

## Azithromycinの一般薬理作用

山中教造・岡 玉緒・河合光久・佐竹ゆかり  
ファイザー製薬株式会社新薬開発センター薬理研究室\*

新規マクロライド系抗菌薬azithromycinの一般薬理作用を検討した。

マウスにazithromycin 300mg/kgを経口投与した場合、群居行動、耳介反射および痛覚反応の消失が5例中1例にみられたが、用量依存性はなかった。500mg/kgで小腸輸送能の軽度抑制が認められた。ラットでは300mg/kg(十二指腸内投与)で胃液量および酸分泌量の減少が認められた。また麻酔イヌでは40mg/kg以上の十二指腸内投与により投与直後の一過性の軽度な血圧上昇、呼吸数、心拍数の増加等が認められた。両側頸動脈閉塞ならびに各種薬物による血圧反応に対し、azithromycin 10mg/kgの静脈内投与は影響を示さなかった。その他中枢神経系、末梢神経系、摘出平滑筋、腎排泄ならびに血液系に対する作用はみられなかった。

以上のように、azithromycinは安全性の高いマクロライド系抗菌薬であると示唆された。

**Key words** : Azithromycin, 一般薬理

Azithromycin (AZM) はerythromycin (EM) の14員環ラクトンにメチル置換窒素を導入し、15員環とした新規マクロライド系抗菌薬であり<sup>1,2)</sup>、酸に安定なazalide系マクロライドとして開発されたものである<sup>3)</sup>。AZMは従来のEMなどのマクロライドに比べて、*Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Legionella pneumophila* および *Mycoplasma pneumoniae*等のグラム陰性菌に対し強い抗菌活性を有する<sup>2)</sup>。

今回、著者らは各種実験動物を用いてAZMの一般薬理作用について検討したので、その成績を報告する。

### I. 実験材料および実験方法

#### ① 実験材料

##### 1. 使用薬物

AZM (Lot No. 1030128, RO3753-G64000; いずれも力価93.0%) を経口または十二指腸内投与する場合にはsodium carboxymethylcellulose (CMC) 0.3%水溶液に懸濁し、*in vitro*実験の場合には50%エタノールに溶解後、注射用蒸留水で所定の濃度に希釈して用いた。静脈内投与の場合には1N HCl数滴に溶解した後、直ちに1N NaOHを用いて中和し、pH6.97~7.28に用時調製して用いた。また一部の試験では対照薬としてEM (Sigma) を用い、AZMの薬液調製法に準じて調製した。また薬物の用量、濃度は全て力価表示とした。

##### 2. 実験動物

ICR系マウス、Sprague-Dawley系ラット、Hartley系モルモットは日本エスエルシー(株)より、日本白色種ウサギはオリエンタル酵母工業(株)より購入した。ビーグル犬は日本農産工業(株)より購入、あるいはファイザー製

薬(株)動物飼育グループより自家繁殖したものを入手し、また雑犬は愛知県動物保護管理センターより提供された。動物は購入または入手後、馴化期間として1週間以上飼育した後、実験に供した。各動物の性、体重および使用匹数は実験方法の項に記載した。

#### ② 実験方法

##### I. 中枢神経系に対する作用

##### 1. 一般症状観察

体重22.2~27.7gの雄マウス1群4または5匹を用いた。AZMを経口投与し、0.5, 1, 2, 4, 8および24時間後にマウスの一般症状をIrwinの多次元観察法<sup>4)</sup>を一部改良した方法により判定した。

##### 2. 自発運動に及ぼす影響

雄マウスの自発運動を五連式回転運動量計(岸本製)を用いて測定し、予め30分間の自発運動量が400回転以上のものを選び、1群10匹(体重22.1~31.6g)とした。AZMを経口投与し、その4時間後までの自発運動量を累積的に測定した。

##### 3. 睡眠延長作用

体重22.2~28.1gの雄マウス1群7~10匹を用いた。AZMを経口投与し、1時間後にsodium hexobarbital 100mg/kgを腹腔内投与して、正向反射消失から回復までの睡眠時間を測定した。

##### 4. 抗痙攣作用

体重19.0~33.6gの雄マウス1群10匹を用いた。AZMを経口投与し、1時間後に電撃ショック(Corneal electrode), strychnine (1.5mg/kg, s.c.)により誘発した強直性痙攣、またはpentetrazol (100mg/kg, i.p.)により誘発した間代性痙攣に対する防禦効果の有無を検討した。

\*〒470-23 愛知県知多郡武豊町五号地2番地

尚、電撃ショックは電撃ショック用定電流装置(京都計測工業製)を用い、両眼角膜に50mAの電流を0.2秒間通電して後肢の強直性痙攣を誘発させた。

#### 5. 鎮痛作用

体重22.5~35.1gの雄マウス1群10匹を用いた。AZMまたはaminopyrineを経口投与し、その1時間後にKosterらの方法<sup>5)</sup>に準じて0.7%酢酸溶液を0.1ml/10g腹腔内投与して、10分後から10分間のwrithing回数を測定した。

#### 6. 協調運動に及ぼす影響

DunhamとMiyaの方法<sup>6)</sup>に準じ、直径3cmの回転棒(6回転/分)を用いて予め3回の予備試験を行い、3分間以上回転棒に留まれる雄マウスを選び、1群10匹(体重20.8~28.3g)とした。AZMを経口投与した後、0.5, 1, 2, 3および4時間目に回転棒試験を行い、2分以内にマウスが回転棒より落下すれば協調運動に障害ありとした。

#### 7. 懸垂試験

Courvoisierらの方法<sup>7)</sup>に準じ、体重20.8~28.3gの雄マウス1群10匹を用いた。AZMを経口投与し、投与0.5, 1, 2, 3および4時間後に23cmの高さに水平に張った針金(直径1mm)にマウスが懸垂できるか否かを調べ、5秒以内に懸垂ができなければ(針金に後肢をかけない場合)筋弛緩作用ありとした。

#### 8. 体温に及ぼす影響

雄ラットを約16時間絶食させ、実験前の2回の体温測定で36.5~37.6℃およびその変動が±1℃以内のものを1群9~11匹(体重155.9~191.5g)とした。ラットを無麻酔のまま軽く手で押さえて固定し、直腸にサーミスター検温計(夏目製, NS-3P)のプロープを挿入し、体温を測定した。AZMを経口投与し、5時間までの1時間毎及び24時間後に直腸温の測定を行った。

#### 9. 条件回避反応に及ぼす影響

Weissmanの方法<sup>8)</sup>に準じ、jump boxにおける条件回避反応を条件付けした体重199.2~232.4gの雄ラットを1群6~7匹用いた。回避条件付けに条件刺激として音刺激を5秒間与え、この間にラットがjump台に飛び上がらなければ床のgridに無条件刺激として2mAの電撃ショックを5秒間与えるようにプログラミング(Lehigh Valley Electronics製)した。この条件付けを1日20回、5日間行い、最後の20試行において80%以上の回避反応を示したラットを試験に使用した。実験当日は、音-電撃ショックの間隔を10秒間として各動物について連続5回試行した後、試験を開始した。実験は、AZMの経口投与前、投与後1, 2, 3, 5および24時間後に各動物につき1試行を行い、各時点での回避反応の有無を観察した。

### II. 呼吸・循環器系に対する作用

#### 1. 呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図および大腿動脈血流量に及ぼす影響

体重5.0~11.0kgの雌雄雑犬を9匹用いた。動物を

sodium pentobarbital 30mg/kgの静脈内投与により麻酔し、背位に固定した。呼吸は気管内に気管カニューレを挿入し、サーミスタ呼吸ピックアップ(日本光電, TR-612T)により、動脈血圧は右大腿動脈から逆行性に動脈カニューレを挿入し、圧トランスデューサー(日本光電, TR-101T)を介し、ひずみ圧力用アンプ(日本光電, AP-621G)により測定した。心拍数は血圧の脈波をtrigger pulseとして瞬時心拍計ユニット(日本光電, AT-601G)により測定した。また大腿動脈血流量は左大腿動脈を露出し、プローブ式電磁血流量計(日本光電, MFV-2100)を用いて測定した。これらは全てpolygraph(日本光電, WT-685G)上に記録した。心電図の測定は多素子心電計(日本光電, ECG-5303)を用い、四肢誘導(I, II, III)により記録した。なお、AZMは、十二指腸内に挿入し留置したカニューレより動物1匹あたり1用量(投与容量, 0.5ml/kg)を投与し、2時間後までの反応を測定した。また試験中の維持麻酔は右橈側皮静脈に挿入したカニューレを用いて静脈内投与するかあるいは適宜腹腔内にsodium pentobarbitalを追加投与した。

#### 2. Norepinephrine, 両側頸動脈閉塞による血圧上昇およびacetylcholine, histamine, isoproterenolによる血圧下降に及ぼす影響

体重8.5~13.0kgのビーグル犬を3匹雌雄の別なく用いた。前項II-1の方法に準じ、動物をsodium pentobarbital 30mg/kgの静脈内投与により麻酔し、動脈血圧は右大腿動脈から逆行性に挿入した動脈カニューレを介して記録した。なお、AZMはペリスタポンプ(アトー製)を用い、4ml/kgの容量、1.5ml/minの速度で、また自律神経作動薬はbolusで各々左大腿静脈に挿入し留置したカニューレより投与した。Norepinephrine(1μg/kg)の静脈内投与および両側頸動脈閉塞(30秒間)による血圧上昇反応、並びにacetylcholine(2μg/kg), histamine(2μg/kg), isoproterenol(1μg/kg)の静脈内投与による血圧下降反応はAZM 10mg/kgの持続投与前および投与終了30分後に観察した。また試験中は右橈側皮静脈に挿入したカニューレより維持麻酔(sodium pentobarbital 4mg/kg/hr)を行った。

#### 3. 摘出右心房標本に及ぼす影響

体重449.4~527.2gの雄モルモットを7匹用いた。常法に従い、摘出したモルモットの右心房標本を20mlの栄養液を満たした液槽に懸垂し、1gの静止張力を負荷した。栄養液はKrebs-Henseleit液(組成, mM: NaCl 118, KCl 4.7, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 2.4, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, glucose 5.6)を用い、常時95%O<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub>の混合ガスを通気し、液温は30±0.5℃に保った。その収縮力並びに拍動数をforce displacement transducer(日本光電, TB-612T)を介してインク書き記録計に連続的に記録した。心房標本の拍動が安定したのを確認後、AZMを累

積的に適用した。また被験薬物の溶媒についても同様に検討し、AZM適用群と比較した。

### Ⅲ. 自律神経系に対する作用

#### 1. 胃液分泌に及ぼす影響

体重154.6~188.5gの雄ラット1群10匹を用いた。ラットを24時間絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、胃の幽門部を結紮した。腹壁を閉じ、絶食絶水して1時間経過した後、再びエーテル麻酔下で開腹して胃を摘出し、胃液量、酸度、pHおよび酸分泌量を測定した。酸度は0.1N NaOH溶液を用い、pH7.0に至るまでに要した0.1N NaOH量から求めた。AZMまたはEMは幽門結紮直後に十二指腸内に投与した。

#### 2. 胆汁分泌に及ぼす影響

体重162.0~198.7gの雄ラット1群6匹を用いた。ラットをウレタン(1.5g/kg, s.c.)麻酔し、開腹後胆管にポリエチレンチューブを挿入して胆汁を導出した。処置後1時間放置した後、胆汁を1時間採集してその量を対照値とした。その後AZMまたはEMを十二指腸内に投与し、6時間後まで1時間毎に分泌された胆汁量を測定した。

#### 3. 小腸輸送能に及ぼす影響

体重19.6~27.6gの雄マウス1群10匹を用い、上田らの方法<sup>9)</sup>に準じて行った。実験前約18時間絶食したマウスにAZMを経口投与し、1時間後に10%アラビアゴム乳剤に懸濁した5%活性炭末を体重10gあたり0.25ml経口投与した。30分経過後に屠殺、開腹し、小腸全長に対する炭末の移動した長さの割合を移動率として求めた。

### Ⅳ. 摘出平滑筋に対する作用

#### 1. ウサギ摘出回腸

体重3.00~3.28kgの雄ウサギを4匹用いた。ウサギ回腸を常法に従い摘出し、その約1.5cmを切り取って、栄養液を満した20mlの液槽に約1gの静止張力を負荷して懸垂し、腸管の自動運動をforce displacement transducer(日本光電, TB-612T)を介してインク書き記録計に連続的に記録した。栄養液はTyrode液(組成, mM: NaCl 137, KCl 2.7, NaHCO<sub>3</sub> 11.9, CaCl<sub>2</sub> 1.8, MgCl<sub>2</sub> 1.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4, glucose 5.6)を用い、液槽内には常時95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>の混合ガスを通気し、液温は35±0.5℃に保った。腸管の自動運動が安定したのを確認後、AZMを液槽内に累積的に適用した。

#### 2. モルモット摘出回腸

体重500~610gの雄モルモット7匹を用いた。モルモット回腸を常法に従って摘出し、その約1.5cmを切り取って、栄養液を満した20mlの液槽内に約1gの静止張力を負荷して懸垂した。栄養液はTyrode液を用い、液槽内には常時95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>の混合ガスを通気し、液温は27±0.5℃に保った。Acetylcholine (10<sup>-6</sup>M), histamine (1.5×10<sup>-6</sup>M), serotonin (3.5×10<sup>-6</sup>M) またはBaCl<sub>2</sub> (4×10<sup>-4</sup>M) による収縮に及ぼすAZM前処置(30分)の影響

を検討した。標本の収縮は前項IV-1の場合と同様に記録した。

#### 3. モルモット摘出気管平滑筋

体重600~830gの雄モルモット5匹を用いた。モルモット気管を常法に従い摘出し、気管より長さ約1cm、幅約0.2cmのらせん条片を作製し、栄養液を満した20mlの液槽内に4gの静止張力を負荷して懸垂した。栄養液はTyrode液を用い、約1時間放置後、栄養液を置換し、acetylcholine (10<sup>-6</sup>M) を添加して、気管の収縮を前項IV-1の場合と同様に記録した。収縮が平衡に達した時点で、AZMを累積的に適用し、気管平滑筋の弛緩の有無を観察した。最後にisoproterenol (4×10<sup>-6</sup>M) を添加して最大弛緩反応を記録した。別の実験では無処置の標本に対し、AZMを適用して、気管の静止時張力に及ぼす影響も観察した。

#### 4. モルモット摘出輸精管

体重400~560gの雄モルモット6匹を用いた。モルモット輸精管を常法に従い摘出し、輸精管の中央部より約1cmを切り取り、0.5gの静止張力を負荷して栄養液を満した20mlの液槽内に懸垂した。栄養液はKrebs-Henseleit液を用い、液槽内に常時95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>の混合ガスを通気して、液温は37±0.5℃に保った。Epinephrine (10<sup>-6</sup>M) 収縮に及ぼすAZM前処置(30分)の影響を観察した。輸精管の収縮は前項IV-1の場合と同様に記録した。

#### 5. ラット摘出子宮

予めVaginal smear testにより発情期を確認した処女ラット(体重250~300g, 5匹)および妊娠7日目の雌ラット(体重260~290g, 5匹)を使用した。常法に従い摘出したラット子宮角の条片を栄養液を満した20mlの液槽内に0.5gの静止張力を負荷して懸垂し、発生した自発性収縮運動を前項IV-1の場合と同様の方法で記録した。栄養液はLocke-Ringer液(組成, mM: NaCl 154.0, KCl 5.6, CaCl<sub>2</sub> 2.2, MgCl<sub>2</sub> 2.1, NaHCO<sub>3</sub> 6.0, glucose 2.8)を用い、液槽内には常時95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>の混合ガスを通気し、液温は37±0.5℃に保った。子宮の自動運動が安定したのを確認後AZMを液槽内に累積的に適用し、自発性収縮を連続的に観察した。

### V 神経-筋伝達に対する作用

体重202.3~224.8gの雄ラット1群7匹を約18時間絶食後試験に使用した。ラットをウレタン(1.2~1.5g/kg, s.c.)で麻酔して背位に固定した後、気管カニューレを装着し、さらに薬物投与のために十二指腸および右大腿静脈にカニューレを挿入した。左下肢側坐骨神経を露出切断し、末梢端に矩形波電気刺激(0.2Hz, 1msec, 0.7~1V)を与え、腓腹筋の攣縮をforce displacement transducer(日本光電, TB-612T)を介してインク書き記録計に記録した。攣縮が安定した後、十二指腸内に挿入したカニューレよりAZMまたはEMを累積投与し、投与60分後まで攣

縮を連続的に観察した。

#### VI. 尿量および尿中電解質排泄に及ぼす影響

Lipschitzらの方法<sup>11)</sup>に準じて行った。体重165.6～191.0gの雄ラットを1群10匹使用した。ラットを一晩絶食させ、水は自由に摂取させた。AZMまたはfurosemideを経口投与し、その直後に生理食塩液(大塚製薬)を経口負荷した。各ラットを1匹ずつ代謝ケージに入れ、投与5時間後までおよび5時間目以降24時間後までの尿量を測定し、さらに尿中Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>量を蛍光光度計(日立、Model 775)により、Cl<sup>-</sup>量をクロライドカウンタ(平沼産業(株)、CL-7)により定量した。

#### VII. 血液・血液凝固系に対する作用

##### 1. Prothrombin時間

体重164.6～197.9gの雄ラットを1群5～6匹用いた。実験前約16時間絶食させたラットにAZMを経口投与し、その3、6および24時間後にエーテル麻酔下で頸静脈より血液1 mlを採血し、血漿を遠心分離により得た。Prothrombin時間はQuick一段法<sup>12)</sup>によりアメルングKC10A(バクスター社)を用いて測定した。

##### 2. 血小板凝集

体重320～450gの雄ラットを1群4～5匹用いた。ラットをsodium pentobarbital麻酔下で腹部大動脈より10ml採血し、常法により多血小板血漿(PRP)並びに乏血小板血漿(PPP)を調製した。Bornの方法<sup>12)</sup>に準じ、PRP 200 μlをセルホルダー中で攪拌下(1000rpm) 37℃で2分間preincubationした後、AZMの各種濃度の薬液20 μlを加え、更に血小板凝集惹起物質(最終濃度: ADP 3 μMまたはcollagen 10 μg/ml) 20 μlを添加し、血小板の凝集により生じた透過度の変化を経時的に記録した。血小板の凝集率はPRPおよびPPPの透過度をそれぞれ0%および100%とし、凝集惹起物質添加後の最大透過度を最大凝集率とした。血小板凝集は自動血小板凝集計(NKK Hema Tracer 1, PAT 2M, 二光バイオサイエンス)を用いて測定した。

##### 3. 血糖値

体重164.6～198.1gの雄ラットを1群6匹用いた。約

16時間絶食後AZMを経口投与し、その3、6および24時間後にエーテル麻酔下で頸静脈より採血した。得られた血液は、遠心分離して血漿を得、グルコースBテストワコーを用いて血糖値を測定した。

#### VIII. 結果分析

試験結果は*in vitro*試験の摘出平滑筋に対する試験の場合はpairedまたはunpaired t-test法を用いて解析し、その他の試験結果は一元配置の分散分析法を行い、分散に有意な差がみられた場合には更に群間の差の検定をTukeyあるいはWilliamsの多重比較法を用いて行った。

### II. 実験成績

#### I. 中枢神経系に対する作用

##### 1. 一般症状観察

AZMを経口投与し、0.5、1、2、4、8および24時間後にマウスの一般症状を観察した結果、300mg/kg投与群では5例中1例で投与1時間後に痛覚反射、群居行動、耳介反射消失、2時間後には群居行動の消失が認められたが、100および1000mg/kg投与群では投与24時間後まで何らマウスの行動に変化は認められず、用量依存性はみられなかった(Table 1)。

##### 2. 自発運動に及ぼす影響

AZM 100～1000mg/kgの経口投与は、投与4時間後までのマウスの自発運動量に影響を及ぼさなかった。

##### 3. 睡眠延長作用

マウスのhexobarbitalによる睡眠時間は、AZM 100～1000mg/kgの経口投与で影響されなかった。

##### 4. 抗痙攣作用

マウスの電撃痙攣、pentetrazol痙攣およびstrychnine痙攣に対して、AZM 100～1000mg/kgの経口投与は、防禦作用を示さなかった。

##### 5. 鎮痛作用

マウスの酢酸writhing回数は、AZM 100～500mg/kgの経口投与で影響されず、1000mg/kgではwrithing回数の減少傾向(27.0%)がみられたが統計的に有意ではなかった(Table 2)。

##### 6. 協調運動に及ぼす影響

Table 1. General symptoms in mice treated with azithromycin

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	Time after administration (hr)					
		0.5	1	2	4	8	24
Control		0/5*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Azithromycin	100	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	300	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5
	1000	0/4	(a, b, c) 0/4	(a) 0/4	0/4	0/4	0/4

\*: Number of animals exhibiting some symptoms / number of animals used.

The symbols shown in parenthesis represents the symptoms of mice described below.

a. Lack of huddling behavior    b. Loss of motor activity by tail-pinch

c. Loss of pinna reflex

AZMの100~1000mg/kgの経口投与は、マウスの回転棒試験において投与4時間後まで影響を及ぼさなかった。

7. 懸垂試験

AZM 100~1000mg/kgの経口投与はマウスの懸垂能

Table 2. Effect of azithromycin on acetic acid-induced writhing in mice

Drugs	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of writhing
Control		38.8±3.5
Azithromycin	100	39.0±4.1
	300	35.0±2.1
	500	37.0±5.5
Aminopyrine	40	7.3±2.5**
Control		41.8±3.3
Azithromycin	1000	30.5±4.5

Each value represents the mean ± SE of 10 mice.

\*\* : Significant from the control (p < 0.01)

に対して投与4時間後まで何ら影響を及ぼさなかった。

8. 体温に及ぼす影響

AZM 100~500mg/kgの経口投与はラットの正常体温(直腸温)に対し、影響を及ぼさなかった。1000mg/kgでは投与5時間後まで影響は認められず、対照群に比べて投与24時間後に軽度な体温上昇(0.5℃)が認められたが、正常体温の範囲内であった。

9. 条件回避反応に及ぼす影響

AZM 100mg/kgの経口投与はラットの条件回避反応に対して影響を示さなかった。300および1000mg/kgではいずれも6例中1例に散発的に抑制例が認められたのみであった。

II. 呼吸・循環器系に対する作用

1. 呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図および大腿動脈血流量に及ぼす影響

AZM 10mg/kgの十二指腸内投与は投与後2時間まで呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図および大腿動脈血流量に対しほとんど影響を及ぼさなかった(Fig. 1-a)。

40mg/kgを十二指腸内投与した場合, 3例全例に投与

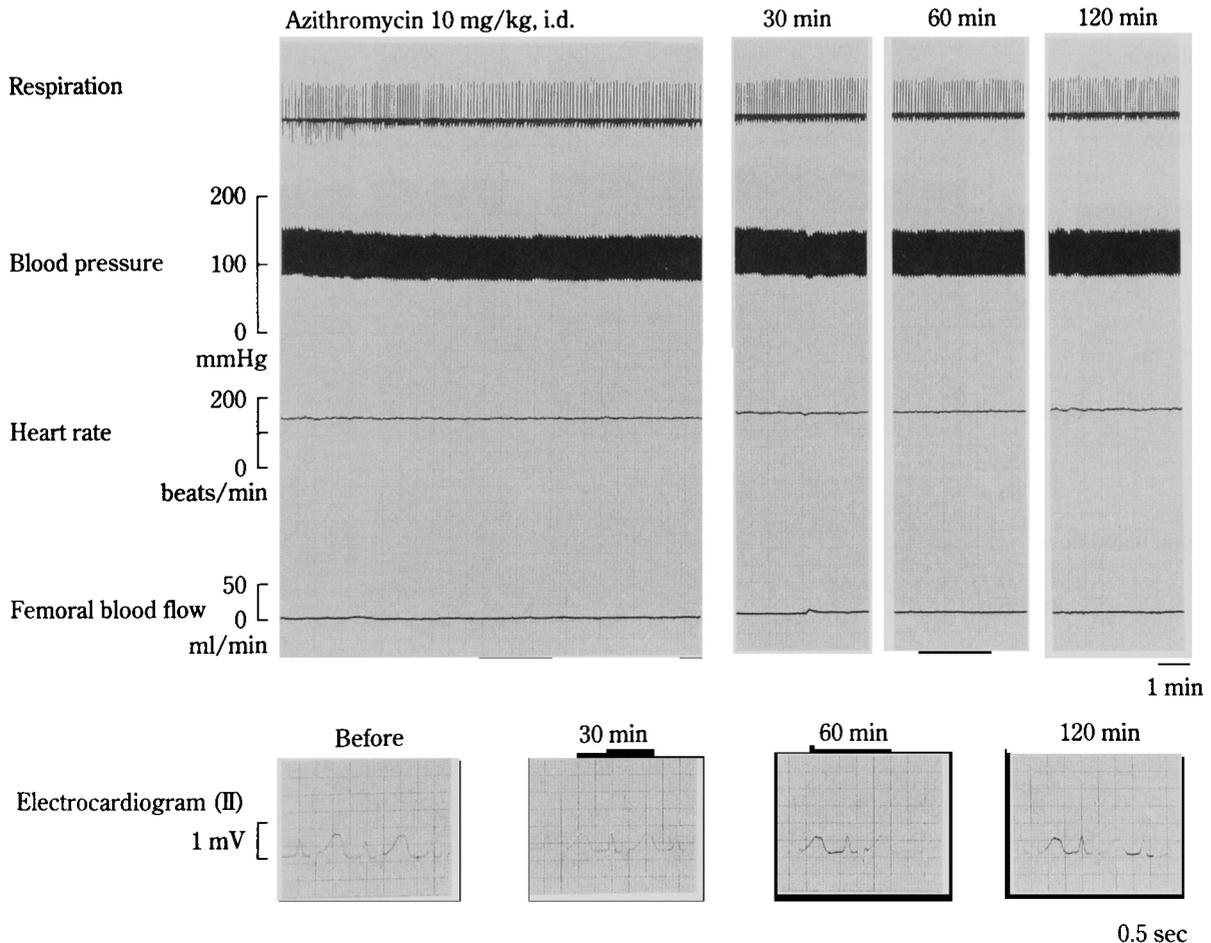


Fig. 1-a. Effects of azithromycin on respiration, blood pressure, heart rate, femoral blood flow and electrocardiogram in a pentobarbital anesthetized dog (dog No. 90017).

1~10分後に収縮期(平均最大変化量15.3mmHg)および拡張期血圧の軽度上昇(平均最大変化量11.7mmHg), ならびに大腿動脈血流量の増加(平均最大変化量10.7ml/min)が, またその内の1例には心拍数の軽度増加(最大変化量21beats/min)がみられた。しかし, これらの変化は投与15~30分後に回復する一過性的変化であった(Fig. 1-b)。

80mg/kgでは3例中2例に投与1~5分後に呼吸数の増加(最大変化量7beats/min: 46.7%)または減少(最大変化量6beats/min: 21.4%), 収縮期および拡張期血圧の軽度上昇(各々平均最大変化量8, 6.5mmHg: 5.0, 6.5%), 心拍数の軽度増加(平均最大変化量6beats/min: 5.5%)および血流量の増加(最大変化量53ml/min)あるいは減少(16ml/min)がみられたが, いずれの変化も投与30分後には投与前値に回復した。また90もしくは120分後に上記2例中1例およびその他の1例で大腿動脈血流量の減少(各々最大変化量15, 10ml/min: 44.1, 66.7%)が認められた(Fig. 1-c)。その他心電図にはいずれの用量でも影

響はみられなかった。

2. Norepinephrine, 両側頸動脈閉塞による血圧上昇およびacetylcholine, histamine, isoproterenolによる血圧下降に及ぼす影響

AZM 10mg/kgの静脈内持続投与はnorepinephrineおよび両側頸動脈閉塞による血圧上昇, acetylcholine, histamineおよびisoproterenolによる血圧下降反応に対して影響を及ぼさなかった(Fig. 2)。

3. 摘出右心房標本に及ぼす影響

モルモット摘出右心房標本の自発運動に対しAZM  $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$ Mは収縮力および収縮頻度に影響を示さなかった。 $10^{-6}$ Mでは収縮力を低下(20.7%)させたが, 同様の作用は溶媒であるエタノールの適用(液槽内最終濃度0.25%)でも観察され(21.4%), これらの群間に差異は認められず, また収縮頻度に対する影響も認められなかった(Table 3)。

Ⅲ. 自律神経系に対する作用

1. 胃液分泌に及ぼす影響

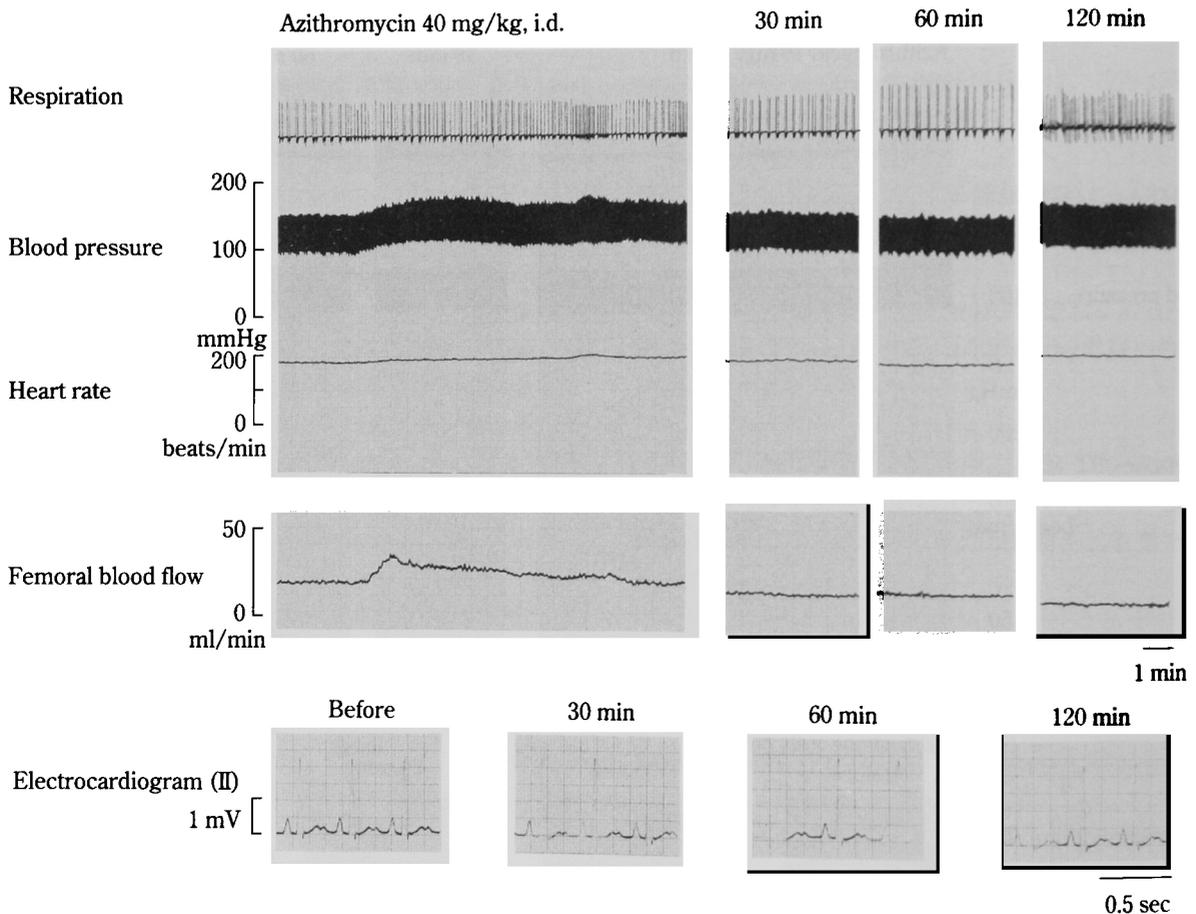


Fig. 1-b. Effects of azithromycin on respiration, blood pressure, heart rate, femoral blood flow and electrocardiogram in a pentobarbital anesthetized dog (dog No. 93035).

AZM 100~500mg/kgの十二指腸内投与は胃液の酸度およびpHに対して影響しなかったが、300, 500mg/kg投与群では胃液量(各々58.6, 70.3%)および酸分泌量(各々65.3, 77.7%)の有意な減少がみられた。またEMにおいても500mg/kgで胃液量, 酸度, 酸分泌量の有意な減少(各々61.2, 30.9, 71.2%)およびpHの有意な上昇が認められた(Table 4)。

## 2. 胆汁分泌に及ぼす影響

ラット胆汁分泌量は, AZM 100~500mg/kgの十二指腸内投与により影響されなかった。一方, EMでは300, 500mg/kgで投与2時間後より胆汁量の増加が認められた(Fig. 3)。

## 3. 小腸輸送能に及ぼす影響

AZM 100, 300mg/kgの経口投与はマウスの小腸輸送能に対し影響を示さなかったが, 500mg/kgでは軽度の抑制(35.0%)が認められた(Table 5)。

## IV. 摘出平滑筋に対する作用

### 1. ウサギ摘出回腸

ウサギ摘出回腸標本の自動運動に対しAZM  $10^{-9}$ ~

$10^{-6}$ Mは収縮力および収縮頻度のいずれにも影響を及ぼさなかった。

### 2. モルモット摘出回腸

AZM  $10^{-6}$ ~ $10^{-8}$ Mは, モルモット摘出回腸標本におけるacetylcholine, histamine serotoninまたはBaCl<sub>2</sub>の各agonistによる収縮に対して影響を及ぼさなかった。

### 3. モルモット摘出気管平滑筋

モルモット摘出気管平滑筋の静止時張力およびacetylcholine収縮に対し, AZMは $10^{-6}$ ~ $10^{-8}$ Mで影響を及ぼさなかった。

### 4. モルモット摘出輸精管

モルモットの摘出輸精管のepinephrine収縮はAZM  $10^{-6}$ ~ $10^{-8}$ Mで影響されなかった。

### 5. ラット摘出子宮

非妊娠および妊娠ラット摘出子宮平滑筋標本の自発性収縮に対して, AZM  $10^{-9}$ ~ $10^{-6}$ Mは影響を及ぼさなかった。

## V 神経-筋伝達に対する作用

ラット坐骨神経-腓腹筋標本の攣縮に対し, AZMお

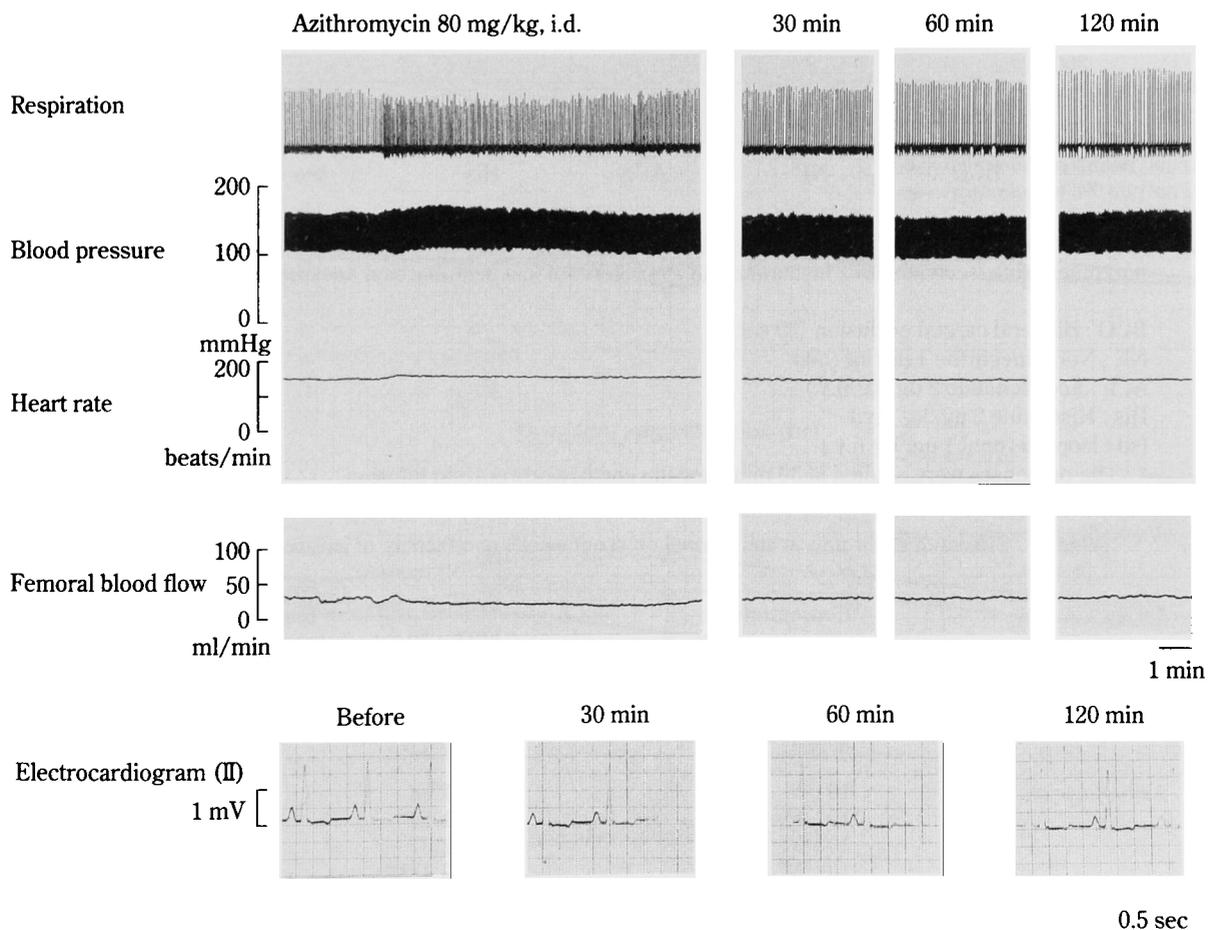


Fig. 1-c. Effects of azithromycin on respiration, blood pressure, heart rate, femoral blood flow and electrocardiogram in a pentobarbital anesthetized dog (dog No. 93034).

よびEMの100~500mg/kgの十二指腸内投与は投与60分後まで影響を及ぼさなかった。

#### VI. 尿量および尿中電解質排泄に及ぼす影響

ラットの尿量に対し、AZM 100mg/kgの経口投与は影響を示さなかった。300, 500mg/kgでは、投与後5時間

までの尿量で減少傾向(30.6, 45.0%)が認められたが、投与後24時間の尿量は対照群と比べ有意差はみられなかった。

尿中電解質排泄に対してAZM 100, 300mg/kgは有意な影響を示さなかった。500mg/kgでは投与後5~24時

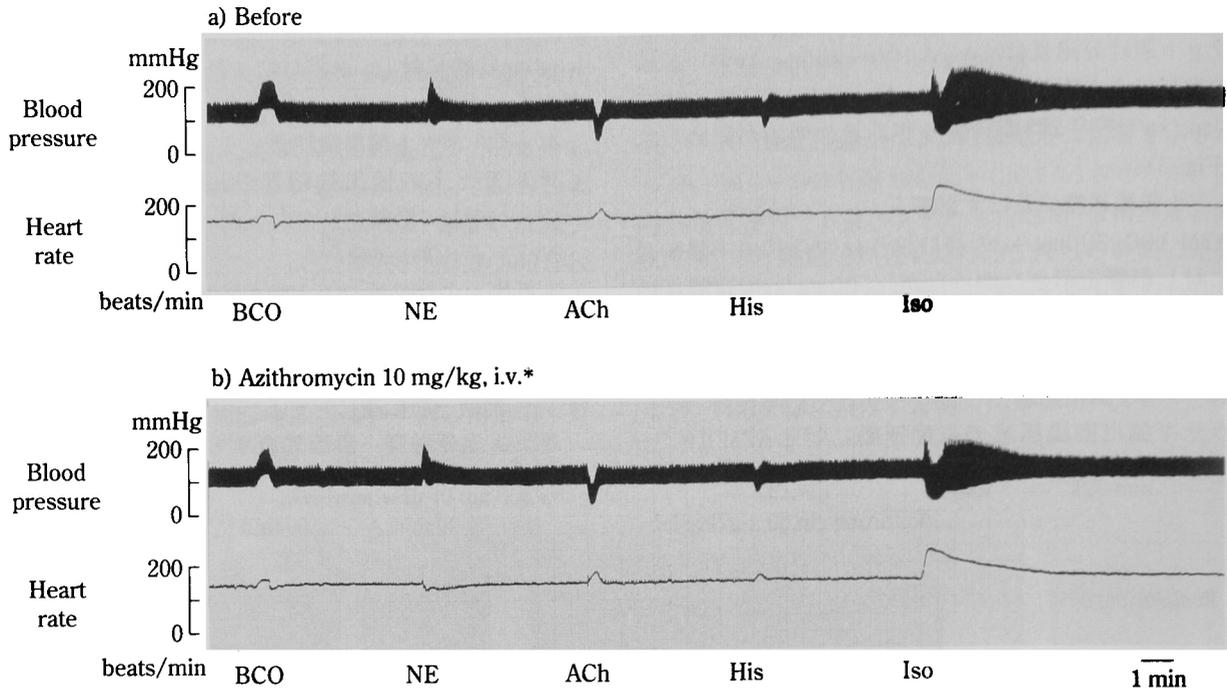


Fig. 2. Effects of azithromycin on the changes of blood pressure and heart rate in response to bilateral carotid occlusion, norepinephrine, acetylcholine, histamine and isoproterenol in a pentobarbital anesthetized dog (dog No. 21024).

BCO : Bilateral carotid occlusion (30 sec)

NE : Norepinephrine 1  $\mu$ g/kg (i.v.)

ACh : Acetylcholine 2  $\mu$ g/kg (i.v.)

His : Histamine 2  $\mu$ g/kg (i.v.)

Iso : Isoproterenol 1  $\mu$ g/kg (i.v.)

\* : The responses were studied at 30 min after the end of azithromycin infusion.

Table 3. Effects of azithromycin and ethanol on spontaneous contractility of isolated guinea-pig atria

Drugs	Concentrations	Contraction	
		force (%)	atrial rate (%)
Ethanol <sup>a)</sup>	0.00025%	97.2 $\pm$ 1.62	106.7 $\pm$ 1.15*
	0.0025%	95.1 $\pm$ 2.70	110.5 $\pm$ 3.05
	0.025%	92.9 $\pm$ 3.07	109.4 $\pm$ 4.47
	0.25%	75.6 $\pm$ 1.40**	113.9 $\pm$ 5.28
Azithromycin	10 <sup>-8</sup> M	97.3 $\pm$ 1.98	103.6 $\pm$ 1.90
	10 <sup>-7</sup> M	97.6 $\pm$ 1.59	106.9 $\pm$ 3.18
	10 <sup>-6</sup> M	93.6 $\pm$ 2.37	109.4 $\pm$ 3.52
	10 <sup>-5</sup> M	79.3 $\pm$ 2.18**	111.1 $\pm$ 4.03

<sup>a)</sup>: Ethanol was used as a solvent of azithromycin.

Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 3-4 experiments.

The values are shown as percentages compared to the response prior to the drug treatment.

\*, \*\*: Significant from the pre-value ( $p < 0.05, 0.01$ ).

間の電解質排泄( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ )は軽度増加したが、24時間値としては対照群に比べ有意差はなかった。なお、 $\text{K}^+$ 排泄量には影響はみられなかった。一方、furosemide 20mg/kgの経口投与は尿量、尿中電解質排泄を有意に増加させた(Table 6)。

#### Ⅶ. 血液・血液凝固系に対する作用

##### 1. Prothrombin時間

AZM 100, 300および500mg/kgの経口投与3, 6および24時間後に測定したprothrombin時間には対照群との

間に有意な差はみられなかった。

##### 2. 血小板凝集

血小板のADP凝集に対し、AZM  $10^{-7}$ ~ $10^{-6}$ Mは、その最大凝集率および最大凝集時間に影響を及ぼさなかった。また、collagen凝集に対しAZM  $10^{-8}$ ~ $10^{-6}$ Mは最大凝集率、凝集開始時間および50%凝集時間に有意な影響を示さなかった。

##### 3. 血糖値

AZM 100~500mg/kgの経口投与は、3, 6および24

Table 4. Effects of azithromycin and erythromycin on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Drugs	Dose (mg/kg, i.d.)	Gastric juice			
		volume (ml/100 g/4 hr)	pH	acid concentration ( $\mu\text{Eq/ml}$ )	acid output ( $\mu\text{Eq}$ )
Control		2.32 ± 0.31	1.58 ± 0.06	81.1 ± 3.6	332.7 ± 53.2
Azithromycin	100	2.33 ± 0.39	1.66 ± 0.12	73.6 ± 5.2	311.3 ± 70.1
	300	0.96 ± 0.13**	2.12 ± 0.22	69.3 ± 7.2	115.6 ± 22.1*
	500	0.69 ± 0.09**	1.99 ± 0.15	65.7 ± 3.9	74.3 ± 9.5**
Erythromycin	100	2.02 ± 0.23	1.62 ± 0.07	78.4 ± 3.2	270.7 ± 36.5
	300	1.48 ± 0.30	2.15 ± 0.39	72.7 ± 6.1	195.6 ± 51.5
	500	0.90 ± 0.17**	2.73 ± 0.28**	56.0 ± 5.1*	95.9 ± 29.1**

Each value represents the mean ± SE of 10 rats.

\*, \*\*: Significant from the control ( $p < 0.05$ ,  $0.01$ )

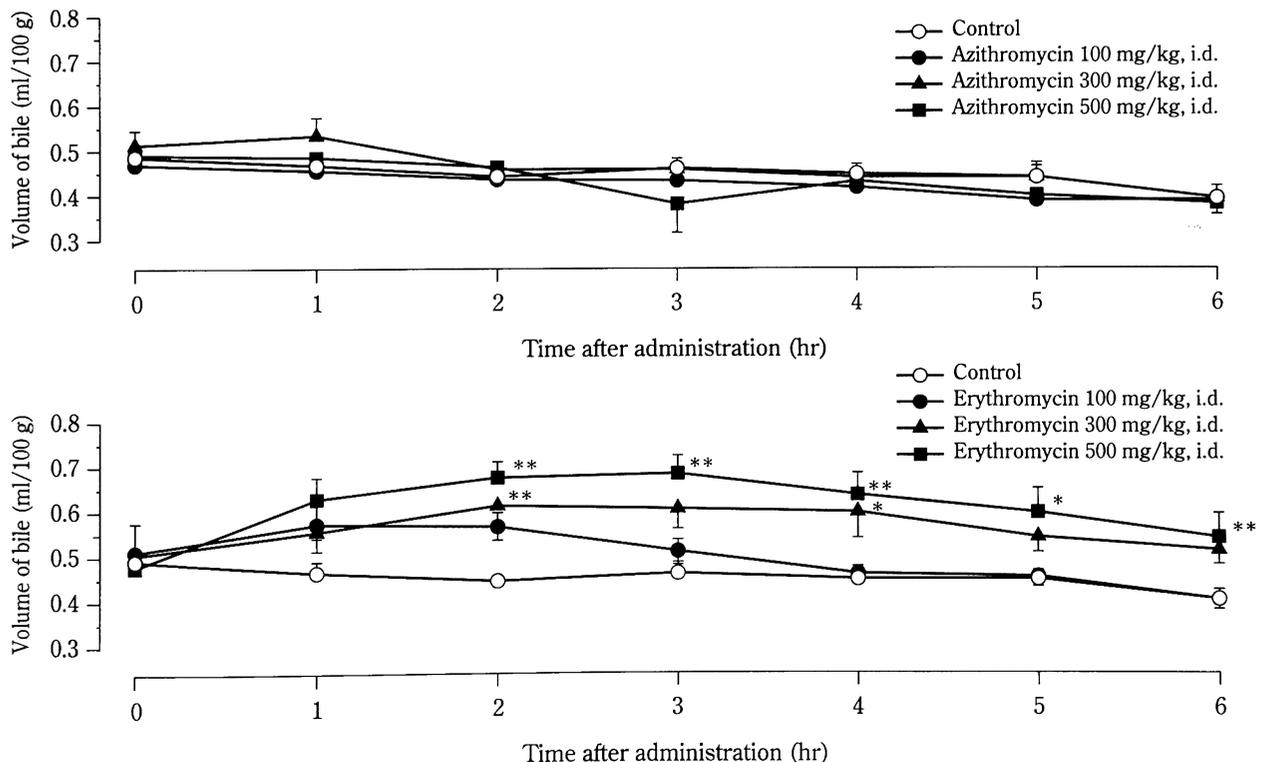


Fig. 3. Effects of azithromycin and erythromycin on bile secretion in rats.

Each point represents the mean ± SE of 6 rats.

\*, \*\*: Significant from the control ( $p < 0.05$ ,  $0.01$ )

時間後の血糖値に影響を示さなかった。

### Ⅲ. 考 察

新規マクロライド系抗菌薬AZMの一般薬理作用について検討した。

中枢神経系に関する試験でAZMをマウスに経口投与した結果、300mg/kgで5例中1例において痛覚反射、群居行動、耳介反射消失などの一般症状の変化が認められたが、1000mg/kgでは症状変化は認められず、用量依存性はなかった。また1000mg/kgでマウスの酢酸writhingの抑制傾向(27.0%)が認められたが、対照群に比べて有意な抑制ではなかった。他のマクロライド系抗菌薬のclarithromycin (CAM)では300, 500mg/kgの用量で著明なwrithing抑制作用が観察されており<sup>13)</sup>(各々34.3, 53.0%)、AZMのwrithing抑制作用はCAMよりも弱いように思われる。その他、AZMは1000mg/kgまでマウスの自発運動量、電撃痙攣、pentetazol痙攣、strychnine痙攣、hexobarbital睡眠、協調運動、懸垂能並びにラットの体温(直腸温)に対して影響を示さなかった。ラットの条件回避反応に対しては軽度な抑制(1/6例)を認めたが、高用量であり非特異的な作用と考えられた。従って、AZMは1000mg/kgでも中枢神経系に対し、軽度なwrithing抑制作用を除きほとんど影響を示さないものと考えられる。

麻酔イヌにAZMを十二指腸内投与した場合、10mg/

kgでは呼吸、血圧、心拍数、心電図および大腿動脈血流量に影響はみられなかったが、40mg/kg以上で一過性の軽度な血圧上昇、心拍数増加、大腿動脈血流量の増加又は低下がみられた。この変化は投与直後より認められ、いずれも15~30分以内に投与前値まで回復した。ヒトにおいては、本薬の循環器系への副作用はほとんど発現していないので<sup>14)</sup>、これらの影響は高用量投与時の非特異的なものと考えられる。モルモット摘出右心房標本ではAZMの $10^{-6}$ Mで収縮力の減少が認められたが、この作用は溶媒でも認められたことから、本薬の心臓に対する直接の作用によるものではないと考えられる。AZMを10mg/kgの用量で静脈内投与した場合、両側頸動脈閉塞およびnorepinephrineによる血圧上昇、並びにacetylcholine, histamineおよびisoproterenolによる血圧下降反応に

Table 5. Effect of azithromycin on gastrointestinal propulsion in mice

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	Transfer rate (%)
Control		65.7 ± 2.2
Azithromycin	100	57.1 ± 3.9
	300	54.3 ± 2.3
	500	42.7 ± 4.7**

Each value represents the mean ± SE of 10 mice.

\*\* : Significant from the control ( $p < 0.01$ )

Table 6. Effects of azithromycin on urine volume and electrolytes in saline-loaded rats

Parameters	Drugs	Dose (mg/kg, p.o.)	Time after administration (hr)			
			0~5	5~24	0~24	
Urine volume (ml/kg/each time)	Control		18.0 ± 1.0	17.0 ± 0.5	35.0 ± 1.0	
	Azithromycin	100	17.0 ± 1.6	18.0 ± 1.5	35.1 ± 1.8	
		300	12.5 ± 1.2	16.9 ± 1.5	29.4 ± 1.9	
		500	9.9 ± 1.2	21.7 ± 1.5	31.7 ± 2.4	
		Furosemide	20	46.4 ± 4.4**	11.6 ± 1.0*	58.1 ± 5.1**
Electrolytes (mEq/kg/each time)	Na <sup>+</sup>	Control	1.28 ± 0.14	2.29 ± 0.07	3.57 ± 0.18	
		Azithromycin	100	1.22 ± 0.21	2.62 ± 0.15	3.84 ± 0.17
	300		1.01 ± 0.08	2.37 ± 0.10	3.39 ± 0.09	
	500		0.78 ± 0.11	3.32 ± 0.16**	4.10 ± 0.21	
	Furosemide		20	4.46 ± 0.43**	0.45 ± 0.06**	4.92 ± 0.40**
	K <sup>+</sup>	Control		0.63 ± 0.03	2.19 ± 0.11	2.83 ± 0.10
		Azithromycin	100	0.55 ± 0.09	2.30 ± 0.22	2.85 ± 0.26
			300	0.62 ± 0.07	2.01 ± 0.12	2.63 ± 0.14
			500	0.60 ± 0.08	2.27 ± 0.11	2.87 ± 0.16
			Furosemide	20	1.43 ± 0.12**	2.86 ± 0.24
	Cl <sup>-</sup>	Control		1.51 ± 0.12	1.86 ± 0.09	3.37 ± 0.14
		Azithromycin	100	1.37 ± 0.23	2.04 ± 0.24	3.41 ± 0.20
300			1.36 ± 0.13	2.04 ± 0.12	3.40 ± 0.14	
500			1.06 ± 0.15	2.74 ± 0.15**	3.80 ± 0.25	
Furosemide			20	5.74 ± 0.49**	0.32 ± 0.04**	6.06 ± 0.47**

Each value represents the mean ± SE of 10 rats.

\*, \*\*: Significant from the control ( $p < 0.05, 0.01$ )

対する影響はほとんどみられなかった。

自律神経系に関する試験で、AZMは300, 500mg/kgで胃液量および酸分泌量を減少させ、500mg/kgで小腸輸送能を軽度低下させた。胃液分泌に対する同様の作用は今回対照薬として用いた類薬EMの500mg/kgで認められ、CAMの100, 300mg/kgでも認められると報告されている<sup>13)</sup>。一方、胆汁分泌量においてAZMは500mg/kgまで何ら影響を示さなかったが、EMは300mg/kg以上で胆汁分泌を増加させ、またCAMも30mg/kg以上で胆汁分泌量を増加させることが知られている<sup>13)</sup>。

摘出平滑筋に対してAZMは $10^{-6}$ または $10^{-8}$ Mで、回腸および子宮(妊娠、非妊娠)の自動運動、回腸、気管および輸精管の各種刺激薬による収縮に対して著明な作用を示さなかった。またラット坐骨神経-腓腹筋標本における神経-筋伝達に対してAZMは500mg/kgの十二指腸内投与で影響を示さなかった。

ラットにAZM 100, 300および500mg/kgを経口投与した場合、投与後24時間の尿量はAZM投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。尿中電解質( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ )も対照群との間に有意差は認められなかった。その他AZMによる血液系(prothrombin時間、血小板凝集および血糖値)に対する影響はみられなかった。

以上のように、AZMは安全性の高いマクロライド系抗菌薬であると示唆された。

#### 文 献

- 1) Bright G M, Nagel A A, Bordner J, Desai K A, Dibrino J N, Nowakowska J, Vincent L, Watrous R M, Scivolino F C, English A R, *et al.*: Synthesis, *in vitro* and *in vivo* activity of novel 9-deoxy-9a-aza-9a-homoerythromycin A derivatives: a new class of macrolide antibiotics, the azalides. *J Antibiotics* 41: 1029~1047, 1988
- 2) Retsema J, Girard A, Schelkly W, Manousos M, Anderson M, Bright G, Borovoy R, Brennan L, Mason R: Spectrum and mode of action of azithromycin (CP-62, 993), a new 15-membered-ring macrolide with improved potency against Gram-negative organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 31: 1939~1947, 1987

- 3) Fiese E F, Steffen S H: Comparison of the acid stability of azithromycin and erythromycin A. *J Antimicrob Chemother* 25 (Suppl. A): 39~47, 1990
- 4) Irwin S: Comprehensive observational assessment: Ia A systemic quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacologia* 13: 222, 1968
- 5) Koster R, Anderson M, Beer E J: Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc* 18: 412, 1959
- 6) Dunham H W, Miya T S: A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *J Am Pharm Assoc* 46: 208, 1957
- 7) Courvoisier S, Ducrot R, Lulou L: Nouveaux aspects experimentaux de l' activate centrate des derives de la phenothiazine. "Psychotropic Drugs", Ed. by Garattini S and Ghetti V, Elsevier Publishing Co., Amsterdam, pp 373, 1957
- 8) Weissman A: Psychopharmacological effects of thiothixene and related compounds. *Psychopharmacologia*, 12: 142, 1968
- 9) 上田元彦, 松村彰一, 松田三郎: マウス消化管輸送能に及ぼす諸種薬物の作用。塩野義研究所年報 15: 174, 1965
- 10) Lipschitz W L, Hadidian Z, Kerpcsar A: Bioassay of diuretics. *J Pharmacol Exptl Ther* 79: 97, 1943
- 11) 金井 泉, 金井正光: IV 血液凝固系の検査。臨床検査法提要(改訂29版)金原出版(株), 東京, pp 353, 1983
- 12) Born G V R: Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 194: 927~929, 1962
- 13) 妹尾直樹, 成田 聡, 垣内美佐子, 若松朋子: 新規マクロライド系抗生物質TE-031の一般薬理作用。Chemotherapy 36(S-3): 394~425, 1988
- 14) 斎藤 厚: XII 安全性, 新薬シンポジウム: Azithromycin 日本化学療法学会雑誌43 (No. 4): 473, 1995

## General pharmacological actions of azithromycin

Kyozo Yamanaka, Tamao Oka, Mitsuhsa Kawai and Yukari Satake

Pharmacology Laboratory, New Product Development Center, Pfizer Pharmaceuticals Inc.,

5-gochi, Taketoyo-cho, Chitagun, Aichi 470-23, Japan

The general pharmacological actions of azithromycin (AZM) were examined in animals. Oral administration of AZM caused loss of huddling behavior, response to tail pinch and pinna reflex in one of five mice at 300 mg/kg, but the effect was not dose dependent. Increasing doses up to 500 mg/kg slightly suppressed gastrointestinal propulsion. In rats, AZM reduced gastric secretion at 300 mg/kg (intraduodenal dosing: i.d.). In anesthetized dogs, AZM (i.d.) induced transient and slight increases in blood pressure, heart rate and respiration at more than 40 mg/kg, but intravenous dosing of 10 mg/kg did not affect the hemodynamic responses to autonomic agents or carotid occlusion. No other effects of AZM were found in the central nervous system, autonomic and somatic nervous systems, isolated smooth muscles, renal excretion or blood system.

Thus, AZM seems to be a highly safe macrolide antibiotic.