

NY-198のマウスおよびラットにおける急性毒性試験

猪俣 哲行・青木 康治・下 武男・山崎 光雄

北陸製薬株式会社 中央研究所

新しいピリドンカルボン酸系の合成抗菌剤 NY-198の急性毒性をマウスおよびラットを用いて検討し、次の結果を得た。

1) LD₅₀値 (mg/kg) は ICR 系マウスの経口投与で雄1746, 雌1608, 静脈内投与で雄253, 雌272, 皮下投与で雄1535, 雌1248, SD 系ラットの経口投与で雄2133, 雌2323, 静脈内投与で雄338, 雌328, 皮下投与で雄2000以上, 雌1637であった。また, ddY 系マウスあるいは Wistar 系ラットの経口投与ではそれぞれ雄1899, 雌1770, 雄1556, 雌1563であった。

2) 毒性症状としてマウス, ラットともにいずれの投与経路でも自発運動の低下, 呼吸抑制, 腹臥, 振せん, 痙攣が認められた。

3) 剖検の結果, マウスおよびラットの非経口投与例で注射局所に炎症や壊死が認められたが, 実質臓器に対する障害はいずれの種, 投与経路の場合にも認められなかった。

4) 以上のようにマウスおよびラットを用いた NY-198の急性毒性では, 性差, 種差あるいは系統差は認められなかった。

NY-198は北陸製薬株式会社中央研究所において新規に合成されたピリドンカルボン酸系の合成抗菌剤であり, 薬理学的に広範な抗菌スペクトルと優れた抗菌作用を有している。今回われわれは, 本剤の安全性評価の一環としてマウスおよびラットにおける急性毒性を検討したので報告する。

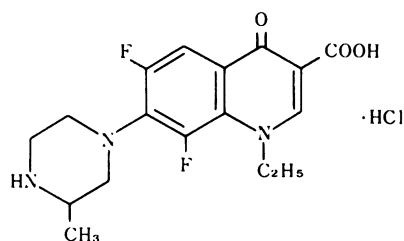
I 実験材料および方法

1. 被験物質

NY-198は Fig. 1 に示す構造を有する白色の結晶性の粉末で, においはなく, 水にほとんど溶けない。使用した被験物質のロット番号は, ICR 系マウスと SD 系ラットの経口投与では XK68B, ddY 系マウスと Wistar 系ラットの経口投与では ZF860であった。また, 静脈内投与ではマウス, ラットとも YH700を, 皮下投与ではマウスに ZF860, ラットに ZB690をそれぞれ使用した。

2. 使用動物および飼育条件

ICR 系マウス, SD 系ラット, Wistar 系ラット(以上日本チャールス・リバー(株))あるいは ddY 系マウス(静動協)をいずれも4週齢で購入し, 約1週間環境に馴化させた後, 発育良好で外観的に異常のない動物を選び使用した。投薬時の体重は, 経口投与の場合16~18時間絶食し, マウス雄20~25g, 雌17~22g, ラット雄118~135g, 雌102~118gであった。経口投与以外の場合はマウス



(±)-1-ethyl-6,8-difluoro-1,4-dihydro-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid hydrochloride

Fig. 1. Chemical structure and chemical name of NY-198

雄25~31g, 雌21~26g, ラット雄132~151g, 雌107~128gであった。動物は, 室温24±1℃, 相対湿度55±5%, 照明時間 午前7時~午後7時に設定した飼育室で, マウス, ラットともに1ケージ(サイズ: 175×245×125mm (マウス用), 265×425×200mm(ラット用), とともに日本クレア(株)あたり5匹を収容して飼育した。飼料は固形飼料(ICR 系マウスと SD 系ラットの経口投与ではオリエンタル酵母(株)の MF, それ以外は日本チャールス・リバー(株)の CRF-1)を, 水は次亜塩素酸ソーダ(ピューラックス; オーヤラックス(株))にて消毒し, それぞれ自由

に摂取させた。

3. 薬物投与

マウス、ラットともに投与は経口、皮下および静脈内の3経路より行ない、いずれも単回投与した。経口および皮下投与の場合、被験物質を0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC, 半井化学薬品㈱)水溶液に懸濁し、経口投与では金属製胃ゾンデを用いて胃内に強制投与し、皮下投与ではラットは23G、マウスは27G注射針を用いて背部皮下に注射した。静脈内投与の場合、被験物質を蒸留水に加熱溶解後0.1N 水酸化ナトリウム水溶液でpH5.5に調整し、27G注射針を用い尾静脈にマウスで0.4ml/min, ラットでは1.5ml/minの速度で注射した。投与量は、経口投与の場合SD系ラットで20ml/kg, それ以外は40ml/kgとした。また、静脈内投与はマウス、ラットともに15ml/kg, 皮下投与はマウスで30ml/kg, ラットで20ml/kgとした。

4. 投与用量

マウス、ラットともにいずれの投与経路でもLD₅₀近辺の5~7用量を投与した。また、1群の動物数は各投与量あたり7匹とした。

5. 観察、測定および検査

生死および一般状態を投与後14日間観察した。剖検は、死亡例は発見後速やかに、生存例は14日間の観察期間終了後エーテル麻酔により屠殺して行なった。体重は投与日から2日に1回計8回測定した。剖検時に変化の認められた組織、器官は10%中性緩衝ホルマリン液に固定後、常法に従ってパラフィン包埋、薄切し、ヘマトキシリン-エオジンで染色して検鏡した。ただし、静脈内投与あるいは皮下投与において認められた投与部位周囲の変化は、それぞれ肉眼的に同質のものと考えられたため、変化の強さを代表する動物を選択して組織検査を行なった。

6. LD₅₀値の算出

LD₅₀値は投与後14日間の各群の死亡率に基づきProbit法を用いて算出した。

II 実験成績

1. マウス

1) LD₅₀値 (Table 1)

LD₅₀値(mg/kg)はICR系マウスにおいて経口投与で雄1746, 雌1608, 静脈内投与では雄253, 雌272, 皮下投与では雄1535, 雌1248であった。また、ddY系マウスの経口投与では、雄1899, 雌1770であった。

2) 中毒症状および死亡経過

経口投与：ICR系マウスでは投与後約30分より、自発運動の低下、呼吸抑制および腹臥が観察された。死亡例ではさらに挙尾、振せん、痙攣、呼吸困難が観察され、

多くは投与後30分から6時間までに死亡した。生存例では、これらの症状は投与後24時間以内に消失した。ddY系マウスでも症状の消長や死亡経過はICR系マウスの場合とほぼ同様であった。

静脈内投与：死亡例では投与直後より痙攣、跳躍の後、呼吸困難、チアノーゼ、眼球突出がみられ、投与後5分以内に死亡した。生存例では振せん、呼吸不整、腹臥、眼瞼下垂、自発運動の低下が観察されたが、投与後1時間には、これらの症状はほぼ全例で消失した。他に、投与翌日より投与部位(尾)周囲に充血、浮腫、壊死が散見されたが、多くは観察終了日までに軽減あるいは回復した。

皮下投与：主な症状として自発運動の低下、眼瞼下垂、腹臥、振せん、痙攣、呼吸不整など経口投与とほぼ同様の症状が観察された。症状は投与後30分までに発現し、投与後24時間には全例で消失した。死亡は、そのほとんどが投与後1時間から7時間までに発現し、投与後24時間以降の死亡は認められなかった。その他、投与後2日目より観察終了日まで投与部位周囲に脱毛、硬結、壊死、痂皮あるいは膨隆が観察された。

3) 体重

投与経路を問わずほぼ全例で順調な体重増加を示した。

4) 剖検所見

死亡例：肺のうっ血が静脈内投与あるいは皮下投与で散見された他、投与部位皮下に薬液の貯留と浮腫、充血あるいは出血が皮下投与の多数例に、骨格筋の出血が少数例に観察された。

生存例：皮下投与において投与部位皮膚の痂皮、白色硬結や出血と骨格筋との癒着が認められた。また、静脈内投与では投与部位に充血あるいは痂皮が散見された。

5) 病理組織学的所見

死亡例：肺はいずれも著明にうっ血していた。皮下投与の投与部位皮膚では、筋組織までおよぶ炎症像が観察された。

生存例：皮下投与の投与部位の皮膚組織は潰瘍像を呈し、この変化は骨格筋にまで及んでいた。静脈内投与では、投与部位の皮膚に浅い潰瘍が観察される程度であった。

2. ラット

1) LD₅₀値 (Table 2)

LD₅₀値(mg/kg)はSD系ラットにおいて経口投与で雄2133, 雌2323, 静脈内投与では雄338, 雌328, 皮下投与では雄2000以上, 雌1637であった。また、Wistar系ラットの経口投与では雄1556, 雌1563であった。

2) 中毒症状および死亡経過

経口投与：SD系ラットでは、投与後約30分より自発運動の低下が観察され、その後振せんが認められた。死

Table 1. Mortality and LD₅₀ values of NY-198 in mice

Strain	Route	Dose (mg/kg)	Mortality		LD ₅₀ (mg/kg)	
			Male	Female	Male	Female
ICR	p. o.	965	0/7	0/7	1746 (1497~2037)*	1608 (1440~1797)
		1157	1/7	1/7		
		1389	3/7	2/7		
		1667	3/7	3/7		
		2000	5/7	7/7		
		2400	4/7	7/7		
		2880	7/7	7/7		
	i. v.	186	1/7	—	253 (221~ 288)	272 (256~ 289)
		205	3/7	—		
		225	1/7	1/7		
		248	4/7	1/7		
		273	4/7	3/7		
		300	5/7	7/7		
		330	—	6/7		
		363	—	7/7		
	s. c.	1005	0/7	1/7	1535 (1408~1674)	1248 (1112~1400)
		1206	1/7	3/7		
		1447	1/7	6/7		
		1736	6/7	6/7		
		2083	7/7	7/7		
		2500	7/7	7/7		
		3000	7/7	7/7		
ddY	p. o.	1157	0/7	1/7	1899 (1716~2102)	1770 (1554~2016)
		1389	0/7	1/7		
		1667	1/7	3/7		
		2000	6/7	4/7		
		2400	7/7	6/7		
		2880	6/7	7/7		
		3456	7/7	7/7		

LD₅₀ values were calculated by probit method

*: 95% confidence limits

亡例ではさらに腹臥，呼吸抑制，痙攣が観察され，多くの例で投与後2時間から6時間に死亡した。生存例ではこれらの症状は投与後24時間以内に消失した。Wistar系ラットでも症状の消長や死亡経過はSD系ラットの場合とはほぼ同様であった。

静脈内投与：死亡例では投与直後より，痙攣，腹臥，跳躍，呼吸抑制がみられ，投与後約5分までに死亡した。生存例では振せん，呼吸不整，自発運動の低下が観察されたが，投与後1時間ですべて回復した。他に，投与後2日目より投与部位周囲に充血，浮腫，壊死が認められた。

皮下投与：主な症状は自発運動の低下，眼瞼下垂，腹臥，呼吸不整，痙攣で経口投与の場合とはほぼ同様であった。これらの症状は投与後1時間までに発現し，多くの例で投与後7時間でも継続して認められた。死亡は，投与後3時間から24時間までに認められた。生存例では投与後24時間でも自発運動の低下が若干例に認められた。その他，投与翌日より投与部位周囲に壊死，硬結，脱毛，痂皮が観察された。

3) 体 重

主に皮下投与の高用量群で体重増加抑制が認められたが，その他の投与経路ではほぼ順調な体重増加を示した。

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of NY-198 in rats

Strain	Route	Dose (mg/kg)	Mortality		LD ₅₀ (mg/kg)	
			Male	Female	Male	Female
SD	p. o.	965	0/7	0/7	2133 (1874~2427)*	2323 (1957~2758)
		1157	0/7	0/7		
		1389	0/7	1/7		
		1667	2/7	1/7		
		2000	2/7	2/7		
		2400	5/7	4/7		
	i. v.	248	0/7	0/7	338 (320~ 356)	328 (313~ 344)
		273	0/7	0/7		
		300	1/7	1/7		
		330	4/7	4/7		
		363	4/7	6/7		
		399	7/7	7/7		
	s. c.	439	7/7	7/7	>2000	1637 (1427~1878)
		965	0/7	0/7		
		1157	0/7	1/7		
		1389	2/7	2/7		
		1667	3/7	4/7		
		2000	3/7	5/7		
Wistar	p. o.	1157	1/7	0/7	1556 (1399~1731)	1563 (1422~1718)
		1389	1/7	2/7		
		1667	5/7	5/7		
		2000	6/7	6/7		
		2400	7/7	7/7		
		2880	7/7	7/7		
		3456	7/7	7/7		

LD₅₀ values were calculated by probit method

*: 95% confidence limits

4) 剖検所見

死亡例：各投与経路で肺のうっ血が散見された他、皮下投与において、投与部位皮下に薬液の貯留、浮腫、充血あるいは出血が観察された。

生存例：皮下投与において、投与部位皮膚の痂皮、潰瘍と骨格筋との癒着が認められた。また、静脈内投与においても投与部位周囲に壊死が認められた。

5) 病理組織学的所見

死亡例：肺はいずれも著明にうっ血していた。皮下投与の投与部位では筋組織までおよぶ炎症像が観察された。

生存例：皮下投与の投与部位の皮膚組織で骨格筋にまでおよぶ潰瘍が認められた。また、静脈内投与でも投与部位周囲の浅い潰瘍が観察された。

III 考 察

合成抗菌剤である NY-198 の安全性試験の一環として、その急性毒性をマウスおよびラットを用いて検討した。毒性症状としてマウス、ラットに共通して、各投与経路とも自発運動の低下、呼吸抑制、腹臥、振せん、痙攣が認められ、これらの症状は NY-198 と構造の類似した ofloxacin¹⁾、norfloxacin²⁾、enoxacin³⁾ などの急性毒性試験で認められたものと本質的に同じであった。しかし、ofloxacin の報告にある投与後数日を経たからの遅延的な死亡は認められなかった。

LD₅₀ 値の比較から、マウス、ラットともにいずれの投与経路においても性差、種差は認められず、系統差も少なくとも経口投与では認め難かった。また、他薬剤との

比較において、LD₅₀値が経口あるいは皮下投与でいずれも約2～3倍小さかったが、これは、静脈内投与ではLD₅₀値がほぼ同等であることや皮下投与での症状発現が比較的速やかであることなどから、薬物の吸収速度の差に起因した結果であると推察された。一方、剖検で皮下投与や静脈内投与において投与部位局所の炎症や壊死が他薬剤と同様に認められたが、実質臓器に対する障害はなかった。

以上の試験結果から、NY-198の急性毒性は、LD₅₀値が経口投与や皮下投与で低いことと遅延死の発現が認められないことを除いて、他の構造類似化合物と比較して特異な作用はなく、大きな差異はないと考えられた。

(本研究は昭和59年11月より昭和61年12月に実施した。)

文 献

- 1) 大野広志, 稲毛富士郎, 赤羽浩一, 相原 清, 吉田貢由, 小野寺威: 合成抗菌剤 DL-8280のマウス, ラット, イヌおよびサルにおける急性毒性. *Chemotherapy* 32 (S-1): 1084~1090, 1984
- 2) 入倉 勉, 相島 博, 土屋 剛, 杉本 勉, 棚瀬裕文: AM-715の毒性学的研究 第一報 マウスおよびラットにおける急性毒性ならびにラットにおける亜急性毒性試験. *Chemotherapy* 29 (S-4): 766~784, 1981
- 3) 仙田博美, 中野幸穂, 山吉迪子, 矢寺成次, 吉田耕一: AT-2266の毒性学的研究 第一報 マウス, ラット, イヌおよびサルにおける急性毒性試験. *Chemotherapy* 32 (S-3): 192~198, 1984

ACUTE TOXICITY OF NY-198 IN MICE AND RATS

NORITAKA INOMATA, YASUJI AOKI, TAKEO SHIMO, MITSUO YAMAZAKI

Central Research Laboratory, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd., Fukui

The acute toxicity of NY-198, a newly synthesized antibacterial agent, was investigated in mice and rats.

1) The LD₅₀ values (mg/kg) were as follows:

animal	strain	route	LD ₅₀ (mg/kg)	
			male	female
mice	ICR	p. o.	1746	1608
		i. v.	253	272
		s. c.	1535	1248
	ddY	p. o.	1899	1770
rats	SD	p. o.	2133	2323
		i. v.	338	328
		s. c.	>2000	1637
	Wistar	p. o.	1556	1563

2) Toxic signs after administration included hypoactivity, hypopnea, prone position, tremor and convulsion, irrespective of the animal species or administration route.

3) Necropsy revealed that parenteral doses elicited irritable responses such as inflammation and/or necrosis in the injected area, but no systemic alterations were detected in any administration route.

4) There was no significant difference among sexes, strains or species in the acute toxicity of NY-198 in mice and rats.