

BRL14151K および BRL25000 のラットにおける慢性毒性試験

OWEN P. GREEN, BRIAN HUNTER, RALPH HEYWOOD,
ALEN E. STREET and DAVID E. PRENTICE
Huntingdon Research Centre

TERRY L. HARDY
Beecham Pharmaceuticals Research Division

幸 嶋 祥 亘
ビーチャム薬品株式会社

BRL14151K および BRL25000 を Sprague-Dawley ラットに 26 週間連続強制経口投与し、さらに対照群と高用量群に 4 週間の休薬期間をもうけた。投与量は遊離酸として、BRL14151K は、10, 20, 50, 400 mg/kg, BRL25000 は、30, 60, 150, 1,200 mg/kg とした。

投与に関連すると思われる所見はほとんどが両検体の高用量群にみられた。すなわち、(1) 投与直後の流涎、(2) 体重増加の抑制、摂水量の増加あるいは減少、(3) リンパ球数の増加、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮、アルブミン量の減少、尿量の減少と浸透圧の上昇、(4) 肝重量の増加、また顕微鏡所見では、(a) 肝細胞の腫大、(b) 胃の皺状縁の非腺上皮の過形成、(c) 盲腸腔の拡張。

上記のうち、程度は低いが中間用量群でもみられたものに、体重増加抑制、アルブミン量の減少がある。またアルブミン量の減少は BRL14151K 投与群では総蛋白質量の減少を伴っていた。休薬後にもみられた所見は、BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群(雌)の総蛋白質量およびアルブミン量の減少ならびに肝細胞の腫大(特に雄)であった。

以上を勘案すると、この試験における BRL14151K および BRL25000 の最大無作用量は、それぞれ 50 mg/kg/日および 150 mg/kg/日であると考えられた。

BRL25000 は、Amoxicillin (AMPC) および Potassium clavulanate (BRL14151K) を 2:1 に配合した経口抗生物質であり、広範囲な抗菌スペクトルを有する。BRL14151K が種々の β -lactamase を阻害するため、 β -lactamase 産生により AMPC に対して耐性を獲得した細菌に対しても抗菌力を示し、また合剤にすることにより従来 AMPC 耐性であった細菌に対しても AMPC の抗菌スペクトルを広げている¹⁻⁴⁾。

I. 材料と方法

1. 検体

BRL14151K は白色または灰白色の水溶性粉末である。BRL25000 は AMPC と BRL14151K の 2:1 の配合剤である。投与量はすべて遊離酸として表示した。

2. 実験動物

Sprague-Dawley ラット (28 $\pm$ 1 日齢、体重の幅 10 g 以内) を Charles River Breeding Laboratories, France より購入し、5 匹ずつ懸架式金網床ケージに収容した。飼育環境は室温約 21°C、相対湿度約 50%、照

明は明暗各 12 時間とした。固型飼料 (Spratt's Laboratory Diet No. 1) と水道水は自由に摂取させた。

3. 投与方法と投与量

投与する検体の濃度は、投与液量が 5 ml/kg 体重になるように設定した。検体は用時 1% methylcellulose (MC) 溶液に溶解または懸濁しゴム製カテーテルを用いて 26 週間連続強制経口投与した。

両試験において 13 日間の馴化期間後ラットを無作為に群別し、下記の投与量で投与した。

A.

第 1 群	対照—1% MC	雄 20 雌 20
第 2 群	10 mg/kg/日 BRL14151K	雄 15 雌 15
第 3 群	20 mg/kg/日 BRL14151K	雄 15 雌 15
第 4 群	50 mg/kg/日 BRL14151K	雄 15 雌 15
第 5 群	400 mg/kg/日 BRL14151K	雄 20 雌 20

B.

第 1 群	対照—1% MC	雄 20 雌 20
第 2 群	30 mg/kg/日 BRL25000	雄 15 雌 15

第3群 60 mg/kg/日 BRL25000 雄15 雌15
 第4群 150 mg/kg/日 BRL25000 雄15 雌15
 第5群 1,200 mg/kg/日 BRL25000 雄20 雌20

投与量はすべて遊離酸として表示した。

最高用量は、以前に行なった試験をもとに決定した最大耐量とした。

両検体について第1群と第5群の雌雄各5例を投与終了後4週間休薬させ、検体投与による影響の回復性を検討した。

4. 一般症状

すべてのラットは試験期間中毎日観察し、一般症状を記録した。

5. 摂餌量

各ケージごとの摂餌量を試験期間を通して、週1回記録した。

6. 摂水量

各ケージごとの摂水量（重量）を試験期間を通して毎日記録した。

7. 体重

各ラットの体重を試験期間中は、週2回、および試験開始1週間前に1回記録した。

8. 眼科検査

投与開始前にすべてのラットについて、第5、13、26週に、また、休薬期間終了時に対照群と最高用量群について行なった。

9. 血液学的検査、血液生化学検査、尿検査および糞中潜血検査

投与開始前に健康チェックのため雌雄各10例のサンプルについて Table 1 に示した項目について検査した。

血液学的検査、血液生化学検査、尿検査および尿濃縮試験は各群の雌雄各10例について第3～4、12～13および24～25週に行なった。糞のサンプルは各群の雌雄各5例について検査した。

休薬期間終了時には糞中潜血を除くすべての項目について検査した。

検査に先立ち、ラットを1晩絶食させた。血液サンプルは軽いエーテル麻酔下でラットの眼窩静脈より採取した。尿検査はラットに30 ml/kgの水を負荷させた後の2時間尿を用い、尿濃縮試験のサンプルにはラットを6時間絶水させた後の2時間尿を用いた。

10. 病理組織学的検査

ラットはペントバルビタールナトリウムを腹腔内注射した後、頸動脈を切開して放血屠殺した。骨髄は投与終了時に各群の雌雄5例ずつおよび休薬期間終了時にすべてのラットから採取した。

すべてのラットを肉眼的に詳細に観察した後、主要臓

器を採取し重量測定をした。顕微鏡検査のために下記の組織を10%緩衝ホルマリンに固定したが、眼球はDAVIDSON固定液に保存した。組織切片をつくり、Hematoxylin-eosin染色を施した。肝と腎の切片についてはPASおよびOil Red O染色を行なった。

剖検時に以下の臓器を保存した。

副腎*	リンパ節 (頸部、腸間膜)	精囊
動脈 (大動脈弓および腹部大動脈)	乳腺	骨格筋
脳* (髄質、小脳および皮質部)	食道	皮膚
盲腸	視神経	脾*
結腸	卵巣*	胸骨
十二指腸	脾	胃 (腺部および非腺部)
眼球	下垂体*	精巣*
心*	前立腺*	胸腺*
回腸	唾液腺	甲状腺*
腎*	坐骨神経	舌
肝*	脊髄 (頸部および腰部)	気管
肺*		膀胱
		子宮*

*印を付した臓器について重量測定した。

II. 成績

1. 死亡率および一般症状

両試験とも検体投与による死亡例はみられなかった。唯一の投与による所見は投与直後から35分間まで続く流涎であり、BRL14151Kの400 mg/kg/日投与群とBRL25000の1,200 mg/kg/日投与群にそれぞれ第8回および第4回の投与からみられた。この所見はBRL14151Kの400 mg/kg/日投与群では第4週まで、BRL25000の1,200 mg/kg/日投与群では第5週までにそれぞれすべてのラットにみられるようになった。流涎は同投与群のほとんどの例で投与期間終了時までみられたが、休薬期間はまったくみられなかった。

2. 体重 (Fig. 1)

BRL14151Kの400 mg/kg/日投与群、BRL25000の1,200 mg/kg/日投与群および雄の150 mg/kg/日投与群では投与終了時の体重は対照群のそれを統計的に有意に下回った。休薬期間中はBRL14151Kの400 mg/kg/日投与群の体重増加量は対照群に比べて大きかったが、BRL25000の1,200 mg/kg/日投与群では対照群と比較して体重の増加抑制が続いた。

Table 1-1 Items investigated and units on haematology, biochemistry, urinalysis, urine concentration test and faecal occult blood

Investigations	Units	Method
<i>Haematology</i>		
Packed cell volume (PCV)	%	Hemalog 8/90
Haemoglobin (Hb)	g %	
Red cell count (RBC)	mill/mm ³	BCB and NMB*
Reticulocyte count (Retics)	% red cells	
Mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) = $Hb \times 100 \div PVC$	%	
Mean cell volume (MCV) = $PCV \times 10 \div RBC$	cubic microns	
Mean cell haemoglobin (MCH) = $Hb \times 10 \div RBC$	$\mu\mu g$	
Total white cell count (WBC)	10 ³ /mm ³	Hemalog 8/90
Neutrophils (N)	10 ³ /mm ³	Microscopy
Lymphocytes (L)	10 ³ /mm ³	
Eosinophils (E)	10 ³ /mm ³	
Basophils (B)	10 ³ /mm ³	
Monocytes (M)	10 ³ /mm ³	
Platelet count	10 ³ /mm ³	Hemalog 8/90
Activated partial thromboplastin time (Act. PTT)	seconds	PROCTOR, P.R., RAPAPORT, S.I.**
Prothrombin time (PT)	seconds	Quick's one stage method (using Simplastin)
<i>Biochemistry</i>		
Blood urea nitrogen	mg %	Technicon SMA 12/60
Plasma glucose	mg %	UCC*** (using Roche Diagnostics Test Kit)
Total serum proteins	g %	Technicon SMA 12/60
Albumin	g %	Millipore phoroslides
α_1 globulin	g %	
α_2 globulin	g %	
β globulin	g %	
γ globulin	g %	
A/G ratio		
Serum alkaline phosphatase (SAP)	mU/ml	UCC*** (using Smith Kline Instruments Test Kit)
Serum glutamate pyruvate transaminase (SGPT)	mU/ml	UCC*** (using Roche Diagnostics Test Kit)
Serum bilirubin	mg %	
Sodium (Na ⁺)	mEq/l	Technicon SMA 12/60
Potassium (K ⁺)	mEq/l	
Chloride (Cl ⁻)	mEq/l	
<i>Urinalysis</i>		
Colour		
Volume	ml	Visual assessment
pH		pH meter
Specific gravity (SG)		refractometer or pycnometer
Protein	mg %	Multistix
Total reducing substances		Clinitest
Glucose		Multistix
Ketones		
Bile pigments		
Urobilinogen		
Haemoglobin		

* brilliant cresyl blue and new methylene blue

** Am. J. Clin. Path 1961, 36, 212

*** Union Carbide Centrifichem

Table 1-2 Items investigated and units on haematology, biochemistry, urinalysis, urine concentration test and faecal occult blood (continued)

Investigations	Units	Method
<i>Urinalysis (continued)</i>		
Microscopy of spun deposit :		
Epithelial cells (E)		
Polymorphonuclear leucocytes (P)		
Mononuclear leucocytes (M)		
Red blood cells (R)		
Organisms (O)		
Casts (C)		
Abnormal constituents (A)		
<i>Urine Concentration Test</i>		
Volume	ml	
Osmolality	m. osm./kg	Knauer osmometer
<i>Faecal Occult Blood</i>		
Occult blood	+ve or -ve	Hughes & Hughes (Okokit) Test Kit

* Brilliant cresyl blue and new methylene blue
** Am.J.Clin.Path 1961, 36, 212
*** Union Carbide Centrifichem

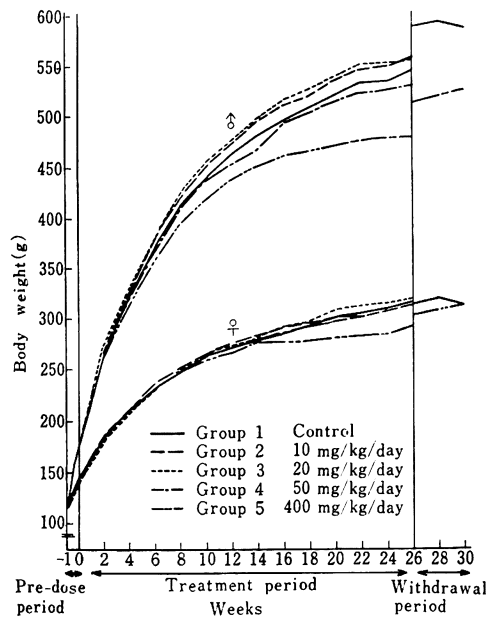


Fig.1-a Growth of male and female rats—BRL14151K

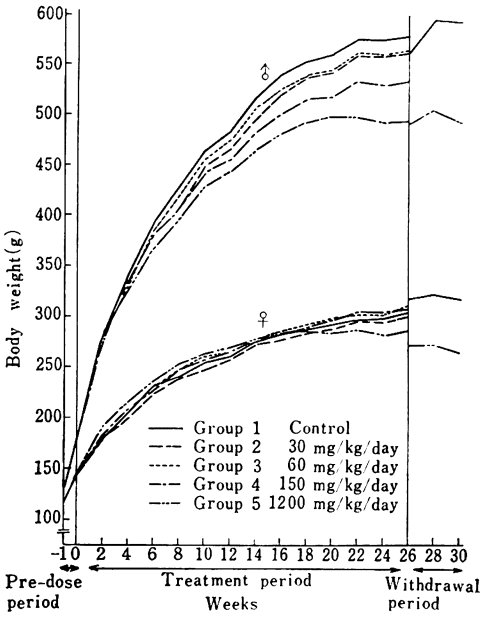


Fig.1-b Growth of male and female rats—BRL25000

両検体のその他の投与群のラットの体重増加は対照群とほぼ同等であった。

3. 摂餌量

両検体の投与群のラットの摂餌量は対照群とほぼ同等

であった。

4. 摂水量

投薬期間中の摂水量は対照群に比べて、BRL14151Kの400 mg/kg/日投与群の雌で減少、BRL25000の1,200

Table 2 a Haematological investigations - BRL14151K

Dose (mg/kg/day)	Week	PCV (%)	Hb (g%)	RBC (mill/mm ³)	Retic (%)	MCHC (%)	MCV (μ m ³)	MCH (μ gR)	WBC ($\times 10^3$ /mm ³)					Platelets ($\times 10^3$ /mm ³)	Act. PTT (secs.)	PT (secs.)
									Total	N	L	E	B			
♂ Health check	Predose	41 $\pm$ 3.1	10.4 $\pm$ 0.38	4.6 $\pm$ 0.20	5.7 $\pm$ 2.58	26 $\pm$ 1.8	90 $\pm$ 7.2	23 $\pm$ 0.6	7.8 $\pm$ 3.38	1.0 $\pm$ 0.67	6.7 $\pm$ 2.81	0.0	0.0	465 $\pm$ 97.9	14.2 $\pm$ 2.77	11.5 $\pm$ 0.38
♀ Health check		42 $\pm$ 4.0	10.7 $\pm$ 0.61	4.7 $\pm$ 0.41	7.1 $\pm$ 1.76	26 $\pm$ 1.4	89 $\pm$ 6.5	23 $\pm$ 0.9	8.5 $\pm$ 4.07	1.1 $\pm$ 1.01	7.4 $\pm$ 3.09	0.1	0.0	418 $\pm$ 120.7	13.8 $\pm$ 3.20	10.7 $\pm$ 0.58
Control	4	51 $\pm$ 2.9	16.0 $\pm$ 0.90	6.7 $\pm$ 0.34	<2.4	32 $\pm$ 1.3	76 $\pm$ 3.4	24 $\pm$ 0.9	14.4 $\pm$ 3.21	1.6 $\pm$ 1.06	12.7 $\pm$ 2.72	0.0	0.0	933 $\pm$ 113.0	25.8 $\pm$ 7.49	14.2 $\pm$ 0.67
10		52 $\pm$ 3.9	15.1 $\pm$ 0.60	6.8 $\pm$ 0.36	<2.0	29 $\pm$ 1.9	76 $\pm$ 4.6	22 $\pm$ 0.9	12.1 $\pm$ 1.88	1.2 $\pm$ 0.68	10.9 $\pm$ 1.42	0.0	0.0	879 $\pm$ 103.2	19.1 $\pm$ 4.98	10.8 $\pm$ 0.54
♂		51 $\pm$ 1.8	15.0 $\pm$ 0.49	6.5 $\pm$ 0.33	<2.0	30 $\pm$ 0.5	78 $\pm$ 2.3	23 $\pm$ 0.7	15.0 $\pm$ 2.21	1.1 $\pm$ 0.55	13.9 $\pm$ 1.91	0.1	0.0	903 $\pm$ 79.9	23.2 $\pm$ 8.71	11.8 $\pm$ 2.11
50		53 $\pm$ 2.2	15.4 $\pm$ 0.64	6.7 $\pm$ 0.37	<2.0	29 $\pm$ 0.5	79 $\pm$ 2.6	23 $\pm$ 0.6	12.8 $\pm$ 2.22	1.1 $\pm$ 0.75	11.6 $\pm$ 1.78	0.1	0.0	877 $\pm$ 43.7	21.9 $\pm$ 5.77	11.9 $\pm$ 2.62
400		52 $\pm$ 2.3	15.1 $\pm$ 0.46	6.6 $\pm$ 0.25	<2.0	29 $\pm$ 0.5	78 $\pm$ 1.8	23 $\pm$ 0.7	17.5 $\pm$ 2.08	1.8 $\pm$ 0.83	15.8 $\pm$ 2.14	0.1	0.0	973 $\pm$ 105.1	27.4 $\pm$ 11.83	14.4 $\pm$ 5.75
Control		48 $\pm$ 1.3	14.7 $\pm$ 0.33	6.5 $\pm$ 0.18	<2.0	31 $\pm$ 0.8	74 $\pm$ 1.4	23 $\pm$ 0.7	10.6 $\pm$ 2.52	0.8 $\pm$ 0.37	9.8 $\pm$ 2.71	0.0	0.0	883 $\pm$ 86.5	15.8 $\pm$ 1.64	10.9 $\pm$ 0.41
10		49 $\pm$ 2.1	15.1 $\pm$ 0.58	6.7 $\pm$ 0.32	<2.0	31 $\pm$ 0.8	73 $\pm$ 3.6	22 $\pm$ 1.1	10.7 $\pm$ 2.17	1.3 $\pm$ 1.27	9.3 $\pm$ 2.44	0.0	0.0	873 $\pm$ 146.1	16.2 $\pm$ 3.04	10.7 $\pm$ 0.39
♀		49 $\pm$ 1.6	15.2 $\pm$ 0.32	6.8 $\pm$ 0.26	<2.4	31 $\pm$ 0.7	72 $\pm$ 1.8	22 $\pm$ 0.6	12.1 $\pm$ 3.08	1.0 $\pm$ 0.68	11.0 $\pm$ 2.78	0.1	0.0	903 $\pm$ 91.2	17.6 $\pm$ 2.78	10.8 $\pm$ 0.57
50		48 $\pm$ 1.5	14.9 $\pm$ 0.42	6.7 $\pm$ 0.16	<2.0	31 $\pm$ 0.5	72 $\pm$ 1.7	22 $\pm$ 0.5	11.9 $\pm$ 2.86	1.0 $\pm$ 0.85	10.9 $\pm$ 2.71	0.1	0.0	906 $\pm$ 44.0	18.1 $\pm$ 2.83	10.7 $\pm$ 0.36
400		48 $\pm$ 1.8	14.8 $\pm$ 0.33	6.4 $\pm$ 0.26	<2.0	31 $\pm$ 0.9	74 $\pm$ 3.0	23 $\pm$ 0.6	13.2 $\pm$ 3.23	0.7 $\pm$ 0.40	12.4 $\pm$ 3.14	0.0	0.0	854 $\pm$ 166.6	16.5 $\pm$ 2.75	10.8 $\pm$ 0.30
Control	12	51 $\pm$ 1.8	16.2 $\pm$ 0.63	8.1 $\pm$ 0.39	<2.0	32 $\pm$ 0.8	63 $\pm$ 1.8	20.1 $\pm$ 0.4	13.7 $\pm$ 4.60	1.7 $\pm$ 1.14	11.8 $\pm$ 4.05	0.2	0.0	907 $\pm$ 113.9	32.6 $\pm$ 10.69	14.2 $\pm$ 4.27
10		49 $\pm$ 2.0	15.4 $\pm$ 0.71	7.7 $\pm$ 0.37	<2.0	31 $\pm$ 0.9	63 $\pm$ 3.5	20.4 $\pm$ 0.2	13.4 $\pm$ 2.26	1.5 $\pm$ 1.47	11.7 $\pm$ 1.67	0.1	0.0	853 $\pm$ 88.8	27.0 $\pm$ 3.15	11.2 $\pm$ 1.01
20	♂	49 $\pm$ 2.0	15.8 $\pm$ 0.57	7.7 $\pm$ 0.32	<2.0	32 $\pm$ 1.1	64 $\pm$ 1.8	20.6 $\pm$ 0.4	12.7 $\pm$ 2.66	1.0 $\pm$ 0.73	11.6 $\pm$ 2.41	0.1	0.0	828 $\pm$ 60.0	29.2 $\pm$ 5.38	13.9 $\pm$ 2.30
50		49 $\pm$ 1.4	15.8 $\pm$ 0.53	8.0 $\pm$ 0.80	<2.0	33 $\pm$ 0.8	61 $\pm$ 6.0	19.8 $\pm$ 1.6	14.4 $\pm$ 3.32	1.8 $\pm$ 1.43	12.5 $\pm$ 2.31	0.1	0.0	855 $\pm$ 48.8	28.0 $\pm$ 6.00	13.6 $\pm$ 3.44
400		48 $\pm$ 2.5	15.8 $\pm$ 0.79	8.5 $\pm$ 0.62	<2.0	33 $\pm$ 0.8	55 $\pm$ 1.6	18.3 $\pm$ 0.6	17.8 $\pm$ 2.92	2.0 $\pm$ 1.77	15.5 $\pm$ 2.49	0.2	0.0	1007 $\pm$ 82.5	26.0 $\pm$ 6.87	14.6 $\pm$ 5.24
Control		45 $\pm$ 1.6	15.1 $\pm$ 0.52	7.5 $\pm$ 0.32	<2.0	33 $\pm$ 0.7	60 $\pm$ 1.6	20.2 $\pm$ 0.6	12.2 $\pm$ 2.84	0.9 $\pm$ 0.93	11.1 $\pm$ 2.90	0.1	0.0	843 $\pm$ 60.0	16.1 $\pm$ 2.84	10.2 $\pm$ 0.24
10		44 $\pm$ 3.2	15.5 $\pm$ 0.58	7.5 $\pm$ 0.39	<2.0	35 $\pm$ 1.7	59 $\pm$ 3.1	20.8 $\pm$ 0.6	8.7 $\pm$ 1.78	0.7 $\pm$ 0.36	7.8 $\pm$ 1.75	0.2	0.0	863 $\pm$ 68.0	16.9 $\pm$ 1.48	10.0 $\pm$ 0.44
20	♀	44 $\pm$ 2.2	15.4 $\pm$ 0.66	7.4 $\pm$ 0.28	<2.0	35 $\pm$ 1.1	60 $\pm$ 2.4	20.7 $\pm$ 0.5	10.4 $\pm$ 2.51	0.6 $\pm$ 0.27	9.7 $\pm$ 2.32	0.1	0.0	933 $\pm$ 128.1	17.8 $\pm$ 1.44	9.9 $\pm$ 0.29
50		45 $\pm$ 1.0	15.6 $\pm$ 0.46	7.6 $\pm$ 0.28	<2.0	34 $\pm$ 0.9	60 $\pm$ 1.5	20.7 $\pm$ 0.7	11.8 $\pm$ 3.33	0.5 $\pm$ 0.27	11.1 $\pm$ 3.22	0.1	0.0	892 $\pm$ 83.6	17.5 $\pm$ 0.88	10.1 $\pm$ 0.29
400		45 $\pm$ 1.7	15.1 $\pm$ 0.73	7.2 $\pm$ 0.42	<2.0	34 $\pm$ 1.1	62 $\pm$ 1.8	20.9 $\pm$ 0.5	12.2 $\pm$ 2.23	0.8 $\pm$ 0.87	11.4 $\pm$ 2.03	0.1	0.0	990 $\pm$ 116.0	16.5 $\pm$ 1.16	10.1 $\pm$ 0.21
Control	24	54 $\pm$ 2.2	15.9 $\pm$ 0.42	7.7 $\pm$ 0.30	<2.0	30 $\pm$ 0.5	70 $\pm$ 3.5	20.7 $\pm$ 0.90	12.6 $\pm$ 2.89	1.6 $\pm$ 0.91	11.0 $\pm$ 2.60	0.1	0.0	800 $\pm$ 91.3	19.9 $\pm$ 4.04	11.5 $\pm$ 0.91
10		50 $\pm$ 2.7	15.3 $\pm$ 0.65	7.9 $\pm$ 0.44	<2.0	30 $\pm$ 0.6	64 $\pm$ 2.1	19.3 $\pm$ 0.72	12.4 $\pm$ 2.65	1.3 $\pm$ 0.65	11.0 $\pm$ 2.19	0.1	0.0	811 $\pm$ 63.9	16.4 $\pm$ 3.77	11.2 $\pm$ 0.31
20	♂	51 $\pm$ 1.9	15.5 $\pm$ 0.37	7.9 $\pm$ 0.32	<2.0	30 $\pm$ 0.9	65 $\pm$ 4.2	19.8 $\pm$ 0.94	13.0 $\pm$ 1.54	1.1 $\pm$ 0.36	11.8 $\pm$ 1.31	0.1	0.0	797 $\pm$ 57.7	19.6 $\pm$ 3.99	11.1 $\pm$ 0.89
50		51 $\pm$ 1.5	15.5 $\pm$ 0.54	8.1 $\pm$ 0.34	<2.0	31 $\pm$ 0.8	63 $\pm$ 3.0	19.1 $\pm$ 0.90	14.7 $\pm$ 3.02	1.3 $\pm$ 0.95	13.3 $\pm$ 0.90	0.1	0.0	755 $\pm$ 112.1	19.2 $\pm$ 4.65	11.9 $\pm$ 0.96
400		50 $\pm$ 2.4	14.8 $\pm$ 0.95	7.7 $\pm$ 0.42	<2.0	30 $\pm$ 0.9	66 $\pm$ 2.6	19.4 $\pm$ 0.71	16.7 $\pm$ 2.66	1.7 $\pm$ 0.91	14.8 $\pm$ 2.39	0.2	0.0	931 $\pm$ 58.6	16.2 $\pm$ 3.25	11.8 $\pm$ 1.08
Control		48 $\pm$ 2.2	14.7 $\pm$ 0.35	6.9 $\pm$ 0.28	<2.0	31 $\pm$ 1.2	70 $\pm$ 1.0	21 $\pm$ 0.71	7.2 $\pm$ 1.75	0.5 $\pm$ 0.21	6.6 $\pm$ 1.66	0.1	0.0	790 $\pm$ 106.8	13.9 $\pm$ 2.34	10.7 $\pm$ 0.32
10		47 $\pm$ 2.6	15.0 $\pm$ 0.74	7.0 $\pm$ 0.32	<2.0	32 $\pm$ 0.5	68 $\pm$ 2.3	22 $\pm$ 0.73	8.0 $\pm$ 2.24	0.7 $\pm$ 0.24	7.2 $\pm$ 2.05	0.1	0.0	810 $\pm$ 102.7	15.1 $\pm$ 2.61	10.6 $\pm$ 0.25
20	♀	49 $\pm$ 1.4	15.3 $\pm$ 0.62	7.3 $\pm$ 0.30	<2.0	31 $\pm$ 1.2	68 $\pm$ 2.5	21 $\pm$ 0.35	8.4 $\pm$ 2.03	0.6 $\pm$ 0.29	7.7 $\pm$ 1.89	0.1	0.0	856 $\pm$ 97.8	14.8 $\pm$ 1.81	10.3 $\pm$ 0.32
50		49 $\pm$ 1.4	15.3 $\pm$ 0.51	7.4 $\pm$ 0.26	<2.0	32 $\pm$ 1.0	66 $\pm$ 2.6	21 $\pm$ 0.55	8.6 $\pm$ 2.35	0.5 $\pm$ 0.39	8.1 $\pm$ 2.13	0.0	0.0	856 $\pm$ 52.9	15.7 $\pm$ 1.47	10.4 $\pm$ 0.31
400		49 $\pm$ 1.7	15.3 $\pm$ 0.48	7.4 $\pm$ 0.34	<2.0	31 $\pm$ 0.6	67 $\pm$ 2.7	21 $\pm$ 0.63	9.3 $\pm$ 1.75	0.7 $\pm$ 0.57	8.4 $\pm$ 1.71	0.1	0.0	930 $\pm$ 68.8	13.7 $\pm$ 2.57	10.8 $\pm$ 0.18
Control	30	52 $\pm$ 0.9	14.9 $\pm$ 0.40	7.0 $\pm$ 0.26	<2.0	29 $\pm$ 0.7	75 $\pm$ 2.6	21.4 $\pm$ 0.71	15.6 $\pm$ 2.62	1.7 $\pm$ 1.40	13.6 $\pm$ 3.42	0.2	0.0	656 $\pm$ 34.4	15.1 $\pm$ 1.25	11.3 $\pm$ 0.33
400	end of with- drawal period	51 $\pm$ 3.5	14.8 $\pm$ 0.57	7.1 $\pm$ 0.35	<2.0	29 $\pm$ 1.3	72 $\pm$ 2.0	20.8 $\pm$ 0.52	11.9 $\pm$ 3.74	1.1 $\pm$ 0.30	10.8 $\pm$ 3.94	0.0	0.0	714 $\pm$ 53.2	15.6 $\pm$ 2.84	12.2 $\pm$ 1.31
Control		50 $\pm$ 2.2	14.2 $\pm$ 0.33	6.1 $\pm$ 0.39	<2.0	29 $\pm$ 0.9	82 $\pm$ 4.2	22.4 $\pm$ 0.15	8.9 $\pm$ 1.78	0.5 $\pm$ 0.44	8.4 $\pm$ 1.71	0.1	0.0	610 $\pm$ 33.2	13.0 $\pm$ 1.63	10.6 $\pm$ 0.52
400	♀	48 $\pm$ 4.3	14.9 $\pm$ 1.00	6.6 $\pm$ 0.63	<2.0	31 $\pm$ 1.9	73 $\pm$ 2.8	22.8 $\pm$ 0.95	7.2 $\pm$ 0.58	0.5 $\pm$ 0.21	6.7 $\pm$ 0.48	0.0	0.0	694 $\pm$ 67.6	13.0 $\pm$ 1.78	11.1 $\pm$ 0.13

Level of significance using Student's 't' test :

* P<0.05 in comparison with control value

** P<0.01 in comparison with control value

*** P<0.001 in comparison with control value

Table 2 b Haematological investigations - BRL25000

Table 2b Haematological investigations — BRL25000															(Mean ±S.D.)		
Dose (mg/kg/day)	Wc: k	PCV (%)	Hb (g%)	RBC (mill/mm ³)	Retics (%)	MCHC (%)	MCV (cu)	MCH (μg)	WBC (×10 ³ /mm ³)				Platelets (×10 ⁹ /mm ³)	Act. PTT (secs.)	PT (secs.)		
									Total	N	L	E				B	M
♂ Health check	Predose	37±2.1	10.7±0.38	4.4±0.24	<6.9	29±1.1	83±2.9	24.4±1.01	9.7±4.08	1.1±0.66	8.5±3.47	0.1	0.0	0.0	902±154.0	14.0±2.39	10.9±0.12
♀ Health check		37±1.8	11.1±0.47	4.5±0.16	<8.4	30±0.8	82±3.6	24.9±0.96	9.2±2.46	0.7±0.31	8.4±2.35	0.1	0.0	0.0	838±264.4	13.3±2.21	10.8±0.27
Control	3	53±1.7	15.7±0.28	6.6±0.22	<2.0	30±0.8	79±2.7	23.7±0.69	10.8±2.73	1.0±0.56	9.8±2.47	0.0	0.0	0.0	1026±119.7	23.7±4.38	12.5±1.86
30		52±1.5	15.6±0.30	6.7±0.30	<2.0	30±0.9	79±3.9	23.6±0.76	11.6±2.64	1.0±0.62	10.5±2.30	0.0	0.0	0.0	938±117.8	22.0±4.86	12.0±1.99
60	♂	53±2.5	15.6±0.45	6.6±0.37	<2.0	30±0.9	80±2.8	23.8±0.86	13.2±2.55	1.2±0.59	12.0±2.21	0.0	0.0	0.0	929±98.1	21.6±4.55	11.6±2.19
150		51±1.9	14.9±0.54	6.4±0.25	<2.0	29±0.8	79±3.4	23.2±0.56	11.8±2.35	1.0±0.88	10.6±2.38	0.0	0.0	0.0	919±81.0	20.3±4.55	11.6±2.27
1,200		50±3.0	14.9±1.14	6.4±0.61	<2.0	30±1.1	78±4.6	23.4±0.78	16.8±3.26	2.0±1.59	14.7±2.33	0.2	0.0	0.0	1279±158.3	22.2±3.99	12.3±1.89
Control		49±3.0	15.2±0.58	6.5±0.48	<2.0	31±1.4	75±3.0	23.4±1.21	9.6±1.84	1.0±1.53	8.5±1.51	0.0	0.0	0.0	1038±90.7	17.5±2.01	10.4±0.31
30		48±1.5	14.6±0.44	6.3±0.22	<2.0	30±1.1	76±3.3	23.2±0.73	9.3±3.06	0.7±0.51	8.6±2.76	0.1	0.0	0.0	1027±202.4	18.0±1.50	9.9±0.73
60	♀	50±2.0	14.7±0.58	6.3±0.29	<2.0	30±0.7	75±4.0	23.3±0.97	9.5±2.53	0.5±0.25	9.1±2.41	0.1	0.0	0.0	960±90.6	17.2±3.05	10.1±0.44
150		48±2.2	14.4±0.35	6.2±0.32	<2.0	30±1.0	77±3.5	23.4±0.75	11.0±3.69	0.9±0.71	10.0±3.51	0.0	0.0	0.0	977±159.7	18.8±1.60	10.6±0.35
1,200		48±2.1	14.4±0.35	6.2±0.16	<2.0	30±0.8	78±3.7	23.3±0.81	11.3±2.93	0.7±0.37	10.5±2.75	0.0	0.0	0.0	1038±113.3	19.7±3.37	13.3±2.02
Control	12	49±1.4	16.0±0.30	7.6±0.27	<2.0	33±0.8	64±1.4	21.0±0.78	13.4±3.78	2.1±0.95	11.1±3.15	0.2	0.0	0.0	871±94.7	24.2±4.57	13.1±1.96
30		48±1.8	16.0±0.53	7.4±0.40	<2.0	33±0.7	65±2.5	21.6±0.62	12.7±2.82	2.1±0.92	10.6±2.27	0.1	0.0	0.0	784±105.4	20.6±7.20	12.2±2.83
60	♂	50±1.9	16.4±0.70	7.7±0.42	<2.0	33±0.7	64±1.9	21.2±0.66	14.4±3.78	1.7±0.77	12.6±3.26	0.0	0.0	0.0	812±101.2	21.2±4.58	11.4±1.30
150		47±2.7	15.4±0.88	7.3±0.49	<2.0	33±0.7	66±2.0	21.3±0.67	12.1±3.05	2.9±1.25	9.6±2.36	0.2	0.0	0.0	791±81.0	19.6±5.06	11.8±1.89
1,200		48±1.1	15.6±0.51	7.6±0.34	<2.0	33±1.1	63±3.2	20.6±0.74	15.9±5.91	3.3±2.40	12.6±3.80	0.1	0.0	0.0	977±57.6	14.7±2.38	11.0±0.23
Control		46±1.6	15.5±0.49	7.3±0.38	<2.0	34±1.1	63±2.8	21.4±0.83	11.6±2.29	1.7±0.81	9.8±2.33	0.0	0.0	0.0	859±108.4	17.6±2.31	10.8±0.43
30		45±3.0	15.4±0.92	7.1±0.32	<2.0	34±0.4	63±2.2	21.6±0.56	12.5±4.06	1.6±1.29	10.8±3.23	0.1	0.0	0.0	882±105.1	18.3±2.83	10.6±0.25
60	♀	46±1.6	15.5±0.61	7.1±0.31	<2.0	34±0.8	65±1.8	21.8±0.61	10.2±2.74	0.8±0.39	9.3±2.72	0.1	0.0	0.0	869±122.8	17.6±1.73	10.5±0.33
150		45±1.4	15.2±0.44	7.0±0.27	<2.0	34±0.7	65±2.0	21.8±0.57	11.8±2.52	1.8±1.16	9.9±1.90	0.1	0.0	0.0	879±111.6	16.1±2.04	10.3±0.29
1,200		46±2.5	14.9±0.48	6.9±0.16	<2.0	33±1.2	67±4.1	21.7±0.73	10.0±1.48	1.1±0.29	8.9±1.46	0.1	0.0	0.0	940±137.1	17.7±1.66	10.9±0.39
Control	24	51±1.8	15.6±0.37	7.9±0.36	<2.0	31±1.1	64±2.5	19.8±0.64	13.4±4.56	1.9±2.55	11.5±3.25	0.1	0.0	0.0	829±94.5	19.4±3.73	12.8±0.97
30		50±4.1	15.1±0.42	7.4±0.38	<2.0	30±1.7	67±3.8	20.4±0.81	15.9±4.71	2.2±1.96	13.4±2.99	0.2	0.0	0.0	772±105.0	17.2±4.36	12.0±0.80
60	♂	51±3.1	15.7±0.42	7.9±0.37	<2.0	31±1.8	65±3.0	20.0±0.75	15.7±3.58	1.2±0.63	14.3±3.28	0.1	0.0	0.0	723±136.7	17.0±3.25	11.4±0.50
150		49±2.2	15.4±0.77	7.8±0.42	<2.0	31±0.6	63±2.0	19.8±0.40	15.8±4.06	2.3±3.10	13.3±4.03	0.2	0.0	0.0	796±119.7	17.3±3.04	11.6±1.02
1,200		49±2.8	15.0±0.42	7.9±0.33	<2.0	31±1.4	62±3.0	19.1±0.76	19.1±4.87	3.1±3.48	15.9±4.37	0.1	0.0	0.0	912±112.3	10.7±1.52	11.6±0.26
Control		47±1.8	15.1±0.61	7.0±0.33	<2.0	32±0.6	67±2.1	21.6±0.93	9.8±2.35	0.9±0.50	8.8±2.32	0.0	0.0	0.0	764±95.9	13.3±3.08	10.9±0.42
30		48±3.6	15.1±0.82	7.0±0.36	<2.0	32±1.1	68±2.1	21.6±0.50	10.4±2.75	0.8±0.47	9.6±2.74	0.1	0.0	0.0	763±115.2	11.9±2.00	10.6±0.24
60	♀	47±1.4	15.1±0.53	7.1±0.19	<2.0	32±0.9	66±2.4	21.3±0.60	9.3±3.01	0.5±0.29	8.7±3.04	0.0	0.0	0.0	733±83.2	12.7±3.17	10.6±0.32
150		47±2.9	14.7±0.42	6.8±0.18	<2.0	32±1.4	68±4.5	21.6±0.70	11.3±3.67	0.7±0.51	10.5±3.57	0.1	0.0	0.0	769±60.5	12.2±2.70	10.6±0.32
1,200		48±2.7	14.8±0.41	7.1±0.21	<2.0	31±1.8	68±4.4	20.8±0.79	10.4±2.86	1.0±0.82	9.3±2.47	0.1	0.0	0.0	916±83.8	12.5±2.99	12.5±3.66
Control	30 ♂	50±2.2	15.0±0.84	7.7±0.55	<2.0	30±0.8	65±3.1	19.5±0.95	12.9±1.24	1.3±1.75	11.6±1.25	0.0	0.0	0.0	816±69.1	17.4±5.04	11.9±1.23
1,200	end of with- drawal period	51±1.3	15.2±0.52	8.1±0.11	<2.0	30±0.8	63±1.8	18.9±0.69	12.2±1.13	1.4±0.47	10.7±0.84	0.2	0.0	0.0	792±86.7	21.5±3.17	14.1±1.37
Control		48±1.5	15.2±0.33	7.3±0.20	<2.0	32±0.7	66±1.8	20.9±0.43	8.3±1.76	0.7±0.33	7.6±1.68	0.1	0.0	0.0	698±160.5	13.1±1.55	10.7±0.31
1,200	♀	50±2.5	15.4±0.66	7.5±0.24	<2.0	31±1.9	67±2.4	20.4±0.67	7.4±2.14	0.6±0.16	6.7±1.97	0.1	0.0	0.0	754±107.8	15.1±2.40	11.1±0.44

Level of significance using Student's 't' test

- * P<0.05 in comparison with control value
- ** P<0.01 in comparison with control value
- *** P<0.001 in comparison with control value

Table 3 a Biochemical investigations — BRL14151K

Dose (mg/kg/day)	Week	Urea Nitrogen (mg%)	Glucose (mg%)	Serum proteins (g%)			A/G ratio	SAP (mU/ml)	SGPT (mU/ml)	Bilirubin (mg%)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
				Total	Alb	α_1	α_2						
† Health check	Pre-dose	18±7.4	112±47.8	5.8±0.41	3.0±0.25	0.9±0.17	0.8±1.28	1.1±0.10	0.4±0.10	0.4±0.10	1.36±0.18	1.13±0.14	100±3.1
‡ Health check		23±7.3	89±13.5	5.8±0.33	3.3±0.29	0.8±0.10	0.4±0.04	0.9±0.14	0.3±0.09	0.3±0.09	1.36±0.18	1.13±0.14	100±3.1
Control	4	16±2.3	108±22.9	6.6±0.30	3.5±0.17	1.2±0.07	0.4±0.08	1.0±0.16	0.6±0.12	0.6±0.12	1.11±0.12	1.11±0.12	101±1.7
	10	16±3.2	114±12.4	6.5±0.21	3.3±0.18	1.2±0.11	0.4±0.06	1.0±0.12	0.6±0.09	0.6±0.09	1.02±0.10	1.02±0.10	103±1.4
	20	14±2.6	102±21.1	6.5±0.18	3.2±0.15	1.2±0.09	0.5±0.05	1.0±0.10	0.5±0.08	0.5±0.08	0.99±0.07	0.99±0.07	104±2.2
	50	16±2.3	104±11.3	6.6±0.24	3.2±0.33	1.2±0.08	0.5±0.08	1.1±0.09	0.5±0.08	0.5±0.08	0.94±0.13	0.94±0.13	102±2.1
	400	15±2.1	95±8.7	6.3±0.30	3.2±0.16	1.0±0.17	0.5±0.11	1.1±0.12	0.5±0.10	0.5±0.10	1.05±0.16	1.05±0.16	104±1.4
Control	4	18±4.0	91±7.9	6.5±0.33	3.3±0.23	1.1±0.17	0.4±0.07	1.0±0.17	0.6±0.11	0.6±0.11	1.06±0.17	1.06±0.17	105±2.6
	10	19±3.4	98±9.3	6.7±0.39	3.4±0.26	1.2±0.09	0.5±0.06	1.0±0.10	0.6±0.10	0.6±0.10	1.05±0.10	1.05±0.10	103±1.7
	20	18±3.0	95±11.9	6.5±0.24	3.3±0.20	1.1±0.13	0.4±0.04	1.1±0.09	0.7±0.11	0.7±0.11	1.02±0.09	1.02±0.09	104±2.3
	50	15±1.5	89±14.3	6.7±0.21	3.4±0.20	1.2±0.06	0.4±0.07	1.1±0.08	0.6±0.10	0.6±0.10	1.01±0.08	1.01±0.08	104±2.0
	400	22±2.7	86±9.7	6.5±0.46	3.4±0.23	1.1±0.15	0.4±0.12	1.1±0.22	0.5±0.16	0.5±0.16	1.12±0.14	1.12±0.14	104±1.9
Control	12	18±3.3	115±9.9	7.2±0.33	3.4±0.27	1.7±0.08	0.7±0.11	1.0±0.18	0.5±0.12	0.5±0.12	0.87±0.09	0.87±0.09	103±1.9
	10	16±1.4	118±10.3	7.2±0.33	3.3±0.23	1.7±0.17	0.6±0.08	1.2±0.19	0.6±0.14	0.6±0.14	0.83±0.10	0.83±0.10	101±3.1
	20	17±3.8	118±14.6	7.3±0.25	3.4±0.25	1.6±0.15	0.5±0.06	1.2±0.16	0.5±0.12	0.5±0.12	0.89±0.10	0.89±0.10	107±2.6
	50	18±3.1	104±10.7	7.2±0.46	3.2±0.26	1.6±0.11	0.6±0.06	1.2±0.19	0.7±0.13	0.7±0.13	0.79±0.08	0.79±0.08	103±1.9
	400	17±3.1	99±11.8	6.9±0.35	3.0±0.16	1.5±0.15	0.6±0.03	1.2±0.20	0.6±0.14	0.6±0.14	0.79±0.10	0.79±0.10	101±1.6
Control	4	18±3.4	103±18.6	7.4±0.30	3.7±0.26	1.3±0.14	0.5±0.03	1.2±0.18	0.7±0.07	0.7±0.07	1.00±0.10	1.00±0.10	99±29.4
	10	22±5.3	93±12.1	6.9±0.40	3.6±0.27	1.2±0.16	0.4±0.04	0.9±0.15	0.7±0.13	0.7±0.13	1.10±0.09	1.10±0.09	105±1.4
	20	19±2.9	104±19.5	7.7±0.47	4.0±0.24	1.3±0.14	0.5±0.08	1.1±0.15	0.8±0.20	0.8±0.20	1.08±0.08	1.08±0.08	105±1.9
	50	16±3.1	86±14.1	7.2±0.26	3.7±0.26	1.2±0.12	0.6±0.17	1.0±0.18	0.7±0.20	0.7±0.20	1.06±0.13	1.06±0.13	101±1.3
	400	22±5.5	88±12.8	6.8±0.44	3.5±0.17	1.2±0.17	0.5±0.12	0.9±0.20	0.7±0.26	0.7±0.26	1.09±0.15	1.09±0.15	103±2.1
Control	24	17±1.8	107±11.3	7.2±0.27	3.6±0.23	1.1±0.12	0.6±0.08	1.3±0.08	0.6±0.18	0.6±0.18	1.01±0.13	1.01±0.13	101±1.9
	10	15±2.4	120±16.8	6.9±0.24	3.3±0.19	1.2±0.19	0.7±0.16	1.1±0.25	0.6±0.12	0.6±0.12	0.94±0.10	0.94±0.10	101±1.9
	20	18±3.9	119±14.9	7.2±0.25	3.5±0.26	1.2±0.13	0.6±0.07	1.2±0.19	0.6±0.12	0.6±0.12	0.97±0.11	0.97±0.11	102±2.4
	50	17±4.2	111±10.3	7.6±0.50	3.7±0.33	1.3±0.15	0.7±0.08	1.2±0.09	0.7±0.07	0.7±0.07	1.05±0.07	1.05±0.07	102±1.3
	400	17±3.5	92±12.3	6.3±0.40	2.9±0.15	0.9±0.17	0.5±0.07	1.3±0.17	0.6±0.08	0.6±0.08	0.88±0.08	0.88±0.08	105±3.1
Control	4	17±2.5	106±10.6	8.0±0.44	4.3±0.43	1.1±0.16	0.6±0.05	1.1±0.14	0.9±0.17	0.9±0.17	1.17±0.15	1.17±0.15	103±2.0
	10	20±3.2	106±12.3	7.5±0.28	4.1±0.23	1.1±0.09	0.6±0.13	1.1±0.09	0.7±0.13	0.7±0.13	1.18±0.09	1.18±0.09	103±2.2
	20	20±3.6	99±12.8	7.5±0.45	4.1±0.31	1.0±0.14	0.5±0.05	1.1±0.16	0.7±0.10	0.7±0.10	1.19±0.10	1.19±0.10	100±1.6
	50	18±4.2	107±18.9	7.2±0.45	3.7±0.37	1.1±0.14	0.6±0.07	1.1±0.10	0.7±0.11	0.7±0.11	1.08±0.10	1.08±0.10	102±1.6
	400	21±5.7	79±13.2	7.0±0.32	3.6±0.25	1.1±0.13	0.5±0.07	1.1±0.11	0.6±0.09	0.6±0.09	1.10±0.11	1.10±0.11	104±1.5
Control	30	14±0.8	122±8.1	7.1±0.18	3.7±0.39	1.3±0.33	0.7±0.09	1.0±0.10	0.4±0.18	0.4±0.18	1.13±0.25	1.13±0.25	107±0.7
	400	15±0.9	119±9.8	7.7±0.30	3.9±0.30	1.3±0.33	0.6±0.11	1.3±0.13	0.6±0.11	0.6±0.11	1.03±0.20	1.03±0.20	107±0.8
Control	end of withdrawal period	18±0.9	107±18.9	7.4±0.69	4.3±0.43	1.1±0.29	0.5±0.09	1.0±0.14	0.4±0.16	0.4±0.16	1.37±0.12	1.37±0.12	101±2.0
	400	21±5.7	111±16.8	7.1±0.58	3.9±0.35	1.1±0.16	0.5±0.09	1.2±0.24	0.4±0.10	0.4±0.10	1.24±0.19	1.24±0.19	102±2.5

Level of significance using Student's 't' test :

* P<0.05 in comparison with control value

** P<0.01 in comparison with control value

*** P<0.001 in comparison with control value

Table 3b Biochemical investigations — BRL25000

Dose (mg/kg/day)	Week	Urea Nitrogen (mg%)	Glucose (mg%)	Serum proteins (g%)					A/C ratio	SAP (mU/ml)	SGPT (mU/ml)	Bilirubin (mg%)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
				Total	Alb	α_1	α_2	γ							
♂ Health check	Predose	14±2.5	73±9.0	5.6±0.09	3.0±0.18	0.9±0.05	0.4±0.07	1.0±0.08	1.15±0.14	68±11.9	29±4.1	0.1	146±2.4	4.6±0.33	102±1.8
♀ Health check		21±7.5	80±11.2	5.8±0.24	3.2±0.05	1.0±0.15	0.4±0.08	1.2±0.10	1.22±0.10	52±12.4	29±4.0	<0.1	144±1.6	4.6±0.31	104±1.3
Control	3	15±2.2	107±10.4	6.7±0.29	3.7±0.27	1.0±0.13	0.5±0.10	1.0±0.13	1.28±0.22	65±6.1	35±11.3	<0.1	144±2.9	4.7±0.58	100±1.4
30		15±1.9	110±14.4	6.8±0.18	3.8±0.17	1.0±0.13	0.5±0.09	1.1±0.20	1.31±0.18	64±8.9	28±3.8	<0.1	146±8.4	4.6±0.32	103±1.4
60	♂	14±1.8	109±11.2	6.8±0.28	3.7±0.14	1.1±0.15	0.5±0.07	1.0±0.28	1.20±0.09	69±9.6	30±2.0	<0.1	141±3.9	4.7±0.27	101±1.5
150		14±1.6	101±9.0	6.6±0.23	3.7±0.13	0.9±0.11	0.4±0.06	1.1±0.09	1.30±0.10	69±18.6	31±15.3	<0.1	145±4.4	4.8±0.77	102±1.9
1,200		14±2.4	97±12.1	6.5±0.20	3.7±0.39	0.9±0.11	0.4±0.07	1.2±0.18	1.15±0.24	73±17.9	29±3.8	<0.1	149±1.8	4.8±0.37	101±1.7
Control		19±3.4	97±14.8	6.7±0.33	3.5±0.39	0.9±0.07	0.4±0.03	1.3±0.19	1.08±0.17	41±6.0	25±2.8	<0.1	150±3.5	4.4±0.23	108±2.4
30		19±3.2	110±16.6	6.9±0.34	3.5±0.27	0.9±0.13	0.5±0.07	1.2±0.16	1.04±0.12	34±6.2	22±2.1	<0.1	149±3.1	4.4±0.39	105±3.1
60	♀	18±3.0	107±14.5	6.8±0.35	3.5±0.22	1.0±0.14	0.4±0.04	1.2±0.16	1.06±0.11	35±10.5	22±2.0	<0.1	147±4.2	4.1±0.35	104±0.7
150		21±5.9	107±13.1	7.3±0.33	3.6±0.23	1.0±0.10	0.5±0.07	1.4±0.21	1.01±0.13	37±10.1	26±3.5	<0.1	147±4.9	4.4±0.27	107±2.9
1,200		20±3.4	98±16.6	6.6±0.52	3.5±0.26	0.9±0.14	0.4±0.09	1.2±0.20	1.15±0.15	30±4.7	27±3.8	<0.1	146±4.8	5.0±1.81	103±2.1
Control	12	18±3.5	118±8.7	7.0±0.30	3.7±0.16	1.0±0.16	0.4±0.09	1.2±0.09	1.14±0.13	30±5.9	28±3.8	<0.1	147±1.3	4.4±0.20	103±1.7
30		18±1.5	125±14.4	7.0±0.32	3.6±0.17	1.0±0.09	0.5±0.07	1.2±0.15	1.10±0.13	26±6.6	21±4.5	<0.1	145±1.9	4.4±0.36	102±1.7
60	♂	17±3.0	119±12.9	7.1±0.25	3.8±0.13	1.1±0.15	0.5±0.10	1.2±0.17	1.16±0.07	28±6.7	20±4.3	<0.1	149±1.0	4.6±0.30	103±1.5
150		19±3.6	111±12.4	7.2±0.45	3.6±0.20	0.9±0.11	0.5±0.06	1.3±0.14	1.04±0.15	27±4.7	23±2.0	0.2	145±1.9	4.4±0.32	103±1.7
1,200		19±3.7	101±18.3	7.0±0.28	3.5±0.16	1.1±0.12	0.5±0.07	1.4±0.19	0.99±0.15	26±3.5	22±6.0	0.1	145±1.8	4.8±0.23	105±1.6
Control		23±3.5	98±8.3	7.1±0.23	3.7±0.24	0.9±0.13	0.4±0.05	1.3±0.16	1.15±0.16	17±3.5	20±3.2	<0.1	144±1.6	4.4±0.27	105±1.3
30		24±2.4	109±14.6	7.4±0.49	4.5±0.66	0.8±0.11	0.3±0.13	1.1±0.26	1.62±0.43	14±1.3	17±4.1	<0.1	146±1.2	4.2±0.18	103±1.1
60	♀	22±4.9	113±14.8	7.3±0.32	4.0±0.33	0.9±0.19	0.4±0.08	1.2±0.17	1.24±0.17	16±5.1	19±1.8	<0.1	147±1.3	4.2±0.32	101±2.0
150		23±3.0	113±12.0	7.5±0.54	4.0±0.34	1.0±0.13	0.4±0.08	1.2±0.21	1.19±0.15	12±6.0	21±5.0	<0.1	144±2.2	4.3±0.32	103±1.6
1,200		22±3.2	91±13.1	6.8±0.39	3.7±0.15	1.0±0.05	0.4±0.10	1.1±0.17	1.18±0.17	12±2.9	17±3.7	0.2	147±1.8	4.5±0.30	101±2.4
Control	24	16±3.1	125±11.5	7.2±0.21	3.7±0.26	1.1±0.17	0.8±0.08	0.9±0.15	1.07±0.14	24±7.0	29±3.9	<0.1	144±1.2	4.7±0.37	101±3.0
30		16±1.7	130±13.9	7.1±0.32	3.7±0.21	1.1±0.08	0.8±0.12	0.8±0.16	1.09±0.12	22±6.2	36±32.8	<0.1	143±1.3	4.8±0.22	103±1.8
60	♂	16±2.2	137±21.1	7.0±0.23	3.7±0.18	1.2±0.12	0.8±0.11	0.8±0.13	1.09±0.13	19±4.6	33±23.3	<0.1	144±1.1	4.7±0.41	103±2.3
150		16±1.7	124±12.0	7.2±0.37	3.4±0.45	1.1±0.18	0.8±0.09	1.1±0.23	0.93±0.19	20±3.1	29±5.6	<0.1	145±1.3	4.7±0.31	104±1.7
1,200		16±1.7	113±10.5	7.0±0.34	3.3±0.26	1.2±0.16	0.8±0.10	1.2±0.16	0.89±0.15	18±4.4	30±6.1	<0.1	146±0.9	5.1±0.28	105±1.7
Control		19±3.7	117±7.3	7.7±0.34	4.5±0.40	0.9±0.11	0.6±0.12	1.1±0.18	1.40±0.20	11±3.5	26±8.9	<0.1	143±1.1	4.2±0.39	105±2.5
30		20±2.8	117±15.8	7.4±0.59	4.2±0.50	1.0±0.09	0.5±0.11	1.1±0.16	1.29±0.17	10±5.0	25±9.9	<0.1	144±1.8	4.2±0.17	103±0.8
60	♀	19±3.6	107±7.8	7.6±0.52	4.3±0.53	1.1±0.14	0.5±0.06	1.0±0.11	1.33±0.19	10±5.1	19±3.1	<0.1	144±1.1	4.0±0.14	105±2.6
150		18±2.1	125±15.2	7.9±0.54	4.5±0.46	1.0±0.11	0.5±0.06	1.0±0.18	1.37±0.19	7±2.8	20±1.9	<0.1	145±1.0	4.2±0.27	105±1.3
1,200		17±2.4	108±7.4	6.9±0.70	3.8±0.65	1.1±0.25	0.5±0.09	1.0±0.20	1.14±0.08	6±2.9	25±18.9	<0.1	145±1.0	4.6±0.26	102±2.0
Control	30 ♂	15±1.7	128±8.8	7.1±0.32	3.4±0.10	1.1±0.15	0.5±0.09	1.0±0.08	0.95±0.10	24±6.5	27±2.5	0.1	145±1.1	4.5±0.19	100±1.6
1,200	end of with-	17±2.2	108±15.8	7.2±0.44	3.6±0.11	1.0±0.24	0.6±0.04	1.3±0.19	0.97±0.07	21±3.4	33±6.4	0.1	145±1.5	4.6±0.17	101±0.8
Control	drawal period	17±2.4	112±7.2	7.6±0.33	4.0±0.28	0.9±0.20	0.5±0.06	1.3±0.08	0.81±0.16	13±5.4	26±2.6	0.2	144±1.3	4.3±0.23	103±1.9
1,200	♀	23±5.6	109±13.6	6.9±0.19	3.7±0.37	0.8±0.11	0.5±0.08	1.3±0.08	1.16±0.19	15±3.7	20±2.7	0.2	147±1.1	4.4±0.13	103±1.5

Level of significance using Student's 't' test: * P<0.05 in comparison with control value, ** P<0.01 in comparison with control value, *** P<0.001 in comparison with control value

The electrophoresis performed during week 30, at the end of the withdrawal period, was carried out on samples obtained at a later date than those used for the other analyses. The original samples from a number of rats were of insufficient volume for electrophoresis to be performed.

Table 4a Urinalysis—BRL14151K

(Mean±S.D.)

Dose (mg/kg/day)	Week	Colour /	Volume (ml/rat)	pH	SG	Protein /	Haemo- globin /	Microscopy /							
								E	P	M	R	O	C	A	
♂ Health check	Pre- dose	V.P.S.	1.8±1.10	7.0±0.57	1,018±8.6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
♀ Health check		V.P.S.	1.4±1.04	6.5±0.23	1,021±7.8	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	4	V.P.S.	6.5±0.97	7.7±0.29	1,012±3.0	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
10		V.P.S.	7.4±1.83	7.9±0.28	1,010±1.0	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
20		♂	V.P.S.	6.0±1.18	7.9±0.16	1,011±1.7	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp
50		V.P.S.	6.6±1.71	7.7±0.27	1,011±2.9	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
400		V.P.S.	4.9±1.38	7.9±0.32	1,011±3.6	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
Control	♀	V.P.S.	3.8±0.85	7.7±0.30	1,011±2.2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
10		V.P.S.	3.7±1.52	7.8±0.23	1,012±4.9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
20		V.P.S.	3.7±1.20	8.0±0.32	1,012±2.9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
50		V.P.S.	4.2±0.93	7.8±0.22	1,011±1.6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
400		V.P.S.	2.3±0.58	8.1±0.25	1,013±3.9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	13	CL	10.8±2.34	7.3±0.18	1,006±2.3	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
10		CL	9.9±2.68	7.4±0.27	1,006±1.9	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
20		♂	V.P.S.	10.2±2.12	7.6±0.20	1,009±2.9	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp
50		CL	7.3±3.37	7.7±0.23	1,010±2.5	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
400		V.P.S.	8.8±2.40	7.7±0.36	1,009±3.1	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
Control	♀	V.P.S.	4.9±1.24	7.7±0.33	1,012±4.0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
10		V.P.S.	5.7±1.65	7.8±0.24	1,011±4.0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
20		V.P.S.	6.0±1.89	7.6±0.35	1,010±3.6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
50		V.P.S.	5.9±1.43	7.6±0.29	1,008±3.8	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
400		V.P.S.	5.2±0.88	7.7±0.31	1,008±2.5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	24	E.P.S.	9.6±4.10	7.3±0.24	1,010±4.0	0	+	1	0	0	1	1	0	1sp	
10		CL	11.0±2.85	7.2±0.20	1,008±2.2	0	+	1	0	0	1	1	0	1sp	
20		♂	E.P.S.	8.6±2.32	7.4±0.23	1,010±3.4	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp
50		E.P.S.	9.6±2.70	7.5±0.14	1,009±2.5	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
400		E.P.S.	10.8±2.67	7.4±0.30	1,008±2.4	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
Control	♀	E.P.S.	5.1±2.74	7.8±0.22	1,010±2.0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
10		E.P.S.	6.0±1.63	7.8±0.28	1,012±3.8	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
20		E.P.S.	5.6±2.77	7.7±0.23	1,011±2.5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
50		E.P.S.	4.5±1.90	7.7±0.39	1,013±4.2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
400		E.P.S.	5.2±2.35	7.5±0.35	1,011±4.7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	30 end of with- drawal period	E.P.S.	13.7±4.32	7.4±0.16	1,009±4.0	0	0	0	0	0	0	1	0	2sp	
400		E.P.S.	10.5±6.44	7.5±0.46	1,014±12.1	0	0	0	0	0	0	1	0	3sp	
Control	♀	E.P.S.	5.9±1.68	7.5±0.34	1,007±1.6	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
400		E.P.S.	6.5±6.08	7.5±0.32	1,007±2.2	0	+	0	1	0	0	1	0	0	

Level of significance using STUDENT'S 't' test:

* P<0.05 in comparison with control value

** P<0.01 in comparison with control value

*** P<0.001 in comparison with control value

/ Most frequent observation

CL Colourless

V.P.S. Very pale straw

E.P.S. Extremely pale straw

sp Sperm

Qualitative tests were performed for total reducing substances, glucose, ketones, bile pigments and urobilinogen and all results were negative.

Table 5a-1 6 hour urine concentration test-BRL14151K
(Mean $\pm$ S.D.)

Dose (mg/kg/day)	Week	Volume (ml/rat)	Osmolality (m.osm/kg)
♂ Health check	Pre-dose	0.25 $\pm$ 0.10	1,550 $\pm$ 285.9
♀ Health check		0.42 $\pm$ 0.35	1,727 $\pm$ 234.8
Control	4	1.50 $\pm$ 1.21	1,746 $\pm$ 593.9
10		1.37 $\pm$ 0.92	1,644 $\pm$ 500.4
20	♂	0.86 $\pm$ 0.51	2,080 $\pm$ 241.4
50		0.93 $\pm$ 0.59	2,288 $\pm$ 398.7
400		0.57 $\pm$ 0.42	2,460 $\pm$ 219.5
Control		0.56 $\pm$ 0.56	1,857 $\pm$ 526.9
10		0.94 $\pm$ 0.59	1,711 $\pm$ 344.0
20		0.78 $\pm$ 0.42	1,827 $\pm$ 476.6
50	♀	0.53 $\pm$ 0.45	1,823 $\pm$ 625.7
400		0.26 $\pm$ 0.15	2,474 $\pm$ 391.4
Control	13	0.76 $\pm$ 0.65	1,708 $\pm$ 639.7
10		0.78 $\pm$ 0.45	1,891 $\pm$ 660.0
20	♂	0.64 $\pm$ 0.22	1,685 $\pm$ 771.7
50		0.49 $\pm$ 0.50	2,026 $\pm$ 638.8
400		0.37 $\pm$ 0.28	2,091 $\pm$ 331.2
Control		0.27 $\pm$ 0.19	2,093 $\pm$ 351.6
10		0.33 $\pm$ 0.21	2,131 $\pm$ 470.4
20	♀	0.36 $\pm$ 0.17	2,342 $\pm$ 264.7
50		0.27 $\pm$ 0.17	1,880 $\pm$ 439.4
400		0.12 $\pm$ 0.08	2,320 $\pm$ 587.9

Level of significance using STUDENT's 't' test :

* P<0.05 in comparison with control value

** P<0.01 in comparison with control value

*** P<0.001 in comparison with control value

mg/kg/日投与群の雌雄では増加した。BRL25000 の同投与群の雌では休業期間中も増加が続いた。

両試験のその他の投与群の摂水量は対照群とほぼ同等であった。

5. 眼科検査

両検体とも投与に関連する異常は認められなかった。

6. 血液学的検査, 血液生化学検査, 尿検査および糞中潜血検査

1) 血液学的検査 (Table 2)

投薬第 24 週の検査で以下の所見がみられた。

BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雌雄と BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄で、対照群と比較して白血球数, リンパ球数の増加がみられた。活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) は BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄で対照群に比較して減少した。これらの変化は休業期間終了時には認められなかった。

Table 5a-2 6 hour urine concentration test-BRL14151K
(continued) (Mean $\pm$ S.D.)

Dose (mg/kg/day)	Week	Volume (ml/rat)	Osmolality (m.osm/kg)
Control	25	2.05 $\pm$ 0.94	1,150 $\pm$ 504.7
10		2.21 $\pm$ 1.65	1,177 $\pm$ 540.1
20	♂	1.21 $\pm$ 0.94	1,319 $\pm$ 506.1
50		0.97 $\pm$ 0.65	1,343 $\pm$ 690.0
400		0.50 $\pm$ 0.34	2,330 $\pm$ 343.1
Control		1.09 $\pm$ 1.31	1,660 $\pm$ 1135.7
10		0.82 $\pm$ 0.54	1,426 $\pm$ 463.6
20	♀	0.61 $\pm$ 0.36	1,920 $\pm$ 508.2
50		0.48 $\pm$ 0.27	2,337 $\pm$ 646.6
400		0.49 $\pm$ 0.56	2,940 $\pm$ 704.2
Control	30	0.67 $\pm$ 0.21	2,271 $\pm$ 334.1
400	end of withdrawal period	0.65 $\pm$ 0.42	1,827 $\pm$ 1000.1
Control		0.27 $\pm$ 0.15	2,170 $\pm$ 270.9
400		0.40 $\pm$ 0.36	2,102 $\pm$ 298.3

Level of significance using STUDENT's 't' test :

* P<0.05 in comparison with control value

*** P<0.001 in comparison with control value

At week 25, statistical analysis of male and female urine volumes by 't' test was not valid due to a significant BARTLETT'S test, KRUSKAL-WALLIS method was used.

プロトンピン時間は BRL25000 の雄の全投与群で対照群と比べて短縮したが、用量相関性はなかった。

2) 血液生化学検査 (Table 3)

投与終了時に BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄および程度は低いものの 150 mg/kg/日投与群の雄に、対照群と比べてアルブミン量の減少がみられたが総蛋白質量に明らかな変化はみられなかった。BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雌では対照群と比べて総蛋白質量とアルブミン量の減少がみられたが、いずれも正常範囲内であった。同様に BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雌雄および程度は低いものの 50 mg/kg/日投与群の雌に総蛋白質量の減少を伴うアルブミン量の減少がみられた。投与第 12 週に血糖値の減少が対照群に比べて BRL14151K の 400 および 50 mg/kg/日投与群の雌雄にみられ、第 24 週には同様の傾向は 400 mg/kg/日投与群の雌のみにみられた。BRL25000 では第 12 週に対照群に比べて血糖値の減少が 1,200 mg/kg/日投与群の雄に、第 24 週には同投与群の雌でみられた。休業期間終了時には、BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄に対照群と比べて、血糖値の軽度減少がみられたが、その他の項目の検査値は両試験とも、高用量群と対照群ではほぼ同等であった。

3) 尿検査および尿濃縮試験 (Table 4, 5)

BRL25000 の第 4 週の尿濃縮試験において雌のサンプル

Table 5 b 6 hour urine concentration test-BRL25000
(Mean $\pm$ S.D.)

Dose (mg/kg/day)	Week	Volume (ml/rat)	Osmolality (m. osm/kg)
♂ Health check	Pre-dose	0.48 $\pm$ 0.30	842 $\pm$ 212.0
♀ Health check		0.21 $\pm$ 0.08	918 $\pm$ 364.0
Control	4	1.39 $\pm$ 1.14	1,671 $\pm$ 679.9
30	♂	0.46 $\pm$ 0.19	1,969 $\pm$ 644.1
60		1.10 $\pm$ 1.58	1,423 $\pm$ 863.8
150		0.85 $\pm$ 0.51	1,760 $\pm$ 619.9
1,200		0.40 $\pm$ 0.16	2,212 $\pm$ 411.5
Control	6	0.19 $\pm$ 0.15	2,452 $\pm$ 350.9
30		0.43 $\pm$ 0.46	2,348 $\pm$ 420.9
60	♀	0.36 $\pm$ 0.21	2,206 $\pm$ 391.5
150		0.31 $\pm$ 0.17	2,197 $\pm$ 347.8
1,200		0.24 $\pm$ 0.21	2,333 $\pm$ 256.0
Control	13	1.71 $\pm$ 0.66	947 $\pm$ 446.8
30		1.04 $\pm$ 0.68	1,409 $\pm$ 393.5
60	♂	1.60 $\pm$ 0.72	1,248 $\pm$ 472.2
150		1.09 $\pm$ 0.56	1,447 $\pm$ 308.9
1,200		0.90 $\pm$ 0.83	1,822 $\pm$ 234.5
Control		0.35 $\pm$ 0.19	1,660 $\pm$ 218.0
30	♀	0.41 $\pm$ 0.46	1,418 $\pm$ 575.8
60		0.65 $\pm$ 0.76	1,629 $\pm$ 470.7
150		0.46 $\pm$ 0.35	1,570 $\pm$ 506.4
1,200		0.25 $\pm$ 0.18	1,995 $\pm$ 240.4
Control	25	1.80 $\pm$ 0.60	1,315 $\pm$ 654.2
30		0.93 $\pm$ 0.39	1,313 $\pm$ 559.2
60	♂	1.72 $\pm$ 1.31	1,560 $\pm$ 575.9
150		1.00 $\pm$ 0.44	1,831 $\pm$ 293.1
1,200		0.57 $\pm$ 0.28	2,465 $\pm$ 101.8
Control		0.52 $\pm$ 0.46	2,117 $\pm$ 812.9
30	♀	0.44 $\pm$ 0.33	2,045 $\pm$ 557.2
60		0.45 $\pm$ 0.35	2,143 $\pm$ 192.4
150		0.81 $\pm$ 0.57	1,446 $\pm$ 351.2
1,200		0.12 $\pm$ 0.06	2,494 $\pm$ 316.9
Control	30 ♂	0.60 $\pm$ 0.27	2,469 $\pm$ 274.6
1,200	end of withdrawal period	0.95 $\pm$ 0.82	1,642 $\pm$ 1063.2
Control		0.23 $\pm$ 0.16	1,387 $\pm$ 469.1
1,200	♀	0.23 $\pm$ 0.12	2,246 $\pm$ 216.9

Level of significance using STUDENT's 't' test:

* P<0.05 in comparison with control value

** P<0.01 in comparison with control value

*** P<0.001 in comparison with control value

Statistical analysis of male urine volumes in week 4 and female urine volumes in week 13 by 't' test was not valid due to significant BARTLETT's test, KRUSKAL-WALLIS indicated no significant intergroup differences.

At week 25, statistical analysis of male and female urine volumes and male osmolality values by 't' test on absolute data was not valid due to a significant BARTLETT's test. Log transformed data was used for analysing urinary volume data and KRUSKAL-WALLIS for male osmolality values.

ル量が不十分だったため、第6週に再検査した。

第4および25週に BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雄に対照群と比較して浸透圧の高値と尿量の減少がみられ、程度は低いと同様の傾向が同投与群の雌および 50 mg/kg/日投与群の雌雄でみられたが、50 mg/kg/日投与群の雌では統計的有意差はなかった。BRL 25000 でも 1,200 mg/kg/日投与群で第13および25週に同様の変動がみられた。休薬期間終了時には、BRL 25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雌で浸透圧の上昇がみられたほかは、両試験とも高用量群と対照群の間に有意な差は認められなかった。

その他の尿検査項目では、両試験とも対照群と投与群の検査値はほぼ同様であった。

4) 糞中潜血検査

両検体とも投与に関連する所見は認められなかった。

7. 剖検および病理組織学的検査

1) 骨髓検査

両検体とも投与に関連する所見は認められなかった。

2) 肉眼所見

嚢状縁の隆起が投与終了時に屠殺した BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群のほとんどの雌雄にみられたが、休薬期間終了時にはみられなかった。

盲腸の拡張が BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群のすべての雌雄に、また BRL25000 の 150 mg/kg/日投与群のほとんどに、さらに BRL14151K の 50 および 20 mg/kg/日投与群の数例にみられた。この所見は休薬期間終了時には両試験ともみられなかった。

その他の臓器には特記すべき所見はみられなかった。

3) 臓器重量 (Table 6, 7)

投薬期間終了時に BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群において肝重量の増加がみられた。加えて、腎重量の増加が BRL 14151K の 400 mg/kg/日投与群の雌雄および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄に、また脾重量の増加が BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雌雄および BRL 25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雌にみられた。

休薬期間終了時には BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雄および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雌で引き続き肝重量の増加がみられ、また BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄で腎重量の増加がみられた。

4) 顕微鏡所見 (Table 8)

BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群のラットにみられた投与に関連し

Table 4b Urinalysis—BRL25000

(Mean±S.D.)

Dose (mg/kg/ day)	Week	Colour /	Volume (ml/rat)	pH	SG	Protein /	Haemo- globin /	Microscopy /							
								E	P	M	R	O	C	A	
♂ Health check	Pre- dose	V. P. S.	2.5±0.88	8.2±0.18	1,014±4.2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
♀ Health check		V. P. S.	2.6±0.93	8.2±0.21	1,012±3.1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	4	CL	6.1±1.78	7.6±0.24	1,010±2.1	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
30		CL	5.8±1.69	7.9±0.24	1,009±1.7	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
60		CL	5.9±2.02	7.9±0.31	1,012±4.1	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
150		CL	4.9±1.60	7.9±0.13	1,010±2.4	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
1,200		L. S.	4.8±1.68	8.0±0.34	1,011±3.9	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
Control	♀	CL	3.1±0.80	7.7±0.38	1,009±1.9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
30		L. S.	2.9±1.46	7.7±0.52	1,010±2.6	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
60		L. S.	3.0±1.20	7.9±0.25	1,007±2.1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
150		L. S.	3.5±1.64	7.6±0.25	1,010±3.5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
1,200		L. S.	3.5±0.87	7.9±0.25	1,008±2.9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	13	L. S.	12.4±2.76	7.6±0.22	1,010±2.6	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
30		L. S.	12.0±2.84	7.6±0.22	1,010±2.6	0	0	0	0	0	0	1	0	2sp	
60		L. S.	12.4±2.70	7.7±0.25	1,009±2.3	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
150		L. S.	12.0±2.63	7.6±0.25	1,010±2.1	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
1,200		L. S.	9.7±1.95	7.8±0.21	1,009±2.3	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
Control	♀	L. S.	4.6±0.71	7.7±0.26	1,010±2.0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
30		L. S.	3.6±1.62	7.6±0.55	1,016±6.9	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
60		L. S.	5.2±2.31	7.8±0.34	1,012±2.7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
150		L. S.	4.0±1.63	7.7±0.45	1,012±3.0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
1,200		L. S.	4.5±1.73	7.5±0.37	1,009±6.0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Control	24	CL	10.08±3.86	7.5±0.32	1,010±3.3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
30		V. P. S.	10.20±2.71	7.6±0.24	1,009±1.1	0	0	1	0	0	0	1	0	2sp	
60		CL	10.26±2.16	7.9±0.21	1,010±1.9	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
150		CL	7.41±4.19	7.7±0.58	1,009±2.0	0	0	0	0	0	0	1	0	1sp	
1,200		V. P. S.	10.87±3.93	7.7±0.40	1,009±1.8	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
Control	♀	CL	5.90±1.24	8.0±0.22	1,010±1.4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
30		CL	5.00±2.49	7.9±0.26	1,010±2.7	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
60		CL	6.62±2.01	8.0±0.29	1,009±2.2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
150		CL	5.80±1.45	7.8±0.31	1,009±1.7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
1,200		V. P. S.	6.31±1.45	7.6±0.34	1,009±2.0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
Control	30	E. P. S.	14.5±4.91	7.4±0.15	1,008±1.8	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
1,200		E. P. S.	10.2±3.25	7.5±0.22	1,010±3.8	0	0	1	0	0	0	1	0	1sp	
Control	end of with- drawal period	CL	8.0±2.52	7.5±0.40	1,007±2.2	0	0	1	0	0	1	1	0	0	
1,200		E. P. S.	3.7±1.35	8.1±0.19	1,011±2.1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	

Level of significance using STUDENT's 't' test:

*P<0.05 in comparison with control value

**P<0.01 in comparison with control value

[/] Most frequent observation

L.S. Light straw

CL Colourless

V.P.S. Very pale straw

E.P.S. Extremely pale straw

sp Sperm

Qualitative tests were performed for total reducing substances, glucose, ketones, bile pigments and urobilinogen and all results were negative.

Table 6 a Organ weights (g) —BRL14151K

Males

(Mean±S.D.)

Dosage (mg/kg/day)	Control	10	20	50	400	Control*	400*
Bodyweight	532±61.7	554±68.7	558±53.7	533±72.6	471±45.3	549±33.3	524±57.8
Brain	2.0±0.12	2.1±0.11	2.0±0.12	2.0±0.10	2.0±0.10	2.1±0.23	2.0±0.05
Pituitary (mg)	13±2.1	14±3.0	14±1.9	15±3.0	14±3.2	13±2.2	14±2.2
Heart	1.4±0.18	1.5±0.20	1.4±0.14	1.4±0.25	1.3±0.15	1.7±0.15	1.4±0.25
Lungs	1.6±0.19	1.8±0.29	1.6±0.16	1.5±0.21	1.5±0.13	1.7±0.22	1.7±0.13
Liver	15.1±1.99	17.4±4.39	16.6±2.45	16.5±3.10	19.8±4.19	16.0±1.50	19.7±2.97
Spleen	0.6±0.19	0.7±0.12	0.7±0.15	0.7±0.13	0.7±0.08	0.8±0.08	0.8±0.11
Kidney	3.0±0.42	3.4±0.73	3.3±0.45	3.2±0.48	3.1±0.37	3.0±0.57	2.7±0.51
Thyroid (mg)	24±5.0	26±6.2	27±5.3	25±6.5	25±5.8	24±7.3	26±4.4
Adrenals (mg)	53±12.6	54±11.1	56±11.0	54±9.2	58±9.6	55±8.0	61±7.2
Gonads	4.7±0.49	4.8±0.58	4.6±0.85	4.4±0.66	4.3±0.50	5.0±0.38	4.8±0.44
Thymus	0.246±0.090	0.260±0.064	0.263±0.077	0.245±0.090	0.261±0.054	0.174±0.062	0.202±0.094
Prostate	0.735±0.257	0.483±0.131	0.568±0.194	0.459±0.137	0.433±0.205	0.473±0.200	0.704±0.232

* Rats killed at the end of the withdrawal period

Females

(Mean±S.D.)

Dosage (mg/kg/day)	Control	10	20	50	400	Control*	400*
Bodyweight	314±43.7	316±34.8	322±24.2	339±66.5	295±22.1	266±34.4	305±43.2
Brain	1.9±0.08	1.9±0.07	1.9±0.10	1.9±0.11	1.9±0.10	1.8±0.19	1.8±0.10
Pituitary (mg)	18±4.0	17±5.5	19±3.1	17±3.3	16±3.7	17±2.9	14±3.4
Heart	1.0±0.10	1.0±0.16	1.0±0.15	1.0±0.15	0.9±0.13	1.0±0.08	1.0±0.13
Lungs	1.3±0.13	1.2±0.13	1.3±1.5	1.2±0.13	1.2±0.12	1.2±0.13	1.2±0.16
Liver	9.8±1.64	9.3±1.49	9.8±1.25	9.7±1.43	10.9±1.43	8.8±1.19	9.9±2.00
Spleen	0.5±0.06	0.4±0.06	0.4±0.6	0.5±0.08	0.5±0.09	0.5±0.04	0.6±0.15
Uterus	0.7±0.14	0.7±0.17	0.8±0.30	0.8±0.19	0.7±0.22	0.8±0.07	0.7±0.09
Kidney	2.0±0.31	2.0±0.29	2.1±0.18	2.1±0.20	2.1±0.32	1.8±0.24	2.0±0.47
Thyroid (mg)	21±6.0	20±3.5	21±6.4	20±4.5	20±4.3	17±4.7	20±6.44
Adrenals (mg)	71±10.8	65±11.8	70±8.3	73±14.3	70±13.8	59±8.0	65±17.5
Gonads (mg)	68±21.98	68±21.08	61±19.51	69±21.31	74±18.90	67±22.50	74±17.36
Thymus	0.153±0.026	0.195±0.059	0.194±0.072	0.168±0.034	0.168±0.048	0.149±0.020	0.156±0.076

* Rats killed at the end of the withdrawal period

Table 6 b Organ weights (g) -BRL25000

Males

(Mean±S.D.)

Dosage (mg/kg/day)	Control	30	60	150	1,200	Control*	1,200*
Bodyweight	588±69.9	563±49.8	569±1.0	543±80.1	502±39.5	574±46.7	474±57.3
Brain	2.2±0.08	2.1±0.12	2.0±0.10	2.1±0.09	2.1±0.09	2.1±0.08	2.1±0.10
Pituitary (mg)	18±3.5	17±2.7	15±2.9	15±3.3	15±3.0	13±2.2	14±3.1
Heart	1.5±0.26	1.5±0.18	1.5±0.7	1.4±0.31	1.4±0.18	1.4±0.11	1.3±0.19
Lungs	1.7±0.21	1.7±0.13	1.7±0.15	1.7±0.22	1.7±0.17	1.8±0.08	1.6±0.23
Liver	17.9±3.27	16.4±2.49	16.9±1.58	17.0±3.35	23.1±2.74	13.7±0.88	13.8±2.53
Spleen	0.8±0.12	0.7±0.10	0.7±0.11	0.7±0.11	0.8±0.14	0.8±0.10	0.7±0.09
Kidney	3.3±0.47	3.3±0.32	3.2±0.43	3.3±0.43	3.3±0.42	2.8±0.21	3.0±0.57
Thyroid (mg)	32±6.0	27±7.5	29±4.7	30±7.7	26±5.9	28±4.7	26±10.2
Adrenals (mg)	62±11.1	60±10.5	56±7.0	58±12.1	59±5.2	63±8.8	52±11.0
Gonads	4.7±0.81	5.0±0.44	4.6±0.68	4.7±0.40	4.7±0.84	4.9±0.40	4.4±0.66
Thymus	0.225±0.076	0.239±0.075	0.268±0.069	0.226±0.053	0.248±0.074	0.218±0.074	0.213±0.127
Prostate	0.664±0.255	0.856±0.242	0.693±0.175	0.610±0.215	0.596±0.160	0.608±0.167	0.432±0.143

* Rats killed at the end of the withdrawal period

Females

(Mean±S.D.)

Dosage (mg/kg/day)	Control	30	60	150	1,200	Control*	1,200*
Bodyweight	300±26.5	303±22.2	314±29.1	315±36.5	296±23.8	318±38.6	261±21.1
Brain	1.9±0.13	1.9±0.13	1.9±0.08	1.9±0.07	1.9±0.08	1.9±0.00	2.0±0.08
Pituitary (mg)	19±4.8	19±4.3	19±3.9	18±3.2	18±3.8	16±1.5	14±3.1
Heart	1.0±0.14	1.0±0.10	1.0±0.09	1.0±0.11	0.9±0.10	1.1±0.46	0.8±0.11
Lungs	1.3±0.13	1.3±0.11	1.2±0.12	1.2±0.18	1.2±0.13	1.2±0.07	1.2±0.08
Liver	9.6±1.20	10.4±1.86	10.0±0.99	10.1±1.85	12.1±1.85	7.5±0.90	7.7±0.96
Spleen	0.4±0.08	0.5±0.07	0.5±0.06	0.5±0.07	0.5±0.08	0.5±0.11	0.6±0.05
Kidney	2.0±0.21	2.1±0.28	2.1±0.21	2.1±0.23	2.1±0.26	1.8±0.19	1.8±0.22
Uterus	0.8±0.20	0.8±0.19	0.8±0.22	0.8±0.24	0.8±0.14	0.7±0.15	0.9±0.22
Thyroid (mg)	21±5.2	24±5.7	22±7.1	22±6.2	20±6.0	24±10.7	21±6.1
Adrenals (mg)	72±9.4	75±12.8	70±11.5	75±11.5	69±17.8	64±11.2	67±11.0
Gonads (mg)	76±29.12	86±25.79	81±21.80	72±24.33	79±35.33	59±22.33	71±28.91
Thymus	0.164±0.051	0.166±0.048	0.160±0.046	0.165±0.054	0.155±0.053	0.167±0.044	0.157±0.035

* Rats killed at the end of the withdrawal period

Table 7a Statistical analysis of organ weight data—BRL14151K

Males

Dosage (mg/kg/day)	Control	10	20	50	400	Control*	400*
Bodyweight	531.9	554.5	557.7	533.4	471.3	549.4	524.2
Brain (A)	1.98(1.98)	2.05(2.06)	2.02(2.03)	2.01(2.01)	2.05(2.02)	2.06	2.04
Pituitary (mg)	13.2	14.5	14.1	15.1	14.5	12.6	13.8
Heart (A)	1.36(1.37)	1.40(1.46)	1.37(1.43)	1.42(1.43)	1.43(1.30)	1.63(1.68)	1.47*(1.42)
Lungs (A)	1.60(1.61)	1.76(1.79)	1.61(1.65)	1.53(1.54)	1.62(1.53)	1.72	1.68
Liver (A)	14.99(15.08)	16.41(17.41)	15.42(16.56)	16.37(16.52)	22.20**(19.82)	15.61(16.04)	20.17(19.74)
Spleen (A)	0.62(0.62)	0.67(0.69)	0.64(0.67)	0.66(0.66)	0.74*(0.67)	0.76(0.78)	0.80(0.78)
Kidney (A)	2.97(2.98)	3.26(3.39)	3.13(3.29)	3.18(3.21)	3.39**(3.06)	2.95(3.04)	2.77(2.68)
Thyroid(mg)(A)	23.8(23.9)	24.9(25.8)	26.4(27.3)	25.1(24.8)	26.7(24.9)	24.2	25.8
Adrenals(mg)(A)	53.1(53.3)	52.2(54.3)	54.0(56.3)	53.8(54.1)	62.5*(57.5)	55.2	60.8
Gonads (A)	4.74(4.75)	4.71(4.83)	4.46(4.60)	4.40(4.42)	4.55(4.26)	5.02	4.82
Thymus (A)	0.2454(0.2465)	0.2477(0.2601)	0.2486(0.2627)	0.2435(0.2454)	0.2899(0.2605)	0.1740	0.2024
Prostate	0.7353	0.4828**	0.5681**	0.4591**	0.4334**	0.4730	0.7038

Females

Dosage (mg/kg/day)	Control	10	20	50	400	Control*	400*
Bodyweight (L)	5.74(314.1)	5.75(315.9)	5.77(321.7)	5.81(338.6)	5.69(295.4)	266.2	304.8
Brain (A)	1.90(1.90)	1.87(1.87)	1.88(1.88)	1.83(1.85)	1.90(1.88)	1.84	1.80
Pituitary(mg)(A)	17.7(17.7)	16.8(16.7)	18.4(18.5)	16.8(17.4)	16.8(16.3)	16.6	14.2
Heart(A)	0.98(0.98)	0.98(0.98)	0.99(0.99)	0.94(0.96)	0.96(0.93)	1.06(1.02)	0.94*(0.98)
Lungs(A)	1.28(1.28)	1.24(1.24)	1.29(1.29)	1.17(1.19)	1.22(1.20)	1.18	1.22
Liver(A)	9.85(9.78)	9.30(9.28)	9.72(9.83)	9.15(9.66)	11.43**(10.92)	9.33(8.84)	9.41(9.90)
Spleen(A)	0.46(0.46)	0.44(0.44)	0.44(0.45)	0.44(0.45)	0.53**(0.52)	0.56(0.52)	0.54(0.58)
Uterus	0.70	0.71	0.84	0.76	0.71	0.80	0.74
Kidney(A)	1.98(1.96)	2.05(2.05)	2.09(2.11)	1.98(2.06)	2.21*(2.13)	1.99(1.84)	1.81(1.96)
Thyroid(mg)	20.9	20.1	20.9	20.2	19.6	17.2	20.4
Adrenals(mg)	70.7	64.6	70.1	73.0	69.7	59.4	65.4
Gonads	67.7	68.6	61.4	69.3	74.2	66.8	74.0
Thymus(L)	0.1420(0.1528)	0.1768(0.1947)	0.1754(0.1938)	0.1551(0.1682)	0.1546(0.1681)	0.1494	0.1564

Where the adjusted organ weights have been analysed (A), the unadjusted group mean values are given in parentheses. Level of significance using WILLIAMS' test: * $P < 0.05$ in comparison with control value, ** $P < 0.01$ in comparison with control value

(L) Logarithmic transformation performed on this parameter. Untransformed, unadjusted values are given in parentheses

* Rats killed at the end of the withdrawal period.

Table 7 b Statistical analysis of organ weight data—BRL25000

Males

Dosage (mg/kg/day)	Control	30	60	150	1,200	Control*	1,200*
Bodyweight	588.0	563.1	568.6	543.4	501.5	573.6	473.8
Brain(A)	2.15(2.16)	2.09(2.09)	2.04(2.05)	2.08(2.07)	2.14(2.11)	2.08	2.10
Pituitary(mg)(A)	17.8(18.1)	16.8(16.9)	14.8*(14.9)	15.4(15.3)	15.2*(14.6)	13.4	14.0
Heart(A)	1.40(1.50)	1.43(1.46)	1.44(1.49)	1.42(1.39)	1.51(1.37)	1.22(1.36)	1.48**(1.34)
Lungs(A)	1.66(1.73)	1.67(1.69)	1.67(1.170)	1.75(1.73)	1.76(1.65)	1.68(1.78)	1.66(1.56)
Liver(A)	16.73(17.93)	16.08(16.44)	16.37(16.91)	17.35(17.03)	24.90**(23.15)	13.66	13.83
Spleen(A)	0.74(0.77)	0.66(0.67)	0.70(0.71)	0.73(0.72)	0.82(0.79)	0.80	0.74
Kidney(A)	3.19(3.34)	3.23(3.28)	3.16(3.23)	3.34(3.30)	3.54**(3.31)	2.45(2.76)	3.31*(3.00)
Thyroid(mg)(A)	30.8(31.7)	26.6(26.8)	28.6(29.0)	30.0(29.8)	27.5(26.2)	27.8	25.6
Adrenals(mg)	62.1	60.2	56.0	57.8	58.7	63.4	51.8
Gonads	4.70	4.99	4.63	4.69	4.72	4.94	4.40
Thymus(A)	0.2129(0.2249)	0.2359(0.2394)	0.2629(0.2683)	0.2295(0.2263)	0.2652(0.2477)	0.2176	0.2130
Prostate(A)	0.6382(0.6643)	0.8484(0.8561)	0.6810(0.6927)	0.6172(0.6103)	0.6344(0.5965)	0.6080	0.4324

Females

Dosage (mg/kg/day)	Control	30	60	150	1,200	Control*	1,200*
Bodyweight	300.1	303.5	314.1	315.3	295.8	318.4	261.2
Brain	1.90	1.88	1.92	1.89	1.91	1.90	1.98
Pituitary(mg)(A)	19.6(19.5)	18.8(18.8)	18.5(18.8)	17.3(17.6)	18.4(18.1)	15.6	14.4
Heart(A)	0.96(0.95)	1.01(1.01)	0.97(0.98)	0.97(0.98)	0.93(0.91)	1.08	0.84
Lungs(A)	1.29(1.28)	1.29(1.28)	1.22(1.24)	1.23(1.25)	1.25(1.23)	1.20	1.18
Liver(A)	9.81(9.58)	10.48(10.39)	9.70(10.04)	9.75(10.15)	12.52**(12.11)	6.85(7.50)	8.39*(7.74)
Spleen(A)	0.44(0.44)	0.48(0.48)	0.50(0.51)	0.45(0.46)	0.54**(0.53)	0.54	0.56
Uterus	0.82	0.77	0.81	0.81	0.81	0.74	0.88
Kidney(A)	2.02(1.99)	2.08(2.07)	2.02(2.06)	2.05(2.09)	2.17*(2.12)	1.78	1.80
Thyroid(mg)	21.5	23.8	22.4	21.9	19.6	23.6	20.8
Adrenals(mg)(A)	72.4(71.7)	75.6(75.3)	68.8(69.9)	74.0(75.2)	69.9(68.7)	56.4(64.3)	74.6*(67.4)
Gonads	75.9	85.9	80.9	71.9	78.9	58.8	71.2
Thymus(A)	0.1661(0.1637)	0.1675(0.1660)	0.1551(0.1595)	0.1601(0.1651)	0.1605(0.1548)	0.1670	0.1566

Where the adjusted organ weights have been analysed (A), the unadjusted group mean values are given in parentheses.
Level of significance using WILLIAMS' test : *P<0.05 in comparison with control value, ** P<0.01 in comparison with control value
Analysis of variance unsuitable for brain of females killed at the end of the withdrawal period as a result of zero variance in the control group.
* Rats killed at the end of the withdrawal period.

Table 8a Microscopic findings in liver, kidneys, stomach and caecum - BRL14151K

Tissues	Microscopic findings	The number of rats observed													
		Dose (mg/kg/day)													
		Control		10		20		50		400		Control*		400*	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Liver	Foci of chronic inflammatory cell infiltration in the parenchyma/portal tracts	8	10	9	6	10	6	11	5	6	11	2	3	3	2
	Bile duct proliferation							1							
	Enlargement of hepatocytes (centri-lobular or mid-zonal)									15	6			5	2
	No fat deposition	11	6	4	9	6	8	6	7	3	4	1	1		1
	Fat deposition (predominantly in periportal regions)	4	9	10	5	9	7	8	7	12	11	4	4	5	4
	Glycogen distribution within normal limits	8		5	2	4	2	5	2	6	2	1			
	Reduction of glycogen (predominantly in periportal regions)	7	15	9	12	11	13	9	12	8	13	4	5	5	5
	Small infarct in one lobe			2											
	Vacuolated hepatocytes (parenchymal)						1		1			1			2
Kidney	Distended tubules containing eosinophilic material	1	1	1							1	1	2		
	Tubules characterised by basophilic staining of epithelial cells	1		2				1		1					
	Chronic inflammatory cell infiltration in the cortex	1	2	2			1	4		1	2		2	1	
	Cortical cyst		1												
	Foci of dystrophic mineralisation at cortico-medullary junction				2										
Stomach	Distended glands in the mucosa	1	1												
	Hyperplasia of the non-glandular epithelium in the region of the limiting ridge	2	2		3	2	1	3	1	10	13	1		1	1
	Keratin cyst in the mucosa		1												
Caecum	Distension of lumen						1	2	2	6	7				

*: Rats killed at the end of the withdrawal period

Table 8b Microscopic findings in liver, kidneys, stomach and caecum-BRL25000

Tissues	Microscopic findings	The number of rats observed													
		Dose (mg/kg/day)													
		Control		30		60		150		1,200		Control*		1,200*	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Liver	Foci of chronic inflammatory cell infiltration in the parenchyma/portal tracts	15	3	7	5	10	6	8	8	9	6	5	5	3	5
	No fat deposition	6	11	7	11	5	11	6	8	4	1	1	1		
	Fat deposition (predominantly in periportal regions)	9	4	7	2	10	3	9	7	11	14	4	4	5	5
	Glycogen distribution within normal limits	9		7	4	8	2	7	3	11	6	1			
	Reduction of glycogen (predominantly in periportal regions)	6	15	7	9	7	12	8	12	4	9	4	5	5	5
	Enlargement of hepatocytes (centrilobular, parenchymal or midzonal)	1								15	8			5	
	Vacuolated hepatocytes (parenchymal or centrilobular)	2	1								4		1	2	2
	Encapsulated infarct									1					
	Bile duct proliferation												1		
Kidney	Foci of chronic inflammatory cell infiltration in the cortex	6	2	3	3	4		2	1	2	2	1	1	1	1
	Distended tubules containing eosinophilic material			1	1										
	Tubules characterised by basophilic staining of epithelial cells			1	1								1		
	Foci of dystrophic mineralisation at cortico-medullary junction							1							
	Purulent exudate in lumen of renal pelvis											1			
	Fat deposition in tubular epithelium of cortex												1		1
Stomach	Hyperplasia of the non-glandular epithelium in the region of the limiting ridge		2	1		1	1			11	8	3	1	1	1
	Chronic inflammatory cell infiltration and oedema in the submucosa of the glandular region									1					
	Small diverticulum adjacent to the pylorus		1												
Caecum	Distension of lumen			1		1		7	3	8	4				
	Congestion in the submucosa					1		2	4	3	3				

*: Rats killed at the end of the withdrawal period

Photo.1 Rat 14♂ (Control), Liver (H and E $\times 250$)
Photomicrograph showing normal appearance
of centrilobular hepatocytes

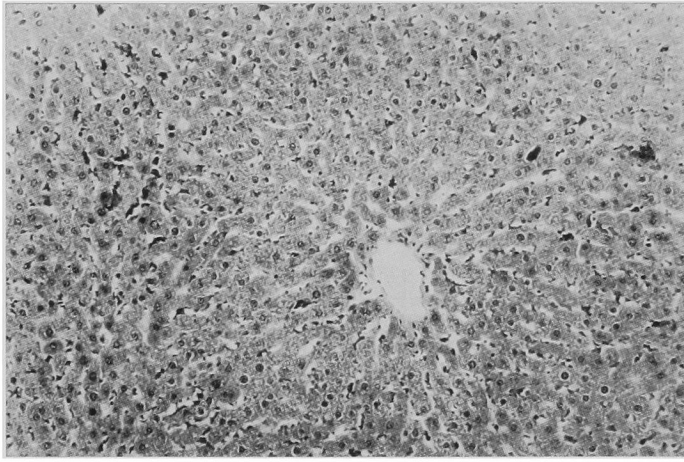
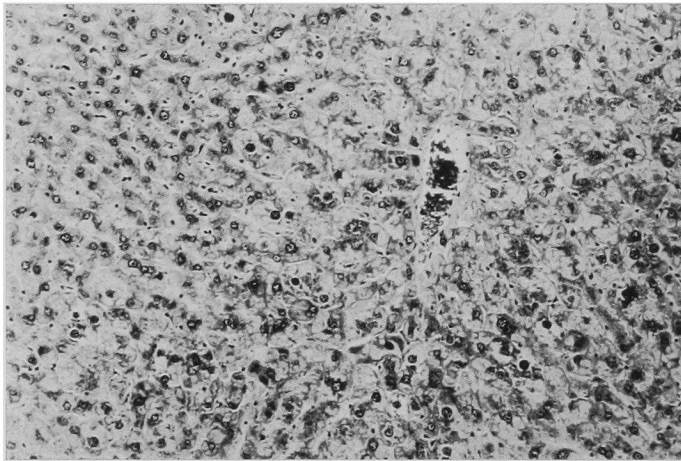


Photo.2 Rat 80♂ (400 mg/kg/day BRL14151K), Liver
(H and E $\times 250$)
Photomicrograph of centrilobular region
showing enlarged hepatocytes



たと思われる所見は下記のとおりである；

(a) 両検体とも雄の全例と雌の一部で肝細胞の腫大が主に小葉中心性および中間域に著明にみられた (Photo. 1, Photo. 2)。BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雄の肝に脂肪の軽度沈着がび漫性にみられた。

(b) 両検体とも雌雄の一部に胃の襞状縁の非腺上皮の過形成がみられた (Photo. 3, Photo. 4)。

(c) 両検体とも雌雄に盲腸腔の拡張がみられた。この所見は BRL14151K の 50 および 20 mg/kg/日投与群の数例のラットにもみられた (Photo. 5)。

休業期間終了時においてもみられた唯一の所見は肝細

胞の腫大のみであり、これは BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群の雄の全例と雌の 2 例および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の雄の全例にみられた。

III. 考 察

雌雄の Sprague-Dawley ラットを用いて BRL14151 K および BRL25000 の慢性毒性試験を行なった。検体の投与量は BRL14151K については 10, 20, 50, 400 mg/kg/日, BRL25000 については 30, 60, 150, 1,200 mg/kg/日とし 26 週間連続強制経口投与した後, BRL14151 K および BRL25000 の高用量群および対照群について 4 週間の休業期間をもうけた。

Photo.3 Rat 14♂ (Control), Stomach (H and E $\times 260$)
Photomicrograph of normal appearance at
limiting ridge

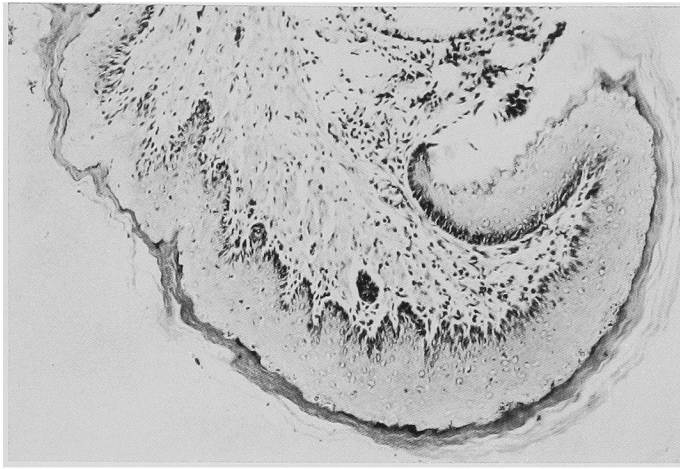
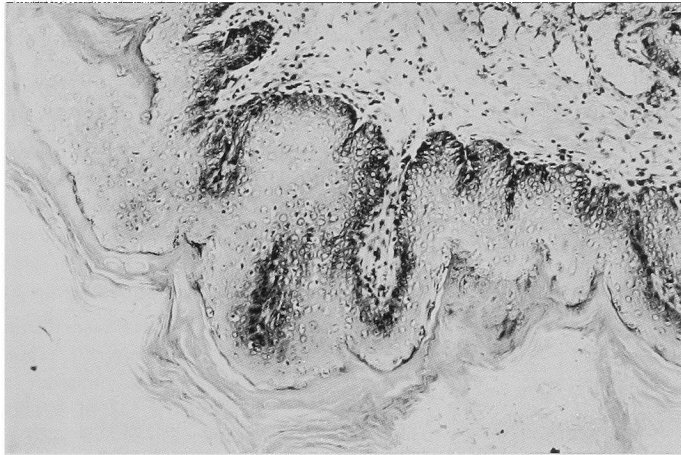


Photo.4 Rat 77♂ (1,200 mg/kg/day BRL25000), Stomach
(H and E $\times 250$)
Photomicrograph showing mild hyperplasia of
the non-glandular epithelium in the region of
the limiting ridge



両試験とも、BRL14151K および BRL25000 の投与による死亡例はみられなかった。一般症状として、BRL14151K の 400 mg/kg/日 および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群のラットに投与直後の流涎がみられたが、これは BRL14151K には苦みがあり、BRL14151K および BRL25000 の高用量群ではその苦みが強くなるため条件反射的に流涎を生じたものと思われた。流涎は他の投与群ではみられず、高用量群でも休薬期間には消失した。

BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群、BRL25000 の

1,200 mg/kg/日および雄の 150 mg/kg/日投与群で体重増加の抑制がみられたが、摂餌量は対照群とほぼ同様であった。休薬期間中も BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群では、この抑制傾向が続いたが、BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群では増加傾向がみられた。両試験でみられたこの体重増加の抑制は、下記の総蛋白質量および血糖値の低下にみられるような栄養性の要因によるものと思われた。すなわち、BRL14151K および BRL25000 の高用量群で盲腸の拡張がみられており、この盲腸の拡張は抗生物質を投与したラットには通常みられる

Photo. 5 Rat 80♂ (400 mg/kg/day BRL14151K), Caecum
(H and E ×65)
Photomicrograph showing distended appearance
of lumen with thin mucosa and muscular wall



ものであり、腸内細菌叢の変化によるものと思われる⁵⁾。この盲腸の変化は両試験の休薬期間終了時に屠殺したラットにはみられなかった。消化器系に対するこのような所見は、休薬期間中における BRL25000 の高用量群の摂水量の軽度な増加の原因とも考えられる。さらに BRL14151K の 400 mg/kg/日および雌の 50 mg/kg/日投与群と BRL25000 の雄の 1,200 および 150 mg/kg/日投与群のアルブミン量と総蛋白質量の減少は腸内細菌叢の変化による栄養性のものではないかと考えられた。また、BRL14151K の 400 および 50 mg/kg/日でみられた血糖値の低下もこれらの所見に伴うものではないかと思われた。

その他の検査項目で統計学的有意差のあるものが散見されたが、いずれも毒性学的に重要なものとは考えられなかった。

BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群の大部分でみられた胃の皺状縁の非腺上皮の中等度の過形成は、軽度な刺激性物質に対する、非特異的な反応と考えられた。両検体の休薬期間終了時の剖検においてこの所見がみられなかったことも、この結論を裏付けていると考えられた。

病理組織学的検査において BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群のラットの肝で肝細胞の腫大が小葉中心性に、主にみられた。この変化は雌より雄に明瞭に認められ、多くの例で中間域の肝細胞の腫大を伴っていた。休薬期間終了時にはこの変化は、BRL14151K の 400 mg/kg/日投与群では雌雄に、BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群では雄のみに認められた。肝細胞腫大は両検体の高用量群でみ

られ、検体投与の影響と思われた。しかしながら、血液生化学的検査でも肝機能に変化を示唆する所見はみられず、また病理組織学的検査においても肝にその他に異常所見は認められないことから、肝細胞腫大は毒性学的に重要な所見とは考えられなかった。

病理組織学的所見や血液および尿の各検査の結果、BRL14151K の 400 mg/kg/日および BRL25000 の 1,200 mg/kg/日投与群に明らかに投与に関連した変化を認めたが、BRL14151K の 50 mg/kg/日および BRL25000 の 150 mg/kg/日投与群では有意な毒性学的変化は認められず、これらの投与量が最大無作用量と考えられた。

文 献

- 1) READING, C. & M. COLE: Clavulanic acid: a beta-lactamase-inhibiting beta lactam from *Streptomyces clavuligerus*. Antimicrob. Agents Chemother. 11: 852~857, 1977
- 2) WISE, R.; J. M. ANDREWS & K. A. BEDFORD: *In vitro* study of clavulanic acid in combination with penicillin, amoxycillin and carbenicillin. Antimicrob. Agents Chemother. 13: 389~393, 1978
- 3) NELSON, J. D. & C. GRASSI: Current Chemotherapy and Infectious Disease. American Society for Microbiology., 1. Activity of amoxycillin/clavulanic acid (2:1) (BRL25000 Augmentin) *in vitro* and *in vivo* (COMBER, K. R.; R. HORTON, L. MIZEN, A. R. WHITE & R. SUTHERLAND) pp. 343~344, 1980
- 4) O'GRADY, F. W.: Twenty-one years of beating beta-lactamases. Brit. Med. Journal. 284: 369~370, 1980.

5) BUTTERWORTH, K. R.; B. G. LAKE, P. L. MASON
& I. R. ROWLAND: Enlargement of the caecum

in rat. Brit. J. Pharmac. 55 (2): 2601, 1975

CHRONIC TOXICITY STUDIES OF BRL25000 AND BRL14151K IN THE RAT

OWEN P. GREEN, BRIAN HUNTER, RALPH HEYWOOD,
ALEN E. STREET and DAVID E. PRENTICE
Huntingdon Research Centre

TERRY L. HARDY
Beecham Pharmaceuticals Research Division

YOSHINOBU KOSHIMA
Beecham Yakuhin K. K.

BRL25000 and BRL14151K were administered by daily oral gavage to Sprague-Dawley rats for 26 weeks, the dosage levels in terms of pure free acid being 30, 60, 150 and 1,200 mg/kg/day BRL25000 and 10, 20, 50 and 400 mg/kg/day BRL14151K. Some rats from the high dose level and control groups on both studies were retained for a further 4 weeks without further dosing before they were killed. The following were considered to be attributable to the test compounds:

(1) Excessive salivation immediately following dosing at the high dose level with both compounds.
(2) Reduced rate of bodyweight gain in rats receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000 or 400 mg/kg/day BRL14151K, and in males receiving 150 mg/kg/day BRL25000. Food consumption was not affected but water consumption was increased in rats receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000 and reduced in females receiving 400 mg/kg/day BRL14151K. The effects persisted throughout the withdrawal period in the BRL25000 treated rats, however, rats previously treated with 400 mg/kg/day BRL14151K showed improved bodyweight gain during the withdrawal period.

(3) Blood and urine examination revealed an increase in the number of circulating lymphocytes in males receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000 and in rats receiving 400 mg/kg/day BRL14151K, and a reduction in the activated partial thromboplastin time in males receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000 or 400 mg/kg/day BRL14151K. These changes were not apparent at the end of the withdrawal period.

The concentration of albumin was reduced in males receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000 and, to a lesser extent in those receiving 150 mg/kg/day BRL25000. A similar effect, including decreased total protein levels was recorded for rats receiving 400 mg/kg/day BRL14151K and to a lesser extent females receiving 50 mg/kg/day BRL14151K. These differences did not persist during the withdrawal period.

However, at the end of the dosing period the concentration of proteins was reduced in females receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000, mainly due to a reduction in albumin and this difference persisted throughout the withdrawal period.

A trend towards smaller volumes and high osmolality of the urine voided by rats receiving 400 mg/kg/day BRL14151K was noted, although such a trend was not apparent at the end of the withdrawal period.

(4) Post mortem examination revealed an increase in liver weight in rats receiving 1,200 mg/kg/day BRL25000 or 400 mg/kg/day BRL14151K, throughout the withdrawal period in females previously treated with 1,200 mg/kg/day BRL25000 and males previously treated with 400 mg/kg/day BRL14151K.

Microscopic examination showed the following changes in rats that had received 1,200 mg/kg/day BRL25000 or 400 mg/kg/day BRL14151K.

- (a) hepatocyte enlargement in males and females;
- (b) hyperplasia of the non-glandular epithelium of the stomach in the region of the limiting ridge in males and females, and
- (c) distension of the lumen of the caecum.

The only one of these changes to persist throughout the withdrawal period was enlargement of hepatocytes particularly in male rats on both studies.

(5) It is concluded that maximum no effect level in these studies for BRL25000 and BRL14151K was 150 mg/kg/day and 50 mg/kg/day respectively.