olarak barbitüratların kullanılması durumunda önemli ilaç etkileşimleri olabileceği, bu durumun BT'una mikrozomal enzimlerin kanıştığı ilaçlar için de geçerli olduğu hususlarının göz önünde tutulması gerektiği sonucuna varılmıştır.

#### Kaynaklar

- Adams, H.R. (1970). Prolongation of pentobarbital anesthesia by chloramphenicol in dogs and cats. JAVMA 156:902-905.
- Adams, H.R., Sellman, S., Amelzad, Z., Oesech, F. and Wolf, C.R. (1985). Identification of human cytochrome P-450 analogues to forms induced by phenobarbital and 3-methylcolantrene in the rat. Biochem J 232:869-876.
- Barry, M and Feely, J. (1990). Enzyme induction and inhibition. Pharmacol Ther 48:71-94.
- Booth, N.H. and McDonald, L.E. (1988). Veterinary pharmacology and therapeutics. 6th Ed., The Iowa State Univ. Press. Ames.
- Brazda, F., Heidingsfelder, S. and Martin, M. (1965). Effects of niketamide on pentobarbital sleeping time in various animal species. Comp Biochem Physiol 14:239-244.
- Conney, A.H. (1967). Pharmacological implication of microsomal enzyme induction. Pharmacol Rev 19:317-366.
- Coon, M.J. (1981). Drug metabolism by cytochrome P-450 progress and perspectives. Drug Met Disp 9:1-3.
- Descotes, J and Evreux, J. Cl. (1983). Effects of macrolide antibiotics on barbiturate sleeping time in mice. Exper 39:1389-1390.
- Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F. (1983). İstatistik metodları I., A.Ü. Ziraat Fak. Yayın No: 861. Ankara.

10. Ellenhorn, M.J. and Marceloux, D.G. (1988). *Antifective drugs. Medical toxicology*. Elsevier Science Publising Comp. Inc. New York.
11. Forth, W., Henschler, D. und Rummel, W. (1983). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 4. Auflage. Bibliographische Institut, Mannheim.
12. Gillium, J.G., Israel, D.S. and Polk, R.E. (1993). *Pharmacokinetic drug interactions with antimicrobial agents*. Clin Pharmacokinet 24:450-482.
13. Katzung, B.G. (1989). *Basic and clinical pharmacology*. 4th Ed., Prentice Hall International Inc. USA.
14. Lindstorm, T.D., Hanssen, B.R. and Wrighton, S.A. (1993). *Cytochrome p-450 complex formulation by erythromycin and other macrolides in rat and human livers*. Antimicrob Agents Chemother 37:265-269.
15. May, D.C., Jarboe, C.H., Ellenburg, D.T., Roe, E.J. and Karibo, J. (1982). *The effects of erythromycin on theophylline elimination in normal males*. J Clin Pharmacol 22:125-130.
16. Narchi, P., Benhamou, D., Elhoddoury, M., Locatelli, C. Fernandez, H. (1993). *Interactions of preoperative erythromycin administration with general anaesthesia*. Can J Anaesth 40:444-447.
17. Reilley, P.E.B. and Isaach, J.P. (1983). *Adverse drug interaction of importance in veterinary practice*. Vet Rec 112:29-33.
18. Simon, P., Chermat, R., Doare, L., Bourin, M. and Farinotti, R. (1992). *Unexpected interactions of some psychotropic drugs with barbital and pentobarbital effects in mice*. J Pharmacol 13:241-252.
19. Şanlı, Y. (1990). *İlaçların canlı yapıdaki biyotransformasyonu*. FÜ Vet Fak Derg 5:145-165.
20. Şanlı, Y. ve Kaya, S. (1994) *Veteriner farmakoloji ve ilaçla sağaltım seçenekleri*. 2nci Baskı, Medisan Yayınevi. Yayın No:15. Ankara.
21. Toscano, L., Fioriello, G., Spagnoli, R., Cappelletti, L. and Zenuso, G. (1983). *New fluorinated erythromycins obtained by mutasynthesis*. J Antibiot 36:1439-1450.
22. Villa, P. Begue, J.-M. and Guillouzo, A. (1984). *Effects of erythromycin derivatives on cultured rat hepatocytes*. Biochem Pharmacol 33:4098-4101.
23. Villa, P., Corti, F., Gualtani, A., Bartosek, I., Casacci, F., Narchi, F.D. and Pacci, E. (1986). *Effects of a new fluorinated macrolide (p-0501A) and other erythromycins on drug metabolizing enzymes in rat liver*. J Antibiot 39 (3):463-468.
24. Weber, E. (1980) *Grundriss der biologischen Statistik*. Gustav Fishcher Verlag, Stuttgart.
25. Zanuso, G. and Pezzali, R. (1984). *Macroflumycin, a new fluorinated macrolid antibiotic. In vitro and in vivo studies*. Abstracts of papers of 6th International Symposium on Future Trends in Chemotherapy. p.221. Tirrenia. Italy.