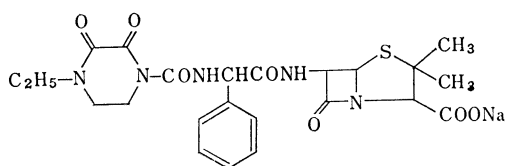


T-1220 の 毒 性 試 験 (第 1 報)

——マウス, ラット, イヌ, サルにおける急性毒性試験——

高井 明・米田豊昭・中田弘子
 正谷博之・室田恒夫・柴田哲夫
 中村昌三・河村泰仁・佐藤 盛
 富山化学工業株式会社総合研究所

T-1220 は, グラム陽性菌のみならずグラム陰性菌, 特に緑膿菌に対して抗菌性を有する新しい半合成ペニシリン系抗生物質で¹⁾²⁾, 下記の構造式を有するアミノペン



T-1220: Sodium 6-[D(-)-α-(4-ethyl-2,3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)-α-phenylacetamido] penicillanate

ジルペニシリン (ABPC) の誘導体である。この化合物の毒性を検討するにあたり, マウス, ラット, イヌ, サルを用いて急性毒性試験を行なったのでその結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1. マウスおよびラットでの実験

マウスは静岡実験動物農協産の ddY 系マウスを4週齢で購入し, 室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 5\%$ で固型飼料 (オリエンタル製 MF) と水道水を自由に与えて1週間の予備飼育を行ない, 体重が20~25gの範囲にある動物を実験に使用した。ラットは日本クレア (株) 産 Wistar 系 SPF ラットを4週齢で購入し, マウスと同一条件で飼育した。実験は6または8週齢 (体重: 6週齢雄 180~200g, 雌110~130g, 8週齢雄220~290g, 雌160~195g), 12または16週齢 (体重: 12週齢雄 300~350g, 雌200~240g, 16週齢雄400~450g) および自家繁殖によって得られた Wistar 系ラット1週齢雌雄 (体重13~25g) の動物について行ない, 成長過程の3段階での LD_{50} 値を比較した。

T-1220 は水溶液とし, マウス, ラットとも経口, 皮下, 腹腔内, 静脈内投与で実験を行なった。検体投与後, 一般症状と死亡経過を観察し, 死亡例については直後に, 生存例については7日間の観察期間をおいた後, 剖検して肉眼的観察を行なった。 LD_{50} 値は7日間の死亡数から LITCHFIELD-WILCOXON 法により算出した。

2. イヌでの実験

日本クレア (株) 由来のビーグル犬を7カ月齢で購入し, 室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $60 \pm 5\%$ で, イヌ用固型飼料 (日本クレア製 CD-5) 1日300g と水道水を自由に与えて1~2カ月間予備飼育し, 健康状態を確認したのち, 以下の実験に使用した。なお, 大槽内投与急性毒性試験には雑犬を用いた。

1) 静脈内投与急性毒性試験

予備実験として, 雌雄各1頭のビーグル犬に T-1220 を 500 mg/kg から投与量を段階的に上げて静脈内投与を行なったところ, 静注での可及的大量と思われる 6g/

Table 1 LD_{50} of T-1220 in mouse, rat, dog and monkey

Animal	Route	Age	LD_{50} (g/kg)	
			Male	Female
Mouse	p. o.	5 w	>10	>10
	s. c.	5 w	>10	>10
	i. p.	5 w	10.00 (9.03~11.80)	9.77 (8.97~10.65)
	i. v.	5 w	5.01 (4.16~6.17)	4.90 (4.22~5.68)
Rat	p. o.	8 w	>10	>10
	s. c.	1 w	8.80 (8.21~9.43)	8.70 (8.08~9.37)
		6 w	>10	>10
		12 w	>10	>10
	i. p.	1 w	8.10 (7.63~8.60)	7.45 (7.09~7.83)
		6 w	8.05 (7.70~8.41)	7.60 (7.20~8.01)
		12 w	>10	9.02 (8.66~9.40)
	i. v.	8 w	2.71 (2.36~3.12)	2.79 (2.21~3.50)
Dog	i. v.	8 m	>6	>6
		16 w	2.26 (2.10~2.43)	
Monkey	i. v.	*	>4	>4

(): 95% confidence limits

Calculated by LITCHFIELD-WILCOXON's method

*: 2.6~3.6 kg

Animal				Male								Female												
				Time in days							Death rate	Time in days							Death rate					
	0	1	2	3	4	5	6	7	0	1		2	3	4	5	6	7							
Mouse	p. o.	5 w	10.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	
	s. c.	5 w	10.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	
	i. p.	5 w	13.64	10									10/10											
			12.40	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10	7	3								10/10
			11.27	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6/10	6	2	0	0	0	0	0	0	0	8/10
			10.25	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5/10	2	5	0	0	0	0	0	0	0	7/10
			9.32	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10	3	1	0	0	0	0	0	0	0	4/10
			8.47	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2/10
			7.70	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1/10
			7.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
	i. v.	5 w	8.45	10									10/10	10										10/10
			6.50	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7/10	9	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10
			5.00	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/10	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4/10
			3.85	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2/10
			2.96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
	Rat	p. o.	8 w	8.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7
			10.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/7	
s. c.		1 w	11.11	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10	10									10/10
			10.28	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9/10	8	0	0	0	0	0	0	0	0	8/10
			9.52	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7/10	5	1	0	0	0	0	0	0	0	6/9
			8.82	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5/10	4	1	0	0	0	0	0	0	0	5/9
			8.16	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2/8
			7.56	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1/9
			7.00	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1/11
			6.48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
			6.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
			6 w	10.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0	0	0	0	0				

Table 2-2 Death rate in acute toxicity tests of T-1220

Animal	Route		Age	Dose (g/kg)	Male								Death rate	Female								Death rate			
					Time in days									Time in days											
					0	1	2	3	4	5	6	7		0	1	2	3	4	5	6	7				
Rat	i. p.	6 w	13. 30											5									5/5		
			12. 10											5									5/5		
			11. 40	5											5/5										
			11. 00												10									10/10	
			10. 70	5											5/5										
			10. 00	9	0	0	0	0	0	0	0	0			9/10	10									10/10
			9. 30	9	0	0	0	0	0	0	0	0			9/10										
			9. 00												8	1	0	0	0	0	0	0	0		9/10
			8. 70	7	1	0	0	0	0	0	0	0			8/10										
			8. 30												8	2	0	0	0	0	0	0	0		10/15
			8. 10	6	2	0	0	0	0	0	0	0			8/15										
			7. 60	4	1	0	0	0	0	0	0	0			5/15										
			7. 50												4	0	0	0	0	0	0	0	0		4/10
			7. 10	1	0	0	0	0	0	0	0	0			1/10										
			6. 80												1	0	0	0	0	0	0	0	0		1/5
			6. 70	1	0	0	0	0	0	0	0	0			1/10										
			6. 20	0	0	0	0	0	0	0	0	0			0/5	0	0	0	0	0	0	0	0		0/5
			5. 60												0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/5
		i. v.	8 w	11. 11	3	0	0	0	0	0	0	0	0		3/7	7									7/7
				10. 29	3	0	0	0	0	0	0	0	0		3/7	6	1								7/7
				9. 52											5	1	0	0	0	0	0	0	0		6/7
				9. 00											3	0	0	0	0	0	0	0	0		3/7
				8. 82											1	1	0	0	0	0	0	0	0		2/6
				8. 16	1	0	0	0	0	0	0	0	0		1/7	0	0	0	0	0	0	0	0		0/7
				7. 56	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/7	0	0	0	0	0	0	0	0		0/7
	16 w		2. 66	7										7/7											
			2. 42	5	0	0	0	0	0	0	0	0		5/7											
			2. 20	3	0	0	0	0	0	0	0	0		3/7											
			2. 00	1	0	0	0	0	0	0	0	0		1/7											
1. 81			0	0	0	0	0	0	0	0	0		0/7												

kg まで耐えることがわかった。この結果から、本実験では、3頭の雄性ビーグル犬（体重 10.5～12.0 kg）に、T-1220 6 g/kg（40%溶液）を約 20 ml/min の注射速度で前腕正中皮静脈に投与して、得られた症状、機能検査値の経時変化、剖検所見および組織学的変化から急性毒性を検討した。

2) 大量1回静脈内投与の肝機能検査値に及ぼす影響
ペニシリン系抗生物質であるカルペニシリン（CBPC）には、臨床的に、血清トランスアミナーゼ上昇をきたす場合があることが報告されている³⁾。この現象が、T-1220 でもみられるかどうかを CBPC、ABPC との比較において検討した。T-1220 の 2 g/kg, 4 g/kg（40%溶液）をおのおの3頭の雄性ビーグル犬に静注し、投与後24時間の GOT, GPT, LDH, ALP の変動を CBPC, ABPC の 2 g/kg 投与と比較した。注射速度は約 20 ml/min とした。

3) 大槽内投与急性毒性試験

7頭の雑犬（体重 6.5～14.5 kg 雄）を使用して実験を行なった。ペントバルビタール麻酔下で T-1220 1～30 mg/kg を大槽穿刺により髄液内投与し、症状と死亡経過を観察した。検体は10%水溶液とし、脳圧を一定にするために投与液量（0.1～4.4 ml/dog）と同量の髄液を採取した直後検体を注入した。対照薬として CBPC を2頭の犬に同様に投与した。

3. サルでの実験

東南アジア産のカニクイザル *Macaca irus*（体重 2.6～3.6 kg）4頭（雄2，雌2）を使用して実験を行なった。動物は室温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ，湿度 $60 \pm 5\%$ で個別ケージに飼育し、サル用固型飼料（オリエンタル，AB）1日100 g とバナナ，リンゴ1日200 g および水道水を自由に与えて、3カ月間の予備飼育を行なった。予備実験として、T-1220 のサル静注での可及的大量と思われる 4 g/kg を、雌1頭に約 20 ml/min の注射速度で静注したが、投与後見るべき症状もなく、以後1週間の観察期間中異常がなかった。この結果から、本実験では3頭（雄2，雌1）のサルに、T-1220 4 g/kg（40%溶液）を1回静注した場合の、症状、機能検査値の9日間にわたる経時変化および剖検での病理学的検索から T-1220 の急性毒性を検討した。

II. 実験結果

1. マウスおよびラットでの実験

1) LD₅₀ 値と死亡経過

Table 1 に LD₅₀ 値を、Table 2-1, 2-2 に死亡経過をまとめて示す。マウス，ラットとも経口投与での LD₅₀ 値は10 g/kg 以上であった。腹腔内または静脈内投与では、

ラット LD₅₀ 値がマウスよりやや小さい傾向があり、特にラット静注では、マウスやイヌ，サルでの結果と比較すると比較的小さい値を示した。ラットの各成長段階での LD₅₀ 値は幼若動物でやや小さい傾向があるにしても、全体的にはほとんど差がないと思われた。

2) 一般症状と剖検所見

i) マウス

経口投与：可及的大量である 10 g/kg を投与しても、一過性の、軽度の自発運動抑制のみみられただけで、死亡例はなかった。剖検では、肉眼的異常のみみられなかった。

皮下投与：可及的大量である 10 g/kg（50%溶液）を投与しても、一過性の、軽度の自発運動の抑制と立毛のみみられただけで、死亡例はなかった。剖検では皮下の投与部位に出血、潰瘍が10例中3例に認められたが、高濃度の検体を投与したために現われた変化と思われた。

腹腔内投与：9.32 g/kg 以上の投与群の死亡例では、自発運動の抑制、異常歩行、立毛のみみられ、その後四肢を伸して刺激にほとんど反応しなくなり、3～4時間後にそのまま死亡した。異常歩行、立毛は 8.47 g/kg でもみられ、自発運動の抑制は、程度の差こそあれ全投与量群でみられた。生存例の24時間後では、これらの症状は消失していた。死亡例の剖検所見では、腹腔内に多量の血性滲出液の貯留が認められたが、生存例ではこの変化のみみられなかった。

静脈内投与：3.85 g/kg 以上の投与群の死亡例は、投与中あるいは投与直後に死亡する例が多かった。直後に死亡しない例では、異常歩行、自発運動抑制のあと、外部刺激に対する反応のみみられなくなり、一部はそのまま死亡し、残りは約4時間で回復した。死亡例では肺の出血のみみられたが、生存例の剖検所見には異常のみみられなかった。

ii) ラット

経口投与：可及的大量である 10 g/kg を投与しても、軽度の自発運動の抑制が一過性に認められただけで、死亡例はなかった。剖検では変化のみみられなかった。

皮下投与：1週齢のラットでは、背部皮下の投与部位に、広範囲にわたって高度の浮腫、出血、潰瘍のみみられ、死亡例は投与4～24時間後に全身衰弱で死亡した。生存例の局所の炎症はしだいに回復し、1週間後にはほぼ正常に復していた。6週齢と12週齢のラットに、可及的大量である 10 g/kg（50%溶液）を皮下投与した場合、投与後、自発運動の抑制と立毛のみみられたが、約3時間で回復し死亡例はなかった。剖検では投与部位の皮下に出血、限局性壊死、浮腫が10例中6例に認められた。他

Table 3 General symptoms in beagle dogs given an intravenous single injection of T-1220 at 6 g/kg

Time course	Dog 1. (12.0 kg)	Time course	Dog 2. (10.8 kg)	Time course	Dog 3. (10.5 kg)
During of dosage	Tachypnea. Vomiting. Watery stool. The stool contained small bright red blood. Watery eyes. Salivation. Borgorygmus. Blepharoptosis.	During of dosage	Tachypnea. Vomiting. Watery eyes. Salivation. Borgorygmus. Blepharoptosis.	During of dosage	Vomiting. Watery eyes. Salivation. Borgorygmus. Blepharoptosis. Conjunctival congestion. Incontinence of feces. The stool contained small bright red blood.
10 min.	Swing with standing position. Irregular respiration. Bubbly salivation. Mild blepharoptosis.	5 min.	Blepharoptosis. Loose stool. Salivation. Sitting position.	15 min.	Blepharoptosis.
30 min.	Occasional inversion and tonic convulsion.	15 min.	Blepharoptosis. Salivation.	60 min.	Standing position. Swing with standing position.
40 min.	Occasional inversion and tonic convulsion. Incontinence of urine. Incontinence of feces.	30 min.	Slight recovery of blepharoptosis. Lateroposition.	90 min.	Watery stool.
50 min.	Convulsion. (Mouth is open.) Cheyne-Stokes respiration.	45 min.	Muscular weakness. Lateroposition with difficulty.	120 min.	Slight conjunctival congestion.
65 min.	Convulsion. Mild prolaps ani. Relaxation of sphincter ani.	60 min.	Muscular weakness. Prone position.	180 min.	Slight conjunctival congestion.
90 min.	Disappearance of convulsion. Muscular weakness.	120 min.	Standing position.	240 min.	Normal.
120 min.	Muscular weakness. Conjunctival congestion.	240 min.	Conjunctival congestion.	24 hrs.	Normal.
180 min.	Muscular weakness. Conjunctival congestion. Salivation. Watery stool. Relaxation of sphincter ani. Lateroposition. Edema at injection site of fore arm.	300 min.	Normal.	72 hrs.	Normal.
24 hrs.	Normal.	24 hrs.	Normal.	144 hrs.	Normal.
72 hrs.	Normal.	72 hrs.	Normal.		
144 hrs.	Normal.	144 hrs.	Normal.		

Table 4 Hematological findings in beagle dogs given an intravenous single injection of T-1220 at 6 g/kg

Dog No.	Item	Time after injection (hr)			
		0	24	72	144
1	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	856	738	767	746
	WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	96	185	103	125
	Hematocrit (%)	57	52	52	49
	Hemoglobin (g/dl)	16.0	17.2	17.0	15.5
	Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	124	124	122	108
	Reticulocyte (%)	7	1	6	1
	Differential count (%)				
	Neutro.	49.5	82.5	61.5	68.0
	Eosino.	0.5	1.0	1.5	1.0
	Baso.	0	0	0	0
	Lymph.	48.0	14.0	35.5	30.0
	Mono.	2.0	2.5	1.5	1.0
2	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	710	743	743	684
	WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	78	103	99	103
	Hematocrit (%)	43	47	45	44
	Hemoglobin (g/dl)	14.7	14.8	15.5	14.0
	Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	158	152	136	132
	Reticulocyte (%)	3	9	6	3
	Differential count (%)				
	Neutro.	54.5	73.5	68.5	71.0
	Eosino.	2.0	0.5	1.5	1.5
	Baso.	0	0	0	0
	Lymph.	42.0	22.5	29.5	26.5
	Mono.	1.5	3.5	0.5	1.0
3	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	703	726	726	677
	WBC ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	86	125	99	89
	Hematocrit (%)	49	43	47	44
	Hemoglobin (g/dl)	17.9	16.0	13.7	15.0
	Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	104	130	128	194
	Reticulocyte (%)	2	2	5	4
	Differential count (%)				
	Neutro.	63.5	68.5	55.5	59.5
	Eosino.	1.0	0	2.0	0.5
	Baso.	0	0.5	0	0
	Lymph.	33.0	29.5	41.0	38.5
	Mono.	2.5	1.5	1.5	1.5

には肉眼的異常がなかった。

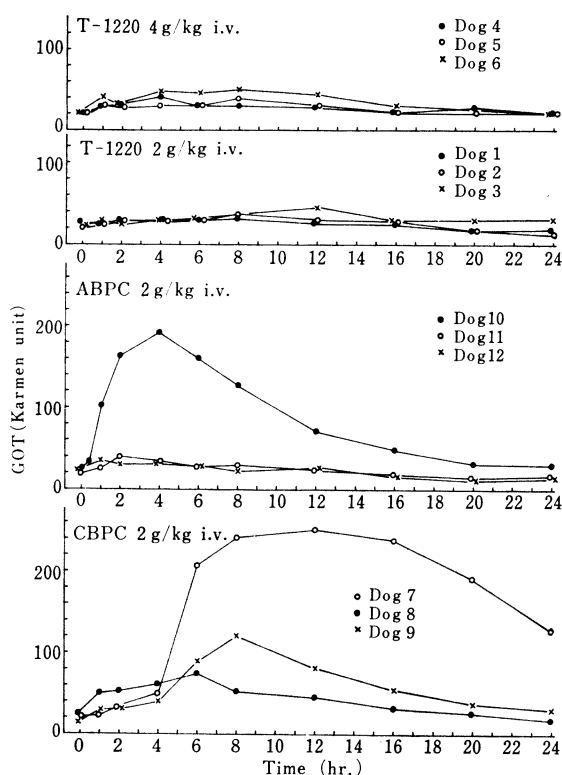
腹腔内投与：1週齢ラットの症状観察は、母獣に保育されているため困難であった。死亡例は投与1～3時間後から現われ始め、剖検では、腹腔内、胸腔内の血性滲出液の貯留が高度に認められた。7日後の生存例の剖検

では、この変化は認められなかった。6週齢、12週齢ラットでは、投与直後から激しい writhing が現われ、時に後肢の強直があって歩行が不調和になった。約2時間後、刺激に対する反応がなくなり、呼吸は遅く深くなって、四肢を伸したままほとんど動かなくなった。生存例

Table 5 Biochemical examinations in beagle dogs given an intravenous single injection of T-1220 at 6 g/kg

Dog No.	Item	Time after injection (hr)			
		0	24	72	144
1	GOT (Karmen unit)	11	139	28	22
	GPT (Karmen unit)	11	57	31	23
	ALP (K-A unit)	7.0	5.7	4.5	3.5
	LAP (G-R unit)	80	100	85	104
	LDH (Wacker unit)	54.2	67.4	36.5	81.3
	BUN (mg/dl)	10	15	10	13
	Bilirubin (mg/dl)	0.14	0.14	0.15	0
	Total protein (g/dl)	6.5	6.1	6.1	5.8
	Na (mEq/l)	141	123	134	141
	K (mEq/l)	4.3	3.9	4.1	4.4
	Ca (mg/dl)	11.6		11.1	11.2
	Ch-E (Δ pH)	0.346	0.503	0.252	0.524
	Glucose (mg/dl)	62	67	74	72
2	GOT (Karmen unit)	11	42	16	23
	GPT (Karmen unit)	8	30	17	18
	ALP (K-A unit)	6.0	4.0	3.8	3.0
	LAP (G-R unit)	88	130	116	125
	LDH (Wacker unit)	146.1	57.3	38.8	89.5
	BUN (mg/dl)	10	20	15	17
	Bilirubin (mg/dl)	0.14	0.14	0.10	0.10
	Total protein (g/dl)	6.3	6.2	6.0	5.6
	Na (mEq/l)	139	136	136	141
	K (mEq/l)	4.7	4.3	4.2	4.3
	Ca (mg/dl)	11.2	10.6	10.3	11.0
	Ch-E (Δ pH)	0.588	0.589	0.570	0.646
	Glucose (mg/dl)	73	74	85	79
3	GOT (Karmen unit)	19	60	23	26
	GPT (Karmen unit)	13	28	19	18
	ALP (K-A unit)	14.0	6.5	6.8	5.8
	LAP (G-R unit)	92	105	116	125
	LDH (Wacker unit)	192.0	49.6	42.6	52.9
	BUN (mg/dl)	10	10	10	10
	Bilirubin (mg/dl)	0.18	0	0.05	0.19
	Total protein (g/dl)	6.6	6.4	6.9	6.2
	Na (mEq/l)	141	132	136	139
	K (mEq/l)	4.3	4.0	3.6	3.9
	Ca (mg/dl)	10.9	10.7	11.0	11.4
	Ch-E (Δ pH)	0.235	0.231	0.592	0.401
	Glucose (mg/dl)	90	79	80	84

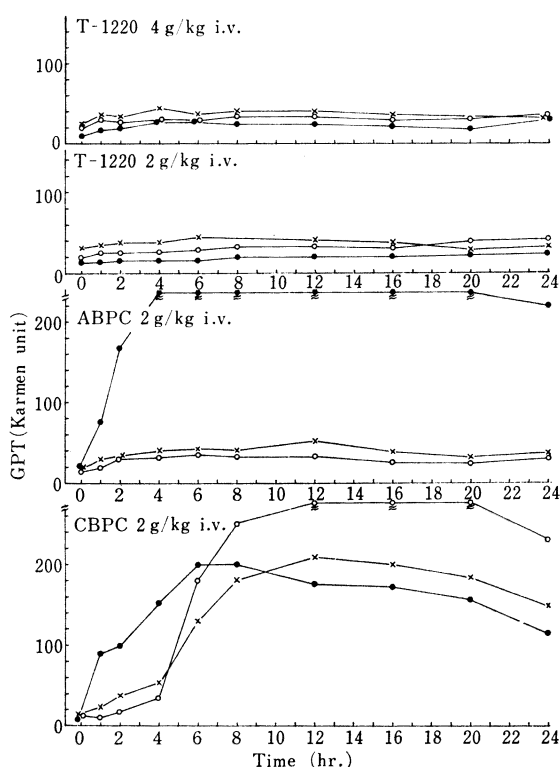
Fig. 1 Effect of intravenous single injection of T-1220 on GOT level in beagle dogs



はこの状態が約20時間続き、以後回復に向ったが、死亡例は投与4時間後頃から四肢に強直が間歇的に現われ死亡した。死亡例の剖検所見では腹膜、横隔膜に高度の充血がみられ、腹腔内、胸腔内に多量の血性滲出液が貯留していた。肺にはうっ血があり、脳硬膜下に軽度の出血がみられた。生存例の7日後の剖検では、一部の動物に腹膜の軽度の充血があった以外異常がなかった。

静脈内投与：8週齢ラットへの2 g/kg投与では、一過性の自発運動の減少がみられただけで死亡例はなかった。2.66 g/kg以上の投与群では、投与直後、四肢のバランスがとれず四肢をばたつかせる行動が一過性にみられた。その後、自発運動はほとんどみられなくなり、四肢を伸したまま刺激に全く反応しない状態が約30分続くが、生存例はその後急速に回復し、約2時間でこれらの症状は消失した。死亡例は間代性痙攣を起こし、その後強直性痙攣に移行して15～30分で死亡した。死亡例の剖検では高度の肺出血が特徴的であり、他に脳の軽度の硬膜下出血が大部分の例に認められた。生存例の剖検では肺および脳硬膜下に変化がなかった。

Fig. 2 Effect of intravenous single injection of T-1220 on GPT level in beagle dogs



2. イヌでの実験

1) 静脈内投与急性毒性試験

一般症状と体重の変化：T-1220 6 g/kgを3頭の雄性ビーグル犬に静脈内投与した場合にみられた症状をTable 3に示す。主な症状は嘔吐、下痢、流涎、流涙、腹鳴、眼瞼下垂であった。3例とも投与中または投与直後に腹鳴があったことから、T-1220投与によって、一過性に腸運動の亢進が起こることが推定された。またこれに伴って激しい下痢が起こり、一部の動物では、血便も観察された。しかしこれらの症状は投与後4時間でほとんど消失し、以後6日間の観察期間中異常が認められなかった。投与部位の前腕正中皮静脈周囲には検体の漏れによって生じたと思われる炎症があったが、6日後には完全に消失した。体重は6日間の観察期間中、投与前の体重が維持されていた。

血液学的検査：投与前、投与1, 3, 6日後に行なった検査の結果をTable 4に示す。1例(No. 3)に赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットのわずかな減少傾向がみられたが、生理的範囲内の変化であった。白血球数では、投与1日後に軽度増加がみられたが、白血球分画

Fig. 3 Effect of intravenous single injection of T-1220 on LDH level in beagle dogs

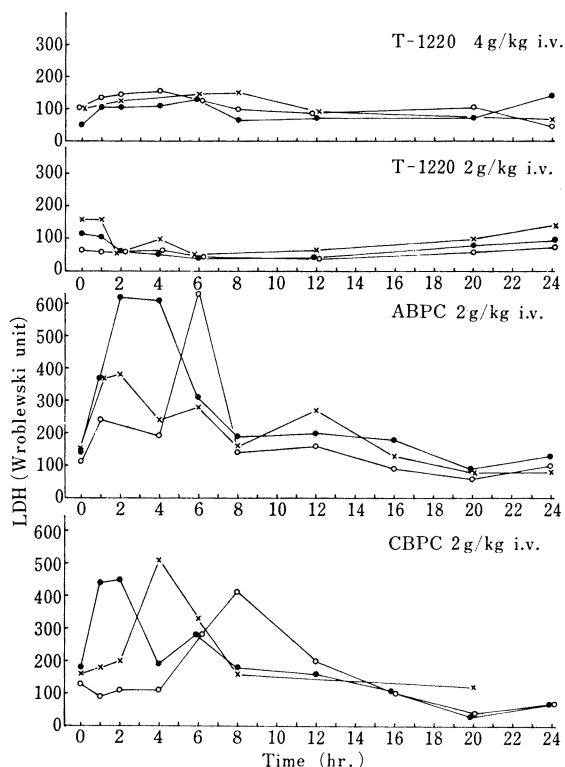
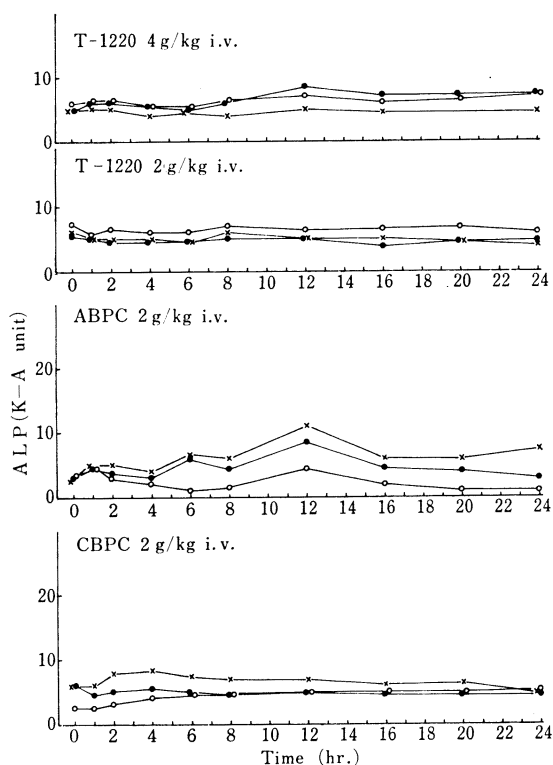
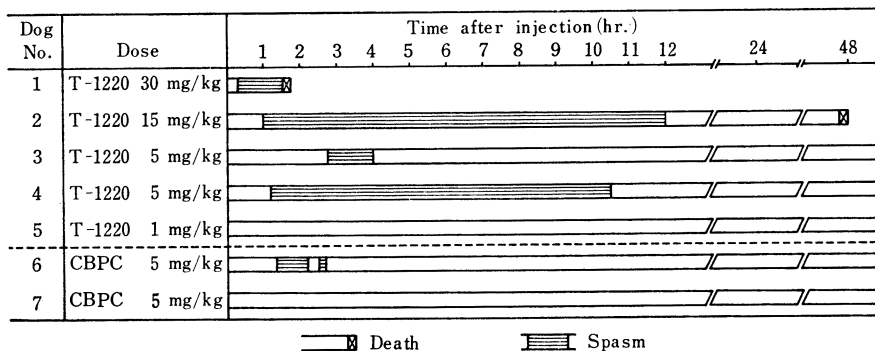


Fig. 4 Effect of intravenous single injection of T-1220 on ALP level in beagle dogs

Fig. 5 Mortality and general symptom in beagle dogs given a single injection of T-1220 into the *cisterna magna*

では好中球増加として現われており、投与部位の炎症に由来する変化と思われた。

血液化学検査：Table 5 に示すように、投与1日後の検査で GOT, GPT の軽度の上昇が認められたが、3 日後にはほぼ正常値に回復していた。ALP, LDH, LAP, BUN, ビルビン、総蛋白、Ch-E, Na, K, Ca, 血糖には異常がみられなかった。

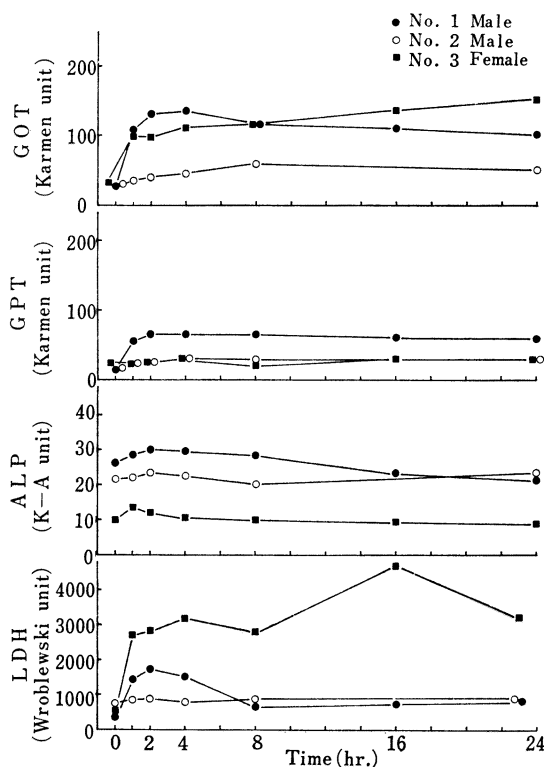
剖検所見と組織学的検査：剖検所見としては、脾臓辺縁部に暗赤色に膨隆した限局したうっ血が3 例全例にみられた以外、他の諸臓器に肉眼的異常がみられなかった。組織学的にも脾臓の限局したうっ血がみられた以外、検体投与に起因すると思われる変化が認められなかった。

以上のように、T-1220 のビーグル犬に対する静脈内投与での最少致死量は 6 g/kg 以上であり、1 回投与で

Table 6 Hematological and biochemical examinations in monkeys given an intravenous single injection of T-1220 at 4 g/kg

	No. 1 (Male) Time in days					No. 2 (Male) Time in days					No. 3 (Female) Time in days				
	0	1	2	6	9	0	1	2	6	9	0	1	2	6	9
Body weight (kg)	3.9	—	4.0	3.9	3.9	3.5	—	3.5	3.5	3.5	2.8	—	2.6	2.7	2.7
Body temperature (°C)	39.2	38.1	38.6	38.4	38.8	38.6	38.6	38.6	38.8	38.8	38.8	37.2	38.3	39.1	39.2
R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	681	632	561	577	546	694	606	685	585	602	646	663	556	543	543
Hemoglobin (g/dl)	13.3	11.5	10.1	10.2	10.5	12.8	11.0	12.2	10.6	11.0	12.0	12.5	9.7	9.4	9.7
Hematocrit (%)	35	41	34	40	47	45	—	49	38	—	41	47	38	34	41
W B C ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	108	133	141	137	117	99	157	118	113	102	113	140	140	138	122
Neutro. (%)	29.0	51.5	54.5	35.5	50.0	29.0	47.5	27.5	40.0	28.5	34.5	20.5	27.0	48.5	33.0
Eosino. (%)	0.5	0	2.0	1.5	2.0	0.5	0	1.5	1.5	1.5	1.5	0	0.5	2.5	1.0
Baso. (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymph. (%)	68.5	47.5	42.0	60.0	45.0	70.5	47.0	69.0	55.5	68.0	63.0	78.0	69.0	44.0	64.5
Mono. (%)	2.0	1.0	1.5	3.0	3.0	0	5.5	2.0	3.0	2.0	1.0	1.5	3.5	5.0	1.5
GOT (Karmen unit)	27	102	102	47	41	30	51	34	36	33	33	151	139	49	33
GPT (Karmen unit)	14	58	60	32	34	17	30	27	22	24	24	31	48	39	26
ALP (K-A unit)	26.0	21.5	22.0	24.5	30.5	21.5	23.5	26.0	26.2	26.2	10.0	9.0	9.5	13.4	12.0
LDH (Wroblewski unit)	340	838	1100	1119	849	748	923	1059	1399	1119	512	3228	2354	1002	732
Ch-E (JpH)	1.05	1.06	1.01	1.20	1.26	1.13	1.10	1.11	1.17	1.23	1.13	1.04	0.73	1.12	1.14
Glucose (mg/dl)	150	76	126	150	130	90	55	91	90	68	130	90	123	96	105

Fig. 6 Effect of intravenous single injection of T-1220 at 4 g/kg on GOT, GPT, ALP and LDH levels in monkeys



得られた変化は投与1日後の GOT, GPT の上昇と脾の局限した軽度のうっ血のみで、他には特に著しい変化がなかった。

2) 大量1回静脈内投与の肝機能検査値に及ぼす影響
T-1220 2 g/kg, 4 g/kg 投与群とも GOT (Fig. 1), GPT (Fig. 2), LDH (Fig. 3), ALP (Fig. 4) に変動がみられなかった。これに対して、ABPC 2 g/kg 投与群では、3例中1例に GOT, GPT の、2例に LDH の上昇がみられ、また CBPC 2 g/kg 投与群では3例全例に GOT, GPT, LDH の上昇が認められた。いずれも GPT の上昇が最も著明であり、ALP には著しい変化がみられなかった。

3) 大槽内投与急性毒性試験

T-1220 大槽内投与実験における、投与量と症状を Fig. 5 に示す。30 mg/kg 投与の1例は、投与20分後から頭部を強く間歇的に振る痙攣が現われ、瞳孔散大、四肢の強直、呼吸数増加、体温下降を示して1時間45分後に死亡した。15 mg/kg 投与では、頭部の痙攣が長時間持続した後回復したが、その後、食欲を示さず、36時間後から刺激に無反応となり、48時間後に死亡した。剖検

では、各臓器に肉眼的異常を認めなかった。5 mg/kg 投与では、頭を間歇的に振る軽度の痙攣があった。No. 3 は投与2時間45分後からこれが現われ、約1時間で回復した。また、No. 4 は投与1時間20分後から痙攣が現われ、3時間後ではほとんど消失したが、顔面の筋肉の痙攣のみ投与10時間30分後まで持続した。24時間後には異常症状が消退し、7日間の観察期間中異常がみられなかった。1 mg/kg を投与したイヌでは、全く異常を認めなかった。CBPC 5 mg/kg 投与では、No. 7 には全く異常を認めなかったが、No. 6 は、投与1時間20分後から強度の頭部の痙攣を起こし、1時間40分後には激しい全身の痙攣となった。2時間10分後頃には、いったんおさまったが、約20分後再び同様の痙攣が現われ、約5分間持続した。

このように、T-1220 では頭部に局限した弱い痙攣が長時間持続するのに対して、CBPC では全身的な激しい痙攣が認められた。

本実験から、T-1220 のイヌ大槽内投与における LD₅₀ 値は約 10 mg/kg であり、異常症状を起こさない最大量は 1 mg/kg であるという結果を得た。

3. サルでの実験

T-1220 4 g/kg 投与後、3例中雄1例 (No. 1), 雌1例 (No. 3) に一過性の鎮静、眼瞼下垂、内容物を伴わない嘔吐がみられたが、すぐに回復し、以後9日間異常な症状が認められなかった。また、観察期間中、体重と体温には、Table 6 に示すように、変化がみられなかった。投与後24時間中の GOT, GPT, ALP, LDH の経時変化を Fig. 6 に、投与1日後から9日後までの体重、体温の変化および血液学的、血液化学検査の結果を Table 6 に示す。Fig. 6 に示すように、No. 1 (雄) に GOT, GPT, LDH の、No. 3 (雌) に GOT と LDH の上昇が認められ、GOT, GPT は2日後も高値を示すが、6日～9日後には、ほぼ正常に復していた。しかし、No. 3 の LDH の高値は投与9日後でも完全には回復していなかった。ALP, Ch-E, 血糖値および血液学的諸検査では、異常が認められなかった。10日後の剖検では、肉眼的に異常が認められず、組織学的にも肝、腎、心、その他諸臓器に異常所見が得られなかった。

Ⅲ. 総括と考察

T-1220 の急性毒性をマウス、ラット、イヌおよびサルを使用して検討した。T-1220 の急性毒性による死因となり得る変化は、マウス、ラットの腹腔内投与における腹腔内、あるいは胸腔内への多量の血性渗出液の渗出であり、また静脈内投与の場合は高度の肺出血であった。これらの肺出血は、本検体を高濃度で投与した場合、皮

下投与の局所の炎症や、腹腔内投与の writhing にみられるような、T-1220 の局所刺激作用のため、血管透過性が異常に亢進して起こる現象だと思われた。種差をみると、静脈内投与では、ラットに若干強い毒性がみられた。すなわち、ラット静注 LD₅₀ 値が約 2.7 g/kg であるのに対して、マウスは約 5 g/kg、ビーグル犬は 6 g/kg 以上、サルは 4 g/kg 以上であった。性差では、マウス、ラット、イヌ、サルともに明瞭な差がみられなかった。生後 1 週齢の幼若ラットに対する急性毒性では、皮下投与にのみ成熟動物より強い反応が認められたが、投与部位の皮膚の分化の未熟さによる影響と思われた。

T-1220 のビーグル犬 6 g/kg 静脈内投与では、嘔吐、下痢、流涎、流涙などの症状が一過性に認められ、投与 1 日後に GOT、GPT の軽度上昇があったが死亡例はなく、剖検所見、組織学的所見には、T-1220 投与によると思われる著しい異常がなかった。この GOT、GPT の上昇に関しては、T-1220 の投与量を 4 g/kg、2 g/kg に下げて静注し、投与後 24 時間にわたって測定したところ、この用量では GOT、GPT の上昇が認められなかった。

サルは、T-1220 4 g/kg の静注に耐えたが、3 例中 2 例に軽度の GOT、GPT 上昇と中等度の LDH 上昇がみられた。上昇した LDH は、投与 9 日後でも完全に回復していなかった。しかし、組織学的には、どの臓器にも異常を認めなかった。また、T-1220 のイヌ大槽内投与での急性毒性をペントバルビタール麻酔下で検討した結果、LD₅₀ 値は約 10 mg/kg であり、痙攣などの症状を示さない最大量は 1 mg/kg であった。

以上の結果から、T-1220 は、マウス、ラット、イヌ、サルに対して、経口的または非経口的に投与しても急性毒性の低い化合物であることがわかった。

結 論

1) T-1220 の静脈内投与での LD₅₀ 値は、ラット約 2.7 g/kg、マウス約 5 g/kg、イヌ 6 g/kg 以上、サル 4 g/

kg 以上であり、ラットの LD₅₀ 値が比較的小さかった。マウスおよびラット腹腔内投与での LD₅₀ 値は 7~10 g/kg であった。皮下および経口投与では 10 g/kg でも死亡例は認められなかった。

2) マウス、ラットの静脈内投与と腹腔内投与でみられた死因は、静注では肺出血であり、腹腔内投与では腹腔内、あるいは胸腔内への高度の血性滲出液の貯留であった。

3) イヌ 6 g/kg 静脈内投与では、嘔吐、下痢、流涎、流涙、腹鳴がみられたが死亡例はなく、GOT、GPT 上昇が一過性に認められた以外、異常が認められなかった。

4) T-1220 2 g/kg、4 g/kg イヌ 1 回投与では、GOT、GPT の上昇がみられなかった。

5) 麻酔下での大槽内投与 LD₅₀ 値は、約 10 mg/kg であった。

6) サル 4 g/kg 静脈内投与では、死亡例がなく、GOT、GPT、LDH の上昇をみた以外、異常が認められなかった。

謝 辞

本実験の遂行にあたり、組織学的診断を頂き、また御校閲を賜った金沢大学医学部第 2 病理学教室、太田五六教授に深甚なる感謝の意を表します。また、実験に協力を頂いた当研究所、稲場淳子、伊山照美、鷲塚康子、古川裕美、折川真佐子、本田清美の各氏に感謝致します。

文 献

- 1) 才川 勇, 保田 隆, 滝 秀雄, 渡辺泰雄, 加須屋 興子, 安川久美子, 金川心子: T-1220 の細菌学的評価。Chemotherapy 25(5): 789~796, 1977
- 2) 植尾健次, 田井 賢, 林 敏雄, 福岡義和, 三橋 進: T-1220 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用について。Chemotherapy 25(5): 700~709, 1977
- 3) 小幡浩司, 夏目 紘, 安藤 正, 村瀬達良, 本多 靖明: Carbenicillin 投与時の血清 Transaminase の変動。Chemotherapy 22(3): 243~246, 1974

TOXICITY TESTS OF T-1220 (I):
ACUTE TOXICITY IN MICE, RATS, DOGS AND MONKEYS

AKIRA TAKAI, TOYOAKI YONEDA, HIROKO NAKADA,
HIROYUKI MASATANI, TSUNEO MUROTA, TETSUO SHIBATA,
SHOZO NAKAMURA, YASUHIRO KAWAMURA and SHIGERU SATO
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

It has been demonstrated that T-1220, a derivative of aminobenzylpenicillin, had a broad antibacterial spectrum against gram positive and negative microorganisms and was especially effective against *Pseudomonas aeruginosa*.

The acute toxicity test of T-1220, therefore, was carried out in mice, rats, dogs and monkeys in this experiment. The results are as follows.

1) The acute intravenous LD₅₀ was 5 g/kg in mice, 2.7 g/kg in rats, more than 6 g/kg in beagle dogs and more than 4 g/kg in monkeys. These values indicated that intravenous LD₅₀ varied depending upon the species, and T-1220 was more toxic to rats than the others.

2) When the possible maximum dose, 10 g/kg, was administered orally and subcutaneously to mice and rats, they only showed the transient depression of spontaneous movement. Mice and rats died following the administration revealed a large amount of bloody exudate in the abdominal and thoracic cavities in intraperitoneal administration and massive hemorrhage of the lung in intravenous administration. Such changes were thought to be the causes of death.

3) In beagle dogs treated intravenously with T-1220 at 6 g/kg, the toxic signs of vomiting, diarrhea, salivation, watery eye, blepharoptosis and borgorygmus were observed during and immediately after the administration. GOT and GPT increased moderately on a day after the administration. Any abnormalities, however, were not seen in autopsy and histological examination. In beagle dogs treated intravenously with T-1220 at 2 and 4 g/kg respectively, values of GOT, GPT, LDH and ALP did not change, while in 1 out of 3 and all 3 dogs treated intravenously with ABPC and CBPC at 2 g/kg respectively, levels of GOT, GPT and LDH increased.

The LD₅₀ value of T-1220 in dogs administered into the *cisterna magna* was about 10 mg/kg, and the maximum nontoxic dose was 1 mg/kg.

4) In monkeys treated intravenously with T-1220 at 4 g/kg, any abnormalities were not observed, except for the slight and moderate increases of GOT, GPT and LDH values.