

Carbenicillin Indanyl Sodium の毒性試験

野口晏弘・中村 尚・大脇康雄・杉本省三

酒井健夫・橋 正克

台糖ファイザー株式会社薬理研究所

白沢春之

名古屋市立大学医学部第二病理学教室

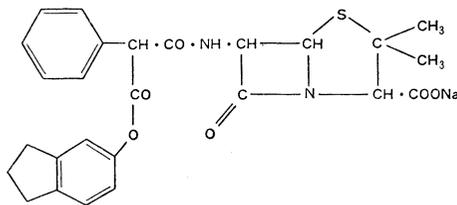
Carbenicillin indanyl sodium (以下, I-CBPC) は、ファイザー社が開発した薬物で carbenicillin sodium (以下, CBPC) と indanol をエステル結合させて、経口投与を可能にした半合成ペニシリンである。

本薬物について、マウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ急性毒性、ラット1ヵ月経口投与亜急性毒性、ラット6ヵ月経口投与慢性毒性、マウス、ラット経口投与催奇形性試験を行ったのでその成績を報告する。なお本薬物の構成成分である CBPC および indanol についても、その毒性または催奇形性について実験した。

実験材料および方法

1. 薬物

I-CBPC は、白色ないし淡黄色の水に溶けやすい結晶性粉末である。CBPC は白色～淡黄色の粉末で水にきわめて溶けやすい。動物に投与する場合はいずれも精製水に溶解して用いた。Indanol は白色の結晶性粉末で水にきわめて溶けにくく、動物に投与する場合は 0.5% carboxymethylcellulose (CMC) 水溶液に懸濁して用いた。I-CBPC の化学名と構造式は次のとおりである。



Sodium 3, 3-dimethyl-7-oxo-6-[2-phenyl-2-(5-indanyl oxycarbonyl) acetamide]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptane-2-carboxylate

2. 実験方法

マウスは ICR 系, ラットは Sprague-Dawley 系,

ウサギは日本白色種家兎を用い、購入後実験まで1週間以上当所で飼育した。飼育室は温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ に調節し、固型飼料(マウス・ラット CE-2 型, ウサギ CR-1 型, 催奇形性マウス CA-1 型, ラット OA-2 型; 日本クレア社)と水は自由に摂取させた。

ネコ、イヌは雑種で、特に温湿度の調節は行わず個別に飼育し、飼料は1日1回、ネコには固型飼料 (CFE-1 型; 日本クレア社) 100 g イヌには固型飼料 (DS型; オリエンタル酵母社) 300 g を与え、水は自由に摂取させた。

急性毒性 動物はマウス (5 週令), ラット (5 週令) ウサギ (3.84~4.44 kg), ネコ (2.1~3.5 kg) およびイヌ (6.0~7.9 kg) は雑種成熟動物を用いた。マウスおよびラットについては、経口、皮下および静脈内の3経路とし、原則として5投与段階で、1群あたりマウス、ラットとも雄雌各10匹を使用し、薬物投与前18~20時間は飼料を与えず給水だけとした。投与後7日間の観察を行い、LITCHFIELD-WILCOXON 法により LD_{50} 値を算出した。動物の一部は CBPC および indanol の LD_{50} 算出に用いた。ウサギ、ネコ、イヌについては、各投与段階あたり1匹ずつで経口投与の最小致死量を見積った。

亜急性毒性 ラット (5 週令) を、各投与段階あたり雄雌10匹ずつ用いた。Indanol 投与群は雄だけとした。

薬液は、金属製胃ゾンデを用いて1日1回連続1ヵ月間経口投与した。投与量は、I-CBPC 群では4000 mg/kg, 2000 mg/kg, 1000 mg/kg, 500 mg/kg, 125 mg/kg, の5段階、indanol 群では600 mg/kg, 400 mg/kg, 200 mg/kg, 100 mg/kg, 30 mg/kg, 10 mg/kg, 5 mg/kg の7段階とし、他に精製水または0.5% CMC 水溶液を投与した対照群を2群もうけた。

投与期間中は、一般症状の観察、体重、飼料摂取量の測定および尿検査を行った。尿の検査項目は、外観 (色調、混濁の有無)、比重 (屈折計)、潜血、蛋白、糖 (Hema-Combistix 試験紙—日本エームス社)、urobilinogen (EHRlich の Aldehyde 反応) および尿沈渣 (顕微鏡的

観察)である。

動物には屠殺前24時間飼料を与えず、給水だけとした。屠殺時 sodium pentobarbital (i. p.) で麻酔して、大腿静脈から heparin 処理注射器で採血し、一般血液検査を行い、さらに腹大動脈から全採血して、血清を分離し、autoanalyzer により臨床化学的検査を行った。

血液学的検査項目は、赤血球数、白血球数、hemoglobin 量 (Cyanmethemoglobin 法—DRABKIN 1950)¹¹、hematocrit 値 (毛細管迅速超遠心法—Mc GOVERN ら、1965)²、および血液像であり、臨床化学的検査項目は、血糖 (HOFFMAN 変法、1937)³、血中尿素窒素 (MARSH ら法、1965)⁴、alkaline phosphatase (KIND-KING 法の MARSH ら変法、1959)⁵、GOT、GPT (REITMAN and FRANKEL 法、1957)⁶、直接および総 bilirubin (JENDRASSIK and GROB 変法、1938)⁷、総蛋白量 (WEICHELBAUM 法、1946)⁸、albumin (HABA Dye 法、NESS 変法、1965)⁹、globulin (総蛋白量—アルブミン量)、A/G (albumin, globulin から算出)、sodium および potassium (焰光法、HAAGEN-SMIT & RAMIREZ-MUNOZ 法、1966)¹⁰、chloride (chloride meter 法、渡辺ら、1966)¹¹、総 cholesterol (LEVINE and ZAK 法、1964)¹² である。

屠殺後動物は直ちに剖検し、諸臓器の観察ならびに重量測定を行い、10%ホルマリン液で固定、パラフィン包埋後、hematoxyline-eosin で染色し、病理組織学的に検査した。秤量した臓器は、心臓、肺臓、肝臓、腎臓、膵臓、脾臓、胸腺、副腎、甲状腺、脳、脳下垂体および雄では、精巣、精巣上体、前立腺、雌では卵巣、子宮であり、病理組織学的に検査した臓器は、以上の諸臓器に加えて、眼球、気管、大動脈、食道、胃、腸管 (Peyer 板を含む)、腸間膜リンパ節、大腿骨、胸骨、精嚢腺、膀胱および皮膚 (雌の場合は乳房を含む) である。

慢性毒性 用いたラット、実験条件および検査は亜急性毒性に準じ、投与期間は6ヵ月とし、各群雄雌15匹ずつとした。経口投与した I-CBPC の用量は、3000 mg/kg、1500 mg/kg、800 mg/kg、400 mg/kg、100 mg/kg の5段階とし、他に精製水を投与した対照群をもうけた。投与3ヵ月目 (13週) に各群雄雌5匹ずつ、6ヵ月目に原則として各群雄雌10匹ずつを屠殺した。

催奇形性 マウス (10~15週令)、ラット (12~19週令) を用い、I-CBPC 群では、マウスで3000 mg/kg、1000 mg/kg、400 mg/kg の3段階、ラットで3600 mg/kg、1200 mg/kg、400 mg/kg の3段階とした。Indanol 群では、ラットに500 mg/kg、100 mg/kg の2段階とし、胃ゾンデにより投与した。ほかに精製水または0.5% CMC 水溶液を投与した対照群をもうけた。

膣栓または膣垢中に精子を確認した日を妊娠0日と

し、薬物は、マウスでは妊娠7日から12日まで、ラットでは妊娠9日から14日まで、それぞれ1日1回連続6日間投与した。

各群とも妊娠末期に生存していたもののうち9~17匹を、マウスでは妊娠18日に、ラットでは妊娠21日に、頸椎脱臼法で屠殺した。死亡吸収胚数、生存胎子の数、体重および外形 (口腔内を含む)、腹部諸器官の異常の有無をしらべた。さらにアリザリン染色した骨格透明標本について、骨格異常、化骨進行度および骨格変異を観察した。

各群3~5匹は自然分娩させ、新生仔の発育状態についても観察した。

実験成績

I 急性毒性

マウス、ラット、ウサギ、ネコおよびイヌの LD₅₀ 値 (または LD 値) を Table 1 に示した。I-CBPC のマウス、ラット経口 LD₅₀ 値は、ほぼ4500 mg/kg であり、ウサギに3378 mg/kg 経口投与すると致死例がみられ、ネコは500 mg/kg、イヌは1500 mg/kg を経口投与すると嘔吐を起こし、その用量以上を投与しても、嘔吐のため致死例はみられなかった。

経口投与後発現する症状としては、自発運動の低下、抑うつ、筋弛緩がマウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌに共通してみられ、ネコ、イヌでは嘔吐、マウス、ラット、ウサギでは歩行失調、体温下降、チアノーゼ、マウス、ウサギでは間代性痙攣がみられた。また糞は軟便、下痢に傾いた。これらの症状は経口投与後3~10分で発現しはじめ、30時間以内に正常に回復した。死亡は1~5時間に頻発した。剖検所見では、一般に特記すべき変化はみられなかったが、盲腸は著しく膨大していた。CBPC を12,000 mg/kg 経口投与しても、マウスには死亡例がみられなかった (Table 1)。Indanol のマウス経口 LD₅₀ 値はほぼ350 mg/kg で、I-CBPC のそれとは大きな差があり、また発現する症状は I-CBPC 経口投与時にはみられなかった泣鳴、跳躍、振せんなどが顕著にみられた。しかも振せんは7日間も継続し、飼料を摂取せず、るいそうが著明になったこと、また死亡頻発が経口投与後18~27時間であったことなど、I-CBPC とは全く異質のものであった。死亡例では胃粘膜、特に前胃部に針頭大ないし粟粒大の出血斑が、びまん性に認められた。ラットに indanol を経口投与した場合の LD₅₀ 値は、約600 mg/kg であり、発現した症状はマウスにくらべ一般に弱く、振せんはみられなかった。また症状の持続時間もマウスにくらべ短かかった。

II 亜急性毒性 (ラット、1ヵ月経口投与)

Table 1 Acute toxicity of I-CBPC, CBPC and indanol

Compound	Species	Sex	LD ₅₀ and 19/20 confidence limits (mg/kg)			
			Oral	Intravenous	Subcutaneous	Intraperitoneal
I-CBPC	Mouse	Male	4550 (3991-5187)	238 (213- 267)	1510 (1409-1619)	-
		Female	4400 (3833-5051)	210 (192- 230)	1620 (1421-1847)	-
	Rat	Male	4570 (4009-5210)	295 (273- 319)	2360 (2193-2539)	-
		Female	4450 (3904-5073)	295 (281- 310)	2375 (2262-2494)	-
	Rabbit	Male	3378* (1/1)	-	-	-
CBPC	Cat	Male & Female	>500** (0/2)	-	-	-
	Dog	Male & Female	>1500** (0/3)	-	-	-
	Mouse	Male	>12000	4800 (4404-5232)	9700 (9023-10428)	-
Indanol		Female	>12000	4500 (4128-4905)	10500 (9589-11498)	-
	Mouse	Male	354 (309- 406)	-	-	112 (97-129)
		Female	370 (325- 421)	-	-	-
	Rat	Male	620 (529- 727)	-	-	-

* indicates the lethal dose

** The lethal dose cannot be estimated due to vomiting.

一般症状として I-CBPC 群の高用量群に、投与後自発運動の低下、抑うつ、その他下痢・軟便となるものがあったが、投与後3時間以内に回復した。死亡例では、正向反射消失、体温下降、チアノーゼがみられた。Indanol 群の200 mg/kg 以上の投与群では自発運動の抑制が、また 400 mg/kg の投与群では歩行失調、600 mg/kg では時に間代性痙攣がみられた。その他の投与群では、特記すべき症状はみられなかった。

体重変化では I-CBPC 群の雄 4000 mg/kg, 2000 mg/kg 投与群で中等度ないし軽度の体重増加抑制がみられた。その他の投与群では、対照群と差はみられなかった。また雌ではいずれの投与群でも、対照群との差は雄ほどにはみられなかった。Indanol 群では、200 mg/kg 以上の投与群で、投与直後から体重増加は抑制され、特に 600 mg/kg 投与群では、31日目の対照群との平均体重の差は 85.8g に達した。100 mg/kg 以下の投与群では、対照群とほとんど差がなかった。

飼料摂取量では、I-CBPC 群および indanol 群とも、対照群と著しい差はみられなかった。

死亡例は、I-CBPC 4000 mg/kg 投与群の雄では、投与開始日および1日目に2例ずつ、2日および4日目に1例ずつ、また4000 mg/kg 投与群の雌では投与2日目に2例みられた。2000 mg/kg 以下の投与群では、雄雌とも死亡例はなかった。Indanol 群では、600 mg/kg 投与群で投与6日目、10日目および11日目に、それぞれ1例ずつ死亡したが、400 mg/kg 以下の各投与群では、実験期間中死亡例はなかった。

尿所見では、I-CBPC 群、indanol 群とも、外観（色

調、混濁の有無）、蛋白、糖、urobilinogen は、対照群と変りがなかった。I-CBPC 4000 mg/kg 投与群の雄雌各1例で潜血反応が陽性となり、沈渣の顕微鏡的所見で赤血球を認めたが、その他の投与群では対照群と差がなかった。

血液学的所見では、I-CBPC 群、indanol 群ともに対照群と比較して著しい差がなく、いずれも正常範囲内であった。

臨床化学的所見では、I-CBPC 群、indanol 群ともに対照群に比較して差がなかった。

剖検所見および臓器重量では、I-CBPC 群の体重増加抑制のみられた高用量群の雄で、ほとんどの臓器重量は減少した。しかし、副腎、脳などの重量では変化はみられず、体重100g当りの相対的重量は逆に増加した。また皮下、腹腔内脂肪は減少し、盲腸は著明に膨大した。その他、特記すべき所見はみられなかった。Indanol 群では 600 mg/kg 投与群で、軽度の実重量の減少を示す臓器もあったが、相対的重量では逆に増加した。これらの動物では皮下・腹腔内脂肪は減少した。しかし、盲腸の膨大はみられなかった。その他の投与群では、異常はみられなかった。病理組織学的所見では、I-CBPC 群および indanol 群とも、異常は認められなかった。I-CBPC 高用量群で、肉眼的に著明な膨大を認めた盲腸でも、粘膜、筋層、漿膜ともに異常な所見は認められなかった。

III 慢性毒性

一般症状では、I-CBPC 800 mg/kg 以上の投与群で、抑うつ、軟便を認めた以外は異常はなかった。これらの

Fig.1 Average body weight of rats treated orally with I-CBPC for six months

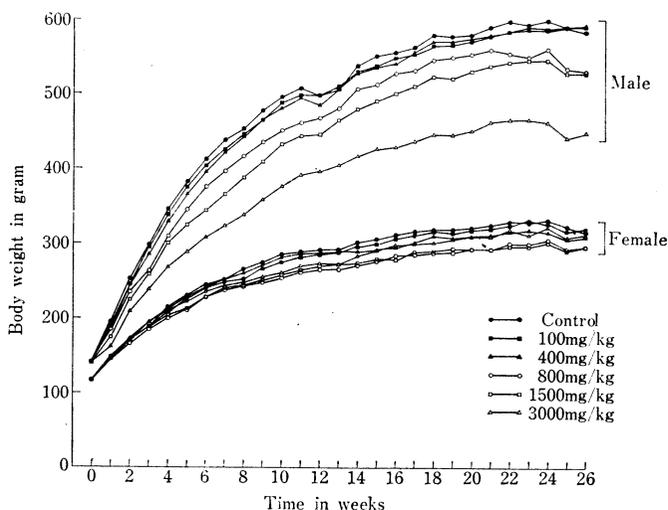


Table 2 Cecum weight[#] changes in male and female rats treated orally with I-CBPC for six months

Dose	Sex	Time examined	Absolute weight in gram	Weight in gram per 100g of body weight
Control	Male	3 months	5.4±0.6(5)	1.2±0.1(5)
		6 months	4.8±0.4(10)	0.9±0.1(10)
	Female	3 months	3.2±0.3(5)	1.2±0.1(5)
		6 months	3.9±0.3(10)	1.3±0.1(10)
100mg/kg	Male	3 months	11.0±1.5(5)**	2.3±0.3(5)**
		6 months	8.4±0.6(10)***	1.5±0.1(10)***
	Female	3 months	6.1±0.6(5)***	2.4±0.3(5)***
		6 months	5.7±0.5(10)**	1.9±0.2(10)**
400mg/kg	Male	3 months	14.1±0.5(5)***	3.0±0.2(5)***
		6 months	12.6±0.8(10)***	2.2±0.1(10)***
	Female	3 months	6.6±0.8(5)***	2.5±0.3(5)***
		6 months	8.5±0.6(10)***	3.0±0.3(10)***
800mg/kg	Male	3 months	12.1±0.8(5)***	2.9±0.2(5)
		6 months	13.1±1.4(9)***	2.6±0.3(9)***
	Female	3 months	7.5±1.2(5)**	3.3±0.6(5)**
		6 months	10.1±0.7(10)***	3.8±0.3(10)***
1500mg/kg	Male	3 months	18.9±1.1(5)***	4.5±0.3(5)***
		6 months	18.2±2.2(10)***	3.6±0.4(10)***
	Female	3 months	10.1±1.9(5)**	3.9±0.6(5)***
		6 months	13.1±0.9(10)***	4.9±0.4(10)***
3000mg/kg	Male	3 months	18.8±1.1(5)***	5.2±0.2(5)***
		6 months	16.1±1.2(10)***	4.0±0.3(10)***
	Female	3 months	10.8±0.6(3)***	4.8±0.2(3)***
		6 months	9.9±1.3(7)***	3.6±0.5(7)***

*, ** and *** indicate significance level of 5, 1 and 0.1 percent, respectively.

Figures in parentheses indicate the number of rats examined.

shows the weight including cecum contents.

症状も、投与後1週位から徐々に回復が早くなり、投与5ヵ月目には、軟便以外ほとんど異常な症状はみられなくなった。死亡例は、薬物投与過誤による死亡(180例中5例)以外には、各投与群、対照群ともにみられなかった。

体重は、3000 mg/kg 投与群の雄では増加抑制がみられたが、雌では対照群とほとんど差がなかった。雄1500 mg/kg、800 mg/kg 投与群でも、軽度の体重増加抑制がみられた。その他の投与群では対照群と差がなかった。雌では、いずれの投与群でも対照群との差はみられなかった (Fig. 1)。

飼料摂取量は、3000 mg/kg 投与群の雄でわずかに増加する傾向がみられたが、その他の投与群では対照群と差がなかった。

尿所見では、検査したいずれの項目でも投与群と対照群で差はなかった。

血液学的所見は、3ヵ月目および6ヵ月目とも、いずれの検査項目についても対照群と投与群で差はみられなかった。

臨床化学的所見でも、特に異常は認められなかった。ただ3000 mg/kg 投与群の雄では、3ヵ月目の検査で血糖値がやや低かったが、6ヵ月目検査では異常はなかった。

剖検所見では、投与量に対応した盲腸の膨大が認められた以外には、異常所見はみられなかった。ただ雄の3000 mg/kg 投与群では、体重増加抑制に対応して、諸臓器重量も一般に減少した。雌の投与群では、体重減少は著明でなく、臓器重量も対照群と大差なかった。盲腸の内容物を含めた重量を Table 2 に示した。

病理組織学的所見には、いずれも異常はみられず、肉眼的に膨大がみられた盲腸でも、粘膜、筋層および漿膜ともに異常は認められなかった。

IV 催奇形性

I-CBPC の場合、マウス 400 mg/kg、ラット 1200 mg/kg、400 mg/kg の各投与群では母体に死亡例はみられず、マウスの 3000 mg/kg 投与群で22例中8例 (36.4%)、1000 mg/kg 投与群で23例中4例 (17.4%)、またラットの 3600 mg/kg 投与群で22例中5例 (22.7%) が死亡した。その他に、薬物に直接関係がないと思われる死亡が、マウス 400 mg/kg 投与群に1例みられた。

Indanol の場合は、ラット 100 mg/kg 投与群には母体死亡がみられなかったが、500 mg/kg 投与群で19例中4例 (21.1%) が死亡した。母体死亡例の発生した投与群では、母体の体重の増加抑制または減少が認められたが、その他の投与群では対照群との差がなかった。母体に影響のあらわれた I-CBPC 投与群の胎仔死亡率は増

加し、生存胎仔平均体重はわずかに減少した。しかし、indanol 500 mg/kg 投与群ではいずれも対照群と差がなかった (Table 3)。

I-CBPC を投与したマウスでは、3000 mg/kg 投与群で口蓋裂と欠指の合併症が1例、1000 mg/kg 投与群で口蓋裂2例、仙椎と尾椎が癒合したもの1例、肋骨癒合が1例の合計4例、400 mg/kg 投与群で口蓋裂と内反足が各1例、対照群で口蓋裂と胸椎癒合が各1例認められた。I-CBPC 投与ラットでは、3600 mg/kg 投与群で肋骨癒合が1例、400 mg/kg 投与群で肋骨癒合、胸椎分離、頸椎欠損の合併症が1例、対照群で膈ヘルニアが1例みられた。これらの各投与群での奇形の種類および発生率は、対照群と有意の差がなかった。Indanol を投与したラットの胎仔には、奇形は1例もみられなかった (Table 3)。

化骨進行度および骨格変異については対照群と差のある投与群もみられたが、投与量との関連性は認められなかった。

新生仔の生後発育に及ぼす影響をみると、マウスでは I-CBPC 1000 mg/kg、400 mg/kg 投与群で、生後1週から屠殺した6週までその平均体重は対照群より重かったが、3000 mg/kg 投与群では、生後2週までは対照群と差がなく、3週で増加抑制がみられ、その後は対照群と平行状態を保った。ラットの場合 I-CBPC、indanol と対照群とほとんど差がなかった。

マウス、ラットの出生率、哺育率および離乳時から3週間の生存率は、I-CBPC、indanol いずれの場合も、ほとんどの投与群で対照群と差がなかった。しかし、indanol 100 mg/kg 投与群では、母体3例中1例から出生した新生仔の約半数が死亡していたのでこの投与群の死産仔数は対照群より多くなっている (Table 4)。

離乳時の外表分化、聴覚、行動や屠殺時の性機能の発育状態は、全例とも異常は認められなかった (Table 4)。

出生時から生後6週の屠殺時まで認められた奇形は、I-CBPC 投与群ではマウスに口蓋裂が4例、ラットに曲尾が1例と副脾が2例であったが、indanol 群には、1例もみられなかった (Table 4)。

考 察

I-CBPC のマウス、ラット経口投与の LD₅₀ 値は、われわれの成績では約 4500 mg/kg であり、BUTLER ら (1973)¹³⁾ は約 3600 mg/kg と報告している。この薬物の構成成分の CBPC の経口 LD₅₀ 値は、マウスで 12,000 mg/kg 以上、indanol はマウスで 350 mg/kg、ラットで約 600 mg/kg であった。I-CBPC を経口投与した場合の症状、持続時間および死亡頻発時間は、indanol のそれと

Table 3 Effect of I-CBPC and indanol treated orally to pregnant animals upon the fetuses at term

Compound	Species	Dose	No. of dams		No. of implantations		No. of fetuses			Body weight of live fetuses (Mean \pm S.E.) (g)
			Total	Live at term	(Mean per litter)	Dead (%)	Total	Malformed	Live	
I-CBPC	Mouse	0mg/kg	17	17	247(14.5)	22	(8.9)	225	2 ^{a),b)}	1.31 \pm 0.01
		400mg/kg	16	15	210(14.0)	17	(8.1)	193	2 ^{a),c)}	1.30 \pm 0.01
		1000mg/kg	18	14	197(14.1)	34 ^{**}	(17.3)	163	4 ^{a),b)}	1.18 \pm 0.01 ^{***}
		3000mg/kg	17	9	113(12.6)	48 ^{***}	(42.5)	65	1 ^{d)}	1.25 \pm 0.02 ^{***}
	Rat	0mg/kg	15	15	183(12.2)	10	(5.5)	173	1 ^{e)}	5.39 \pm 0.03
		400mg/kg	17	17	243(14.3)	18	(7.4)	225	1 ^{b)}	5.30 \pm 0.04
Indanol	Rat	1200mg/kg	15	15	193(12.9)	4	(2.1)	189	0	5.27 \pm 0.04 [*]
		3600mg/kg	17	12	140(11.7)	19 [*]	(13.6)	121	1 ^{b)}	5.16 \pm 0.04 ^{***}
	Rat	0mg/kg	15	15	207(13.8)	19	(9.2)	188	0	5.23 \pm 0.03
		500mg/kg	16	12	187(15.6)	18	(9.6)	169	0	5.15 \pm 0.04

a) Cleft palate

b) Skeletal malformation (Fusion of rib. etc.)

c) Clubfoot

d) Cleft palate and oligodactyly (Combined)

e) Umbilical hernia

* **and ***indicate significance levels of 5, 1 and 0.1 percent respectively

Table 4 Effect of I-CBPC and indanol treated orally to pregnant animals upon the postnatal development of the offspring[[]

Compound	Species	Dose	No. of dams	No. of implantations	No. of resorptions	Birth rate (%)	No. of stillborns	At birth			Week 3 after birth			Week 6 after birth			
								No. of live infants	No. of external malformations	No. of weanlings	Survival (%) ^{a)}	Survival (%) ^{b)}	Survival (%) ^{b)}	No. of live infants	Survival (%) ^{b)}	No. of live infants	Survival (%) ^{b)}
I-CBPC	Mouse	0mg/kg	5	68	6	91.2	0	62	0	54	87.1	Normal	54	100.0	54	100.0	0
		400mg/kg	5	65	16	75.4*	0	49	1 ^{c)}	45	91.8	Normal	45	100.0	45	100.0	0
		1000mg/kg	5	56	8	85.7	0	48	1 ^{c)}	38	79.2	Normal	38	100.0	38	100.0	0
		3000mg/kg	5	74	14	81.1	0	60	2 ^{c)}	40	66.7**	Normal	37	92.5	37	92.5	0
Indanol	Rat	0mg/kg	5	75	14	81.3	0	61	0	54	88.5	Normal	54	100.0	54	100.0	0
		400mg/kg	5	73	5	93.2*	0	68	0	62	91.2	Normal	62	100.0	62	100.0	1 ^{c)}
		1200mg/kg	5	62	2	96.8**	0	60	0	52	86.7	Normal	52	100.0	52	100.0	0
		3600mg/kg	5	67	5	92.5	0	62	1 ^{d)}	51	82.3	Normal	50	98.0	50	98.0	1 ^{e)}
Indanol	Rat	0mg/kg	3	47	2	95.7	1	44	0	15	34.1	Normal	15	34.1	15	34.1	0
		100mg/kg	3	47	2	95.7	11**	34	0	22	64.7**	Normal	22	64.7**	22	64.7**	0
		500mg/kg	3	46	2	95.7	0	44	0	32	72.7***	Normal	32	72.7***	32	72.7***	0

a) % of the number of weanlings to that of live infants at birth

b) % of the number of live infants at the sacrifice to that of weanlings

c) Cleft palate

d) Kinky tail

e) Accessory spleen

*, ** and *** indicate significance levels of 5, 1 and 0.1 percent, respectively.

比較して大きな差がみられた。このことからみると I-CBPC の大量投与時の動物の死因として、生体内で遊離された indanol が主な役割を果しているとは考えにくい。事実、I-CBPC を経口投与すると、体内では CBPC と indanol となり、indanol は直ちに indanyl glucuronate になって、末梢血中では遊離の indanol が証明出来ないという (BUTLER ら, 1973; 木村ら, 1975)¹³⁾¹⁴⁾。Indanyl glucuronate をマウス、ラットに経口投与すると、indanol より毒性が低下することをわれわれは経験している (未発表)。さらにラットに indanol を連続経口投与した場合に、死亡例の発現するのは 600 mg/kg の段階であって、これは indanol のラット経口 LD₅₀ 値 620 mg/kg とほぼ等しく、400 mg/kg では 1 ヶ月連続投与しても死亡例は発生していない。このことは indanol が蓄積することなく排泄されることを示唆している。

I-CBPC のラット経口投与の LD₅₀ 値は、前述のように約 4500 mg/kg であり、連続経口投与する場合も経口 LD₅₀ 値に近い量を与えなければ致死例は発生しなかった。BUTLER ら (1973)¹³⁾ は、I-CBPC をラットに 250~1000 mg/kg を 18 ヶ月間経口投与し、またイヌでは 750 mg/kg, 250 mg/kg を 12 ヶ月間経口投与して実験を行っているが、いずれも毒性を認めず、われわれの成績とよく符合した。われわれがラットに 3000 mg/kg の用量で 6 ヶ月間経口投与して認めた主な変化は、体重増加抑制と投与開始初期にみられた抑うつ、下痢、軟便および盲腸の膨大だけで、尿所見、血液学的所見、臨床化学的所見および病理組織学的所見については対照群と大差を認めていない。ただ下痢、軟便についてはこの盲腸の膨大と直接関係あると考えられ、その下痢ならびに盲腸膨大は、1 回投与でも比較的短時間で起こることから、腸内細菌叢の変化 super infection に基づくものではなく、いわゆる薬理学的下痢に基づくものと考えたい。盲腸膨大については、ラット cephalixin (峰下ら, 1969)¹⁵⁾、マウス penicillin, oxytetracycline, kanamycin (SAVAGE ら, 1968)¹⁶⁾、無菌動物 (GORDON ら, 1959, 1960; 宮川, 1963)^{17)~19)} で、すでに報告されている。われわれの場合、盲腸膨大は投与量に対応して大きくなっているが、その病理組織学的所見では異常がないこと、水分の吸収の変化でこのようなことが報告されている (KLAUS ら, 1973)²⁰⁾ ことなどから、これは盲腸の機能的な変化によるもので、病的意義はないと考える。

催奇形性試験では、母体死亡がみられた投与群で胎仔死亡率がやや高く、生存胎仔体重の低下がみられたが、これは母体側の悪条件が 2 次的に胎仔に影響を与えたものと考えられる。

奇形は、マウス、ラットともに、比較的一般に遭遇す

るものが少数例みられたが、これらはいずれも自然発生率の範囲内にあり、また投与量とも直接的な関連はみられなかった。BUTLER ら (1973)¹³⁾ は、I-CBPC の 1000 mg/kg または 500 mg/kg を、ラットの交配前 14 日から妊娠 13 日まで経口投与し、妊娠率、着床痕数、胎仔体重などに影響を及ぼさず、さらにマウス、ラットの器官形成期投与でも、薬物に関連のある奇形は認められなかったと報告している。したがって、I-CBPC には催奇形性作用はないものと考えられる。

これらの成績は、本薬物の安全性が高いことを示すものであり、経口的に使用できる毒性の低い薬物と判断される。

総 括

経口的に投与出来る半合成ペニシリン I-CBPC の毒性試験を行った。

1. I-CBPC の経口 LD₅₀ 値は、マウス、ラットともほぼ 4500 mg/kg であった。ウサギに 3378 mg/kg 経口投与すると致死例がみられ、ネコでは 500 mg/kg、イヌでは 1500 mg/kg を経口投与すると嘔吐を起こし、それ以上の用量を投与しても、致死例はみられなかった。経口投与後、自発運動の低下、抑うつ、筋弛緩はいずれの動物種にもみられ、さらにネコ、イヌでは嘔吐、マウス、ラット、ウサギでは歩行失調、マウス、ウサギでは間代性痙攣などがみられた。また糞は軟便、下痢に傾き、剖検所見では一般に特記すべき変化はみれなかったが、盲腸は著しく膨大していた。

2. ラットに I-CBPC 4000 mg/kg, 2000 mg/kg, 1000 mg/kg, 500 mg/kg, 125 mg/kg の用量を 1 ヶ月連続経口投与すると、500 mg/kg 以上の投与群で自発運動の低下、抑うつ、下痢などがみられ、体重増加は 2000 mg/kg 以上の投与群の雄で軽度ないし中等度に抑制されたが、雌では一般に雄ほどには抑制されなかった。死亡例は 2000 mg/kg 以下の投与群ではみられず、4000 mg/kg 投与群で、雄 10 例中 6 例、雌 10 例中 2 例にだけみられた。剖検所見でみられた盲腸膨大以外には、飼料摂取量、尿所見、血液学的所見、臨床化学的所見、臓器重量、病理組織学的所見とも、投与群と対照群で差はなかった。

3. ラットに I-CBPC 3000 mg/kg, 1500 mg/kg, 800 mg/kg, 400 mg/kg, 100 mg/kg の用量を 6 ヶ月連続経口投与すると、800 mg/kg 以上の投与群で、抑うつ、軟便などがみられた。体重は 3000 mg/kg 投与群では増加抑制がみられたが、雌では対照群とほとんど差がなかった。雄の 1500 mg/kg, 800 mg/kg 投与群でも、軽度の体重増加抑制がみられた。死亡例は 3000 mg/kg 投与群でもみられなかった。剖検所見で認められた盲腸の膨大

以外には、飼料摂取量、尿所見とも投与群と対照群で差はなかった。なお、1ヵ月、6ヵ月連続投与で肉眼的に膨大を認めた盲腸でも、病理組織学的な異常は認められなかった。

4. マウス、ラットを用いた経口投与による催奇形性試験では、I-CBPCの3000 mg/kg, 1000 mg/kg, 400 mg/kgをマウスの妊娠7日から12日まで、また3600 mg/kg, 1200 mg/kg, 400 mg/kgをラットの妊娠9日から14日まで、それぞれ毎日1回6日間経口投与した。マウスの400 mg/kg投与群、ラットの1200 mg/kg, 400 mg/kg投与群では、薬物の胎仔に及ぼす影響はみられなかった。大量投与群(マウス3000 mg/kg, 1000 mg/kg, ラット3600 mg/kg)では、妊娠母体への影響から、胎仔の死亡、発育不良などがみられたが、催奇形性作用は認められなかった。さらに新生仔の生後発育にも、薬物による影響は認められなかった。

以上の成績から、本薬物の経口投与による安全性は高いものと判断される。

文 献

- 1) DRABKIN, D.L.: The standardization of hemoglobin measurement. *Am. J. Med. Sci.* 217:710~711, 1950
- 2) MC GOVERN, J. J.; A. R. JONES & A. G. STEINBERG: The hematocrit of capillary blood. *New Engl. J. Med.* 253: 308~312, 1955
- 3) HOFFMAN, W.S.: A rapid photometric method for the determination of glucose in blood and urine. *J. Biol. Chem.* 120: 51~55, 1937
- 4) MARSH, W.H.; B. FINGERHUT & H. MILLER: Automated and manual direct method for the determination of blood urea. *Clin. Chem.* 11: 624~627, 1965
- 5) MARSH, W.H.; B. FINGERHUT & E. KIRSH: Adaption of an alkaline phosphatase method for automatic colorimetric analysis. *Clin. Chem.* 5: 119~126, 1959
- 6) REITMAN, S. & S. FRANKEL: A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Path.* 28: 56~63, 1957
- 7) JENDRASSIK, L. & P. GROF: Simplified photometric method for the determination of the blood bilirubin. *Biochem. Z.* 297: 81~89, 1938
- 8) WEICHELBAUM, T.E.: An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Amer. J. Clin. Path.* 10: 40~49, 1946
- 9) NESS, A.J.: Determination of human serum albumin by its specific binding of the anionic dye, 2-(4-hydroxyphenylazo) benzoic acid. *Clin. Chem. Acta* 12: 532~541, 1965
- 10) HAAGEN-SMIT, J.W. & J. RAMIREZ-MUNOZ: Multichannel integrating flame photometer. *Anal. Chim. Acta* 36: 469~477, 1966
- 11) 渡辺正, 佐々木禎一: Chloride meterによるクロール定量法の検討。臨床検査 10:1281~1286, 1966
- 12) LEVINE, J.B. & B. ZAK: Automated determination of serum total cholesterol. *Clin. Chem. Acta* 10: 381~384, 1964
- 13) BUTLER, K.; A. R. ENGLISH, B. BRIGGS, E. GRALLA, R.B. STEBBINS & D.C. HOBBS: Indanyl carbenicillin: Chemistry and laboratory studies with a new semisynthetic penicillin. *J. Infect. Dis.* 127 (Suppl.): s97~s104, 1973
- 14) 木村義尚, 加納 弘, 野口晏弘, 田中悌二, 下岡新雄: Carbenicillin indanyl sodiumの吸収, 分布, 代謝, 排泄。Chemotherapy 23(2): 591~601, 1975
- 15) 峰下鏡雄, 村岡義博, 矢原 功, 狗田忠義, 上原今朝夫, 倉本ユミノ, 岡 英子, 川口順子, 岡田照子: マウスおよびラットにおけるcephalexinの毒性試験。基礎と臨床 3: 390~416, 1969
- 16) SAVAGE, D.C. & R. DUBOS: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. *J. Exp. Med.* 128: 97~110, 1968
- 17) GORDON, H.A.: Morphological and physiological characterization of germfree life. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 78: 208~220, 1959
- 18) GORDON, A.H. & B.S. WOSTMAN: Morphological studies on the germfree albino rat. *Anat. Rec.* 135: 65~70, 1960
- 19) 宮川正澄: 無菌動物, 医歯薬出版, 東京 1963
- 20) KLAUS, L.; U. EIKE & H. REGINE: Cecal enlargement combined with sodium transport stimulation in rats fed polyethylene glycol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 96~102, 1973

TOXICITY OF CARBENICILLIN INDANYL SODIUM

YASUHIRO NOGUCHI, TAKESHI NAKAMURA, YASUO OOWAKI,
SYOZO SUGIMOTO, TAKEO SAKAI and MASAKATSU TACHIBANA

Nagoya Pharmacology Laboratory,

Pfizer Taito Co. Ltd.

HARUYUKI SHIRASAWA

Department of Pathology, School of Medicine, Nagoya City University

Toxicity study of carbenicillin indanyl sodium (I-CBPC) was performed in mice, rats, rabbits, cats and dogs.

1. The acute oral LD₅₀ in mice and rats was found to be approximately 4,500 mg/kg in both sexes. The oral lethal dose in rabbits was about 3,400 mg/kg. The drug was vomitted in cats at the dose level of 500 mg/kg and in dogs at 1,500 mg/kg, subsequently the lethal dose in these species could not be estimated. Main symptoms observed in all species examined were common following oral administration; decreased spontaneous movement, depression, muscular relaxation, ataxia and diarrhea.
2. In one month oral toxicity study, rats were orally given I-CBPC at the dose level of 4,000 2,000 1,000, 500, 125 or 0 (control) mg/kg. Six out of 10 males and 2 out of 10 females at 4,000 mg/kg dose level died within one month. No rats died in other dose levels. Growth inhibition was observed in males in two top dose levels. Decreased spontaneous movement and diarrhea were noted in rats at the dose level of 500 mg/kg or more. Food consumption, urinalysis, hematology, clinical chemistry, organ weight, autopsy and histopathology in all treated animal were comparable to those of the control rats except for the cecum enlargement.
3. Rats were treated orally with I-CBPC at dose level of 3,000, 1,500, 800, 400, 100 or 0 (control) mg/kg for 6 months. No animal died throughout the treatment period. Growth inhibition was observed in males given 800 mg/kg or more. Parameters examined such as food consumption, urinalysis, hematology, clinical chemistry, organ weight and histopathology were almost the same as those of the controls.
4. The teratogenicity in mice and rats was studied. Pregnant mice were orally treated with I-CBPC at dose level of 3,000, 1,000, 400 or 0 (control) mg/kg daily from day 7 to day 12 of gestation. Pregnant rats were orally treated at 3,600, 1,200, 400 or 0 (control) mg/kg from day 9 to day 14 of gestation. No external, skeletal or visceral malformations seemed to be caused by the drug in fetuses and newborns of mice and rats. No adverse effects were found in postnatal growth of offsprings.

Based on these results, the safety of I-CBPC is considered to be high.