

Josamycin と Bromelain との併用に関する基礎的研究

体内消長を中心に

荒谷春恵・山中康光・河野静子・建石英樹

広島大学医学部薬理学教室

(昭和 49 年 1 月 28 日受付)

はじめに

感染症の治療を中心に、抗炎症酵素製剤はその作用機序の1つである蛋白分解作用が注目され、化学療法剤¹⁻¹¹⁾の抗菌作用を高め、体内分布とくに病巣内移行に対する作用が、高く評価されている。すなわち、Penicillin 系抗生物質、Cephalosporin 系抗生物質および Macrolide 系抗生物質の抗菌作用を Lysozyme, Trypsin, *Serratia* Peptidase, Proctase および Bromelain などが高めることが報告され、これら酵素製剤は抗菌性物質ならびに抗腫瘍性物質の病巣、滲出液、髄液内および組織～臓器内濃度を高め、したがって、外科領域、婦人科領域やその他の感染症に有効であったと、柴田⁹⁾や青河⁴⁾は述べている。

私どもは先に抗炎症酵素製剤が抗生物質の腸管透過性を高め、いつぼう、ラットおよびマウスの血中濃度を上昇することにより、臓器内移行が高まることを報告した^{12,13)}。

Bromelain はパイナップルから得られる蛋白分解作用をしめす酵素製剤であり、経口的に全身投与され、その LD₅₀ は腹腔内適用ラットで 85.2 mg/kg であるが、経口投与の場合はラットおよびマウスで 10 g/kg を与えても作用はなかつたと述べられている。

今回は塩基性で脂溶性の Josamycin の体内分布に及ぼす Bromelain の影響を検討し、以下に記述する成績を得た。

実験材料および実験方法

1) 動物は健常雄性 Wistar 系ラット、妊娠 (20 日) ラットおよび健常ウサギを用いた。

2) 供試薬物は Josamycin (JM) (山之内製薬)、¹⁴C-Josamycin (比放射能—1.37 μ ci/mg—山之内製薬) および Bromelain (山之内製薬) を用いた。

3) JM の体内分布についての実験は、実験に先立ちラットをそれぞれの飼育箱または代謝ケージに入れ、体重の変化および一般状態が健常であることを確かめたものについて、体重測定後、JM および JM と Bromelain の混合懸濁液を経口投与し、1, 2, 4 および 6 時間後に、大腿動脈を切開し採血後、速やかに開腹して、肝臓、腎

臓、脾臓、肺臓、心臓、筋肉、十二指腸および回腸を摘出し、その一部を濾紙で付着した血液を除き秤量した。

なお、腸内容は出来るだけ取り除いた。

このようにして得られた臓器および組織は、pH 7.5 の磷酸緩衝液 2 ml を加えて homogenate を作り、3,000 rpm-15 分間遠心分離して得られた上清を、生物学的測定用の資料とした。

実験的感染症ラットは、*Staphylococcus aureus* を bouillon 培地に接種し、37°C-18 時間培養したもの 1.0 ml (生菌数 10¹⁰ 個) をラット腹腔内に接種し、2 時間後に上述の JM および JM と bromelain 混合懸濁液を経口投与し、その体内分布を検討した。なお、この菌液での 24 時間後の死亡率は、0.5 ml では全例生存し、1.0 ml では 40% および 2.0 ml では 80% が死亡した。1.0 ml では実験時間-8 時間以内での死亡例はなかつた。

¹⁴C-JM は 1:7 の割合に JM に混合し、実験的感染症ラットに経口投与し、1 および 2 時間後の体内分布を検討した。なお、摘出臓器の一部を上記生物学的測定用に、他の一部を過塩素酸で除蛋白して得た上清を、放射能測定用の資料とした。

4) 尿中排泄についての実験は、上記健常ラットに JM および JM と Bromelain 混合懸濁液を経口投与後、蒸溜水約 10 ml を経口的に負荷し、0~2, 2~4, 4~8 および 8~24 時間の蓄尿を採取し氷室に保存した。このようにして得られた尿を、4~20 倍に pH 7.5 の磷酸緩衝液で希釈したものを、生物学的測定用の資料とした。

5) 胎仔内移行についての実験は、自家妊娠 20 日のラットに JM および JM と Bromelain の混合懸濁液を経口投与 2 時間後に、大腿動脈を切開して採血後、速やかに開腹して、胎仔を取り出し胎盤と分離し、血液の混入しないように注意しながら羊水を採取した。つづいて、胎仔の頸部を切開し、にじみ出る血液を毛細管で採取し、3 倍容の生塩水を加えた。

胎仔臓器は肝臓、腎臓および肺臓を取り出し、4~5 百分を一括して秤量し、上述の方法によりそれぞれ生物学的測定用の資料とした。

6) 腸管透過性についての実験は、ウサギを放血致死させた後、開腹して回腸を取り出し腸内容を Tyrode 液で流去したものを、Tyrode 液に入れ、氷室に 8~12 時間保存したのについて、以下の方法で行なつた。

Tyrode 液 10 ml を入れた内径 3 cm, 長さ 20 cm の試験管に長さ約 5 cm の腸管の一端を糸で結紮し、他の一端を内径 7 mm の硝子管にとりつけ、JM および JM と Bromelain を加えた Tyrode 液 (pH 7.0~8.0 に磷酸緩衝液で調整) を入れたものを浸し、37°C で 30~60 分間振盪培養した後、外液、内液および腸管に磷酸緩衝液 (pH 7.5) 2.0 ml を加えて、homogenate としたものを、それぞれの生物学的測定用の資料とした。

7) JM の生物学的測定法は、検定菌：枯草菌 PCI-217 株の孢子懸濁液を 0.05% の割合にハートインキュージョン寒天培地に加えた、薄層カップ法で行ない、力価の計算は川上の方法で行なつた。なお、培養に先立ち 20°C の室温に 2~3 時間放置の後、37°C で 16~18 時間

培養した。

8) ¹⁴C-JM の測定法は、上記資料を 6N 炭酸カリウムを加えて pH 5.0 に調製して、過剰の過塩素酸を除き、その上清を一定量に調整し、その 1 ml を triton-fluor (triton X-100 を 333 ml, toluene を 667 ml, 1,4-bis-2-(5-phenyloxazolyl)benzene を 0.2 g および 2,5-diphenyloxazole を 4g) 15 ml を加えて、tricarb 型シンチレーションカウンター (Packard 社製) で測定した。

実験成績

1. 体内分布について

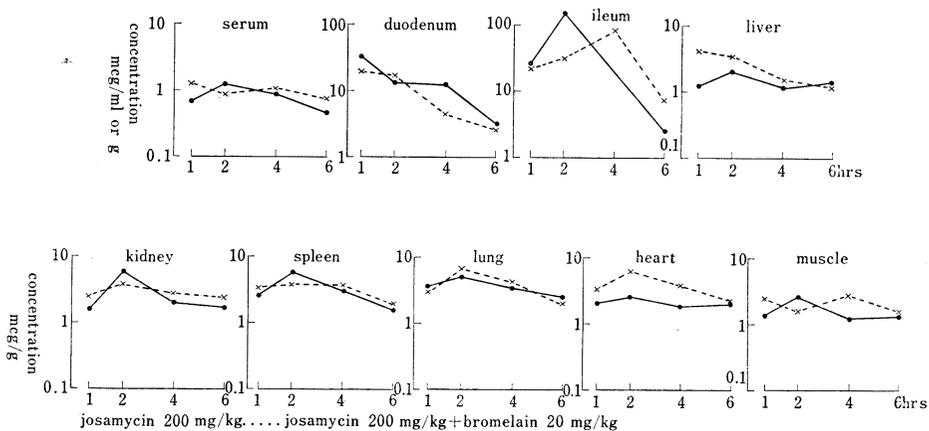
a. 健常ラットの場合

JM 200 mg/kg 経口投与後の 1~6 時間のラットの血清および臓器内濃度の消長は、Table 1 および Fig. 1 にしめすように、血清内濃度は 2 時間-1.206 mcg/ml を最高値として、その後時間の経過とともに低下し、6 時間後には 0.489 mcg/ml であつた。肝臓、腎臓、脾臓、

Table 1 Effect of bromelain on the distribution of josamycin (200 mg/kg - p.o.) in the rat (mcg/ml or g)

Bromelain (mg/kg(p.o.))	time (hrs.)	serum	liver	kidney	spleen	lung	heart	muscle	duodenum	ileum
0	1	0.745	1.290	1.546	2.50	3.378	2.070	1.397	35.90	26.04
	2	1.206	2.232	5.602	5.762	5.106	2.362	2.164	14.78	151.66
	4	0.961	1.190	2.166	3.026	3.544	1.820	1.360	13.14	20.06
	6	0.489	1.462	1.866	1.764	2.620	2.140	1.420	4.48	2.64
20	1	1.260	4.480	2.520	3.340	3.140	2.10	2.540	20.50	20.28
	2	0.909	3.240	3.560	4.920	6.280	2.620	1.740	16.52	30.12
	4	1.110	1.722	2.70	3.980	4.020	2.140	2.640	4.18	95.02
	6	0.740	1.240	2.30	1.860	2.260	2.280	1.560	2.96	7.78

Fig. 1 Effect of bromelain on the distribution of josamycin (200 mg/kg - p.o.) in the rat



肺臓、心臓および筋肉内濃度も2時間を最高値としてその後漸減するが、いずれも血清内濃度よりも高い値をしめた。

いつぼう、十二指腸濃度は1時間-35.90 mcg/ml を最高値として漸減するが、6時間でも血清や臓器内濃度よりも高値であつた。つぎに、回腸濃度は十二指腸濃度よりも遅れて、2時間 151.66 mcg/ml を最高値としてその後漸減し、2~4 時間では十二指腸濃度よりも大であつた。このように JM を経口投与すると腸管からゆるやかに吸収され、臓器内には血清内濃度よりも高い濃度が分布し、臓器親和性の大きいことがうかがわれ、大菌、粟秋、立花らの報告と同一傾向の結果が得られた。

これに対し、Bromelain 20 mg/kg を併用すると、Table 1 および Fig. 1 にしめすように、血清内濃度は1時間-1.26 mcg/ml を最高値としてその後漸減し、JM 単独群にくらべ最高値が早期にみられた。肝臓内濃度でも最高値は1時間でみられたが、腎臓、脾臓、肺臓およ

び心臓内濃度は対照群と同様に2時間で、また、筋肉内濃度は4時間で最高値をしめた。

いつぼう、十二指腸濃度は1時間-20.50 mcg/g を最高値としてその後漸減し、JM 単独群と同一傾向であるが、概して低い値をしめた。

つぎに、回腸濃度は4時間-95.02 mcg/g で最高値がみられた。なお、十二指腸濃度にくらべ、回腸濃度は1~6時間のいずれにおいても高く、また、6時間での小腸濃度は血清および臓器内濃度よりも高値であつた。

このように Bromelain は JM の体内分布に対し、血清および 1, 2 臓器内移行を早め、小腸濃度では、十二指腸濃度が減少し回腸濃度は 4~6 時間では増加した。

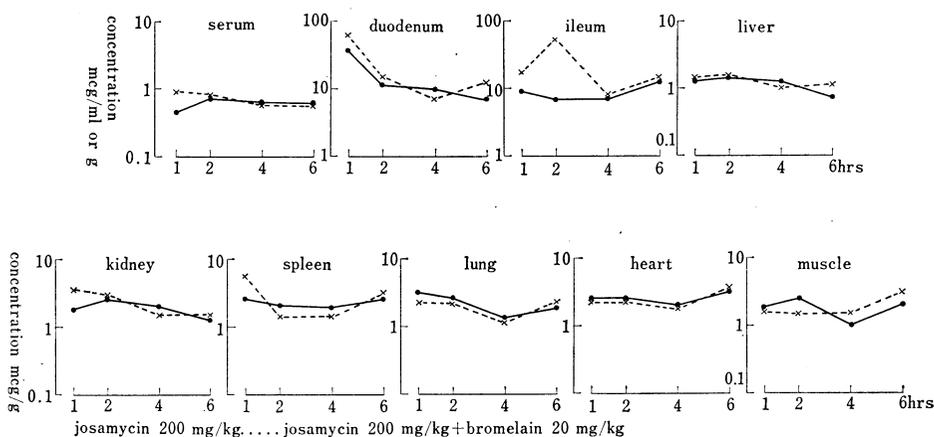
b. 実験的感染症ラットの場合

Staphylococcus aureus を接種（腹腔内）2時間後に、JM 200 mg/kg を経口投与したラットの血清および臓器内濃度の消長は、Table 2 および Fig. 2 にしめすように、血清内濃度は2時間-0.76 mcg/ml を最高値としそ

Table 2 Effect of bromelain on the distribution of josamycin (200 mg/kg - p.o.) in the rat with experimental *Staph. aureus* infection

		(mcg/ml or g)								
Bromelain (mg/kg(p.o.))	time (hrs.)	serum	liver	kidney	spleen	lung	heart	muscle	duodenum	ileum
0	1	0.440	1.242	1.780	2.980	2.980	2.560	2.040	36.18	9.14
	2	0.760	1.480	2.640	2.540	2.440	2.680	2.460	10.70	6.56
	4	0.575	1.20	2.120	1.260	12.260	1.980	1.080	9.82	6.60
	6	0.570	0.72	1.280	1.90	1.90	3.220	1.940	6.46	12.94
20	1	0.850	1.512	3.660	5.520	2.080	2.40	1.70	63.50	18.78
	2	0.820	1.654	2.840	2.336	2.336	2.360	1.54	15.80	56.12
	4	0.520	1.021	1.70	1.180	1.180	1.840	1.520	7.58	7.02
	6	0.570	1.120	2.480	2.180	2.180	3.720	2.980	13.70	17.10

Fig. 2 Effect of bromelain on the distribution of josamycin (200 mg/kg - p.o.) in the rat with experimental *Staph. aureus* infection



の後漸減の傾向がみられ、健常ラットのそれにくらべ同一傾向であるが、その濃度はやや低値であつた。臓器内濃度は肝臓、腎臓および筋肉内濃度で2時間ならびに脾臓および肺臓内濃度では1時間がそれぞれ最高値であり、その後漸減したが、いずれの時間でも、臓器内濃度は血清内濃度よりも高い値をしめた。

いつぼう、十二指腸濃度は1時間-36.18 mcg/g を最高値としてその後漸減し、回腸濃度は1時間-9.14 mcg/g、つづいて2、4時間は減少するが、6時間では12.94 mcg/g と再び高い値をしめた。実験的感染症ラットでも健常ラットの場合と同様に、1~6時間ではJMの小腸濃度は血清および臓器内濃度よりも高い値であつた。

これに対し、Bromelain 20 mg/kg を併用すると、Table 2 および Fig. 2 にしめすように、血清内濃度は1時間-0.85 mcg/ml で最高値をしめし、その後漸減し6時間では0.57 mcg/ml であり、JM 単独群にくらべ最高値が早く現われ、しかも高値であつた。臓器内濃度での最高値は腎臓および脾臓内濃度では1時間、肝臓および肺臓内濃度では2時間ならびに心臓および筋肉内濃度では6時間であり、またいずれの時間でも臓器内濃度は血清内濃度よりも高い値をしめた。

いつぼう、十二指腸濃度は1時間-63.50 mcg/g を最高値としてその後漸減するが、6時間では13.70 mcg/g とやや増加した。

このように、実験的感染症ラットでのJMの体内分布は、健常ラットにくらべ血清内濃度はやや低値である

が、その消長は概して同一傾向であつた。これにBromelain を併用すると、最高値の出現が早くなる傾向がみられ、健常ラットのそれにくらべ、著明な差はみられなかつた。

c. ¹⁴C-Josamycin の体内分布

実験的感染症ラットに、JM 200 mg/kg と Bromelain 20 mg/kg とを併用した際の体内分布は、Table 3 にしめすように、血清内濃度はJM 単独群では2時間-1.98 mcg/ml および Bromelain 併用群では2時間-1.38 mcg/ml、肝臓内濃度はJM 単独群では2時間-7.29 mcg/g および Bromelain 併用群では1時間-12.16 mcg/g、腎臓内濃度はJM 単独群では2時間-5.59 mcg/g および Bromelain 併用群では2時間-8.05 mcg/g でそれぞれ高値であつた。

これを上述の生物学的活性値と比較すると、生物学的活性/放射能とは血清>腎臓>肝臓の順となり、また、1時間値にくらべ2時間値では低値であつた。したがつて、生物学的活性をしめさない代謝物質は肝に多く、また時間の経過とともに増加することがうかがわれる。

いつぼう、小腸濃度は十二指腸ではJM 単独群で1時間-146.84 mcg/g および Bromelain 併用群で1時間-111.31 mcg/g ならびに回腸ではJM 単独群で2時間-30.44 mcg/g および Bromelain 併用群で2時間-61.05 mcg/g であり、十二指腸では1時間および回腸では2時間で高い値をしめた。その際の生物学的活性/放射能はBromelain 併用群で高い値をしめた。

これらの事実から、JM は臓器親和性が高く、生物学

Table 3 Effect of bromelain on the distribution of ¹⁴C-josamycin (200 mg/kg · p.o.) in the rat with experimental *Staph. aureus* infection

Bromelain (mg/kg(p.o.))	time (hrs.)		serum	liver	kidney	duodenum	ileum
0	1	b. a. (mcg/ml or g)	0.44	1.24	1.78	36.18	9.14
		r. a. (mcg/ml or g)	0.44	2.53	3.20	146.84	13.46
		b. a. /r. a. (%)	100	49.01	55.63	24.64	67.90
	2	b. a. (mcg/ml or g)	0.76	1.48	2.64	10.78	6.51
		r. a. (mcg/ml or g)	1.98	7.29	5.59	40.38	30.44
		b. a. /r. a. (%)	38.38	20.30	47.23	26.70	21.55
20	1	b. a. (mcg/ml or g)	0.85	1.51	3.66	63.50	18.78
		r. a. (mcg/ml or g)	0.51	12.16	6.76	111.31	51.83
		b. a. /r. a. (%)	166.67	12.43	54.14	57.05	36.23
	2	b. a. (mcg/ml or g)	0.82	1.65	2.74	15.80	56.12
		r. a. (mcg/ml or g)	1.38	7.91	8.05	27.13	61.05
		b. a. /r. a. (%)	59.42	20.86	35.28	58.24	91.92

b.a. : biological activity r.a. : radio activity

的活性値ではあまり高い値をしめさなかつた肝臓で、 ^{14}C -JM の分布量が腎臓と同一もしくはそれ以上であった。

つぎに、小腸内濃度は ^{14}C -JM では Bromelain の併用により十二指腸濃度が減少し、回腸濃度は増加した。したがって Bromelain により JM の消化管からの吸収が高まっているものと考えられる。いつぼう、生物学的活性/放射能が、小腸濃度では Bromelain の併用により高いことは、Bromelain が JM の代謝系に影響を及ぼしたと考えるよりも、山田¹¹⁾、深谷ら⁹⁾の述べるように、抗菌作用での両者の協力作用によると考えるほうが妥当であろう。

d. 臓器移行率について

JM 200 mg/kg および JM と Bromelain 20 mg/kg 併用ラットにおける、血清および臓器内濃度の最高値とその比、すなわち臓器内移行率は、Table 4 にしめすように、臓器内濃度は血清内濃度より高く、臓器内移行率は健常ラットでの JM 単独群では 185.0~477.78% で、脾臓>腎臓>肺臓>筋肉>心臓>肝臓の順となり、Bromelain 併用群では 138.10~498.41% で、肺臓>脾臓>腎臓>肝臓>心臓>筋肉の順であり、Bromelain の併用により肺臓および肝臓での移行率が増加し、腎臓、脾臓および筋肉ではむしろ減少した。

いつぼう、実験的感染症ラットでは、JM 単独群で 194.74~392.11% であり、肺臓>心臓>腎臓=脾臓>肝臓の順となり、健常ラットの場合にくらべ、心臓および

筋肉では増加した。これに対し、Bromelain 併用群では 194.59~649.41% で脾臓>心臓>腎臓>筋肉>肺臓>肝臓の順となり、脾臓、心臓および腎臓では増加した。

つぎに、小腸濃度を血清内濃度と比較すると、血清/小腸(十二指腸および回腸)の濃度比は、健常ラットでは Bromelain の併用により 2 倍あるいはそれ以上となつたが、実験的感染症ラットでは減少した。

2. 尿中排泄について

JM 100 mg/kg および 200 mg/kg と、Bromelain 5~20 mg/kg とを併用した際のラット尿中排泄率は、Table 5 にしめすように、JM 単独群では、100 mg/kg で 1.354% および 200 mg/kg で 2.323% であるのに対し、Bromelain 併用群では JM 100 mg/kg で 1.409~1.765% および JM 200 mg/kg で 2.308~2.842% であり、軽度ながら増加の傾向がみられた。

その際の排泄率の時間的推移は、JM 単独群では 0~2 時間で総排泄量のほぼ半量が排泄され、その後時間の経過とともに漸減する。これに Bromelain を併用すると、0~2 時間での排泄率は Bromelain 量にほぼ比例して増加し、Bromelain 20 mg/kg 併用群では約 30~90% 増加し、2~4 時間でも排泄量の増加がみられたが、4~24 時間ではむしろ減少した。

以上のように、JM の尿中排泄に対し、Bromelain は適用量にほぼ比例して、0~4 時間の排泄率を増加させる傾向がみられたが、4~24 時間では減少する場合もあつた。

Table 4 Effect of bromelain on the distribution of josamycin in the rat

Josamycin (mg/kg(p.o.))	Control				Experimental infection			
	200				200			
	0		20		0		20	
Bromelain (mg/kg(p.o.))	mcg/ml or g	%	mcg/ml or g	%	mcg/ml or g	%	mcg/ml or g	%
serum	1.206	100 *	1.260	100	0.760	100.	0.850	100
liver	2.232	185.07	3.240	257.14	1.480	194.74	1.654	194.59
kidney	5.602	464.51	3.560	282.54	2.640	347.36	3.660	430.59
spleen	5.762	477.78	4.920	390.48	2.640	347.37	5.520	649.41
lung	5.106	423.38	6.280	498.41	2.980	392.11	2.336	274.82
heart	2.362	195.85	2.620	207.94	2.680	352.63	3.720	436.65
muscle	2.615	216.83	1.740	138.10	2.460	323.68	2.780	327.06
duodenum	35.90	3.36 **	20.50	6.15	36.180	2.10	63.50	1.34
ileum	151.66	0.80	24.28	5.19	12.940	5.87	56.12	1.51

*: organ/serum

** : serum/intestine

Table 5 Effect of bromelain on the urinary excretion of josamycin in the rat

Josamycin <mg/kg(p.o.)>	Bromelain <mg/kg(p.o.)>	0~2 hrs. (%)	2~4 hrs. (%)	4~8 hrs. (%)	8~24 hrs. (%)	0~24 hrs. (%)
100	0	0.730	0.222	0.184	0.218	1.354
	5	0.756	0.231	0.254	0.171	1.409
	10	0.809	0.459	0.331	0.119	1.718
	20	0.948	0.479	0.153	0.185	1.765
200	0	0.667	0.430	0.753	0.491	2.323
	5	0.891	0.532	0.671	0.214	2.308
	10	1.198	0.634	0.534	0.458	2.824
	20	1.480	0.579	0.458	0.239	2.706

3. 胎仔内移行について

JM 200 mg/kg と Bromelain 10 および 20 mg/kg とを併用した際のラット胎仔内移行は、Table 6 にしめすように、JM 単独群での胎仔血清内濃度は 0.475 ± 0.0359 mcg/ml であり、その際の移行率（母ラット血清内濃度との比）は 30.58% であり、Bromelain 併用群での胎仔血清内濃度は $0.453 \pm 0.0366 \sim 0.508 \pm 0.0309$ mcg/ml であり、その際の移行率は 32.78~36.64% でやや増加した。つぎに、胎仔臓器内濃度は肝臓および肺臓内濃度は、JM 単独群と、Bromelain 併用群との間にはほとんど差はみられなかったが、腎臓内濃度は Bromelain の併用により減少し、羊水内濃度は増加の傾向がみられた。

以上のように、Bromelain は JM のラット胎仔内移行を増加させる傾向があり、胎仔腎臓内濃度を低下させ、羊水内濃度をむしろ増加させることをうかがい得た。

4. 腸管透過性について

In vitro における JM のウサギ腸管透過性に及ぼす Bromelain の影響を検討した。

Table 7 にしめすように、pH 7.5 での透過率は、JM 単独例 (100 mcg/ml) では 30 分-10.4% および 60 分-20.40% と時間の経過とともに増加し、また、60 分値では pH 7.0-13.10% および pH 8.0-25.67% であり、pH の上昇とともに透過率も増加した。

Bromelain 50 mcg/ml 併用例では、pH 7.0 での透過率が増加し、100 mcg/ml 併用例では pH 7.0~8.0 のいずれの場合も増加し、とくに 30 分での増加が著しくであった。

このような Bromelain による透過性増加の解析のため、腸管内液 (I)、腸管 (D) および外液 (E) の濃度比、すなわち内液から腸管への移行 (D/I) および腸管から外液への移行 (E/D) を検討した。

D/I は JM 単独例および Bromelain 併用例のいずれの場合も、概して 20% 前後であり、ほとんど差はみられなかった。いつぼう、E/D は JM 単独例では、pH 7.0-17.38%、pH 7.5-22.65% および pH 8.0-61.5% と pH の上昇とともに増加し、透過率の場合と同様の結果が得られた。これに対し、Bromelain 併用例では 50 mcg/ml の場合にはほとんど差はみられないが、100

Table 6 Effect of bromelain on the distribution and migration rate of josamycin in the rat fetus (pregnancy 20th day, 2 hrs)

Josamycin <mg/kg(p.o.)>	Bromelain <mg/kg(p.o.)>	serum (mcg/ml)		fetus/ mother (%)	fetus (mcg/g)			amniotic fluid (mcg/ml)	placenta (mcg/g)
		mother	fetus		liver	kidney	lung		
100	0	1.533	0.475	30.58	1.953	19.286	2.580	0.486	2.373
		± 0.2671	± 0.0359		± 0.1445	± 2.588	± 0.192	± 0.0029	± 0.248
	10	1.382	0.453	32.78	2.515	12.205	2.380	0.556	3.068
		± 0.1818	± 0.0366		± 0.20	± 0.1615	± 0.1788	± 0.014	± 0.2373
	20	1.386	0.508	36.63	1.509	5.88	2.248	0.565	2.252
		± 0.1386	± 0.0309		± 0.146	± 1.291	± 0.147	± 0.0331	± 0.158

Table 7 Effect of bromelain on the permeability of rabbit intestine to josamycin *in vitro* (%)

Josamycin (mcg/ml)		100			100			100		
Bromelain (mcg/ml)		0			50			100		
pH		7.0	7.5	8.0	7.0	7.5	8.0	7.0	7.5	8.0
P	30 min.	4.4	10.40	10.35	8.10	8.80	10.35	18.55	21.51	36.50
	60 min.	13.10	20.40	25.69	19.60	15.65	17.75	33.60	36.0	49.25
	D/I	29.98	29.25	25.69	22.13	20.95	14.97	21.91	25.83	11.44
	E/D	77.38	22.65	61.50	18.91	21.42	33.15	56.33	54.79	189.06

P: permeability, I: internal fluid, D: intestinal fluid, E: external fluid

mcg/ml の場合には 54.79~189.06% で、対照例の 2.42~5.7 倍となり、pH 8.0 ではその度があきらかに大となった。

以上のように、JM の腸管透過性は pH の上昇にともない増加し、これに Bromelain を併用すると、透過性の増加は早期に現われ、上述の血清内濃度の最高値が Bromelain の併用により早く現われることと軌を同一にする結果が得られた。その際、腸管への移行は pH の変化および Bromelain の併用によつてもほぼ同一程度であるが、腸管から外液への移行はアルカリ側で増加し、Bromelain の併用により、さらにあきらかに増加した。

ま と め

Macrolide 抗生物質である Josamycin の体内分布におよぼす植物性抗炎症性 Protease である Bromelain の影響を検討し、上述の成績を得た。

健常および実験的感染症ラットにおける JM の血清内濃度は、Bromelain の併用により最高値が早く現われ、著明な差ではないが、やや高値となる傾向がみられた。その際の臓器内分布は JM 単独および Bromelain 併用のいずれの群においても血清内濃度を上まわるものであり、移行率(最高臓器内濃度/最高血清内濃度)からみると、健常ラットでは肝臓および肺臓ならびに実験的感染症ラットでは腎臓、脾臓および心臓でそれぞれ Bromelain の併用により増加した。

いつぼう、小腸濃度は 1~6 時間では、血清および臓器内濃度よりも高く、したがって、この実験時間内では腸管からの吸収が行なわれているものと考えられる。Bromelain の併用により、健常ラットでは十二指腸濃度が下降し、回腸濃度ははじめ下降し、後上昇した。つぎに、実験的感染症ラットでは十二指腸濃度が増加の後減少し、さらにその後増加がみられ、回腸濃度でも増加がみられた。

¹⁴C-JM を用いた実験的感染症ラットでの体内分布では、上述の生物学的活性の消長と同一傾向の結果が得られたが、十二指腸濃度は Bromelain の併用により低下し、回腸濃度は増加した。したがって、小腸での生物学的活性と ¹⁴C を tracer とした場合のそれぞれの濃度に差がみられるが、その因子としてつぎのように考えてみた。¹⁴C-JM の濃度の低下は吸収が Bromelain の併用により高まっていると考えられる。いつぼう、生物学的活性が高まっていることについては、本実験が経口投与後 1~2 時間である点から、JM の代謝の阻害などによる胆汁排泄の介入は無視され、山田¹¹⁾、深谷ら⁵⁾ が蛋白分解酵素剤の抗菌作用ならびに抗生物質の作用増強作用を報告しており、したがって、JM の抗菌作用が Bromelain により増強されたものとする次第である。なお、生物学的活性/放射能は 1 時間にくらべ 2 時間では低い値をしめし、Metabolite—抗菌作用のない—が推測されるが、Bromelain 併用による差はみられ難かつた。

つぎに、ラットにおける尿中排泄率は 24 時間で 1.354~2.323% で、排泄がゆるやかであることがうかがわれた。このことは前述の体内分布において、1~6 時間のそれは腸管がもつとも高濃度であり、その吸収はゆるやかで、また、臓器内濃度は血中濃度よりも高く、いつぼう、先人の報告^{13,14)}ならびに著者らの ¹⁴C-JM を用いての実験から相当量の代謝物質がある点から、抗菌作用を失なつた代謝物質の排泄もあると考える。

Bromelain は 0~4 時間での JM の尿中排泄を高め、これは血清内濃度および小腸濃度の消長と同一傾向である。

ラット胎仔 (20 日) 内移行率は 30.58% で、Penicillin G や Streptomycin など水溶性抗生物質¹⁶⁾にくらべ、あきらかに大であり、他の Macrolide 抗生物質¹⁷⁾と同一程度であり、Bromelain を併用すると、投与量にはほ

比例して移行率が増加し、胎仔腎臓内濃度が減少し、羊水内濃度は増加した。

以上のように、JM を経口投与すると上部小腸から徐々に吸収され、血流を介して臓器内に移行し、臓器内貯留性が大きく、尿中には徐々に排泄されることをうかがい得た。これに Bromelain を併用すると、血清および臓器内濃度の最高値が早く現われ、尿中排泄も早期に高まり、それは健常および感染症ラットのいずれでもみられた。

なお、臓器親和性は生物学的活性からみると各臓器での差は著明でないが、腎臓および脾臓では肝臓よりも高く、いつぼう、 ^{14}C -JM を用いた場合、肝臓で高い親和性をしめすことをうかがい得た。Bromelain は生物学的活性での分布を充めるが、 ^{14}C -JM でも同一傾向の結果がみられた。

このような JM の吸収-体内分布-排泄に及ぼす Bromelain の作用を解明する一助として、腸管からの吸収-透過性を *in vitro* の実験から検討し、pH 7.0~8.0 の間では、pH の上昇にともない透過性も高まり、それは腸管から外液への移行が主役であり、このことは JM が脂溶性-塩基性物質である点から、いちおう妥当と考えられる。また、Bromelain は JM の腸管透過性を早期に高める作用がある。

したがって、Bromelain は JM の吸収を促進し、早期の血清および臓器内移行を高めるものと考えられる。

引用文献

- NEUBAUER R.: A plant protease for potentiation of and possible replacement of antibiotics. *Exp. Med. & Surg.* 19: 143, 1961
- MOSS, J. N.; J. M. BEILER & G. J. MARTIN: Effect of trypsin on levels of antibiotics in the spinal fluid. *Bact. Proc.* 80, 1955
- 柴田清人, 久野昂一, 佐藤史朗, 原則之: 蛋白分解酵素剤の適応と使い方。治療 48: 281~292, 1966
- 青河寛次: 化学療法剤と蛋白分解酵素との併用。産科と婦人科 38: 1530~1537, 1971
- 深谷一太, 北本 治: 抗生剤と酵素剤との併用にかんする研究—とくに Proctase との併用について。Chemotherapy 19: 46~50, 1971
- 岩森 茂, 今田之夫, 永田信雄, 中前恒則, 谷本潤一, 加藤重陽, 浜田克裕: 制癌剤と酵素剤との併用効果に関する研究。Chemotherapy 14: 160~161, 1966
- 石井良治, 石引久弥, 大井博之, 恒川 陽, 中村泰夫: 化学療法における蛋白分解酵素の併用効果。Chemotherapy 14: 113~114, 1966
- 飯島 博: 抗生物質療法と蛋白分解酵素。Chemotherapy 14: 608~609, 1966
- 中沢昭三, 山本郁夫, 横田芳武, 光武照元, 三好英司, 山階綏子: 細菌溶解酵素 Lysozyme の抗生作用に関する基礎的研究, 第2報, アミノペニシリンとの併用効果。Chemotherapy 16: 407, 1968
- 徳田安章, 松林貞子: 皮膚科領域における蛋白分解酵素・抗生物質併用療法の基礎的研究, 第4報。Chemotherapy 14: 114~115, 1966
- 山田忠雄, 平尾文男, 岸本 進, 黒田 稔, 螺良英郎, 稲井真弥, 高橋久雄: 抗生物質の抗菌作用に及ぼす Lysozyme の影響, 第1報。Chemotherapy 14: 215~216, 1966
- 荒谷春恵, 河野静子, 山中康光: Sulfobenzylpenicillin の体内分布に関する基礎的研究—*Serratia peptidase* の影響。未発表
- 中塚正行, 荒谷春恵, 山中康光: 抗生物質の体内分布に及ぼす TSP-X の影響, ダーゼン検討研究会。84~90, 1968
- 大藺 卓, 矢野邦一郎, 宮本文雄, 渡辺俊一, 石田 仁, 長谷川嘉明, 曾根崎巖, 佐藤紀久, 高橋勇夫: ジョサマイシンの研究, 第3報。Jap. J. Antibiotics 22: 159~172, 1969
- 栗秋 要, 佐渡卓朗, 佐野建治, 佐々木弘三, 塩原有一: Josamycin の研究VI, Josamycin の吸収および体内分布に関する研究。Jap. J. Antibiotics 22: 226~231, 1969
- 檜垣雄三郎: 抗生物質の胎仔内移行に関する基礎的研究, 第2編, ラットにおける抗生物質の胎仔内移行。広大医学雑誌 15: 45~57, 1967
- 荒谷春恵: 未発表

FUNDAMENTAL STUDIES ON THE COMBINATION EFFECTS OF
JOSAMYCIN AND BROMELAIN
— ON THE FATE OF JOSAMYCIN —

HARUE ARATANI, YASUMITSU YAMANAKA, SHIZUKO KONO and HIDEKI TAKEISHI

Department of Pharmacology, Hiroshima University School of Medicine,
Hiroshima, Japan

Effects of bromelain on absorption, distribution and excretion of josamycin were investigated in the normal and experimentally infectious rat.

When given orally, josamycin was slowly absorbed from upper part of small intestine. Its marked affinity of tissue was observed, and it was slowly excreted in the urine. When combined with bromelain, peaks of its plasma and organ concentrations were observed earlier than the control and it was excreted more rapidly. Affinity of kidney and spleen for josamycin was slightly greater than that of liver in view of biological activity, while affinity of liver was greater when isotopically measured. Bromelain accelerated the permeability of intestine to josamycin, and increased its passage into external fluid from intestine at alkaline pH.

It is concluded therefore that bromelain accelerates absorption of josamycin and elevates early blood and organ levels.