

Josamycin に関する薬理学的研究

荒谷春恵・山中康光・大西黎子・河野静子

広島大学医学部薬理学教室（主任：中塚正行教授）

はじめに

OSONO¹⁾らにより、高知県長岡郡本山中で採取された土壌より分離された放線菌によつて産生される Josamycin は、新しい Macrolide 系抗生物質であり、 $C_{40}H_{69}NO_{14}$ の分子式を有し、主として Gram 陽性菌に強い抗菌作用をしめし、Penicillin など耐性菌にも有効であり²⁾、マウス実験感染症に対し、治療効果がある³⁾ことが報告されている。

さらに、Josamycin は水に難溶であるが、Josamycin-aspartate は水に易溶であり、抗菌像ならびに抗菌作用は Josamycin と同等であると述べられている。

ところで、Josamycin およびその aspartate の薬理作用については、急性毒性、亜急性毒性および一般薬理作用について、すでに山之内製薬中央研究所の研究陣により報告⁴⁾されているが、著者らも Josamycin 類入手の機会を得たので、1, 2 薬理作用を検討し、以下に述べる成績を得た。

実験材料および実験方法

供試動物：体重 150 g 前後のガマおよび体重 30 g 前後のトノサマガエル（実験期間 1～4 月）、体重 2.5 kg 前後の健常雄性ウサギおよび体重 400 g 前後の健常雄性モルモットを用いた。

供試薬物：Josamycin (JM), Josamycin aspartate (JM-a) (山之内製薬), Histamine dihydrochloride (Hist) (和光純薬), Acetylcholine chloride (Ach) (第一製薬), Barium chloride (Ba), Atropine sulfate (At) (東京化成工業) および Urethane (和光純薬) をそれぞれ用に臨み、栄養液に溶解または懸濁液として実験に供した。なお、溶解また懸濁後 1, 2 時間以上経たものは用いながつた。

実験方法：心臓についての実験は、摘出ガマ心臓では塩谷三法⁴⁾ならびに摘出モルモット心房標本では常法により、それぞれの自動運動を煤紙上に描記させた。つぎに、ウサギ心電図は常法にしたがい、日本光電製トランジスタポータブル心電計 MC-11 型により、第二誘導を記録した。

摘出ウサギおよびモルモット腸管についての実験は、放血致死させた動物の廻盲部附近の小腸を切除し、腸内容を Tyrode 液で流去し、MAGNUS 法⁵⁾により小腸片の自動運動を煤紙上に描記させた。

血管についての実験は、摘出ウサギ耳殻の血管灌流量を KRAWKOW-PISSEMSKI 法⁶⁾により、1 分間流出滴数を測定し、薬物は動脈に挿入したカニューレに近いゴム管に過剰の圧を加えない速度で 0.5 ml を注入し、薬物濃度は注入時のそれと表わした。つぎに、ウサギ皮膚血管透過性は SOUDI 法⁷⁾に準拠し、腹部皮内に Locke 液で稀釈した薬物 0.1 ml を注入し、直径 7～10 mm の丘疹を作り、その直後に、耳静脈より 1% Trypan-blue A 液を 4 ml/kg 注入し、丘疹部の色素透過（透過開始時間および透過度）を観察した。判定は追田の基準⁸⁾に従い、薬物量は総量で表わした。

呼吸および血圧についての実験は、常法に従い、Urethane 1.5 g/kg 麻酔ウサギの総頸動脈圧および呼吸運動を煤紙上に描記させた。薬物量は 0.5 ml/kg を超えないようにした。

ウサギ大槽内適用は、久下の方法⁹⁾に従つて行ない、注入薬液量は 0.1 ml とし、約 30 秒の速度で注入した。

実験成績

1. 心臓に及ぼす影響

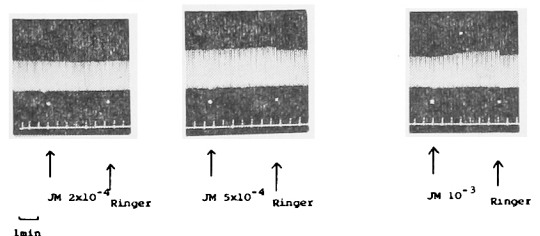
JM および JM-a の心臓に対する作用を摘出ガマ心臓およびモルモット心房標本について検討し、つぎの成績を得た。

a. 摘出ガマ心臓

JM 10^{-8} ～ 10^{-3} g/ml Ringer 液灌流時の心臓運動（振巾ならびに搏動数）は、図 1 にしめすように、 2×10^{-4} g/ml およびそれ以下の濃度適用例では自動運動にほとんど影響をみとめなかつた。 5×10^{-4} ～ 10^{-3} g/ml 適用例では、振巾は漸次増大したが、その度は軽度であり、搏動数にはほとんど変化はみられなかつた。

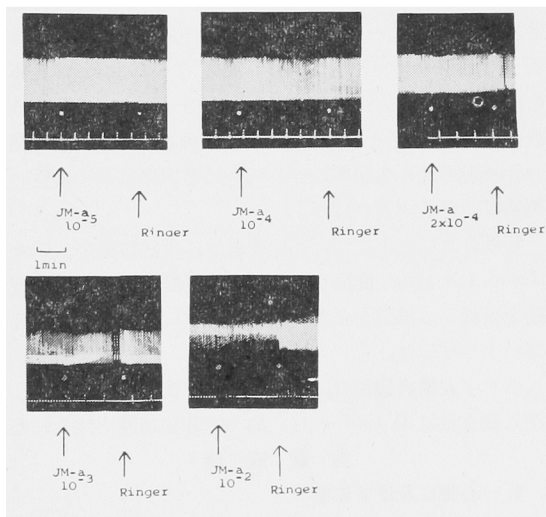
このような心臓運動亢進作用は、Ringer 液の再灌流により速やかに回復した。

Fig. 1 Effect of Josamycin on the excised heart of toad



つぎに、JM-a 10^{-8} ~ 10^{-2} g/ml Ringer 液灌流時の心運動は、図2にしめすように、 10^{-4} g/ml およびそれ以下の濃度適用例では自動運動にほとんど影響をみとめなかつた。 2×10^{-4} ~ 10^{-3} g/ml 適用例では振巾は一過性に減少し、 10^{-2} g/ml 適用例では振巾は減少した。一方、搏動数には変化はみられなかつた。このような心運動の抑制作用は、Ringer 液の再灌流によつて比較的速やかに回復した。

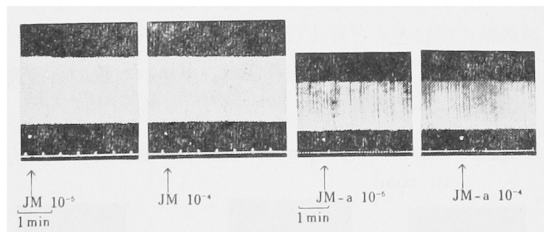
Fig. 2 Effect of Josamycin aspartate on the excised heart of toad



b. モルモット心房標本

JM および JM-a 10^{-4} ~ 10^{-8} g/ml Tyrode 液適用時の摘出モルモット心房の自動運動(振巾ならびに搏動数)は、図3にしめすように、いずれの適用例でもほとんど影響をみとめなかつた。

Fig. 3 Effect of Josamycin & Josamycin aspartate on the excised atrium of guinea pig



以上のように、JM および JM-a は摘出心臓に対し、中等濃度で著明な作用をしめさないが、高濃度では摘出ガマ心臓に対し、JM では亢進 (5×10^{-4} g/ml 以上)、JM-a では抑制 (2×10^{-4} g/ml 以上) をしめた。しかしながら、このような作用は一過性であり、栄養液で

洗滌すると速やかに回復した。

2. 腸管に及ぼす影響

摘出ウサギおよびモルモット腸管に対する JM および JM-a の影響を検討し、つぎの成績を得た。

a. 単独作用

i) 摘出ウサギ腸管

JM 10^{-8} ~ 2×10^{-4} g/ml Tyrode 液適用時の摘出ウサギ腸管の自動運動(振巾ならびに筋緊張)は、図4にしめすように 10^{-8} ~ 10^{-6} g/ml 適用例では自動運動には影響をみとめなかつた。 10^{-5} ~ 2×10^{-4} g/ml 適用例では振巾は漸次減少したが、その度はきわめて軽度であつた。一方、筋緊張には全く変化はみられなかつた。このような腸管運動の抑制作用は、Tyrode 液で洗滌すると速やかに回復した。

つぎに JM-a 10^{-8} ~ 10^{-3} g/ml 適用時の摘出ウサギ腸管運動は、図5にしめすように、 10^{-8} ~ 10^{-4} g/ml 適用例では自動運動に影響をみとめなかつた。

2×10^{-4} ~ 10^{-3} g/ml 適用例では振巾は一過性に亢進のち減少し、筋緊張は下降した。

Fig. 4 Effect of Josamycin on the excised intestine of rabbit

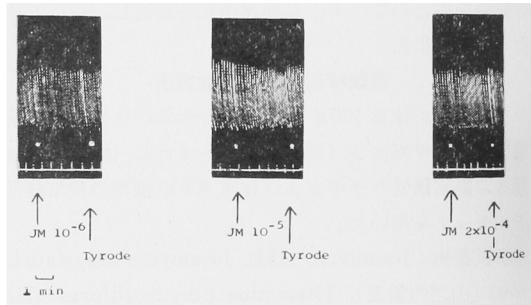
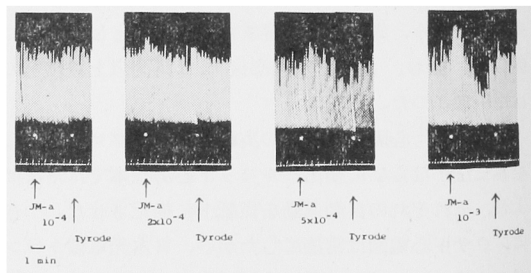


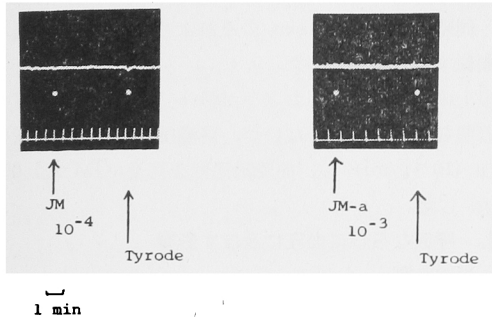
Fig. 5 Effect of Josamycin aspartate on the excised intestine of rabbit



ii) 摘出モルモット腸管

JM および JM-a 10^{-8} ~ 10^{-4} ~ 10^{-3} g/ml Tyrode 液適用時の摘出モルモット腸管の筋緊張は、図6にしめすように、ほとんど影響をみとめなかつた。

Fig. 6 Effect of Josamycin & Josamycin aspartate on the excised intestine of guinea pig



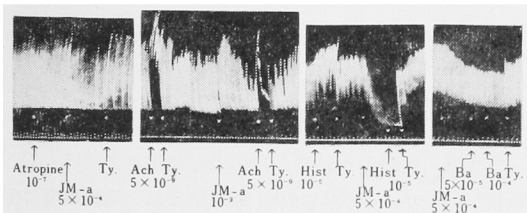
b. 1・2薬物との伍用

i) 摘出ウサギ腸管

JM-a $2 \times 10^{-4} \sim 10^{-3}$ g/ml 適用時の腸管運動抑制作用と, Ach ($5 \times 10^{-9} \sim 10^{-8}$ g/ml), Hist ($10^{-5} \sim 5 \times 10^{-5}$ g/ml) および Ba ($5 \times 10^{-5} \sim 10^{-4}$ g/ml) の腸管運動亢進作用との関係をうかがった(図7)。

At. 10^{-7} g/ml を前処置後, JM-a $2 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-4}$ g/ml を適用すると, 振巾の一過性の亢進作用はほとんどみとめられず, 振巾の減少のみがみとめられた(図7)。

Fig. 7 Effect of Josamycin aspartate on the excised intestine of rabbit (Atropine, Acetylcholine, Histamine & Barium)

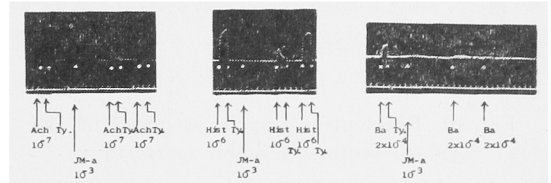


JM-a $2 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-4}$ g/ml 適用後振巾の減少, また筋緊張が下降した際, Ach 5×10^{-9} g/ml を適用すると筋緊張はやや上昇し, Ach 10^{-8} g/ml 適用例では筋緊張は上昇した。このような作用は, Ach 単独作用に比べ, あきらかに軽度であった。Hist 10^{-5} g/ml あるいは Ba $5 \times 10^{-5} \sim 10^{-4}$ g/ml は, JM-a $2 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-4}$ g/ml 適用例でみられる腸管運動の抑制作用に対して, 筋緊張および振巾にほとんど変化を与えなかった。

ii) 摘出モルモット腸管

JM-a 10^{-8} g/ml 適用後 Ach (10^{-7} g/ml), Hist (10^{-6} g/ml) および Ba (2×10^{-4} g/ml) 適用例では, JM-a 適用前の Ach, Hist あるいは Ba の場合に比べ, 筋緊張の上昇はあきらかに減弱した(図8)。

Fig. 8 Effect of Josamycin aspartate on the excised intestine of guinea pig (Acetylcholine, Histamine & Barium)



以上のように JM および JM-a は, 摘出腸管に対し, 中等濃度以下では著明な作用をしめさないが, 摘出ウサギ腸管に対し, JM では抑制 (10^{-5} g/ml 以上) を, JM-a では亢進の抑制 (2×10^{-4} g/ml 以上) をしめた。しかし, このような作用は一過性であり, 栄養液で洗滌すると回復した。

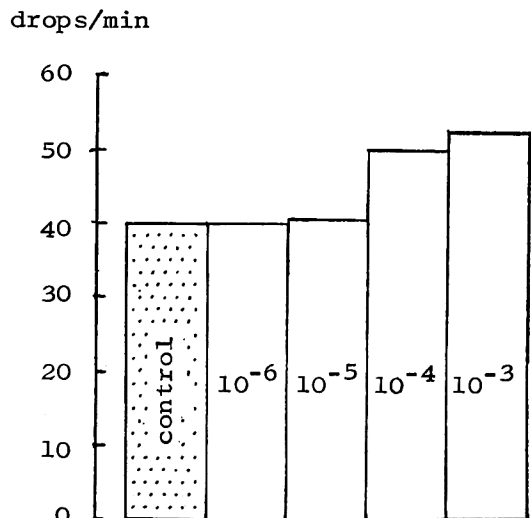
3. 血管に及ぼす影響

摘出ウサギ耳殻血管の灌流量およびウサギ皮膚血管透過性に及ぼす JM および JM-a の影響を検討し, つぎの成績を得た。

a. ウサギ耳殻血管灌流

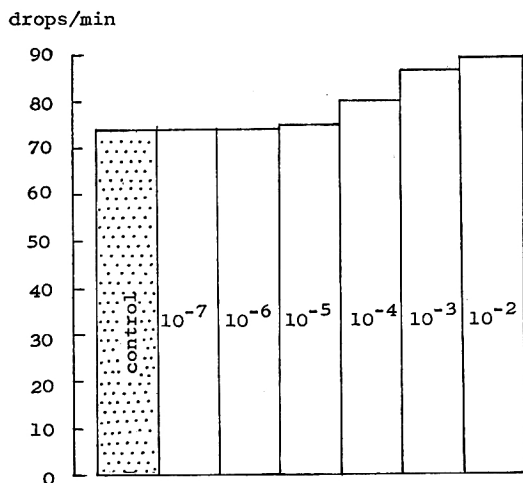
JM および JM-a 適用時の灌流量の消長は, 図9に示すように, 適用前 40 滴/分に対し, $10^{-7} \sim 10^{-5}$ g/ml 適用例では 40~41 滴/分に変化をみとめなかつたが, 10^{-4} g/ml-50 滴/分および 10^{-3} g/ml-52 滴/分とそれぞれ灌流量は増加した。その際の灌流量増加は2分を peak とし, 5~7分後には回復した。つぎに JM-a $10^{-7} \sim$

Fig. 9 Effect of Josamycin on the ear vessels of rabbit (perfusion)



10^{-2} g/ml 適用時には、図 10 にしめすように適用前 74 滴/分 であるのに対し、 10^{-7} ~ 10^{-3} g/ml では 74~75 滴/分 でほとんど変化はみとめなかつたが、 10^{-4} g/ml-80 滴/分、 10^{-5} g/ml-86.5 滴/分および 10^{-2} g/ml-89 滴/分とそれぞれ灌流量は増加した。その際の灌流量増加は 2 分を peak とし、5~18 分後には回復した。

Fig. 10 Effect of Josamycin aspartate on the ear vessels of rabbit (perfusion)

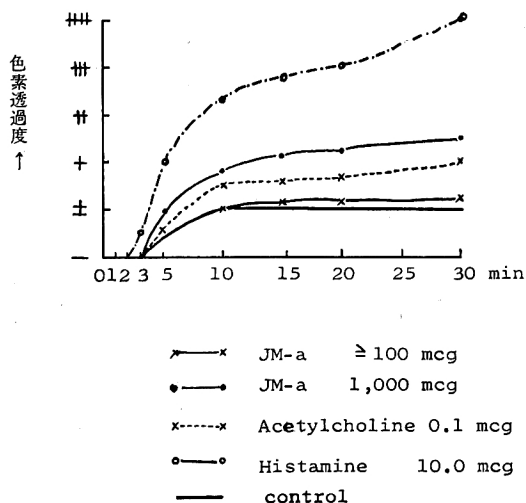


b. ウサギ皮膚血管透過性

JM-a 0.1~1000 mcg Locke 液適用時の色素透過度を対照として Locke 液、さらに Hist 10 mcg および Ach 0.1 mcg のそれと比較した。

図 11 にしめすように、JM-a 0.1~1000 mcg 適用例では透過開始時間は 3 分であり対照群と全く同一であった。つぎに、30 分後の色素透過度は、0.1~100 mcg 適

Fig. 11 Effect of Josamycin aspartate on the ear vessels of rabbit (permeability)



用例では対照群と同一程度であつたが、1,000 mcg 適用例ではあきらかに透過度は大となつた。その際の透過度は、同時に行なつた Hist のそれよりも、Ach のそれに類似する点が多かつた。

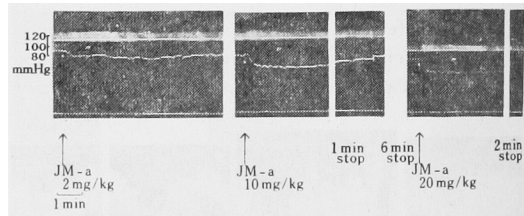
以上のように、JM および JM-a は、中等濃度以下では著明な作用をしめさないが、高濃度では血管灌流量を増加 (10^{-4} g/ml) し、血管透過性を亢進 (JM-a 1,000 mcg) した。

4. 呼吸ならびに血圧に及ぼす影響

a. 単独作用

JM-a 1~50 mg/kg を Urethane 麻酔ウサギの耳静脈より適用した際の血圧の消長は、図 12 にしめすように、1 mg/kg 適用例ではほとんど影響をみとめないが、2 mg/kg では 8.5 mmHg (持続時間 5.5 min)、5 mg/kg では 15.0 mmHg (6 min)、10 mg/kg では 25.0 mmHg (10min)、20 mg/kg では、28.5 mmHg (11min) および 50 mg/kg では 39.0 mmHg (15min) とやや持続性の下降をしめた。

Fig. 12 Effect of Josamycin aspartate on the respiration & blood pressure of the rabbit

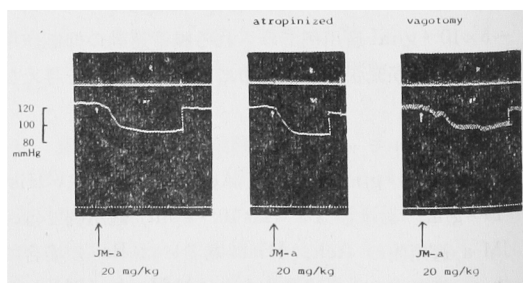


つぎに、呼吸の消長は、1 mg/kg 適用例ではほとんど影響はないが、2~50 mg/kg 適用例では一過性軽度の促進がみられた。

b. Atropine 前処置および迷走神経切断

At. 1 mg/kg を耳静脈より適用し、血圧が一定したの

Fig. 13 Effect of Josamycin aspartate on the respiration and blood pressure of the rabbit



ち JM-a を適用すると、10 mg/kg では 21.0 mmHg および 20 mg/kg では 26.0 mmHg 下降し、やや持続性ではあるが、5~7 分後にはほぼ回復した。

つぎに、両側迷走神経を切断後、血圧が一定したのち JM-a を適用すると、20 mg/kg では 26.0 mmHg および 50 mg/kg では 28.0 mmHg 下降し、2~10 分後には回復した (図 13)。

以上のように、JM-a は呼吸および血圧に対し、少量では著明な影響を与えないが、中等量以上では血圧下降および呼吸促進 (2 mg/kg) をしめし、このような作用のうち、血圧下降作用はやや持続性であるのに対し、呼吸の変化はごく一過性であった。また Atropine 前処置および Vagotomy ではほとんど影響を与えなかつた。

5. 心電図に及ぼす影響

JM-a 1~50 mg/kg を Urethane 麻酔ウサギの耳静脈より適用した際の心電図は、図 14 にしめすように、各棘波の性状は、薬物適用前に比べ、全く影響はみられなかつた。R-R 間隔においては、表 1 にしめすように、1~10 mg/kg 適用時にはほとんど変化はないが、50

Fig. 14 ECG (II-lead) of the rabbit applied Josamycin aspartate

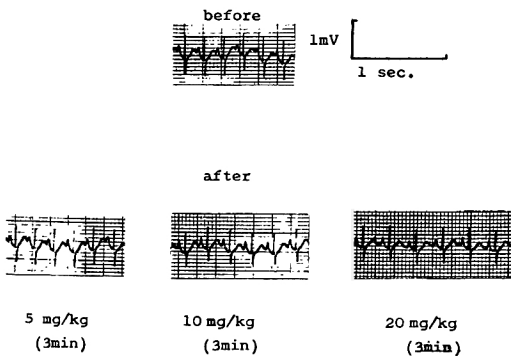


Table 1 Some intervals of ECG

		R-R	P-Q	Q-T	Q-Tc	R-R 延長率
2 mg/kg	before	0.208 ^s	0.08 ^s	0.126 ^s	0.276 ^{sec}	1
	after	0.210	0.08	0.130	0.284	1.01
5 mg/kg	before	0.212	0.08	0.126	0.274	1
	after	0.220	0.08	0.140	0.299	1.038
10 mg/kg	before	0.216	0.08	0.134	0.288	1
	after	0.290	0.08	0.151	0.280	1.093
50 mg/kg	before	0.246	0.08	0.160	0.323	1
	after	0.278	0.08	0.160	0.304	1.130

$$Q-Tc = \frac{Q-T}{\sqrt{R-R}}$$

mg/kg 適用時には一過性に増大した。この際、P-Q 間隔ならびに Q-T 間隔には著明な変化はなく、R-R 間隔の延長は T-P 間隔の延長に由来するものと考えられる。

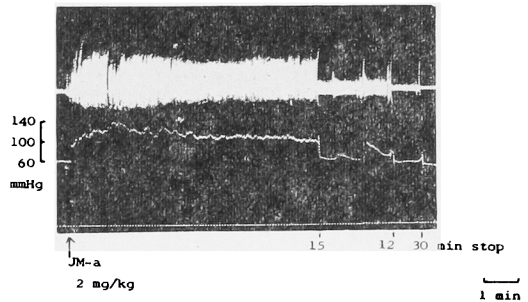
以上のように、JM-a は心電図に対し、中等量以下で著明な作用をしめさないが、大量適用時 (50 mg/kg) 徐脈がみとめられた。

6. 中枢適用

JM-a 0.2~2.0 mg/kg を無麻酔ウサギ大槽内に適用した際の血圧、呼吸および運動性について検討した。図 15 にしめすように、0.2 mg/kg 適用例ではいずれもみとむべき変化はないが、1 mg/kg 適用例では呼吸の促進ならびに血圧の上昇がみとめられたが、3 分後より漸次回復の傾向をしめし、約 30 分後には回復した。一方、運動性にはほとんど変化をみとめなかつた。2 mg/kg 適用例では呼吸および血圧の変化は 1 mg/kg とほぼ同一傾向であったが、2~3 分後に軽度の間代性痙攣をしめすものもあつた。しかしながら、このような運動性の変化は一過性であった。

以上のように JM-a をウサギ大槽内に適用した場合、呼吸の促進ならびに血圧の上昇がみられるが、運動性にはほとんどみとむべき変化はなかつた。

Fig. 15 Effect of Josamycin aspartate on the respiration and blood pressure of the rabbit (intracisternal infusion)



総括ならびにむすび

新しい Macrolide 系抗生物質 Josamycin とその aspartate の一般薬理作用を検討し、上述の成績を得た。

表 2 にしめすように、摘出臓器、呼吸、血圧および心電図に対する Josamycin の作用ならびにその最小作用量は、摘出ガマ心臓に対しては、亢進 (5×10⁻⁴ g/ml)、摘出ウサギ腸管に対しては抑制 (10⁻⁹ g/ml)、およびウサギ耳殻血管に対し拡張 (10⁻⁴ g/ml)、一方、摘出モルモット腸管に対しては 10⁻⁴ g/ml で影響はなかつた。

つぎに、Josamycin aspartate では、摘出ガマ心臓に対し抑制 (2×10⁻⁴ g/ml)、摘出ウサギ腸管に対し亢進後抑制 (2×10⁻⁴ g/ml)、ウサギ耳殻血管に対し拡張 (10⁻⁴ g/ml)

Table 2 Some pharmacological properties of Josamycin

LD 50 (mouse)	(mg/kg)
Josamycin base	>7,000(po), 2,000(ip) MLD
Josamycin hydrochloride	786(sc), 520(ip) 188(iv)
Josamycin tartrate	3,000-4,000(po), 304(iv)
Josamycin aspartate	365-344(iv)

General pharmacological properties

Josamycin base (JM)

Heart excised (toad) stimulated	5×10 ⁻⁴ g/ml
(guinea pig) none	10 ⁻⁴ g/ml
Intestine excised (rabbit) inhibited	10 ⁻⁵ g/ml
(guinea pig) none	10 ⁻⁴ g/ml
Vessel (perfusion) (rabbit) dilated	10 ⁻⁴ g/ml

Josamycin aspartate (JM-a)

Heart excised (toad) inhibited	2×10 ⁻⁴ g/ml
(guinea pig) none	10 ⁻⁴ g/ml
Intestine excised (rabbit) stimulated	2×10 ⁻⁴ g/ml
→inhibited	
(guinea pig) none	10 ⁻⁸ g/ml
Vessel (perfusion) (rabbit) dilated	10 ⁻⁴ g/ml
(permeability) (rabbit) accelerated	1,000 mcg
Blood pressure (rabbit) (iv) fallen	2 mg/kg
(ic) risen	1 mg/kg
Respiration	accelerated 2 mg/kg
ECCG	(rabbit) bradycardia 50 mg/kg

皮膚血管透過性を亢進 (1,000 mcg), ウサギ血圧に対し下降 (2 mg/kg), 呼吸に対し促進 (2 mg/kg) および心電図において徐脈 (50 mg/kg) ならびにモルモット心房標本に対しては 10⁻⁴ g/ml および摘出モルモット腸管に対しては 10⁻⁸ g/ml でそれぞれ影響はなかつた。以上のように, Josamycin とその aspartate の薬理作用は一部は同一傾向であるが, 一部は全く態度が異なることがうかがわれた。

ところで, 先に佐渡ら²⁾は, Josamycin 塩酸塩およびアスパラギン酸塩の薬理作用を報告している。これとわれわれの得た結果と比較すると, アスパラギン酸塩では同一傾向であつた。

つぎに, JM-a の腸管に対する作用のうち, 亢進作用は Atropine で遮断され, 抑制作用と Ach, Hist および Ba とは拮抗する点より cholinergic な作用と筋自体に対する麻痺作用の両作用があるものと考えられる。

JM-a を中枢適用すると呼吸促進および血圧の上昇

(1 mg/kg) がみられたが, Penicillin類¹⁰⁾ でみられるような著明な運動性の変化-痙攣はみられなかつた。

さて, 先に述べたように, JM および JM-a は抗菌像が同一であり, 主として作用する細菌群に対する最小発育阻止濃度は 0.2~0.4 mcg/ml であるが, 上述の薬理作用における最少作用濃度はさらにそれらよりも高濃度であるばかりでなく, 実験動物に 100 mg/kg (人に用いる際の約 20 倍量) を投与した際の最高血中濃度 (約 30 mcg/ml) にくらべ, 同一程度かまたは高濃度であつた。

一方, 他の Macrolide 系抗生物質: Erythromycin¹¹⁾ Oleandomycin, Triacetyloleandomycin, Spiramycin¹²⁾, Acetylspiramycin¹³⁾ および Lincomycin¹⁴⁾ の一般薬理作用と比較すると, 血圧下降および血管拡張の点ではよく一致し, また JM-a は Spiramycin と類似していた。

以上の諸作用ならびに JM および JM-a の LD₅₀ が大きい点より, 該薬は治療量およびそれ以上の量でもほとんどみとむべき作用をしめさない抗生物質である。

引用文献

- 1) OSONO, T.; Y. OKA, S. WATANABE, Y. NUMAZAKI, K. MORIYAMA, H. ISHIDA & K. SUZAKI: A new antibiotic, josamycin. I, J. Antibiotics, Ser. A 20 (3) 174-180, May 1967
- 2) 山之内製薬中央研究所報告書 1968
- 3) 大藪卓, 矢野邦一郎: マウス皮下感染を利用する抗菌性物質のスクリーニング, モダンメディア別冊 13 (4): 121-126, 1967
- 4) 塩谷: Acta med. Keijo, 12: 197, 1924
- 5) MAGNUS, R.: Pflügers Arch. ges. Physiol., 102: 123, 1904
- 6) 島本暉朗, 高木博司, 猪木令三: 薬理学実習, 135, (南山堂), 1960
- 7) SOUDI *et al.*: J. Allergy, 19: 184, 1933
- 8) 追田スミ子: 広島医学, 11, 別刊号: 11. 31. 1958
- 9) 久下: 医学研究, 14: 993, 1940
- 10) 中塚正行: 医学のあゆみ, 56 (5): 285-293, 1966
- 11) 小笠原康隆, 松本順三: Erythromycin の薬理学的研究 広島医学, 7. 原著号 2 (6): 327-331, June 1954
- 12) 中川晃: Spiramycin に関する薬理学的研究, 広島医学, 12 (11, 12): 453-511, 1964
- 13) 荒谷春恵, 山中康光, 大西黎子, 建石英樹: Acetylspiramycin に関する薬理学的研究, J. Antibiotics ser. B, 19 (5): 350-353, October, 1966
- 14) 荒谷春恵, 山中康光, 檜垣雄三郎, 広実利夫, 橋本孝夫, 中川辰雄: Lincomycin に関する薬理学的研究, J. Antibiotics ser. B, 18 (2): 61-63, April 1965

PHARMACOLOGICAL STUDIES ON JOSAMYCIN, A NEW ANTIBIOTIC

HARUE ARATANI, YASUMITSU YAMANAKA, REIKO OHNISHI & SHIZUKO KOHNO

Department of Pharmacology, Hiroshima University, School of Medicine

(Director: Prof. MASAYUKI NAKATSUKA)

Josamycin aspartate at 2×10^{-4} g/ml inhibited activities of the isolated heart of toad, but it did not affect that of the isolated atrium of guinea-pig. The isolated perfused vessel of the rabbit's ear mussel was dilated at 10^{-4} g/ml. Injection (2 mg/kg i.v.) into rabbit caused fall of the blood pressure and acceleration of respiration. Bradycardia was observed at 50 mg/kg i.v. in the rabbit.

The isolated intestine of rabbit was first stimulated and then inhibited at 2×10^{-4} g/ml, but that of guinea-pig was not affected even at 10^{-3} g/ml.

The base itself acted similarly on the atrium and intestine of guinea-pig and on the perfused vessel of the ear mussel of rabbit, but it stimulated the motility of the isolated heart of toad at 5×10^{-4} g/ml, and inhibited that of the intestine of rabbit at 10^{-5} g/ml.

When the drug is used as antibiotic, the above effects do not count, since they appear only at such high concentrations.