

ラットおよびモルモット気道平滑筋に対する Bromhexine 吸入の効果

三 澤 美 和, 長 谷 川 豊

星薬科大学応用薬理学教室*

(1989年4月27日〔特〕)

要約: 吸入適用時における bromhexine の気道平滑筋に対する影響を, ラットおよびモルモットを用いて検討した。気道平滑筋の反応は Konzett-Rössler 法変法により ventilation overflow (VO) 量を気道抵抗の指標として測定した。bromhexine は超音波ネブライザーを用い霧状にし5分間吸入した。また, システイン系去痰薬である N-acetyl-L-cysteine を対照薬物として吸入適用した。ラットでは, 0.1%および 0.2% bromhexine (pH 5.3) 吸入によって VO 量には全く変化は認められなかった。0.2% bromhexine 吸入ではわずかな全身血圧下降および心拍数減少が観察された。モルモットでは, 0.1% bromhexine (pH 5.3) 吸入では VO 量において, 極めて僅かな増大がみられたが, 0.2% bromhexine 吸入では VO 量には有意な影響はなかった。20% N-acetyl-L-cysteine (pH 6.8) 吸入では, VO 量, 全身血圧および心拍数はいずれも, ラットおよびモルモットにおいてなら影響は認められなかった。また, モルモットでは酒石酸溶液に溶解した 0.1% bromhexine 液 (pH 2.5) の吸入により高度に有意な VO 量の増加が認められた。これらの結果は, bromhexine は溶解液の液性 pH を配慮して吸入する場合には临床上, 充分吸入剤として使用できることを推察させるものである。

結 言

bromhexine (Bisolvon) は気管支喘息および慢性気管支炎等の呼吸器疾患に去痰薬として臨床的に広く使用されている。今日市販されている bromhexine の剤形には, 錠剤, 細粒剤, 注射剤, シロップ剤および液剤がある。これに加えて, 臨床においては局所への高濃度適用ならびに速効性の観点から, bromhexine 液の吸入適用がしばしば行われているようであり, 吸入適用による痰の喀出作用の良効性が報告されている^{1~5)}。しかしながら, この薬物を吸入した際の気道平滑筋の反応についての基礎的検討報告はみあたらない。一般に気管支喘息や慢性気管支炎患者では気道が過敏状態にあるため, 吸入による刺激性の亢進を考慮しなければならない。bromhexine を吸入剤として使用する例が今日多くなっているため, 気道平滑筋反応について検討する必要がある。本研究では, 小動物を用いて他の薬物の効果と比較した。

実験材料および実験方法

1. ラットにおける in vivo 気道平滑筋反応

体重 300~360 g の Wistar 系雄性ラット (東京実験

動物) を用い, pentobarbital Na (50 mg/kg, i.p.) 麻酔下実験を行った。実験方法としては当教室で開発した小動物用吸入適用法⁶⁾を用いた。動物を背位に固定し, 頸部正中線切開により気管を露出し気管カニューレを挿入した。気管カニューレを通じて人工呼吸回数が 70回/min になるように陽圧人工呼吸 (往復型人工呼吸器: シナノ製作所, SN-480-7-10) を行った。この状態で腹部を正中線に沿って高周波メスにて切開し, 横隔膜切開にて自発呼吸を停止させた。気道抵抗は Konzett-Rössler 法⁷⁾変法により, ventilation overflow (VO) 量を指標として測定した。回路内負荷圧は 3 cmH₂O とした。VO 量は, 抵抗管 (日本光電, TV-241T, 内径 3 mm), 呼吸流量計 (日本光電, MFP-1T), 呼吸用アンプ (日本光電, AR-601G) および積分アンプ (日本光電, EI-601G) を接続して測定した。また, 1 回送気量 (tidal volume) は実験開始時点において VO 量が 1.5~2.0 ml になるように設定した (平均 tidal volume 8.4 ml)。上記パラメーターはすべてポリグラフ (日本光電, RM-8000) 上に記録した。全身血圧を右総頸動脈に挿入したカニューレからディスポーザブル型圧トランスジューサー (日本光電, TI2AD) を介して, また心拍数は全身血圧の収縮期圧をトリガーとして心拍計 (日本光電, AT-601G) によりモニターした。また, 麻酔薬等の投与のために, 右大腿静脈にカニューレを挿入し

* 142 東京都品川区荏原2-4-41

た。気道平滑筋に対する作用を検索するために用いた薬物は、人工呼吸送気回路中に設けた超音波ネブライザー（日本光電, TUR-3200）を用いて霧状にし、約 0.5 ml を 5 分間吸入適用した。チャンパーとしては、市販の透明プラスチック製容器（底面直径上底 27 mm, 下底 23 mm, 高さ 55 mm, 容積 25 ml）を改良して超音波ネブライザーに導入して用いた。

2. モルモットにおける *in vivo* 気道平滑筋反応

体重 300~380 g の Hartley 系雄性モルモット（東京実験動物）を用い、pentobarbital Na (40 mg/kg, i.p.) 麻酔下で実験を行った。動物を背位に固定し、ラットの場合と同様に気管カニューレを挿入し、人工呼吸回数が 70回/min になるように陽圧人工呼吸を行った。次いで不動化するため、左総頸静脈より decamethonium bromide (C_{10} , 初回量 0.2mg/kg, i.v. および追加用量必要時毎 0.1 mg/kg, i.v.) の投与を行った。気道抵抗は、ラットにおけると同様 Konzett-Rössler 法変法により測定した。回路内負荷圧は 5 cm H_2O とした。全身血圧および心拍数を右総頸動脈に挿入したカニューレからラット同様、ディスプレイ型圧トランスジューサーを介してモニターした。気道平滑筋に対する作用を検索するために用いた薬物は、ラットの場合と同様に、人工呼吸送気回路中に設けた超音波ネブライザーを用いて 5 分間吸入適用した。

3. bromhexine 吸入における pH の影響

実験はモルモットを用いて 2. における実験と同様にを行った。bromhexine は生理食塩液に溶解し、酒石酸にて pH 2.5 として濃度 0.1% に調製し 5 分間吸入適用した。

た。対照として 0.01 N 塩酸溶液あるいは酒石酸にて pH 2.5 に調整した生理食塩液を 5 分間吸入した。

使用薬物：bromhexine hydrochloride（日本ベーリンガーインゲルハイム）、pilocarpine hydrochloride (Sigma), acetylcholine chloride（第一製薬）、N-acetyl-L-cysteine (Sigma) を用いた。

bromhexine は精製水にて希釈した 30% dimethylsulfoxide (DMSO) にて溶解した（最終 pH 5.3）。N-acetyl-L-cysteine は生理食塩液に溶解し炭酸ナトリウム溶液で中和した（最終 pH 6.8）。その他の薬物は生理食塩液にて溶解した。各対照群は当該溶媒（pH 調整後）群とした。尚、用量は塩基として表現した。

実験結果

1. ラットにおける *in vivo* 気道平滑筋反応

bromhexine 0.1% および 0.2% を吸入した際の典型的な反応例を図 1 に、各薬物吸入後の VO 量の最大変化値を図 2 に表わした。bromhexine 0.1% および 0.2% (pH 5.3) 吸入群では solvent (30% DMSO in 精製水) 吸入群と比較した場合、VO 量において有意な影響は認められなかった。VO 量の最大変化値は生理食塩液群では 0.06 ± 0.04 ml であるのに対し、solvent 吸入群においては 0.22 ± 0.08 ml であり、軽度の VO 量の増加があった。20% N-acetyl-L-cysteine (pH 6.8) 吸入では VO 量にほとんど変化はなかった。一方、ACh 0.1% 吸入群では、生理食塩液吸入と比較して、有意に著明な VO 量の増加、すなわち気道収縮を生じた ($P < 0.001$)。この気道収縮は吸入終了後から約

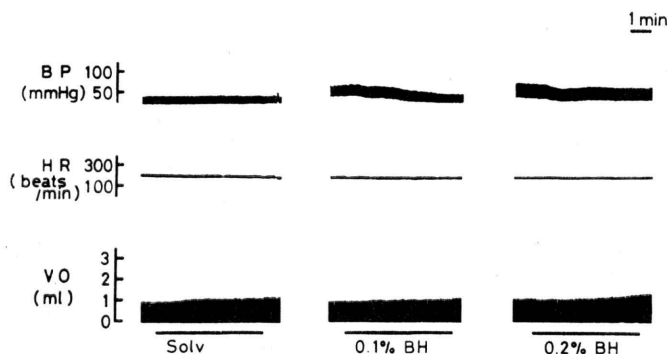


Fig. 1 Typical recordings of the bronchomotor responses to aerosol administrations of 0.1% and 0.2% bromhexine (BH) in anesthetized rats. Bromhexine was dissolved in 30% DMSO, and the final pH was adjusted to 5.3. The lines below the VO recordings represent 5-min inhalation of the drug. Solv: 30% DMSO in aqueous water. BP: systemic blood pressure, HR: heart rate and VO: ventilation overflow as an index of airway resistance.

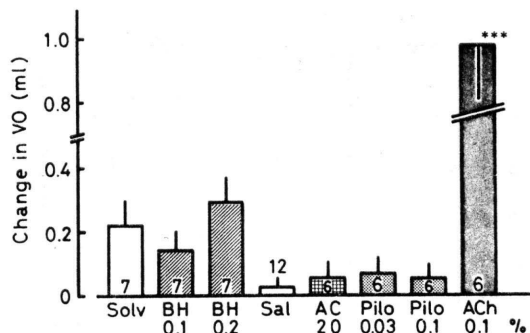


Fig. 2 Maximal changes in ventilation overflow (VO) induced by aerosol administrations of solvent (Solv: 30% DMSO), 0.1% and 0.2% bromhexine (BH), saline (Sal), 20% N-acetyl-L-cysteine (AC), 0.03% and 0.1% pilocarpine (Pilo) and 0.1% acetylcholine (ACh) in anesthetized rats. Bromhexine was dissolved in 30% DMSO (final pH 5.3), and N-acetyl-L-cysteine was in saline neutralized with sodium carbonate to a final pH of 6.8. Pilo and ACh were dissolved in saline. Each column represents the mean with S.E. The numeral in each column represents the number of animals used. ***: $P < 0.001$ vs. saline.

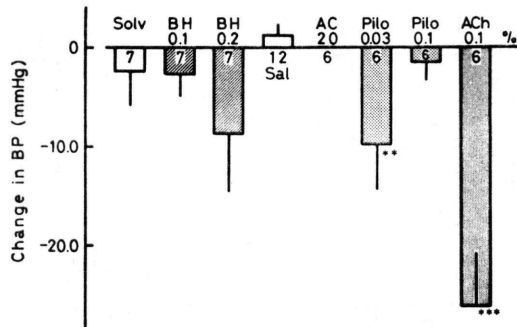


Fig. 3 Maximal changes in systemic blood pressure (BP) induced by aerosol administrations of solvent (Solv), 0.1% and 0.2% bromhexine (BH), saline (Sal), 20% N-acetyl-L-cysteine (AC), 0.03% and 0.1% pilocarpine (Pilo), and 0.1% acetylcholine (ACh) in anesthetized rats. **: $P < 0.01$ and ***: $P < 0.001$ vs. saline. Other explanations are as in Fig. 2.

10分で回復した。また、pilocarpine 吸入群は ACh 吸入群に比較し、気道収縮効果は弱かった。pilocarpine 0.03%および0.1%吸入群で気道収縮を生じたラットはともに6例中2例であり、残り4例では全く影響が認められなかった。

各薬物を吸入した時の全身血圧に対する効果を図3に表わした。ACh 0.1%およびpilocarpine 0.03%吸入群では血圧下降が認められた。solvent 吸入群では -2.5 ± 3.4 mmHg であるのに対し、bromhexine 0.2%吸入群では -8.7 ± 5.8 mmHg であった。N-acetyl-

L-cysteine 吸入群では血圧に影響は全くなかった。

心拍数に対しては、ACh 0.1% 吸入群では著明に心拍数の減少が認められた。また、pilocarpine 0.03% 吸入群でも心拍数の減少が認められた。bromhexine 0.2% では血圧変化にともなって軽度心拍数の減少が認められた。N-acetyl-L-cysteine では心拍数に影響はなかった。

2. モルモットにおける in vivo 気道平滑筋反応

bromhexine 0.1%および0.2%を吸入した際の典型的な反応例を図4に、各薬物吸入後の VO 量の最大変化値を図5に表わした。VO 量の最大変化値は solvent (30% DMSO in 精製水) 吸入群において 0.17 ± 0.04 ml であるのに対し、bromhexine 0.1% (pH 5.3) 吸入群では 0.32 ± 0.04 ml であり、有意の影響が認められたが、変化としてはごく軽度な増大にすぎなかった。

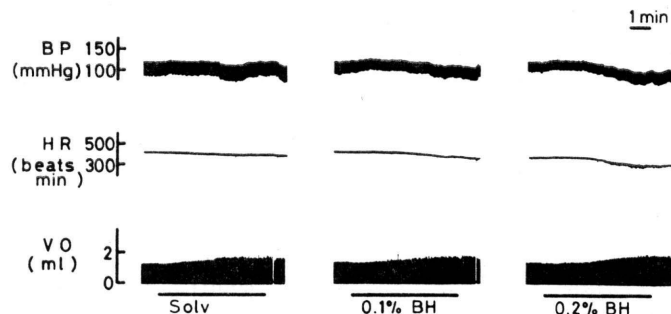


Fig. 4 Typical recordings of the bronchomotor responses to aerosol administrations of 0.1% and 0.2% bromhexine (BH) in anesthetized guinea pigs. Other explanations are as in Fig. 1.

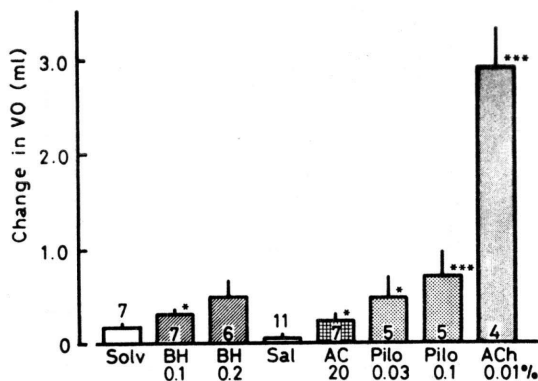


Fig. 5 Maximal changes in ventilation overflow (VO) induced by aerosol administrations of solvent (Solv), 0.1% and 0.2% bromhexine (BH), saline (Sal), 20% N-acetyl-L-cysteine (AC), 0.03% and 0.1% pilocarpine (Pilo) and 0.01% acetylcholine (ACh) in anesthetized guinea pigs. *: $P<0.05$ (BH vs. solvent) and (AC and Pilo vs. saline). ***: $P<0.001$ vs. saline. Other explanations are as in Fig. 2.

一方, bromhexine 0.2% でも増大の傾向があったが, 有意差は認められなかった. 20% N-acetyl-L-cysteine (pH 6.8) 吸入群における VO 量の最大変化値は 0.23 ± 0.07 ml であり, 生理食塩液群と比較して有意な増大を示したが, これも軽度な増大にすぎなかった. 一方, ACh 0.01% 吸入群では著明な VO の増加, すなわち気道収縮を生じた. この収縮は吸入終了後数分以内に回復した. また, モルモットにおいても pilocarpine は ACh に比し, 気道収縮効果は弱かった.

各薬物を吸入した時の全身血圧に対する効果を図 6 に表わした. ACh 0.01% では著明かつ有意な, また pilocarpine 0.03% および 0.1% では血圧下降が認められた. 一方, bromhexine 0.1% および 0.2% 吸入群でも血圧下降反応が観察され, それぞれ -8.8 ± 3.8 および -5.4 ± 1.9 mmHg であったが有意な効果ではなかった. N-acetyl-L-cysteine 20% 吸入群では血圧に影響はなかった.

心拍数に対しては, ACh 0.01% および pilocarpine 0.1% では減少が認められた. 一方, bromhexine 0.1% および 0.2% でも心拍数の減少が軽度ながら観察されることがあった. N-acetyl-L-cysteine では心拍数に影響はなかった.

3. bromhexine 吸入における pH の影響

bromhexine 吸入における pH の影響を図 7 に表わした. VO 量の最大変化値は, 対照群では 0.06 ± 0.03 ml

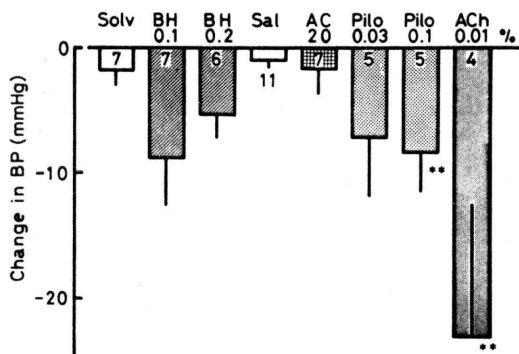


Fig. 6 Maximal changes in systemic blood pressure (BP) induced by aerosol administrations of solvent (Solv), 0.1% and 0.2% bromhexine (BH), saline (Sal), 20% N-acetyl-L-cysteine (AC), 0.03% and 0.1% pilocarpine (Pilo), and 0.01% acetylcholine (ACh) in anesthetized guinea pigs. **: $P<0.01$ vs. saline. Other explanations are as in Fig. 3.

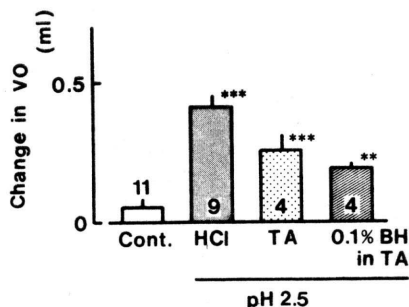


Fig. 7 Maximal changes in ventilation overflow (VO) induced by aerosol administrations of saline (Cont.), the saline adjusted to pH 2.5 with hydrochloric acid (HCl), the saline adjusted to pH 2.5 with tartaric acid (TA), and 0.1% bromhexine in saline adjusted to final pH of 2.5 with tartaric acid (0.1% BH in TA) in anesthetized guinea pigs. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$ and ***: $P<0.001$ vs. control.

であったのに対し, 0.01 N HCl にて pH 2.5 に調整した生理食塩液の吸入では 0.42 ± 0.05 ml であり, 著明な影響が認められた ($P<0.001$). 酒石酸にて pH 2.5 に調整した生理食塩液吸入群 (TA) および bromhexine を溶解し酒石酸にて pH 2.5 に調整した生理食塩液吸入群 (0.1% BH in TA) では, それぞれ 0.26 ± 0.06 および 0.19 ± 0.03 ml であり, 対照群に比して有意な影響が認められたが, bromhexine の有無による影響は認められなかった.

考 察

bromhexine (Bisolvon) は *Adhatoda vasica* Nees の有効成分 *vasicin* の化学構造を基礎として開発されたベンジルアミン系の去痰薬であり、1963年 Engelhorn and Püschmann⁸⁾ によってその薬理作用が報告されて以来、臨床的に呼吸器疾患等に繁用されてきた。

bromhexine は気道液量増大作用⁹⁻¹¹⁾と気道粘液溶解作用^{9,12,13)}を有することが報告されている。またその詳細な作用機序として、bromhexine は *in vivo* で経口投与された場合、2相性の分泌亢進作用を示し、初期には胃粘膜刺激による迷走神経反射亢進を、そして遅れて、気管支腺に対する直接作用に基づく分泌亢進と酸性糖タンパクの低分子化を生ずることが認められている¹⁴⁾。*in vitro* でも気道粘膜固有層の粘膜下腺の分泌活性を亢進するとともに、上皮の杯細胞ならびに粘膜下腺細胞の粘液に含まれる酸性糖タンパクの溶解を起こすこと¹⁵⁻¹⁷⁾、更に、その溶解機構の少なくとも一部として bromhexine が分泌細胞内の細胞質中にリソゾーム酵素を遊離し、この酵素が粘液の高分子糖タンパクを溶解するということが示唆されている¹⁷⁾。

また、bromhexine には気道上皮の線毛打頻度とその強度の増大作用も認められているほか、殺菌作用を有する lysozyme および IgA の分泌促進作用も存在する¹⁸⁾。こうした種々の薬理活性により bromhexine は気管支喘息や慢性気管支炎などの慢性閉塞性肺疾患を含む広汎な呼吸器疾患に有用な薬物として臨床で頻用されてきた。錠剤、細粒剤、注射剤、シロップ剤および液剤として市販されているが、臨床では有効性を高めるために液剤を吸入して用いるケースもしばしばみうけられる。しかし、bromhexine を吸入適用した場合の気道平滑筋ならびに全身効果についての報告はみられない。

今回の研究結果から、bromhexine 溶液の pH を中性近くにして吸入適用した場合には、ラットとモルモットいずれにおいても気道平滑筋に対してほとんど作用は認められなかった。若干の気道収縮がみられる傾向もあったが、臨床では気管支拡張薬等の薬液と混合して吸入させることが多いので、実際の吸入濃度は今回用いた濃度よりかなり下まわると思われる。従来の bromhexine 液剤に用いられるような製剤規格 pH 範囲 (2.5~3.5) では気道収縮が明確に認められた。これは bromhexine 自体の効果でなく、bromhexine 溶液が酸性であるためであった。酸性側の pH は、個体差はあるが、恐らく気道上皮の irritant receptors を介する気道刺激性で気

道収縮反応をひき起こすものと思われる。bromhexine の水溶性はきわめて悪く、中性の pH における溶解は困難であるため、酸性条件下で溶解されてきた。気管支喘息患者では pH 2.5 に調整したクエン酸緩衝液の吸入により、咳や気道収縮が惹起されることが報告されている¹⁹⁾。したがって、酸性条件下のまま bromhexine 液を吸入に用いると、個体によっては、临床上、咳の発生、気管支収縮等を生ずることが予想される。先にものべたが、臨床では他の薬液と混合して吸入させることが多いので、実際の吸入液の pH はより中性になっていると考えられること、および吸入量が少量であることから、臨床的にも気道収縮等の報告はない。

また、bromhexine の高濃度の吸入では全身性にも吸収されて全身血圧の軽度の下降を起こすことが今回使用した動物種において示された。もともと bromhexine を大量静注するとネコで著明な血圧下降が報告されている²⁰⁾。今回の結果からみて、bromhexine の高濃度の吸入では潜在的に血圧下降を生ずる効果があることを念頭に置いて使用することが必要と思われる。

DMSO は20%以上の高濃度で用いると DMSO 自身、肥満細胞からの histamine の放出を起こすことが報告されている²⁰⁾。本研究において solvent 吸入群でも、わずかであるが気道収縮が惹起されたのは、こうした DMSO の効果に起因するかもしれない。

N-acetyl-L-cysteine は cysteine 系去痰薬の中でも唯一吸入剤として用いられている。本研究で用いた20%溶液は、臨床的に吸入剤に使用されている濃度であるが、生理食塩液に溶かした時の液性は強酸性 (<pH 2.5) を示すため炭酸ナトリウムにて中和して吸入適用した。Barrett ら²¹⁾により、50 mM N-acetyl-L-cysteine は強酸性条件下 (pH 2.6) では histamine 遊離作用を伴うことが報告されている。

以上、結論として、bromhexine は溶液の pH を充分に考慮した上で適当量を吸入で用いた場合には临床上、粘液溶解性去痰薬として使用可能であることが推定された。

文 献

- 1) 中村 滋, 段原広行, 中島はな, 岩田登美子: 診療と新薬 **3**, 173 (1966)
- 2) 長崎美祢子: 薬物療法 **3**, 41 (1970)
- 3) 土屋興之, 鈴木直基, 山中みよ子: 小児科診療 **36**, 114 (1973)
- 4) 佐藤潤一: 小児科臨床 **31**, 151 (1978)
- 5) 相沢久道, 広瀬隆士: 臨床と研究 **58**, 58 (1981)
- 6) Misawa, M., Takenouchi, K., Abiru, T.,

- Yoshino, Y. and Yanaura, S.: Japan. J. Pharmacol. **45**, 63 (1987)
- 7) Konzett, H. and Rössler, R.: Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. **195**, 71 (1940)
 - 8) Engelhorn, R. and Püschmann, S.: Arzneimittelforschung **13**, 474 (1963)
 - 9) Boyd, E.M. and Sheppard, P.: Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. **163**, 284 (1966)
 - 10) Boyd, E.M., Bodi, I. and Krijnen, C.J.: J. New Drugs **6**, 269 (1966)
 - 11) 加瀬佳年, 薬師寺隆, 瀬尾 量, 坂田盛行, 鬼頭剛, 高浜和夫, 宮田 健: 日薬理誌 **73**, 605 (1977)
 - 12) Burgi, H.: Schweiz. Med. Wochenschr. **95**, 274 (1965)
 - 13) Bruce, R.A. and Kumar, V.: Br. J. Clin. Pract. **22**, 289 (1968)
 - 14) Takeda, H., Abe, Y., Misawa, M., Yanaura, S. and Kuroiwa, Y.: Japan. J. Pharmacol. **35**, 445 (1984)
 - 15) 柳浦才三, 武田弘志, 西村友男, 三澤美和: 日薬理誌 **77**, 559 (1981)
 - 16) 柳浦才三, 武田弘志, 西村友男, 三澤美和: 日薬理誌 **78**, 17 (1981)
 - 17) Takeda, H., Misawa, M. and Yanaura, S.: Japan. J. Pharmacol. **33**, 455 (1983)
 - 18) Misawa, M., Ohmori, S. and Yanaura, S.: Japan. J. Pharmacol. **39**, 241 (1985)
 - 19) Jonathan, M.F., Gordon, T., Thompson, J.E. and Sheppard, D.: Am. Rev. Respir. Dis. **135**, 826 (1987)
 - 20) Candussio, L., Klungmann, F.B., Decorti, G., Bevilacqua, B. and Baldini, L.: Agents Actions **20**, 17 (1987)
 - 21) Barrett, K.E., Minor, J.R. and Metcalfe, D.D.: Agents Actions **16**, 144 (1985)

Abstract—Effects of inhaled bromhexine on the bronchomotor tone in rats and guinea pigs. Miwa MISAWA and Yutaka HASEGAWA (Department of Applied Pharmacology, School of Pharmacy, Hoshi University, 2-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142, Japan). *Folia pharmacol. japon.* **94**, 123~128 (1989)

Bromhexine has been widely used as a mucolytic expectorant. Clinically, bromhexine is sometimes administered by inhalation. However, the effect of bromhexine by inhalation on bronchial musculature has not been documented. In the present study, the effect of inhaled bromhexine on bronchomotor tone in rats and guinea pigs was investigated. The bronchomotor tone was measured by a modified Konzett-Rössler method, and ventilation overflow (VO) was continuously recorded as an index of airway resistance. In rats, inhalation of bromhexine (0.1% and 0.2%, pH 5.3) caused no change in VO. At 0.2%, bromhexine slightly decreased systemic blood pressure (BP). In guinea pigs, bromhexine had no significant effect on VO at 0.2%, and it produced a significant but very slight increase at 0.1%. BP was slightly decreased by inhalation of bromhexine (0.1% and 0.2%, pH 5.3). N-Acetyl-L-cysteine, a cysteine-mucolytic (20%, pH 6.8), had no effect on VO and BP in either species. Inhalation of 0.1% bromhexine solution at pH 2.5, which was dissolved in tartaric acid solution, significantly increased VO, because of its acidity. From the above results, it is suggested that when the pH of the solution is considered, bromhexine has no or almost negligible effect on airway smooth muscles, and it may be useful as an effective mucolytic.