

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

荻野文雄・海野 隆・武部秀太郎・平川公昭・飯野哲夫・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

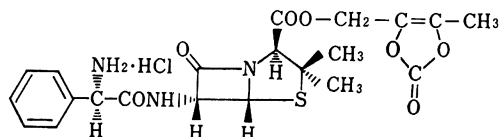
Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585, LAPC) の 625, 1,250, 2,500 および 5,000 mg/kg をラットに3カ月間連続経口投与し、毒性発現について検討した。

1. 薬物による死亡は1例もみられなかった。
2. 流涎が 625 mg/kg 以上の投与群で、軟便が 1,250 mg/kg 以上の投与群で一過性に観察された。
3. 体重は雄の 5,000 mg/kg 投与群で増加抑制を示し、飲水量は 625 mg/kg 投与群より増加した。
4. 尿検査では pH 値の低下が 1,250 mg/kg 以上の投与群でみられた。
5. 血液化学的検査では、総蛋白値、K 値ならびに Cl 値の低下と、A/G 比、無機リン値および Na 値の増加がみられた。
6. 病理学的検査では、肝臓、腎臓、盲腸ならびに副腎重量が増加し、病理組織学的に肝細胞の腫大と副腎皮質細胞の腫大を認めた。
7. 技術的に投与可能な最高用量である、KBT-1585 の 5,000 mg/kg の投与でも、動物の死亡はもちろん、薬物の累積投与に伴う臓器傷害作用も全く観察されず、KBT-1585 に特徴的な毒性を示唆する所見は認められなかった。

(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-yl) methyl-D- α -aminobenzylpenicillinate hydrochloride (Lenampicillin hydrochloride, KBT-1585) は、鐘紡(株)薬品研究所において新規に合成された、下記構造式を有する Ampicillin のプロドラッグである (Fig. 1)。

KBT-1585 の安全性については、すでにマウス、ラットならびにイヌの急性毒性試験¹⁾ が報告されており、今回ラット3カ月亜急性毒性試験を実施したので、その成績を報告する。

Fig. 1 Chemical structure of KBT-1585



Molecular formula: $C_{21}H_{23}N_3O_5 \cdot S \cdot HCl$
Molecular weight: 497.95

I. 実験材料および実験方法

1. 実験動物

ラットは Jcl:SD 系を4週齢で購入し、1週間予備飼

育した後発育が良好で外見上健康と認められた動物を使用した。

動物は実験期間中、温度 $23 \pm 1^\circ C$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の条件下でアルミニウム製箱型平底ケージに収容して飼育した。実験期間中、水は水道水を、餌は固型飼料 (CE-2, 日本クレア製) を、各々自由に摂取させた。

2. 実験方法

KBT-1585 を3カ月間ラットに連続経口投与した。

薬物は、1回の投与液量が体重 100g 当り 2ml となるよう蒸留水に用時溶解し、1日1回週7回、午前10時から正午までの間に金属性胃ゾンデを用いて1群16匹に強制投与した。

用量は、本試験に先立って行なったラット経口投与による14日間の予備試験で、連続経口投与しうる技術的最大量と考えられる 5,000 mg/kg の投与においても、薬物による死亡が1例もみられなかったことより、5,000 mg/kg を上限値とし以下 2,500, 1,250, 625 mg/kg を設定した。なお対照群には、蒸留水を投与した。諸検査は以下の項目について実施した。

1) 一般臨床検査

一般症状は連日観察し、体重は全例について週1回、飼料摂取量と飲水量は各ケージ（2匹/ケージ）ごとに週1回測定した。

2) 尿検査

試験投与期間終了時に強制的に排尿させた新鮮尿を用い、蛋白、pH、糖、ケトン体、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン（以上いずれも Multistix®）の各項目を、全例について検査した。

3) 血液ならびに血液化学的検査

検査は Table 1 に示したように、血液学的検査5項目、血液化学的検査18項目について、投与期間終了時に行なった。

血液は、エーテル麻酔下に腹部大動脈より採血し、血液学的検査では EDTA-2K で抗凝固処理したものを使用し、血液化学的検査ではヘパリンで抗凝固処理し、1hr 氷冷放置後、3000 r. p. m. で10分間遠心分離して得た血漿を用いた。

4) 視聴覚検査

瞳孔反射ならびに耳介反射は全例について、ERG、眼

Table 1 Test items, methods in hematological and biochemical examination

Examination	Test items	Abbreviation	Methods
Hematological	Erythrocyte count	RBC	Coulter counter
	Packed cell volume	PCV	Microhematocrit
	Hemoglobin	Hb	Cyanmethemoglobin method
	Leukocyte count	WEC	Coulter counter
	Differential leukocyte count		Pappenheim method
	Basophilic leukocyte count	Bas.	
	Eosinophilic leukocyte count	Eos.	
	Neutrophilic leukocyte count	Neu.	
	Lymphocyte	Lymp.	
	Monocyte	Monø.	
Biochemical	Glutamic oxaloacetic transaminase	GOT	Karmen
	Glutamic pyruvic transaminase	GPT	Wroblewski
	Lactate dehydrogenase	LDH	Optimized standard method
	Alkaline phosphatase	Al-P	Bessey, 30 min. method
	Total bilirubin	TB	Spectrophotometry
	Total protein	TP	Biuret (without sample blank)
	Albumin	Alb	BCG
	Albumin/Globulin	A/G	Alb/ (TP-Alb)
	Total cholesterol	TC	(CHOD/Catalase) CHE-COD
	Triglyceride	TG	Enzymatic
	Glucose	Glucose	(GOD-Perid) GOD-POD
	Creatinine	CRNN	Folin-Wu
	Blood urea nitrogen	BUN	Urease-Indophenol
	Calcium	Ca	OCPC
	Inorganic phosphorus	P	Molybdate/Vanadate
	Potassium	K	Flame photometry
	Sodium	Na	Flame photometry
	Chloride	Cl	Coulometry

底検査およびスリットランプ検査は各群で特に視聴覚検査用に準備した2例について、投与期間終了時に行なった。

瞳孔反射は光刺激により、また耳介反射は Galton's whistle による音刺激により異常の有無を検査した。眼底検査は散瞳剤(ミドリンP, 参天製薬 K. K.)にて充分散瞳後、エーテル軽麻酔下にて小実験動物用眼底カメラ(コーワ RC-2型, model 621)を用いて写真撮影を行なった。スリットランプ検査は眼底写真撮影に引きつづき、スリットランプ(コーワ SL-2型)を用いて両眼を観察した後、写真撮影を行なって検討した。また ERG は暗順応させたラットを、エーテル麻酔下にて、ラット ERG 測定用コンタクトレンズ型電極(京都コンタクトレンズ製)を眼球に装着、光刺激装置(日本光電MSP-2R)にて40ジュールの光刺激を与えて誘導された電位を、多用途誘発反応記録装置(日本光電 MEB-3102)により記録した。

5) 病理学的検査

採血を行なった動物全例を放血致死させ、速やかに全身諸臓器の異常の有無を観察した後、脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮および盲腸の臓器重量を測定した。病理組織学的検査は上記秤量臓器に加え、眼球、涙腺、唾液腺、リンパ節(顎下、腸間膜)、大動脈、胃、小腸、大腸、脾臓、精囊、精巣上体、膀胱、筋肉、皮膚、末梢神経および骨髄について行なった。5%グルタル液で固定した眼球以外の臓器はすべて10%ホルマリン液に固定し常法によりH-E染色を行ない光顕的に観察した。また必要に応じ、腎臓はPeriodic acid schiff染色を行ない、また肝臓および副腎は凍結切片作製後Oil red O染

色を施し検索した。

電子顕微鏡的検査は、各群2例の肝臓および腎臓についてglutalaldehydeとosmic acidで二重固定後、Epon 812に包埋、超薄切片を作製し酢酸ウラルとクエン酸鉛で二重染色して観察した。

6) 統計処理法

得られた成績のうち尿検査については χ^2 検定を、その他数量的に表現できるものは t 検定により対照群と比較して有意差の有無を検討した。

II. 実験結果

1. 一般症状

流涎および軽度な軟便が観察された。流涎は薬物の投与前後に限り一過性に散見され、また軟便は主に雌雄の1,250 mg/kg以上の投与群で認められたが下痢には至らず、投与後1カ月頃より軟便は漸次観察されなくなった。なお試験期間中の死亡は対照群も含め雌雄合わせて20例発現したが、これらはいずれも投与過誤によるものであり、薬物に基づくと考えられる死亡は1例も認められなかった。

2. 体重

得られた成績をFig. 2に示した。

体重は、雄では5,000 mg/kg投与群で投与1週後より有意な増加抑制が認められたが、雌では逆に625 mg/kg以上の投与群で有意な体重増加ないしは増加傾向が、投与期間中を通じて認められた。

3. 飼料摂取量ならびに飲水量

飼料摂取量をFig. 3に、飲水量をFig. 4に示した。

飼料摂取量は雄では特に変化を示さず、雌でも主に1,250 mg/kg以上の投与群で投与初期に一過性の増加が認められた以外に変化はみられなかった。

Fig. 2 Body weights (g) of rats given KBT-1585 orally for 3 months

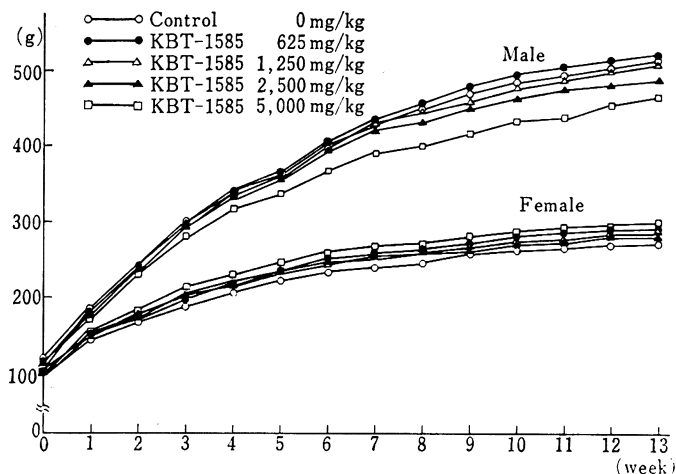


Fig. 3 Food consumptions (g) of rats given KBT-1585 orally for 3 months

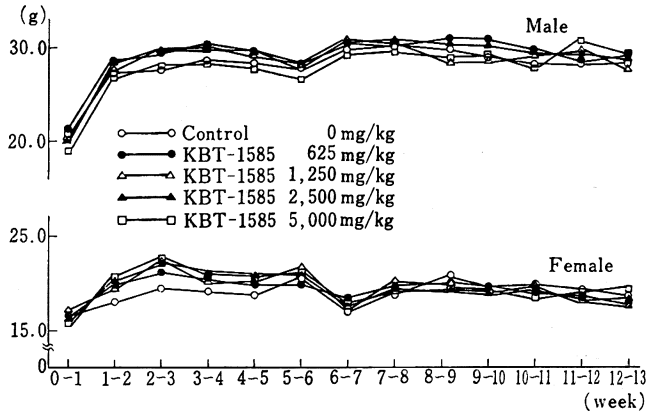
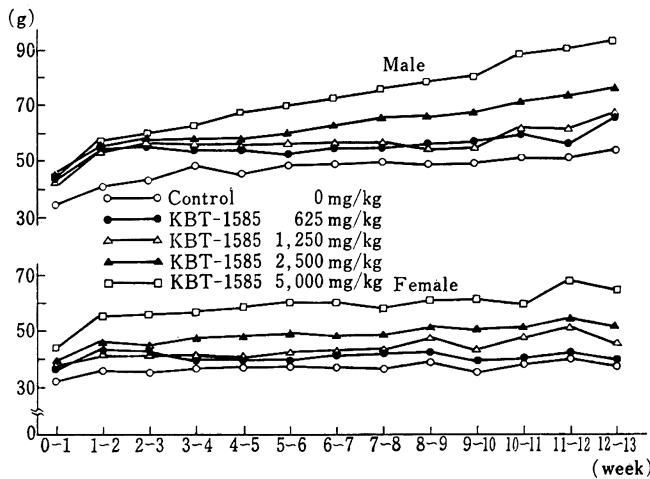


Fig. 4 Water intakes (g) of rats given KBT-1585 orally for 3 months



飲水量は雌雄とも薬物投与群で、用量 相 関 的 に 増 加 し、これらの変化は投与初期より投与終了時まで引き続き観察された。

4. 尿検査

得られた成績を Table 2 に示した。pH の低下が雄では 2,500 mg/kg 投与群より、雌では 1,250 mg/kg 投与群より認められたが、その他の検査項目にはいずれも一定した変化はみられなかった。

5. 血液学的検査

成績を Table 3 に示した。雄の 5,000 mg/kg 投与群で、赤血球の減少と白血球の増加がみられたがいずれも生理的変動範囲を逸脱する病的な変化ではなかった。

6. 血液化学的検査

得られた成績を Table 4 に示した。

雌雄に共通して現れた変化として、グロブリン低下に伴う総蛋白値低下と A/G 比上昇、無機リン値の上昇と K 値の低下が最低用量の 625 mg/kg より観察された。また Cl 値の低下が雄の 1,250 mg/kg 以上、雌の

625 mg/kg 以上の投与群で、Na 値の上昇も 2,500~5,000 mg/kg 投与群で観察された。この他、雄では Al-P 活性値、Triglyceride 値、BUN 値の低下が、雌では GPT 活性値低下とクレアチニン値の上昇がそれぞれ 2,500~5,000 mg/kg 投与群で主に観察されたが、これらはいずれも軽度なもので、最高用量で認められた変化も生理的変動範囲を逸脱するものではなく、特に著しい病態を示唆するものではない。

7. 視聴覚検査

実施したいずれの検査においても著変は認められなかった。

8. 病理学的検査

臓器重量に関する成績を Table 5~8 に、病理学所見を Table 9 に示した。

肝臓：剖検所見では主に雌雄の 2,500 mg/kg 投与群以上で辺縁の鈍化を伴う肝腫大がみられ、臓器重量でも実重量、体重比重量の増加が高用量投与群を中心に認められた。病理組織学的には小葉中心性の肝細胞の腫大が

Table 2 Urinary findings of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	N	pH					Protein (mg/dl)				Glucose (g/dl)	Ketone		Bilirubin		Occult blood		Urobilinogen (E. U./dl)			
				5	6	7	8	9	neg.	30	100	>300		neg.	trace	neg.	1 ⁺	neg.	1 ⁺	neg.	1 ⁺	0.1	1.0
M	Control	0	14	0	1	1	10	2	0	3	8	3	14	0	9	5	14	0	13	1	13	1	
			11	0	1	4	2	0	3	4	4	11	0	5	6	11	0	11	0	10	0	10	1
	KBT-1585	1,250	10	0	2	4	4	0	0	3	6	1	10	0	5	5	10	0	10	0	10	0	0
			13	0	10	3	0	0	2	5	5	1	13	0	7	6	11	2	13	0	13	0	0
			10	0	5	5	0	0	0	6	4	0	10	0	6	4	8	2	10	0	8	2	2
F	Control	0	13	0	0	1	8	4	6	6	1	0	13	0	7	6	13	0	13	0	11	2	
			14	0	1	6	2	7	5	2	0	14	0	10	4	13	1	14	0	13	0	13	1
	KBT-1585	1,250	10	0	2	5	2	1*	7	3	0	0	10	0	10	0*	10	0	10	0	10	0	0
			13	0	4	7	2	10	2	1	1	0	13	0	11	2	12	1	13	0	13	0	0
			11	2	4	5	0	9	2	0	0	11	0	10	1	8	3	11	0	11	0	11	0

Significantly different from control ; * P<0.05,**P<0.01

Table 3 Hematological values of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	N	RBC (*1)	PCV (%)	Hb (g/dl)	WBC (*2)	Differential leukocyte count (%)				
								Bas.	Eos.	Neu.	Lymp.	Mono.
M	Control	0	14									
			Mean	849.	48.	15.5	127.	0.	2.	12.	84.	2.
		S. D.	41.6	1.6	0.60	19.7	0.0	1.3	3.8	4.9	1.6	
	KBT-1585	625	11									
			Mean	853.	48.	15.1	134.	0.	1.	11.	86.	1.
		S. D.	35.4	1.6	0.60	26.7	0.0	1.1	6.5	7.0	0.8	
		1,250	10									
			Mean	841.	48.	15.6	142.	0.	1.	14.	84.	1.
		S. D.	32.2	2.5	0.97	30.7	0.0	1.0	6.2	6.6	1.2	
		2,500	13									
			Mean	823.	48.	15.4	145.	0.	1.	11.	87.	1.
		S. D.	35.8	1.2	0.64	30.7	0.0	1.0	3.0	3.2	0.8	
	5,000	9										
		Mean	798.**	47.	15.2	151.*	0.	1.	12.	86.	1.	
	S. D.	26.1	1.6	0.45	26.9	0.0	1.6	3.3	4.8	1.2		
F	Control	0	13									
			Mean	777.	47.	15.7	108.	0.	1.	11.	86.	2.
		S. D.	42.3	2.3	0.88	21.6	0.0	0.9	4.9	5.9	1.6	
	KBT-1585	625	14									
			Mean	792.	47.	15.9	98.	0.	1.	8.	88.	3.
		S. D.	48.8	1.7	0.68	17.2	0.0	0.8	3.4	4.1	1.8	
		1,250	10									
			Mean	778.	48.	15.7	124.	0.	1.	8.*	89.	3.
		S. D.	21.4	1.1	0.38	15.8	0.0	0.7	2.0	3.2	1.7	
		2,500	13									
			Mean	779.	48.	15.8	109.	0.	1.	7.*	89.	2.
		S. D.	41.4	1.3	0.67	21.2	0.0	0.9	2.8	3.9	1.3	
	5,000	11										
		Mean	794.	47.	15.5	124.	0.	2.	9.	88.	2.	
	S. D.	47.1	2.0	0.69	21.8	0.0	1.7	4.1	5.6	1.1		

* 1 = 10000/cubic-millimeter, * 2 = 100/cubic-millimeter

Significantly different from control; * P<0.05, **P<0.01

Table 4 Biochemical findings in the plasma of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Sex	Compound	Dose (mg/kg)	N	GOT (u/l)	GPT (u/l)	LDH (u/l)	Al-P (u/l)	TB (mg/dl)	TP (g/dl)	Alb (g/dl)	A/G	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	Glu (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)		
M	Control	0	14	110	44	144	23.6	0.2	6.4	3.8	1.5	64	209	193	0.85	22.6	9.6	5.5	145	4.9	107		
			Mean	100.2	53.9	181.3	4.24	0.08	0.34	0.22	0.18	12.3	67.8	11.6	0.079	2.17	0.56	0.43	3.3	0.24	3.0		
			S.D.	11	116	36	130	20.9	0.2	6.1	3.7	1.6	88**	311	201	0.88	19.2**	8.9*	6.0*	145	4.5**	107	2.4
	Mean																						
	S.D.																						
	KBT-1585	1,250	10	27.4	19.8	63.3	5.19	0.19	0.45	0.33	0.34	18.4	165.6	21.2	0.108	2.34	0.71	0.44	3.4	0.36	2.4		
			Mean																				
			S.D.																				
		2,500	13	85	21	87	20.8	0.2	5.8**	0.36	0.27	1.7	78*	228	188	0.86	18.9**	8.9**	6.0**	146	4.6*	107	
			Mean																				
			S.D.																				
	5,000	9	89	22	90	18.6**	0.2	5.7**	0.44	0.38	1.9**	75*	173	190	0.89	19.5**	9.0**	6.0**	148*	4.2**	104*		
Mean																							
S.D.																							
F	Control	0	12	94	26	100	16.7**	0.1	5.4**	3.7	2.2**	71	106**	193	0.93	19.1**	9.0*	6.1	148*	4.1**	102**		
			Mean																				
			S.D.																				
	KBT-1585	625	14	53	23	80	13.1	0.1	6.4	4.2	1.9	72	66	177	0.77	20.4	9.0	4.4	148	4.6	110		
			Mean																				
			S.D.																				
		1,250	14	73**	24	105	10.8	0.1	6.0*	0.38	0.18	2.2**	66	105	191	0.88*	18.0	9.1	5.1**	148	3.9**	108*	
			Mean																				
			S.D.																				
	2,500	12	58	16**	86	12.5	0.2	5.9**	0.48	0.36	0.25	9.8	66.4	30.3	0.075	3.87	0.44	0.69	3.6	0.36	3.4		
		Mean																					
		S.D.																					
5,000	10	59	16**	87	11.2	0.1	5.8**	0.37	0.26	0.18	10.0	161.8	23.0	0.113	4.67	0.57	0.51	2.8	0.35	3.0			
	Mean																						
	S.D.																						
10	10	64	15**	72	11.4	0.1	5.7**	0.41	0.30	2.2**	68	72	163	0.90*	21.0	9.4	5.4**	151*	4.0**	103**			
	Mean																						
	S.D.																						
3.4	16.0	16.0	3.4	19.0	2.01	0.10	0.41	0.30	0.31	0.31	8.5	34.8	18.0	0.092	4.54	0.72	0.31	2.8	0.47	3.2			
	Mean																						
	S.D.																						

Significantly different from control; * P<0.05, **P<0.01

Table 5 Final body weights and organ weights of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Male

Compound Dose (mg/kg)	Mean	S.D.	N	Body weight (g)	Brain (mg)	Hypo-physis (mg)	Thyroid (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lung (mg)	Spleen (mg)	Kidney		Adrenal gland		Testis		Prostate (mg)	Liver (g)	Cecum (g)	
												R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)				R (mg)
Control	Mean			518	2051	15	24	322	1363	1495	941	1799	1821	30	33	1882	1892	848	19.93	7.92	
0	S.D.			41	56	2	5	110	105	135	141	181	180	6	6	98	116	241	2.55	1.02	
	N			14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
KBT-1585	Mean			526	1984*	15	26	360	1329	1443	905	1757	1759	31	36	1826	1838	893	24.04*	13.28**	
625	S.D.			54	73	2	5	103	123	139	78	184	154	4	5	109	120	171	5.37	2.96	
	N			11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
KBT-1585	Mean			508	1980**	15	27	289	1328	1527	882	1801	1765	39**	43**	1889	1907	898	20.96	13.70**	
1,250	S.D.			54	55	2	6	42	134	82	176	178	167	6	6	163	159	181	4.71	2.61	
	N			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
KBT-1585	Mean			488	1967**	14	25	315	1346	1493	862	1814	1814	39**	43**	1826	1842	811	22.10	16.18**	
2,500	S.D.			37	95	2	4	114	91	92	108	137	175	5	7	172	166	141	2.94	3.36	
	N			13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
KBT-1585	Mean			464**	1935**	14	24	319	1295	1550	859	1902	1871	48**	53**	1893	1893	736	23.08*	19.86**	
5,000	S.D.			32	76	2	3	105	109	174	188	194	170	10	12	125	123	117	3.64	4.44	
	N			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Significantly different from control; * P<0.05, **P<0.01

Table 6 Final body weights and organ weights of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Compound Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Hypo-physis (mg)	Thyroid (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lung (mg)	Spleen (mg)	Kidney		Adrenal gland		Ovary		Uterus (mg)	Liver (g)	Cecum (g)
									R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)			
Control	Mean	265	17	19	251	854	1084	570	936	931	31	33	47	46	687	9.15	4.97
	S.D.	17	4	5	52	81	123	66	70	77	4	5	10	12	173	0.92	0.92
	N	13	12	13	12	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
KBT-1585	Mean	293**	15	20	311*	867	1102	580	1036*	1009	35*	38*	47	47	626	11.05**	7.69**
	S.D.	31	4	6	82	115	96	77	115	130	5	7	7	7	181	1.11	1.00
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
KBT-1585	Mean	285**	17	20	291	881	1160	613	1106**	1099**	37*	39	48	48	606	11.02*	7.70**
	S.D.	14	4	6	88	50	93	140	125	112	7	9	8	7	95	1.87	1.30
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
KBT-1585	Mean	283**	16	22*	301	923*	1176	601	1156**	1147**	37**	40**	46	43	574	11.29**	8.53**
	S.D.	15	3	4	76	78	212	61	86	90	5	7	9	9	130	1.33	1.54
	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
KBT-1585	Mean	289**	16	22	291*	911	1248**	621*	1295**	1266**	42**	47**	49	46	556	14.01**	11.37**
	S.D.	18	2	5	37	84	124	47	123	161	9	9	8	6	298	2.18	2.31
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control; * P<0.05, **P<0.01

Table 7 Final body weights and relative organ weights (organ weight/100g body weight) of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Compound Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Hypo-physis (mg)	Thyroid (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lung (mg)	Spleen (mg)	Kidney		Adrenal gland		Testis		Prostate (mg)	Liver (g)	Cecum (g)
									R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)			
Control	Mean	398.0	2.9	4.7	61.6	263.4	289.2	181.6	348.2	352.5	5.8	6.4	364.9	367.0	165.9	3.84	1.53
	S.D.	41.	0.4	0.9	18.5	15.2	25.5	23.5	35.9	36.6	1.1	1.2	30.7	33.6	52.7	0.36	0.18
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
KBT-1585 625	Mean	380.7	2.8	4.9	68.2	253.1	275.4	173.1	334.4	335.6	6.0	6.8	349.4	351.8	170.8	4.52**	2.56**
	S.D.	54.	0.3	0.9	19.0	13.9	23.4	17.1	16.1	24.4	0.8	1.0	29.8	31.9	35.5	0.59	0.64
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
KBT-1585 1,250	Mean	393.5	3.0	5.4	57.2	262.0	303.0	173.4	356.0	349.1	7.8**	8.4**	376.0	379.2	179.4	4.09	2.69**
	S.D.	54.	0.4	1.2	7.7	14.9	24.8	25.3	28.0	28.7	1.4	1.2	50.7	47.4	44.3	0.53	0.39
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
KBT-1585 2,500	Mean	488.	2.8	5.2	64.9	276.4*	307.0	176.6	372.6	371.7	8.0**	8.9**	375.0	378.3	166.4	4.52**	3.30**
	S.D.	37.	0.3	0.9	23.6	15.5	21.4	16.9	24.7	21.7	1.1	1.3	34.3	31.6	26.4	0.34	0.56
	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
KBT-1585 5,000	Mean	464.**	3.1	5.2	68.2	279.3*	334.1**	184.2	410.4**	404.0**	10.3**	11.4**	409.1**	409.1**	158.6	4.98**	4.30**
	S.D.	32.	0.3	0.8	19.4	14.6	27.9	30.4	32.1	32.5	1.7	2.3	27.7	25.4	22.0	0.70	0.99
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Significantly different from control; * P<0.05, **P<0.01

Table 8 Final body weights and relative organ weights (organ weight/100g body weight) of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Female

Compound Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Hypophys (mg)	Thyroid (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Lung (mg)	Spleen (mg)	Kidney		Adrenal gland		Ovary		Uterus (mg)	Liver (g)	Cecum (g)
									R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)	R (mg)	L (mg)			
Control 0	Mean	725.3	6.6	7.0	94.7	322.3	408.9	215.2	353.9	352.1	11.8	12.4	17.5	17.1	262.3	3.46	1.88
	S.D.	17.	2.0	1.7	21.4	24.7	39.2	20.5	24.7	27.4	1.9	2.1	3.5	3.9	75.2	0.31	0.33
	N	13	12	13	12	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
KBT-1585 625	Mean	293.**	5.2*	6.7	105.8	295.9**	378.9*	198.7*	354.7	345.0	11.9	13.1	16.2	16.2	217.8	3.78**	2.65**
	S.D.	31.	1.2	1.8	26.7	19.5	34.9	21.2	23.8	28.6	1.1	1.5	2.2	2.5	73.3	0.19	0.38
	N	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14
KBT-1585 1,250	Mean	285.**	6.0	7.0	102.6	309.5	406.9	216.3	388.0*	385.8*	13.0	13.4	16.8	16.8	212.8*	3.86*	2.71**
	S.D.	14.	1.4	2.2	32.8	19.5	27.0	53.9	38.3	38.6	2.1	2.7	2.4	2.3	33.9	0.54	0.48
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
KBT-1585 2,500	Mean	283.**	5.8	7.9	106.6	326.0	414.6	212.5	407.9**	404.9**	13.0	14.0	16.2	15.2	203.5*	3.98**	3.02**
	S.D.	15.	1.1	1.5	27.2	24.3	65.0	20.8	20.0	22.5	1.8	2.6	3.0	3.4	47.2	0.31	0.62
	N	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
KBT-1585 5,000	Mean	289.**	5.7	7.7	101.2	315.6	433.7	215.4	448.4**	437.8**	14.4*	16.2**	17.2	15.9	193.5	4.85**	3.93**
	S.D.	18.	0.9	1.8	15.2	19.7	50.5	16.1	30.6	39.6	2.7	2.9	3.0	2.4	105.8	0.65	0.69
	N	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11

Significantly different from control; * P<0.05, **P<0.01

Table 9 Pathological findings of rats given KBT-1585 orally for 3 months

Organ	Findings	Sex									
		Male			Female						
		0	625	1,250	2,500	5,000	0	625	1,250	2,500	5,000
Dose(mg/kg)		No. of rats		No. of rats		No. of rats		No. of rats		No. of rats	
Gross findings											
Lung	Petechia	2	2	0	1	3	0	1	1	0	1
Lymph node	Hemolymph	0	0	0	0	8	0	0	0	0	5
Cecum	Enlargement	0	5	7	9	10	0	3	6	12	10
Liver	Dull margin	0	2	0	4	8	0	0	1	5	9
	Hematomatous elevation of soy bean size	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Adrenal gland	Hypertrophy in cortex	0	0	4	9	8	0	1	1	4	7
Histopathological findings											
Heart	Cell infiltration	3	6	5	7	7	2	1	1	2	1
Lymph node	Erythrocyte in sinus	0	0	6	7	8	0	1	1	0	4
Liver	Centrilobular hepatocyte swelling	0	0	0	10	8	0	0	2	4	11
	Cell infiltration	4	5	4	8	2	3	1	2	3	2
	Focal hemorrhage	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Focal necrosis	1	1	2	1	2	0	1	0	1	1
Kidney	Interstitial cell infiltration in cortex	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0
	Tubular mineralization	0	2	2	0	0	1	1	0	1	2
	Hyalin droplet degeneration of proximal tubular epithelium	5	2	2	2	0	0	0	0	0	0
	Tubular and glomerular atrophy	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Adrenal gland	Congestion in zona reticularis	0	0	1	2	3	0	0	1	1	11
	Cell infiltration in cortex	0	0	5	8	9	4	5	2	1	8
	Swelling of zona fasciculata and zona reticularis	0	5	10	13	10	0	0	1	12	11
	Decrease of fatty droplet in cortex	0	2	8	12	10	0	2	2	8	11
Prostate	Interstitial cell infiltration	10	5	3	4	4					

認められた。しかしながら薬物投与に基づく肝細胞の変性、壊死や限局性の過形成、核分裂像の増加ならびに二核細胞の増数といった所見は認められなかった。

電顕的検索では対照群ならびに薬物投与群で粗面小胞体の伸長、変形、滑面小胞体の腔内顆粒、ゴルジ装置の増生等の所見が散見されたにすぎなかった。

腎臓：雄の 5,000 mg/kg 投与群で体重比重量が、雌の 1,250 mg/kg 以上の投与群で実重量、体重比重量がともに増加していたが、剖検ならびに光顕的検索では特に薬物に基づく変化は認められなかった。電顕的検索でも、対照群を含めた薬物投与群で、糸球体足突起の融合、上皮ならびに内皮細胞の腫大が散見された以外、細胞内器官の障害像は何ら認められなかった。

副腎：剖検では、雌雄の 1,250 mg/kg 投与群より副腎皮質の腫大がみられた。病理組織学的には、網状層のうっ血、束状層ならびに網状層細胞の腫大と微細脂肪滴の減少などが認められた。

Photo. 1 Liver from a male rat No. 2 in control group. No pathological changes. H. E. stain, $\times 100$.

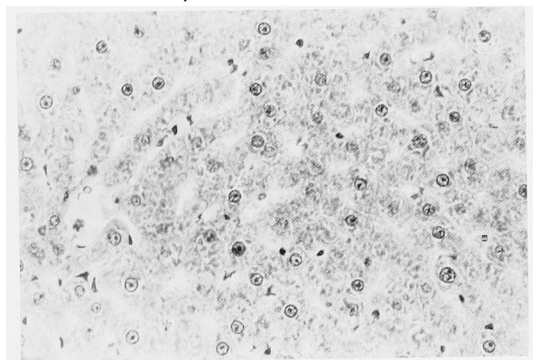
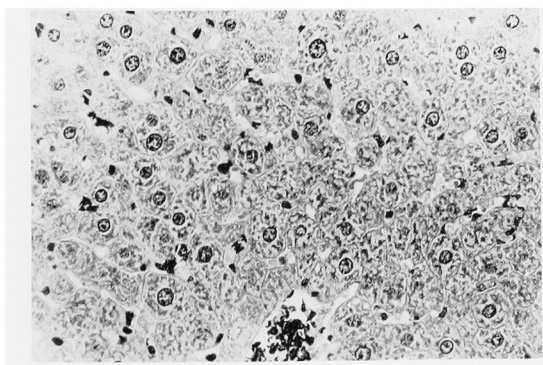


Photo. 2 Liver from a male rat No. 2 treated orally with 5,000 mg/kg/day of KBT-1585 for 3 months. Centrilobular hepatocyte swelling. H. E. stain, $\times 100$.



リンパ節：主に雌雄の 5,000 mg/kg 投与群で肉眼的に腸間膜リンパ節の充・うっ血がみられ、病理組織学的

Photo. 3 Kidney from a male rat No. 3 treated orally with 5,000 mg/kg/day of KBT-1585 for 3 months. No pathological changes. H. E. stain, $\times 50$.

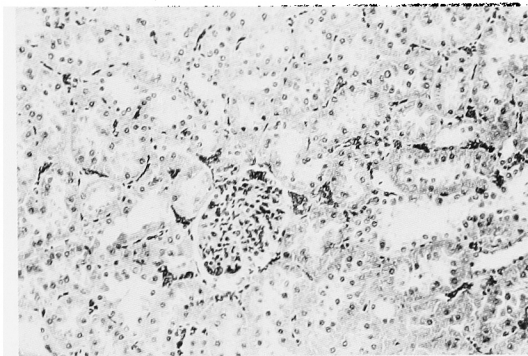


Photo. 4 Adrenal gland from a male rat No. 4 treated orally with 5,000 mg/kg/day of KBT-1585 for 3 months. Hypertrophy and lymphocyte infiltration in cortex. H. E. stain, $\times 25$.

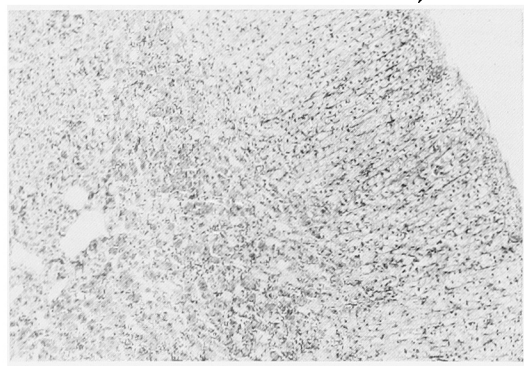


Photo. 5 Cecum from a male rat No. 3 treated orally with 5,000 mg/kg/day of KBT-1585 for 3 months. No pathological changes. H. E. stain, $\times 50$.



には洞内の細網細胞の赤血球貧食像が認められた。

盲腸：雌雄の 625 mg/kg 投与群より重量増加がみられたが、病理組織学的には粘膜の出血、潰瘍といった所見は何ら認められなかった。

この他 5,000 mg/kg 投与群雌の脳の実重量、体重比重量増加、5,000 mg/kg 投与群雄の脳、5,000 mg/kg 投与群雌の肺および脾臓の実重量の増加、5,000 mg/kg 投与群雄の心臓、肺、精巣の体重比重量の増加を認めたが、これらの臓器を含め検査したいずれの臓器についても、特に薬物に基づくと考えられる組織学的変化は認められなかった (Photo. 1~5)。

III. 総括および考察

KBT-1585 をラットに連続投与した際、流涎、軟便、飲水量の増加などが一般症状として観察された。

流涎は投与期間を通じて投与時に散見されており、Bacampicillin で報告²⁾されていると同様、本薬物の有する特異な苦味に基づく反応と考えられた。

軟便や下痢は抗生物質を経口投与した際にしばしば観察される所見であることは周知の通りであり、薬物が腸内細菌叢に影響を与えた結果として発現するものと理解されている。KBT-1585 の投与でも、投与初期に軽度な軟便が観察されたが、最高用量でも下痢は認められなかった。

本試験でみられた重量増加を伴う盲腸の膨大も Imai³⁾、Savage⁴⁾ ならびに Murakami⁵⁾ により薬物の抗菌作用に伴って現われる変化と理解されているが、KBT-1585 の投与において病理組織学的に腸管への影響が全く認められていないことから、特に重篤な変化とは考えられなかった。

飲水量の増加は最低用量より認められたが上述のように著しい下痢は発現せず、また浮腫などの体液貯留も認められなかった。したがってこの飲水量の増加は尿量の増加を来しているものと推定されるが、尿排泄臓器としての腎臓には重量増加を認めたのみで、組織学的な異常は観察されなかった。さらに尿検査でも蛋白の排泄亢進など、尿管機能異常を示唆する変化はみられなかった。

尿検査では pH の低下が認められたが、KBT-1585 を投与した際に、尿中に排泄される Ampicillin, penicillic acid, 6-aminopenicillanic acid 等の酸性代謝物に基づいて発現した変化と考えられる。

血液化学検査ではグロブリン低下による血漿蛋白ならびに A/G 比の変化が認められたが、本所見は KBT-1585 と同様に Ampicillin 誘導体である Bacampicillin の投与でも観察され、薬物の抗菌作用によって生じた変化であるとの考察がなされている²⁾。また肝機能検査値には

これと相関する変化はなく、肝臓の組織学的検査でも変性、壊死等の変化は認められず、電顕の検索においても肝毒性を示唆する変化は認められていない。したがって、今回観察された所見も大量の抗菌剤投与時に発現する変化であり、本剤による特異的な異常所見とは考えられない。

病理形態学的検査では小葉中心性の肝細胞腫大と副腎皮質束状層、網状層の肥大が観察された。小葉中心性の肝細胞腫大は肝の重量増加を伴うものであったが、病的変化を示唆するものでないことは前述の通りである。このことから本所見は高濃度の薬物負荷の際、非特異的に観察される肝臓での代謝亢進に基づく可能性が示唆される。

KBT-1585 は Ampicillin 3 位の carboxyl 基の (5-methyl-2-oxo-1, 3-dioxolen-4-yl) methyl ester 体であり、ラット、イヌなどに経口投与した際、門脈血中には代謝産物として acetoin および 2, 3-butanediol が検出されることが明らかにされている⁷⁾。Gaunt ら⁸⁾ は acetoin をラットに 13 週間、飲料水に混じて与え、肝臓重量が増加することを報告している。しかしながら、病理学的な傷害を伴わず、彼らは大量の薬物負荷によるストレス、あるいは代謝負荷亢進に基づく適応性変化であると考察している。副腎重量の増加と皮質束状層、網状層の肥大は両側性に発現した変化であり、いわゆる過形成や腫瘍性の所見は認められなかった。また下垂体組織にも特記すべき変化は認められず、本所見も高濃度の薬物負荷に対する適合性の変化と理解される。なお血漿電解質では、Na 値、無機リン値の上昇、K 値、Cl 値の低下などの変化が観察されているが、前述のように腎臓など関連臓器には病理的な変化は特に認められていないことから、副腎につき観察された所見をも考慮にいと、臓器障害作用に基づく変化というよりは、やはり高濃度の薬物負荷に対する適応性の変化と考えられる。ちなみに、副腎皮質機能亢進時には血漿 Na 値は上昇し、K 値、Cl 値は低下することが知られており、また Carbenicillin などの penicillin 系抗生物質でも、大量投与時に K 値の低下がみられることが報告されている⁶⁾。

以上のように KBT-1585 をラットに連続経口投与した際に現われた変化としては、抗菌作用に基づくとみられるもの、あるいは高濃度の薬物負荷の際、非特異的に観察される適応性変化によるものが主であり、技術的に投与可能な最高用量である 5,000 mg/kg の投与でも動物の死亡はもちろん、薬物の累積投与に伴う臓器傷害作用も全く観察されず、KBT-1585 に特徴的な毒性を示唆する所見は認められなかった。

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) のマウス, ラットおよびイヌにおける急性毒性試験。Chemotherapy 投稿中。
- 2) 枝長正修, 北 敏郎, 奥田教隆, 堀添 宏: Bacampicillin hydrochloride の急性, 亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 27 (S-4): 17, 1979
- 3) IMAI, A.: Fecal flora and cecum weights in mice given validamycin A. Exp. Animals, 23: 215, 1974
- 4) SAVAGE, D. C. & DUBOS, R.: Alterations in the mouse cecum and its flora produced by antibacterial drugs. J. Exp. Med. 128: 97, 1963
- 5) MURAKAMI, H.: Morphological effects of the penicillin administration of the gastrointestinal tract of rats. Exp. Animals 20: 139, 1971
- 6) BANK, N. & W. B. SCHWARTZ: The influence of anion penetrating ability on urinary acidification and the excretion of titrable acid. J. Clin. Invest. 39: 1516, 1960
- 7) 第31回日本化学療法学会西日本支部総会, 新薬シンポジウム I。資料
- 8) GAUNT, I. F., BRANTOM, P. G. KISS, IDAS, GRASSO, P. & GANGOLLI, S. D.: Research section, short-term toxicity of acetoin (Acetylmethylcarbinol) in rats. Fd. Cosmet. Toxicol. 10: 131, 1972

3-MONTHS SUBACUTE ORAL TOXICITY STUDY OF LENAMPICILLIN HYDROCHLORIDE (KBT-1585) IN RATS

FUMIO OGINO, TAKASHI UNNO, HIDETARO TAKEBE, KIMIYAKI HIRAKAWA,
TETSUO IINO and TAKASHI NOSE
Pharmaceuticals Research Center, Kanebo, Ltd.
TAKUO AOYAMA
Research Laboratories, Torii & Co., Ltd.

Subacute toxicity study of Lenampicillin hydrochloride (KBT-1585) was performed by oral administration of a daily dose of 625, 1,250, 2,500 and 5,000 mg/kg to rats for 3 months, and the following results were obtained.

- 1) Salivation and soft feces were noted in general symptoms observation.
- 2) In male-5,000 mg/kg/day group, body weight gain was suppressed. The water intake increased in the groups given 625 mg/kg/day or more.
- 3) Urinary pH lowered in the groups given 1,250 mg/kg/day or more.
- 4) In the blood chemical findings, the decrease of total protein K⁺, and Cl⁻, cecum the increase of A/G ratio and Na⁺ were observed.
- 5) In pathological study, the increase of the weight in liver, kidney, cecum and adrenal gland was confirmed. The swelling of centrilobular hepatocyte and adrenal cortex was observed in pathomorphological examination.

In conclusion, no toxicological evidence such as death and damage to any organ by cumulative dosing were confirmed even in the group given 5,000 mg/kg/day.