

T-1982 の毒性試験 (第3報)

— ビーグル犬 3 カ月間静脈内投与と亜急性毒性試験 —

米田豊昭・河村泰仁・柴田哲夫・佐藤 盛

永井章夫・中川重仁・高井 明

富山化学工業株式会社総合研究所

T-1982 のビーグル犬 3 カ月間静脈内投与での亜急性毒性試験と回復試験を、100, 200, 400 mg/kg/day の投与量群を設定して行ない、次の結果を得た。

1) 症状、発育、尿検査、心電図、眼底検査、臓器重量、剖検所見および組織学的検査結果には薬剤投与に起因すると思われる異常を認めなかった。

2) 血液検査で、400 mg/kg 投与群 8 例中 4 例に、投与 2 カ月後検査での赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少と網赤血球数の増加が軽度から中等度に認められた。しかし、3 カ月後検査ではこの変化が著しく軽減されており、また、回復試験の血液検査値には異常がなかった。

3) 血清総コレステロール値が、投与 1~2 カ月後の検査で、ほぼ投与量に比例した増加を示していたが、3 カ月後の検査では正常値に復していた。この変化は雌に比較的明瞭に現われていた。

4) 血清蛋白のセルロースアセテート膜電気泳動では、陽極側に易動度の速いアルブミンの出現が投与量に比例して認められたが、可逆的な変化であった。

5) 本試験における最大無作用量は 200mg/kg と判断された。

新規セファマイシン系抗生物質である T-1982 の毒性試験としては、すでにラット、マウス、イヌでの急性毒性試験¹⁾、ラット 3 カ月間皮下投与と亜急性毒性試験²⁾の結果が報告されている。今回さらに T-1982 のビーグル犬 3 カ月間静脈内投与と亜急性毒性試験とその回復試験を行なったので結果を報告する。

I. 実験材料および方法

1) 被験検体

T-1982 は下記の化学構造と化学名を有する白色の粉末であり、水、メタノールに溶けやすく、エタノールに溶けにくく、アセトンにはきわめて溶けにくく、酢酸エチル、エチルエーテル、ヘキサン、ベンゼンにはほとんど

溶けない。本試験には富山化学工業(株)製造のロット W 0121, W 0125, W 0726 を使用した。

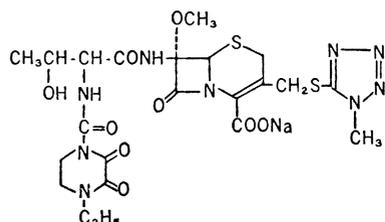
2) 使用動物

CSK 実験動物研究所産のビーグル犬 35 頭 (雄 18, 雌 17) を使用して実験を行なった。動物は室温 22±2℃, 湿度 60±10% の環境下で、イヌ用固型飼料 (CD-5, 日本クレア) 300 g/日制限給餌、水道水自由摂取で金属製個別ケージに飼育し、購入後 3 カ月間の予備飼育によって 10~11 カ月齢に達したものを使用した。投与開始時の体重は、雄 9.5~11.6 kg, 雌 8.2~10.5 kg であった。

3) 投与量と投与方法

投与は臨床適用経路に準じて静脈内投与で行なった。投与量は、本試験に先立って行なったビーグル犬 2 カ月間静脈内投与と試験³⁾の結果を参考にして 400, 200, 100 mg/kg/day とし、他に生理食塩水投与と対照群を設定した。動物は Table 1 に示すように配分した。T-1982 は生理食塩水に用時溶解し、0.3 μ のマイクロフィルターで濾過したものを 1 日 1 回、週 7 回、3 カ月間にわたって前肢浅静脈に約 20ml/min. の速度で注射した。対照群には生理食塩水を同様に投与した。投与溶液の浸透圧は生理食塩水の 2~4 倍であり、pH は 5.03~4.81 の範囲であった。3 カ月間の投与終了後、回復試験用に配分した動物は、1 カ月間の休薬期間を置いた後に検査と剖検を行なった。

Fig. 1 Chemical structure of T-1982



Sodium 7β-[(2R, 3S)-2-(4-ethyl-2, 3-dioxo-1-piperazinecarboxamido)-3-hydroxybutanamido]-7α-methoxy-3-[(1-methyl-1H-tetrazol-5-yl)thiomethyl]-3-cephem-4-carboxylate

Table 1 Experimental design for the 3 months intravenous toxicity study of T-1982 in beagle dogs

Exp. group	Concentration (%)	Volume (ml/kg)	Number of dogs (Dog numbers)			
			3 months study		Recovery study	
			Male	Female	Male	Female
Control	0	2	4 (1~4)	3 (6~8)	1 (5)	1 (9)
T-1982 100 mg/kg	5	2	4 (10~13)	4 (14~17)		
T-1982 200 mg/kg	10	2	4 (18~21)	4 (22~25)		
T-1982 400 mg/kg	20	2	4 (26~29)	4 (31~34)	1 (30)	1 (35)

4) 検査

毎日症状を観察し、体重の測定と摂餌量の測定を1週間ごとに行なった。また試験期間中に次の検査を行なった。

(1) 尿検査 (投与前, 1カ月毎, 回復)

尿量 (17時間蓄尿), pH, 蛋白, 糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲン濃度 (マルチステック®, マイルス三共), 比重 (比重計), 尿沈渣。

(2) 血液学的検査 (投与前, 1カ月毎, 回復)

赤血球数, 白血球数 (コールターカウンター), ヘマトクリット値 (毛細管遠心法), ヘモグロビン濃度 (シアンメトヘモグロビン法), 網赤血球 (超生体染色), 血小板数 (REES & ECKER 法), 白血球百分率 (メイ-ギムザ染色), 赤血球抵抗 (PARPART 法), プロトロンビン時間 (QUICK 1 段法, 投与前, 3カ月後, 回復のみ検査)。

(3) 血液化学検査 (投与前, 1カ月毎, 回復)

GOT, GPT (REITMAN-FRANKEL 法), ALP (KIND-KING 法), LDH (BABSON 変法), コリンエステラーゼ (高橋, 柴田法), 総コレステロール (ZURKOWSKI 法), 尿素窒素 (Urease Indophenol 法), 総ビリルビン (EVELYN-MALLOY 法), 総蛋白 (屈折計), 血糖 (オルトトルイジンホウ酸法), Na, K (炎光光度計), 蛋白分画とA/G (セルロースアセテート膜電気泳動)。

(4) 直接クームス試験 (1カ月毎, 回復)

IgG fraction of anti dog IgG (Miles-Yeda Ltd.)。

(5) BSP 試験と PSP 試験 (投与前, 3カ月後, 回復)

BSP は 10mg/kg, PSP は 3 mg/kg をおのおの静注し, 10分後と30分後に採血して半減期を算出した。

(6) 心電図検査 (3カ月後, 回復)

無麻酔で標準四肢誘導, AB 誘導, 胸部単極誘導を測定した。

(7) 眼底検査 (投与前, 1カ月毎, 回復)

散瞳剤 (ミドリンP, 参天製薬) を点眼し直像鏡による眼球, 眼底の観察と眼底カメラ (コーワ RC-2) による眼底撮影を実施した。

(8) 血中濃度測定 (初回投与, 1.5カ月後, 最終投与) 100 mg/kg 投与群の4頭 (No. 10♂, No. 11♂, No. 14♀, No. 15♀) と 400mg/kg 投与群の4頭 (No. 26♂, No. 27♂, No. 31♀, No. 32♀) については, T-1982 注射後 15, 30, 60, 120, 240, 360分後に採血して血中濃度を測定した。

(9) 剖検

3カ月間の投与終了時と回復期間終了時にイヌをペントバルビタールで麻酔し, シェッツ氏眼圧計で眼圧を測定した後, 腋下切断で放血屠殺し剖検を行なった。肉眼的観察の後, 脳, 顎下腺, 甲状腺, 胸腺, 心, 肺, 肝, 腎, 脾, 膵, 副腎, 精巣, 卵巣を摘出し, 重量を測定した。これら諸臓器にさらに胃, 小腸, 大腸, 腸間膜リンパ節, 下垂体, 子宮, 膀胱, 前立腺, 大腿骨骨髓, 大腿部骨格筋, 投与部位を加えたものを10%ホルマリン固定し, パラフィン包埋, H・E 染色を施して組織学的検査を行なった。

II. 実験結果

1) 症状

400 mg/kg 投与の1例で, 初回投与の投与直後後のみ軽い嘔吐がみられたが, 他の動物には試験期間を通じて薬剤投与による異常な症状は認められなかった。

2) 体重変化

体重の推移を Fig. 2 に示す。各群の雌雄とも, おおむね順調な発育を示しており, 薬剤投与による影響はみられなかった。しかし, 対照群の1例 (No. 8♀) が投与5~7週にかけて, 400 mg/kg 投与の1例 (No. 29♂) が投与6~10週にかけて, わずかな一過性の体重減少を示していた。

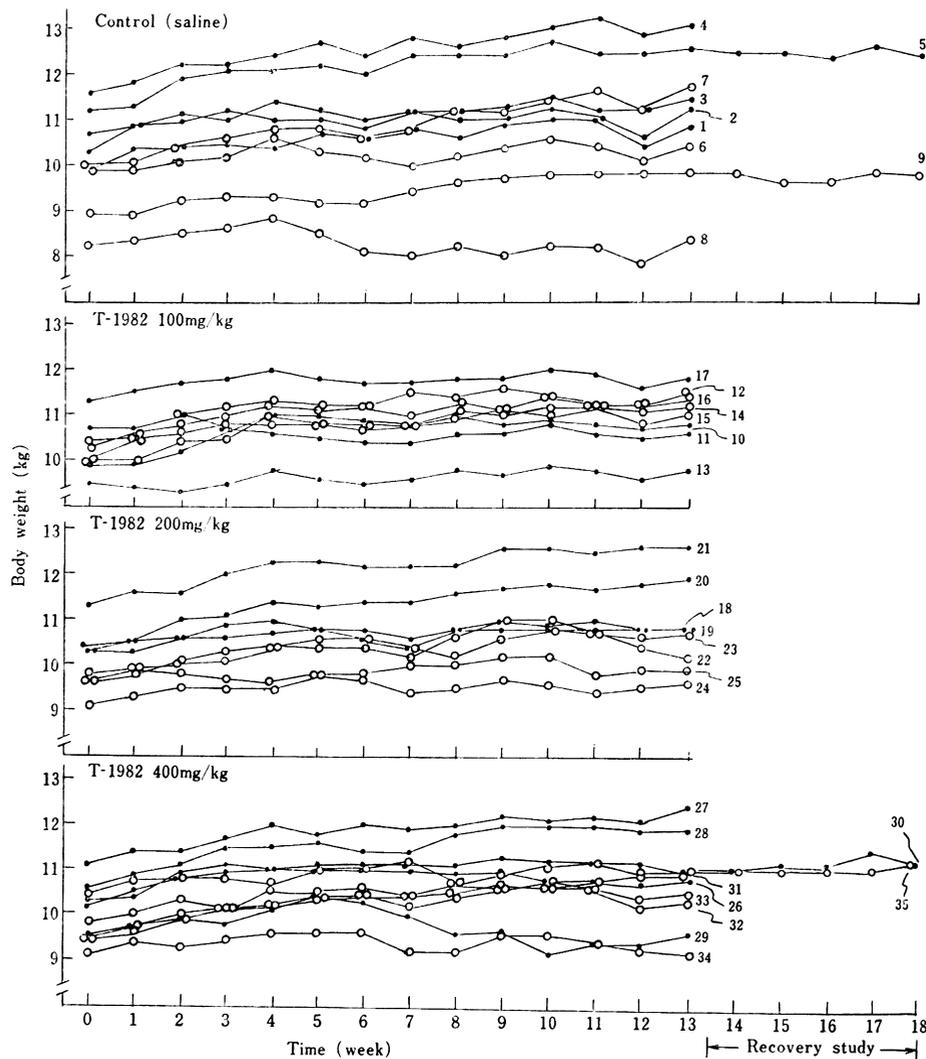
3) 摂餌量

体重の推移とはほぼ平行して, 対照群の No. 8♀ と 400 mg/kg 投与の No. 29♂ の摂餌量が若干低下していた。他の動物は全例良好な食欲を示していた。

4) 尿検査

結果を Table 2~Table 4 に示す。尿量は全体にかな

Fig. 2 Body weight changes in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months



りばらっていたが、薬剤投与によると思われる変動はみられなかった。また、他の検査項目にも薬剤投与に起因すると思われる異常を認めなかった。

5) 血液学的検査

結果を Table 5~Table 8 に示す。投与2ヵ月後の検査で、400 mg/kg 投与の2例(No. 29♂, No. 35♀)に軽度~中等度の赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビンの減少と網赤血球数の増加がみられた。また、同群のNo. 27♂とNo. 33♀にも軽いヘマトクリットとヘモグロビンの減少があり、うちNo. 33♀は網赤血球数も若干増加していた。しかし、投与3ヵ月後の検査結果をみると、400 mg/kg 投与No. 27♂のヘマトクリットとヘモグロビンは軽い減少を示しているものの、前述の2

例(No. 29♂, No. 35♀)の検査値はほぼ正常値にまで改善されていた。ただ、No. 29♂の網赤血球数は3ヵ月後も若干高値を示していた。白血球数、白血球百分率、血小板数などの検査値には試験期間を通じて異常が認められなかった。また、回復試験の血液検査値にも異常は認められなかった。

6) 血液化学検査

結果を Table 9~Table 12 に示す。GPTの軽度上昇が200 mg/kg 投与の雌3例(No. 22, No. 23, No. 24)の1~2ヵ月後の検査で認められたが用量依存性に乏しく、また、3ヵ月後の検査では正常値に復していた。

LDHの軽度~中等度上昇が、2ヵ月後の検査で200 mg/kg 投与1例(No. 21♂), 400 mg/kg 投与3例(No.

Table 4 Specific gravity and sediment in urine of beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Specific gravity					Sediment				
			Month examined					Month examined				
			0	1	2	3	Recovery	0	1	2	3	Recovery
Control (saline)	♂	1	1.040	1.050	1.065	1.065		—	—	—	—	
		2	1.045	1.050	1.030	1.030		—	—	—	—	
		3	1.045	1.050	1.055	1.065		—	—	—	—	
		4	1.045	1.050	1.045	1.055		—	—	—	—	
		5	1.045	1.035	1.050	1.055	1.055	—	—	—	—	—
		Mean	1.044	1.047	1.049	1.054						
	♀	6	1.040	1.045	1.050	1.055		—	—	—	—	
		7	1.030	1.050	1.035	1.040		—	—	e	—	
		8	1.030	1.040	1.060	1.047		—	—	—	—	
		9	1.050	1.050	1.040	1.055	1.060	—	—	—	—	—
		Mean	1.038	1.046	1.046	1.049						
T-1982 100 mg/kg	♂	10	1.055	1.050	1.045	1.050		—	—	—	—	
		11	1.035	1.055	1.065	1.055		—	—	—	—	
		12	1.040	1.060	1.050	1.060		—	—	—	—	
		13	1.055	1.055	1.060	1.060		—	—	—	—	
			Mean	1.046	1.055	1.055	1.056					
	♀	14	1.025	1.025	1.025	1.032		—	—	—	—	
		15	1.050	1.045	1.055	1.050		—	e	—	—	
		16	1.045	1.035	1.040	1.046		—	—	—	—	
		17	1.030	1.045	1.060	1.054		—	—	—	—	
			Mean	1.038	1.038	1.045	1.046					
T-1982 200 mg/kg	♂	18	1.045	1.050	1.065	1.060		—	—	—	—	
		19	1.040	1.035	1.025	1.030		—	—	—	—	
		20	1.055	1.045	1.040	1.055		—	—	—	—	
		21	1.045	1.050	1.035	1.050		—	—	—	—	
			Mean	1.046	1.045	1.041	1.049					
	♀	22	1.050	1.045	1.055	1.050		—	—	—	—	
		23	1.030	1.035	1.035	1.045		—	—	—	—	
		24	1.045	1.035	1.020	1.034		—	—	—	—	
		25	1.040	1.040	1.060	1.025		—	—	—	—	
			Mean	1.041	1.039	1.043	1.039					
T-1982 400 mg/kg	♂	26	1.035	1.040	1.060	1.035		—	—	—	—	
		27	1.050	1.035	1.060	1.060		—	—	—	—	
		28	1.040	1.035	1.055	1.045		—	—	—	—	
		29	1.035	1.025	1.020	1.045		—	—	—	—	
		30	1.020	1.025	1.040	1.047	1.050	—	—	—	—	—
		Mean	1.036	1.032	1.047	1.046						
	♀	31	1.055	1.055	1.050	1.052		—	—	—	—	
		32	1.035	1.045	1.035	1.045		—	—	—	—	
		33	1.030	1.050	1.030	1.025		—	—	—	—	
		34	1.045	1.050	1.040	1.043		—	—	—	—	
35		1.025	1.035	1.025	1.040	1.050	—	—	—	—	—	
	Mean	1.038	1.047	1.036	1.041							

— : no remarkable changes
e : erythrocytes

Table 5 Red blood cells, white blood cells, hemoglobin and hematocrit in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Sex	Dog No.	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)						WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)						Hematocrit (%)						Hemoglobin (g/dl)							
		Month examined			Reco-very			Month examined			Reco-very			Month examined			Reco-very			Month examined			Reco-very				
		0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	
Control (saline)	1	578	631	628	558		104	110	104	107		45	47	47	47		15.0	15.9	16.0	15.5		13.9	14.0	13.7	14.6		
	2	566	612	568	565		85	99	74	86		40	40	41	45		15.0	15.6	16.3	16.2		15.0	16.8	16.6	16.6		
	3	638	661	651	610		74	84	74	78		48	48	49	51		16.1	16.6	16.6	16.6		13.1	14.6	15.6	15.5	16.3	
	4	695	742	705	671		89	132	125	118	116		44	43	45	46	49										
	5	555	620	615	591	576																					
	Mean	606	653	633	599		90	109	97	100		46	46	46	48		13.7	15.3	15.3	15.7		14.6	15.4	15.6	15.7		
	6	591	669	635	618		85	100	90	85		43	45	46	46	51		13.7	15.3	15.3	17.0		13.9	13.9	14.8	14.4	
	7	547	595	628	544		81	105	119	84		45	44	46	45		13.9	13.9	14.8	14.4		17.5	17.7	16.5	16.5	17.1	
	8	727	773	666	638		103	137	121	130		54	52	48	50		14.6	15.2	15.6	16.0		14.9	16.4	15.8	17.1	17.5	
	9	680	731	692	671	623		91	104	94	92	114	48	48	47	51	48										
Mean	636	692	655	618		90	112	106	98		48	48	48	47	50		15.0	15.8	15.6	16.3		15.8	16.5	17.0	16.6		
T-1982 100 mg/kg	10	633	698	684	674		84	110	87	86		50	49	50	55		16.6	16.5	17.0	16.6		16.6	17.6	16.4	17.0		
	11	732	702	684	699		95	112	117	93		53	52	48	52		14.6	15.2	15.6	16.0		14.6	15.6	16.0	17.5		
	12	596	687	652	617		90	107	110	96		46	46	46	50		15.9	16.3	16.7	16.8		16.6	16.3	16.7	16.8		
	13	654	705	731	667		108	148	109	147		52	47	51	53		16.5	16.0	17.6	17.5		15.9	16.0	16.3	16.4		
	Mean	654	698	688	664		94	119	106	106		50	49	49	53		16.6	16.5	17.4	17.5		16.6	15.8	17.4	17.5		
	14	689	732	727	708		70	100	89	89		54	54	54	55		15.5	15.7	15.1	17.6		15.5	16.1	17.9	14.5		
	15	602	699	633	730		68	100	97	66		48	52	45	54		14.0	13.2	14.8	15.9		14.0	13.2	14.8	15.9		
	16	671	773	781	665		63	68	64	98		46	43	44	49		15.7	15.2	16.3	16.4		17.6	16.5	17.0	16.0		
	17	623	634	625	628		72	92	90	83		46	45	45	51		13.2	13.4	14.7	16.1		13.2	13.4	14.7	16.1		
	Mean	646	710	692	683		68	90	85	84		50	49	49	51		17.6	16.5	17.0	16.0		17.6	16.5	17.0	16.0		
T-1982 200 mg/kg	18	723	751	738	620		78	114	99	94		54	54	52	50		13.2	13.4	14.7	16.1		13.2	13.4	14.7	16.1		
	19	574	604	626	636		118	99	99	99		42	43	50	49		13.1	13.5	13.8	14.6		14.3	13.1	14.8	16.5		
	20	512	588	591	587		72	81	89	41	46		40	39	41	46		14.6	15.6	16.1	17.9		14.0	13.2	14.8	15.9	
	21	550	596	625	584		80	100	73	65		47	42	45	51		14.3	13.1	14.8	16.5		14.6	14.1	15.1	15.8		
	Mean	590	635	645	607		87	99	90	83		46	45	47	49		14.6	14.1	15.1	15.9		14.6	14.1	15.1	15.9		
	22	646	655	618	644		83	85	68	79		50	46	45	51		15.8	14.2	14.7	15.9		15.8	14.2	14.7	15.9		
	23	736	770	683	688		80	94	104	102		54	52	49	53		17.6	16.0	16.0	17.0		17.6	16.0	16.0	17.0		
	24	807	855	852	825		65	72	89	77		57	55	57	56		18.1	17.6	17.9	18.0		18.1	17.6	17.9	18.0		
	25	781	775	681	825		79	65	80	76		50	53	47	47		17.0	17.0	16.5	17.7		17.0	17.0	16.5	17.7		
	Mean	743	764	709	746		77	79	85	84		53	52	50	52		17.1	16.2	16.3	17.2		17.1	16.2	16.3	17.2		
T-1982 400 mg/kg	26	554	644	632	566		79	111	100	96		46	44	46	49		14.4	14.1	16.0	16.5		14.4	14.1	16.0	16.5		
	27	556	669	577	627		91	117	83	81		47	45	36	39		16.9	13.8	13.4	12.8		16.9	13.8	13.4	12.8		
	28	580	650	640	634		90	115	114	92		44	45	43	46		14.1	13.9	15.9	15.6		14.1	13.9	15.9	15.6		
	29	636	694	380	583		105	112	102	107		51	48	23	49		15.6	15.4	8.8	14.6		15.6	15.4	8.8	14.6		
	30	648	648	666	642	663		58	98	75	64	98	46	43	43	47	50										
	Mean	593	661	579	590		85	111	95	88		47	45	38	46		15.0	14.1	14.0	15.0		15.0	14.1	14.0	15.0		
	31	640	673	607	578		100	110	91	92		47	47	41	44		15.3	14.6	14.8	14.9		15.3	14.6	14.8	14.9		
	32	652	669	630	646		91	112	128	136		49	49	47	45		14.9	15.2	16.1	17.0		14.9	15.2	16.1	17.0		
	33	599	720	603	602		101	119	110	103		46	46	47	41	44		17.2	14.4	14.2	12.6		17.2	14.4	14.2	12.6	
	34	654	674	632	595		96	135	110	116		52	46	46	42		16.2	14.6	16.2	15.9		16.2	14.6	16.2	15.9		
35	657	607	434	554	576		74	80	71	94	82	54	45	34	48	49											
Mean	640	669	581	601		92	111	102	108		50	46	41	45		15.7	14.6	14.2	15.5		15.7	14.6	14.2	15.5			

Table 6 Reticulocytes and platelets in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Reticulocyte (%)					Platelet ($\times 10^3/\text{mm}^3$)				
			Month examined					Month examined				
			0	1	2	3	Recovery	0	1	2	3	Recovery
Control (Saline)	♂	1	0	0	2	2		112	144	140	142	140
		2	0	4	2	0		104	108	132	106	
		3	2	0	0	2		122	130	114	152	
		4	0	2	2	0		128	148	122	104	
		5	0	2	0	2	4	108	132	144	120	
		Mean	0	2	1	1		115	132	130	125	
	♀	6	2	0	0	4		124	150	116	152	126
		7	4	6	2	0		122	122	130	126	
		8	0	0	0	2		126	160	112	150	
		9	2	0	0	0	2	150	102	120	154	
		Mean	2	2	1	2		131	134	120	146	
T-1982 100 mg/kg	♂	10	4	0	2	4		136	120	118	148	
		11	2	2	2	0		108	142	138	142	
		12	2	2	2	2		130	136	116	152	
		13	0	0	4	0		134	118	144	134	
			Mean	2	1	3	2		127	129	129	
	♀	14	0	6	4	0		108	142	150	156	
		15	2	2	0	4		108	120	104	154	
		16	4	2	2	6		142	108	144	134	
		17	0	0	0	0		100	112	136	122	
			Mean	2	3	2	3		115	121	134	
T-1982 200 mg/kg	♂	18	2	4	2	0		136	138	112	132	
		19	0	2	4	2		116	126	114	134	
		20	0	0	2	2		132	100	122	134	
		21	4	4	4	0		112	110	124	146	
			Mean	2	3	3	1		124	119	118	
	♀	22	2	0	4	4		104	114	108	142	
		23	0	2	2	4		120	140	106	128	
		24	0	0	2	0		118	134	100	132	
		25	2	2	0	2		96	138	144	130	
			Mean	1	1	2	3		110	132	115	
T-1982 400 mg/kg	♂	26	0	2	2	4		114	136	146	124	144
		27	2	0	4	2		152	142	110	154	
		28	0	2	4	0		118	126	144	160	
		29	4	2	10	14		146	120	128	136	
		30	2	0	0	2	2	96	108	108	134	
		Mean	2	1	4	4		125	126	127	142	
	♀	31	0	0	2	2		124	118	132	108	112
		32	0	2	2	4		112	124	128	118	
		33	0	2	8	2		136	118	124	124	
		34	2	2	2	2		100	104	106	140	
35		2	0	36	0	2	100	106	116	106		
	Mean	1	1	10	2		114	114	121	119		

Table 7 Differential white cell counts in beagle dogs

	Sex	Dog No.	Month examined													
			0					1					Neutro.			
			Neutro.		Eosi- no.	Baso.	Lym- ph.	Mono.	Neutro.		Eosi- no.	Baso.	Lym- ph.	Mono.	Neutro.	
			Staff	Seg.					Staff	Seg.					Staff	Seg.
Control (saline)	♂	1	0.5	58.5	1.0	0	37.0	3.0	0.5	62.0	2.0	0	33.5	2.0	1.0	57.5
		2	1.5	56.0	1.5	0	39.0	2.0	1.5	61.0	3.0	0	32.5	2.0	1.0	52.0
		3	1.0	52.5	7.5	0	37.5	1.5	0.5	52.5	3.0	0	43.5	0.5	1.5	49.0
		4	2.0	68.0	4.0	0	24.5	1.5	0	61.0	6.0	0	31.5	1.5	0.5	63.5
		5	1.0	69.0	2.0	0	25.5	2.5	1.0	64.5	6.5	0	25.5	2.5	0.5	60.9
	Mean	1.2	60.8	3.2	0	32.7	2.1	0.7	60.2	4.1	0	33.3	1.7	0.9	58.2	
	♀	6	0.5	60.5	2.0	0	34.0	3.0	0.5	61.5	1.0	0	36.0	1.0	0	61.5
		7	0.5	61.0	4.0	0	32.0	2.5	1.0	71.5	1.0	0	25.5	1.0	0.5	68.0
		8	2.5	63.0	2.5	0	31.0	1.0	1.5	57.0	5.0	0	34.5	2.0	0.5	65.0
		9	0.5	60.0	1.5	0	35.5	2.5	0	62.5	2.0	0	34.0	1.5	0.5	60.5
Mean	1.0	61.1	2.5	0	33.1	2.3	0.8	63.1	2.3	0	32.5	1.4	0.4	63.8		
T-1982 100 mg/kg	♂	10	1.0	70.5	4.5	0	22.0	2.0	0	65.5	3.5	0	29.0	2.0	0.5	67.0
		11	0.5	68.0	0.5	0	29.5	1.5	1.0	63.0	3.5	0	31.0	1.5	1.0	61.5
		12	0.5	64.0	2.0	0	31.5	2.0	1.0	66.5	1.0	0	30.0	1.5	1.0	58.0
		13	1.5	62.5	1.5	0	32.5	2.0	1.0	69.0	2.5	0	27.0	0.5	1.0	62.5
	Mean	0.9	66.3	2.1	0	28.9	1.9	0.8	66.0	2.6	0	29.3	1.4	0.9	62.3	
	♀	14	0	60.0	1.0	0	37.5	1.5	0.5	52.5	2.5	0	42.5	2.0	2.0	62.0
		15	1.0	62.5	0.5	0	32.5	3.5	1.0	72.0	4.0	0	21.5	1.5	0.5	52.5
		16	0.5	69.5	4.0	0	25.0	1.0	0.5	66.5	2.5	0	30.0	0.5	0	72.0
		17	2.5	62.0	3.5	0	29.5	2.5	2.5	65.0	4.0	0	27.0	1.5	1.5	58.0
	Mean	1.0	63.5	2.3	0	31.1	2.1	1.1	64.0	3.3	0	30.3	1.4	1.0	61.1	
T-1982 200 mg/kg	♂	18	1.5	60.5	2.5	0	33.5	2.0	1.0	59.0	2.0	0	36.5	1.5	1.0	59.0
		19	0.5	66.0	6.5	0	24.0	3.0	0	65.0	4.0	0	27.0	4.0	1.5	66.5
		20	2.0	58.5	2.5	0	34.5	2.5	1.0	62.0	3.0	0	32.0	2.0	0.5	51.5
		21	0.5	66.0	1.0	0	30.5	2.0	1.5	59.5	4.0	0	33.0	2.0	1.0	53.0
	Mean	1.1	62.8	3.1	0	30.6	2.4	0.9	61.4	3.3	0	32.1	2.4	1.0	57.5	
	♀	22	2.0	63.5	6.0	0	27.0	1.5	1.5	62.0	3.5	0	30.5	2.5	1.0	53.0
		23	1.0	70.5	3.5	0	24.5	0.5	1.0	62.5	2.0	0	34.0	0.5	0.5	63.0
		24	0	67.0	0.5	0	31.0	1.5	1.0	64.0	3.5	0	30.5	1.0	0.5	63.0
		25	2.0	73.0	1.0	0	23.5	0.5	0.5	63.0	3.5	0	32.0	1.0	0	55.5
	Mean	1.3	68.5	2.8	0	26.5	1.0	1.0	62.9	3.1	0	31.8	1.3	0.5	58.6	
T-1982 400 mg/kg	♂	26	0.5	65.5	4.0	0	27.5	2.5	0	63.0	2.5	0	33.5	1.0	0.5	67.0
		27	1.0	62.0	4.5	0	31.0	1.5	1.0	53.5	3.5	0	40.0	2.0	0.5	44.0
		28	0.5	67.5	4.0	0	23.5	4.5	1.0	64.0	5.0	0	27.5	2.5	1.0	69.0
		29	0.5	72.0	4.5	0	18.5	4.5	0.5	74.0	0	0	23.5	2.0	2.5	62.5
		30	0	64.5	3.0	0	31.5	1.0	0	76.0	1.5	0	22.0	0.5	0	54.0
	Mean	0.5	66.3	4.0	0	26.4	2.8	0.5	66.1	2.5	0	29.3	1.6	0.9	59.3	
	♀	31	0.5	57.5	1.0	0	37.5	3.5	1.5	44.5	3.5	0	49.0	1.5	2.0	57.0
		32	1.0	63.5	4.5	0	30.5	0.5	0	59.5	4.5	0	33.5	2.5	0.5	62.0
		33	2.0	53.5	3.5	0	36.0	5.0	1.0	60.0	1.5	0	35.5	2.0	1.0	60.5
		34	1.5	57.5	1.5	0	37.0	2.5	1.0	63.0	3.5	0	30.0	2.5	1.5	60.5
35		2.5	64.5	1.0	0	29.5	2.5	2.5	57.5	1.0	0	37.0	2.0	1.0	52.0	
Mean	1.5	59.3	2.3	0	34.1	2.8	1.2	56.9	2.8	0	37.0	2.1	1.2	58.4		

injected intravenously with T-1982 for 3 months

										Recovery					
2				3											
Eosi- no.	Baso.	Lym- ph.	Mono.	Neutro.		Eosi- no.	Baso.	Lym- ph.	Mono.	Neutro.		Eosi- no.	Baso.	Lym- ph.	Mono.
				Staff	Seg.					Staff	Seg.				
3.0	0	37.0	1.5	1.5	56.0	2.0	0	39.5	1.0						
6.0	0	39.0	2.0	1.0	68.0	1.0	0	28.5	1.5						
3.0	0	45.0	1.5	0.5	49.5	3.0	0	45.5	1.5						
8.5	0	27.0	0.5	2.0	53.0	4.0	0	39.5	1.5						
3.5	0	24.0	3.0	1.5	68.0	5.0	0	22.5	3.0	3.0	47.5	1.5	0	45.5	2.5
4.8	0	34.4	1.7	1.3	58.9	3.0	0	35.1	1.7						
1.5	0	36.5	0.5	1.0	65.0	5.5	0	28.5	0						
3.5	0	27.0	1.0	1.5	66.5	0	0	27.5	4.5						
4.5	0	29.0	1.0	2.0	66.5	4.0	0	24.5	3.0						
1.0	0	36.0	2.0	2.0	54.0	1.0	0	40.5	2.5	4.0	57.5	0	0	36.0	2.5
2.6	0	32.1	1.1	1.6	63.0	2.6	0	30.3	2.5						
4.5	0	27.0	1.0	0.5	62.0	3.5	0	33.5	0.5						
3.0	0	32.5	2.0	0.5	64.0	1.5	0	32.5	1.5						
1.5	0	36.5	3.0	1.5	57.0	4.0	0	35.5	2.0						
1.0	0	32.5	3.0	2.0	68.0	1.5	0	28.0	0.5						
2.5	0	32.1	2.3	1.1	62.8	2.6	0	32.4	1.1						
2.0	0	33.0	1.0	2.0	58.5	2.5	0	36.5	0.5						
0.5	0	44.0	2.5	0.5	64.0	3.5	0	31.0	1.0						
5.0	0	23.0	0	3.5	53.0	0.5	0	41.0	2.0						
5.5	0	33.0	2.0	4.0	55.0	3.5	0	37.0	0.5						
3.3	0	33.3	1.4	2.5	57.6	2.5	0	36.4	1.0						
3.0	0	35.5	1.5	2.5	61.0	4.0	0	29.5	3.0						
6.5	0	23.5	2.0	0.5	64.0	7.0	0	27.0	1.5						
2.5	0	44.5	1.0	2.0	56.0	3.0	0	37.0	2.0						
3.0	0	41.5	1.5	1.5	57.0	3.0	0	35.5	3.0						
3.8	0	36.3	1.5	1.6	59.5	4.3	0	32.3	2.4						
8.5	0	35.0	2.5	3.0	59.0	2.0	0	35.0	1.0						
4.5	0	30.0	2.0	2.5	67.0	3.0	0	27.0	0.5						
1.5	0	34.0	1.0	4.0	59.0	3.0	0	32.0	2.0						
2.5	0	40.0	2.0	3.0	53.5	8.0	0	32.0	3.5						
4.3	0	34.8	1.9	3.1	59.6	4.0	0	31.5	1.8						
4.0	0	26.0	2.5	1.5	52.5	5.5	0	36.5	4.0						
0	0	53.5	2.0	1.0	42.5	0	0	52.5	4.0						
4.0	0	22.5	3.5	0.5	58.5	4.5	0	34.0	2.5						
1.0	0	32.0	2.0	2.0	68.0	1.0	0	26.5	2.5						
7.0	0	36.0	3.0	1.0	68.5	4.0	0	25.5	1.0	3.5	60.5	4.0	0	31.0	1.0
3.2	0	34.0	2.6	1.2	58.0	3.0	0	35.0	2.8						
2.0	0	37.0	2.0	2.5	53.5	3.0	0	37.5	3.5						
2.5	0	32.0	3.0	1.5	60.0	6.0	0	30.5	2.0						
4.5	0	32.5	1.5	2.0	55.5	5.0	0	36.5	1.0						
2.5	0	34.0	1.5	1.0	67.0	1.5	0	29.5	1.0						
3.0	0	42.0	2.0	4.0	53.5	2.5	0	38.5	1.5	0	55.5	0.5	0	42.0	2.0
2.9	0	35.5	2.0	2.2	57.9	3.6	0	34.5	1.8						

Table 8 Red cell fragility and prothrombin time in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Red cell fragility (%)					Prothrombin time (sec)		
			Month examined					Month examined		
			0	1	2	3	Recovery	0	3	Recovery
Control (Saline)	♂	1	0.458	0.423	0.420	0.418		6.9	7.0	
		2	0.460	0.416	0.420	0.416		5.9	7.0	
		3	0.425	0.379	0.385	0.390		6.4	6.9	
		4	0.413	0.373	0.384	0.382		5.9	6.9	
		5	0.430	0.405	0.400	0.410	0.378	6.9	6.4	6.9
		Mean	0.437	0.399	0.402	0.403		6.4	6.8	
	♀	6	0.434	0.435	0.422	0.422		6.4	6.4	
		7	0.435	0.421	0.432	0.432		6.4	6.4	
		8	0.470	0.440	0.468	0.451		5.9	5.9	
		9	0.420	0.395	0.415	0.405	0.416	6.9	6.9	6.4
		Mean	0.440	0.423	0.434	0.428		6.4	6.4	
T-1982 100 mg/kg	♂	10	0.446	0.412	0.423	0.420		6.4	6.9	
		11	0.434	0.430	0.429	0.425		6.4	6.9	
		12	0.435	0.422	0.428	0.415		5.9	6.9	
		13	0.416	0.420	0.426	0.425		6.4	6.9	
			Mean	0.433	0.421	0.427	0.421		6.3	6.9
	♀	14	0.442	0.428	0.428	0.423		5.9	6.9	
		15	0.427	0.410	0.437	0.427		5.9	6.4	
		16	0.443	0.418	0.432	0.435		9.4	10.7	
		17	0.405	0.387	0.410	0.405		5.9	7.0	
			Mean	0.429	0.411	0.427	0.423		6.8	7.8
T-1982 200 mg/kg	♂	18	0.418	0.420	0.413	0.410		5.9	6.9	
		19	0.433	0.435	0.430	0.422		5.9	6.4	
		20	0.425	0.434	0.435	0.430		5.4	6.4	
		21	0.455	0.437	0.443	0.430		6.9	6.4	
			Mean	0.433	0.432	0.430	0.423		6.0	6.5
	♀	22	0.434	0.431	0.442	0.430		5.9	5.9	
		23	0.445	0.430	0.449	0.435		5.9	5.9	
		24	0.456	0.433	0.450	0.427		5.9	5.9	
		25	0.470	0.456	0.485	0.452		6.9	5.9	
			Mean	0.451	0.438	0.457	0.436		6.2	5.9
T-1982 400 mg/kg	♂	26	0.465	0.432	0.453	0.435		6.4	5.9	
		27	0.430	0.409	0.425	0.427		6.8	6.9	
		28	0.455	0.430	0.465	0.435		5.9	5.9	
		29	0.475	0.438	0.520	0.430		5.9	6.9	
		30	0.464	0.441	0.483	0.442	0.437	9.9	7.4	7.4
			Mean	0.458	0.430	0.469	0.434		7.0	6.6
	♀	31	0.425	0.429	0.455	0.432		6.4	6.4	
		32	0.470	0.452	0.485	0.435		6.5	6.4	
		33	0.414	0.410	0.462	0.424		5.9	6.4	
		34	0.425	0.420	0.435	0.415		5.9	6.4	
35		0.448	0.445	0.485	0.418	0.436	5.9	6.7	6.9	
	Mean	0.436	0.431	0.464	0.425		6.1	6.5		

Table 9 GOT, GPT, alkaline phosphatase (ALP) and lactic dehydrogenase (LDH) in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Sex	Dog No.	GOT (Karmen unit)						GPT (Karmen unit)						ALP (King-Armstrong unit)						LDH (Wroblewski unit)					
		Month examined						Month examined						Month examined						Month examined					
		0	1	2	3	Recovery	0	1	2	3	Recovery	0	1	2	3	Recovery	0	1	2	3	Recovery				
Control (saline)	♂	1	18	19	18	18	15	15	14	16		4.4	5.4	6.2	8.7		210	270	200	193					
		2	11	21	10	13	9	6	6	7		4.3	4.9	4.5	5.0		130	200	160	109					
		3	15	16	16	21	10	10	10	14		3.1	3.7	5.1	3.3		110	120	110	110					
		4	18	16	14	16	12	11	12	12		3.8	4.6	4.3	4.1		160	150	140	109					
		5	15	15	12	17	20	8	10	10	13		3.1	2.9	2.9	3.6	3.8	160	190	200	160	90			
	Mean	15	17	14	17		11	10	10	12		3.7	4.3	4.6	4.9		154	186	162	136					
		6	16	22	13	25	14	13	15	21		4.4	5.2	5.0	5.9		210	210	150	134					
		7	20	24	17	18	21	24	18	15		4.2	5.1	4.7	3.6		240	180	250	176					
		8	18	33	19	18	17	20	21	13		3.8	5.4	5.7	4.1		130	170	290	118					
		9	20	19	13	23	21	16	14	16	15		3.2	3.7	3.3	3.4	3.4	160	160	150	94	70			
Mean	19	25	16	21		17	18	18	16		3.1	4.9	4.7	4.3		185	180	210	131						
T-1982 100 mg/kg	♂	10	16	28	14	23	13	8	11	11		3.4	3.7	3.2	3.3		150	220	180	176					
		11	10	23	21	16	14	16	14	12		4.9	5.8	5.5	5.3		190	240	220	160					
		12	13	18	11	15	18	14	15	11		3.6	4.4	3.8	4.0		100	130	140	118					
		13	13	18	18	19	13	9	10	10		3.8	4.4	4.4	4.8		130	190	190	118					
	Mean	13	22	16	18		15	12	13	11		3.1	4.6	4.2	4.4		143	195	183	143					
		14	18	16	17	14	14	12	21	13		3.8	5.6	4.4	4.2		110	130	280	92					
		15	12	21	8	25	16	14	17	11		3.2	4.8	3.8	6.0		130	130	140	143					
		16	20	13	15	14	12	10	18	11		6.5	9.4	8.9	7.4		150	230	180	101					
		17	17	25	15	16	14	10	10	14	13		4.1	5.7	5.4	5.6		120	130	190	92				
	Mean	17	19	14	17		14	12	18	12		3.5	6.4	5.6	5.8		128	155	198	107					
T-1982 200 mg/kg	♂	18	18	22	15	18	15	16	15	13		4.6	4.9	5.0	4.0		110	190	210	126					
		19	13	9	12	18	13	10	15	11		4.7	6.4	6.4	4.3		110	170	160	80					
		20	15	13	17	24	10	6	12	9		5.9	8.4	8.5	6.4		100	140	180	89					
		21	14	10	14	20	15	12	18	15		4.5	5.6	5.6	5.1		100	80	370	118					
	Mean	15	14	15	20		13	11	15	12		3.9	6.3	6.4	5.0		105	145	230	103					
		22	15	8	24	20	12	65	55	11		4.7	6.4	8.7	4.2		110	110	110	118					
		23	13	12	23	12	12	13	41	10		5.8	7.2	7.2	5.1		60	110	110	151					
		24	11	18	17	22	14	11	71	22		7.2	8.5	7.1	9.0		190	200	90	143					
		25	15	11	14	29	14	11	15	14		3.9	4.5	5.8	8.7		240	110	170	143					
	Mean	14	12	20	21		13	25	46	14		4.3	6.7	7.2	6.8		150	133	120	139					
T-1982 400 mg/kg	♂	26	17	16	17	20	11	6	10	9		4.1	4.2	3.9	4.4		100	120	120	151					
		27	18	21	22	14	13	7	10	9		3.5	3.8	4.2	5.3		150	170	150	109					
		28	17	12	19	21	14	11	24	18		5.5	6.0	7.5	4.7		190	120	350	227					
		29	13	18	12	21	12	14	9	28		5.8	6.5	5.7	6.8		110	200	630	151					
		30	21	14	22	20	21	10	5	9	11		5.5	7.3	7.1	9.5	6.7	160	130	160	109	180			
	Mean	17	16	18	19		12	12	15	15		4.9	5.6	5.7	6.1		142	148	282	149					
		31	20	14	17	17	14	11	11	11		3.3	4.7	4.2	4.4		70	70	100	101					
		32	22	22	18	22	15	12	12	10		3.4	4.1	4.5	6.1		110	100	140	89					
		33	15	15	15	18	16	11	11	12		4.1	5.7	5.0	5.3		150	100	620	126					
		34	19	19	23	19	15	15	10	10		4.2	5.6	5.8	5.6		100	150	160	80					
	35	19	14	25	21	12	15	14	16	13		4.5	3.4	7.2	5.1	4.7	320	110	300	238	180				
Mean	19	17	20	19		15	13	12	11		3.9	4.7	5.3	5.3		150	106	264	127						

Table 10 Cholinesterase, total cholesterol, urea nitrogen and bilirubin in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Sex	Dog No	Cholinesterase (Δ pH)					Total cholesterol (mg/dl)					Urea nitrogen (mg/dl)					Bilirubin (mg/dl)					
		Month examined					Month examined					Month examined					Month examined					
		0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	0	1	2	3	Reco-very	
Control (saline)	♂	1	0.41	0.43	0.35	0.41	170	167	177	163		16.5	16.2	12.8	12.6		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	2	0.58	0.50	0.43	0.46	138	134	141	131		15.6	13.1	12.8	13.6		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	3	0.28	0.31	0.21	0.24	117	111	118	108		13.0	13.0	10.3	7.9		0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	
	4	0.42	0.42	0.33	0.37	170	188	190	158		11.7	12.2	8.8	8.9		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	5	0.52	0.50	0.33	0.38	0.47	124	135	136	137	115	14.8	9.8	12.8	10.1	13.6	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	Mean	0.55	0.43	0.33	0.37		144	147	152	139		14.3	12.9	11.5	10.6		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	♀	6	0.51	0.51	0.46	0.42	150	162	156	157		10.9	17.4	9.2	15.7		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	7	0.46	0.44	0.41	0.41	163	191	230	182		10.9	10.5	8.8	10.1		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	
	8	0.40	0.40	0.37	0.45	159	187	287	183		16.6	12.9	16.6	15.5		0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	
	9	0.52	0.57	0.50	0.47	0.48	131	132	156	157	145	19.8	17.3	13.2	19.6	20.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	0.1
Mean	0.47	0.48	0.44	0.44		151	168	207	170		14.6	14.5	12.0	15.2		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	
T-1982 100 mg/kg	♂	10	0.41	0.49	0.43	0.42	145	157	156	154		16.7	14.6	12.4	15.1		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	11	0.61	0.50	0.55	0.41	133	166	171	139		17.1	17.9	13.4	13.7		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	12	0.49	0.50	0.48	0.54	108	126	121	108		17.0	18.0	14.4	16.6		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	13	0.51	0.45	0.47	0.47	131	168	165	144		12.4	11.3	12.4	14.4		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	Mean	0.51	0.49	0.48	0.46		129	154	153	136		15.8	15.5	13.2	15.0		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	♀	14	0.49	0.46	0.40	0.42	183	211	217	173		12.1	10.2	10.0	10.6		0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	15	0.67	0.56	0.60	0.53	109	158	207	193		12.9	9.5	12.1	10.2		0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	
	16	0.68	0.61	0.64	0.65	144	201	220	185		12.6	12.0	13.1	13.7		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	17	0.79	0.68	0.65	0.43	113	144	137	144		13.0	10.7	11.4	10.3		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	Mean	0.66	0.58	0.59	0.51		137	179	195	174		12.7	10.6	11.7	11.2		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
T-1982 200 mg/kg	♂	18	0.49	0.42	0.45	0.53	131	166	173	145		14.6	17.4	13.8	11.3		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	19	0.60	0.51	0.53	0.67	132	150	189	152		13.2	12.9	9.4	12.1		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	20	0.71	0.66	0.68	0.62	211	284	267	193		16.2	15.5	15.0	11.5		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	21	0.48	0.47	0.51	0.48	156	188	196	184		9.4	8.5	9.3	12.3		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	
	Mean	0.57	0.52	0.54	0.58		158	197	206	169		13.4	13.6	11.9	11.8		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	♀	22	0.74	0.74	0.90	0.47	190	337	321	181		11.3	13.9	11.7	13.4		0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
	23	0.70	0.65	0.62	0.41	173	249	271	172		11.7	12.0	16.1	13.9		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	24	0.75	0.71	0.77	0.59	203	299	283	130		11.0	9.0	13.7	14.3		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	
	25	0.66	0.59	0.72	0.53	163	306	402	196		13.4	13.6	14.4	11.9		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.3	
	Mean	0.71	0.67	0.75	0.50		182	298	319	170		11.9	12.1	14.0	13.4		0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
T-1982 400 mg/kg	♂	26	0.57	0.59	0.56	0.61	162	237	235	156		10.3	7.2	12.1	10.4		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	27	0.45	0.47	0.50	0.58	114	119	142	126		15.5	11.7	13.1	11.9		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	28	0.58	0.64	0.63	0.31	188	259	310	181		14.9	13.0	12.9	13.1		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	
	29	0.53	0.57	0.54	0.47	146	216	182	203		12.6	13.5	12.5	12.1		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	30	0.66	0.66	0.67	0.58	0.57	153	242	263	199	158	12.4	12.3	12.4	12.8	13.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	Mean	0.56	0.59	0.58	0.51		153	215	226	173		13.1	11.5	12.6	12.1		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	♀	31	0.47	0.55	0.49	0.61	102	185	301	171		11.8	12.3	12.4	10.4		0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
	32	0.67	0.71	0.67	0.58	158	226	387	172		12.2	12.5	12.3	16.2		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	
	33	0.66	0.65	0.67	0.64	122	237	232	156		11.0	8.8	10.2	9.8		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	
	34	0.56	0.55	0.57	0.47	175	248	262	196		9.7	7.5	8.0	10.1		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
35	0.58	0.48	0.55	0.39	0.44	223	216	173	193	192	9.9	6.4	5.0	8.6	14.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
Mean	0.59	0.59	0.59	0.54		156	222	271	178		10.9	9.5	9.6	11.0		0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	

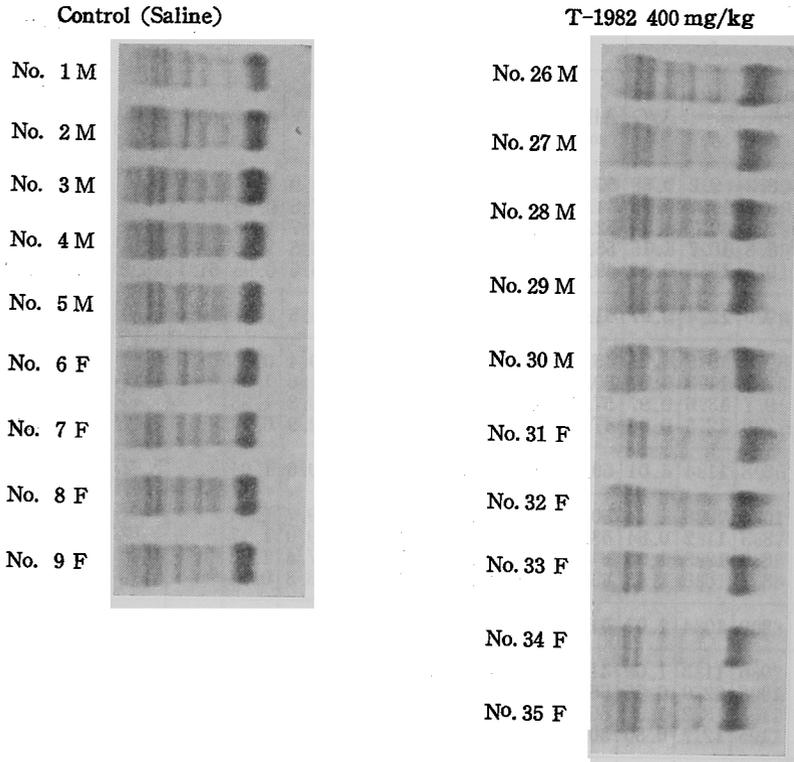
Table 11 Total protein, glucose, sodium and potassium in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Sex	Dog No	Total protein(g/dl)						Glucose (mg/dl)						Na (mEq/L)						K (mEq/L)					
		Month examined			Recovery	Month examined			Recovery	Month examined			Recovery	Month examined			Recovery	Month examined			Recovery				
		0	1	2		3	0	1		2	3	0		1	2	3		0	1	2		3			
Control (saline)	1	5.6	5.6	6.0	5.8	73	76	82	68	143.2	145.9	148.7	150.2	4.84	4.89	4.58	4.64								
	2	6.0	6.6	6.8	6.4	74	74	87	77	146.0	146.3	145.7	149.4	4.75	4.84	4.68	4.74								
	3	5.6	5.6	5.8	5.4	70	74	79	69	142.6	145.2	145.5	144.7	5.13	4.90	4.43	4.13								
	4	6.0	6.0	6.0	6.0	83	83	84	67	144.0	143.9	143.9	147.6	4.76	4.66	4.44	4.60								
	5	5.8	5.8	5.8	6.0	71	82	80	72	144.4	148.7	146.9	147.9	4.44	4.30	4.28	4.15								
	Mean	5.8	5.9	6.1	5.9	74	76	82	71	144.0	146.3	146.1	148.0	4.78	4.72	4.48	4.45								
	6	5.6	6.0	5.6	6.0	77	82	81	68	142.8	142.4	143.3	146.7	4.43	4.73	4.52	5.13								
	7	5.8	6.0	6.0	6.0	65	72	79	70	143.7	143.2	144.8	148.2	4.47	4.31	4.28	4.45								
	8	6.0	6.4	6.6	6.0	63	68	79	65	146.2	145.9	144.9	149.4	4.69	4.43	4.69	5.07								
	9	5.6	6.0	6.0	6.0	75	77	82	74	144.8	144.9	145.4	148.7	4.69	4.61	4.59	4.61								
Mean	5.8	6.1	6.1	6.0	70	75	80	69	144.4	144.1	144.6	148.3	4.59	4.52	4.52	4.82									
T-1982 100 mg/kg	10	6.0	6.0	6.0	6.0	77	74	80	70	142.7	147.4	145.0	148.5	4.78	4.80	4.40	4.60								
	11	6.0	6.0	6.2	6.0	73	81	86	68	146.3	143.7	145.3	151.7	4.90	4.81	4.93	4.60								
	12	5.0	5.6	5.2	5.6	80	80	84	69	145.8	146.7	146.0	150.6	4.54	4.21	4.60	4.66								
	13	6.0	6.2	6.2	6.4	77	75	83	74	143.1	147.9	144.8	149.0	4.18	4.65	4.49	4.50								
	Mean	5.8	6.0	5.9	6.2	77	78	83	70	144.5	146.4	145.3	150.0	4.60	4.62	4.61	4.59								
	14	6.0	6.0	6.0	6.0	83	80	81	72	144.4	145.1	145.2	150.7	4.87	4.49	4.65	4.38								
	15	5.4	6.0	6.2	6.2	78	81	81	77	148.5	146.1	145.1	150.8	4.28	4.72	4.71	4.33								
	16	5.8	6.0	6.0	5.6	79	79	87	79	147.1	145.6	147.6	151.3	4.48	4.39	4.75	4.36								
	17	6.2	6.0	6.2	6.2	82	90	81	71	145.5	143.3	144.4	150.3	4.74	4.64	4.95	4.99								
	Mean	5.9	6.0	6.1	6.0	81	83	83	75	146.4	145.0	145.6	150.8	4.59	4.56	4.77	4.52								
T-1982 200 mg/kg	18	6.0	6.0	6.0	5.8	94	73	85	71	146.6	144.1	145.5	149.9	4.45	4.75	4.61	4.55								
	19	6.0	5.6	6.0	6.0	77	88	91	75	147.4	146.9	145.5	150.3	4.67	4.51	4.63	4.65								
	20	6.2	6.4	6.4	6.0	90	92	89	79	147.4	144.2	144.3	148.4	4.48	4.36	4.45	4.08								
	21	5.6	6.0	6.0	6.0	82	84	88	81	147.6	145.7	144.4	150.1	4.81	4.30	4.52	4.43								
	Mean	6.0	6.0	6.1	6.0	86	84	88	77	147.3	145.2	144.9	149.7	4.60	4.48	4.55	4.43								
	22	6.0	6.2	6.0	6.0	85	84	94	80	144.7	143.8	144.0	147.4	4.50	4.53	4.30	4.11								
	23	6.0	6.0	6.2	6.4	86	84	89	84	145.6	149.0	145.3	150.0	4.12	4.11	4.61	4.48								
	24	6.0	6.6	6.4	6.4	78	79	85	78	144.9	149.4	144.8	151.7	4.45	4.42	4.03	3.97								
	25	6.2	6.2	6.2	6.4	82	87	88	68	146.2	145.8	146.5	151.4	5.01	4.78	4.43	4.63								
	Mean	6.1	6.3	6.2	6.3	82	84	89	78	145.4	147.0	145.2	150.1	4.52	4.46	4.34	4.30								
T-1982 400 mg/kg	26	6.0	6.0	6.0	6.0	77	82	82	71	143.1	145.6	145.0	150.0	4.59	4.26	4.42	4.39								
	27	5.2	5.8	5.6	5.8	68	67	72	74	143.2	147.7	147.9	149.6	4.94	4.57	4.41	4.44								
	28	5.8	6.0	6.0	6.6	76	78	82	77	143.1	147.8	148.2	149.3	4.29	4.16	4.42	4.24								
	29	6.0	6.6	6.2	6.0	82	82	84	78	145.3	145.9	144.2	147.2	4.59	4.57	4.73	4.77								
	30	5.8	6.0	6.0	6.0	84	91	87	79	143.2	146.0	144.9	149.8	4.13	4.19	3.95	4.65								
	Mean	5.8	6.1	6.0	6.1	77	80	81	76	143.6	146.6	146.0	149.2	4.51	4.35	4.39	4.50								
	31	5.0	5.8	6.0	6.0	85	82	97	84	145.3	149.0	143.8	147.3	4.44	4.00	4.34	4.04								
	32	6.0	6.0	6.4	6.2	78	79	84	80	144.0	149.5	143.7	147.8	4.34	4.26	4.20	4.28								
	33	5.6	6.0	5.6	6.0	82	94	75	83	143.6	147.0	143.5	146.1	4.25	4.38	4.45	4.28								
	34	6.0	6.0	6.0	6.0	91	93	90	92	141.2	144.4	142.6	146.6	4.39	4.05	4.11	4.19								
35	6.0	5.6	5.4	6.0	74	87	79	72	142.1	147.4	142.8	147.2	5.07	4.85	4.90	4.97									
Mean	5.7	5.9	5.9	6.0	82	87	85	82	143.2	147.5	143.3	147.0	4.50	4.31	4.40	4.35									

Table 12 Protein fraction and A/G in beagle dogs

	Sex	Dog No.	Month examined														
			0							1							
			Alb.	Globulin					A/G	Alb.	Globulin					A/G	Alb.
				α_1	α_2	β_1	β_2	γ			α_1	α_2	β_1	β_2	γ		
Control (saline)	♂	1	50.8	11.1	9.5	7.1	10.3	11.1	1.03	46.4	14.3	7.7	10.1	8.9	12.5	0.87	46.9
		2	51.3	9.9	7.4	8.3	10.7	12.4	1.05	50.3	7.9	6.7	7.9	10.9	16.4	1.01	42.9
		3	53.2	11.8	9.7	8.1	9.1	8.1	1.14	52.9	12.6	8.9	7.9	9.9	7.9	1.12	54.5
		4	52.3	11.8	8.2	8.2	7.7	11.8	1.10	45.2	14.1	9.5	10.6	8.5	12.1	0.83	53.5
		5	48.5	17.2	7.4	8.3	7.8	10.8	0.94	47.8	12.4	8.8	8.8	11.1	11.1	0.92	46.3
	Mean	51.2	12.4	8.4	8.0	9.1	11.0	1.05	48.5	12.3	8.3	9.1	9.9	12.0	0.95	48.8	
	♀	6	47.1	19.1	8.3	9.3	7.8	8.3	0.89	51.9	12.8	7.5	8.6	8.6	10.7	1.08	55.6
		7	47.0	20.5	9.2	8.1	7.0	8.1	0.89	52.3	14.1	7.7	8.2	8.6	9.1	1.10	46.4
		8	51.7	17.0	7.4	8.0	7.4	8.5	1.07	58.5	11.1	5.8	7.6	11.1	5.8	1.41	49.4
		9	47.4	16.3	7.4	8.8	8.4	11.6	0.90	57.2	7.8	4.8	7.8	10.2	12.0	1.34	48.9
Mean	48.3	18.2	8.1	8.6	7.7	9.1	0.93	55.0	11.5	6.5	8.1	9.6	9.4	1.23	50.1		
T-1982 100 mg/kg	♂	10	48.0	18.1	7.9	9.0	5.6	11.3	0.92	49.0	11.5	12.5	8.7	9.1	9.1	0.96	55.3
		11	49.4	19.0	6.9	7.5	7.5	9.8	0.98	52.9	11.6	8.7	8.1	8.7	9.9	1.12	45.6
		12	51.7	13.8	6.3	6.3	10.3	11.5	1.07	55.3	10.1	6.9	8.2	8.8	10.7	1.24	51.5
		13	54.2	13.0	8.3	7.3	7.8	9.4	1.18	54.7	8.7	8.7	8.1	10.6	9.3	1.21	53.1
	Mean	50.8	16.0	7.4	7.5	7.8	10.5	1.04	53.0	10.5	9.2	8.3	9.3	9.8	1.13	51.4	
	♀	14	56.2	12.3	6.9	9.2	7.7	7.7	1.28	47.2	15.6	10.1	8.7	8.7	9.6	0.90	50.0
		15	52.2	16.9	7.5	6.0	8.0	9.5	1.09	58.9	10.4	9.3	7.3	9.3	6.8	1.43	48.8
		16	57.0	11.7	6.7	7.3	10.6	6.7	1.32	59.0	10.0	6.8	8.1	8.7	7.5	1.44	54.7
		17	48.1	10.9	7.7	8.7	9.8	14.8	0.93	50.8	11.4	6.7	11.4	9.3	10.4	1.03	44.4
	Mean	53.4	13.0	7.2	7.8	9.0	9.7	1.16	54.0	11.9	8.2	8.9	9.0	8.6	1.20	49.5	
T-1982 200 mg/kg	♂	18	50.6	12.2	9.3	9.9	8.1	9.9	1.02	48.3	14.7	9.9	9.9	10.3	6.9	0.93	50.0
		19	52.0	9.2	7.5	9.8	9.2	12.1	1.08	44.9	13.7	8.0	9.5	11.8	12.2	0.81	50.6
		20	48.3	10.9	7.5	12.2	10.2	10.9	0.93	45.5	12.9	8.9	11.4	11.9	9.4	0.84	46.4
		21	45.3	16.0	10.7	8.0	8.0	12.0	0.83	46.5	12.7	10.1	8.3	9.6	12.7	0.87	43.8
	Mean	49.1	12.1	8.8	10.0	8.9	11.2	0.97	46.3	13.5	9.2	9.8	10.9	10.3	0.86	47.7	
	♀	22	50.4	17.7	6.4	8.5	9.2	7.8	1.01	56.7	14.0	6.7	9.1	7.3	6.1	1.31	49.1
		23	45.9	14.4	7.5	11.6	9.6	11.0	0.85	48.3	14.4	9.6	9.1	8.6	10.0	0.94	45.7
		24	54.2	14.8	7.7	7.7	9.2	6.3	1.18	52.7	15.5	8.7	8.2	8.2	6.8	1.11	49.0
		25	42.5	18.1	10.2	9.4	11.0	8.7	0.74	50.0	14.6	7.6	11.1	8.1	8.6	1.00	49.1
	Mean	48.3	16.3	8.0	9.3	9.8	8.5	0.95	51.9	14.6	8.2	9.4	8.1	7.9	1.09	48.2	
T-1982 400 mg/kg	♂	26	51.1	12.5	9.1	8.5	9.7	9.1	1.05	50.8	11.8	8.2	10.3	10.3	8.7	1.03	49.8
		27	55.1	11.8	8.7	9.4	7.1	7.9	1.23	54.0	12.5	5.8	9.4	11.6	6.7	1.17	52.8
		28	48.3	11.4	10.5	14.0	9.6	6.1	0.93	52.4	14.3	8.1	10.0	8.6	6.7	1.10	48.1
		29	46.5	16.5	9.4	10.0	10.0	7.6	0.87	55.3	11.1	10.6	8.5	10.1	4.5	1.24	49.4
		30	48.2	15.4	7.3	8.5	11.3	9.3	0.93	52.2	15.9	6.0	9.5	9.1	7.3	1.09	49.8
	Mean	49.8	13.5	9.0	10.1	9.5	8.0	1.00	52.9	13.1	7.7	9.5	9.9	6.8	1.13	50.0	
	♀	31	58.2	10.7	8.2	8.2	9.0	5.7	1.39	56.5	11.9	7.1	8.3	8.3	7.7	1.30	52.4
		32	51.7	14.4	7.5	8.0	8.6	9.8	1.07	46.9	13.7	9.2	8.6	10.7	10.7	0.88	50.0
		33	54.2	12.1	4.7	10.3	12.1	6.5	1.18	56.0	9.3	8.3	6.7	10.4	9.3	1.27	60.3
		34	55.3	13.2	6.3	8.2	9.4	7.5	1.24	55.3	13.0	7.5	8.7	8.7	6.8	1.25	51.1
35		53.9	16.4	7.3	7.9	8.5	6.1	1.17	52.4	16.2	6.7	8.6	7.6	8.6	1.10	47.5	
Mean	54.7	13.4	6.8	8.5	9.5	7.1	1.21	53.4	12.8	7.8	8.2	9.1	8.6	1.16	52.3		

Fig. 3 Cellulose acetate electrophoresis of sera in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months



28♂, No. 29♂, No. 33♀) におのおの認められたが、いずれも3ヵ月後の検査結果は正常値を示していた。

コリンエステラーゼの軽度減少が対照群の1例 (No. 5♂), 100 mg/kg 投与1例 (No. 17♀), 200 mg/kg 投与2例 (No. 22♀, No. 23♀) および 400 mg/kg 投与2例 (No. 28♂, No. 35♀) の2~3ヵ月後の検査で認められたが、その程度には用量依存性がみられなかった。

総コレステロールでは、200 mg/kg と 400 mg/kg 投与群の多数例に、投与1ヵ月後または2ヵ月後をピークとする上昇がみられたが、3ヵ月後の検査結果はほぼ全例が投与前の値に復していた。この傾向は 200 mg/kg 投与の2例 (No. 22♀, No. 25♀) と 400 mg/kg 投与3例 (No. 28♂, No. 31♀, No. 32♀) で比較的明瞭に現われていた。

セルロースアセテート膜電気泳動による血清の蛋白分画では、Fig. 3 に示すような陽極側に易動度の速いアルブミン分画の出現が、各群の雌雄に、ほぼ投与量に比例して観察された。この変化は回復試験ではほとんど消失しており、可逆的な変化であった。他の検査項目には異常は認められなかった。

7) 直接クームス試験

Table 13 に示すように、全例異常が認められなかった。

8) BSP 試験と PSP 試験

Table 14 に示すように、全例異常が認められなかった。

9) 心電図検査

全例異常所見を認めなかった。

10) 眼底検査と眼圧

眼底所見には全例異常を認めなかった。また、剖検時にペントバルビタール麻酔下で測定した眼圧 (Table 15) にも特に異常を認めなかった。

11) T-1982 の血中濃度

結果を Fig. 4 に示す。100 mg/kg 投与群、400 mg/kg 投与群とも、初回投与の血中濃度と1.5ヵ月後、最終投与時の血中濃度には差がみられなかった。

12) 臓器重量と臓器重量体重比

臓器重量を Table 16 (雄) と Table 17 (雌) に、臓器重量体重比を Table 18 (雄) と Table 19 (雌) に示す。また、回復試験の臓器重量と同体重比を Table 20 に示す。用量依存性の変化や薬剤投与に起因すると思われる変化はみられなかったが、次の変化が散発的に認められ

Table 13 Direct Coombs test in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Direct Coombs test			
			Month examined			
			1	2	3	Recovery
Control (saline)	♂	1	—	—	—	
		2	—	—	—	
		3	—	—	—	
		4	—	—	—	
		5	—	—	—	—
	Mean					
	♀	6	—	—	—	
		7	—	—	—	
		8	—	—	—	
		9	—	—	—	—
Mean						
T-1982 100 mg/kg	♂	10	—	—	—	
		11	—	—	—	
		12	—	—	—	
		13	—	—	—	
	Mean					
	♀	14	—	—	—	
		15	—	—	—	
		16	—	—	—	
		17	—	—	—	
	Mean					
T-1982 200 mg/kg	♂	18	—	—	—	
		19	—	—	—	
		20	—	—	—	
		21	—	—	—	
	Mean					
	♀	22	—	—	—	
		23	—	—	—	
		24	—	—	—	
		25	—	—	—	
	Mean					
T-1982 400 mg/kg	♂	26	—	—	—	
		27	—	—	—	
		28	—	—	—	
		29	—	—	—	
		30	—	—	—	—
	Mean					
	♀	31	—	—	—	
		32	—	—	—	
		33	—	—	—	
		34	—	—	—	
Mean						
Mean						

Table 14 BSP and PSP function tests in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	BSP test(T 1/2)			PSP test(T 1/2)		
			Month examined			Month examined		
			0	3	Recovery	0	3	Recovery
Control (saline)	♂	1	12.9	11.3		18.4	21.4	
		2	12.0	10.8		18.3	22.4	
		3	10.7	9.4		20.8	18.0	
		4	18.3	11.3		19.5	18.1	
		5	16.4	12.4	8.2	16.5	17.9	19.9
	Mean		14.1	11.0		18.7	20.0	
	♀	6	13.3	11.1		20.2	15.2	
		7	14.6	11.6		18.9	15.6	
		8	10.0	10.9		19.3	18.8	
		9	13.0	13.4	13.9	24.4	21.4	16.3
Mean		12.7	11.8		20.7	17.8		
T-1982 100 mg/kg	♂	10	12.6	13.7		16.8	17.5	
		11	14.2	13.9		20.1	23.6	
		12	11.9	9.0		21.1	19.1	
		13	19.5	14.6		11.5	17.4	
	Mean		14.6	12.8		17.4	19.4	
	♀	14	13.8	11.1		19.4	19.3	
		15	21.0	12.6		16.1	20.3	
		16	21.3	18.3		28.1	20.1	
		17	10.9	10.7		23.3	16.0	
	Mean		16.8	13.2		21.7	18.9	
T-1982 200 mg/kg	♂	18	15.7	10.2		24.2	17.4	
		19	10.7	9.7		25.5	19.8	
		20	12.7	10.9		19.1	20.5	
		21	17.3	13.1		18.7	19.0	
	Mean		14.1	11.0		21.9	19.2	
	♀	22	14.8	14.6		19.8	16.1	
		23	16.2	13.3		21.7	16.8	
		24	16.4	15.4		25.6	17.8	
		25	9.8	9.3		28.1	14.5	
	Mean		14.3	13.2		23.8	16.3	
T-1982 400 mg/kg	♂	26	10.0	8.3		17.9	15.1	
		27	12.2	9.8		21.8	16.1	
		28	20.3	12.4		15.8	18.6	
		29	15.4	10.8		17.8	17.1	
		30	11.4	10.1	13.0	22.6	17.9	18.7
	Mean		13.9	10.3		19.2	17.0	
	♀	31	15.9	12.6		23.1	17.5	
		32	17.5	11.7		20.6	14.9	
		33	17.4	12.7		23.3	15.0	
		34	14.1	11.0		16.4	14.0	
Mean		15.6	12.0	14.2	20.0	15.3	18.9	
Mean		15.6	12.0		20.0	15.3		

Table 15 Intraocular tension in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Intraocular tension (mmHg)	
			Right	Left
Control (saline)	♂	1	17.30	17.30
		2	17.30	17.30
		3	18.86	18.86
		4	17.30	17.30
	♀	6	20.55	17.30
		7	17.30	17.30
		8	17.30	17.30
T-1982 100 mg/kg	♂	10	17.30	17.30
		11	17.30	17.30
		12	17.30	17.30
		13	20.55	24.34
	♀	14	18.86	18.86
		15	17.30	18.86
		16	15.88	17.30
		17	17.30	20.55
T-1982 200 mg/kg	♂	18	17.30	20.55
		19	17.30	17.30
		20	17.30	17.30
		21	18.86	20.55
	♀	22	18.86	18.86
		23	17.30	17.30
		24	20.55	18.86
		25	17.30	17.30
T-1982 400 mg/kg	♂	26	17.30	18.86
		27	20.55	20.55
		28	20.55	18.86
		29	18.86	18.86
	♀	31	15.88	17.30
		32	20.55	17.30
		33	20.55	20.55
		34	17.30	18.86
Recovery study Control	♂	5	18.86	17.30
	♀	9	18.86	17.30
Recovery study 400 mg/kg	♂	30	20.55	18.86
	♀	35	18.86	18.86

た。対照群では No. 7♀ の腎に軽度の増加が、100 mg/kg 投与群では No. 10♂ の胸腺の軽度減少と No. 13♂ の精巣の軽度減少が、200 mg/kg 投与群では No. 20♂ の顎下腺の軽度増加と No. 23♀, No. 24♀, No. 25♀ の脾の中等度増加が、また、400 mg/kg 投与群では No. 27♂ の脾の中等度増加、甲状腺の軽度減少と、No. 34♀ の胸腺の軽度減少などが臓器重量や重量体重比の変化としてのおおの認められた。回復試験には、対照群と比較して特に問題となる変化はなかった。

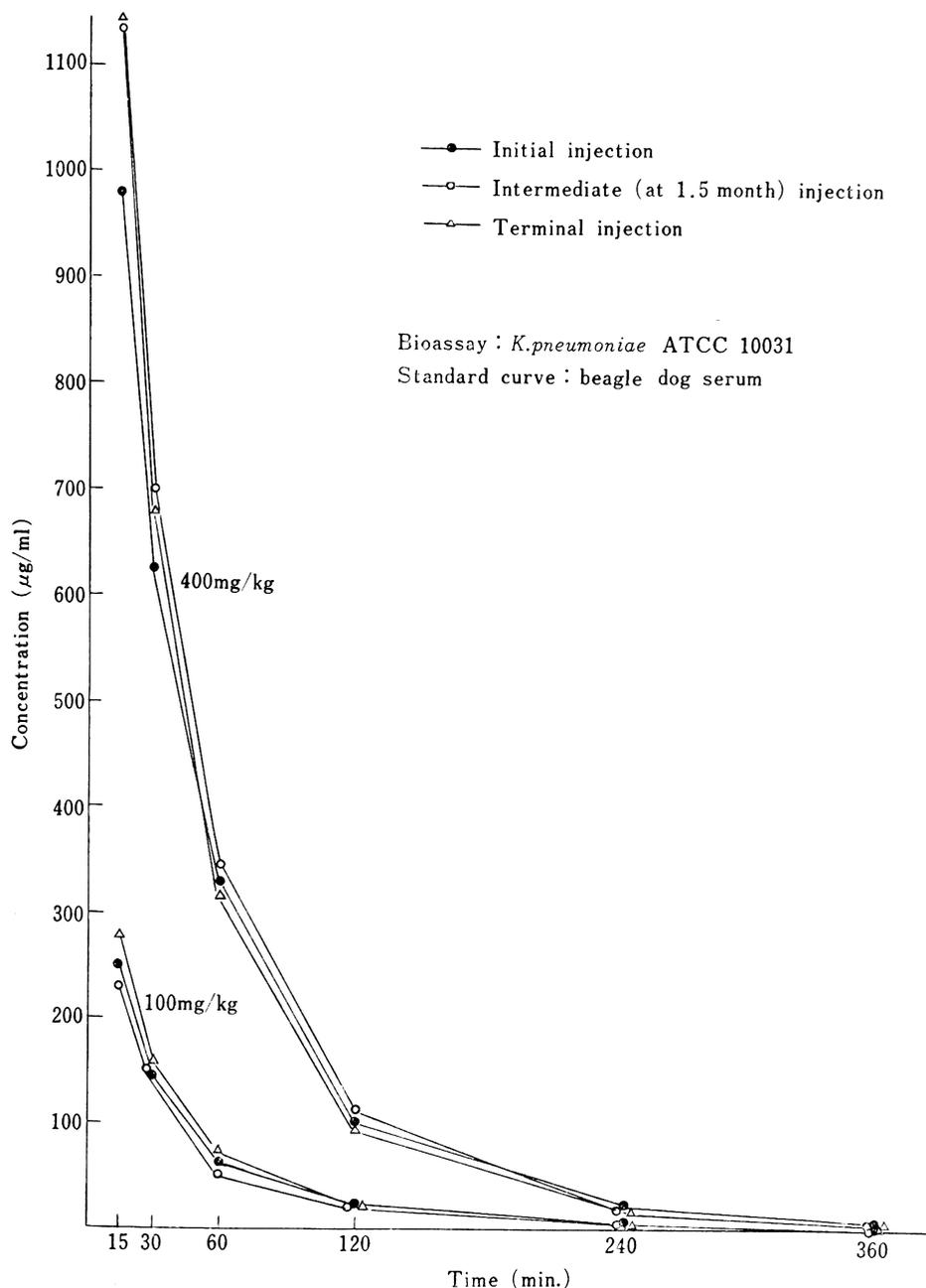
13) 剖検時肉眼所見

Table 21に示すように、100 mg/kg 投与 No. 10♂ では胸腺の萎縮が、200 mg/kg 投与 No. 22♀では限局した脾被膜の線維性肥厚が、また、同群の No. 23♀では脾表面から突出した柔らかい突起が1カ所観察された。400 mg/kg 投与 No. 27♂では比較的明瞭な脾の腫大がみられた。また、同群の No. 34♀では胸腺の萎縮と腎剖面の微細な線状の灰白色変色が観察された。回復試験の剖検所見には特に異常が認められなかった。

14) 組織学的検査

結果を Table 22に示す。肝のグ氏鞘の単核球を主とする軽い細胞浸潤 (Photo. 1) が、200 mg/kg 投与8例中4例 (No. 21♂, No. 23♀, No. 24♀, No. 25♀) と400 mg/kg 投与8例中1例 (No. 27♂) に認められた。腎では、偶発所見と思われる集合管腔の軽度カルシウム沈着 (No. 19♂) と腎盂移行上皮下のリンパ球浸潤 (No. 20♂) が投与量とは無関係に出現していた。また、400 mg/kg 投与の1例 (No. 34♀) には、肉眼所見での腎の灰白色線状変色部位に一致すると思われる腎皮質尿管上皮の水腫変性 (Photo. 2) が中等度に認められた。腸間膜リンパ節の軽度のヘモジリン沈着が対照群を含む各群に薬剤投与とは無関係に認められた。肉眼的に胸腺の萎縮をみた2例 (No. 10♂, No. 34♀) では、胸腺皮質のリンパ球が中等度に減少していた。脾では、肉眼的に脾被膜の限局性肥厚をみた No. 22♀に被膜の線維性肥厚と軽度のリンパ濾胞の萎縮がみられた。No. 23♀で肉眼的に観察された脾表面からの突出部位には中等度のうっ血がみられただけであった。また、脾重量が増加していた400 mg/kg 投与の No. 27♂の脾には、特に形態的異常が観察できなかった。脾のヘモジリン沈着が100 mg/kg 投与1例、200 mg/kg 投与2例、400 mg/kg 投与2例におおの認められた。投与部位 (血管穿刺部位) の血管周囲には、出血や細胞浸潤、浮腫、線維化など滲出性炎の所見 (Photo. 3) がT-1982投与群に若干強く観察された。他の諸臓器には特記すべき組織学的異常は認められなかった (Photo. 4~7)。回復試験では特記

Fig. 4 Drug concentrations in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months (n=4)



すべき異常はなかった。

Ⅲ. 総括と考察

新規セファマイシン系抗生物質である T-1982 のビーグル犬 3 カ月間静脈内投与亜急性毒性試験を 100, 200, 400 mg/kg/day 投与群と生理食塩水投与対照群を設定して行なった。症状, 発育, 摂餌量, 尿検査結果には薬

剤投与に起因する変化はみられなかった。

血液検査では, 投与 2 カ月後の検査で 400 mg/kg 投与群の 10 例中 4 例に, 赤血球数, ヘモグロビン, ヘマトクリット値の軽度減少と軽度の網赤血球数の増加がみられた。しかし, 3 カ月後検査では, 投与を継続しているにもかかわらず, この変化が著しく改善されていた。こ

Table 16 Absolute organ weights in male beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Body weight (kg)	Organ weight (g)													
				Brain	Submaxillary glands	Thyroids	Thymus	Heart	Lung	Liver	Kidney		Spleen	Pancreas	Adrenals	Testis	
											Left	Right				Left	Right
Control (saline)	♂	1	10.7	70	11.49	1.11	5.32	102	78	336	24.74	24.88	31.23	27.55	1.77	5.66	5.70
		2	11.2	72	12.56	1.40	9.41	124	90	397	26.82	25.07	31.76	33.49	1.25	7.61	7.52
		3	11.4	76	11.74	1.02	8.84	96	76	324	27.20	23.89	26.00	32.28	1.77	4.76	6.06
		4	13.2	90	14.52	1.70	5.30	106	89	314	38.68	41.12	45.55	45.52	1.42	7.40	9.42
	Mean	11.6	77	12.58	1.31	7.22	107	83	343	29.36	28.74	33.64	34.71	1.55	6.36	7.18	
T-1982 100 mg/kg	♂	10	10.6	70	12.02	1.29	2.26	91	78	318	24.11	24.06	28.54	30.82	1.44	6.00	5.94
		11	10.7	89	10.11	1.34	10.63	99	85	366	26.75	26.43	35.58	34.33	1.73	7.70	7.75
		12	11.6	90	11.22	0.90	5.84	113	96	357	27.06	27.78	42.06	33.08	1.74	7.80	7.75
		13	9.6	74	10.41	1.00	7.06	83	68	284	27.06	27.11	26.90	29.80	1.60	3.50	3.00
	Mean	10.6	81	10.94	1.13	6.45	97	82	331	26.25	26.35	33.27	32.01	1.63	6.25	6.11	
T-1982 200 mg/kg	♂	18	10.8	74	11.15	1.18	4.49	90	81	387	24.86	24.22	24.22	28.14	1.77	4.94	4.77
		19	10.8	82	12.40	1.24	8.66	105	87	325	25.79	24.14	32.80	34.23	1.40	8.36	8.70
		20	11.8	64	13.64	1.63	14.44	100	82	386	25.71	24.48	37.45	25.93	1.60	5.70	5.44
		21	12.6	88	12.26	0.98	7.34	102	78	392	33.38	34.06	48.14	26.77	1.56	6.25	6.31
	Mean	11.5	77	12.36	1.26	8.73	99	82	373	27.44	26.73	35.65	28.77	1.58	6.31	6.31	
T-1982 400 mg/kg	♂	26	10.6	78	10.59	1.53	9.01	88	74	316	26.60	26.04	31.40	33.62	1.59	5.44	5.09
		27	12.2	84	13.43	0.66	6.58	101	82	328	24.77	24.26	80.40	36.40	1.53	7.62	8.98
		28	11.2	95	12.20	0.86	5.00	102	94	366	26.38	26.15	47.57	27.58	1.11	8.02	7.79
		29	9.6	75	10.59	1.00	11.67	92	75	352	23.84	22.70	38.72	29.33	1.57	5.93	5.74
	Mean	10.9	83	11.70	1.01	8.07	96	81	341	25.40	24.79	49.52	31.73	1.45	6.75	6.90	

Table 17 Absolute organ weights in female beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Body weight (kg)	Organ weight (g)												
				Brain	Submaxillary glands	Thyroids	Thymus	Heart	Lung	Liver	Kidney		Spleen	Pancreas	Adrenals	Ovaries
											Left	Right				
Control (saline)		6	10.6	88	11.34	1.17	7.83	103	74	304	27.59	28.39	24.33	27.46	1.85	1.01
	♀	7	11.8	74	8.90	1.00	8.02	87	70	336	50.00	49.65	31.35	36.62	1.35	1.90
		8	8.2	72	8.49	1.08	5.82	69	58	292	20.66	18.83	26.20	28.22	1.43	1.03
	Mean		10.2	78	9.58	1.08	7.22	86	67	311	32.75	32.29	27.29	30.77	1.54	1.31
T-1982 100 mg/kg		14	11.2	82	9.13	1.10	6.76	95	69	316	26.05	24.36	29.02	34.82	1.49	0.96
	♀	15	11.2	86	14.98	1.15	4.85	104	76	351	23.85	24.15	25.00	29.98	1.72	0.82
		16	11.6	81	11.03	1.46	7.18	91	72	381	30.21	25.47	31.20	37.86	1.95	1.46
	Mean	17	11.4	62	9.86	1.48	12.15	105	72	356	26.61	26.10	28.00	30.40	1.42	1.24
T-1982 200 mg/kg		22	10.0	84	8.40	0.84	6.34	89	81	277	25.21	26.46	39.34	25.62	1.20	0.95
	♀	23	10.4	88	9.68	1.15	7.50	96	83	298	25.62	25.45	62.50	25.82	1.42	1.10
		24	9.6	84	9.85	1.36	4.70	82	76	352	27.23	26.89	62.85	22.95	1.40	0.74
	Mean	25	10.1	90	11.66	1.17	8.69	72	74	335	23.79	25.06	64.95	28.34	2.02	1.24
T-1982 400 mg/kg		31	10.0	87	9.90	1.13	6.81	85	79	316	25.46	25.97	57.41	25.68	1.51	1.01
	♀	32	10.5	78	9.82	1.31	7.07	82	62	309	27.64	25.81	30.99	30.29	1.95	1.67
		33	10.4	64	10.00	1.04	9.77	94	79	342	23.50	22.83	35.06	32.69	1.51	0.98
	Mean	34	9.4	70	11.55	0.70	2.89	128	78	264	25.24	25.99	25.94	22.26	1.56	1.45
		Mean	10.2	72	10.13	1.06	6.15	98	72	314	25.35	24.57	33.07	29.71	1.70	1.37

Table 18 Relative organ weights in male beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

	Sex	Dog No.	Relative organ weight (%)													
			Brain	Submaxillary glands	Thyroids	Thymus	Heart	Lung	Liver	Kidney		Spleen	Pancreas	Adrenals	Testis	
										Left	Right				Left	Right
Control (saline)	♂	1	0.65	0.11	0.010	0.05	0.95	0.73	3.14	0.23	0.23	0.29	0.26	0.017	0.05	0.05
		2	0.64	0.11	0.013	0.08	1.10	0.80	3.55	0.24	0.22	0.28	0.30	0.011	0.07	0.07
		3	0.67	0.10	0.009	0.08	0.84	0.67	2.84	0.24	0.21	0.23	0.28	0.016	0.04	0.05
		4	0.68	0.11	0.013	0.04	0.80	0.67	2.38	0.29	0.31	0.35	0.35	0.011	0.06	0.07
	Mean	0.66	0.11	0.011	0.06	0.92	0.72	2.98	0.25	0.24	0.29	0.30	0.014	0.06	0.06	
T-1982 100 mg/kg	♂	10	0.66	0.11	0.012	0.02	0.86	0.74	3.00	0.23	0.23	0.27	0.29	0.014	0.06	0.06
		11	0.83	0.09	0.013	0.10	0.93	0.79	3.42	0.25	0.25	0.33	0.32	0.016	0.07	0.07
		12	0.78	0.10	0.008	0.05	0.97	0.83	3.08	0.23	0.24	0.36	0.29	0.015	0.07	0.07
		13	0.77	0.11	0.010	0.07	0.87	0.71	2.96	0.28	0.28	0.28	0.31	0.017	0.04	0.03
	Mean	0.76	0.10	0.011	0.06	0.91	0.77	3.12	0.25	0.25	0.31	0.30	0.016	0.06	0.06	
T-1982 200 mg/kg	♂	18	0.69	0.10	0.011	0.04	0.83	0.75	3.58	0.23	0.22	0.22	0.26	0.016	0.05	0.04
		19	0.76	0.12	0.011	0.08	0.97	0.81	3.01	0.24	0.22	0.30	0.32	0.013	0.08	0.08
		20	0.54	0.17	0.014	0.12	0.85	0.70	3.27	0.22	0.21	0.32	0.22	0.014	0.05	0.05
		21	0.70	0.10	0.008	0.06	0.81	0.62	3.11	0.27	0.27	0.38	0.21	0.012	0.05	0.05
	Mean	0.67	0.12	0.011	0.08	0.87	0.72	3.24	0.24	0.23	0.31	0.25	0.014	0.06	0.06	
T-1982 400 mg/kg	♂	26	0.74	0.10	0.014	0.09	0.83	0.70	2.98	0.25	0.25	0.30	0.32	0.015	0.05	0.05
		27	0.69	0.11	0.005	0.05	0.83	0.67	2.69	0.20	0.20	0.66	0.30	0.013	0.06	0.07
		28	0.85	0.11	0.008	0.05	0.91	0.84	3.27	0.24	0.23	0.43	0.25	0.010	0.07	0.07
		29	0.78	0.11	0.010	0.12	0.96	0.78	3.67	0.25	0.24	0.40	0.31	0.016	0.06	0.06
	Mean	0.77	0.11	0.009	0.08	0.88	0.75	3.15	0.24	0.23	0.45	0.30	0.014	0.06	0.06	

Table 19 Relative organ weights in female beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Sex	Dog No.	Relative organ weight (%)												
		Brain	Submaxillary glands	Thyroids	Thymus	Heart	Lung	Liver	Kidney		Spleen	Pancreas	Adrenals	Ovaries
									Left	Right				
Control (saline)	6	0.83	0.11	0.011	0.07	0.97	0.70	2.87	0.26	0.27	0.23	0.26	0.017	0.010
	♀	7	0.63	0.08	0.008	0.74	0.59	2.85	0.42	0.42	0.27	0.31	0.011	0.016
	8	0.88	0.10	0.013	0.07	0.84	0.71	3.56	0.25	0.23	0.32	0.34	0.017	0.013
	Mean	0.78	0.10	0.011	0.07	0.85	0.67	3.09	0.31	0.31	0.27	0.30	0.015	0.013
T-1982 100 mg/kg	14	0.73	0.08	0.010	0.06	0.85	0.62	2.82	0.23	0.22	0.26	0.31	0.013	0.009
	♀	15	0.77	0.13	0.010	0.93	0.68	3.13	0.21	0.22	0.22	0.27	0.015	0.007
	16	0.70	0.10	0.013	0.07	0.78	0.62	3.28	0.26	0.22	0.27	0.33	0.017	0.013
	17	0.54	0.09	0.013	0.11	0.92	0.63	3.12	0.23	0.23	0.25	0.27	0.012	0.011
Mean	0.69	0.10	0.012	0.07	0.87	0.64	3.09	0.23	0.22	0.25	0.30	0.014	0.010	
T-1982 200 mg/kg	22	0.84	0.08	0.008	0.06	0.89	0.81	2.77	0.25	0.27	0.39	0.26	0.012	0.010
	♀	23	0.85	0.09	0.011	0.07	0.80	2.87	0.25	0.25	0.60	0.25	0.014	0.011
	24	0.88	0.10	0.014	0.05	0.85	0.79	3.67	0.28	0.28	0.66	0.24	0.015	0.008
	25	0.89	0.12	0.012	0.09	0.71	0.73	3.32	0.24	0.25	0.64	0.28	0.020	0.012
Mean	0.87	0.10	0.011	0.07	0.84	0.78	3.16	0.26	0.26	0.57	0.26	0.015	0.010	
T-1982 400 mg/kg	31	0.74	0.09	0.012	0.07	0.78	0.59	2.94	0.26	0.25	0.30	0.29	0.019	0.016
	♀	32	0.62	0.10	0.010	0.09	0.76	3.29	0.23	0.22	0.34	0.31	0.015	0.009
	33	0.73	0.09	0.012	0.05	0.84	0.65	3.28	0.24	0.23	0.39	0.32	0.017	0.013
	34	0.75	0.12	0.007	0.03	1.36	0.83	2.81	0.27	0.28	0.28	0.24	0.017	0.015
Mean	0.71	0.10	0.010	0.06	0.97	0.71	3.08	0.25	0.25	0.33	0.29	0.017	0.013	

Table 21 Gross findings in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Exp. group	Sex	Dog No.	Gross findings
Control (saline)	♂	1	No remarkable changes
		2	No remarkable changes
		3	No remarkable changes
		4	No remarkable changes
	♀	6	No remarkable changes
		7	No remarkable changes
		8	No remarkable changes
T-1982 100 mg/kg	♂	10	Atrophy of the thymus
		11	No remarkable changes
		12	No remarkable changes
		13	No remarkable changes
	♀	14	No remarkable changes
		15	No remarkable changes
		16	No remarkable changes
		17	No remarkable changes
T-1982 200 mg/kg	♂	18	No remarkable changes
		19	No remarkable changes
		20	No remarkable changes
		21	No remarkable changes
	♀	22	Localized fibrotic thickening of the splenic capsule
		23	A softy extrusion from the splenic surface
		24	No remarkable changes
		25	No remarkable changes
T-1982 400 mg/kg	♂	26	No remarkable changes
		27	Splenomegaly
		28	No remarkable changes
		29	No remarkable changes
	♀	31	No remarkable changes
		32	No remarkable changes
		33	No remarkable changes
		34	Grayish white lines appeared bilaterally on the cut surface of the kidney. Atrophy of the thymus
Recovery study Control	♂	5	No remarkable changes
	♀	9	Slight congestion of the liver
Recovery study 400 mg/kg	♂	30	No remarkable changes
	♀	35	No remarkable changes

Table 22 Histological findings in beagle dogs injected intravenously with T-1982 for 3 months

Exp. group	Control (saline)		T-1982 100 mg/kg		T-1982 200 mg/kg		T-1982 400 mg/kg		Recovery	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	Con- trol	400 mg/ kg
Dog numbers	1 2 3 4	6 7 8	10 11 12 13	14 15 16 17	18 19 20 21	22 23 24 25	26 27 28 29	31 32 33 34	5 9	30 35
Liver : Focal cell infiltration in the portal areas	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Kidney : Calcium deposition in the collecting tubular lumina	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Lymphocyte infiltration under the transitional epithelium of the pelvis	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Hydropic change of the cortical tubular epithelial cells	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Mesenteric lymph nodes : Hemosiderin deposition	- + - -	- + - -	- + - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Thymus : Decrease in number of cortical lymphocytes	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Spleen : Fibrotic thickening of the capsule	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Atrophy of the folliculi	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Congestion	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Hemosiderin deposition	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -
Injected area : Hemorrhage and exudative inflammation	- - - +	+ - - +	+ + + -	+ + + +	- - + +	- - + +	- - + +	- - + +	- - + +	- - + +

There were no significant changes in other organs.

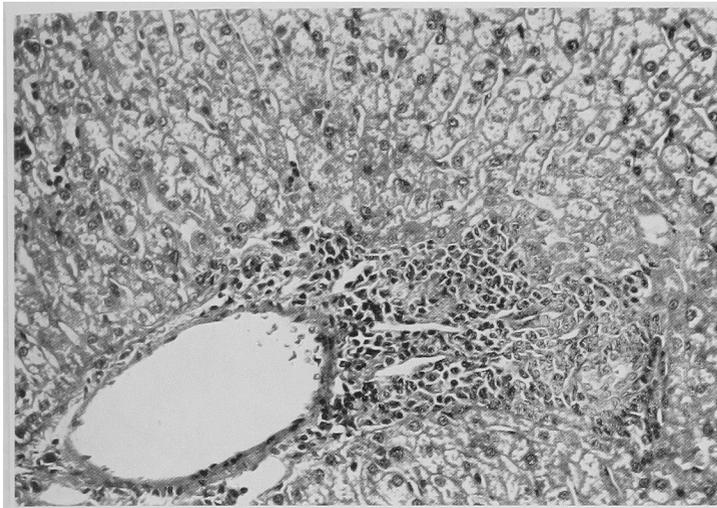


Photo. 1 Liver from a beagle dog intravenously given T-1982 200mg/kg/day for 3 months (No. 23 female). Showing the focal cell infiltration of the portal areas. $\times 220$ H. E. staining.

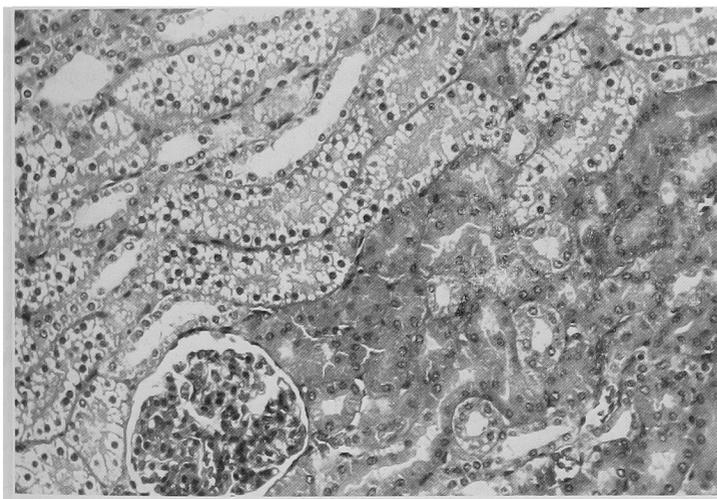


Photo. 2 Kidney from a beagle dog intravenously given T-1982 400mg/kg/day for 3 months (No. 34 female). Hydropic change is observed in the proximal tubular epithelium. $\times 220$ H. E. staining.

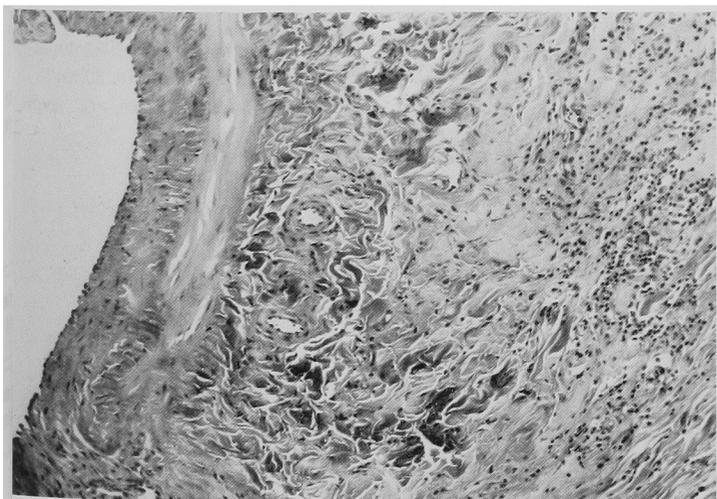


Photo. 3 The injection site from a beagle dog intravenously given T-1982 200 mg/kg/day for 3 months (No. 23 female). Cell infiltration, edema and fibrosis around the blood vessel are observed. $\times 110$ H. E. staining.

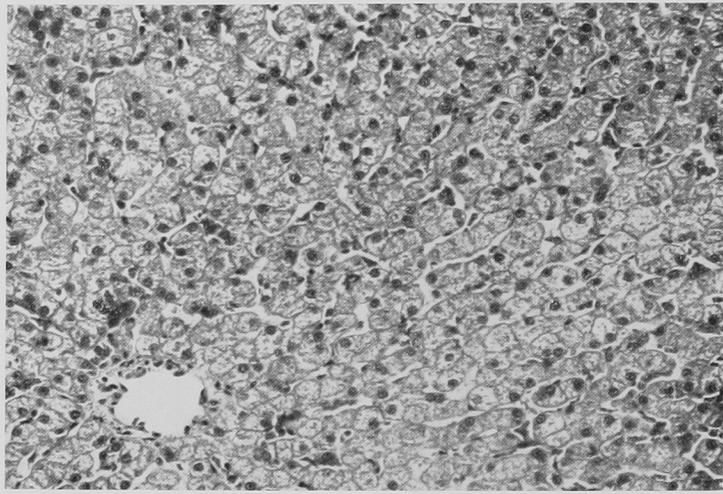


Photo. 4 Liver from a beagle dog intravenously given T-1982 400mg/kg/day for 3 months (No. 26 male). No significant changes are seen. $\times 220$ H. E. staining.

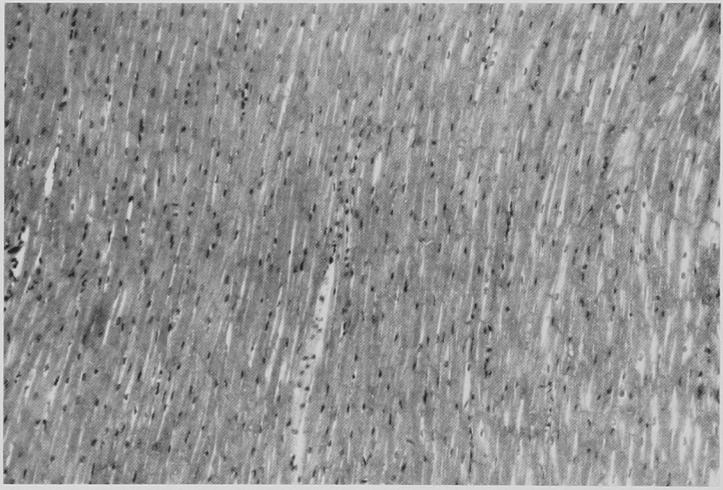


Photo. 5 Heart from a beagle dog intravenously given T-1982 400mg/kg/day for 3 months (No. 26 male). No significant changes are seen. $\times 110$ H. E. staining.

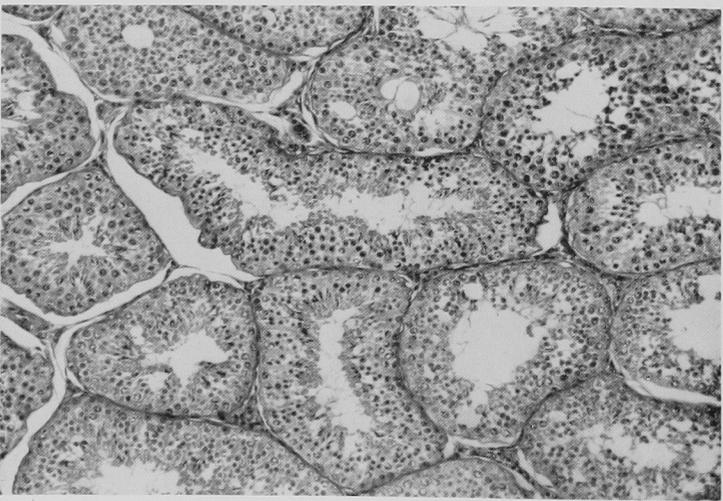


Photo. 6 Testis from a beagle dog intravenously given T-1982 400mg/kg/day for 3 months (No. 30 male). No significant changes are seen. $\times 110$ H. E. staining.

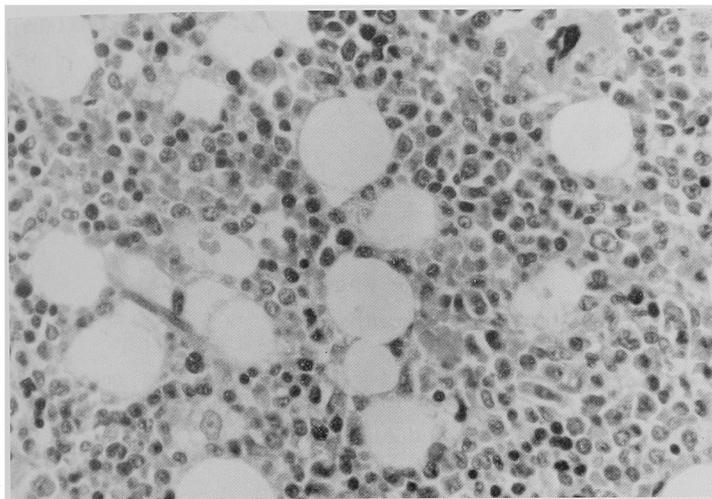


Photo. 7 Bone marrow from a beagle dog intravenously given T-1982 400 mg/kg/day for 3 months (No. 29 male). No significant changes are seen. $\times 440$ H. E. staining.

これらの例の骨髄には組織学的異常が認められなかった。

血液化学検査では、投与1カ月後と2カ月後の検査結果に、軽度のGPTやLDHの上昇をみられた例が200 mg/kgと400 mg/kg投与群の少数例に認められたが、3カ月後の検査結果はすべて正常値を示しており、また、これらの例の組織学的検査でもその原因となり得るような異常はみられなかった。

投与1～2カ月後をピークとする総コレステロール値の増加がほぼ投与量に比例して認められたが、3カ月後の検査値は正常値に復していた。この変化は特に雌で明瞭に現われていた。この血清総コレステロールの一過性の増加は、T-1982のラット皮下注射による亜急性毒性試験²⁾や、カニクイザルの筋肉内投与による亜急性毒性試験⁴⁾では認められず、イヌに固有の変化であった。血清コレステロールの上昇は、Oxacephem系抗生物質である6059-S⁵⁾やCEZのイヌ亜急性毒性試験結果にも現われている。その原因は明らかではないが、他の検査項目にはこれと関連があると思われる異常は認められなかった。

血清のセルロースアセテート膜電気泳動による蛋白分画では、陽極側に易動度の速いアルブミンの出現が投与量に比例して認められたが、回復試験ではほとんど回復しており、可逆的な変化であった。この現象はPenicillin系抗生物質やCephalosporin系抗生物質をヒトに投与した場合にも一過性に起きることが知られ⁶⁻⁸⁾、薬剤によって血清蛋白が修飾されて陰性荷電が増加するためと考えられているものと同様の変化であった。

組織学的には、薬剤注射部位の血管周囲に对照群よりは若干強い出血や滲出性炎、線維化などの変化をみた以外薬剤投与に起因すると思われる異常がなかった。た

だ、400 mg/kg投与の1例にみられた腎皮質尿細管上皮の水腫変性は、薬剤による変化かどうかは不明であるが注意すべき変化であろうと思われた。

以上の結果から本試験における最大無作用量は、総コレステロール値の一過性上昇や血清アルブミンの若干の可逆的な変化はみられるものの、投与期間中に貧血の発現をみなかった最大量である200 mg/kgとするのが妥当であろうと思われた。

本試験に関して、組織標本の診断とご校閲を賜った金沢大学医学部病理学第2講座、太田五六教授に深甚なる感謝の意を表します。

文 献

- 1) 正谷博之, 中村昌三, 河村泰仁, 永井章夫, 長沢峰子, 高木淑子, 和田直子, 米田豊昭, 高井 明: T-1982の毒性試験(第1報)マウス, ラットおよびイヌでの急性毒性試験. *Chemotherapy* 30(S-3): 232~241, 1982
- 2) 岩崎信一, 柴田哲夫, 佐藤 盛, 中山重仁, 米田豊昭, 高井 明: T-1982の毒性試験(第2報)ラット3カ月間皮下投与亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 30(S-3): 242~261, 1982
- 3) 米田豊昭: ビーグル犬2カ月間静脈内投与試験. 富山化学工業株式会社社内報
- 4) 河村泰仁, 永井章夫, 柴田哲夫, 佐藤 盛, 中山重仁, 稲場淳子, 米田豊昭, 高井 明: T-1982の毒性試験(第4報)カニクイザル3カ月間筋肉内投与亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 30(S-3): 293~318, 1982
- 5) 小林文彦, 松浦 稔, 長谷川紀昭, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-Sのイヌにおける亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 28(S-7): 1029~1071, 1980
- 6) ARVAN, D. A.; B. S. BLUMBERG & L. MELARTIN:

Transient "bisalbuminemia" induced by drugs.
Clin. Chim. Acta 22 : 211~218, 1968

- 7) 浅井紀一, 高阪 彰, 渡辺有三, 高木由嬉恵, 沢田光徳, 岸 常規, 岩田英世, 小林快三: 抗生剤投与症例に出現した血清アルブミンおよびその他

の蛋白異常の臨床病理学的検討。臨床病理(補冊), 160, 1978

- 8) 土屋達行, 河野均也: 二峰性アルブミンについて。臨床検査 24 : 732~735, 1980

TOXICITY TESTS OF T-1982 (III)

Subacute toxicity test in beagle dogs
intravenous injection for 3 months

TOYOAKI YONEDA, YASUHITO KAWAMURA, TETSUO SHIBATA, SHIGERU SATO,
AKIO NAGAI, SHIGEHITO NAKAGAWA and AKIRA TAKAI
Research Laboratory, Toyama Chemical Co., Ltd.

Thirty-five beagle dogs (18 males, 17 females) distributed into three T-1982 groups at dose levels of 400, 200 and 100 mg/kg/day and a saline control group received daily intravenous injection for 3 months. Two (1 male, 1 female) control dogs and 2 (1 male, 1 female) dogs at 400 mg/kg were maintained for 1 month for a recovery study after the termination of 3 months administration.

The following results were obtained.

1) There were no mortality, toxic signs or significant toxic effects on body weight gain, urinalysis, ECG, organ weight and microscopic findings attributable to the injection of T-1982.

2) Four of 8 dogs receiving the high dose of 400 mg/kg/day showed the slight decrease of red blood cells, hemoglobin and hematocrit and slight increase of reticulocytes in the 2nd month. However, these hematological changes were not distinctly observed in the 3rd month. No related microscopic abnormality of the bone marrow was observed.

3) Dose-related total cholesterol elevation was observed in the 1st and 2nd month examinations. However, all dogs in each group showed values within normal range in the 3rd month. This phenomenon was clearer in the female dogs than in the male dogs.

4) In serum electrophoresis, fast albumin component with the faster mobility to plus pole was observed in T-1982 dosing dogs with the dose-dependence. However, the above fast albumin component diminished distinctly in the recovery study.

5) In this subacute toxicity study, the maximum safety dose of T-1982 was estimated to be 200 mg/kg/day