

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) のビーグル犬経口投与による慢性毒性試験ならびに回復試験

加島 正明・佐藤 隆一
株式会社日本実験医学研究所
能勢 尚志
鐘紡株式会社薬品研究所
青山 卓夫
鳥居薬品株式会社研究所

Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585, LAPC) の 75 mg/kg, 150 mg/kg, 300 mg/kg についてビーグル犬 6 カ月間経口投与による慢性毒性試験ならびに 1 カ月間の回復試験を実施し、以下の成績を得た。

1. 試験期間中、動物の死亡はみられなかった。
 2. 150 mg/kg, 300 mg/kg の投与により流涎・嘔吐が、300 mg/kg の投与により下痢が発現した。
 3. 300 mg/kg の投与を行なった雄の 6 カ月目の検査で血清総蛋白値の減少がみられた。
 4. 体重、飼料摂取量、飲水量、尿検査、血液検査、血圧、心電図、眼検査、臓器重量、剖検および組織所見においては検体の影響と考えられる異常所見は認められなかった。
 5. 発現した上記の変化は休薬により速やかに消退する可逆的なものであった。
- 以上のように、KBT-1585 をイヌに 6 カ月間経口投与した結果、特記すべき重篤な毒性はみられず、本試験の最大無作用量は 75 mg/kg であると判断された。

腸管からの吸収性に優れた ABPC の新しい prodrug である (5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl) methyl D- α -aminobenzyl penicillinate hydrochloride (Lenampicillin hydrochloride, KBT-1585) の安全性に関しては既にマウス・ラット・イヌにおける急性毒性試験¹⁾、ラット経口投与による亜急性毒性試験²⁾、ビーグル犬経口投与による亜急性毒性試験³⁾ の成績が報告されている。

今回著者らはビーグル犬経口投与による慢性毒性試験を実施したので、得られた成績を報告する。

I. 試験材料および試験方法

1. 動物

日本医科学動物資材研究所より購入した 5 カ月齢のビーグル犬 (Hazleton Beagle) 雌雄各 22 頭を 32 日間馴化検査したのち試験に用いた。動物はコンクリート製犬舎 (750 W×650 Dmm) に 1 頭ずつ収容し、温度 22±2°C、湿度 55±5%、換気回数 12 回/時間、6 時～18 時までの 12 時間照明 (200 ルクス) の環境下で飼育した。なお 9 時～13 時の間は天候の許す限り屋外運動場で運動させた。飼料は毎日午後 4 時から翌朝 9 時～10 時までに 400 g の固型飼料 (日本クレア CD-5) を限定給餌させた。

飲料水はケージにセットしたアルミ製給水器により水道水を自由に摂取させた。

2. 薬物および試験系の構成

KBT-1585 の投与量は既に行われたビーグル犬経口投与による亜急性毒性試験³⁾ の成績に基づいて決定した。すなわちこの試験では 900 mg/kg の投与で胃に糜爛が認められ、300 mg/kg 投与群では胃に軽度な炎症性変化がみられている。また 900 mg/kg 投与群では嘔吐が頻発し、300 mg/kg 投与群でもしばしば観察されている。しかし 100 mg/kg の投与では上記所見を含め特記すべき変化は特に認められていない。この結果から今回の慢性毒性試験では確実中毒量として 300 mg/kg を推定、以下 150 mg/kg, 75 mg/kg を設定した。

試験系の構成は Table 1 に示すように各群 4 頭とし、この他に対照群、150 mg/kg, 300 mg/kg 投与群にはそれぞれ 2 頭ずつの回復試験用動物を設けた。なお動物は同腹仔が同じ群に偏らぬよう配慮した以外は無作為に群分けした。

KBT-1585 の投与は原末を 1/8 α セラチンカプセル (加商) に詰めて 26 週間連日 13 時～14 時の間に強制経

Table 1 Experimental design of chronic toxicity study for KBT-1585 in the Beagle dogs

Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs	
		Male	Female
Control	0	6 (2)	6 (2)
KBT-1585	75	4	4
	150	6 (2)	6 (2)
	300	6 (2)	6 (2)

(); No. of dogs for 5 weeks recovery study

口投与した。なお対照群には空のカプセルを投与した。また、回復試験の期間は5週間とした。

3. 観察項目および方法

1) 一般臨床所見

- a. 一般症状：連日午前9時および投与後2時間目の1日2回観察した。
- b. 体重：毎週2回測定した。
- c. 飼料摂取量：毎日16時に飼料400gを与え翌朝9時～10時の残餌量より1日の摂取量を算出、1週間ごとに1日当りの平均摂取量を求めた。
- d. 飲水量：週1回13時に1,000mlの水道水を与え翌日の9時に残量を測定、飲水量を算出した。

2) 臨床病理学的検査

投与開始前、投与開始後1, 3, 6か月目および回復試験終了時の計5回、下記の通り実施した。

- a. 尿検査：代謝ケージに動物を収容し18時間尿(16時～翌朝10時)を採取し尿量を測定した。また腹部圧迫法により採取した新鮮尿を用い潜血・ケトン体・糖・蛋白・pH・ウロビリノーゲン・ビリルビン・亜硝酸塩(N-マルティスティックス®)、Na・K(炎光光度法)および沈渣について検査を実施した。

- b. 血液学的検査ならびに血液化学的検査：血液学的検査としては赤血球数・白血球数(東亜CC-110型血球計数器)、血小板数(東亜PL-100型血球計数器)、ヘマトクリット値(マイクロヘマトクリット法)、ヘモグロビン値(シアンメトヘモグロビン法)、白血球百分比(Pappenheim法)、プロトロンビン時間(Quick一段変法)、網赤血球数(Brecher法)について測定し、赤血球恒数(MCH, MCV, MCHC)を算出した。

血液化学的検査としてはGOT活性値・GPT活性値(Reitman-Frankel変法)、Al-P活性値(Kind-King法)、LDH活性値(ジニトロフェニールヒドラジン発色法)、血糖値(O-アミノピフェニール柴田法)、総コレステロー

ル値(酵素法)、トリグリセライド値(酵素法)、総蛋白値(屈折計法)、アルブミン値(BCG法)、A/G比(電気泳動法)、尿素窒素値(ジアセチルモノオキシム直接比色法)、クレアチニン値(Folin-wu法)、総ビリルビン値(Evelyn-Malloy法)、Na値・K値(炎光光度法)、Cl値(Schales-Schales法)、Ca値(O-cresolphthalein直接比色法)、P値(酵素法)について測定した。

なお血液は桡側皮静脈より採取し、プロトロンビン時間測定にはクエン酸ナトリウムにて抗凝固させたものを、この他の血液検査にはEDTA-2Kで抗凝固させた検体を用いた。また血液化学的検査には採血後30分放置・遠心分離して得られた血清を用いた。

- c. BSP, PSP検査：第一化学株式会社製BSP試薬およびPSP試薬を右側桡側皮静脈へそれぞれ15mg/kgおよび3mg/kg投与、30分後に左側桡側皮静脈よりヘパリン処理シリンジにより採血し遠心分離により得られた血漿を用いてPoutsiaaka-Keysser. Thomas法に従って測定した。

- d. 血圧検査：ELECTRO-SPHYGMOMANOMETE R (NARCO BIO-SYSTEMS. INC.)を用いて測定した。

- e. 心電図検査：標準肢誘導(I, II, III, aVR, aVL, aVF)により8chポリグラフ140SYSTEM(三栄測器)を用いて50mm/sec, 10mm/mvまたは5mm/mvで記録した。

- f. 眼検査：前眼部の異常を肉眼的に観察したのち、後眼部を眼底カメラRC-2型(コーワ)で観察、硫酸アトロピンで散瞳後眼底像を撮影した。さらに10分間暗順応させたのちコンタクトレンズ型電極を眼球に装着、40ジュールの光刺激を10cmの距離から与え、得られた網膜電図を網膜電位測定装置MES-3102(日本光電)を用いて記録した。

3) 病理形態学的検査

試験期間を終了した動物はベントバルビタール麻酔下で頸動脈を切断して放血致死させ病理解剖学的検査を実施した。さらに脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肺、肝、脾、膵、腎、副腎、精巣、前立腺、子宮および卵巣について秤量し、体重比重量を算出した。また重量測定臓器の他、膀胱、精巣上体、膈、骨髄(大腿骨)、筋肉(大腿筋)背部皮膚、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、坐骨神経、脊髄、腸間膜リンパ節、大動脈弓、胆嚢、唾液腺、乳腺(雌)、食道、顎下リンパ節、副甲状腺、涙腺およびその他の病変部は10%ホルマリンに固定、眼球については3%ホルマリンに固定し常法に従いパラフィン切片としヘマトキシリンエオジン染色を施して鏡検した。なお対照群と300mg/kg投与群では一部の例について肝および腎の電顕的検索も実施した。

4) 統計学的解析方法

成績の統計学的処理は以下の方法により実施した。

STUDENT'S t 検定：体重，尿定量試験，血液学的検査，血液化学的検査，血圧，臓器重量。

χ^2 検定：飼料摂取量，飲水量，尿定性試験，心電図検査，眼検査，剖検所見，病理組織所見。

II. 試験成績

1) 一般臨床所見

a. 症状：KBT-1585・75, 150, 300 mg/kg 投与群のいずれにも動物の死亡はみられなかった。

薬物投与群での主要な一般症状の変化としては流涎，嘔吐，下痢が観察された。

流涎は試験初期では投薬後に限って現われたが，以後は投薬のため運動場からケージに戻す操作に伴って条件反射的に現われるようになった。本所見は 300 mg/kg 投与群では全例にほぼ連日発現し，150 mg/kg 投与群では 6/12 例に散発的にみられたが，75 mg/kg 投与群には特

に観察されなかった。回復試験に入って流涎は休薬後 4～6 日まで観察されたが，以後消失した。

嘔吐は投薬後 15～60 分に現われその性状は検体の混入する白濁した泡沫状液であった。この嘔吐は約 180 日の投与期間中 75 mg/kg 投与群では 3/8 例（1～5 回/例）に観察されたにすぎなかったが投与量の増加に伴い嘔吐回数と発現動物数も増え，150 mg/kg 投与群では 6/12 例（1～9 回/例），300 mg/kg 投与群では 11/12 例（5～36 回/例）にわたって観察された。なおこの嘔吐は休薬後は現われなかった。

下痢は 75 mg/kg 投与群で 1/8 例，300 mg/kg 投与群で 6/12 例にみられ，特に 300 mg/kg 投与群の下痢の発現例数は対照群に比べ明らかに多かったが，その発現頻度は投与期間を通じすべて 2 回以内であった。

その他，血便・頭頂部脱毛が 75 mg/kg 投与群の 1 例に観察されたが，用量相関性のない低頻度の所見であり検体との関連性は窺われなかった。

Fig. 1 Body weight of male dogs given KBT-1585 orally for 6 months

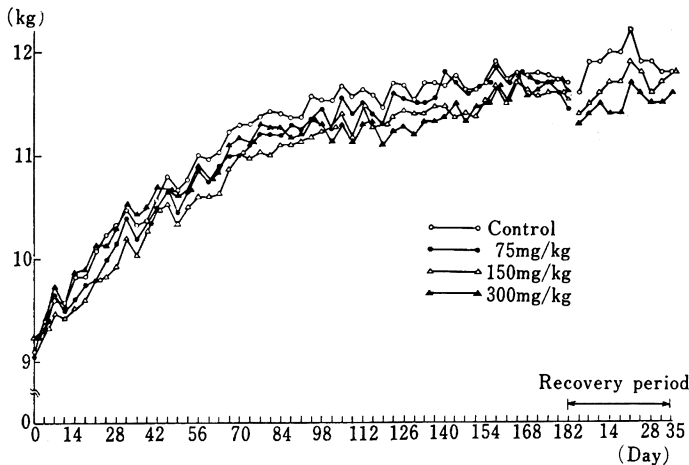
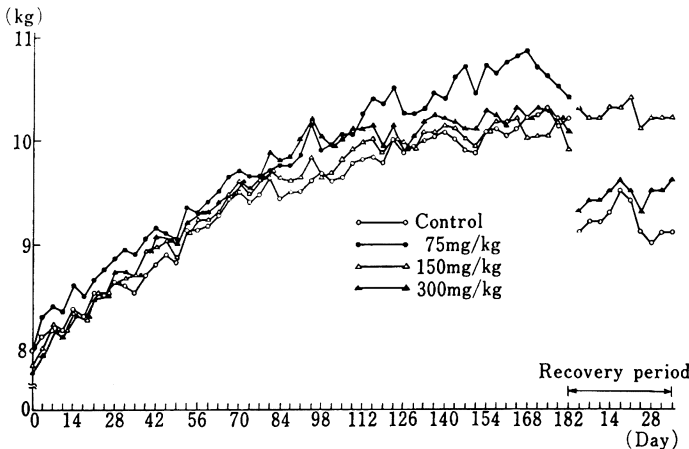


Fig. 2 Body weight of female dogs given KBT-1585 orally for 6 months



b. 体重：得られた成績を Fig. 1, 2 に示した。投与期間中、薬物投与群と対照群との間に有意な差はなかったが、雄の 150 mg/kg 投与群の投与開始後 35 日までの体重増加量は対照群に比べ有意に低く、雌の 300 mg/kg 投与群の投与開始後 91 日までの体重増加量は対照群に比べ有意な高値を示した。しかし他の投薬期間に有意な変化はなく、休薬による影響もみられなかった。

c. 飼料摂取量および飲水量：得られた成績を Fig. 3 ~ 6 に示した。投薬期間および休薬期間を通じ対照群との間に有意な差はみられなかった。

2) 臨床病理学的検査

a. 尿検査：各投与群と対照群の尿検査結果に有意な差はみられなかった。

b. 血液学的検査：得られた成績を Table 2 に示した。各投与群と対照群の検査結果との間に有意な差はみられなかった。

c. 血液化学的検査, BSP・PSP 検査：得られた成績を Table 3 に示した。雄では投与開始後 6 カ月目の検査

において 300 mg/kg 投与群の総蛋白値に有意な減少 ($P < 0.05$) がみられたが、休薬により正常に復した。一方、雌では投薬開始後 6 カ月目の検査において 300 mg/kg 投与群の LDH 活性値が対照群に比べ有意な減少 ($P < 0.05$) を示したが、投与前の検査値との間には差がなく休薬による変化もみられなかったことから薬剤とは関係のない偶発的な変化であるとみなされた。

d. 血圧：雄では投与開始後 3 カ月目の検査において 75 mg/kg 投与群の最高血圧に有意な減少 ($P < 0.01$) が認められたが用量相関性はなく投薬期間の延長によりこの所見が増強される傾向も見られなかった。

e. 心電図検査：洞房ブロック, 呼吸性不整脈, 右軸偏位, 左軸偏位が対照群を含めて散見されたが, dose-dependent または time-dependent な発現様式は認められなかった。

f. 眼検査：前眼部の検査では雄の 150 mg/kg 投与群の 1 カ月目, 3 カ月目および雌の 300 mg/kg 投与群の 3 カ月目の検査で各々 1 例に結膜の軽度な充血がみられ

Fig. 3 Food intake of male dogs given KBT-1585 orally for 6 months

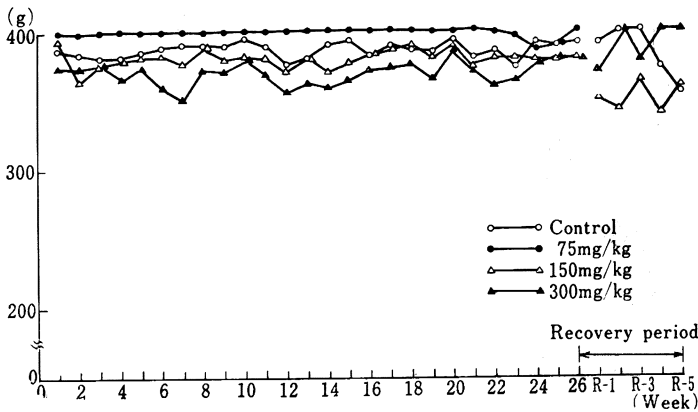


Fig. 4 Food intake of female dogs given KBT-1585 orally for 6 months

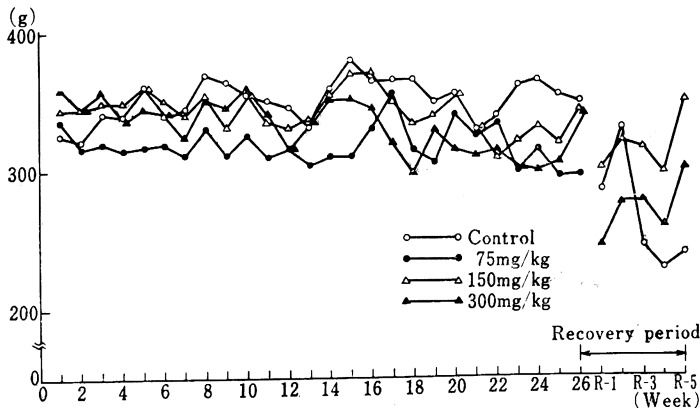


Table 2-1 Hematological values of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	RBC (10 ¹² /mm ³)				PCV (%)				Hb (g/dl)				Ret (%)							
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec
M	Control	626.8 ± 9.3	654.8 ± 9.9	670.5 ± 10.6	695.3 ± 9.6	727.5	42.7 ± 1.5	44.8 ± 0.7	46.0 ± 1.1	47.8 ± 1.2	49.0	14.18 ± 0.27	14.83 ± 0.33	15.35 ± 0.34	15.82 ± 0.45	16.30	2.88 ± 0.22	2.70 ± 0.45	2.25 ± 0.45	2.78 ± 0.36	3.85
		635.0 ± 13.7	661.0 ± 10.6	682.8 ± 6.7	693.8 ± 5.8		43.3 ± 2.1	45.3 ± 0.9	47.0 ± 1.3	47.3 ± 1.1		14.10 ± 0.56	14.98 ± 0.50	15.63 ± 0.51	15.68 ± 0.18		3.33 ± 0.90	2.38 ± 0.73	2.48 ± 0.48	2.70 ± 0.33	
		620.0 ± 13.9	652.7 ± 9.8	659.8 ± 8.9	671.5 ± 8.9	713.5	42.7 ± 1.3	44.8 ± 0.7	44.8 ± 0.8	46.0 ± 0.6	48.0	14.13 ± 0.30	14.77 ± 0.32	14.87 ± 0.24	15.20 ± 0.09	16.00	3.32 ± 0.57	2.83 ± 0.45	2.37 ± 0.59	2.70 ± 0.64	2.85
		629.7 ± 18.7	650.0 ± 14.8	660.5 ± 13.1	668.3 ± 12.1	682.0	42.3 ± 2.3	45.0 ± 0.9	45.0 ± 1.0	46.0 ± 1.1	46.5	14.08 ± 0.39	14.83 ± 0.33	14.98 ± 0.34	15.03 ± 0.35	15.70	2.78 ± 0.46	2.80 ± 0.39	2.32 ± 0.64	3.38 ± 0.66	3.75
F	Control	631.5 ± 21.2	660.2 ± 13.8	681.0 ± 14.9	695.5 ± 14.1	712.0	43.2 ± 1.5	45.3 ± 0.8	46.5 ± 0.9	48.2 ± 1.0	49.0	14.63 ± 0.41	15.08 ± 0.42	15.60 ± 0.44	15.97 ± 0.40	16.35	3.12 ± 0.36	2.28 ± 0.50	2.65 ± 0.67	2.58 ± 0.57	3.15
		652.3 ± 17.3	677.8 ± 22.7	696.5 ± 24.4	698.8 ± 18.4		44.5 ± 1.0	45.8 ± 0.6	47.8 ± 1.2	47.8 ± 0.9		15.00 ± 0.48	15.23 ± 0.29	16.03 ± 0.37	15.80 ± 0.46		2.88 ± 0.56	2.13 ± 0.76	1.88 ± 0.53	3.83 ± 0.34	
		621.8 ± 9.7	666.5 ± 9.0	686.3 ± 6.6	694.0 ± 7.9	736.0	43.2 ± 0.7	45.2 ± 0.6	47.2 ± 0.8	48.0 ± 0.7	50.5	14.52 ± 0.26	15.12 ± 0.24	15.77 ± 0.31	15.93 ± 0.39	16.80	2.67 ± 0.43	2.30 ± 0.50	2.35 ± 0.46	2.63 ± 0.58	2.35
		633.5 ± 5.3	659.3 ± 9.1	674.0 ± 6.0	657.0 ± 10.7	683.5	43.8 ± 0.2	44.8 ± 0.8	46.0 ± 0.8	45.5 ± 1.2	46.5	14.47 ± 0.16	15.13 ± 0.36	15.48 ± 0.35	14.98 ± 0.32	15.55	3.28 ± 0.56	2.52 ± 0.52	1.98 ± 0.38	3.32 ± 0.52	3.20

Mean ± S.E.

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)

Recovery period n=2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=0 (75mg/kg)

No significantly different from control

Table 2-2. Hematological values of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	Plat ($10^4/mm^3$)				Prothrombin time (sec)				WBC ($10^5/mm^3$)						
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec
M	Control	33.0 ±2.5	33.3 ±1.3	30.7 ±1.5	31.2 ±1.5	33.0	7.02 ±0.12	7.03 ±0.11	7.15 ±0.11	6.95 ±0.18	7.05	111.8 ±3.1	120.2 ±7.2	118.2 ±2.8	113.3 ±6.6	109.0
		36.3 ±2.3	36.3 ±2.3	32.3 ±0.9	36.3 ±3.4		6.98 ±0.15	7.05 ±0.17	6.90 ±0.13	6.95 ±0.06		125.0 ±8.7	111.0 ±5.6	114.3 ±5.1	110.8 ±9.7	
	150	30.5 ±2.1	31.3 ±2.3	29.3 ±1.1	30.3 ±1.6	29.0	6.80 ±0.14	6.90 ±0.09	7.05 ±0.14	6.95 ±0.11	6.90	116.5 ±10.7	100.5 ±6.7	110.2 ±6.7	103.8 ±8.0	97.5
	300	31.3 ±2.1	34.5 ±1.9	31.2 ±1.4	33.2 ±2.6	31.5	7.00 ±0.13	6.95 ±0.10	7.35 ±0.19	7.15 ±0.10	7.05	107.7 ±11.3	120.7 ±8.4	105.7 ±7.8	111.8 ±10.8	99.5
F	Control	34.7 ±1.2	31.8 ±1.9	32.7 ±2.8	35.0 ±1.8	33.0	6.98 ±0.15	6.95 ±0.12	7.10 ±0.17	7.12 ±0.19	7.20	106.2 ±6.3	107.3 ±4.6	117.8 ±4.9	105.5 ±5.9	113.0
		30.5 ±2.3	31.8 ±3.4	31.3 ±4.8	36.3 ±5.1		6.90 ±0.13	6.85 ±0.10	7.13 ±0.09	7.13 ±0.14		100.0 ±15.1	109.3 ±13.9	128.8 ±9.7	101.0 ±10.9	
	150	34.7 ±1.5	31.3 ±1.9	31.7 ±2.0	32.5 ±2.1	33.5	6.88 ±0.11	7.10 ±0.05	7.03 ±0.19	7.22 ±0.05	7.30	96.3 ±10.0	97.2 ±10.2	104.8 ±9.9	100.7 ±6.1	104.5
	300	31.8 ±2.0	30.8 ±1.6	31.5 ±2.2	35.8 ±2.3	32.5	7.05 ±0.14	6.97 ±0.11	7.30 ±0.15	6.95 ±0.14	6.95	118.7 ±7.7	110.3 ±7.2	118.3 ±6.5	122.8 ±11.7	128.5

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)
 Recovery period n=2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=0 (75mg/kg)
 No significantly different from control

Mean
±S.E.

Table 2-3 Hematological values of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	MCH (pg)					MCV (μm^3)					MCHC (%)				
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec
M	Control	22.60 ± 0.21	22.63 ± 0.23	22.88 ± 0.25	22.73 ± 0.35	22.40	67.97 ± 1.45	68.47 ± 0.43	68.58 ± 0.66	68.75 ± 0.93	67.35	33.35 ± 0.63	33.07 ± 0.38	33.38 ± 0.34	33.05 ± 0.32	33.25
		22.18 ± 0.59	22.65 ± 0.46	22.88 ± 0.69	22.63 ± 0.15		68.00 ± 2.01	68.45 ± 0.68	68.88 ± 2.03	68.08 ± 1.09		32.65 ± 0.68	33.10 ± 0.67	33.25 ± 0.61	33.20 ± 0.44	
	150	22.80 ± 0.31	22.63 ± 0.33	22.55 ± 0.43	22.65 ± 0.26	22.40	68.77 ± 0.72	68.68 ± 0.37	67.95 ± 0.96	68.53 ± 0.95	67.30	33.22 ± 0.62	32.92 ± 0.36	33.17 ± 0.34	33.07 ± 0.35	33.35
	300	22.38 ± 0.37	22.85 ± 0.24	22.68 ± 0.39	22.52 ± 0.39	23.05	67.03 ± 1.88	69.28 ± 0.67	68.13 ± 0.72	68.80 ± 0.49	68.20	33.52 ± 1.04	32.97 ± 0.24	33.32 ± 0.38	32.72 ± 0.58	33.80
F	Control	23.18 ± 0.35	22.85 ± 0.33	22.88 ± 0.26	22.95 ± 0.29	27.50	68.35 ± 0.63	68.70 ± 0.54	68.32 ± 0.51	69.27 ± 0.73	68.75	33.98 ± 0.72	33.25 ± 0.37	33.52 ± 0.35	33.17 ± 0.47	33.40
		23.00 ± 0.20	22.50 ± 0.60	23.05 ± 0.49	22.65 ± 0.60		68.30 ± 0.95	67.63 ± 1.46	68.65 ± 0.86	68.40 ± 0.78		33.68 ± 0.49	33.28 ± 0.37	33.55 ± 0.36	33.08 ± 0.70	
	150	23.33 ± 0.14	22.68 ± 0.12	22.97 ± 0.26	22.95 ± 0.33	22.85	69.42 ± 0.52	67.77 ± 0.35	68.72 ± 1.06	69.15 ± 0.46	68.60	33.63 ± 0.36	33.45 ± 0.22	33.43 ± 0.63	33.18 ± 0.43	33.25
	300	22.85 ± 0.29	22.95 ± 0.25	22.95 ± 0.36	22.82 ± 0.33	22.75	69.22 ± 0.37	67.98 ± 0.36	68.25 ± 0.86	69.22 ± 1.07	68.00	32.98 ± 0.38	33.75 ± 0.37	33.63 ± 0.31	32.97 ± 0.34	33.45

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)
 Recovery period n=2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=0 (75mg/kg)
 No significantly different from control

Mean
 \pm S.E.

Table 2-4 Hematological values of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	Differential leukocyte count (%)																								Mean ± S.E.					
		Pre						1M						3M						6M							Rec				
		LYMP.	EOS.	MON.	BAS.	STB.	SEG.	LYMP.	EOS.	MON.	BAS.	STB.	SEG.	LYMP.	EOS.	MON.	BAS.	STB.	SEG.	LYMP.	EOS.	MON.	BAS.	STB.	SEG.		LYMP.	EOS.	MON.	BAS.	STB.
M	Control	24.8	2.0	3.5	0	0.5	69.2	28.8	3.5	2.5	0	0.2	65.0	29.0	3.8	2.0	0	0.2	65.0	26.3	4.5	2.5	0	0.3	66.3	30.0	2.5	1.5	0	0.5	65.5
		±2.4	±0.5	±1.2		±0.2	±2.6	±3.4	±0.7	±0.5		±0.2	±3.5	±2.0	±0.6	±0.3		±0.2	±1.7	±2.9	±1.1	±0.6		±0.2	±3.1						
		23.8	3.0	5.3	0	0.3	67.8	31.0	5.0	2.5	0	0.0	61.5	29.8	4.5	1.8	0	0.3	63.8	30.0	4.8	2.8	0	0.0	62.5						
		±3.4	±0.9	±1.8		±0.3	±2.5	±2.7	±0.7	±0.6		±0.0	±2.5	±4.4	±1.2	±0.3		±0.3	±4.2	±4.5	±1.2	±1.1		±0.0	±4.0						
M	75	22.8	1.8	4.5	0	1.0	69.8	28.3	3.2	2.3	0	0.2	66.0	25.8	4.2	2.0	0	0.2	67.8	30.0	4.8	2.5	0	0.0	62.7	27.5	3.0	2.5	0	0	67.0
		±4.2	±0.7	±1.0		±0.7	±4.3	±2.2	±0.9	±0.2		±0.2	±2.3	±1.6	±0.8	±0.4		±0.2	±1.4	±1.5	±1.0	±0.8		±0.0	±1.7						
		24.8	3.5	3.3	0	0.2	68.2	26.2	2.5	2.7	0	0.2	68.5	25.3	4.3	2.3	0	0.2	67.8	27.0	5.3	2.8	0	0.3	64.5	26.5	3.5	2.5	0	0	67.5
		±1.1	±1.1	±0.6		±0.2	±2.0	±3.7	±0.3	±0.3		±0.2	±3.5	±2.0	±0.6	±0.4		±0.2	±1.7	±3.2	±1.0	±0.5		±0.2	±2.6						
F	Control	23.5	3.5	4.0	0	0.5	68.5	29.8	4.0	2.3	0	0.2	63.7	30.7	4.5	2.0	0	0.2	62.7	32.3	4.7	3.2	0	0.2	59.7	35.0	5.0	2.0	0	0.5	57.5
		±2.9	±1.0	±0.7		±0.3	±3.3	±3.6	±1.1	±0.3		±0.2	±3.8	±1.8	±0.6	±0.3		±0.2	±1.8	±2.3	±0.8	±0.8		±0.2	±2.5						
		25.3	2.5	4.5	0	0.5	67.3	29.0	3.0	2.5	0.3	0.3	65.0	27.3	3.0	2.0	0	0.3	67.5	29.5	5.0	3.0	0	0.3	62.3						
		±4.3	±0.6	±0.6		±0.3	±3.7	±0.6	±0.7	±0.9	±0.3	±0.3	±1.1	±1.5	±0.7	±0.0		±0.3	±1.6	±5.2	±1.5	±0.7		±0.3	±4.2						
F	75	29.5	3.2	3.8	0	0.8	62.7	33.0	3.0	2.5	0	0.2	61.3	31.5	5.2	2.2	0	0.3	60.8	32.5	5.7	2.7	0	0.0	59.2	29.0	5.0	2.5	0	0	63.5
		±4.8	±0.9	±0.6		±0.2	±4.8	±4.5	±0.6	±0.6		±0.2	±5.0	±2.6	±0.5	±0.3		±0.2	±2.7	±1.8	±0.9	±0.2		±0.0	±2.1						
		23.7	4.0	4.5	0	0.8	67.0	32.7	3.3	2.3	0	0.0	61.7	29.8	3.8	2.3	0	0.0	64.0	30.0	4.8	2.8	0	0.3	62.0	28.0	4.5	1.0	0.5	0.5	65.5
		±5.0	±1.2	±1.2		±0.5	±4.8	±3.2	±0.8	±0.4		±0.0	±2.8	±2.4	±0.7	±0.4		±0.0	±3.1	±1.3	±1.0	±0.7		±0.2	±1.5						

Treatment period n = 6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n = 4 (75mg/kg)
 Recovery period n = 2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n = 0 (75mg/kg)
 No significantly different from control

Table 3-1 Biochemical findings in the serum of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	GOT (Karmen-Unit)					GPT (Karmen-Unit)					LDH (Wt-Unit)					ALP (K.A-Unit)				
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec
M	Control	32.0 ±1.9	34.0 ±3.2	32.5 ±1.9	33.7 ±1.7	33.0	29.0 ±1.7	29.2 ±2.3	29.2 ±2.1	30.8 ±2.1	32.0	241.7 ±27.7	225.0 ±12.8	230.0 ± 5.6	257.5 ±15.7	255.0	11.57 ±1.05	11.05 ±1.11	11.08 ±1.31	11.22 ±1.51	11.20
		31.8 ±0.8	31.5 ±1.2	30.5 ±1.7	34.0 ±4.0		31.3 ±1.1	28.0 ±2.0	32.0 ±0.7	34.0 ±3.5		253.8 ±23.0	215.0 ± 7.9	223.8 ± 2.4	242.5 ± 6.3		10.25 ±0.89	9.93 ±0.75	8.80 ±0.93	8.43 ±1.33	
	150	33.0 ±2.3	33.5 ±1.9	33.2 ±1.6	34.2 ±2.6	33.5	30.5 ±0.8	30.0 ±1.5	32.3 ±1.5	29.7 ±1.4	32.5	231.7 ±18.1	201.7 ± 2.8	238.3 ± 4.2	220.8 ± 7.9	237.5	11.82 ±0.71	12.28 ±0.81	11.98 ±0.75	11.05 ±0.49	9.55
	300	32.5 ±2.2	33.0 ±1.8	31.2 ±1.6	33.8 ±1.9	37.0	32.5 ±3.7	30.3 ±2.1	27.7 ±1.3	33.2 ±2.1	32.5	251.7 ±14.0	210.8 ±10.9	225.0 ±10.3	230.8 ± 7.9	225.0	12.75 ±1.61	11.68 ±1.00	11.20 ±1.51	11.27 ±1.73	13.30
F	Control	33.2 ±0.3	34.3 ±1.9	35.0 ±2.4	33.8 ±2.4	32.5	29.7 ±1.5	30.0 ±1.9	31.0 ±1.2	32.5 ±1.1	29.5	245.0 ±19.8	218.3 ±11.9	255.0 ±20.6	260.8 ± 7.2	252.5	12.48 ±1.34	11.58 ±1.18	11.37 ±0.85	11.20 ±0.79	8.70
		36.0 ±2.9	32.3 ±1.8	32.0 ±1.7	35.5 ±1.3		29.0 ±2.1	30.0 ±1.2	29.8 ±0.8	31.8 ±1.4		285.0 ±51.1	227.5 ±28.9	282.5 ±42.9	251.3 ± 8.5		12.93 ±0.80	11.80 ±1.01	11.25 ±1.68	10.05 ±0.87	
	150	34.0 ±1.4	32.3 ±1.8	34.2 ±2.5	37.0 ±3.2	32.5	30.2 ±1.5	28.7 ±2.0	31.3 ±1.5	30.7 ±1.0	33.0	294.2 ±28.4	210.0 ± 7.7	230.0 ± 9.8	241.7 ± 6.3	210.0	13.97 ±1.39	14.00 ±1.84	15.43 ±2.79	15.22 ±2.47	18.80
	300	31.8 ±1.0	31.7 ±0.6	32.5 ±1.1	37.8 ±2.9	31.0	28.7 ±1.2	28.7 ±1.4	28.7 ±1.3	29.0 ±0.6	31.0	228.3 ±29.3	201.7 ± 9.9	220.8 ±12.9	227.5* ± 9.8	212.5	11.63 ±0.44	11.22 ±0.73	10.90 ±0.78	11.07 ±0.93	10.05

Treatment period n = 6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n = 4 (75mg/kg)
 Recovery period n = 2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n = 0 (75mg/kg)
 Significantly different from control; *P<0.05

Mean
±S.E.

Table 3-2 Biochemical findings in the serum of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	Bilirubin (mg/dl)				Total Protein (g/dl)				Albumin (g/dl)				A/G (ratio)							
		Pre	1 M	3 M	6 M	Rec	Pre	1 M	3 M	6 M	Rec	Pre	1 M	3 M	6 M	Rec					
M	Control	0.24 ±0.03	0.25 ±0.03	0.26 ±0.04	0.26 ±0.02	0.23	5.70 ±0.09	5.72 ±0.09	5.67 ±0.07	5.67 ±0.07	5.80	3.25 ±0.04	3.30 ±0.04	3.32 ±0.03	3.37 ±0.10	3.45	1.35 ±0.04	1.40 ±0.03	1.48 ±0.04	1.52 ±0.09	1.32
		0.25 ±0.06	0.25 ±0.02	0.21 ±0.03	0.25 ±0.02		5.70 ±0.19	5.75 ±0.10	5.60 ±0.08	5.55 ±0.10		3.18 ±0.09	3.35 ±0.06	3.38 ±0.03	3.35 ±0.03		1.28 ±0.07	1.40 ±0.01	1.55 ±0.05	1.65 ±0.22	
		0.24 ±0.04	0.23 ±0.04	0.24 ±0.03	0.24 ±0.01	0.23	5.60 ±0.09	5.68 ±0.07	5.53 ±0.04	5.50 ±0.04	5.80	3.30 ±0.07	3.40 ±0.04	3.35 ±0.03	3.33 ±0.09	3.45	1.44 ±0.05	1.39 ±0.01	1.65 ±0.08	1.49 ±0.11	1.52
		0.25 ±0.05	0.23 ±0.02	0.23 ±0.04	0.25 ±0.02	0.25	5.73 ±0.11	5.73 ±0.10	5.50 ±0.13	5.27 ±0.12	5.70	3.35 ±0.07	3.45 ±0.08	3.38 ±0.04	3.23 ±0.14	3.45	1.40 ±0.09	1.42 ±0.02	1.57 ±0.05	1.60 ±0.09	1.61
F	Control	0.26 ±0.02	0.23 ±0.02	0.25 ±0.04	0.26 ±0.02	0.25	5.67 ±0.11	5.68 ±0.12	5.67 ±0.17	5.67 ±0.10	5.70	3.48 ±0.06	3.35 ±0.05	3.37 ±0.06	3.48 ±0.03	3.50	1.53 ±0.07	1.41 ±0.01	1.50 ±0.11	1.70 ±0.06	1.74
		0.23 ±0.02	0.28 ±0.05	0.22 ±0.02	0.24 ±0.02		5.65 ±0.15	5.73 ±0.06	5.60 ±0.00	5.60 ±0.04		3.53 ±0.06	3.35 ±0.10	3.43 ±0.03	3.48 ±0.06		1.46 ±0.07	1.42 ±0.01	1.47 ±0.06	1.86 ±0.05	
		0.23 ±0.02	0.27 ±0.04	0.26 ±0.04	0.28 ±0.02	0.28	5.73 ±0.14	5.73 ±0.08	5.57 ±0.06	5.45 ±0.09	5.70	3.43 ±0.03	3.40 ±0.07	3.50 ±0.04	3.40 ±0.09	3.65	1.38 ±0.08	1.40 ±0.02	1.48 ±0.03	1.52 ±0.11	1.74
		0.25 ±0.03	0.26 ±0.02	0.27 ±0.09	0.24 ±0.02	0.20	5.70 ±0.12	5.68 ±0.11	5.57 ±0.14	5.43 ±0.05	5.75	3.38 ±0.05	3.38 ±0.08	3.48 ±0.04	3.43 ±0.06	3.60	1.39 ±0.04	1.40 ±0.01	1.47 ±0.07	1.84 ±0.16	1.74

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)

Recovery period n=2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=0 (75mg/kg)

Significantly different from control; * P<0.05

Mean
±S.E.

Table 3-3 Biochemical findings in the serum of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	Triglyceride (mg/dl)				Cholesterol (mg/dl)				Glucose (mg/dl)				BSP (μmol/ml/min)							
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec					
M	Control	43.18 ±2.57	40.53 ±1.60	40.48 ±4.18	43.22 ±7.52	44.05	137.02 ±7.36	134.62 ±3.38	129.32 ±4.94	137.68 ±4.81	128.70	90.20 ±3.26	92.08 ±2.21	92.28 ±2.54	90.58 ±3.31	93.10	1.17 ±0.08	1.17 ±0.07	1.03 ±0.06	1.10 ±0.07	1.16
		37.03 ±2.90	37.83 ±5.74	40.83 ±4.75	38.50 ±6.83		127.28 ±6.55	143.40 ±10.71	134.05 ±19.77	132.35 ±15.10		95.35 ±2.91	92.03 ±0.66	93.58 ±4.21	92.13 ±3.08		1.09 ±0.05	1.17 ±0.05	1.10 ±0.12	1.33 ±0.21	
	150	44.05 ±3.67	46.13 ±6.12	47.68 ±4.85	49.22 ±9.67	44.60	154.88 ±12.34	150.90 ±11.72	146.83 ±10.07	146.68 ±14.12	115.35	91.50 ±3.09	92.88 ±2.91	94.77 ±2.23	90.15 ±3.40	93.60	1.13 ±0.10	1.29 ±0.15	1.15 ±0.07	1.06 ±0.06	0.93
	300	41.42 ±4.26	43.75 ±6.30	48.92 ±9.41	37.77 ±4.55	31.80	130.17 ±8.25	121.43 ±7.57	121.98 ±5.25	132.83 ±5.58	122.80	91.33 ±3.03	89.90 ±2.07	94.23 ±2.17	91.25 ±1.66	95.90	1.16 ±0.09	1.35 ±0.13	1.16 ±0.11	1.15 ±0.07	0.84
F	Control	41.63 ±4.12	42.02 ±4.74	46.63 ±2.24	50.42 ±4.11	47.40	139.80 ±8.39	133.73 ±9.28	150.23 ±11.75	147.55 ±10.26	143.10	95.43 ±2.72	92.88 ±1.71	92.42 ±2.04	94.20 ±3.63	96.35	1.11 ±0.05	1.20 ±0.13	1.16 ±0.14	1.13 ±0.07	1.09
		44.93 ±3.70	53.35 ±7.82	51.88 ±6.26	42.63 ±6.90		146.40 ±22.13	146.23 ±14.73	150.50 ±20.54	150.18 ±12.14		90.48 ±2.45	89.75 ±3.37	86.38 ±4.14	87.68 ±2.00		1.12 ±0.16	1.25 ±0.07	1.18 ±0.13	1.10 ±0.09	
	150	40.73 ±2.03	43.97 ±4.82	44.30 ±5.01	51.18 ±4.92	41.85	127.05 ±5.64	132.88 ±7.40	134.17 ±7.62	128.87 ±4.71	127.10	94.60 ±2.26	92.37 ±2.21	94.47 ±1.47	91.50 ±3.89	94.50	1.24 ±0.13	1.23 ±0.14	1.18 ±0.08	1.14 ±0.05	0.97
	300	44.05 ±3.88	41.15 ±3.46	58.45 ±11.34	51.38 ±8.47	45.70	139.57 ±13.27	130.12 ±10.28	160.72 ±22.05	143.78 ±13.18	140.95	90.85 ±1.52	89.62 ±2.83	87.60 ±1.62	86.68 ±1.55	93.60	1.14 ±0.07	1.22 ±0.10	1.16 ±0.21	1.07 ±0.07	1.13

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)
 Recovery period n=2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=0 (75mg/kg)
 No significantly different from control

Mean ±S.E.

Table 3-4 Biochemical findings in the serum of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	Urea Nitrogen (mg/dl)					Creatinine (mg/dl)					PSP (μ mol/ml/min)					Na (mEq/l)					
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	
M	Control	17.17 ± 0.77	17.03 ± 1.08	16.67 ± 1.19	17.02 ± 1.21	17.45	0.89 ± 0.04	0.90 ± 0.02	0.92 ± 0.03	0.90 ± 0.05	0.89	1.82 ± 0.25	1.59 ± 0.15	1.70 ± 0.14	1.84 ± 0.14	1.37	145.8 ± 1.2	143.8 ± 1.0	144.8 ± 0.3	144.8 ± 0.5	144.8 ± 0.5	147.0
	75	17.30 ± 2.95	16.85 ± 0.82	18.65 ± 0.37	17.38 ± 0.70		0.95 ± 0.04	0.93 ± 0.01	0.95 ± 0.02	0.91 ± 0.04		1.61 ± 0.26	1.45 ± 0.18	1.57 ± 0.19	1.73 ± 0.22		144.3 ± 1.5	141.3 ± 1.1	145.3 ± 0.5	144.5 ± 0.5	144.5 ± 0.5	
	150	17.58 ± 1.49	18.88 ± 1.09	18.90 ± 1.14	17.48 ± 1.60	16.45	0.90 ± 0.04	0.89 ± 0.02	0.89 ± 0.03	0.87 ± 0.04	0.87	1.70 ± 0.20	1.53 ± 0.08	1.65 ± 0.13	1.64 ± 0.13	1.36	144.3 ± 1.2	145.0 ± 0.7	145.3 ± 0.6	144.3 ± 0.8	148.0	
	300	15.92 ± 1.15	18.52 ± 0.79	17.70 ± 0.72	15.75 ± 0.98	17.00	0.88 ± 0.02	0.92 ± 0.02	0.89 ± 0.03	0.90 ± 0.03	0.91	1.66 ± 0.25	1.51 ± 0.12	1.50 ± 0.18	1.66 ± 0.10	1.33	144.8 ± 0.4	144.8 ± 1.1	144.7 ± 0.9	145.0 ± 0.6	147.0	
F	Control	17.53 ± 1.01	17.98 ± 1.29	18.68 ± 1.03	19.28 ± 1.11	19.95	0.91 ± 0.03	0.94 ± 0.02	0.94 ± 0.02	0.96 ± 0.03	0.98	1.69 ± 0.19	1.63 ± 0.14	1.64 ± 0.07	1.72 ± 0.11	1.80	147.5 ± 0.8	143.7 ± 0.8	144.8 ± 1.3	144.3 ± 0.7	147.0	
	75	16.00 ± 0.80	17.78 ± 1.02	18.55 ± 1.22	17.78 ± 0.71		0.91 ± 0.05	0.89 ± 0.02	0.87 ± 0.06	0.92 ± 0.03		1.66 ± 0.25	1.82 ± 0.10	1.87 ± 0.21	1.65 ± 0.19		150.5 ± 1.8	144.0 ± 0.9	146.0 ± 0.8	144.8 ± 0.8	146.5	
	150	17.97 ± 2.87	19.28 ± 1.07	10.07 ± 1.76	19.73 ± 1.73	20.45	0.98 ± 0.04	0.92 ± 0.02	0.97 ± 0.03	1.00 ± 0.03	0.98	1.77 ± 0.22	1.56 ± 0.11	1.82 ± 0.11	1.80 ± 0.09	1.71	146.5 ± 1.4	145.2 ± 0.9	146.8 ± 0.7	145.8 ± 0.7	146.5	
	300	15.92 ± 0.79	19.93 ± 0.90	17.50 ± 0.98	18.88 ± 0.83	18.05	0.94 ± 0.02	0.90 ± 0.03	0.89 ± 0.03	0.95 ± 0.04	0.86	1.79 ± 0.14	1.56 ± 0.12	1.66 ± 0.11	1.69 ± 0.06	1.62	145.7 ± 1.7	144.0 ± 0.8	146.8 ± 0.7	146.3 ± 0.6	145.5	

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)

Recovery period n=2 (Control, 150mg, 300mg/kg.) n=0 (75mg/kg)

No significantly different from control

Mean
 \pm S.E.

Table 3-5 Biochemical findings in the serum of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Dose (mg/kg)	K (mEq/l)					Cl (mEq/l)					Ca (mg/dl)					P (mg/dl)				
		Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec	Pre	1M	3M	6M	Rec
M	Control	4.62 ±0.12	4.45 ±0.09	4.55 ±0.07	4.45 ±0.11	4.70	104.7 ±2.6	106.5 ±1.2	104.3 ±1.1	105.3 ±0.9	106.0	10.68 ±0.22	10.08 ±0.31	10.33 ±0.13	10.20 ±0.26	10.05	5.67 ±0.21	5.70 ±0.22	5.53 ±0.16	5.28 ±0.19	4.95
		4.65 ±0.09	4.20 ±0.04	4.63 ±0.13	4.38 ±0.13	4.38	104.3 ±2.9	105.8 ±1.5	107.0 ±0.4	105.5 ±0.3	105.5	10.33 ±0.26	10.15 ±0.27	10.18 ±0.13	10.30 ±0.17	10.15	5.93 ±0.18	5.73 ±0.19	5.95 ±0.24	5.45 ±0.17	5.05
		4.40 ±0.11	4.40 ±0.08	4.45 ±0.09	4.17 ±0.15	4.20	106.3 ±1.4	107.2 ±1.2	103.0 ±0.9	104.7 ±0.6	105.0	10.45 ±0.19	9.97 ±0.17	10.63 ±0.13	10.53 ±0.15	10.15	5.22 ±0.10	5.97 ±0.20	5.42 ±0.21	4.98 ±0.13	5.60
		4.72 ±0.15	4.52 ±0.07	4.38 ±0.07	4.23 ±0.09	4.45	106.0 ±1.4	106.5 ±1.4	104.3 ±1.1	104.5 ±0.6	105.5	10.60 ±0.19	10.33 ±0.21	10.60 ±0.18	10.70 ±0.34	10.05	5.85 ±0.23	5.98 ±0.28	5.25 ±0.16	5.27 ±0.26	4.60
F	Control	4.55 ±0.17	4.45 ±0.08	4.62 ±0.15	4.57 ±0.08	4.50	105.8 ±2.1	106.7 ±1.0	104.0 ±1.2	106.3 ±1.1	107.0	10.47 ±0.24	10.12 ±0.17	10.50 ±0.10	10.30 ±0.25	10.10	5.77 ±0.13	5.62 ±0.22	5.18 ±0.19	5.33 ±0.15	5.60
		4.50 ±0.09	4.50 ±0.14	4.45 ±0.17	4.28 ±0.14	4.28	104.8 ±2.4	107.5 ±1.6	103.5 ±0.3	107.3 ±0.5	107.0	10.75 ±0.13	10.38 ±0.39	10.63 ±0.15	10.28 ±0.14	10.10	5.55 ±0.25	5.15 ±0.10	5.20 ±0.18	5.40 ±0.38	5.40
		4.50 ±0.07	4.53 ±0.09	4.55 ±0.20	4.43 ±0.09	4.30	105.5 ±1.7	106.5 ±1.7	104.5 ±0.8	105.2 ±0.6	103.5	10.62 ±0.30	10.70 ±0.32	10.65 ±0.09	10.18 ±0.11	10.25	5.77 ±0.19	5.67 ±0.24	5.48 ±0.27	5.60 ±0.31	5.40
		4.57 ±0.12	4.23 ±0.08	4.27 ±0.10	4.33 ±0.12	4.30	105.5 ±2.1	106.0 ±1.2	103.3 ±0.7	107.0 ±0.9	104.5	10.33 ±0.09	10.52 ±0.19	10.72 ±0.12	10.25 ±0.19	10.00	5.75 ±0.13	5.97 ±0.37	5.28 ±0.23	5.60 ±0.26	5.05

Treatment period n=6 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=4 (75mg/kg)
 Recovery period n=2 (Control, 150mg/kg, 300mg/kg) n=0 (75mg/kg)
 No significantly different from control

Mean
±S.E.

Table 4-1 Final body weights and organ weights of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs	B.W. (kg)	Brain (g)	HP. (mg)	Thyroid (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Kidney (g)		Adrenal (g)		Testis (g)		Prostate (g)																			
														Right	Left	Right	Left	Right	Left																				
M	Control	0	4	11.70 ±0.65	85.60 ±2.73	90.5 ±18.9	1.32 ±0.15	6.43 ±0.55	92.72 ±5.03	101.09 ±3.48	359.0 ±23.1	29.72 ±1.86	24.71 ±1.47	29.94 ±2.12	29.84 ±2.54	0.58 ±0.04	0.63 ±0.05	7.33 ±0.60	6.98 ±0.80	11.86 ±1.92																			
																					KBT-1585	75	4	11.45 ±0.72	78.74 ±2.19	76.3 ±6.3	4.25 ±0.71	97.68 ±8.03	97.24 ±6.71	389.0 ±23.4	28.72 ±2.35	31.28 ±3.17	31.41 ±2.04	32.12 ±1.77	0.61 ±0.05	0.60 ±0.03	9.32 ±0.71	9.47 ±0.64	11.70 ±2.31
300	4	11.75 ±0.68	82.48 ±1.54	88.3 ±6.3	1.05 ±0.09	6.53 ±1.64	100.20 ±7.56	94.19 ±5.21	383.5 ±18.6	33.22 ±3.23	27.80 ±1.34	33.83 ±4.54	34.92 ±3.80	0.69 ±0.02	0.70 ±0.04	8.41 ±0.28	9.03 ±0.51	9.87 ±1.20																					
																			Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs		(g%)	(mg%)	(mg%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(mg%)	(mg%)	(g%)	(g%)	(mg%)	(mg%)
M	Control	0	4		0.74 ±0.06	0.79 ±0.18	11.27 ±1.13	54.87 ±2.83	0.79 ±0.01	0.87 ±0.03	3.07 ±0.06	0.26 ±0.03	0.22 ±0.01	0.26 ±0.01	0.25 ±0.01	5.03 ±0.60	5.42 ±0.53	0.06 ±0.005	0.06 ±0.01	102.31 ±18.30																			
																					KBT-1585	75	4		0.69 ±0.03	0.68 ±0.08	6.54** ±0.43	37.07* ±5.87	0.85 ±0.04	0.86 ±0.07	3.42 ±0.23	0.25 ±0.005	0.27 ±0.02	0.28 ±0.01	5.28 ±0.22	5.24 ±0.23	0.08 ±0.003	0.09 ±0.003	101.99 ±18.11
300	4		0.71 ±0.05	0.75 ±0.02	9.02 ±1.02	55.34 ±14.09	0.85 ±0.02	0.80 ±0.04	3.27 ±0.07	0.28 ±0.01	0.24 ±0.01	0.30 ±0.05	0.31 ±0.05	5.96 ±0.50	5.98 ±0.50	0.07 ±0.003	0.08 ±0.01	84.09 ±9.28																					

* P<0.05, **P<0.01

B.W.: Body weight, HP.: Hypophysis

Mean
±S.E.

Table 4-2 Final body weights and organ weights of dogs given KBT-1585 orally for 6 months

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs	B.W. (kg)	Brain (g)	HP. (mg)	Thyroid (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Kidney (g)		Adrenal (g)		Ovary (g)		Uterus (g)
														Right	Left	Right	Left	Right	Left	
F	Control	0	4	10.60 ±0.56	74.94 ±1.67	71.0 ±2.9	0.78 ±0.04	3.58 ±0.50	92.57 ±3.36	94.21 ±1.39	372.5 ±27.3	28.97 ±0.51	28.13 ±1.32	26.36 ±1.18	27.10 ±1.31	0.67 ±0.08	0.64 ±0.05	0.87 ±0.22	0.67 ±0.08	8.11 ±4.27
	150	4	9.75 ±0.62	76.09 ±2.55	76.0 ±8.0	0.72 ±0.09	4.61 ±0.76	77.29 ±8.62	95.15 ±34.6	330.5 ±34.6	27.16 ±3.47	23.13 ±2.34	22.10 ±1.71	23.07 ±1.84	0.56 ±0.05	0.60 ±0.10	0.77 ±0.37	0.57 ±0.17	6.20 ±3.28	
																				300
Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs		(g%)	(mg%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(g%)		
F	Control	0	4		0.71 ±0.03	0.67 ±0.02	7.47 ±0.72	34.22 ±5.58	0.88 ±0.07	0.90 ±0.04	3.51 ±0.16	0.28 ±0.02	0.27 ±0.02	0.25 ±0.01	0.26 ±0.01	6.35 ±0.83	6.07 ±0.54	8.25 ±2.11	6.29 ±0.64	0.08 ±0.04
	150	4		0.79 ±0.04	0.78 ±0.05	7.40 ±0.80	46.93 ±7.08	0.79 ±0.05	0.97 ±0.14	3.39 ±0.23	0.28 ±0.02	0.24 ±0.02	0.23 ±0.01	0.24 ±0.01	5.74 ±0.22	6.07 ±0.91	7.31 ±3.17	5.54 ±1.46	0.06 ±0.03	
																				300

B.W.: Body weight, HP.: Hypophysis

Mean
± S.E.

Table 5-1 Final body weights and organ weights of dogs 5 weeks after the cessation of oral treatment of KBT-1585

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs	B.W. (kg)	Brain (g)	HP. (mg)	Thyroid (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Kidney (g)		Adrenal (g)		Testis (g)		Prostate (g)
														Right	Left	Right	Left	Right	Left	
M	Control	0	2	11.80	79.31	80.5	0.83	3.92	111.78	126.48	371.0	29.60	30.28	34.47	35.73	0.48	0.51	7.24	7.81	11.93
	KBT-1585	150	2	11.80	76.88	73.0	1.08	4.32	98.15	99.62	397.0	36.20	23.54	33.57	35.07	0.55	0.56	9.08	9.34	10.21
		300	2	11.60	81.06	78.0	1.10	8.30	91.39	93.45	376.0	28.89	27.71	26.61	27.77	0.56	0.65	7.50	7.91	10.28
Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs		(g%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(g%)	(g%)	(mg%)
M	Control	0	2		0.67	0.68	6.99	33.56	0.95	1.08	3.14	0.25	0.26	0.29	0.30	4.05	4.31	0.07	0.07	101.28
	KBT-1585	150	2		0.66	0.62	9.11	36.86	0.83	0.85	3.36	0.32	0.20	0.28	0.30	4.67	4.77	0.08	0.08	84.42
		300	2		0.71	0.69	9.61	68.67	0.81	0.81	3.28	0.26	0.25	0.23	0.24	5.61	4.61	0.07	0.07	92.82

B. W. : Body weight, HP. : Hypophysitis

Mean

Table 5-2 Final body weights and organ weights of dogs 5 weeks after the cessation of oral treatment of KBT-1585

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	No. of dogs	B.W. (kg)	Brain (g)	HP (mg)	Thyroid (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lung (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Kidney (g)		Adrenal (g)		Ovary (g)		Uterus (g)
														Right	Left	Right	Left	Right	Left	
F	Control	0	2	9.10	73.08	75.0	0.71	4.63	72.24	77.23	325.0	24.73	25.75	20.47	21.52	0.59	0.55	0.79	0.56	7.98
					74.41	73.0	0.76	4.10	92.08	84.54	287.0	30.91	28.68	23.98	23.88	0.62	0.58	0.49	0.58	1.74
					73.76	71.0	0.77	6.50	74.35	92.19	382.0	27.48	24.64	23.09	22.26	0.75	0.61	0.72	1.02	13.93
F	KBT-1585	150	2	10.20	(g%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(g%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(mg%)	(g%)
					0.81	0.83	7.77	51.25	0.80	0.85	3.56	0.27	0.29	0.23	0.24	6.44	5.98	8.54	6.12	0.09
					0.74	0.73	7.28	39.13	0.90	0.83	2.84	0.31	0.29	0.24	0.24	6.00	5.62	4.75	5.72	0.02
F	KBT-1585	300	2	9.60	0.77	0.74	7.99	68.10	0.78	0.96	3.99	0.29	0.26	0.24	0.23	7.84	6.37	7.57	10.68	0.15
					0.74	0.73	7.28	39.13	0.90	0.83	2.84	0.31	0.29	0.24	0.24	6.00	5.62	4.75	5.72	0.02
					0.77	0.74	7.99	68.10	0.78	0.96	3.99	0.29	0.26	0.24	0.23	7.84	6.37	7.57	10.68	0.15

B.W.: Body weight, HP: Hypophysis

Mean

Fig. 5 Water intake of male dogs given KBT-1585 orally for 6 months

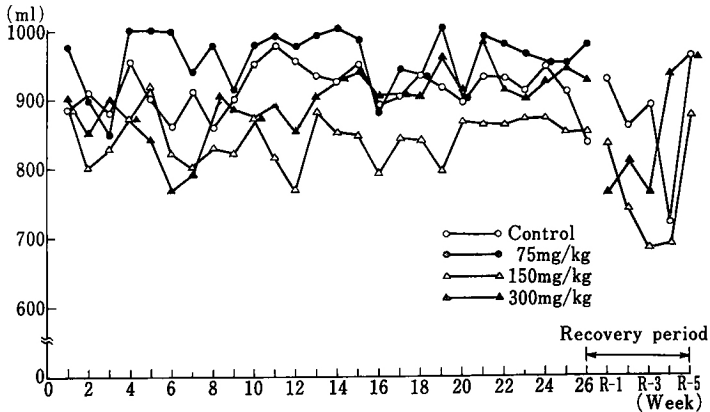


Fig. 6 Water intake of female dogs given KBT-1585 orally for 6 months

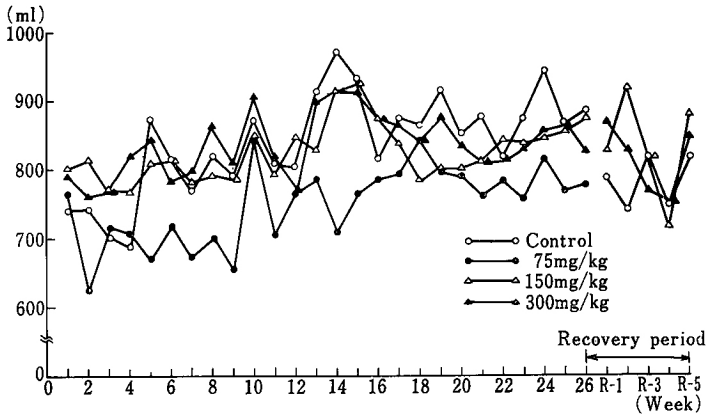


Photo. 1 Liver from a male dog treated orally with 300 mg/kg/day of KBT-1585 for 6 months. No pathological changes. H. E. stain, $\times 50$

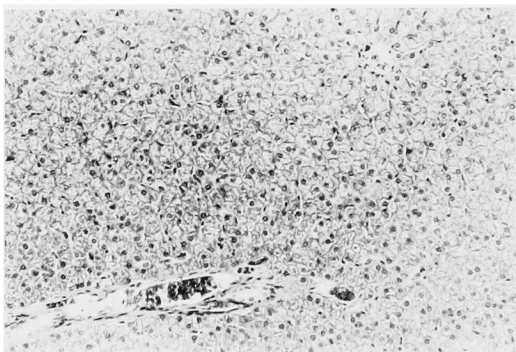
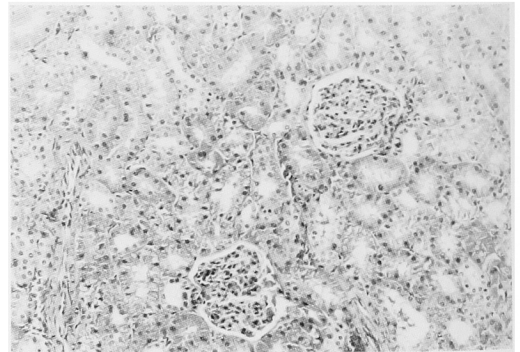


Photo. 2 Kidney from a male dog treated orally with 300 mg/kg/day of KBT-1585 for 6 months. No pathological changes. H. E. stain, $\times 50$



た。眼底検査では、雄の 75mg/kg 投与群 1 か月目の検査で網膜静脈の拡張、雄の 300 mg/kg 投与群 1 ~ 3 カ月目の検査で乳頭の充血、雌の 300 mg/kg 投与群 6 カ月目の検査で乳頭の退色が各々 1 例ずつにみられた。一方、網膜電図検査では異常所見を示す動物は特に認められなかった。

3) 病理形態学的検査

a. 臓器重量：得られた成績を Table 4, 5 に示した。6 カ月の投与期間終了時における剖検例では雄の 150 mg/kg, 300 mg/kg 投与群で心の体重比重量の有意な増加 ($P < 0.05$) を認めた。この他散発的な変化が観察されたが、いずれも用量相関性のない軽度な変化であった。

Photo. 3 Lung from a female dog in control group. Thickening of alveolar septa. H. E. stain, $\times 50$

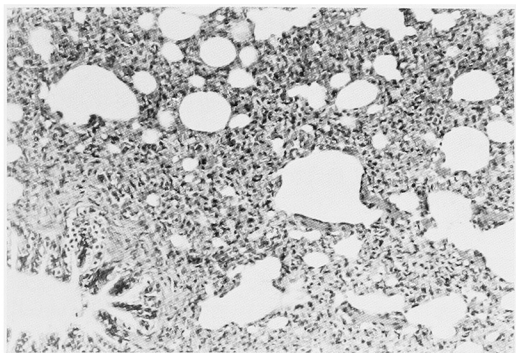


Photo. 4 Lung from a female dog treated orally with 300 mg/kg/day of KBT-1585 for 6 months. Thickening of alveolar septa. H. E. stain, $\times 50$

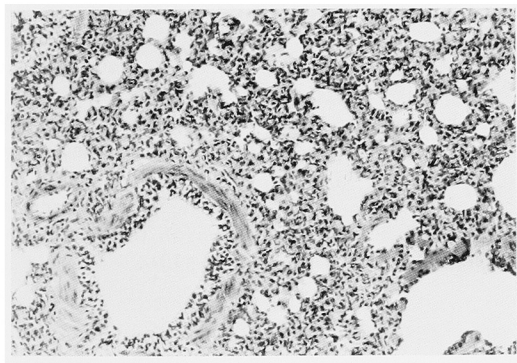


Photo. 5 Stomach from a male dog treated orally with 300 mg/kg/day of KBT-1585 for 6 months. Focal elevation of mucosa.

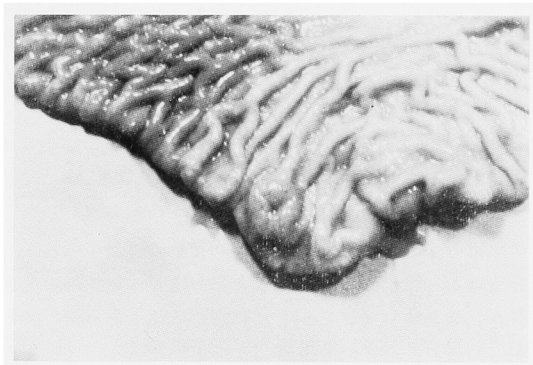
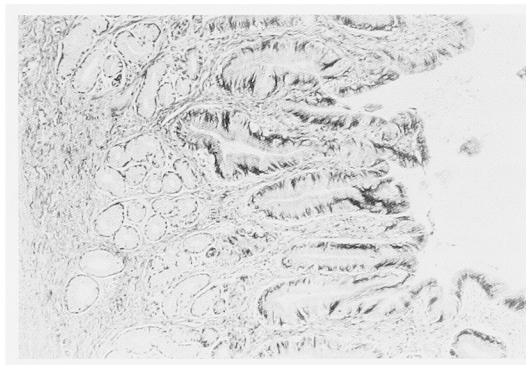


Photo. 6 Stomach from a male dog treated orally with 300 mg/kg/day of KBT-1585 for 6 months. No pathological changes. H. E. stain, $\times 25$



た。また回復試験では 300 mg/kg 投与群の卵巣および子宮で、性周期に起因すると考えられる重量の増加傾向が認められただけであった。

b. 剖検および病理組織所見：6カ月の投与期間終了時の剖検では、肺の点状出血・結節・白点・気腫、小腸の出血・陥凹・充血、盲腸の出血・充血、胃の陥凹・点状出血、腎の嚢胞が用量の別なく散発的に認められたが、いずれも軽度な所見であった。病理組織学的には肺胞壁肥厚、肺気腫、気管支周囲炎、小腸の出血、腸間膜リンパ節の鬱血、下垂体の嚢胞、卵巣の黄体欠如、腎の嚢胞が散見された。しかし、これらの所見も軽度なもので用量相関性は特に認められなかった。肝・腎の電顕所見では対照例と 300 mg/kg 投与例との間に明らかな差はみられなかった。

回復試験例の剖検でも肺の充血、胃の糜爛・点状出血、大腸の充血が観察され、病理組織学的には肺胞壁肥厚、下垂体の嚢胞、副腎の嚢胞、卵巣の黄体欠如がみられたが、6カ月の剖検例同様発現した変化は軽度で用量

相関性はみられなかった (Photo. 1~6)。

考 察

KBT-1585 をビーグル犬に 6 カ月間連続経口投与し慢性毒性を検討した。一般症状では 150 mg/kg 以上の投与で流涎、嘔吐、300 mg/kg 投与群で下痢が観察され、臨床検査では 300 mg/kg 投与群の総蛋白値の減少が認められた。病理形態学的検査では雄の 150 mg/kg、300 mg/kg 投与群に心の体重比重量の増加が認められた。この他観察されたいくつかの変化には用量相関性は認められず、薬物との関連のない偶発所見であると考えられた。

上記の変化のうち、流涎、嘔吐、総蛋白値減少は既報の KBT-1585 のビーグル犬 3 カ月間経口投与による亜急性毒性試験と同様の成績であるが、投与期間を 6 カ月に延長することによりこれらの所見が増悪する傾向は認められなかった。

一方、300 mg/kg 投与群で 6/12 例に現われた下痢は亜急性毒性試験で観察されていない所見である。抗菌

剤を投与した場合、その主作用に伴い腸内細菌叢が変化を受けしばしば下痢の発現を招来することが古くから知られているが⁴⁾、今回の試験で観察された下痢はいずれの動物においても全投薬期間を通じ2回以下のごく低頻度で発現したにすぎず、KBT-1585が腸内細菌叢に強い影響を及ぼす可能性は少ないものといえよう。

今回、雄の150 mg/kg、300 mg/kg投与群では心の体重比重量の有意な増加($P < 0.05$)がみられたが、雌動物の心重量には雄と反対に減少傾向すらみられた。さらに雌雄の心における病理組織学的検査では全く異常がみられなかった。このことから上記の所見は対照群の心重量がたまたま軽く、しかも変動幅が低値であったために生じた統計的な差にすぎず、毒性学的な意味はないものと判断された。

亜急性毒性試験では300 mg/kg、900 mg/kgの投与で胃粘膜の炎症性変化、糜爛が観察されている³⁾。今回の慢性毒性試験でも小腸の出血・陥凹・充血、盲腸の出血・充血、胃の陥凹・点状出血が認められているが、いずれも用量相関性が明らかでなく軽度なものであるため偶発的あるいは人工的な変化であると考えられた。

以上のように、KBT-1585を6カ月間ビーグル犬に連続投与することにより薬剤に起因して発現した所見としては流涎、嘔吐、下痢および血清総蛋白値の減少が主要なものであると考えられ、肝腎を含めた臓器への薬物の

傷害作用は特に認められなかった。さらにこれらの所見は回復試験により速やかに消退したことから可逆的な変化であると考えられる。なお75 mg/kg投与群では毒性所見が全く認められなかった。従って今回の試験における最大無作用量は75 mg/kgであると結論づけられる。

謝辞 本研究遂行にあたり心電図学的検査の労を賜わった麻布大学獣医学部高橋貢教授、眼科学的検査の労を賜わった東京電力病院眼科石川明博士に謹んで感謝いたします。

文 献

- 1) 荻野文雄, 海野 隆, 武部秀太郎, 平川公昭, 飯野哲夫, 能勢尚志, 青山卓夫: Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585)の Maus, ラット, イヌにおける急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中
- 2) 荻野文雄, 海野 隆, 武部秀太郎, 平川公昭, 飯野哲夫, 能勢尚志, 青山卓夫: Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585)のラット経口投与による3カ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中
- 3) 平川公昭, 海野 隆, 荻野文雄, 武部秀太郎, 飯野哲夫, 能勢尚志, 青山卓夫: Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585)のビーグル犬3カ月間経口投与による亜急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中
- 4) KRAMER, I. R. H.: Fatal staphylococcal enteritis developing during streptomycin therapy by mouth. Lancet 255: 646~647, 1948

CHRONIC TOXICITY OF LENAMPICILLIN HYDROCHLORIDE (KBT-1585) IN DOGS

MASAAKI KASHIMA and RYUICHI SATO
Nippon Experimental Medical Research Institute
TAKASHI NOSE
Pharmaceuticals Research Center, Kanebo, Ltd.
TAKUO AOYOMA
Research Laboratories, Torii & Co., Ltd.

Chronic toxicity study of lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) was performed by repeated oral administration of a daily dose of 75, 150 and 300 mg/kg to beagle dogs for 6 months and the following results were obtained.

- 1) No death was occurred.
- 2) Selivation, vomiting and slight diarrhoea were observed in the groups of higher doses.
- 3) Serum total protein in male-300 mg/kg/day group decreased slightly at the sixth month examination.
- 4) No abnormal findings were detected in body weight gain, food and water consumption, urinalysis, blood pressure, E. C. G., hematological examination, oph thalmological examination, organ weights and pathological examination.
- 5) Above findings were recovered easily by withdrawal for 5 weeks.

Considering these results, it was concluded that 75 mg/kg/day was the maximal non-toxic dose of KBT-1585 in 6 months chronic oral toxicity study in dogs.