

AT-2266 の毒性学的研究 第3報 サルにおける亜急性毒性試験

仙田博美・矢寺成次・竹本勇一・松岡信男・大西久美雄・吉田耕一

大日本製薬株式会社総合研究所

AT-2266 の 20, 40 および 80 mg/kg/日 を雌カニクイザルに 1 日 1 回, 6 週間にわたり経鼻胃内投与し, その亜急性毒性を検討した。

- 1) 本物質の抗菌作用に関連した便の性状変化が全投与群に見られた。
 - 2) 20 および 40 mg/kg 群では, 症状, 体重, 摂餌状況, 尿検査, 血液学的検査, 血液生化学的検査, BSP 排泄試験, 臓器重量, 剖検ならびに病理組織学的検査のいずれの項目においても異常はなかった。
 - 3) 80 mg/kg 群では 4 例中の 1 例に食欲の減退または消失, 嘔吐, 口腔, 消化管および皮膚におけるカンジダ症が発現し, 瀕死状態に陥ったので投与 29 日目に殺処分した。瀕死期には飢餓に伴う諸変化がみられたが, AT-2266 の直接的な臓器障害作用はなかった。同群の生存例には好中球の軽度の増加, および腎に対する軽微な作用がみられた。
- 以上より, 本試験における AT-2266 の最大無作用量は, 40 mg/kg/日 であると結論される。

AT-2266 は, ビリドンカルボン酸系の新しい合成抗菌性物質で, 強力かつ広範囲の抗菌スペクトラムを有することが知られている¹⁾。本化合物の毒性試験の一環として, その亜急性毒性をサルを用いて検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 実験動物および飼育条件

東南アジア産の推定年齢 5 歳以上, 体重 2.3~7.6 kg の雌カニクイザル *Macaca fascicularis* を用いた。輸入検疫後, 約 24℃, 人工照明 12 時間 (午前 6 時から午後 6 時まで) の空調されたサル用飼育室で 2~6 年間順化されていたもので, 個別ケージ (45×50×55 cm) に収容して飼料 (オリエンタル酵母製固型飼料 AB 40 g, りんご半分および甘藷約 40 g) と水道水を与えて飼育した。1 群当りの動物数は 4 匹とした。

なお雌カニクイザルを用いた試験は必要数を揃えることができなかったので実施しなかった。

2. 投与方法および実験群

1) 投与量の設定

AT-2266 を 0.5 % Carboxymethylcellulose (CMC) 水溶液に懸濁して 100 mg/kg を 1 日 1 回, 週 7 回, 4 週間, 3 例の雌カニクイザルに経鼻胃内投与し, 反復投与時の毒性を予備検討した結果, 約 2 週間後, 2 例が食欲不振, 嘔吐, 便の性状変化, 肝臓および腎臓機能の低下, 口腔, 消化管および皮膚のカンジダ症などを併発し, 死亡ないし瀕死状態となった。また, カニクイザルに AT-2266 の 100 mg/kg を単回投与した時の血漿中 AT-2266 最高

濃度は平均 11.7 $\mu\text{g/ml}$, 血漿中濃度一時間曲線下面積は平均 126 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ であり, 本物質のサルでの吸収はラットでの吸収²⁾ よりも良好であることが判明した。これらの成績から本試験では高用量として 80 mg/kg を, 中用量, 低用量として 40 および 20 mg/kg を設定した。低用量は推定臨床用量の約 1.5 倍に相当する。

2) 投与方法

被験物質は, 当社技術部で合成された AT-2266 の無水物で, 品質規準に適合したものである。投与用試料は, 体重 1 kg 当り 2 ml の容量となるように 0.5 % CMC 水溶液に懸濁して調製した。実験群は AT-2266 の 3 用量群と, 0.5 % CMC 水溶液のみを投与する対照群とし, 1 日 1 回, 週 7 回, 6 週間, 経鼻的に胃内に投与した。

3. 検査項目

1) 一般症状, 摂食状態および体重

サルの行動, 嘔吐性, 糞便の性状, 摂餌量などは毎日観察し, 体重は投与 1 週目までは毎日, それ以降は週 2 回測定した。

2) 尿検査

尿検査は投与開始前 2~1 週および投与 5~6 週目にサル用代謝ケージで採取した 24 時間尿で行い, 外観を調べ, 尿量を測定した後, 尿蛋白 (Lowry 法), Na^+ , K^+ および Cl^- を Technicon AutoAnalyzer (Basic Type) により測定し, pH, 糖, ケトン体, 潜血およびウロビリノーゲン濃度はウロラプスティック II (マイルス三共) により半定量的に調べた。なお, AT-2266 は, Lowry 法で

pseudoreaction を起こすため、Sephadex G-25により前処置した後に同法により測定した。

3) 血液学的検査

投与開始前21日と9日および投与7日と37日目に機側皮または伏在静脈から採血して EDTA またはクエン酸ナトリウム処理し、次の検査を行った：赤血球数 (TOA Microcellcounter), ヘマトクリット値 (毛細管法), 血色素量 (シアメトヘモグロビン法), 網状赤血球数 (Kämmerer 法), 白血球数 (TOA Microcellcounter), 白血球百分比 (ギムザ染色), 血小板数 (TOA Microcellcounter), プロトロンビン時間 (PT, Quick 一段法) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT, Proctor 法)。

4) 血液生化学的検査

投与開始前36日と13日, 投与6日, 20日および41日目にヘパリン処理下に静脈血を採取し, 血漿を蒸留水で2倍希釈して次の検査を行った: Ca^{++} , 無機磷, 尿素窒素, 糖, クレアチニン, 総コレステロール, 総蛋白, アルブミン, 総ビリルビン, Al-P, GOT, GPT (以上Technicon AutoAnalyzer SMA 12/60), 蛋白分画 (セルロースアセテート膜電気泳動法), また41日目の血漿に

ついては遊離脂肪酸 (Duncombe 法), トリグリセリド (Van Handel 法) およびリポ蛋白 (セルロースアセテート膜電気泳動法) の測定も行った。

5) BSP 排泄試験

投与開始前20日と投与38日目に Sulfobromophthalein (BSP) 5 mg/kg を静脈内投与し, 30分後の BSP 停滞率を求めた。

6) 剖検および病理組織学的検査

ベントバルビタール麻酔下に20および80 mg/kg 群の各2匹, 40 mg/kg 群の3匹のサルは最終投与3時間後に放血致死させ, 対照群を含む残りのサルは最終投与24時間後に同様に殺処分し, 内臓および外臓を精査し, 主な臓器の重量を測定した。病理組織学的検査は10%中性ホルマリン固定臓器のパラフィン切片, H-E および PAS 染色標本を用いて以下の組織について実施した: 大脳および小脳, 心臓の心房および心室, 肺, 肝臓, 胆のう, 腎臓, 脾臓, 甲状腺, 下垂体, 副腎, 脾臓, 舌, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 顎下腺, 気管, 卵巣, 子宮, 子宮頸部, 陰, 膀胱, リンパ節 (腸間膜, 肺門, 鼠径部), 眼球, 動脈弓, 骨格筋 (大腿部), 骨髓, 皮膚 (顔面, 胸部, 腹部), 口腔粘膜, 坐骨神経

Fig. 1 Body weight changes in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

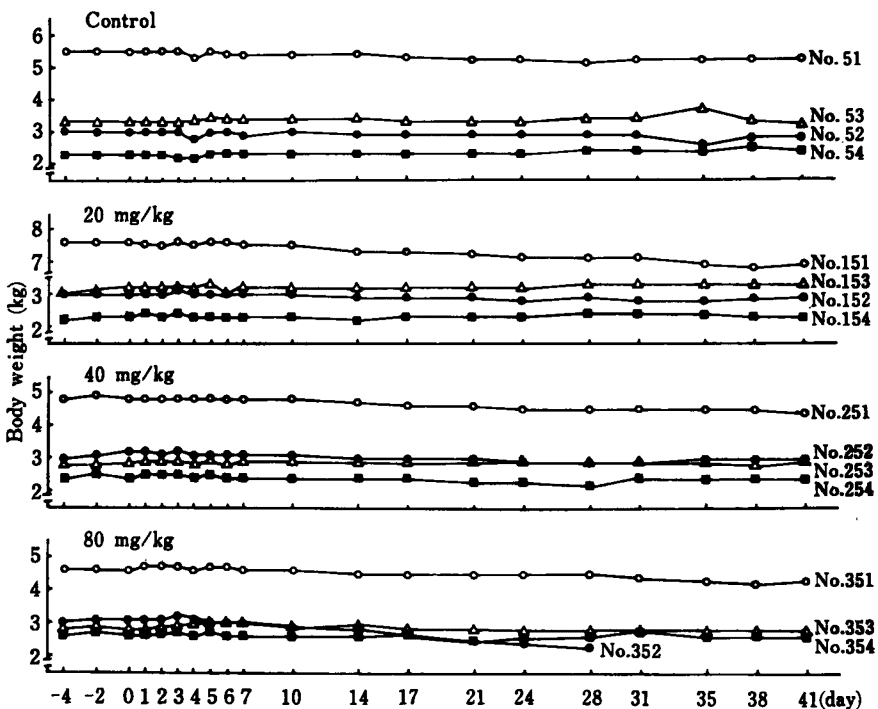


Table 1-1 Urinary findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Volume (ml/24 hrs)		Protein (mg/24 hrs)		Na ⁺ (mEq/24 hrs)		K ⁺ (mEq/24 hrs)	
		Dosage period (day)		Dosage period (day)		Dosage period (day)		Dosage period (day)	
		-15~-9	34~37	-15~-9	34~37	-15~-9	34~37	-15~-9	34~37
Control	51	225	160	6.8	4.8	11.3	11.4	16.7	10.6
	52	98	95	17.6	19.0	6.8	6.8	4.7	3.6
	53	54	85	1.6	5.1	5.4	8.1	3.2	5.3
	54	108	135	3.2	23.0	5.9	3.8	4.3	5.4
	mean	121	119	7.3	13.0	7.3	7.5	7.2	6.2
20	151	120	81	2.4	2.4	7.8	4.5	9.1	11.8
	152	58	135	3.5	9.4	7.8	8.3	4.7	5.9
	153	55	110	2.2	5.5	6.6	7.0	6.3	8.9
	154	70	82	6.3	4.1	3.7	4.9	4.9	5.6
	mean	76	102	3.6	5.4	6.5	6.2	6.3	8.0
40	251	95	116	8.6	3.5	4.7	6.6	9.9	7.0
	252	105	140	8.4	7.0	3.8	3.2	10.7	16.2
	253	116	166	7.0	6.6	6.2	6.5	5.7	4.5
	254	60	104	4.8	4.2	3.4	3.0	7.8	7.9
	mean	94	132	7.2	5.3	4.5	4.8	8.5	8.9
80	351	65	122	7.8	7.3	4.7	9.3	11.1	8.3
	352	72	—	4.3	—	4.8	—	4.6	—
	353	88	180	12.3	14.4	4.3	5.6	6.1	7.9
	354	60	98	1.8	7.8	5.4	7.2	7.9	5.0
	mean	71	133	6.6	9.9	4.8	7.3	7.4	7.1

Table 1-2 Urinary findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Na ⁺ /K ⁺ ratio		Cl ⁻ (mEq/24 hrs)		pH		Glucose	
		Dosage period (day)		Dosage period (day)		Dosage period (day)		Dosage period (day)	
		-15~-9	34~37	-15~-9	34~37	-15~-9	34~37	-15~-9	34~37
Control	51	0.68	1.08	5.4	7.8	9	9	—	—
	52	1.44	1.89	4.4	4.2	9	9	—	—
	53	1.63	1.29	3.2	4.1	7	9	—	—
	54	1.38	1.82	2.6	3.0	7	9	—	—
	mean	1.28	1.52	3.9	4.8				
20	151	0.86	0.39	3.7	6.6	9	8	—	—
	152	1.70	1.41	3.3	5.1	7	8	—	—
	153	1.05	1.05	5.9	8.5	8	8	—	—
	154	0.76	2.72	1.7	2.1	9	9	—	—
	mean	1.09	1.39	3.7	5.6				
40	251	0.47	0.95	2.9	6.0	9	8	—	—
	252	0.35	0.20	3.2	7.0	8	8	—	—
	253	1.08	1.17	2.7	3.8	7	7	—	—
	254	0.43	1.81	3.5	4.4	9	8	—	—
	mean	0.58	1.03	3.0	5.3				
80	351	0.42	1.12	1.6	4.9	9	8	—	—
	352	1.03	—	2.0	—	9	—	—	—
	353	0.71	1.38	4.3	5.8	9	8	—	—
	354	0.68	1.24	3.4	4.0	8	8	—	—
	mean	0.71	1.25	2.8	4.9				

- : Negative

Table 1-3 Urinary findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Ketone bodies		Occult blood		Urobilinogen	
		Dosage period (day)		Dosage period (day)		Dosage period (day)	
		-15~-9	34~37	-15~-9	34~37	-15~-9	34~37
Control	51	-	-	-	-	+	+
	52	-	-	-	+	-	+
	53	++	-	+	-	+	+
	54	+++	-	-	+	+	+
20	151	-	-	-	±	+	+
	152	±	-	-	±	+	+
	153	-	-	-	-	+	+
	154	-	-	-	+	-	+
40	251	-	-	-	-	+	+
	252	-	-	+	-	+	+
	253	-	-	-	-	+	+
	254	-	-	-	-	+	+
80	351	-	-	+	±	+	+
	352	-	-	-	-	+	+
	353	-	-	-	-	+	+
	354	-	-	-	-	+	+

- : Negative ± : Very slight + : Slight ++ : Moderate +++ : Severe

および脊髄。また、Oil red O, PAS その他の特殊染色も必要に応じて実施した。

7) 血漿中および組織内薬物濃度

初回および第41回目の投与の1, 2, 4, 8および24時間目にそれぞれ少量の静脈血を採取し、血漿中の AT-2266 濃度を蛍光法²⁾により測定し、さらに1週ごとに投与直前の血漿中薬物濃度をモニターした。また、剖検時、大脳、小脳、視床下部、脊髄、心臓、肺、肝臓、腎の皮質および髓質、脾臓、膵臓、大腿部骨格筋の一部および血漿を採取し、臓器は1/15 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) で homogenize したのち、*E. coli* Kp を指示菌とする薄層 cup-plate 法により最終投与3時間後と24時間後における組織内薬物濃度を測定した。

8) 糞便中および口腔内細菌叢の検査

投与開始前5日~当日、投与11~15日および37~41日目に排便直後の糞便を採取して光岡らの方法³⁾に準じて細菌叢の検索を行い、また同期間に綿棒で口腔粘膜をかきとり、真菌分離のための培地 PDA により真菌数を分離算定した。

II. 実験成績

1. 一般症状および体重

投与開始後、便の性状変化が全投与群にみられ、20 mg/kg 群の1例は、3日目以降時々硬い便を排泄し、40 mg/kg 群では便の硬化が2例に、軟便ないし下痢傾向が2例に、80 mg/kg 群では1例は硬い便となり、3例は軟

便ないし下痢傾向を示した。80 mg/kg 群で便の硬化した1例 (No. 352) はその後著しい食欲不振に陥り、排便がなくなり、口内炎が15日目から、嘔吐が18日目から発現し漸次体重は減少した。29日目には、実験者に対する反応消失、脱力、横臥などの症状を示したので瀕死と判断し、屠殺剖検した。他の個体に便の性状変化以外の異常および体重の変動 (Fig. 1) は認められなかった。

2. 尿検査

尿検査所見は、Table 1-1~1-3 に示した。白色の結晶性沈澱物が各投与群の24時間蓄尿に認められたが、これは主に尿中に排泄された AT-2266 の未変化体と考えられた。AT-2266 の投与に関連したその他の尿の異常所見はなかった。

3. 血液学的検査

成績は Table 2-1~2-4 に示した。80 mg/kg 群の3例 (No. 351, 352および354) に好中球数の増加とリンパ球の減少が認められた。その他の検査項目に AT-2266 投与に関連した変化はなかった。

4. 血液生化学的検査

成績は Table 3-1~3-4 に示した。対照群、20および40 mg/kg 群では測定値にかなりの変動がみられたが、3群間に差はなかった。80 mg/kg 群の瀕死期屠殺例では、無機磷、尿素窒素、クレアチニン、トリグリセライド、遊離脂肪酸、pre-β-リポ蛋白および総ビリルビンの増加と総コレステロール、α-リポ蛋白、β-リポ蛋白、総蛋

Table 2-1 Hematological findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Erythrocyte (10 ⁶ /mm ³)				Hemoglobin (g/dl)				Hematocrit (%)				Reticulocyte (%)			
		Dosage period (day)				Dosage period (day)				Dosage period (day)				Dosage period (day)			
		-21	-9	7	37	-21	-9	7	37	-21	-9	7	37	-21	-9	7	37
Control	51	547	570	544	546	13.2	12.1	12.7	13.3	43	43	41	43	1.0	0.6	1.2	0.8
	52	705	678	678	679	13.4	12.4	12.2	13.2	45	42	43	45	1.0	1.0	0.2	0.4
	53	626	572	532	528	12.0	10.8	10.8	10.9	40	35	35	36	1.0	0.6	0.6	0.2
	54	597	572	533	597	11.4	11.5	10.8	12.0	40	39	37	40	0.6	1.4	0.8	0.4
	mean	619	598	572	588	12.5	11.7	11.6	12.4	42	40	39	41	0.9	0.9	0.7	0.5
20	151	567	570	517	595	13.9	11.6	12.7	13.5	45	44	40	45	0.4	0.6	0.8	0.8
	152	696	683	592	546	13.6	12.3	11.4	11.8	45	41	37	38	0.6	0.8	0.6	0.4
	153	599	563	518	559	11.9	10.6	10.1	11.5	40	35	35	39	1.8	1.6	1.0	1.0
	154	570	530	533	507	12.2	10.5	11.3	11.6	37	33	35	39	0.4	0.6	3.0	0.8
	mean	608	587	540	551	12.9	11.3	11.4	12.1	42	38	37	40	0.8	0.9	1.4	0.8
40	251	641	601	648	541	13.9	13.7	13.7	13.4	44	43	43	43	0.4	1.4	0.6	0.4
	252	607	647	592	712	11.8	11.2	10.5	12.7	40	39	36	45	0.6	0.8	0.8	0.6
	253	596	626	626	654	12.1	11.6	12.0	11.9	43	41	40	41	0.6	0.4	1.8	0.8
	254	670	650	609	592	12.1	11.8	10.9	11.0	40	38	37	39	0.8	0.8	0.8	0.4
	mean	629	631	619	625	12.5	12.1	11.8	12.3	42	40	39	42	0.6	0.9	1.0	0.6
80	351	570	562	533	484	14.3	11.6	13.3	12.2	46	43	41	40	1.0		1.0	0.8
	352	669	650	622		12.6	9.4	11.8		44	40	39		0.6	1.4	1.4	
	353	542	598	566	573	12.0	10.0	10.9	12.0	41	37	37	39	0.4	0.4	1.0	0.2
	354	569	531	540	587	11.9	10.1	11.1	11.0	40	35	37	37	1.2	1.4	1.2	1.4
	mean	563	585	565	548	12.7	10.3	11.8	11.7	43	39	39	39	0.8	1.1	1.2	0.8

Table 2-2 Hematological findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Leucocyte											
		Total ($10^3/\text{mm}^3$)			Basophil (%)			Eosinophil (%)			Band neutrophil (%)		
		Dosage period (day)			Dosage period (day)			Dosage period (day)			Dosage period (day)		
		-21	-9	7	37	-21	-9	7	37	-21	-9	7	37
Control	51	108	120	115	83	0	0	0	0	2.0	0.5	0	0.5
	52	139	179	152	131	0.5	0	0	0	1.0	1.5	1.0	1.5
	53	77	97	74	62	1.0	0	0.5	0	6.5	4.0	5.0	4.0
	54	233	152	168	169	1.0	1.0	1.0	1.0	6.0	6.0	16.0	13.5
	mean	139	137	127	111	0.6	0.3	0.4	0.3	3.9	2.6	5.3	4.9
20	151	95	92	108	87	0	0	2.0	0	0.5	0.5	0.5	1.0
	152	131	110	106	78	0.5	0.5	0.5	0.5	2.0	3.0	1.5	6.0
	153	140	130	171	97	0	0	1.0	1.0	3.5	2.0	3.0	3.0
	154	147	156	110	129	0.5	0	0	0.5	5.5	1.5	1.0	5.0
	mean	128	122	123	98	0.3	0.1	0.9	0.5	2.9	1.8	1.5	3.8
40	251	114	111	107	89	0	0.5	0.5	0	0.5	0	5.0	0.5
	252	129	167	176	149	0	0	1.0	0.5	5.0	5.5	4.5	2.0
	253	114	146	110	145	0	1.0	0	0	6.5	2.5	3.5	4.5
	254	143	128	130	115	0	0	1.0	0	4.5	1.5	0	2.0
	mean	125	138	131	125	0	0.4	0.6	0.1	4.1	2.4	3.3	2.3
80	351	96	91	159	160	0	0.5	0	0	2.5	1.0	2.5	0.5
	352	82	74	121	121	1.0	0	0	0	2.0	1.5	1.0	5.0
	353	154	167	128	152	0	0	1.5	0.5	3.0	4.5	4.5	5.0
	354	86	76	102	72	0	0	0	0	1.0	0	1.0	0
	mean	105	101	128	128	0.3	0.1	0.4	0.2	2.1	1.8	2.3	1.8

Table 2-3 Hematological findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Leucocyte													
		Segmented neutrophil (%)			Total neutrophil (%)			Lymphocyte (%)			Monocyte (%)				
		Dosage period (day)			Dosage period (day)			Dosage period (day)			Dosage period (day)				
		-21	-9	7	-21	-9	37	-21	-9	7	-21	-9	7	37	
Control	51	32.5	24.5	37.5	17.0	37.5	15.5	54.5	60.5	42.0	72.0	2.0	3.0	0.5	2.0
	52	27.5	43.0	29.5	35.0	31.0	38.5	67.0	45.0	67.0	58.0	3.0	1.5	2.0	2.0
	53	32.0	22.5	29.5	29.5	40.0	34.0	51.0	65.5	53.5	60.5	4.0	1.5	1.0	1.5
	54	42.5	37.5	23.0	31.0	25.5	35.0	36.5	43.5	54.5	48.0	2.5	2.5	3.0	2.5
	mean	33.6	31.9	29.9	28.1	41.4	38.5	52.3	53.6	54.3	59.8	2.9	2.1	1.6	2.0
20	151	28.0	20.5	26.5	28.0	34.5	40.0	61.5	63.0	54.5	61.5	2.0	2.0	3.0	2.5
	152	17.0	28.5	17.5	22.0	33.5	20.5	74.0	59.5	76.5	64.5	4.0	3.5	1.0	4.0
	153	18.5	22.0	14.5	14.5	28.0	24.5	69.5	68.0	70.5	78.0	2.0	2.0	1.0	1.5
	154	12.5	27.0	54.5	16.5	32.0	21.5	74.0	62.5	33.0	71.0	2.5	4.0	1.0	2.0
	mean	19.0	24.5	28.3	20.3	32.0	37.5	69.8	63.3	58.6	68.8	2.6	2.9	1.5	2.5
40	251	48.0	50.0	22.5	48.5	64.0	41.0	38.0	32.5	51.5	40.0	2.0	3.0	2.0	3.5
	252	26.0	24.0	17.0	21.5	39.5	21.0	56.0	53.5	72.0	70.0	2.0	1.5	1.5	0.5
	253	23.0	28.0	30.5	26.5	36.0	43.0	64.0	57.5	51.0	65.0	2.5	3.0	2.5	2.0
	254	25.0	19.5	60.5	30.0	26.0	38.5	62.0	71.0	20.5	57.5	3.5	1.5	2.0	2.0
	mean	30.5	30.4	32.6	31.6	41.4	45.4	55.0	53.6	48.8	58.1	2.5	2.3	1.8	2.0
80	351	43.5	45.5	29.0	62.5	51.5	30.0	42.0	46.0	66.0	22.5	1.5	1.0	1.5	1.5
	352	18.5	17.0	57.0		18.0	64.0	75.0	73.5	33.5		2.0	7.0	1.5	
	353	38.0	45.0	47.0	48.5	49.0	52.0	53.5	44.0	40.0	31.5	3.0	2.5	2.0	2.0
	354	16.5	23.5	47.0	42.5	25.5	55.5	79.0	72.5	41.5	49.5	2.5	2.5	2.0	4.0
	mean	29.1	32.8	45.0	51.2	36.0	50.4	62.4	51.3	45.3	34.5	2.3	3.3	1.8	2.5

Table 2-4 Hematological findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Platelet ($10^9/\text{mm}^3$)			PT (sec)			APTT (sec)		
		Dosage period (day)			Dosage period (day)			Dosage period (day)		
		-21	-9	7	-21	-9	7	-21	-9	7
Control	51	28.3	27.1	21.6	27.5	11.1	10.2	17.6	13.4	24.3
	52	40.2	31.5	34.5	37.9	16.4	11.8	17.0	15.3	28.9
	53	18.4	20.0	14.1	12.4	11.7	9.9	14.9	10.6	28.3
	54	2.8	13.1	11.2	11.4	10.8	10.6	12.8	11.9	30.0
	mean	22.4	22.9	20.4	22.3	12.5	10.6	15.6	12.8	27.9
20	151	37.0	29.0	24.7	27.3	19.8	10.3	15.4	12.1	29.6
	152	19.1	14.7	23.0	24.7	11.1	12.9	14.6	11.2	24.1
	153	16.4	13.9	10.7	14.0	14.1	11.9	18.5	11.8	29.3
	154	22.5	17.3	11.0	25.0	10.8	9.8	11.8	11.1	24.6
	mean	23.8	18.7	17.4	22.8	14.0	11.2	15.1	11.6	26.9
40	251	22.9	24.6	15.1	20.0	14.6	10.9	17.6	16.4	26.7
	252	20.3	19.8	19.9	22.0	13.0	10.3	16.6	15.3	22.9
	253	18.6	9.7	14.8	17.8	9.6	10.6	13.6	10.8	24.4
	254	23.0	5.6	13.9	12.6	10.2	11.6	16.8	12.1	23.6
	mean	21.2	14.9	15.9	18.1	11.9	10.9	16.2	13.7	24.4
80	351	28.3	28.4	17.2	23.0	12.1	9.7	12.9	12.6	26.8
	352	35.0	33.5	20.3		13.1	11.1	17.6	10.6*	26.6
	353	38.5	22.4	26.3	41.9	13.1	10.3	12.9	11.3	29.4
	354	20.2	14.4	15.4	18.5	9.6	10.3	12.2	10.1	26.9
	mean	33.9	24.7	19.8	27.8	11.8	10.4	13.9	11.3	27.4

* Examined on day 27 in moribund state, the values were excluded from the mean values.

Table 3-1 Blood biochemical findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Ca ⁺⁺ (mg/dl)				Inorganic phosphorus (mg/dl)				Urea nitrogen (mg/dl)				Glucose (mg/dl)			
		Dosage period (day)				Dosage period (day)				Dosage period (day)				Dosage period (day)			
		-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41	
Control	51	8.8	8.6	8.5	8.6	8.6	2.2	3.3	3.7	2.9	3.1	9	12	11	12	10	72
	52	9.4	9.0	9.1	9.1	9.0	2.2	2.8	2.7	2.4	3.2	10	13	13	14	12	100
	53	8.5	9.1	9.1	9.2	8.6	4.0	4.2	2.6	3.7	3.6	20	14	14	12	10	68
	54	8.6	7.9	8.6	8.7	8.6	2.6	3.1	2.9	3.5	3.4	18	17	17	15	12	102
	mean	8.8	8.7	8.8	8.9	8.7	2.8	3.4	3.0	3.1	3.3	14	14	14	13	11	86
20	151	8.8	9.0	8.5	8.8	8.7	2.5	2.2	2.7	3.3	3.3	15	14	10	12	11	54
	152	9.2	9.4	8.4	8.3	8.9	2.0	2.7	2.1	2.4	2.0	15	17	10	13	14	86
	153	8.4	7.9	8.8	8.6	8.6	2.4	3.3	2.2	2.9	2.8	16	17	17	15	13	86
	154	9.2	8.8	9.4	8.6	8.9	4.4	3.4	3.6	3.0	2.9	12	13	13	10	10	90
	mean	8.9	8.8	8.8	8.6	8.8	2.8	2.9	2.7	2.9	2.8	14	15	13	13	12	79
40	251	8.9	8.2	8.7	8.4	8.6	2.2	1.8	3.7	3.3	2.8	10	12	12	9	10	76
	252	8.6	9.0	8.2	8.5	8.2	2.5	3.1	3.1	2.8	2.7	14	9	15	17	14	94
	253	9.0	9.0	9.3	8.6	8.9	2.3	3.7	3.1	2.9	2.0	21	23	13	16	19	86
	254	8.4	8.2	8.2	7.9	8.3	4.0	3.0	3.6	3.0	2.6	10	9	6	7	6	88
	mean	8.7	8.6	8.6	8.4	8.5	2.8	2.9	3.4	3.0	2.5	14	13	14	12	12	86
80	351	8.8	9.0	8.9	8.5	8.6	2.2	2.7	2.5	2.9	2.6	15	12	14	9	9	72
	352	9.0	8.7	9.0	9.0	7.2*	2.0	3.5	4.1	2.5	10.0*	19	20	25	26	126*	104*
	353	9.2	9.0	9.2	8.6	9.0	4.0	5.1	4.6	3.7	3.8	12	13	12	15	14	92
	354	9.4	9.8	9.3	8.9	9.2	1.9	3.5	3.7	2.8	3.1	19	16	12	16	15	90
	mean	9.1	9.1	9.1	8.8	8.9	2.5	3.7	3.7	3.0	3.2	16	15	16	17	13	85

* Examined on day 29 in moribund state, and the values were excluded from the mean values.

Table 3-2 Blood biochemical findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Creatinine (mg/dl)					Total cholesterol (mg/dl)					Triglyceride (mg/dl)		FFA (mEq/l)	Lipoprotein (%)		
		Dosage period (day)					Dosage period (day)					Dosage period (day)	Dosage period (day)		day 41		
		-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41				α	pre- β	β
Control	51	0.8	0.7	0.8	1.0	0.6	180	148	166	170	138	24	0.21	67.4	10.2	22.5	
	52	0.5	0.7	0.8	0.6	1.0	248	228	230	220	206	—	0.10	56.1	14.8	29.1	
	53	0.6	0.8	0.8	0.4	0.8	180	178	160	184	170	11	0.56	54.9	0	45.1	
	54	0.6	0.7	0.8	0.6	0.8	204	178	174	210	164	19	0.10	65.0	0	35.0	
	mean	0.6	0.7	0.8	0.7	0.8	203	183	183	196	170	18	0.24	60.9	6.3	28.2	
20	151	1.0	1.1	1.1	1.4	1.6	210	194	182	184	156	29	0.22	69.9	14.0	16.2	
	152	0.8	0.9	0.9	0.8	1.0	204	236	200	172	140	35	0.47	52.4	2.7	44.8	
	153	0.5	0.8	0.8	0.5	0.8	240	242	210	240	192	24	0.14	53.4	0	46.6	
	154	0.6	0.7	0.7	0.5	0.6	190	170	178	170	158	14	0.21	67.9	0	32.1	
	mean	0.7	0.9	0.9	0.8	1.0	211	211	193	192	162	26	0.26	60.9	4.2	34.9	
40	251	0.8	0.8	1.0	0.8	0.9	256	190	204	200	150	31	0.38	65.5	13.2	21.3	
	252	0.7	0.9	0.8	0.8	0.9	180	174	170	184	152	37	0.35	63.2	18.9	17.9	
	253	0.7	0.9	0.8	0.6	0.9	254	228	220	206	188	37	0.18	56.2	0	43.8	
	254	0.5	0.6	0.7	0.6	0.7	160	160	124	140	126	33	0.14	62.2	7.2	30.5	
	mean	0.7	0.8	0.7	0.7	0.9	213	188	180	183	154	35	0.26	61.3	9.8	28.4	
80	351	0.9	1.1	1.3	1.2	1.1	218	206	186	214	158	43	0.22	76.1	8.8	15.1	
	352	0.7	0.8	1.8	1.4	4.0*	200	206	172	146	68*	112*	1.22*	29.0*	71.0*	0*	
	353	0.6	0.8	0.9	0.7	1.0	166	154	140	138	112	16	0.26	68.4	13.9	17.7	
	354	0.8	1.0	1.5	1.1	1.0	166	200	134	124	141	21	0.13	73.2	3.0	23.8	
	mean	0.8	0.9	1.4	1.1	1.0	188	192	158	156	128	27	0.20	72.6	8.6	18.9	

* Examined on day 29 in moribund state, and the values were excluded from the mean values.

Table 3-3 Blood biochemical findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Total protein (g/dl)					Albumin (g/dl)					A/G ratio					Total bilirubin (mg/dl)				
		Dosage period (day)					Dosage period (day)					Dosage period (day)					Dosage period (day)				
		-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41
Control	51	8.0	7.7	7.5	7.7	7.9	3.8	3.6	3.9	3.8	3.4	1.22	1.22	1.13	1.12	0.98	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1
	52	8.8	8.4	8.1	8.3	8.8	4.4	4.4	4.6	4.4	4.4	1.31	1.37	1.28	1.09	1.14	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
	53	8.4	7.8	8.1	8.2	8.7	3.9	4.1	4.3	4.2	4.1	1.14	1.29	1.13	1.06	1.03	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1
	54	8.6	7.5	8.0	8.2	8.5	3.5	3.4	3.5	3.5	3.5	1.04	0.99	0.92	0.89	0.94	0.2	0.3	0.1	0.2	0.2
	mean	8.5	7.9	7.9	8.1	8.5	3.9	3.9	4.1	4.0	3.9	1.18	1.22	1.12	1.04	1.02	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
20	151	7.8	7.8	7.4	7.7	7.8	3.8	3.7	3.9	4.1	3.7	1.30	1.14	1.14	1.04	1.08	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2
	152	7.6	8.1	7.0	7.0	7.2	3.7	4.0	3.9	3.6	3.6	1.08	1.17	1.12	1.12	0.69	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2
	153	9.5	8.3	9.0	9.4	9.2	3.7	3.7	3.8	3.9	3.6	0.91	0.91	0.85	0.75	0.85	0.3	0.2	0.1	0.2	0.2
	154	8.9	8.5	8.7	8.2	9.2	4.2	4.0	4.3	3.8	4.0	0.93	1.09	1.19	1.15	0.91	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2
	mean	8.5	8.2	8.0	8.1	8.4	3.9	3.9	4.0	3.9	3.7	1.06	1.08	1.08	1.02	0.88	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
40	251	9.8	7.7	7.7	7.6	7.8	4.1	3.6	4.1	3.9	3.6	1.13	1.37	1.11	1.20	1.08	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1
	252	8.6	7.9	7.4	7.9	7.9	3.9	3.9	3.6	3.4	3.3	0.91	0.97	1.02	0.76	0.92	0.2	0.2	0.3	0.3	0.1
	253	9.0	8.6	8.7	8.7	8.6	4.1	4.2	4.1	4.1	3.8	1.09	1.17	1.07	1.08	0.94	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
	254	7.6	7.0	6.9	7.0	7.2	3.6	3.3	3.3	3.0	3.1	1.07	0.98	1.04	1.03	0.93	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1
	mean	8.5	7.8	7.7	7.8	7.9	3.9	3.8	3.8	3.6	3.5	1.05	1.12	1.06	1.02	0.97	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
80	351	8.2	8.0	7.8	7.4	7.8	3.9	4.0	4.1	3.5	3.3	1.35	1.29	1.09	0.93	0.84	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
	352	8.4	7.9	8.1	7.4	5.1*	4.2	4.3	4.1	4.2	2.5*	1.20	1.36	0.84	1.34		0.2	0.2	0.2	0.5	0.3
	353	9.0	8.6	8.5	8.2	8.5	4.2	4.5	4.3	4.3	4.0	1.16	1.17	1.07	1.15	1.05	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
	354	8.4	9.4	8.0	7.6	8.0	4.1	4.6	4.1	3.9	3.7	1.22	1.23	1.14	1.25	1.47	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1
	mean	8.5	8.5	8.1	7.7	8.1	4.1	4.4	4.2	4.0	3.7	1.23	1.26	1.04	1.17	1.12	0.2	0.2	0.2	0.3	0.1

* Examined on day 29 in moribund state, and the values were excluded from the mean values.

Table 3-4 Blood biochemical findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Al-P (mU/ml)					GPT (mU/ml)					GOT (mU/ml)				
		Dosage period (day)					Dosage period (day)					Dosage period (day)				
		-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41	-36	-13	6	20	41
Control	51	146	140	144	140	146	40	14	58	54	22	40	30	32	34	24
	52	178	164	158	158	168	132	52	70	94	66	40	52	30	26	36
	53	188	186	256	222	206	52	54	488	340	42	54	34	146	40	16
	54	134	152	148	144	160	4	4	16	24	4	24	18	26	10	16
	mean	162	161	177	166	170	57	31	158	128	34	40	34	59	28	23
20	151	224	170	163	158	138	50	26	58	18	2	16	20	20	14	8
	152	152	170	166	142	152	84	38	194	40	20	74	20	58	18	24
	153	174	196	194	210	174	52	32	120	78	74	50	26	46	22	84
	154	174	178	186	198	212	72	60	38	64	22	52	54	54	26	30
	mean	181	179	177	177	169	60	39	103	50	30	48	30	35	20	37
40	251	194	162	178	142	140	80	62	116	132	62	32	26	34	30	28
	252	156	174	226	386	308	50	10	48	48	34	34	34	30	36	94
	253	190	182	228	220	154	30	4	32	60	32	32	20	18	14	30
	254	196	194	208	190	192	50	30	68	60	20	44	30	26	22	32
	mean	184	178	210	235	199	53	27	66	75	37	36	28	27	26	46
80	351	100	98	116	120	112	70	24	32	20	22	40	28	24	16	26
	352	198	228	290	172	166*	72	18	10	12	14*	34	20	6	4	2*
	353	204	202	240	300	254	46	30	42	30	24	42	30	38	10	32
	354	254	324	346	306	196	120	112	410	66	20	54	46	164	34	76
	mean	189	213	248	225	187	77	46	124	32	22	43	31	58	16	45

* Examined on day 29 in moribund state, and the values were excluded from the mean values.

Table 4 BSP tests in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	BSP test (%)	
		Dosage period (day)	
		-20	38
Control	51	2.7	2.1
	52	1.4	1.6
	53	2.1	2.1
	54	1.2	1.7
	mean	1.9	1.8
20	151	2.3	2.5
	152	1.4	2.3
	153	2.3	1.6
	154	1.3	1.6
	mean	1.8	2.0
40	251	2.8	1.9
	252	1.1	1.8
	253	1.0	1.4
	254	1.6	1.3
	mean	1.6	1.6
80	351	1.7	1.5
	352	1.2	
	353	2.0	1.4
	354	1.6	1.7
	mean	1.6	1.5

白およびアルブミンの減少がみられた。

5. BSP 排泄試験

成績は Table 4 に示すように、いずれの投与群にも有意な変化は認められなかった。

6. 剖検および病理組織学的所見

臓器重量は Table 5-1~5-2 に示すように、80 mg/kg 群の瀕死期の屠殺例では肝の体重比の明らかな増加がみられたが、AT-2266 を投与した他のサル臓器重量はいずれも正常範囲であった。

病理解剖学的ならびに病理組織学的検索の結果は Table 6 に示すとおりで、80 mg/kg 群の瀕死期殺処分例ではカンジダ症がみられ、舌、口腔および食道粘膜における偽膜形成、顔面、胸部および腹部の皮膚における発疹または紅斑を認めた。本例には、また病理組織学的に肝の脂肪化や単細胞性壊死、近位尿管上皮や心筋における脂肪沈着、尿管腔の拡張、十二指腸の潰瘍および盲腸粘膜の限局性出血性壊死が認められた。80 mg/kg 群の他の例では軽度ではあったが、尿管腔の拡張、尿管

管上皮の水腫変性が観察された。また各投与群の一部に少数のカンジダ菌糸が舌、食道あるいは顔面皮膚にみられたが、炎症性変化を伴うものではなかった。その他、肝の小葉中心性脂肪化、腎の糸球体硬化、脾小節の充血および萎縮などの変化が対照群を含む各実験群に認められた。

7. 血漿中および組織内薬物濃度

Table 7-1, 7-2 および Fig. 2 に示すように、血漿中 AT-2266 濃度は、20 および 40 mg/kg 群では 1~2 時間後、80 mg/kg 群では 2~4 時間後に最も高く、peak level はそれぞれ初日 4.3 $\mu\text{g/ml}$ 、5.4 $\mu\text{g/ml}$ および 11.5 $\mu\text{g/ml}$ 、41 日目は初日より高く、それぞれ 5.3 $\mu\text{g/ml}$ 、7.7 $\mu\text{g/ml}$ および 17.3 $\mu\text{g/ml}$ であった。血漿中濃度一時間曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-24\text{hr}}$) も用量依存性に増大し、各群とも反復投与後は初日より高く、20、40 および 80 mg/kg でそれぞれ 49 (21~85)、71 (54~108) および 199 (150~229) $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ であった。見かけの消失半減期は各投与群間、ならびに初回投与後と反復投与後の間に差はなく約 5 時間 (4~7 時間) であった。1 週ごとに投与直前の血漿中 AT-2266 濃度をモニターした結果、40 および 80 mg/kg 群でそれぞれ第 2 および第 3、4 週目にわずかに上昇したが、その後は低下し、蓄積性は認められなかった。80 mg/kg 群の瀕死期殺処分例の trough level は異常症状発現後次第に上昇し、21 日目では最高血漿中濃度 27.1 $\mu\text{g/ml}$ 、 $\text{AUC}_{0-24\text{hr}}$ 407 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ および見かけの消失半減期 17.2 時間で、投与初日に比べそれぞれ約 2 倍、3 倍および 4 倍の値に達していた。

組織内濃度 (Fig. 3) は用量依存性に上昇し、中枢神経系以外は、血漿中濃度よりもかなり高かった。すなわち、最終投与 3 時間後において肝臓および腎臓で約 6~8 倍、脾臓、心臓および骨格筋で約 3~5 倍高く、各投与群間に大差はなかったが、肺および脾臓においては、1~5 倍で投与量と組織内濃度の比は用量依存性に上昇した。最終投与 24 時間後の組織内濃度は著しく減少していたが、組織内濃度と血漿中濃度の関係は最終投与 3 時間後での結果とはほぼ同様であった。80 mg/kg 群の瀕死例は 28 日目の最終投与約 24 時間後に殺処分したが、この時の組織内濃度は著しく高く、屠殺時の血漿中濃度 43.2 $\mu\text{g/ml}$ (Bioassay 値) に対し、中枢神経系で約 13~18 $\mu\text{g/g}$ 、その他の臓器では、87 (肺)~246 (腎皮質) $\mu\text{g/g}$ であった。

8. 糞便および口腔内細菌叢の検査

投与開始後、全投与群の糞便中の主なグラム陰性菌 *E. coli* は減少し、*C. freundii* は増加した。*Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.,

Table 5-1 Absolute organ weights in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Brain (g)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Kidney			Spleen (g)	Pancreas (g)	Pituitary (mg)	Thyroid (g)	Adrenal (g)	Submax- illary gland (g)	Uterus (g)	Ovary (g)
						left (g)	right (g)	total (g)								
Control	51	67.8	20.2	24.5	103	9.24	9.21	18.5	3.74	10.40	110	0.37	0.64	2.63	12.01	0.65
	52	53.7	12.1	20.1	61	6.55	5.34	11.9	3.96	4.96	88	0.76	0.76	2.39	8.56	0.65
	53	55.6	11.2	15.6	59	5.98	6.19	12.2	5.31	5.39	79	0.34	0.65	2.05	13.40	0.46
	54	63.5	10.2	24.6	62	5.63	5.27	10.9	8.51	6.41	70	0.41	0.57	2.75	8.50	0.33
	mean	60.2	13.4	21.2	71	6.85	6.50	13.4	5.38	6.79	87	0.47	0.66	2.46	10.62	0.52
20	151	66.4	23.0	21.2	100	8.13	8.11	16.2	5.70	7.07	89	0.51	0.55	2.93	10.17	0.42
	152	56.3	11.2	16.8	60	5.48	5.39	10.9	3.42	4.20	81	0.42	0.42	2.65	11.64	0.50
	153	65.0	12.2	20.3	61	5.82	5.81	11.6	5.10	7.24	66	0.46	0.91	3.21	7.96	0.55
	154	56.7	8.2	13.6	52	4.30	4.24	8.5	6.28	4.58	79	0.26	0.43	2.53	4.46	0.36
	mean	61.1	13.7	18.0	68	5.93	5.89	11.8	5.13	5.77	79	0.41	0.58	2.83	8.56	0.46
40	251	69.8	18.3	16.6	71	8.49	8.10	16.6	3.09	6.83	89	0.61	0.60	2.43	9.84	0.39
	252	55.8	11.3	18.3	68	5.98	6.05	12.0	8.18	5.97	89	0.28	0.57	2.06	14.87	0.66
	253	55.0	10.7	15.6	58	4.55	4.98	9.5	3.91	6.11	77	0.30	0.52	2.57	6.43	0.57
	254	53.5	10.4	14.0	53	4.68	4.42	9.1	4.62	6.58	55	0.35	0.58	2.01	6.44	0.33
	mean	58.5	12.7	16.1	63	5.93	5.89	11.8	4.95	6.37	78	0.39	0.57	2.27	9.40	0.49
80	351	60.5	19.7	16.1	94	7.83	7.85	15.7	3.30	5.83	84	0.38	0.54	2.17	8.26	0.33
	352	54.8*	8.1*	15.4*	82*	5.06*	5.35*	10.4*	1.57*	3.41*	76*	0.54*	0.77*	1.32*	4.61*	0.12*
	353	58.6	11.8	20.4	73	6.79	6.61	13.4	3.79	4.50	74	0.94	0.82	1.39	6.65	0.29
	354	53.7	9.6	20.5	58	4.98	5.18	10.2	4.52	3.76	96	0.50	0.52	2.15	10.65	0.41
	mean	57.6	13.7	19.0	75	6.53	6.55	13.1	3.87	4.70	85	0.61	0.85	1.90	8.15	0.34

* Sacrificed on day 29 in moribund state, and the values were excluded from the mean values.

Table 5-2 Relative organ weights in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Dose (mg/kg)	Animal No.	Brain	Heart	Lung	Liver	Kidney			Spleen	Pancreas	Pituitary	Thyroid	Adrenal	Submax- illary gland	Uterus	Ovary
						left	right	total								
Control	51	13.1	4.02	4.72	19.8	1.78	1.77	3.55	0.72	2.00	0.021	0.07	0.12	0.51	2.31	0.13
	52	19.2	4.33	7.19	21.8	2.34	1.91	4.25	1.41	1.77	0.031	0.27	0.27	0.85	3.06	0.23
	53	17.4	3.49	4.86	18.4	1.87	1.93	3.80	1.66	1.68	0.025	0.11	0.20	0.64	4.19	0.14
	54	26.5	4.25	10.25	25.8	2.35	2.20	4.55	3.55	2.67	0.029	0.17	0.24	1.15	3.54	0.14
	mean	19.1	4.02	6.76	21.5	2.09	1.95	4.04	1.84	2.03	0.027	0.16	0.21	0.79	3.28	0.16
20	151	9.8	3.39	3.12	14.7	1.20	1.19	2.39	0.84	1.04	0.013	0.08	0.08	0.45	1.50	0.06
	152	19.4	3.85	5.78	20.7	1.89	1.86	3.75	1.18	1.45	0.028	0.14	0.14	0.91	4.01	0.17
	153	19.7	3.71	6.15	18.5	1.76	1.76	3.52	1.55	2.19	0.020	0.14	0.28	0.97	2.41	0.17
	154	24.7	3.56	5.93	22.6	1.87	1.84	3.71	2.73	1.99	0.034	0.11	0.17	0.97	1.94	0.13
	mean	18.4	3.63	5.25	19.1	1.68	1.66	3.34	1.58	1.67	0.024	0.12	0.17	0.82	2.47	0.13
40	251	15.9	4.16	3.76	16.1	1.93	1.84	3.77	0.70	1.55	0.020	0.14	0.14	0.55	2.24	0.09
	252	18.6	3.76	5.84	22.7	1.99	2.02	4.01	2.73	1.99	0.030	0.09	0.19	0.69	4.96	0.22
	253	19.0	3.69	5.36	20.0	1.57	1.72	3.29	1.35	2.11	0.027	0.10	0.18	0.89	2.22	0.20
	254	22.3	4.34	5.82	22.1	1.95	1.84	3.79	1.93	2.74	0.023	0.15	0.24	0.84	2.63	0.14
	mean	19.0	3.99	5.20	20.2	1.86	1.86	3.72	1.68	2.10	0.025	0.12	0.19	0.74	3.03	0.16
80	351	14.1	4.57	3.73	21.9	1.82	1.83	3.65	0.77	1.36	0.020	0.09	0.13	0.50	1.92	0.08
	352	23.8*	3.53*	6.70*	35.7*	2.20*	2.33*	4.53*	0.73*	1.48*	0.033*	0.23*	0.33*	0.57*	2.00*	0.05*
	353	20.9	4.20	7.55	26.1	2.43	2.36	4.79	1.35	1.61	0.026	0.34	0.29	0.78	2.37	0.10
	354	20.7	3.70	7.87	22.3	1.92	1.99	3.91	1.74	1.45	0.037	0.19	0.20	0.83	4.10	0.16
	mean	18.6	4.16	6.38	23.4	2.06	2.06	4.12	1.29	1.47	0.028	0.21	0.21	0.70	2.80	0.11

* Sacrificed on day 29 in moribund state, and the values were excluded from the mean values. Figures represent gram organ weight per kilogram body weight.

Table 6 Histopathological findings in monkeys receiving AT-2266 for six weeks

Organ and histopathological finding /Dose (mg/kg) / Animal No.	Control				20				40				80			
	51	52	53	54	151	152	153	154	251	252	253	254	351	352	353	354
Heart	±	±	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	+	±	-	-
Fatty accumulation of sarcoplasm																
Liver																
Centrilobular fatty degeneration (large droplet)	±	+	+	±	±	-	+	±	-	-	+	±	+	±	+	-
Diffuse fatty degeneration (large droplet)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Single cell eosinophilic atrophy of hepatocytes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
Single cell necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Variation in size of nuclei	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kidney																
Sclerotic glomeruli	-	±	-	-	-	-	-	+	+	-	-	±	-	-	-	+
Fatty accumulation in proximal epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Ectasia of uriniferous tubules	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	+	-
Hydropic degeneration of proximal epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen																
Congestion	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Atrophy of splenic nodules																
Oral cavity																
Candidiasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Tongue																
A small number of Candida at cornified layer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Candidiasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esophagus																
A small number of Candida at just below surface	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Candidiasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stomach																
Hemorrhagic erosion	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-
Nematode infection	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Duodenum																
Ectasia of duodenal glands	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Necrosis of tip part of villi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Large ulceration with plasma cell infiltration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
Cecum																
Focal hemorrhagic necrosis of mucosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Facial, thoracic, and abdominal skin																
A small number of Candida at cornified layer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Candidiasis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vagina																
Candida in desquamated epithelium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

- : No change ± : Slight + : Mild ± : Moderate ±± : Severe

No changes related to the administration of the compound were observed in the other organs which were not listed in this table.

Table 7-1 Plasma concentrations and pharmacokinetic parameters after administration of AT-2266 in monkeys

Dose (mg/kg)	Animal No.	Plasma concentrations (μg/ml)					Peak level (μg/ml)	AUC ₀₋₂₄ (μg·hr/ml)	t _{1/2} (h)
		Time (hr) after 1 st dosing							
		1	2	4	8	24			
20	151	4.0	5.3	2.8	2.3	0.3	5.3	46	5.6
	152	2.5	4.2	2.4	1.3	0.1	4.2	30	4.2
	153	3.8	4.3	2.8	1.3	0.1	4.3	32	4.1
	154	3.3	2.2	1.5	0.6	0.1	3.3	18	4.8
	mean	3.4	4.0	2.4	1.4	0.2	4.3	32	4.7
40	251	5.2	4.9	3.9	2.9	0.5	5.2	57	6.8
	252	6.4	6.7	5.3	2.2	0.2	6.7	56	4.3
	253	3.9	3.8	3.0	2.1	0.2	3.9	41	5.0
	254	5.9	5.5	3.6	1.6	0.2	5.9	43	4.7
	mean	5.4	5.2	4.0	2.2	0.3	5.4	49	5.2
80	351	5.2	8.6	10.2	7.3	1.0	10.2	130	5.9
	352	6.0	13.2	12.8	6.9	0.5	13.2	137	4.5
	353	7.6	12.0	9.6	4.4	0.4	12.0	102	4.4
	354	3.2	6.2	10.6	6.4	0.8	10.6	115	5.4
	mean	5.5	10.0	10.8	6.3	0.7	11.5	121	5.1

Dose (mg/kg)	Animal No.	Plasma concentrations (μg/ml)						Peak level (μg/ml)	AUC ₀₋₂₄ (μg·hr/ml)	t _{1/2} (h)
		Time (hr) after 41 st dosing								
		0	1	2	4	8	24			
20	151	1.0	6.5	7.8	5.3	4.2	1.0	7.8	85	7.8
	152	0.3	4.2	4.4	4.1	2.2	0.2	4.4	47	4.8
	153	0.3	2.5	5.2	3.9	2.0	0.2	5.2	44	4.7
	154	0.2	3.6	2.9	1.6	0.7	0.1	3.6	21	4.6
	mean	0.5	4.2	5.1	3.7	2.3	0.4	5.3	49	5.5
40	251	1.0	9.1	9.6	8.2	5.2	0.9	9.6	108	6.4
	252	0.5	5.3	5.5	4.4	2.4	0.4	5.5	54	5.8
	253	0.5	6.4	6.4	4.3	2.5	0.4	6.4	57	5.7
	254	0.5	9.3	7.8	5.0	2.6	0.4	9.3	65	5.2
	mean	0.6	7.5	7.3	5.5	3.2	0.5	7.7	71	5.8
80	351	2.6	5.2	10.1	18.6	13.1	2.6	18.6	229	7.0
	352*	11.2*		20.7*	27.1*	18.3*		27.1*	407*	17.2*
	353	1.6	6.6	14.1	11.5	7.6	1.4	14.1	150	6.6
	354	2.2	8.0	11.3	19.1	11.8	2.2	19.1	219	6.5
	mean	2.1	6.6	11.8	16.4	10.8	2.1	17.3	199	6.7

* Plasma concentrations and pharmacokinetic parameters after 21st administration of AT-2266, and the values were excluded from the mean values.

Table 7-2 Basal plasma concentrations (trough levels) after administration of AT-2266 in monkeys

Dose (mg/kg)	Animal No.	Basal plasma concentrations ($\mu\text{g/ml}$)									
		Day of examination									
		1	6	13	15	20	27	29	34	40	41
20	151	0.3	0.8	0.9	—	1.1	0.8	—	1.1	1.0	1.0
	152	0.1	0.3	0.3	—	0.3	0.3	—	0.3	0.3	0.2
	153	0.1	0.1	0.1	—	0.5	0.2	—	0.2	0.3	0.2
	154	0.1	0.2	0.2	—	0.2	0.2	—	0.1	0.2	0.1
	mean	0.2	0.4	0.4	—	0.5	0.4	—	0.4	0.5	0.4
40	251	0.5	0.8	1.9	—	1.2	1.0	—	0.8	1.0	0.9
	252	0.2	0.3	0.6	—	0.4	0.3	—	0.3	0.5	0.4
	253	0.2	0.4	0.8	—	0.9	0.8	—	0.4	0.5	0.4
	254	0.2	0.5	2.0	—	0.6	0.7	—	0.4	0.5	0.4
	mean	0.3	0.5	1.3	—	0.8	0.7	—	0.5	0.6	0.5
80	351	1.0	3.3	3.7	—	4.1	2.5	—	2.8	2.6	2.6
	352	0.5	5.1	5.4	11.1	11.2	16.0	47.9	—	—	—
	353	0.4	1.1	1.3	—	2.2	1.3	—	1.6	1.6	1.4
	354	0.8	3.5	4.1	—	3.9	1.5	—	1.7	2.2	2.2
	mean	0.7	3.3	3.6	—	5.4	5.3	—	2.0	2.1	2.1

— : No data

Lactobacillus spp. および Anaerobic bacteria の数に著変は認められなかった。糞便中の真菌数は 40 および 80 mg/kg 群の各 4 例中の 1 例においてわずかに増加した。投与開始前の口腔内真菌数は、多くの個体で 10^2 cells/swab 以下 $\sim 10^{2.5}$ cells/swab 検出されたが、投与後においても有意に変化することはなかった。瀕死期に殺処分した 80 mg/kg 群の 1 例における口腔内真菌数は、投与

開始前から著しく多く、 $10^{5.4}$ cells/swab 検出されたが、本例の瀕死期においても増加の徴候はなかった。

III. 総括ならびに考察

AT-2266 の亜急性毒性を雌 カニクイザル を用いて検討した。投与量は 20, 40, 80 mg/kg で、1 日 1 回懸濁液を 6 週間、経鼻胃内投与した。

薬物投与に関連した変化として便の性状変化、尿の性状変化、腎の変化、食欲不振による飢餓衰弱などが認められた。

便の性状変化は、抗菌性物質を投与した動物において通常認められる変化と類似しており、本薬物に特異的な所見ではないと考えられる。

蓄尿中に AT-2266 の結晶性沈殿物が認められた。この沈殿物は剖検時の膀胱や腎臓内には認められなかったことから、排尿後に析出したものと考えられる。同様の現象は、ラットにおける亜急性および慢性毒性試験²⁾に際しても認められた。

80 mg/kg 群の生存例の腎尿細管に軽度の拡張が認められた。尿検査や腎機能に関連した血液生化学的所見に異常は認められなかったので毒性学的には軽微な作用と考えられる。

瀕死期に殺処分した 80 mg/kg 群の 1 例には食欲の減

Fig. 2 Plasma AT-2266 concentrations in monkeys after 1 st and 41 st doses of AT-2266

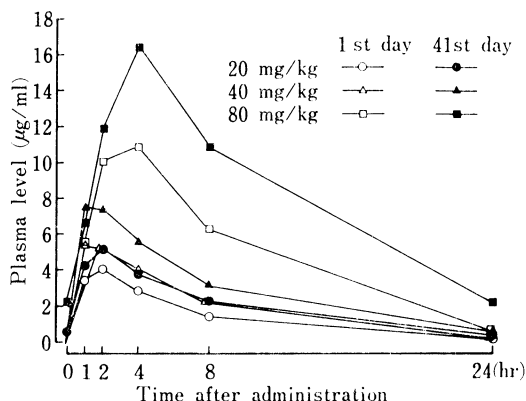
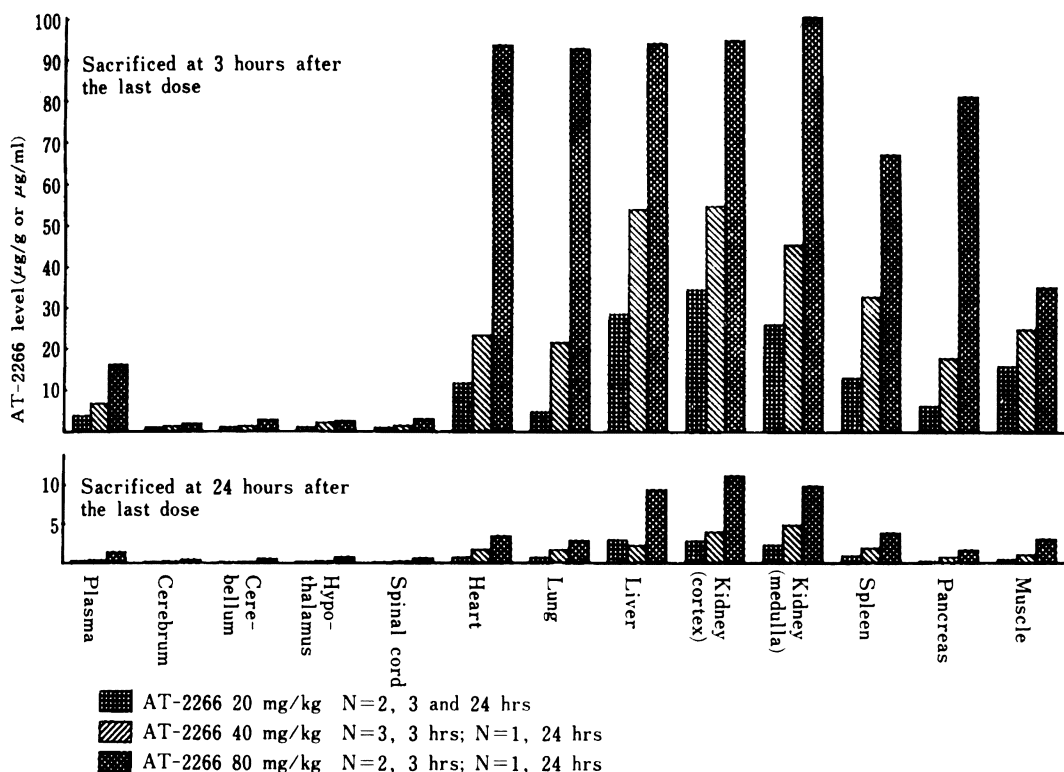


Fig. 3 Tissue AT-2266 concentration in monkeys after 43rd dose of AT-2266



退または消失、嘔吐、舌、口腔内および皮膚におけるカンジダ症が認められた。剖検により食道にもカンジダ症が認められたが、本例は投与前の口腔内検査で酵母様微生物の多い個体であった。これらの事実から本例の衰弱は、AT-2266の高用量投与に付随して惹起された食欲不振が飢餓を引き起こし、これがカンジダ症を誘発させたものと考えられる。瀕死期に血中の尿素窒素、トリグリセライドおよび無機磷の著しい上昇、総蛋白、アルブミンの減少などがみられ、病理組織学的に肝臓および腎臓の脂肪化がみられたが、これらはサルにおいてしばしば発症するとされている致死性飢餓症候群の病態⁴⁾とよく一致していた。殺処分時、各臓器内の薬物濃度は極めて高かったが、飢餓に伴う諸変化以外の異常がなかったことは、AT-2266に直接的な臓器障害性がないことを示唆するものであろう。

AT-2266の薬物動態と毒性発現の関連をみると、80 mg/kg群の生存3例の成績では、反復投与後の peak level が約20 $\mu\text{g/ml}$ 以下、 $\text{AUC}_{0-24\text{hr}}$ が約200 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $t_{1/2}$ が6~7 hrであり、この状態下では好中球の軽度の

増加、腎にごく軽微な影響を与える程度であった。一方、著しい中毒症状を発現した80 mg/kg群の1例では、投与21日目ですでに peak level は27.1 $\mu\text{g/ml}$ 、 $\text{AUC}_{0-24\text{hr}}$ は407 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 、 $t_{1/2}$ は17.2 hrとなり、29日目の殺処分時では trough level が48.0 $\mu\text{g/ml}$ に達しており、このような薬物動態下では明らかな毒性の現われることがあると考えられる。ちなみに40 mg/kg群では、peak level 7.7 (5.5~9.6) $\mu\text{g/ml}$ 、 $\text{AUC}_{0-24\text{hr}}$ 71 (54~108) $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ であって、この用量ではいずれの検査項目においても毒性の発現を示唆する異常所見はなかった。

以上より、AT-2266をカンクイザルに反復投与したときの毒性学的な最大無作用量は40 mg/kg/日、毒性発現量は80 mg/kg/日と結論されよう。サルにおける無作用量40 mg/kg/日はラットを用いた亜急性毒性試験²⁾における最大無作用量600 mg/kg/日(成獣)よりも著しく低いが、これは関根らにより明らかにされているように吸収の種族差⁵⁾によるものであろう。また本薬物のサルにおける反復投与時の無作用量は、Pipemidic acid⁶⁾やNorfloxacin⁷⁾など他の構造類似化合物のサルにおける無

作用量に比べやや低いが、これも AT-2266 の吸収が良好であることによるものと考える。

稿を終えるにあたり本実験に終始協力された山吉通子、宮島由巳、上田芳仲、西脇 勉、久保雄嗣、黒部暢之らの諸氏に深謝します。

(本試験は昭和55年5月から55年11月までの間に実施した。)

文 献

- 1) 中村信一, 片江宏己, 南 明, 中田勝久, 井上 了, 山岸純一, 高瀬善行, 清水當尚: AT-2266 の *in vitro* および *in vivo* 抗菌作用。Chemotherapy 32 (S-3): 70~85, 1984
- 2) 竹本勇一, 仙田博美, 中野幸穂, 山吉通子, 松岡信男, 大西久美雄, 吉田耕一: AT-2266 の毒性学的研究 第2報 ラットにおける亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 32 (S-3): 199~220, 1984
- 3) 光岡知足: 腸内細菌叢の検索手技。感染症誌 45: 406~419, 1971
- 4) BRONSON, R. T.; Mo'CONNELL, N. KLEPPER-KILGORE, L. V. CHALIFOUX and P. SEHGEL: Fatal fasting syndrome of obese macaques. Laboratory Animal Science 32: 187~192, 1982
- 5) 山口俊和, 鈴木玲子, 関根 豊: AT-2266 の生体内動態 II 動物における AT-2266 と代謝物の血漿中濃度および尿中排泄。Chemotherapy 32 (S-3): 103~108, 1984
- 6) 仙田博美, 矢寺成次, 藤本勝造, 大西久美雄, 辰巳 照: Pipemidic acid の毒性学的研究 第4報 サルにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy 23: 2765~2770, 1975
- 7) 入倉 勉, 杉本 勉, 今井 繁, 野本恭之, 池田岳雄, 神田和実, 阿部 寛, 棚瀬裕文, 斎藤次郎: AM-715 の毒性学的研究 第3報 サルにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy 29: S-4, 812~828, 1981

TOXICOLOGICAL STUDIES OF AT-2266

III. SIX-WEEK SUBACUTE TOXICITY STUDY IN MONKEYS

HIROMI SENDA, SEIJI YATERA, YUICHI TAKEMOTO,
NOBUO MATSUOKA, KUMIO OHNISHI and KOUICHI YOSHIDA
Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.

AT-2266, a newly synthesized antibacterial agent, was administered intragastrically via nose to female monkeys (*Macaca fascicularis*) once a day for 6 weeks at dose levels of 20, 40 and 80 mg/kg.

The results obtained were as follows:

1) As for the changes related to administration of AT-2266, all monkeys developed loose or solid stool which was essentially due to antibacterial effects of the compound.

2) In 20 and 40 mg/kg dose groups, there found no abnormal findings in body weight, food consumption, urinalysis, hematology, blood biochemistry, BSP excretion test, organ weight, necropsy and histopathology.

3) One of 4 monkeys given 80 mg/kg developed anorexia, vomiting and candidiasis (oral cavity and esophagus), followed by moribund state and then, was sacrificed at the 29th day of dosing. At the moribund state, various abnormalities related to starvation were observed but, grossly or histopathologically, alterations attributable to the direct effects of the compound were scarcely observed in all organs. The survivors given 80 mg/kg, on the other hand, showed no toxicological effects except for slight elevation of neutrophil and slight renal failure.

From the results mentioned above, the maximum safety dose of AT-2266 in monkeys was estimated to be 40 mg/kg/day.