

## Pipemidic acid の毒性学的研究

## 第1報 マウス、ラット、イヌおよびサルにおける急性毒性試験

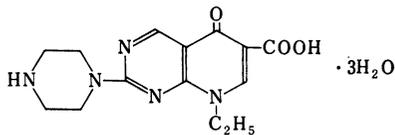
仙田博美・藤本勝造・大西久美雄・辰巳 照

大日本製薬株式会社総合研究所

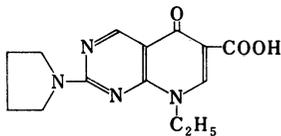
Pipemidic acid は新しい合成抗菌性物質であって、Fig. 1 に示すように Piromidic acid と類似の化学構造を有し、化学療法的にはグラム陰性桿菌に対して有効で、Piromidic acid および Nalidixic acid 耐性菌に対して完全な交叉耐性を示さず、かつ経口投与で実験的 *Pseudomonas* 感染症に対して有効なことが報告されている<sup>1)</sup>。

著者らは Pipemidic acid の毒性を検討するにあたり、数種の動物を用いて本剤の急性毒性試験を行なったので報告する。

Fig. 1 Chemical structures of pipemidic acid and piromidic acid



Pipemidic acid trihydrate  
C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> = 357.37



Piromidic acid  
C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub> = 288.31

## 実験方法

## 1. 実験動物および飼育条件

## (1) マウス

日本クレア(株)産の JCL-ICR 系マウスを4週齢で購入し、温度 24±2°C、湿度 55±5% の空調室で4匹を1ケージに収容して、飼料 CE-2 (日本クレア製) および水を自由に摂らせて飼育し、7週齢、体重が雄 29~33g、雌 23~28g に達してから、雌雄それぞれ1群を8匹として使用した。

## (2) ラット

日本クレア(株)産の JCL-SD 系ラットを4週齢で購入し、1ケージに1匹ずつ収容してマウスと同じように飼育し、6週齢、体重が雄 190~220g、雌 140~160g に

達してから、雌雄それぞれ1群を8匹として使用した。

## (3) イヌ

自家繁殖の12~36カ月齢、体重が雄 14~16kg、雌 10~15kg の Beagle 犬を用い、水で混合したオリエンタル酵母粉製イヌ用固型飼料 DS 400g/day と脱脂粉乳 20g/day ならびに水を与えて個別に飼育し、雌雄それぞれ1群を3頭として使用した。

## (4) サル

東南アジア産の推定3~5才、体重 2.6~4.5kg のカニクイザル *Macaca irus* を用い、温度 24±2°C の空調室で、オリエンタル酵母粉製サル用固型飼料 AB と水を自由に摂らせて1年以上飼育したのを用いた。1群の動物数は雌雄それぞれ2頭とした。

## (5) ラット新生仔

哺育能の正常な JCL-SD 系ラットから得られた新生仔を授乳下に、出生のおよそ20時間後から使用した。1母獣に対する新生仔数は10匹とし、同腹仔は無処置、溶媒投与と検体3用量の5群に2匹ずつ、できる限り雄1例、雌1例になるように振り分けた。1用量に対して使用した新生仔数は雌雄それぞれ6匹以上とした。

## 2. 投与方法ならびに観察項目

検体 Pipemidic acid trihydrate は水に難溶のため、経口投与時には0.5%トラガント水溶液に懸濁させ、非経口投与時にはカセイソーダ溶液に検体を溶解させた後、結晶析出の限界まで過剰のアルカリを塩酸で中和し、最終 pH 11.5~12.0 としたものを使用した。

マウスおよびラットにおいては静脈内、皮下(背部)と経口の3投与経路、イヌ、サルおよびラット新生仔においては経口投与だけを実施した。投与量はマウスでは体重 10g あたり静脈内 0.1ml (静注速度 0.3ml/min.)、皮下および経口 0.2ml、ラットでは体重 100g あたり静脈内 0.5ml (静注速度 0.5ml/min.)、皮下 1ml、経口 2ml、イヌおよびサルでは体重 1kg あたり 10ml、ラット新生仔では体重 1g あたり 0.02ml となるように濃度を調整した。なお、投与量はすべて Pipemidic acid の無水物換算量で示した。

検体投与後、一般症状を観察するとともに、死亡獣はその都度、生存獣は7日後に剖検し、肉眼的に異常のあ



Table 2 Acute toxicity of pipemidic acid in rats

Route	Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of deaths							Mortality (%)	
				0	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th		7th day
i. v.	Male	500	8	1	0	0	0	0	0	0	0	12.5
		550	8	3	0	0	0	0	0	0	0	37.5
		605	8	5	0	0	0	0	0	0	0	62.5
		666	8	7	0	0	0	0	0	0	0	87.5
	Female	480	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		528	8	2	0	0	0	0	0	0	0	25
		576	8	4	0	0	0	0	0	0	0	50
		691	8	7	0	0	0	0	0	0	0	87.5
		829	8	8	0	0	0	0	0	0	0	100
	s. c.	Male	1,000	8	0	0	0	0	0	0	0	0
1,440			8	2	0	0	0	0	0	0	0	25
1,728			8	5	0	0	0	0	0	0	0	62.5
2,074			8	7	0	0	0	0	0	0	0	87.5
2,488			8	8	0	0	0	0	0	0	0	100
Female		1,000	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1,440	8	1	0	0	0	0	0	0	0	12.5
		1,728	8	3	0	0	0	0	0	0	0	37.5
		2,074	8	6	0	0	0	0	0	0	0	75
		2,488	8	8	0	0	0	0	0	0	0	100
p. o.	Male	5,000	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Female	5,000	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 3 Acute toxicity of pipemidic acid in dogs and monkeys

Animal	Route	Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of deaths							Mortality (%)	
					0	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th		7th day
Dogs	p. o.	Male	2,000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Female	2,000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Monkeys	p. o.	Male	2,000	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Female	2,000	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

皮下投与（雄 1,000~2,488 mg/kg, 雌 1,000~2,488 mg/kg）では、投薬時に悲鳴、投薬忌避などの著しい疼痛反応を示し、次いで10~30分間の歩行失調、眼瞼下垂をきたし、前軀部を下げ背を丸めた姿勢の歩行を間歇的にくり返すとともに浅い呼吸となった。また、軽度の散瞳が少数例に認められた。致死作用は投与後2~24時間にみられた。生存例では鎮静症状、体温下降、貧血様症状などが投与1日後に最も強く現われたが、3~4日後には消失した。

経口投与（雌雄ともに 5,000 mg/kg）では、異常は認められなかった。

(3) イヌ

2,000 mg/kg を経口投与したが、雌雄ともに全く異常は認められなかった。

(4) サル

2,000 mg/kg を経口投与したが、行動などに異常は認められなかった。

(5) ラット新生仔

経口投与（雌雄ともに 500~4,000 mg/kg）後、致死例では経日的に動きが緩慢となり、体重下降、体温低下をきたして投与当日から6日目に死亡した。生存例では一過性の体重下降を認めただけで、その他の異常は明らか

Table 4 Acute toxicity of pipemidic acid in neonatal rats

Route	Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of deaths									Mortality (%)
				0	1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	7th day	total	
p. o.	Male	0*	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		500	10	0	0	0	0	0	0	1	0	1	10
		1,000	12	3	0	2	0	0	0	0	0	5	41.7
		2,000	12	5	1	1	0	0	0	0	0	7	58.3
		2,500	7	4	0	0	1	0	0	0	0	5	71.4
		3,000	6	3	0	0	0	0	0	0	0	3	50
		4,000	7	5	0	0	1	0	0	0	0	6	85.7
	Female	0*	18	1	0	0	0	0	0	0	0	1	5.6
		500	12	0	0	1	0	0	0	0	0	1	8.3
		1,000	10	0	1	1	0	0	0	0	0	2	20
		2,000	10	9	0	0	1	0	0	0	0	10	100
		2,500	7	1	0	0	0	0	1	0	0	2	28.6
		3,000	8	4	0	0	0	1	0	0	0	5	62.5
		4,000	7	6	1	0	0	0	0	0	0	7	100

\* : none treated

Table 5 The LD<sub>50</sub> values of pipemidic acid in mice, rats, dogs, monkeys and neonatal rats

Animal	Sex	i. v. (mg/kg)	s. c. (mg/kg)	p. o. (mg/kg)
Mice	Male	610 (570 ~ 634)	1,274 (1,213~1,338)	>5,000
	Female	649 (621 ~ 676)	1,516 (1,357~1,695)	>5,000
Rats	Male	575 (529 ~ 622)	1,635 (1,438~1,802)	>5,000
	Female	584 (548 ~ 631)	1,799 (1,607~1,987)	>5,000
Dogs	Male	—	—	>2,000
	Female	—	—	>2,000
Monkeys	Male	—	—	>2,000
	Female	—	—	>2,000
Neonatal rats	Male	—	—	1,597 (1,006~2,537)
	Female	—	—	2,156 (1,382~3,362)

LITCHFIELD-WILCOXON's method.

Numbers in parenthesis represent 95% confidence limits.

かでなかった。

## 3. 剖検所見

## (1) マウス

静脈内投与では死亡例に肺のうっ血・水腫が認められたが、その他の臓器に異常はなかった。7日目までの生存例では腎の混濁あるいはう胞の形成例が、雌の 550 mg/kg 群では 8 例中 1 例（以下 $\frac{1}{8}$ のように略す）、605 mg/kg 群では  $\frac{1}{8}$  に認められた。組織学的には尿管の拡張、尿管上皮の空胞変性、菲薄な再生上皮の出現、間質の浮腫などの変化であった。

皮下投与では死亡例に注射局所の出血、浮腫、胃粘膜の点状出血が認められた。生存例では局所皮下の出血、

浮腫、皮膚の赤黒色化、脱毛が多数例に認められ、また、静脈内投与時と同様の腎における変化が、雄の 1,200 mg/kg 群で  $\frac{1}{4}$ 、雌の 1,200 mg/kg 群で  $\frac{1}{8}$ 、1,728 mg/kg 群で  $\frac{1}{4}$  にみられた。

経口投与では異常はみられなかった。

## (2) ラット

静脈内投与では死亡例に肺のうっ血・水腫が認められたが、その他の臓器に異常はなかった。生存例ではマウスと同様に腎の変化が、雄の 500 mg/kg 群で  $\frac{1}{4}$ 、550 mg/kg 群で  $\frac{1}{8}$ 、605 mg/kg 群で  $\frac{3}{8}$ 、666 mg/kg 群で  $\frac{1}{4}$  に認められた。

皮下投与では死亡例にマウスと同様に注射局所の障害

がみられ、また、生存例では腎の変化が、雄の 1,000 mg/kg 群で  $\frac{1}{2}$ 、1,440 mg/kg 群で  $\frac{1}{2}$  に認められた。

経口投与では異常は認められなかった。

### (3) ラット新生仔

致死例は速やかな自己融解または母獣に喰われるため、観察できない例もあったが、肉眼的にほとんど異常を認めず、また、生存例にも異常はなかった。

### 総括ならびに考察

Pipemidic acid に関する毒性試験の一環として、その急性毒性をマウス、ラット、イヌ、サルおよびラット新生仔を用いて検討した。

経口投与では、本剤の毒性は弱く、マウス、ラットともに投与可能な最大量 5,000 mg/kg を与えても異常は認められなかった。イヌおよびサルにおいても 2,000 mg/kg で異常はなかった。また、ラット新生仔での経口 LD<sub>50</sub> は雄 1,597 mg/kg、雌 2,156 mg/kg であった。

マウスおよびラットでの静脈内投与の LD<sub>50</sub> は 575~649 mg/kg、皮下投与のそれは 1,274~1,799 mg/kg で性差、種族差はほとんど認められなかった。静脈内投与の致死例には静注直後の強直性痙攣、呼吸抑制がみられ、肺のうっ血・水腫をきたして死亡した。皮下投与の場

合、呼吸抑制と持続的な鎮静状態がみられた。病理組織学的変化として、非経口投与群の生存例の一部に腎尿管の障害が認められた。本変化は経口投与時には全く認められず、したがって非経口的な投与で一時的に大量の薬物が排泄された結果によると思われる。

以上から、本剤の経口投与時の急性毒性は低く、また、非経口投与時の急性毒性も低く、かつ性差、種族差はほとんどないと考えられた。

稿を終わるにあたり、本実験に協力された椋本健次、西村耕一、竹本勇一の諸氏に深謝します。

(本研究期間は昭和47年8月から10月および50年3月から4月である。)

### 文 献

- 1) 清水当尚, 高瀬善行, 中村信一, 片江宏巳, 南明, 中田勝久, 井上 了, 石山正光, 久保雄副: Pipemidic acid の抗菌作用. *Chemotherapy* 23(9): 2659~2667, 1975
- 2) LITCHFIELD, J. T. & F. WILCOXON: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharm. Exp. Ther.* 96: 99~113, 1949

## TOXICOLOGICAL STUDIES ON PIPEMIDIC ACID

### I. ACUTE TOXICITY STUDIES IN MICE, RATS, DOGS AND MONKEYS

HIROMI SENDA, SHOZO FUJIMOTO,  
KUMIO OHNISHI and HIROSHI TATSUMI

Research and Development Division, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

The acute toxicity of pipemidic acid (PPA) was examined in mice, rats, dogs, monkeys and neonatal rats with following results.

animal	route	sex	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	animal	route	sex	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	animal	route	sex	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
mouse	i. v.	male	610	rat	i. v.	male	575	dog	p. o.	male	>2,000
		female	649			female	584			female	>2,000
	s. c.	male	1,274		s. c.	male	1,635	monkey	p. o.	male	>2,000
		female	1,516			female	1,799			female	>2,000
	p. o.	male	>5,000		p. o.	male	>5,000	neonatal	p. o.	male	1,597
		female	>5,000			female	>5,000			rat	female

Intravenous administration of PPA near the mean lethal doses caused tonic convulsion, mydriasis, ataxia, muscle relaxation, a decrease in spontaneous locomotion and interrupted respiration.

Subcutaneous administration of PPA near the mean lethal doses also induced sedation, ataxia, ptosis, a decrease in spontaneous locomotion, a drop in body temperature, paralysis of respiration, *etc.* On the other hand, oral administration of PPA did not cause any toxic signs even at high doses in all the animals examined except for a slight decrease in the body weight gain of neonatal rats.

It seems that there is no significant difference between animal species or sexes in the acute toxicity of PPA.