

Pivampicillin の実験動物に対する毒性試験

増 田 裕・鈴木 善雄・小此木 丘

三共株式会社中央研究所

Pivampicillin^{1,2)} はレオ社で開発された合成ペニシリンで Ampicillin を Pivaloyloxymethyl 基でエステル化し、Ampicillin に比較して消化管からの吸収性をより高めたものであり、ヒトの血液中、および実験動物の各臓器へ高濃度に移行することが知られている化合物である。

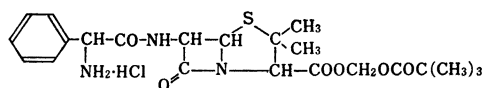
本剤につき、マウス、ラットに対する急性毒性、ラットに対する5週間、13週間、26週間の経口投与による亜急性、慢性毒性、イヌに対する経口亜急性毒性、マウス、ラットに対しての経口投与による催奇形性試験を行なったのでその結果を報告する。

実験材料ならびに方法

I 薬 物

Pivampicillin は化学名を Pivaloyloxymethyl D- α -aminobenzyl-penicillinate hydrochloride と称し、Fig. 1 の

Fig. 1 Structural formula of pivampicillin



化学構造式を有するものであり、水、クロロホルムおよび各種アルコールに易溶、エーテルに難溶で、白色の微細結晶状粉末である。

II 実験方法

i) 急性毒性

動物は当社中央研究所動物飼育場生産のマウス (RF VL, 5週令)、ラット (Wistar-Imamichi 6週令) を用い、経口、皮下、腹腔内、静脈内の4経路で投与した。投薬量群は1経路につき5群とし、1群あたりマウス、ラットとも雌雄各10匹を使用した。投与後7日間をわたり症状を観察し、その間の死亡例数から Litchfield-Wilcoxon 法により LD₅₀ を算出した。

ii) 亜急性、慢性毒性 (ラット)

動物は急性毒性と同じ Wistar-Imamichi ラットを用い、いずれも1群雌雄各10匹を使用した (慢性毒性は雄性のみ)。投与経路は経口で、金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与期間は5週間、13週間、26週間で、いずれも生後6週令のラットを用いて投与を開始した。

催奇形試験の投与量をきめる予備試験において1日1回投与で 800mg/kg 以上の量を連日投与した結果、誤嚥性肺炎によると思われる死亡例が多発したため、投与量を1回 500mg/kg 以下とし、いずれの実験も、最高投与量を 1,500mg/kg (500mg/kg×3回/日) と定め、以下 1,000mg/kg (300mg/kg×2回、400mg/kg×1回/日)、500mg/kg (250mg/kg×2回/日) の計3投薬群を用いた。なお26週間投与では、亜急性毒性の結果 (後述) で性差がなかったことから、雄性のみを使用し、さらに 250mg/kg (1回/日)、100mg/kg (1回/日) の2群も併せ設けた。Pivampicillin を蒸留水に溶解して10%濃度液を作成して投与し、対照群には蒸留水のみを1日1回体重 100g あたり 0.5ml 宛強制経口投与した。

投与期間中は一般症状、体重、摂餌量の観察および測定を行ない、投与終了時にはエーテルによる軽麻酔後、頸動脈切断により放血屠殺した。放血時にえられた血液により血液学的検査ならびに血清臨床化学検査を実施した。動物は直ちに剖検し、諸臓器の観察ならびに重量測定後、臓器をホルマリン固定し、定法に従い H-E 染色標本を作成して病理組織学的検査に供した。

iii) 亜急性毒性 (イヌ)

動物は当社中央研究所動物飼育場生産の純系ビーグル成犬 (体重 7.4~11.2kg) の雄8、雌8計16頭を用いた。

投薬群は3群とし、他に対照群を1群設け、1群雌雄各2頭を使用した。

投薬量は Pivampicillin 量を Ampicillin 力価で表現し (質量換算で Ampicillin 250mg=Pivampicillin 356mg/kg)、最高投与量を 750mg/kg (Ampicillin として) と定め、以下 400mg/kg、100mg/kg の3群とした。な

お、750mg/kg 投与群は1日3回の分割投与(250mg/kg × 3回/日)を行ない、400mg/kg 投与群は2回(200mg/kg × 2回/日)、100mg/kg 投与群は1回投与とした。

Pivampicillin をゼラチンカプセルに入れ、強制経口投与し、給餌は毎日、初回投与前30分に行なった。

投与期間は81日間としたが、750mg/kg 投与群で1例、400mg/kg 投与群2例、100mg/kg 投与群2例については8週経過時に屠殺し、中間における観察を行なった。

投与期間中、一般症状観察、体重、摂餌量測定を行ない、投与6週間までは2週に1回、以後は1週に1回前腕静脈より採血して血液学的および血清臨床化学的検査を行なった。

8週および11週の投与終了時、ネブタール麻酔下で放血屠殺し、諸臓器の観察、重量測定を行なったのち、臓器をホルマリン固定し、定法により H-E 染色を行なって病理組織学的検査を実施した。

iv) 催奇形性(マウス、ラット)

動物は急性毒性と同じマウス(RFVL)、ラット(Wistar-Imamichi)を用いた。マウス、ラットともに80~90日令の雌を夕方、雄と同居させ、翌朝陰栓あるいは陰垢中に精子の確認されたものを妊娠0日とした。

被験動物に対する最大安全量決定のため、成熟マウスおよびラットに2週間の連続経口投与を行なった結果、マウス、ラットとも800mg/kg以上の投与群で体重増加抑制、誤嚥性肺炎による死亡などがみられ、400mg/kg投与では著変がなかったことから、400mg/kgをマウス、ラットに対する催奇形性試験での最大安全量と考えこの量を大量と定め、以下、中間量を200mg/kg、少量を100mg/kgとし、計3群の投薬群を設けた。それぞれの対照群には溶媒である蒸留水を投与した。

マウスは妊娠7~12日、ラットは9~14日まで6日間連続強制経口投与(1日1回)した。マウスは妊娠18日、ラットは20日に母体をエーテル麻酔後開腹して子宮、卵巣の状態を観察したのち、死亡胚、胎子の子宮内分布、数を調べた。生存胎子については外形異常の有無、性別判定、体重測定を行なったのち、DAWSON's method に準じて骨格を染色し、その異常の有無を観察した。母体の一部はそのまま分娩させ、産仔数、性別、外形異常の有無を観察したのち3週間哺育させた。離乳後、マウスは3週間、ラットは4週間育成し、その間行動異常の有無、雌での陰開口日令を観察した。育成期間終了時に屠殺し、内臓異常の有無、雄について精子形成、精子の運動性を観察した。

実験結果

I 急性毒性

マウス、ラットの各投与経路でのLD₅₀をTable 1に示した。

投与後発現する症状は投与経路間でやや差がみられたが、マウス、ラット間では、ほぼ同じであった。

経口投与では投与直後、口部をケージにすりつける行動が観察され、そののち呼吸不整、立毛、自発運動減少がみられ、4~5日まで持続した。マウスでの死亡例は投与後3日まで観察された。

皮下投与では投与直後、投与部位へのかみつきがみられ、以後自発運動減少、呼吸不整、righting reflexの消失などが5~6日までみられた。マウスでの死亡例は6日目まで、ラットでは4日目まで観察された。

腹腔内投与では投与直後泣鳴があり、呼吸不整、立毛、自発運動減少、writhing syndrome が観察された。これらの症状は4~7日まで続き、死亡例はマウスで5日、ラットで7日まで認められた。

静脈内投与では投与直後、跳躍、呼吸不整、立毛を呈し死亡例は、マウス、ラットとも痙攣を伴い2~3分後に死亡した。生存例は投与後2日に尾静脈の投与部位が暗褐色に変色したのを認め、投与後7日で尾静脈投与部位に壊死が認められた。

II 亜急性毒性(ラット、5週間、経口投与)

一般症状：雌雄ともいずれの投与群にも軽度の自発運動抑制、流涎がみられた。1,500mg/kg 投与群では投与2日目頃より下痢便が認められたが、10~14日目には軟便となり、実験終了時まで続いた。また、1,500mg/kg 投与群では4~5日目頃より、腹部膨満がみられたが、14日目には正常に復した。1,000, 500mg/kg 投与群には特に顕著な症状発現はみられなかった。

Table 1. Acute toxicity of pivampicillin

Administration route	Sex	LD ₅₀ (mg/kg)*	
		Mice	Rats
Oral	Male	3,163 (2,681-2,732)	>6,000
	Female	2,819 (2,255-3,524)	>6,000
Subcutaneous	Male	3,716 (3,149-4,385)	6,916 (5,962-8,023) **
	Female	3,312 (2,760-3,974)	6,459 (5,601-7,537)
Intraperitoneal	Male	257 (218-321)	708 (590-850)
	Female	245 (206-288)	632 (527-746)
Intravenous	Male	159 (145-175)	148 (140-159)
	Female	150 (138-164)	145 (138-152)

* Calculated by means of LITCHFIELD-WILCOXON's method

** Confidence limit: 95%

1,500mg/kg 投与群で雌1例が7日目に死亡した。死亡例は流涎、立毛、腹部膨満および肺炎症状を呈していた。剖検結果では、胃内容はなく、腸管内にガス産生がみられ、肺が暗赤色を呈していた。

体重：投与期間中の平均体重推移を Fig. 2, 3 に示した。1,500mg/kg 投与群は雌雄ともに体重増加抑制があり、実験終了時には対照群との間に有意差 ($P < 0.05$) がみとめられた。1,000, 500mg/kg 投与群はいずれも対照群との間に有意差はなかった。摂餌量は 1,500mg/kg 投与群の雌雄で減少傾向があったのみである。

臓器重量：生存例の剖検時の肉眼的観察では雌雄とも各投与群に著変は認められなかった。臓器重量は 1,500 mg/kg 投与群で雌雄とも脳、心、脾などに減少傾向がみられたが、体重比では逆に増加傾向を示した。

血液学的、血清臨床化学的検査：赤血球数、白血球数、血色素、ヘマトクリット値、網状赤血球数、白血球百分比などの検査項目に各投与群とも対照群に比較し著しい変化は認められない。

血清中、アルカリ性フォスファターゼ活性値 (ALP) トランスアミナーゼ活性値 (GOT, GPT), ロイシンアミノペプチダーゼ活性値 (LAP), 総コレステロール量,

尿素窒素量 (BUN), Na, K, 総蛋白量 (TP), A/G 比についても対照群と比較し著変を認めなかった。

病理組織学的所見：死亡例では気管支周囲で結合組織の増加、円形細胞の浸潤が著明に認められ、血管周囲には円形細胞および好酸球の浸潤が明瞭に認められた。

生存例では、脳、心、肺、肝、腎、脾、膵、胸腺、下垂体、甲状腺、副腎、精巣、卵巣、子宮、骨髄、胃、腸、腸間膜リンパ節などにつき鏡検したが、特に著変を認めなかった。

III 亜急性毒性 (ラット13週間、経口投与)

一般症状：13週間の投与期間中に認められた症状は5週間投与の場合とまったく同じであった。すなわち、雌雄とも各投与群で軽度の自発運動抑制、流涎がみられ、1,500mg/kg 投与群では投与後2日頃より下痢便、4～5日頃より腹部膨満が認められた。下痢便は10～14日頃には軟便となり、実験終了時までつづき、腹部膨満は14日目には正常に復した。他投与群では特に著明な症状は認められなかった。

なお、投与期間中を通じ雌雄いずれの投与群にも死亡は1例も認められなかった。

体重：投与期間中の平均体重推移を Fig. 4, 5 に示す。

Fig. 2 Growth curves of male rats during oral administration of pivampicillin for 5 weeks

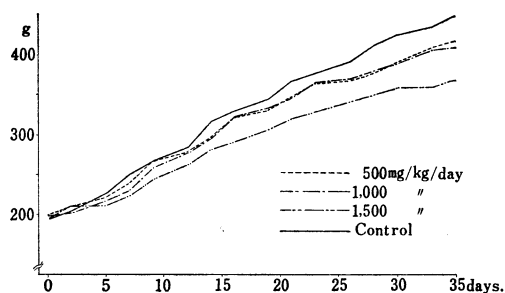


Fig. 3 Growth curves of female rats during oral administration of pivampicillin for 5 weeks

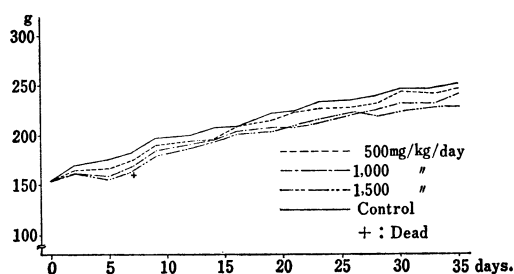


Fig. 4 Growth curves of male rats during oral administration of pivampicillin for 13 weeks

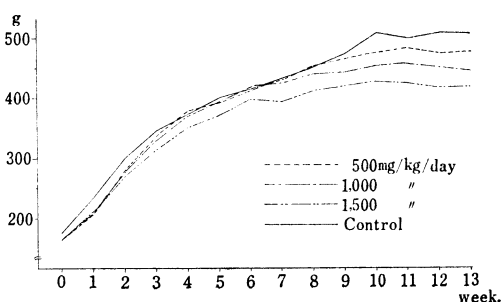
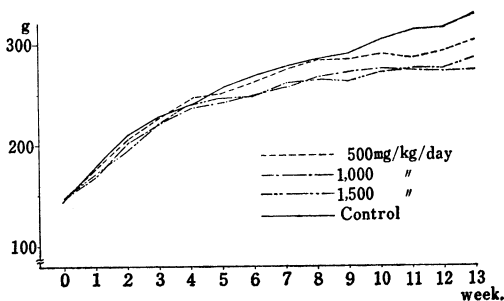


Fig. 5 Growth curves of female rats during oral administration of pivampicillin for 13 weeks



雌雄とも 1,500mg/kg 投与群で 6～7 週目頃, 1,000, 500mg/kg 投与群で 10 週目頃より体重増加抑制傾向がみられ, 1,000, 1,500mg/kg 投与群は対照群との間に投与終了時に有意差 ($P < 0.05$) が認められた。

臓器重量: 剖検時の肉眼的観察では雌雄, 各投与群とも著変を認めなかった。

Table 2, 3 に平均臓器重量を示した。雌雄とも副腎重量に増加傾向を認めるが, 他に著変はみられない。

血液学的, 血清臨床化学的検査: Table 4, 5 に血液学的検査結果を, Table 6, 7 に血清臨床化学的検査結果を示した。

5 週間投与と同様, いずれも対照群と比較し著変を認めなかった。

病理組織学的所見: 13 週間の連続投与においても検索

したすべての臓器に著変を認めなかった。

IV 慢性毒性 (雄ラット 26 週間, 経口投与)

一般症状: 1,500mg/kg 投与群の症状は 13 週間投与の場合とまったく同じで 2～3 日目より下痢を呈し, 14 日以降は軟便となる。500, 1,000mg/kg 投与群では 2～3 日目より軽度の軟便を呈したが 500mg/kg 投与群は 13 週目には回復した。しかしながら, 1,000, 1,500mg/kg 投与群の軟便は実験終了時まで続いた。他投与群では何ら変化ある症状を認めなかった。

体重: 投与期間中における平均体重推移を Fig. 6 に示した。

対照に比し, 250mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制の傾向がみられ, 1,000mg/kg 投与群では 3 週目, 1,500mg/kg 群では 4 週目より実験終了時まで対照群との間

Table 2 Average organ weights in male rats after oral administration of pivampicillin for 13 weeks

Average organ weight $\pm$ S.E.															
Dose (mg/kg)	Organ	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Thy- roid (mg)	Thy- mus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)		Spleen (g)	Adrenal(mg)		Testis (mg)		Final body wt. (g)
								R	L		R	L	R	L	
500		2.06 ± 0.02	10.7 ± 0.3	24.1 ± 1.4	0.23 ± 0.03	1.26 ± 0.06	16.55 ± 1.08	1.89 ± 0.07	1.93 ± 0.07	0.98 ± 0.06	25.6 ± 1.0	28.6 ± 1.2	1.38 ± 0.07	1.39 ± 0.08	479.6 ± 22.7
1,000		1.96 ± 0.08	11.3 ± 0.4	23.4 ± 1.8	0.26 ± 0.01	1.27 ± 0.04	15.60 ± 0.86	1.96 ± 0.08	1.92 ± 0.06	0.99 ± 0.08	28.1 ± 0.7	31.6 ± 0.7	1.49 ± 0.03	1.49 ± 0.02	446.8 ± 14.0
1,500		1.99 ± 0.02	10.5 ± 0.7	14.9 ± 1.4	0.28 ± 0.02	1.18 ± 0.07	14.80 ± 0.35	1.79 ± 0.06	1.73 ± 0.06	0.97 ± 0.04	29.6 ± 1.2	32.2 ± 1.4	1.41 ± 0.02	1.47 ± 0.02	419.4 ± 13.4
Control		2.12 ± 0.01	10.9 ± 0.4	20.0 ± 1.6	0.29 ± 0.02	1.40 ± 0.04	18.24 ± 0.83	1.85 ± 0.06	1.98 ± 0.04	0.94 ± 0.06	24.2 ± 1.2	26.7 ± 0.9	1.48 ± 0.02	1.55 ± 0.04	508.4 ± 10.8

Table 3 Average organ weights in female rats after oral administration of pivampicillin for 13 weeks

Average organ weight $\pm$ S.E.															
Organ Dose (mg/kg)	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Thy- roid (mg)	Thy- mus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)		Spleen (g)	Adrenal(mg)		Ovary (mg)		Uter- us (g)	Final body wt. (g)
							R	L		R	L	R	L		
500	1.91 ± 0.02	10.4 ± 0.6	19.4 ± 1.1	0.30 ± 0.04	0.96 ± 0.03	11.30 ± 0.59	1.12 ± 0.04	1.08 ± 0.06	0.83 ± 0.05	31.3 ± 1.4	37.1 ± 1.5	43.7 ± 1.9	48.4 ± 2.0	0.48 ± 0.03	304.8 ± 9.8
1,000	1.89 ± 0.02	10.8 ± 0.5	21.8 ± 1.8	0.27 ± 0.01	0.87 ± 0.02	9.86 ± 0.36	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02	0.77 ± 0.03	29.9 ± 2.1	34.8 ± 1.9	47.3 ± 2.4	47.7 ± 3.0	0.48 ± 0.05	275.6 ± 7.1
1,500	1.92 ± 0.05	13.1 ± 0.9	24.3 ± 0.8	0.27 ± 0.04	0.91 ± 0.04	10.37 ± 0.47	1.12 ± 0.05	1.11 ± 0.05	0.80 ± 0.08	34.4 ± 0.8	38.3 ± 1.9	46.4 ± 3.0	48.5 ± 1.9	0.47 ± 0.08	287.5 ± 7.0
Control	1.91 ± 0.02	9.1 ± 0.4	19.4 ± 1.3	0.29 ± 0.02	0.89 ± 0.02	10.66 ± 0.41	1.01 ± 0.01	1.01 ± 0.01	0.65 ± 0.02	32.1 ± 1.4	29.4 ± 1.0	41.5 ± 1.3	40.4 ± 1.6	0.44 ± 0.02	319.4 ± 8.3

Table 4 Hematological data in male rats after oral administration of pivampicillin for 13 weeks

(Average $\pm$ S.D. or Min.-Max.)

Hemogram		Dose	500mg/kg	1,000mg/kg	1,500mg/kg	Control
Erythrocytes	($\times 10^{4*}$)		1,083 $\pm$ 100	1,034 $\pm$ 55	1,037 $\pm$ 27	930 $\pm$ 57
Hemoglobin	(g/dl)		16.6 $\pm$ 1.5	15.8 $\pm$ 0.6	15.6 $\pm$ 0.3	16.4 $\pm$ 0.4
Hematocrit	(%)		50 $\pm$ 6	48 $\pm$ 2	48 $\pm$ 2	47 $\pm$ 1
Reticulocytes	(‰)		70 $\pm$ 6	66 $\pm$ 9	74 $\pm$ 4	73 $\pm$ 5
Thrombocytes	($\times 10^{4*}$)		127.5 $\pm$ 12.0	138.5 $\pm$ 17.5	128.2 $\pm$ 15.0	113.1 $\pm$ 25.9
Leucocytes	($\times 10^{3*}$)		7.6 $\pm$ 2.4	8.0 $\pm$ 2.2	8.6 $\pm$ 0.8	8.5 $\pm$ 2.7
Differential count of leucocytes (%)	Basophil		0	0	0	0
	Eosinophil		0 — 1.6	0 — 0.9	0 — 2.1	0.8 — 1.8
	Neutrophil	Metamyelocytes	0	0	0	0
		Stab cells	2.5 — 4.3	0.9 — 1.9	0.8 — 3.2	1.0 — 3.6
		Segment	2 Seg.	7.3 — 10.3	4.9 — 7.5	5.6 — 10.0
			3 Seg.	4.9 — 14.7	10.6 — 19.0	5.0 — 22.0
			4 Seg.	0 — 1.6	0 — 2.2	0.3 — 3.1
			5 Seg.	0 — 0.6	0	0
		Total	17.3 — 28.7	19.1 — 27.7	16.3 — 30.5	6.9 — 12.1
	Lymphocytes		70.2 — 30.6	70.4 — 79.2	68.4 — 80.5	85.9 — 91.1
	Monocytes		0 — 2.1	0.6 — 2.2	0.3 — 3.3	0.4 — 1.2
	Plasma cells		0	0	0	0

* Count/mm³

Table 5 Hematological data in female rats after oral administration of pivampicillin for 13 weeks

(Average $\pm$ S.D. or Min.-Max.)

Hemogram		Dose	500mg/kg	1,000mg/kg	1,500mg/kg	Control
Erythrocytes	($\times 10^{4*}$)		930 $\pm$ 39	952 $\pm$ 39	936 $\pm$ 67	924 $\pm$ 34
Hemoglobin	(g/dl)		14.5 $\pm$ 0.7	14.9 $\pm$ 0.5	14.9 $\pm$ 0.6	14.8 $\pm$ 0.8
Hematocrit	(%)		44 $\pm$ 2	45 $\pm$ 1	45 $\pm$ 5	43 $\pm$ 0.5
Reticulocytes	(‰)		81 $\pm$ 2	76 $\pm$ 7	81 $\pm$ 5	77 $\pm$ 7
Thrombocytes	($\times 10^{4*}$)		137.5 $\pm$ 11.0	148.1 $\pm$ 17.3	139.2 $\pm$ 15.0	142.3 $\pm$ 25.9
Leucocytes	($\times 10^{3*}$)		7.8 $\pm$ 1.5	8.0 $\pm$ 1.8	8.1 $\pm$ 1.0	7.7 $\pm$ 1.5
Differential count of leucocytes (%)	Basophil		0	0	0	0
	Eosinophil		0.3 — 0.9	0 — 0.9	0	0 — 0.5
	Neutrophils	Metamyelocytes	0	0	0	0
		Stab cells	1.3 — 3.9	2.3 — 4.5	1.5 — 3.7	1.2 — 3.8
		Segment	2 Seg.	4.1 — 8.3	4.1 — 9.1	5.8 — 12.2
			3 Seg.	4.0 — 8.6	4.4 — 9.2	3.8 — 9.8
			4 Seg.	0 — 1.5	1.0 — 3.0	0.6 — 4.0
			5 Seg.	0	0	0
		Total	11.0 — 20.8	15.3 — 22.7	15.1 — 26.7	8.6 — 14.4
	Lymphocytes		77.1 — 87.3	75.3 — 82.7	72.6 — 80.0	84.6 — 90.4
	Monocytes		0.8 — 1.8	0.9 — 1.9	0.5 — 2.5	0 — 1.0
	Plasma cells		0	0	0	0

* Count/mm³

Table 6 Biochemical data on the serum of male rats after oral administration of pivampicillin for 13 weeks
(Average $\pm$ S.D.)

Test Dose (mg/kg)	ALP*	GOT**	GPT**	LAP***	T. cholesterol (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l)	T. protein (g/dl)	A/G
500	66.0 ± 15.2	85.6 ± 26.2	36.2 ± 7.4	95.8 ± 5.4	95.2 ± 11.2	29.5 ± 1.5	121.4 ± 2.9	6.1 ± 0.5	6.2 ± 0.3	0.73 ± 0.06
1,000	65.2 ± 7.6	84.2 ± 21.5	35.4 ± 12.8	87.4 ± 9.2	96.2 ± 19.9	31.8 ± 4.2	127.6 ± 3.2	5.7 ± 0.3	6.3 ± 0.3	0.72 ± 0.06
1,500	61.8 ± 8.4	93.4 ± 13.8	30.8 ± 11.8	88.4 ± 10.6	97.1 ± 18.7	34.6 ± 3.6	130.4 ± 1.5	5.4 ± 0.1	6.1 ± 0.9	0.74 ± 0.07
Control	61.1 ± 12.6	85.2 ± 13.3	40.5 ± 12.8	92.9 ± 16.9	90.4 ± 14.9	28.5 ± 4.5	122.0 ± 5.8	5.3 ± 0.3	6.3 ± 0.1	0.84 ± 0.06

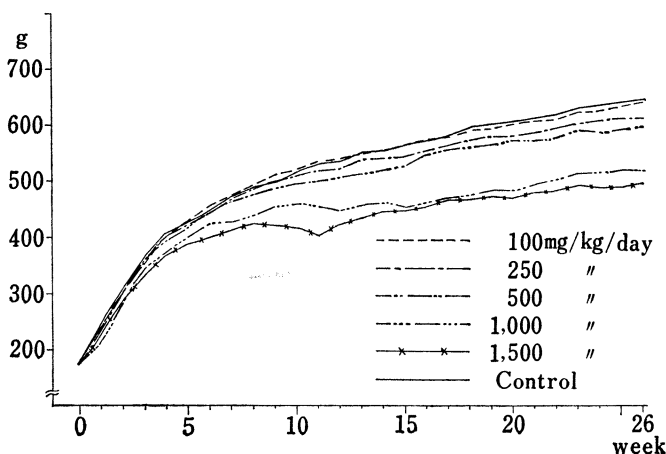
* : King-Armstrong unit ** : Karmen unit *** : Goldbarg-Rutenburg unit

Table 7 Biochemical data on the serum of female rats after oral administration of pivampicillin for 13 weeks
(Average $\pm$ S.D.)

Test Dose (mg/kg)	ALP*	GOT**	GPT**	LAP***	T. cholesterol (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l)	T. protein (g/dl)	A/G
500	48.0 ± 10.1	80.6 ± 19.5	45.3 ± 17.8	87.6 ± 16.2	99.6 ± 10.9	20.7 ± 2.5	138.4 ± 0.5	5.4 ± 0.3	6.1 ± 0.1	0.87 ± 0.16
1,000	39.2 ± 6.6	81.7 ± 19.3	44.8 ± 14.0	87.4 ± 16.5	98.0 ± 15.0	19.3 ± 1.9	139.8 ± 1.9	5.4 ± 0.3	6.3 ± 0.2	0.93 ± 0.09
1,500	40.9 ± 11.8	82.8 ± 13.6	40.4 ± 13.4	83.0 ± 11.5	111.8 ± 15.3	20.8 ± 2.3	140.5 ± 1.3	5.0 ± 0.4	6.4 ± 0.3	0.77 ± 0.07
Control	45.6 ± 12.1	84.6 ± 25.0	46.7 ± 21.9	88.0 ± 21.9	92.8 ± 20.8	23.2 ± 4.5	128.2 ± 6.9	4.9 ± 0.1	5.9 ± 0.2	0.99 ± 0.45

* : King-Armstrong unit ** : Karmen unit *** : Goldbarg-Rutenburg unit

Fig. 6 Growth curves of male rats during oral administration of pivampicillin for 26 weeks



に有意な差 ($P < 0.05$) が認められた。500mg/kg 以下の投与群では有意差はなかった。

摂餌量は 1,000mg/kg 以上の投与群で若干抑制傾向を示したが大差はなく、500mg/kg 以下の投与群では対照群とほぼ同様であった。

臓器重量：剖検時の肉眼的観察では対照を含むすべての投与群に異常所見を認めなかった。

対照群および各投与群の平均臓器重量を Table 8 に示した。

1,000, 1,500mg/kg 投与群の心、肝に重量減少の傾向がみられ、1,000, 1,500mg/kg 投与群の副腎に対照群と比較し有意な差 ($P < 0.05$) のある重量増加が認められた。

血液学的、血清臨床化学的検査：血液学的検査における各群の平均値を Table 9 に、血清臨床化学的検査の平均値を Table 10 に示した。

血液学的検査では各項目について、対照群と投薬群との間に著変は認められなかった。臨床化学的検査では、

Table 8 Average organ weight in male rats after oral administration of pivampicillin for 26 weeks
(Average organ weight $\pm$ S.E.)

Organ Dose (mg/kg)	Brain (g)	Hypo- physis (mg)	Thy- roid (mg)	Thy- mus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)		Spleen (g)	Adrenal (mg)		Testis (g)		Final body wt. (g)
							R	L		R	L	R	L	
100	2.13 ± 0.03	11.8 ± 0.3	29.7 ± 2.3	0.16 ± 0.02	1.54 ± 0.04	19.86 ± 0.91	2.23 ± 0.09	2.22 ± 0.10	1.07 ± 0.05	24.8 ± 1.5	25.9 ± 1.3	1.54 ± 0.03	1.55 ± 0.05	639.4 ± 28.8
250	2.17 ± 0.02	12.3 ± 0.6	32.6 ± 1.8	0.21 ± 0.02	1.48 ± 0.06	18.05 ± 1.04	2.24 ± 0.10	2.25 ± 0.09	1.04 ± 0.08	27.4 ± 2.0	30.0 ± 1.3	1.58 ± 0.05	1.58 ± 0.05	612.4 ± 22.1
500	2.16 ± 0.05	11.8 ± 0.5	33.3 ± 1.8	0.20 ± 0.03	1.47 ± 0.05	19.52 ± 1.19	2.12 ± 0.08	2.19 ± 0.10	1.08 ± 0.05	26.1 ± 0.7	27.2 ± 1.9	1.35 ± 0.18	1.39 ± 0.18	595.8 ± 25.0
1,000	2.09 ± 0.03	10.9 ± 0.4	29.5 ± 2.0	0.16 ± 0.02	1.43 ± 0.04	15.94 ± 0.82	1.98 ± 0.06	2.09 ± 0.06	1.00 ± 0.03	29.1* ± 2.0	30.6* ± 1.4	1.56 ± 0.05	1.58 ± 0.06	519.1 ± 16.2
1,500	2.11 ± 0.07	11.0 ± 0.3	32.1 ± 2.3	0.17 ± 0.05	1.41 ± 0.05	15.89 ± 0.62	2.15 ± 0.13	2.15 ± 0.10	1.00 ± 0.08	29.0* ± 1.7	31.9* ± 1.4	1.57 ± 0.05	1.59 ± 0.06	496.0 ± 24.6
Control	2.15 ± 0.03	11.4 ± 0.4	35.7 ± 3.4	0.20 ± 0.05	1.53 ± 0.03	17.15 ± 2.63	2.13 ± 0.08	2.22 ± 0.11	1.05 ± 0.06	22.8 ± 1.8	28.1 ± 1.2	1.59 ± 0.04	1.58 ± 0.03	646.0 ± 24.6

*: $P < 0.05$

Table 9 Hematological data in male rats after oral administration of pivampicillin for 26 weeks
Average $\pm$ S.D. or Min.-Max.)

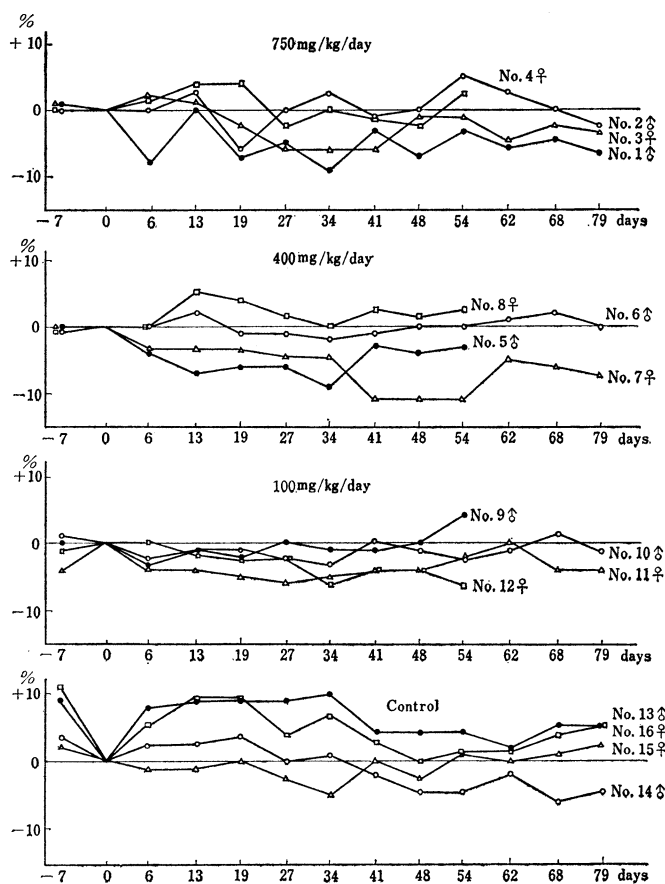
Hemogram		Dose	100mg/kg	250mg/kg	500mg/kg	1,000mg/kg	1,500mg/kg	Control
Erythrocytes	($\times 10^4/\text{mm}^3$)		948 ± 27	960 ± 31	952 ± 20	958 ± 24	942 ± 20	940 ± 28
Hemoglobin	(g/dl)		15.8 ± 0.4	16.0 ± 0.5	15.8 ± 0.3	15.4 ± 0.3	16.1 ± 0.5	15.8 ± 0.3
Hematocrit	(%)		48.2 ± 1.3	49.2 ± 0.4	48.2 ± 1.6	47.0 ± 1.0	47.6 ± 1.7	48.8 ± 0.8
Reticulocytes	(%)		64.0 ± 12.0	65.6 ± 5.0	60.6 ± 5.3	61.2 ± 7.3	65.6 ± 9.1	63.6 ± 6.3
Thrombocytes	($\times 10^4/\text{mm}^3$)		128.1 ± 20.0	123.1 ± 14.3	128.2 ± 12.3	127.2 ± 3.6	122.0 ± 7.5	126.4 ± 16.0
Leucocytes	($\times 10^3/\text{mm}^3$)		8.5 ± 1.7	9.5 ± 2.2	9.2 ± 2.4	12.3 ± 3.9	14.4 ± 2.1	8.2 ± 1.1
Differential count of leucocyte (%)	Basophil		0	0	0	0	0	0
	Eosinophil		0 — 0.6	0	0 — 0.6	0 — 1.0	0	0
	Neutrophil	Metamyelocytes	0	0	0	0	0	0
		Stab cells	2.1 — 4.3	1.5 — 4.1	1.3 — 3.5	1.8 — 2.8	0.9 — 2.1	0.5 — 3.1
		Segment						
		2 Seg.	12.2 — 17.4	8.7 — 20.5	6.2 — 12.6	5.0 — 13.0	3.5 — 6.1	9.2 — 14.0
		3 Seg.	7.0 — 17.4	6.7 — 10.5	8.6 — 14.6	6.6 — 12.4	4.0 — 7.6	3.5 — 9.3
		4 Seg.	1.3 — 3.9	0.4 — 2.0	1.8 — 2.6	0.2 — 1.8	0 — 1.6	0.4 — 2.0
		5 Seg.	0	0	0	0	0	0 — 0.6
		Total	26.7 — 38.9	20.0 — 34.4	21.2 — 29.6	17.4 — 26.2	10.9 — 15.1	17.5 — 24.9
	Lyphocytes		59.8 — 71.0	64.7 — 78.9	69.3 — 76.7	69.3 — 80.7	83.3 — 87.9	74.4 — 81.2
Differential count of leucocyte (%)	Monocytes		0.7 — 2.5	0.3 — 1.7	0.5 — 2.3	1.1 — 4.5	0.1 — 2.7	0.3 — 1.7
	Plasma cells		0	0	0	0	0	0

Table 10 Biochemical data on the serum of male rats after oral administration of pivampicillin for 26 weeks
(Average $\pm$ S.D.)

Dose (mg/kg)	Test	ALP*	GOT**	GPT**	LAP***	T. cholesterol (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l)	T. protein (g/dl)	A/G
100		42.2 $\pm$ 5.8	90.0 $\pm$ 20.5	46.2 $\pm$ 13.5	90.2 $\pm$ 11.0	120.8 $\pm$ 8.8	25.4 $\pm$ 1.0	154 $\pm$ 2	6.1 $\pm$ 0.3	7.0 $\pm$ 0.3	0.84 $\pm$ 0.07
250		36.4 $\pm$ 4.9	81.2 $\pm$ 17.8	43.4 $\pm$ 10.5	89.9 $\pm$ 5.9	123.4 $\pm$ 10.0	24.4 $\pm$ 1.5	145 $\pm$ 6	5.6 $\pm$ 0.3	7.1 $\pm$ 0.3	0.80 $\pm$ 0.07
500		39.6 $\pm$ 5.0	91.9 $\pm$ 13.1	42.7 $\pm$ 11.3	84.9 $\pm$ 6.6	108.7 $\pm$ 12.6	24.5 $\pm$ 2.0	139 $\pm$ 4	5.5 $\pm$ 0.6	6.8 $\pm$ 0.3	0.85 $\pm$ 0.05
1,000		27.5 $\pm$ 4.9	93.2 $\pm$ 14.4	44.3 $\pm$ 10.0	67.1 $\pm$ 17.3	108.7 $\pm$ 10.6	25.9 $\pm$ 3.3	146 $\pm$ 4	5.0 $\pm$ 0.3	6.4 $\pm$ 1.8	0.91 $\pm$ 0.09
1,500		21.7 $\pm$ 2.3	93.9 $\pm$ 17.3	41.5 $\pm$ 11.8	76.4 $\pm$ 11.4	107.3 $\pm$ 15.9	24.1 $\pm$ 0.9	144 $\pm$ 3	5.3 $\pm$ 0.4	6.4 $\pm$ 0.3	0.96 $\pm$ 0.18
Control		40.1 $\pm$ 5.0	94.3 $\pm$ 15.3	43.5 $\pm$ 11.3	84.5 $\pm$ 8.5	111.9 $\pm$ 10.1	25.6 $\pm$ 3.2	150 $\pm$ 1	6.7 $\pm$ 0.3	6.9 $\pm$ 0.2	0.91 $\pm$ 0.09

* : King-Armstrong unit ** : Karmen unit *** : Goldbarg-Rutenburg unit

Fig. 7 Body weight changes of dogs during oral administration of pivampicillin for 57 or 81 days



ALP が対照群に比し、1,000mg/kg 以上の投与群で減少傾向を示したが、他の検査項目については、いずれの投与群とも対照群と比較し大差がなかった。

病理組織学的所見：脳、心、肺、肝、腎、脾、膵、胸腺、下垂体、甲状腺、副腎、精巣、骨髄、胃、腸、腸間膜リンパ節などの組織標本観察から、特に投与群で異常と思われる所見を認めなかった。

V 亜急性毒性（イヌ、8週および11週間、経口投与）

一般症状：750mg/kg 投与群全例と400mg/kg 投与群2例に Pivampicillin 投与後、嘔吐がかなりみられた。一般に投与開始1週以内が最も回数が多く、5週以後は激減した。100mg/kg 投与例では、ほとんど嘔吐はみられず、2例にそれぞれ1回づつ、投与後期に嘔吐を観察したのみであった。嘔吐物の内容には、しばしば検体が混入していた。糞便の状態は、750、400mg/kg 投与群の雌各1例に、投与7～8週頃下痢が数回みられたが、その他の例では投与期間中、下痢、軟便はみられなかった。

その他には実験犬の示す行動、症状などに異常はみられなかった。

体重：投与開始日の体重を0とし、投与期間中の体重増減の変化を Fig. 7 に示したが、いずれも著変を認めなかった。

血液学的検査：投与開始前10日目、投与開始日、投与11、23、39、45、54、60、67、79日目に赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、網状赤血球数、粒球数、白血球数、白血球百分比について検索したが、各投与群とも投与期間中に異常値を認めなかった。

血清臨床化学的検査：血液学的検査と同じ採血日にえられた血清について検索したが、ALP、LAP、総コレステロール、BUN、TP などは、特に異常値を認めなかった。

GOT は750mg/kg 投与群で全例、すなわち雄2例（No. 1, No. 2）は42日以降、雌2例（No. 3, No. 4）は39日以降上昇を示したが、No. 1, 2, 3 とも79日目は正常に復した（No. 4 は8週目で屠殺）。400、100mg/kg 投与群には異常なかった（Table 11）。

GPT も750mg/kg 投与群で全例、No. 1, 3, 4 は39日目で降、No. 2 は23日目以降上昇を示した（Table 12）。

臓器重量：剖検時の肉眼的観察では各臓器とも投与群全例に異常を認めなかった。

各群各例の臓器重量を Table 13 に示したが、750mg/kg 投与群の雄2例に若干の肝重量増加が認められた他、特に異常値は認められなかった。

病理組織学的所見：各群各例とも、大脳、小脳、心、

肺、腎、脾、腸、下垂体、胸腺、甲状腺、副腎、骨髄、腸間膜リンパ節、精巣、卵巣、子宮等になら病変を認めなかった。

肝では11週目（81日）で屠殺した750mg/kg 投与群の3例（No. 1, No. 2, No. 3）で小葉周辺帯に比較的新しい限局性の肝細胞の変性壊死巣が認められた。すなわち肝細胞の原形質の膨化または核の消失があり、若干の好中球の浸潤を伴っている。周辺の肝組織に線維化等は認められない。8週目で屠殺した750mg/kg 投与群1例を含む各例、および11週目で屠殺した400、100mg/kg 投与群の各例には、ほとんど異常は認められなかった。

IV 催奇形性（マウス、ラット）

1) 胚、胎仔におよぼす影響

各群の観察結果を Table 14（マウス）、Table 15（ラット）に示した。

マウス、ラットとも各群18例の母体を使用したが、いずれも死亡胚、胎仔数は各投与群で対照に比較して有意差を認めなかった。外形異常が観察された投与群がみられたが、これらの異常発生頻度は低く、またマウス、ラットとも対照群に比較し有意差を認めなかった。生仔平均体重がマウス400mg/kg、ラット200mg/kg 投与群で対照群との間に有意差をもつ減少を示したが、他投与群には差がなかった。

2) 胎仔の骨格系におよぼす影響

マウスの観察結果を Table 16、ラットの結果を Table 17 に示した。

頸椎異常の発生頻度はマウス、ラットとも対照群との間に有意差はなく、胸椎、腰椎異常の発生頻度も低く、群間に差はなかった。解剖学的変異である頸肋骨、第14肋骨の成立頻度は対照群との間に差はなく本剤投与の影響はみられなかった。化骨進行度の指標としての尾椎化骨核数はマウス、200、400mg/kg ラット200mg/kg 投与群で対照群との間に有意差をもつ減少を認めた。

3) 生後発育におよぼす影響

マウスおよびラットの出生時および離乳期における観察結果を Table 18, 19 に示した。妊娠期間はマウス、ラットともにほぼ正常であり、分娩率、哺育率にも対照群と比較して有意差はなかった。

Table 20, 21 にマウスおよびラットの育成観察期間中の平均体重ならびに雌の平均腔開口日令を示した。マウスにおいて胎生期に認められた400mg/kg 投与群の発育遅延は出生後ほとんど認められず各群正常な発育を示した。100mg/kg 投与群の腔開口日令が遅延したが投与群間では投与量との間に一定の関係はみられなかった。ラットでは200mg/kg 投与群の雌の体重が低かったが、平均離乳仔数の多いことに対応していた。また、平均腔

Table 11 Changes of transaminase (GOT) levels in dog serums during oral administration of pivampicillin for 57 or 81 days

(K-U)

No. Sex	Dose	-10	0	11	23	39	45	54	57	60	67	79
1 ♂	750mg/kg (250×3)	34.0	29.5	26.5	32.4	36.5	85.0	101.5	—	77.0	59.5	47.5
2 ♂		22.5	23.8	25.0	33.5	32.4	182.5	115.0	—	65.8	27.5	29.5
3 ♀		35.2	29.5	27.5	33.5	59.5	244.0	101.5	—	62.5	37.5	37.5
4 ♀		24.4	25.0	23.8	27.5	140.5	481.0	155.5	129.0	—	—	—
5 ♂	400mg/kg (200×2)	40.8	31.0	30.5	29.5	27.5	24.3	27.0	28.0	—	—	—
6 ♂		26.8	25.5	27.5	27.5	29.5	29.5	26.0	—	27.5	27.5	29.5
7 ♀		23.5	22.5	22.5	22.5	25.0	35.2	32.8	—	30.0	33.5	29.5
8 ♀		28.5	25.0	26.5	30.5	30.2	24.3	23.0	—	—	—	—
9 ♂	100mg/kg	28.2	28.0	32.4	25.0	25.0	27.5	19.2	23.0	—	—	—
10 ♂		31.0	20.5	25.0	25.0	27.5	19.2	32.0	—	23.8	22.5	25.0
11 ♀		20.2	21.8	25.0	22.5	26.5	19.2	19.2	—	23.8	22.5	25.0
12 ♀		28.0	28.0	36.5	30.5	26.5	20.3	20.3	29.0	—	—	—
13 ♂	Cont.	28.0	15.0	25.0	31.0	17.6	33.0	30.0	26.0	25.0	24.0	25.5
14 ♂		27.0	28.0	33.0	42.0	40.0	40.0	31.0	31.0	30.0	25.0	30.5
15 ♀		24.0	31.0	33.0	28.0	23.0	35.0	30.0	35.0	30.0	23.0	32.0
16 ♀		31.0	32.0	31.0	32.0	25.0	30.0	33.0	38.0	25.0	30.5	37.5

Table 12 Changes of transaminase (GPT) levels in dog serums during oral administration of pivampicillin for 57 or 81 days

(K-U)

No. Sex	Dose	-10	0	11	23	39	45	54	57	60	67	79
1 ♂	750mg/kg (250×3)	29.5	21.2	27.5	30.0	59.8	53.4	78.4	—	118.5	101.0	66.5
2 ♂		24.2	20.2	30.0	47.2	42.5	74.8	140.5	—	101.0	54.0	42.5
3 ♀		20.5	15.7	29.0	27.5	37.5	74.8	108.0	—	85.4	42.5	35.5
4 ♀		15.5	21.2	25.0	27.5	78.7	253.5	229.5	82.0	—	—	—
5 ♂	400mg/kg (200×2)	27.0	23.0	26.5	27.5	22.3	23.4	28.8	33.4	—	—	—
6 ♂		35.8	26.2	39.3	39.3	34.0	31.8	39.2	—	39.5	43.5	42.5
7 ♀		16.0	15.3	29.0	22.3	29.0	31.8	28.4	—	35.0	39.8	39.3
8 ♀		11.0	21.2	19.8	24.0	22.3	19.5	21.0	17.2	—	—	—
9 ♂	100mg/kg	43.8	27.0	35.0	31.5	30.0	28.8	25.8	49.5	—	—	—
10 ♂		21.8	18.8	19.8	17.5	19.8	15.2	31.8	—	26.5	15.3	22.3
11 ♀		21.8	21.2	27.5	25.0	22.3	19.5	19.5	—	29.0	22.3	27.5
12 ♀		29.0	20.2	26.5	31.5	31.5	23.4	23.4	27.4	—	—	—
13 ♂	Cont.	20.2	25.0	22.0	27.0	20.0	15.5	19.8	15.2	17.5	15.5	20.3
14 ♂		25.0	22.0	21.0	26.0	15.0	15.0	22.5	21.0	19.5	18.5	24.2
15 ♀		26.0	25.5	26.0	20.0	14.0	24.0	17.0	19.0	15.5	16.8	26.2
16 ♀		30.0	26.0	24.0	25.0	25.0	24.0	19.0	16.7	19.5	18.5	21.4

Table 13 Organ weight in dogs after oral administration of pivampicillin for 57 or 81 days

Dose (mg/kg/day)	750 (250×3)				400 (200×2)				100				Control			
Dog No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Sex	♂	♂	♀	♀	♂	♂	♀	♀	♂	♂	♀	♀	♂	♂	♀	♀
Body weight (kg)	8.4	8.2	8.5	7.3	9.8	9.5	9.0	8.0	8.6	8.6	10.0	7.6	9.3	10.3	7.9	7.3
Brain (g)	72.3	72.8	75.0	76.0	68.5	78.5	76.0	74.5	78.5	74.9	71.0	74.6	86.0	73.5	70.9	75.7
Hypophysis (g)	0.05	0.06	0.07	0.05	0.04	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06
Thyroid (g)	R 0.58	0.32	0.51	0.23	0.32	0.47	0.46	0.50	0.31	0.42	0.22	0.37	0.35	0.33	0.26	0.45
	L 0.50	0.32	0.53	0.27	0.37	0.40	0.33	0.44	0.34	0.39	0.34	0.35	0.34	0.34	0.30	0.40
Heart (g)	74.0	72.5	85.0	60.8	81.7	86.0	62.8	70.0	84.0	75.5	78.8	64.8	80.0	86.5	56.9	68.8
Lung (g)	67.0	62.0	77.5	52.1		71.2	56.0	59.0	63.3	61.8	84.8	71.8	65.5	134.2	53.8	73.8
Liver (g)	309.8	302.0	254.3	223.9	276.2	252.2	278.3	274.9	282.5	250.5	285.7	214.3	268.2	297.0	230.0	233.0
Spleen (g)	19.3	20.8	24.3	18.9	21.1	21.3	26.0	25.6	17.0	21.0	24.2	20.0	22.8	28.5	20.6	16.0
Pancreas (g)	31.5	21.8	17.8	18.5	16.8	16.5	18.3	16.5	19.8	20.3	20.3	21.0	18.0	26.7	17.8	24.3
Adrenal gland (g)	R 0.50	0.38	0.62	0.52	0.52	0.53	0.45	0.59	0.45	0.52	0.40	0.50	0.39	0.64	0.49	0.64
	L 0.52	0.41	0.56	0.47	0.53	0.48	0.41	0.69	0.41	0.52	0.43	0.49	0.46	0.67	0.51	0.66
Kidney (g)	R 28.9	25.5	21.1	20.0	24.0	20.0	21.3	21.0	20.3	21.0	20.5	24.5	21.8	26.0	16.0	17.3
	L 28.8	26.3	22.2	20.7	24.4	20.5	21.0	22.2	20.2	22.5	20.8	24.8	23.0	27.5	16.3	17.8
Prostate (g)	6.0	8.8	—	—	8.3	5.8	—	—	7.1	5.0	—	—	8.4	7.4	—	—
Testis (g)	R 7.5	8.0	—	—	8.2	6.3	—	—	7.4	7.0	—	—	7.2	10.7	—	—
	L 6.8	6.5	—	—	9.3	7.0	—	—	5.0	7.0	—	—	8.0	9.0	—	—
Epididymis	R 1.28	1.58	—	—	2.30	1.77	—	—	2.50	1.32	—	—	2.68	1.72	—	—
	L 0.79	0.79	—	—	1.50	1.68	—	—	3.30	1.39	—	—	2.04	1.55	—	—
Ovary	R —	—	0.80	0.47	—	—	0.21	1.25	—	—	0.40	0.28	—	—	0.23	0.37
	L —	—	1.71	0.27	—	—	0.29	0.77	—	—	0.39	0.30	—	—	0.22	0.36

Table 14 Effect of pivampicillin administered during pregnancy on mouse fetuses

Dose administered (mg/kg/day)	Number of dams	Body weight of dam (g) (mean ± S.E.)		Total number of conceptuses (average per dam)	Number of surviving fetuses (average per dam)	Pregnancy wastage (%)	Number of malformed fetuses (%)	Mean body weight of surviving fetuses (g)	Type of external malformation (number)
		0 day	18 th day						
Control	18	26.9±0.46	48.7±1.17	199 (11.1)	181 (10.1)	18 (9.0)		1.27±0.007	
100	18	26.8±0.42	48.1±0.99	187 (10.4)	168 (9.3)	19 (10.2)	3 (1.8)	1.26±0.011	Short tailedness (3)
200	18	26.7±0.39	47.6±0.98	192 (10.7)	178 (9.9)	14 (7.3)	1 (0.6)	1.26±0.008	Exencephalia (1)
400	18	27.0±0.48	46.3±1.30	199 (11.1)	178 (9.9)	21 (10.6)	3 (1.7)	1.19*±0.009	Ectrodactylia(1) Micromelia with ectrodactylia (1) Micromelia with cleft palate (1)

* Significant at 1 % level in comparison with the control

Table 15 Effect of pivampicillin administered during pregnancy on rat fetuses

Dose administered (mg/kg/day)	Number of dams	Body weight of dam (g) (mean $\pm$ S.E.)		Total number of conceptuses (average per dam)	Number of surviving fetuses (average per dam)	Pregnancy wastage (%)	Number of malformed fetuses (%)	Mean body weight of surviving fetuses (%)	Type of external malformation (number)
		0 day	20 th day						
Control	18	256 $\pm$ 2.8	414 $\pm$ 5.2	276 (15.3)	257 (14.3)	19 (6.9)	2 (0.8)	3.86 $\pm$ 0.022	Micrognathia with cleft palate and brachydactylia (1) Micrognathia with cleft palate and microphthalmia(1)
100	18	254 $\pm$ 3.2	406 $\pm$ 5.6	282 (15.7)	253 (14.1)	29 (10.3)	1 (0.4)	3.96 $\pm$ 0.029	Taillessness(1)
200	18	256 $\pm$ 1.4	384 $\pm$ 4.2	260 (14.4)	240 (13.3)	20 (7.7)		3.75* $\pm$ 0.032	
400	18	253 $\pm$ 2.6	385 $\pm$ 4.4	258 (14.3)	237 (13.2)	21 (8.1)		3.94 $\pm$ 0.022	

* Significant at 1 % level in comparison with the control

Table 16 Effect of pivampicillin upon the skeletal development of mouse fetuses

Dose administered (mg/kg/day)	Number of fetuses	Skeletal malformations (%)			Anatomical variations (%)		Number of ossified coccygeal vertebrae
		Cervical vertebrae	Thoracic vertebrae	Lumbar vertebrae	Cervical rib	Lumbar rib	
Control	181	1 (0.6)	1 (0.6)		43 (23.8)	18 (9.9)	7.51 $\pm$ 0.102
100	165	1 (0.6)			47 (28.5)	7 (4.2)	7.97 $\pm$ 0.177
200	177	2 (1.1)			32 (18.1)	3 (1.7)	6.90* $\pm$ 0.119
400	175	3 (1.7)			28 (16.0)	4 (2.3)	6.61* $\pm$ 0.120

* Significant at 1 % level in comparison with the control

Table 17 Effect of pivampicillin upon the skeletal development of rat fetuses

Dose administered (mg/kg/day)	Number of fetuses	Skeletal malformations (%)				Anatomical variations (%)		Number of ossified coccygeal vertebrae
		Cervical vertebrae	Thoracic vertebrae	Lumbar vertebrae	Ribs	Cervical rib	Lumbar rib	
Control	255		1 (0.4)			2 (0.8)	14 (5.5)	4.60 $\pm$ 0.041
100	252	1 (0.4)				1 (0.4)	22 (8.7)	4.71 $\pm$ 0.066
200	240	1 (0.4)	2 (0.8)		1 (0.4)		12 (5.0)	4.37* $\pm$ 0.064
400	237	2 (0.8)	2 (0.8)	1 (0.4)			9 (3.8)	4.77 $\pm$ 0.039

* Significant at 1 % level in comparison with the control

Table 18 Effect of pivampicillin administered to pregnant mice upon their reproductive ability

Dose administered (mg/kg/day)	Number of dams	Duration of pregnancy (day)	Total number of conceptuses (average per dam)	Number of newborns (mean litter size)	Number of weanlings (mean litter size)	Parturition ¹⁾ rate (%)	Nursing ²⁾ rate (%)
Control	7	19.0	73 (10.4)	66 (9.4)	65 (9.3)	90.4	98.5
100	7	19.0	73 (10.4)	67 (9.6)	66 (9.4)	91.8	98.5
200	7	19.0	73 (10.4)	69 (9.9)	68 (9.7)	94.5	98.6
400	7	19.0	77 (11.0)	74 (10.6)	73 (10.4)	96.1	98.6

1) (Number of newborns)/(Number of conceptuses)

2) (Number of weanlings)/(Number of newborns)

Table 19 Effect of pivampicillin administered to pregnant rats upon their reproductive ability

Dose administered (mg/kg/day)	Number of dams	Duration of pregnancy (day)	Total number of conceptuses (average per dam)	Number of newborns (mean litter size)	Number of weanlings (mean litter size)	Parturition ¹⁾ rate (%)	Nursing ²⁾ rate (%)
Control	7	21.0	113 (16.1)	91 (13.0)	59 (8.4)	80.5	64.8
100	9	21.3	139 (15.4)	112 (12.4)	81 (9.0)	80.6	72.3
200	7	21.4	111 (15.9)	90 (12.9)	81 (11.6)	81.1	90.0
400	13	21.5	198 (15.2)	163 (12.5)	142 (10.9)	82.3	87.1

Table 20 Effect of pivampicillin administered to pregnant mice on post-natal growth of their offsprings; increase in body weight with age and mean vaginal opening days

Dose administered (mg/kg/day)	Sex	Number of newborns	Number of weanlings	Body weight of offsprings (mean $\pm$ S.E.)				Mean vaginal opening days
				0	2	4	6 weeks	
Control	♂	34	33	1.86 $\pm$ 0.036	7.9 $\pm$ 0.15	23.6 $\pm$ 0.22	30.1 $\pm$ 0.25	21.5 $\pm$ 0.34
	♀	32	32	1.71 $\pm$ 0.036	8.1 $\pm$ 0.13	19.7 $\pm$ 0.22	24.4 $\pm$ 0.38	
100	♂	34	33	1.85 $\pm$ 0.024	8.1 $\pm$ 0.11	23.6 $\pm$ 0.24	29.8 $\pm$ 0.27	22.5 $\pm$ 0.25*
	♀	33	33	1.84 $\pm$ 0.024	7.9 $\pm$ 0.01	19.4 $\pm$ 0.19	23.4 $\pm$ 0.36	
200	♂	40	39	1.65 $\pm$ 0.030	7.9 $\pm$ 0.13	22.0 $\pm$ 0.37	29.1 $\pm$ 0.32	20.3 $\pm$ 0.71
	♀	29	29	1.52 $\pm$ 0.040	7.6 $\pm$ 0.15	18.3 $\pm$ 0.31	23.0 $\pm$ 0.37	
400	♂	34	34	1.96 $\pm$ 0.026	7.5 $\pm$ 0.19	22.0 $\pm$ 0.26	29.3 $\pm$ 0.25	21.4 $\pm$ 0.59
	♀	40	39	1.89 $\pm$ 0.031	7.3 $\pm$ 0.16	18.2 $\pm$ 0.17	22.7 $\pm$ 0.23	

* Significant at 5 % level in comparison with the control

Table 21 Effect of pivampicillin administered to pregnant rats on post-natal growth of their offsprings; increase in body weight with age and mean vaginal opening days

Dose administered (mg/kg/day)	Sex	Number of newborns	Number of weanlings	Body weight of offsprings (mean $\pm$ S.E.)				Mean vaginal opening days
				0	2	4	6 weeks	
Control	♂	48	33	5.7 $\pm$ 0.06	25.1 $\pm$ 0.86	81 $\pm$ 1.9	180 $\pm$ 3.7	26.5 $\pm$ 0.46
	♀	43	26	5.4 $\pm$ 0.06	25.1 $\pm$ 0.83	76 $\pm$ 1.2	161 $\pm$ 2.5	
100	♂	69	50	5.6 $\pm$ 0.08	24.8 $\pm$ 0.60	77 $\pm$ 1.4	171 $\pm$ 2.4	29.4 $\pm$ 0.34*
	♀	43	31	5.3 $\pm$ 0.08	24.5 $\pm$ 0.56	75 $\pm$ 0.9	162 $\pm$ 2.2	
200	♂	38	34	5.6 $\pm$ 0.07	26.5 $\pm$ 0.94	70 $\pm$ 2.5	174 $\pm$ 4.5	24.0 $\pm$ 0.12
	♀	52	47	5.3 $\pm$ 0.07	24.0 $\pm$ 0.70	63 $\pm$ 1.6	135 $\pm$ 2.9	
400	♂	80	68	6.0 $\pm$ 0.05	27.1 $\pm$ 0.49	81 $\pm$ 1.3	190 $\pm$ 2.1	24.1 $\pm$ 0.14
	♀	83	74	5.6 $\pm$ 0.04	25.5 $\pm$ 0.50	72 $\pm$ 0.9	154 $\pm$ 1.9	

* Significant at 1 % level in comparison with the control

開口日令が 100mg/kg 投与群のみに対照群と比較し有意に遅延した。その他育成観察期間中、行動異常を示した例はなく、剖検時の臓器観察においても形態異常は認められなかった。マウス、ラットとも精子形成および精子の運動能力は各群ともほぼ正常であった。

総括ならびに考察

Pivampicillin のマウス、ラットに対する急性毒性は、静脈内投与ではマウス、ラットともほぼ同じ LD₅₀ 値であったが、ラットよりマウスにやや強い毒性がみられた。しかしながら経口、皮下投与による LD₅₀ 値は体重 kg あたりいずれも 2～3 g 以上で毒性はきわめて弱かった。

ラットに対する 5 週、13 週、26 週間連続経口投与では 1,500mg/kg 投与で下痢が認められ、500, 1,000mg/kg 投与では軟便がみられた。体重は 5 週間投与で 1,500 mg/kg 投与群に増加抑制を認めたが 13 週、26 週間投与では 1,000mg/kg 投与群も増加抑制を示した。5 週間投与実験で雌 1 例 (1,500mg/kg 投与群) が死亡したが剖検時肺炎症状を呈しており、13 週、26 週間の長期連続投与では 1,500mg/kg 投与群で 1 例も死亡例がなかったことから、この死亡は本剤投与による毒性発現の結果とは考えがたく、偶発的なものであろう。

臓器重量で特に変化を示したのは副腎で 13 週間投与の 1,500mg/kg 投与群、26 週間投与の 1,000, 1,500mg/kg 投与群に対照群との間に有意な差を認めた。しかし、組織学的には変化なく、下痢、軟便、その他本剤投与によっておこるストレスに起因する重量増加と推察される。

他臓器の増減は特定臓器にだけ限ってはみられず、いずれも本剤投与によって特異的に重量変化をきたしたとは思われず体重減少に附随した変化と考えられる。

血液学的検査、臨床化学的検査からも本剤投与の影響は認められず、組織学的にもラットに 26 週間 Pivampicillin を経口投与しても著変を認めなかった。

イヌに対する本剤の経口投与では 400 および 750mg/kg 投与群で投与初期に嘔吐がしばしば観察されたが投与中期以降その回数減少した。100mg/kg 投与群ではほとんど嘔吐はなかった。750mg/kg 投与群では 4 週から 8 週日にかけて血清中トランスアミナーゼ (GOT, GPT) の一過性の上昇がみられたが、400, 100mg/kg 投与群では正常であった。他の臨床化学的検査、血液学的検査には異常はみられなかった。トランスアミナーゼの上昇から肝障害が疑われ、病理組織所見からも 750mg/kg 投与群 11 週目剖検例の肝に小さい限局性の肝細胞変性壊死巣が認められた。

前述のごとくラットでは 1,500mg/kg までの 26 週間投与において肝細胞の壊死は 1 例もみられておらず、Pivampicillin の肝に対する作用に種差が認められた。進藤ら³⁾ はヒト、サル、ラットに比し、イヌは Pivampicillin の吸収部位である小腸上部粘膜上皮のエステラーゼ活性が極めて弱いことを報告している。したがってヒト、サル、ラットでは経口投与された Pivampicillin が腸粘膜上皮のエステラーゼにより速やかに Ampicillin に分解され血中に移行するのに反し、イヌでは Pivampicillin そのままで門脈から肝へ移行する可能性があり、750mg/kg の大量投与で肝障害を惹起し、また肝障害に

種差があるものと推察する。

マウスおよびラットによる催奇形性実験では、マウス 400mg/kg 投与群で生仔平均体重が減少したことから器官形成期に Pivampicillin を高量投与すると胚に発育抑制作用を示すようであるが、致死、催奇形作用は認められなかった。ラットにおいては中間量投与群で生仔体重が減少したが、投与群間で投与量との間に一定の関係も認められないことから本剤の影響とは考えがたく、致死、催奇形作用も認められなかった。

骨格系に対してはマウスの高量 (400mg/kg) 投与群に胎仔の発育遅延によると思われる尾椎化骨核数の減少を除いてはほとんど対照群との間に差がなかった。ラット胎仔の骨格系に対しては本剤投与の影響がほとんど認められなかった。

胎生期に母体に Pivampicillin を投与されたマウスおよびラットの出生時、離乳期における観察では、妊娠期間、分娩率、哺育率は正常で、育成観察期間中の平均体重、腔開口日令についても特に本剤投与の影響は認められなかった。また、行動異常を示した例はなく、剖検時の観察で臓器に形態異常もみられず精子形成も正常であったことから、マウス、ラットの生後発育に対し Pivampicillin 400mg/kg までの投与の影響はほとんどないものと思われる。

要 約

Pivampicillin の実験動物に対する毒性試験を実施し、以下の結果を得た。

マウス、ラットについて Pivampicillin の経口、皮下、腹腔内、静脈内投与による LD₅₀ 値を算出した。

ラットに対する 1,500mg/kg までの 5, 13, 26週間連続経口投与では、1,000, 1,500mg/kg 投与で体重増加抑制、下痢または軟便、副腎の重量増加傾向を認めた以外、著明な変化はみられなかった。

イヌに対する連続経口投与では、400mg/kg 以上の投与で嘔吐が頻発し、750mg/kg 投与で4週から8週目にトランスアミナーゼ (GOT, GPT) の上昇がみられた。11週間、750mg/kg 投与では肝に限局性の肝細胞変性壊死巣があり、Pivampicillin の毒性発現に種差のあることが認められた。

マウス、ラットによる催奇形実験から Pivampicillin の経口投与では胚に対し致死、催奇形作用はなく、骨格系に対してもほとんど影響をおよぼさないことが知られた。マウス、ラットの生後発育にも Pivampicillin の経口投与は影響を与えないことが認められた。

文 献

- 1) DAEHNE, W. V.; E. FREDERIKSEN, E. GUNDERSEN, F. LUND, P. MORCH, H. J. PETERSEN, K. ROHOLT, L. TYPRING, & W. O. GODTFREDSSEN: Acyloxymethyl ester of ampicillin. J. Med. Chem. 13: 607~612, 1970
- 2) DAEHNE W. V.; W. O. GODTFREDSSEN, K. ROHOLT & L. TYBRING: Pivampicillin, a new orally active ampicillin ester. Antimicrob. Agents & Chemother. 431~437, 1970
- 3) 進藤英世, 他: 第5回薬物代謝と薬効, 毒性シンポジウム 1973

TOXIC EXPERIMENTS OF PIVAMPICILLIN IN ANIMALS

HIROSHI MASUDA, YOSHIO SUZUKI and TAKASHI OKONOGI

Central Research Laboratories, Sankyo Co., Ltd.

Acute toxicity of pivampicillin was studied in mice and rats by oral, subcutaneous, intraperitoneal and intravenous dosing. The dosing period varied as 5~13 weeks for subacute oral toxicity in rats and 11 weeks in dogs and 26 weeks in rats for chronic oral toxicity.

Prolonged oral toxicity studies dosing up to 1,500g/kg/day in rats showed no remarkable changes in behavior, gross and postmortem findings and other observations except some depression of body weight gain, diarrhea and/or loose stool, and a slight increase of adrenal weight at doses of 1,000 and 1,500g/kg/day.

In subacute toxicity study in dogs, however, vomiting occurred frequently in dogs dosed more than 400mg/kg/day, and serum transaminase activity (GOT, GPT) was transiently elevated during 4th to 8th week in animals received 750mg/kg/day. In an autopsy, localized degenerated necrosis of liver cells of dogs was observed, which revealed a specific difference in the toxic manifestation by pivampicillin administration.

The teratogenicity was studied in mice and rats by oral dosing to pregnant female. No external nor internal malformations seemed to be caused by pivampicillin in fetuses and newborns of mice and rats. No effect was found too in post-natal growth of offsprings.