

# ピロミド酸に関する魚病化学療法的研究 - ? : 魚類における吸収, 分布, 残留性および安全性

著者	片江 宏巳, 河野 薫, 森川 進, 田代 文男, 高橋 誓, 松丸 豊, 牛山 宗人, 宮崎 照雄, 窪田 三郎
雑誌名	魚病研究
巻	14
号	2
ページ	79-91
発行年	1979-09-01
その他のタイトル	Studies on Chemotherapy of Fish Diseases with Piromidic Acid-?. : Absorption, Distribution, Excretion and Toxicity of Piromidic Acid in Some Species of Fishes
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10076/2416">http://hdl.handle.net/10076/2416</a>

# ピロミド酸に関する魚病化学療法的研究—I.

## 魚類における吸収, 分布, 残留性および安全性

片江宏巳\*・河野 薫\*・森川 進\*\*・田代文男\*\*・高橋 誓\*\*\*・  
松丸 豊\*\*\*\*・牛山宗弘\*\*\*\*\*・宮崎照雄\*\*\*\*\*・窪田三期\*\*\*\*\*

(昭和 54 年 7 月 31 日受理)

### Studies on Chemotherapy of Fish Diseases with Piromidic Acid—I. Absorption, Distribution, Excretion and Toxicity of Piromidic Acid in Some Species of Fishes

Hiromi KATAE\*, Kaoru KOUNO\*, Susumu MORIKAWA\*\*, Fumio TASHIRO\*\*,  
Sei TAKAHASHI\*\*\*, Yutaka MATSUMARU\*\*\*\*, Munehiro USHIYAMA\*\*\*\*\*,  
Teruo MIYAZAKI\*\*\*\*\* and Saburoh S. KUBOTA\*\*\*\*\*

\*Dainippon Pharmaceutical Co. Ltd., Research Laboratories

\*\*Gifu Pref. Fish. Exp. Stn.

\*\*\*Shiga Pref. Fish. Exp. Stn.

\*\*\*\*Chiba Pref. Freshwater Fish. Exp. Stn.

\*\*\*\*\*Shizuoka Pref. Fuji Trout Cult. Lab.

\*\*\*\*\*Faculty of Fisheries, University of Mie

(Received July 31, 1979)

The pharmacokinetic and toxicological examinations of piromidic acid (PA, 8-ethyl-5, 8-dihydro-5-oxo-2-pyrrolidinopyrido[2, 3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid) were studied in ayu *Plecoglossus altivelis*, amago salmon *Oncorhynchus rhodurus* and eels *Anguilla japonica* and *A. anguilla* orally administered a single or multiple dose(s) of PA with the following results.

1. The absorption, distribution and excretion data obtained from the bioassay revealed that orally administered PA was easily absorbed and quickly became distributed in blood and major organs. Peak levels were reached in 3 h (in ayu) or 6-24 h (in amago salmon) after the administration of PA, followed by a gradual decrease. The levels of PA in liver and kidney were higher than in blood and plasma.

2. In acute toxicity study, the LD<sub>50</sub> value for ayu was more than 2,000 mg/kg. The subacute toxicity of PA was studied in ayu (80 mg/kg), amago salmon (800 mg/kg) and eels (400 mg/kg) administered PA once daily for 5-10 days. Except for accidental death of two eels, all fishes receiving PA survived without any clinical and histopathological changes.

3. Disappearance of PA from the tissues in amago salmon was studied after the administration of 40 mg/kg of PA for 7 consecutive days. Peak levels of PA in the tissues tested attained within 6-12 h following administration. A level below the assay limits (0.25-0.56 µg/ml or g) was reached 96 h post dosing. No evidence of long term residue was found in any of the tissues tested.

ピロミド酸 (以下 PA と略記) は本邦で新たに開発さ

れた抗菌薬で, その構造式は図1に示す通りである (MINAMI *et al.*, 1971)。PA はブドウ球菌およびグラム陰性の各種細菌に対して抗菌作用を有し, その抗菌スペクトルはかなり広く, 抗生物質およびサルファ剤とは交差耐性を示さず (SHIMIZU *et al.*, 1971), さらに, 薬剤耐性 R-プラスミドの伝達を阻害する作用を有することが

\* 大日本製薬株式会社総合研究所  
\*\* 岐阜県水産試験場  
\*\*\* 滋賀県水産試験場  
\*\*\*\* 千葉県内水面水産試験場  
\*\*\*\*\* 静岡県富士養鱈場  
\*\*\*\*\* 三重大学水産学部

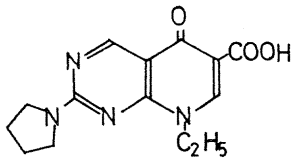


Fig. 1. Chemical structure of piromidic acid.

報用を有し、その作用はクロラムフェニコールに勝ることが見出された。また、経口投与により魚体内にすみやかに吸収されること、魚類に対する毒性が弱いことなどが明らかにされ、魚病の化学療法剤としての可能性を有することが示唆された (KATAE *et al.*, 1979)。

本報では、アユ (*Plecoglossus altivelis*)、アマゴ (*Oncorhynchus rhodurus*) およびウナギ (*Anguilla japonica*, *Anguilla anguilla*) を用いて PA の魚体内分布、残留性および安全性について検討した成績を報告

告されている (NAKAMURA *et al.*, 1976)。

本剤は病魚より分離された各種細菌に対しても抗菌作

Table 1. Tissue levels of piromidic acid after oral administration in cultured ayu  
Single dose: 10 mg/kg

Tissue	Fish no.	Time after administration (hr)				
		1	3	6	9	24
Blood	1	4.78*	8.03	4.78	4.60	<0.43
	2	6.49	7.92	4.54	3.52	<0.43
	3	0.58	6.84	2.60	1.82	<0.43
	4	2.34	6.24	2.97	—	<0.43
	5	2.74	4.72	3.73	—	<0.43
	average	3.39	6.75	3.72	3.31	<0.43
	SD	2.29	1.36	0.95	1.40	
SE	1.02	0.61	0.43	0.81		
Liver	1	7.62	10.95	7.41	6.45	<0.49
	2	10.22	10.55	6.72	6.07	<0.49
	3	1.52	10.56	4.02	4.32	<0.49
	4	6.27	10.15	5.62	—	<0.49
	5	10.22	6.71	5.30	—	<0.49
	average	7.17	9.78	5.81	5.61	<0.49
	SD	3.59	1.74	1.31	1.14	
SE	1.61	0.78	0.59	0.66		
Kidney	1	7.72	8.88	7.12	7.42	<0.59
	2	8.91	13.14	8.05	6.04	<0.59
	3	<0.59	9.47	4.45	2.84	<0.59
	4	3.48	8.73	4.73	—	<0.59
	5	3.86	12.61	5.24	—	<0.59
	average	4.79	10.47	5.92	5.43	<0.59
	SD	3.57	2.24	1.58	2.35	
SE	1.60	1.00	0.71	1.36		
Muscle	1	3.70	4.29	4.45	4.75	<0.19
	2	5.26	6.93	3.30	3.60	<0.19
	3	0.20	6.08	2.50	2.01	<0.19
	4	1.09	5.74	4.10	—	<0.19
	5	1.36	2.77	3.25	—	<0.19
	average	2.32	5.16	3.54	3.45	<0.19
	SD	2.09	1.64	0.80	1.38	
SE	0.93	0.73	0.36	0.79		

\* μg/g.

する。

### 材料および方法

#### 1. 吸収, 分布

試験魚としては養殖アユ (体重約 30 g), 養殖アマゴ (体重 90~100 g) を用いた。

PA は 0.5% Carboxymethyl cellulose 水溶液に懸濁 (アユ用) またはマス用粉末配合飼料に添加後水を加え練り固めて乾燥 (アマゴ用) し, それぞれアユおよび

アマゴに強制経口投与した。投与量は 10 および 40 mg/kg であった。投薬後アユは水温 19.6~22.4°C, アマゴは水温 13.0~13.7°C の流水々槽中に収容し, 所定時間後に 5 尾ずつとり上げ, 0.01% *m*-amino benzoic acid ethylester methanesulfonate (MS-222) 水溶液で軽く麻酔した後, 血液, 肝臓, 腎臓および筋肉を採取した。血液は尾柄切断により採血し, 定量用試料とした。アマゴの血液は 4,000 rpm, 15 分間遠沈後の血漿を定量用試料とした。各試料は採取後直ちに -20°C のフリーザー

Table 2. Tissue levels of piromidic acid after oral administration in cultured ayu  
Single dose: 40 mg/kg

Tissue	Fish no.	Time after administration (hr)					
		1	3	6	9	24	48
Blood	1	8.81*	15.18	14.39	7.51	<0.43	<0.43
	2	4.48	9.16	11.33	9.73	0.84	<0.43
	3	4.16	18.28	13.65	9.16	<0.43	<0.43
	4	6.75	13.65	8.24	4.24	0.78	<0.43
	5	11.95	10.47	8.75	—	<0.43	<0.43
	average	7.23	13.35	11.27	7.66	0.25	<0.43
	SD	3.24	3.66	2.78	2.47	0.44	
SE	1.45	1.64	1.24	1.23	0.20		
Liver	1	22.46	19.08	26.44	12.78	2.27	<0.49
	2	12.98	11.18	18.52	23.48	3.74	<0.49
	3	8.96	21.48	19.94	21.80	0.75	<0.49
	4	15.28	22.14	12.70	10.86	1.31	<0.49
	5	23.14	22.80	16.46	—	2.77	<0.49
	average	16.56	19.34	18.81	17.23	2.17	<0.49
	SD	6.13	4.77	5.06	6.33	1.18	
SE	2.74	2.13	2.26	3.17	0.53		
Kidney	1	11.60	28.18	29.46	13.83	<0.57	<0.57
	2	4.35	12.65	21.58	16.52	2.13	<0.57
	3	5.55	22.23	24.66	13.62	<0.57	<0.57
	4	9.00	23.24	16.77	4.48	1.60	<0.57
	5	18.06	17.79	18.33	—	1.23	<0.57
	average	9.71	20.82	22.16	12.11	0.99	<0.57
	SD	5.47	5.87	5.09	5.26	0.96	
SE	2.45	2.63	2.28	2.63	0.43		
Muscle	1	5.99	13.34	11.20	7.24	<0.19	<0.19
	2	1.69	7.79	9.27	11.37	0.62	<0.19
	3	1.28	15.43	14.99	10.27	<0.19	<0.19
	4	5.41	14.35	6.54	5.26	0.33	<0.19
	5	6.44	12.05	8.14	—	0.34	<0.19
	average	4.16	12.59	10.03	8.54	0.26	<0.19
	SD	2.48	2.96	3.25	2.80	0.26	
SE	1.11	1.32	1.45	1.40	0.12		

\*  $\mu\text{g/g}$ .

で凍結保存した。各組織の凍結試料 1g を秤量し、3ml の 1/15 M 磷酸緩衝液 (pH 6.0) と共にポリトロンホモジナイザー (Kinematica, Gmb. H.) にて磨砕し、(肝組織は沸騰水浴中で 10 分間加熱処理) 4,000 rpm, 15 分間遠沈後に上清を分離した。上清は 1/15 M 磷酸緩衝液 (pH 6.0) にて適宜希釈し定量用試料とした。PA の定量は *Escherichia coli* Kp を指示菌とする薄層カップ法により行なった (SHIMIZU *et al.*, 1971)。

## 2. 残留性

アマゴ (平均体重 75.2g) 1 群約 500 尾を用いて、PA の 40mg/kg を 1 日量として、1 日 1 回、7 日間投与した。投薬は PA を含むマス用飼料を自由摂餌させる方法により行なった。

試験魚は水温 13.0~13.9°C の流水々槽中で飼育し、所定の時間後に 6 尾ずつとり上げ、MS-222 で軽く麻酔の後、血液、肝臓、腎臓、脾臓および筋肉を採取した。その後は先述の方法により PA の定量を行なった。

## 3. 急性毒性および安全性

Table 3. Tissue levels of piromidic acid after oral administration in amago salmon  
Single dose: 10 mg/kg

Tissue	No. of fish	Time after administration (hr)					
		1	3	6	12	24	48
Plasma	1	<0.29*	0.75	2.06	2.22	1.95	1.39
	2	<0.29	0.68	1.53	2.52	2.45	1.84
	3	<0.29	0.93	3.39	2.78	2.33	0.80
	4	<0.29	0.56	2.92	2.42	1.99	0.83
	5	<0.29	<0.29	2.01	3.03	2.68	0.84
	average	<0.29	0.58	2.38	2.59	2.28	1.14
	SD		0.35	0.75	0.32	0.31	0.46
Liver	1	<0.74	2.01	5.02	3.49	3.61	2.22
	2	<0.74	1.91	4.07	4.21	4.12	3.16
	3	<0.74	3.30	6.12	4.91	3.85	1.37
	4	<0.74	1.82	5.48	4.12	3.16	1.04
	5	<0.74	<0.74	5.66	5.02	3.90	3.30
	average	<0.74	1.81	5.27	4.35	3.73	2.22
	SD		1.18	0.78	0.63	0.37	1.02
Kidney	1	<0.56	<0.56	2.97	3.23	4.33	2.47
	2	<0.56	<0.56	2.30	3.63	3.63	2.52
	3	<0.56	1.16	4.54	3.42	4.13	1.16
	4	<0.56	<0.56	4.03	3.12	3.89	1.39
	5	<0.56	<0.56	3.59	4.54	4.54	1.98
	average	<0.56	0.23	3.49	3.59	4.10	1.90
	SD		0.52	0.88	0.57	0.36	0.62
Muscle	1	<0.28	0.35	2.01	2.94	2.81	1.33
	2	<0.28	<0.28	1.23	3.33	3.78	1.60
	3	<0.28	0.44	2.44	3.38	2.89	0.59
	4	<0.28	0.32	2.41	2.85	2.51	0.61
	5	<0.28	<0.28	1.65	2.89	3.38	0.78
	average	<0.28	0.22	1.95	3.08	3.07	0.98
	SD		0.21	0.52	0.26	0.50	0.46
SE		0.09	0.23	0.11	0.23	0.20	

\*  $\mu\text{g/ml}$  or g.

急性毒性試験には平均体重 9.3 g のアユ 1 群 20 尾を用いた。PA はフィードオイルに懸濁し、1,000 および 2,000 mg/kg を強制経口投与した。投薬後、試験魚は水温 20.2~22.4°C の流水々槽中で 7 日間観察した。

安全性試験には平均体重 7 g のアユ 1 群 2.0 kg (283~295 尾)、体重 90~110 g のアマゴ 1 群 20 尾、平均体重 48.0~58.3 g のニホンウナギ 1 群 10 尾、体重約 30 g のヨーロッパウナギ 1 群 5 尾を用いた。アユは水温 19.6~20.8°C の流水々槽中に収容し、PA を含む飼料

(アユ用クランブル) を 1 日 1 回、10 日間自由摂餌させた。PA の投与量は 80 mg/kg/日、1 日の給餌率は魚体重の 2% であった。アマゴは水温 16.1~18.2°C の流水々槽中に収容し、PA を含む飼料(マス用)を 1 日 1 回、5 日間強制経口投与した。PA の投与量は 200, 400 および 800 mg/kg/日であった。

ヨーロッパウナギは水温 24.2~24.4°C の流水々槽中に収容し、PA を含む飼料(ウナギ用)の懸濁液を 1 日 1 回、10 日間強制経口投与した。PA の投与量は 100, 200

Table 4. Tissue levels of piromidic acid after oral administration in amago salmon  
Single dose: 40 mg/kg

Tissue	No. of fish	Time after administration (hr)					
		1	3	6	12	24	48
Plasma	1	<0.24*	1.87	5.19	4.79	6.67	4.46
	2	<0.24	1.46	4.55	7.42	7.83	3.89
	3	<0.24	1.47	3.14	3.68	7.82	4.19
	4	<0.24	0.87	5.54	5.85	9.29	4.14
	5	<0.24	1.67	4.14	6.16	7.04	4.94
	average	<0.42	1.47	4.51	5.58	7.73	4.32
	SD		0.37	0.94	1.42	1.01	0.40
Liver	1	<0.74	4.60	9.02	10.58	13.25	8.33
	2	<0.74	7.40	14.74	13.79	17.29	9.90
	3	<0.74	4.56	7.29	10.16	18.72	6.47
	4	<0.74	4.76	15.78	10.58	22.85	8.44
	5	<0.74	5.04	13.79	11.00	14.16	9.51
	average	<0.74	5.27	12.12	11.22	17.25	8.53
	SD		1.20	3.74	1.47	3.84	1.34
Kidney	1	<0.56	2.94	9.81	9.32	14.55	8.00
	2	<0.56	1.83	8.32	14.37	15.91	8.97
	3	<0.56	3.01	5.75	4.51	21.32	8.86
	4	<0.56	1.36	7.14	10.59	18.77	10.86
	5	<0.56	3.34	8.00	11.87	16.53	12.98
	average	<0.56	2.50	7.80	10.13	17.42	9.93
	SD		0.85	1.50	3.66	2.66	2.00
Muscle	1	<0.28	1.43	5.94	6.55	7.98	6.19
	2	<0.28	1.26	3.58	9.59	12.71	5.77
	3	<0.28	0.89	3.78	4.36	13.63	6.93
	4	<0.28	0.37	5.30	7.34	12.18	8.10
	5	<0.28	1.21	4.94	7.33	8.93	6.65
	average	<0.28	1.03	4.71	7.03	11.09	6.73
	SD		0.42	1.01	1.88	2.48	0.89
SE		0.19	0.45	0.84	1.11	0.40	

\*  $\mu\text{g/ml}$  or g.

**Table 5.** Disappearance of piromidic acid from amago salmon following repeated oral administration

Dose: 40 mg/kg/day, 7 days

Tissue	No. of fish	Time after final administration (hr)							Half-life (hr)
		3	6	12	24	48	72	96	
Plasma	1	13.00*	16.80	6.95	7.90	1.96	<0.25	<0.25	10.86
	2	10.06	11.44	12.82	10.21	1.52	0.34	<0.25	
	3	16.80	16.80	12.46	10.65	0.69	0.59	<0.25	
	4	9.78	11.77	9.78	5.53	6.68	<0.25	<0.25	
	5	5.23	9.64	15.65	0.69	3.21	<0.25	<0.25	
	6	5.41	12.19	12.73	9.04	3.04	<0.25	<0.25	
	average	10.05	13.11	11.73	7.34	2.85	0.16	<0.25	
	SE	4.45	2.99	2.99	3.74	2.10	0.25		
SD	1.82	1.22	1.22	1.53	0.86	0.10			
Liver	1	15.52	25.76	5.95	6.98	3.31	<0.56	<0.56	11.72
	2	20.26	10.14	12.21	10.41	2.28	0.71	<0.56	
	3	20.26	25.42	16.16	15.52	<0.56	0.90	<0.56	
	4	15.32	13.77	12.54	8.30	8.87	<0.56	<0.56	
	5	9.87	15.32	19.21	0.95	7.56	<0.56	<0.56	
	6	6.98	17.74	15.15	13.06	4.04	<0.56	<0.56	
	average	14.70	18.03	13.53	9.20	4.34	0.27	<0.56	
	SD	5.40	6.36	4.51	5.10	3.32	0.42		
SE	2.20	2.60	1.84	1.08	1.36	0.17			
Kidney	1	16.34	21.58	9.74	9.86	1.79	<0.45	<0.45	10.10
	2	10.64	9.26	15.54	12.38	1.09	0.63	<0.45	
	3	19.76	21.32	11.47	15.74	0.90	0.90	<0.45	
	4	14.04	13.18	19.02	11.05	11.92	<0.45	<0.45	
	5	8.47	18.32	35.34	<0.45	7.46	<0.45	<0.45	
	6	6.26	17.19	24.18	13.02	4.07	<0.45	<0.45	
	average	12.59	16.81	19.22	10.34	4.54	0.26	<0.45	
	SD	5.07	4.81	9.47	5.44	4.38	0.40		
SE	2.07	1.96	3.86	2.22	1.79	0.17			
Spleen	1-3**	12.86	13.45	6.57	9.40	0.73	<0.37	<0.37	16.08
	4-6**	5.15	11.66	12.89	4.07	3.35	<0.37	<0.37	
	average	9.02	12.56	9.73	6.74	2.04	<0.37	<0.37	
Muscle	1	13.64	17.66	9.24	8.64	2.95	<0.37	<0.37	9.78
	2	7.86	7.97	14.82	14.04	2.16	0.43	<0.37	
	3	14.23	16.07	10.58	12.97	1.35	0.73	<0.37	
	4	13.48	12.97	17.43	9.00	9.49	<0.37	<0.37	
	5	6.78	13.48	23.77	0.68	5.86	<0.37	<0.37	
	6	4.84	13.48	21.05	12.27	4.55	<0.37	<0.37	
	average	10.14	13.61	16.15	9.60	4.39	0.19	<0.37	
	SD	4.12	3.31	5.73	4.88	2.98	0.31		
SE	1.68	1.35	2.34	1.99	1.22	0.13			

\*  $\mu\text{g/ml}$  or  $\text{g}$ . \*\* Sample combined.†  $t_{1/2}=0.693/k$ .

**Table 6.** Acute oral toxicity of piromidic acid in cultured ayu.

Dose (mg/kg)	Body weight mean (g)	Experimental period (day)								Mortality (%)
		0	1	2	3	4	5	6	7	
2000	9.3	20*	20	20	20	20	20	20	20	0
1000	9.4	20	20	20	20	20	20	20	20	0
Control	9.3	20	20	20	20	20	20	20	20	0

\* Number of survivals.  
Water temp.: 20.2-22.4°C.

**Table 7.** Subacute oral toxicity of piromidic acid in cultured ayu

Group	Body weight (kg)		Survived/Tested
	initial	terminal	
80 mg/kg/day for 10 days	2.0	2.35	283/283
Control	2.0	2.45	293/293

Water temp.: 19.6-20.8°C.

**Table 8.** Summary of histopathological findings in cultured ayu after oral administration of piromidic acid

Organ and observation	Untreated control (initial)					Untreated control (terminal)					PA: 80 mg/kg				
	No. of fish					No. of fish					No. of fish				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Liver															
hepatocytic atrophy	-	-	-	-	-	+	-	±	+	-	+	±	+	±	±
hepatocytic necrosis	-	-	-	-	-	-	-	+	±	-	+	±	+	±	+
Kidney															
hyalindrop degeneration	+	+	±	+	+	+	+	+	+	-	±	+	+	+	+
hematopoietic tissue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alimentary canal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gills	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Skin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Muscle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Histopathological finding: -, no alteration; ±, very slight; +, slight; ±, moderate.  
Administration: Once a day for 10 days.  
Water temp.: 19.6-20.8°C.

および 400 mg/kg/日で、投与前に試験魚を 2% urethane 溶液中で軽く麻酔した。

ニホンウナギは水温 25.0~26.2°C および 29.4~31.0°C の流水々槽中に収容し、15% アラビヤゴム液中に懸濁した PA を 1 日 1 回、10 日間強制経口投与した。PA の投与量は 50, 100, 200 および 400 mg/kg/日で、投与前に試験魚を 0.01% MS-222 水溶液中で軽く麻酔した。投与期間中、各試験魚の一般症状および死魚数を

**Table 9.** Subacute oral toxicity of piromidic acid in amago salmon

Administration	Survived/Tested
800 mg/kg	20/20
400 mg/kg once a day for 5 days, po	20/20
200 mg/kg	20/20

Water temp.: 16.1-18.2°C.



Table 10. Summary of histopathological findings in

Organ and observation	Untreated control (initial)										Untreated control (terminal)									
	No. of fish										No. of fish									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Liver																				
hepatocytic atrophy	-	±	±	-	+	-	+	±	-	±	+	-	-	-	-	-	+	±	+	+
Spleen																				
deposition of hemosiderin	-	-	±	-	-	±	-	+	-	-	±	-	-	+	-	-	-	+	-	+
deposition of melanin	≡	±	+	≡	+	±	+	±	+	+	+	≡	+	+	+	-	+	+	+	+
Kidney																				
glomerulus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
renal tuble	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hematopoietic tissue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gills																				
Pseudodactylogyrus	-	-	+	+	-	+	≡	-	+	+	-	-	+	≡	-	+	+	-	-	-
epithelial hyperplasia	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Histopathological finding: -, no alteration; ±, very slight; +, slight; ≡, moderate; ≡, marked.  
Administration: Once a day for 10 days.

観察した。死魚および投薬終了日の翌日の生存魚 5~10尾をとり上げ開腹の後ホルマリン固定を行なった。固定後常法に従って組織切片を作成し、目的に応じて H-E 染色, ベルリン青染色, PAS-反応を施し病理組織学的観察を行なった。

結 果

1. 吸収, 分布

表 1 に示したように, PA の 10 mg/kg を経口投与したアユの血中濃度は, 投与後 1 時間で 3.39 μg/g となり, 3 時間でピーク値 (6.75 μg/g) を示し, 以後徐々に低下し, 24 時間では検出限界 (0.43 μg/g) 以下となった。肝臓, 腎臓および筋肉中の PA の濃度も血液と類似のパターンを示し, 投与後 3 時間でいずれも最高濃度となり, 24 時間では検出限界 (0.19~0.59 μg/g) 以下に低下した。肝臓および腎臓におけるピーク値はそれぞれ 9.78 および 10.47 μg/g で, 血中濃度よりも高値を示した。筋肉中の PA 濃度は血中濃度とほぼ同等であった。

PA の 40 mg/kg を経口投与後のアユにおける組織中濃度を表 2 に示した。各組織中の PA 濃度は, 10 mg/kg 投与時の約 2 倍の値を示したが, ピーク値を示す時間およびその後の推移は 10 mg/kg 投与時と類似していた。

PA の 10 および 40 mg/kg を経口投与後のアマゴにおける組織中濃度を表 3 および 4 に示した。表 3 に見られるように, 10 mg/kg 投与のアマゴでは, 血漿および肝臓の濃度は投与後 6~12 時間にピーク値を示したが,

腎臓および筋肉ではややおくれ 12~24 時間にピーク値を示した。ピーク時の血漿, 肝臓, 腎臓および筋肉における平均濃度はそれぞれ 2.59, 5.27, 4.10 および 3.08 μg/ml or g であった。

PA 40 mg/kg 投与後のアマゴでは, 表 4 に見られるように, 10 mg/kg 投与時のパターンとはやや異なり, 各組織中濃度は投与後 24 時間でピークとなり, 48 時間においてもかなり高値を示した。ピーク時の血漿, 肝臓, 腎臓および筋肉における平均濃度はそれぞれ 7.73, 17.25, 17.42 および 11.09 μg/ml or g で, いずれも 10 mg/kg 投与時の 3~4 倍の値であった。

2. 残留性

PA の 40 mg/kg/日, 7 日間投与後のアマゴにおける組織中濃度を表 5 に示した。血漿, 肝臓および脾臓では 6 時間後に, 腎臓および筋肉では 12 時間後にピーク値を示し, 時間の経過と共に濃度は低下し, 96 時間後にはいずれも検出限界以下 (0.25~0.56 μg/ml or g) となり, 特定の組織に長時間残留する傾向は認められなかった。血漿, 肝臓, 腎臓, 脾臓および筋肉におけるピーク時の平均濃度はそれぞれ 13.11, 18.03, 19.22, 12.56 および 16.15 μg/ml or g であった。

各組織中の PA 濃度が最高濃度に達した後の減少は一次式に従っており, 半減期 (half-life) は 9.78~16.08 時間であった。

3. 急性毒性および安全性

アユを用いて PA の経口投与による急性毒性につい

European eels after oral administration of piromidic acid

PA: 100 mg/kg									PA: 200 mg/kg										PA: 400 mg/kg									
No. of fish									No. of fish										No. of fish									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
+	+	+	+	±	±	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
+	-	+	-	±	-	-	-	±	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	+	±	±	+	+	+	+
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	

Water temp.: 24.2-24.4°C.

Table 11. Subacute oral toxicity of piromidic acid in Japanese eels

Water temp. (°C)	Dose* (mg/kg)	Experimental period (day)										Mortality (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
25.0-26.2	50	5**	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	100	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	200	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	400	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	20
	Untreated control	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
29.4-31.0	50	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	100	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	200	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	400	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0
	Gum arabic control	5	5	5	5	5	5	4	4	4	3	40

\* Administered once a day for 10 days.

\*\* Number of survivals.

て検討した成績を表6に示した。PAの1,000および2,000 mg/kgを投与後7日間の観察において、アユの一般症状に異常は認められず全例生存した。PAの経口投与によるアユにおけるLD<sub>50</sub>は2,000 mg/kg以上であった。

PAを飼料中に添加し、80 mg/kg/日、10日間投与によりアユにおける安全性を検討した成績を表7および8に示した。表7に見られるように、PA投与群は非投薬対照群と同様に全例生存し、両群の体重増加にも著差は

認められなかった。表8に見られるように、PA投与群の病理組織学的観察において、軽度の肝細胞萎縮および腎臓の尿細管上皮細胞の硝子滴変性がみられたが、これらの所見はいずれも対照群においても認められた。心臓、消化管、鰓、筋肉および皮膚には異常を認めなかった。

PAのアマゴに対する安全性について検討した成績は、表9に示したように、200~800 mg/kg/日の投与量において全例生存し、一般症状にも異常を認めなかつ

**Table 12.** Summary of histopathological findings in japanese eels after oral administration of piromidic acid

Organ and observation	Untreated control (terminal)					PA: 50 mg/kg					PA: 100 mg/kg				PA: 200 mg/kg					PA: 400 mg/kg			
	No. of fish					No. of fish					No. of fish				No. of fish					No. of fish			
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5	1	2	3	4
Liver																							
hepatocytic atrophy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-
Spleen																							
deposition of hemosiderin	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	±	±	±	±	±	±	+	±	±	±	±
Kidney																							
renal tubule	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hematopoietic tissue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart																							
Alimentary canal	±	±	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-
Gills																							
Pseudodactylogyrus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
epithelial hyperplasia	-	-	±	-	±	±	-	-	-	±	-	-	±	-	±	-	-	±	±	-	-	-	-
Skin																							
Muscle	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Histopathological finding: -, no alteration; ±, very slight; +, slight.

Administration: Once a day for 10 days.

Water temp.: 25.0-26.2°C.

**Table 13.** Summary of histopathological findings in japanese eels after oral administration of piromidic acid

Organ and observation	Untreated control					initial			terminal			PA: 50 mg/kg					PA: 100 mg/kg					PA: 200 mg/kg					PA: 400 mg/kg						
	No. of fish										No. of fish					No. of fish					No. of fish					No. of fish							
	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Liver																																	
hepatocytic atrophy	-	+	-	-	±	-	±	+	-	+	+	+	±	+	±	±	+	±	+	±	+	+	+	+	±	±	+	±	+	+	±	+	+
Spleen																																	
deposition of hemosiderin	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
deposition of melanin	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kidney																																	
glomerulus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
renal tube	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hematopoietic tissue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gills																																	
Pseudodactylogyrus	#	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
epithelial hyperplasia	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Histopathological finding: -, no alteration; ±, very slight; +, slight; #, moderate.  
 Administration: Once a day for 10 days.  
 Water temp.: 29.4-31.0°C.

た。また、心臓、肝臓、腎臓、脾臓および消化管の病理組織学的観察においても PA によると思われる異常はみられなかった。

ヨーロッパウナギに PA の 100~400 mg/kg/日、10 日間投与を行なった結果、試験魚は全例生存し、一般症状にも異常を認めなかった。また、表 10 に示したように、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、消化管、鰓、筋肉および皮膚の病理組織学的観察において、PA 投与群と対照群の所見に著差は認められなかった。

ニホンウナギにおける PA の安全性について検討した成績を表 11~13 に示した。表 11 に見られるように、25°C の水温において、PA の 400 mg/kg 投与群は 10 日目に 1 尾死亡したが、生存魚には異常を認めなかった。30°C の水温において、PA の各投与群は全例生存し著変はみられなかった。対照群(アラビヤゴム液投与)において 7 日目および 10 日目に各々 1 尾が死亡した。

各実験群の病理組織学的所見は表 12 および 13 にみられるように、PA 投与群と対照群の間に著差はなく、PA によると思われる異常は認められなかった。

以上の成績により、PA はアユに対して 80 mg/kg/日、10 日間、アマゴに対して 800 mg/kg/日、5 日間およびウナギに対して 400 mg/kg/日、10 日間の投与を行なっても異常を示さないことが明らかとなった。

## 考 察

PA は経口投与によりキンギョおよびウナギの体内に比較的速やかに吸収され、肝臓、腎臓その他の組織に移行することが認められている (KATAE *et al.*, 1979)。

養殖アユおよびアマゴを用いて、PA の 10 および 40 mg/kg を経口投与し、組織中濃度を定量した。アユにおいては、10 mg/kg の投与で、血液、肝臓、腎臓および筋肉に速やかに移行し、各組織中濃度はいずれも投与後 3 時間をピークとして 9 時間後においても 3.31~5.61  $\mu\text{g/g}$  を検出した。また、40 mg/kg 投与群の各組織中濃度は投与後 3~6 時間にピーク値を示し、その濃度は 10 mg/kg 投与群よりも約 2 倍高値であった。

アマゴにおいては、10 mg/kg 投与群の組織中濃度は投与後 6~24 時間をピークとして 48 時間後でも検出された。ピーク時の血漿、肝臓、腎臓および筋肉における平均濃度はそれぞれ 2.59, 5.27, 4.10 および 3.08  $\mu\text{g/ml}$  or  $\text{g}$  であった。40 mg/kg 投与群の各組織中濃度は 10 mg/kg 投与群の 3~4 倍高値を示すことが認められた。アマゴとの比較において、アユの方が PA の各組織中への移行および体内からの消失は速やかな傾向を示した。

アユおよびアマゴのいずれも、PA 10 mg/kg の投与により、*Vibrio anguillarum* および *Aeromonas salmonicida* に対する MIC 値 (0.2~1.56  $\mu\text{g/ml}$ ) 以上の組織中濃度が 9~24 時間持続する様であった (KATAE *et al.*, 1979)。

PA の体内残留時間の比較的長いアマゴを用いて PA 40 mg/kg/日、7 日間投与後の組織中濃度の推移を検討した。各組織中の PA 濃度がピークに達した後の減少は一次式に従っており、PA の半減期は 9.78~16.08 時間で、96 時間ではすべて検出限界以下となった。従って PA は特定の組織に長時間残留する傾向は認められなかった。

PA の急性毒性については、キンギョおよびウナギにおいて、経口投与による LD<sub>50</sub> はそれぞれ 750 および 2,000 mg/kg 以上と報告されている (KATAE *et al.*, 1979)。アユを用いて、PA の 2,000 mg/kg を経口投与し、7 日間観察を行なったが、異常は認められなかった。

アユ、アマゴおよびウナギを用いて、1 日 1 回、5~10 日間連続投与による PA の毒性について検討した。アユには 80 mg/kg、アマゴには 800 mg/kg、ウナギには 400 mg/kg の PA を投与したが、異常は認められなかった。ウナギでは高水温 (30°C) においても PA の毒性が強くなる傾向はみられなかった。プラセボ投与群において 2 尾が死亡したが、顔回麻酔における取扱い不良が原因と思われる。

以上の成績により、PA はアユ、アマゴおよびウナギに対して安全性の高い薬剤であることが明らかとなった。

## 要 約

アユ、アマゴおよびウナギを用いて PA の魚体内分布、残留性および安全性について検討を行ない次の結果を得た。

1. PA は経口投与により魚体内に比較的速やかに吸収され、組織移行性は良好であった。
2. PA の組織中濃度は魚種により多少異なり、アユはアマゴに比べ各組織中の最高濃度は高い値を示した。また、アマゴはアユに比べ各組織中濃度は持続的に推移した。
3. アマゴに PA 40 mg/kg/日を 7 日間連続経口投与した後の組織中濃度の推移は 1 回投与後のパターンと類似していた。各組織中の PA 濃度はピークに達した後、一次式に従って減少し、特定の臓器または組織に残留ま

たは蓄積する傾向はみられなかった。

4. PA の魚類に対する経口毒性は弱く、アユに対する LD<sub>50</sub> 値は 2,000 mg/kg 以上であった。また、アユ (80 mg/kg/日)、アマゴ (800 mg/kg/日) およびウナギ (400 mg/kg/日) に 5~10 日間連続経口投与を行なったが、PA によると思われる死魚はみられず、臨床所見および組織所見ともに異常は認められなかった。

#### 謝 辞

本研究は魚病新薬研究会により行なわれたものであり、研究を進めるにあたり同研究会代表として御指導と御助力をいただいた東京大学教授江草周三博士に深謝致します。

#### 文 献

- KATAE H., K. KOUNO, Y. TAKASE, H. MIYAZAKI, M. HASHIMOTO, and M. SHIMIZU (1979): The evaluation of piromidic acid as an antibiotic in fish: an *in vitro* and *in vivo* study. *J. Fish Diseases* **2**, 321-335.
- MINAMI S., T. SHONO and J. MATSUMOTO (1971): Pyrido [2,3-*d*] pyrimidine antibacterial agents II. piromidic acid and related compounds. *Chem. Pharma. Bull.*, **19**, 1426-1432.
- NAKAMURA S., S. INOUE, M. SHIMIZU, S. IYOBE and S. MITSUHASHI (1976): Inhibition of conjugal transfer of R-plasmid by pipemidic acid and related compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **10**, 779-785.
- SHIMIZU M., S. NAKAMURA and Y. TAKASE (1971): Piromidic acid, a new antibacterial agent; antibacterial properties. *Antimicrob. Agents Chemother.*—1970, 117-122.
- SHIMIZU M., Y. SEKINA, H. HIGUCHI, S. NAKAMURA and K. NAKAMURA (1971): Piromidic acid, a new antibacterial agent; absorption, distribution, excretion and metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.*—1970, 123-128.