

KW-1100 の安全性に関する研究 (第1報)

——マウス、ラット、イヌにおける急性毒性試験およびラット
における経口投与による亜急性毒性試験、慢性毒性試験——

西条 敬・西川 智・原 卓司・宮崎 英治・大黒 友路

協和醸酵工業株式会社安全性研究所

新規経口 penicillin 系抗生物質である KW-1100 のマウス、ラット、イヌにおける急性毒性試験、ラットにおける経口投与による30日間の亜急性毒性試験、180日間の慢性毒性試験を実施した。

- 1) 急性毒性試験における経口投与による LD₅₀ 値はマウスで雄 6.03 g/kg および雌 5.56 g/kg, ラットで雄 6.04 g/kg および雌 5.41 g/kg, イヌで雌雄共 3.22 g/kg であった。投与後の症状は自発運動の減少, 眼瞼下垂, 腹臥, 呼吸不整, 下痢などが性, 動物種に関係なく認められ, イヌではさらに嘔吐も認められた。
- 2) ラットの亜急性毒性試験での死亡発現用量は 1800 mg/kg であった。同用量で軟便, 流涎, 腹部膨満が認められ, 血液生化学的検査で血清蛋白の軽度減少, コレステロール, リン脂質, 総脂質および無機リンの軽度増加が認められた。病理組織学的検査で 1800 mg/kg に肝細胞の腫大および淡明化が軽度認められ, 600, 1800 mg/kg で肝細胞内に PAS 陽性物質が認められた。
- 3) ラットの慢性毒性試験においても軟便, 下痢, 血清中脂質の軽度増加, 肝細胞淡明化, 肝細胞内に PAS 陽性物質等が 200 および 400 mg/kg で認められ, 亜急性毒性試験と質的に同様な所見が認められた。

KW-1100 (Bacmecillinam) は Astra 社 (Sweden) で開発された新規経口 penicillin 系抗生物質である。グラム陰性菌, 特に *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. freundii*, *Enterobacter* に対して ABPC, AMPC, CBPC, CEX よりも優れた抗菌力を示す。また *E. coli*, *K. pneumoniae* の ABPC 耐性菌に対して交差耐性を示さず, 経口投与により, PMPC よりも高い血中濃度が得られ, 腸管吸収もすみやかであるなどの種々の特長を有している薬物である^{1,2)}。

著者らは, 本物質の安全性研究の一環としてマウス, ラット, イヌにおける急性毒性, ラット経口投与による30日間の亜急性毒性と180日間の慢性毒性試験を実施したので報告する。

I. 使用薬剤

KW-1100 は白色結晶性粉末で水に溶け易く Fig. 1 に示す構造を有している。全試験とも Lot No. F19 を使用した。

II. 急性毒性試験

1. 実験材料および方法

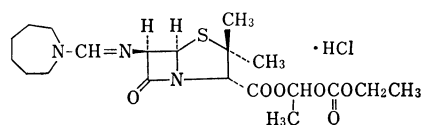
(1) 実験動物

動物はマウス, ラットおよびイヌを用いた。マウスは

静岡県実験動物農業協同組合より3.5週齢で購入した ICR 系で, 生後4週齢, 体重 20 ± 1 g に達したものを, ラットは同組合より4週齢で購入した Wistar 系で, 生後5週齢, 体重 100 ± 10 g (雌), 110 ± 10 g (雄) に達したものをそれぞれ1用量当り雌雄各々10匹使用した。イヌは米国 Laboratory Research Enterprise 産の Beagle 犬で, 生後8か月で購入し, 約1か月間予備飼育して体重約7~13 kg に達したものを1用量当り雌雄各々3頭使用した。

動物は, 温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$ に調節された飼育室に収容し, 飼料および水道水を自由に与えた (イヌに関しては1日1頭当り250gの制限給餌とした)。

Fig. 1 Chemical structure of KW-1100



1'-ethoxycarbonyloxyethyl 6 β-[(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-methyleneamino]-penicillanate hydrochloride

Table 1 LD₅₀ (g/kg) of KW-1100 in mice, rats and dogs.

Animal	Route	Male	Female
Mice (ICR)	p.o.	6.03 (5.57~6.51)	5.56 (5.10~6.07)
	i.p.	1.71 (1.43~2.03)	1.64 (1.47~1.82)
	s.c.	5.49 (4.71~6.39)	5.03 (4.21~6.01)
	i.v.	0.22 (0.19~0.25)	0.22 (0.19~0.24)
Rats (Wistar)	p.o.	6.04 (4.59~7.95)	5.41 (4.98~5.86)
	i.p.	0.95 (0.80~1.11)	0.91 (0.83~0.99)
	s.c.	5.01 (4.65~5.41)	4.50 (4.06~4.99)
	i.v.	0.11 (0.09~0.14)	0.11 (0.09~0.13)
Dogs (Beagle)	p.o.	3.22 (2.68~3.87)	3.22 (2.68~3.87)

Litchfield and Wilcoxon's method () 95% confidence limits

(2) 実験方法

投与は、マウスおよびラットでは経口(p. o. と略す)、腹腔内(i. p. と略す)、皮下(s. c. と略す)、静脈内(i. v. と略す)の投与経路で実施した。イヌは p. o. 投与で実施した。

KW-1100 は生理食塩液に溶解したものを、各投与経路とも1回投与した。i. v. の投与速度は、マウスおよびラットで0.1 ml/5sec. とした。

LD₅₀は観察期間14日間経過後の死亡率を求め、Litchfield and Wilcoxon 法により算出した。

2. 実験結果

(1) LD₅₀

マウス、ラット、イヌにおける各投与経路の LD₅₀ を Table 1 に示した。経口投与においてはマウス、ラット共に同程度、イヌがやや強い LD₅₀ を示した。性差は認められなかった。

(2) 一般症状

マウス：経口投与において投与後5分頃より自発運動の減少、呼吸不整が発現し、その後眼瞼下垂、失調性歩行、腹臥状態となり死亡した。啼鳴、跳躍様痙攣がみとめられる例もあった。生存例は上記の症状が軽度であり、投与後6~8時間から回復しはじめた。

i. p., s. c., i. v. 各投与とも p. o. とほぼ同様の症状で、性差も認められなかった。

ラット：各投与共マウスで認められた症状と同様であったが、さらに投与後数日で死亡した例では下痢が認められた。

イヌ：p. o. 投与において投与後5~15分頃から自発運動の減少、軽度の嘔吐、流涎等が認められ、その後腹臥あるいは横臥状態となり死亡した。生存例では腹臥状態が2時間半程持続後徐々に回復した。性差は認められ

なかった。

III. ラットによる亜急性毒性試験

1. 実験材料および方法

(1) 使用動物

静岡県実験動物農業協同組合産の Wistar 系ラット雌雄を生後約4週齢で購入し、1週間の予備飼育後、健康かつ順調な発育を示したものを実験に供した。動物は温度23±2℃、湿度55±5%に調節された飼育室に収容し、飼料(船橋農場製、マウス、ラット用固型飼料)と水を自由に摂取させた。

(2) 投与群の構成、投与方法

Table 2 に示した。予め実施した Dose 決定試験結果を参考にし、最高用量群として1800 mg/kg を、以下公比3で除した600, 200, 67 mg/kg を設定した。最低用量の67 mg/kg は臨床用量の約30倍に相当する。

投与は生理食塩液で用時調製された検体を30日間1日、1回一定時刻に強制的にラット用金属性胃ゾンデにて経口投与し、一部動物は回復の有無を観察するために30日間の休薬期間をおいた。Control は生理食塩液を投与した。

(3) 検査項目

1) 一般症状観察：投与期間中および休薬期間中、症状の観察を毎日、体重、飼料摂取量および飲水量を3日ごと、尿量を6日ごとに測定した。

2) 血液学的検査項目

投与期間終了後および回復期間終了後に16時間絶食し、採血して血液学的、血液生化学的検査を実施した。

① 赤血球数(Micro cell counter), ② Hb (Hemoglobin counter), ③ Ht (MCV-hemato counter), ④ 白血球数 (Micro cell counter), ⑤ 血小板数 (Micro cell counter), ⑥ 白血球百分比 (Microscopic counter), ⑦ プロトロンビン時間 (Quick 一段法), ⑧ 網状赤血球数

* (本試験における投与量はすべて力価表示である。)

Table 2 Experimental design and body weight change in rats treated orally with KW-1100 for 30 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death (Days of death)	Body weight (g)	
					Day 30	Day 60*
Male	Saline		20	0	216±13	287±13
	KW-1100	67	20	0	224±9	287±11
	KW-1100	200	20	0	228±14	284±21
	KW-1100	600	20	0	225±14	283±12
	KW-1100	1800	20	1 (28)	210±11	277±11
Female	Saline		20	0	150±7	181±10
	KW-1100	67	20	0	154±7	179±8
	KW-1100	200	20	0	154±8	179±8
	KW-1100	600	20	0	156±6	181±8
	KW-1100	1800	20	1 (27)	153±6	181±5

Mean ± Standard deviation
*, ** : Significantly different from control. *p<0.05, ** p<0.01
*: n=10 (Recovery test)

(BRECKER 法)。

3) 血液生化学的検査項目

①血清総蛋白 (Biuret 法), ② A/G 比 (Electrophoresis), ③ ALP (KIND-KING 法), ④ GOT, GPT (UV 法), ⑤血糖 (Glucoseoxidase-peroxidase 法), ⑥総脂質 (FRING 法), ⑦ Cholesterol (Cholesteroloxidase-peroxidase 法), ⑧ Triglyceride (Glyceroloxidase-peroxidase 法), ⑨リン脂質 (Phospholipase-cholineoxidase-peroxidase 法), ⑩ BUN (Urease-indophenol 法), ⑪ NPN (RAPPAFORT-UMEDA 法), ⑫無機リン (FISKE-SUBBAROW 法), ⑬電解質 (Na, K, Cl, 原子吸光分析法), ⑭ LDH (UV 法), ⑮ Creatinine (JAFTE 法), ⑯ Lysozyme (比濁法)。

4) 尿検査

代謝ケージを用い, 16時間蓄尿したものを用い, Labstix で潜血, pH, 蛋白, 糖, ケトン, Erma 屈折計で比重, 原子吸光計で Na, K, SCHALES-SCHALES 法で Cl, 比濁法で Lysozyme をそれぞれ測定した。

5) 病理学的検査

採血後放血屠殺し, 直ちに剖検を行ない心臓, 肺, 脾臓, 肝臓, 腎臓, 副腎, 胸腺, 脳, 下垂体, 卵巣, 子宮, 精巣, 前立腺, 精囊, 盲腸 (含内容物) の重量測定を行った。これらの臓器に加えて, 脾臓, 甲状腺, 骨髓, 胃, 小腸, 大腸, 腔, 乳腺, 耳下腺, 顎下腺, 腸間膜リンパ節, 顎下リンパ節, 眼球, ハーダー氏腺, 膀胱, 脊髓, 延髄, 上頸神経節, 皮膚をリン酸緩衝 10% ホルマリン液に固定後パラフィン切片を作り, HE 染色 (適宜 PAS その他の染色) をほどこし, 鏡検した。

6) 統計処理

統計学的解析の不可能なものを除く全データについて t-検定 (F 検定で等分散性が否定されるときは ASPIN-WELCH 法による近似検定) を行なった。

2. 実験成績

(1) 死亡率と一般症状観察

Fig. 2 Body weight changes in rats treated orally with KW-1100 for 30 days

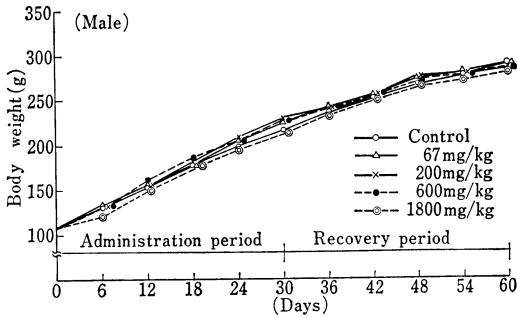
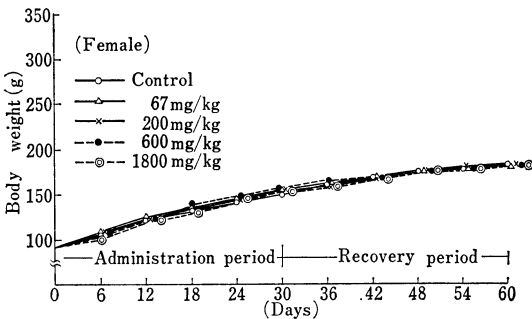


Fig. 3 Body weight changes in rats treated orally with KW-1100 for 30 days



死亡動物は1800 mg/kg 投与群の雌雄各1例に認められた(雄で投与後28日目, 雌で27日目)。600 mg/kg 以上で腹部膨満, 軽度の軟便, 流涎などが投与期間中認められたが, 休薬10日目頃にはそれらの所見は認められなくなった。体重変化において1800 mg/kg 投与群の死亡例を含む数例で体重増加抑制が認められたが, 統計学的に対照群との有意差は認められなかった(Table 2, Fig 2, 3)。飼料摂取量も対照群とKW-1100 投与群間に差はみとめられなかった。飲水量については600 mg/kg 以上で軽度の増加が認められ, 尿量も同様に軽度の増加が認められたが, 休薬によって回復傾向が認められた。

(2) 血液学的, 血液生化学的, 尿検査

検査結果をTable 3~6に示した。1800 mg/kg 投与群において白血球数の軽度増加が認められたが, 正常範囲内の変動であった。また主として1800 mg/kg 投与群で, 血清総蛋白の軽度減少, 無機リンの軽度増加, 600 mg/kg 以上の投与群で, Cholesterol, リン脂質, 総脂質の軽度増加, 尿pHの軽度低下が認められた。これらの諸変化は休薬後の検査では殆んど回復が認められた。

(3) 病理学的検査

1) 臓器重量

検査結果をTable 7~9に示した。1800 mg/kg 投与群で, 脾臓, 前立腺, 精囊, 胸腺の減少が軽度から中等度認められ, 肝臓では軽度増加が認められた(実重量および対体重比重量)。盲腸ではKW-1100 投与群にほぼ用量依存性をもって増加が認められた(実重量および対体重比重量)。これらの諸変化は休薬後の検査において回復が認められた。

2) 組織学的検査

検査結果をTable 10, Photo 1, 2に示した。

肝臓: 1800 mg/kg 投与群の雌雄において肝細胞の軽度腫大(Photo. 1)および軽度の淡明化が認められた。600 mg/kg 投与群の雄および1800 mg/kg 投与群の雌雄で肝細胞内にPAS陽性物質が用量依存性をもって認められた(Photo. 2)。これらの変化は休薬後検査では殆んど認められなかった。その他の臓器では1800 mg/kg 投与群で胃の粘膜下および筋層に炎症細胞浸潤が軽度認められたが, 臓器重量で変化の認められた脾臓, 副腎, 胸腺等は著変が認められなかった。

IV. ラットによる慢性毒性試験

1. 実験材料および方法

亜急性毒性試験とはほぼ同様の形式で実施し投与期間は180日間とした。投与量, 群構成および検査匹数はTable 11に示した。なお投与量の設定においては, 亜急性毒性試験結果を参考にした。

2. 実験成績

(1) 一般症状観察

死亡動物は全群認められなかった。症状においても重篤と思われる所見は認められず, 200 mg/kg 以上の投与群で軟便, 軽度の下痢が散発的に認められた。体重(Table 11, Fig 4, 5), 飼料摂取量に特記すべき変化は認められなかった。飲水量および尿量は200 mg/kg 以上の投与群で軽度の増加が認められた。

(2) 血液学的, 血液生化学的, 尿検査

検査結果をTable 12~15に示した。血液学的検査では特記すべき変化は認められなかった。200 mg/kg 以上の投与群の雄においてCholesterol, Triglyceride, リン脂質および総脂質に軽度増加が認められた。また, 200 mg/kg 投与群の雄および400 mg/kg 投与群の雌にLDHの軽度増加が認められた。尿検査では尿中Naの軽度増加が400 mg/kg 投与群の雄に, Clの軽度増加が200 mg/kg 以上の投与群の雄および400 mg/kg 投与群の雌に認められた。これら諸変化は休薬後の検査で回復が認められた。

(3) 病理学的検査

検査結果をTable 16~18, Photo. 3に示した。200 mg/kg 以上の投与群に肝臓重量の軽度増加, 400 mg/kg 投与群の雄で腎臓重量の軽度増加が認められた(実重量および対体重比重量)。またKW-1100 投与群に盲腸重量増加が用量依存性をもって認められた。これら諸変化のほとんどは休薬後検査で回復がみとめられたが, 盲腸重量は回復傾向が強く認められるものの, 完全な回復ではなかった。

2) 組織学的検査

検査結果をTable 19に示した。

肝臓: KW-1100 投与群に肝細胞の淡明化が用量依存性をもって認められたが(Photo. 3), 対照群にも同様に認められた。また200 mg/kg 以上の投与群(特に雄)に肝細胞内PAS陽性物質が認められた。これら諸変化は休薬後検査で回復が認められた。その他の臓器では心臓で心筋炎, 肺で炎症細胞浸潤および泡沫細胞の集簇などが, 対照薬, KW-1100 投与群に関係なく散見された。

V. 総括および考察

新規経口penicillin系抗生物質であるKW-1100の安全性に関する試験の一環として, マウス, ラット, イヌにおける急性毒性試験, ラットにおける30日間の亜急性毒性試験, 180日間の慢性毒性試験を実施した。急性毒性試験結果(LD₅₀)でマウス, ラットにおいて種差, 性差は認められなかったが, イヌはそれらよりやや強い毒性が認められた。各投与経路による差はi. v. が最も強

Table 3 Hematological findings in rats treated orally with KW-1100 for 30 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ⁴ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (10 ³ /mm ³)	Platelet (10 ⁴ /mm ³)	Prothrom- bin time (sec)	Reticulo- cyte (10 ⁴ /mm ³)	WBC Differential count (%)				
										Lymph.	Mono.	Baso.	Eosi.	Neut.
Male	Saline		863±38	16.0±0.5	49±1	69±7	74±5	14.4±0.7	3.7±0.5	86.8±1.9	0	0	0.7±0.6	12.4±1.8
	KW-1100	67	885±40	16.2±0.5	50±2	64±8	73±3	14.6±0.5	3.4±0.5	87.1±2.3	0	0	0.7±0.7	12.1±2.1
	KW-1100	200	859±35	15.8±0.4	49±2	68±9	75±3	14.0±0.4	3.7±0.5	89.3±1.9	0	0	0.8±0.6	9.8±1.7
	KW-1100	600	874±38	15.9±0.4	49±2	75±8	73±3	14.5±0.7	3.4±0.5	89.1±1.1	0	0	0.6±0.4	10.3±1.1
	KW-1100	1800	878±33	15.8±0.4	49±1	87±7	73±4	14.5±0.4	3.5±0.7	86.1±2.8	0	0	1.3±0.9	12.5±2.5
Female	Saline		804±33	15.9±0.2	46±2	56±7	74±4	14.4±0.6	4.5±0.5	86.2±1.7	0	0	1.4±0.8	12.4±1.5
	KW-1100	67	815±50	16.1±0.3	46±2	50±9	72±4	14.4±0.9	4.3±0.5	86.3±1.7	0	0	0.7±0.5	13.0±1.9
	KW-1100	200	830±40	16.0±0.4	47±2	47±7	71±2	14.6±0.4	4.0±0.7	87.4±2.2	0	0	1.0±0.7	11.6±1.9
	KW-1100	600	807±52	15.8±0.5	46±2	55±10	71±4	14.7±0.7	4.2±0.6	88.8±1.9	0	0	1.3±1.0	9.9±1.8
	KW-1100	1800	835±35	15.9±0.5	47±2	65±10	70±13	15.3±2.7	4.1±0.3	87.4±2.1	0	0	1.1±0.5	11.5±2.3

Mean ± Standard deviation
*, **:Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01

Table 4 Hematological findings in rats treated orally with KW-1100 for 30 days (Recovery test)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ⁴ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (10 ³ /mm ³)	Platelet (10 ⁴ /mm ³)	Reticulo- cyte (10 ⁴ /mm ³)	WBC Differential count (%)				
									Lymph.	Mono.	Baso.	Eosi.	Neut.
Male	Saline		942±37	16.1±0.4	51±2	74±13	72±3	2.7±0.6	84.0±3.5	0	0	0.8±0.6	15.2±3.5
	KW-1100	67	908±32	15.5±0.2	49±2 [*]	86±16	77±2 ^{**}	2.8±0.4	82.1±3.7	0	0	0.7±0.6	17.1±3.4
	KW-1100	200	911±31	15.8±0.3	49±2 [*]	87±16	74±4	2.8±0.5	83.3±3.2	0	0	0.8±0.6	15.8±3.0
	KW-1100	600	910±27	15.9±0.2	50±2	80±8	75±4 [*]	2.7±0.6	87.4±1.9	0	0	0.9±0.5	13.4±6.4
	KW-1100	1800	926±18	16.2±0.1	51±1	73±6	76±4 [*]	2.4±0.4	84.5±2.5	0	0	1.3±0.8	14.2±2.3
Female	Saline		831±29	15.5±0.3	47±1	54±9	73±6	3.6±0.5	82.6±4.7	0	0	0.8±0.7	16.5±4.9
	KW-1100	67	857±26	15.7±0.4	49±1 [*]	56±7	74±5	3.6±0.5	81.9±5.4	0	0	0.7±0.9	17.4±5.6
	KW-1100	200	824±33	15.4±0.4	47±1	51±8	73±5	3.9±0.3	82.8±5.0	0	0	1.3±0.9	15.9±4.8
	KW-1100	600	834±35	15.7±0.3	47±1	55±6	73±3	3.7±0.4	82.8±6.4	0	0	1.3±1.0	15.9±5.8
	KW-1100	1800	866±39	16.0±0.4	49±2	54±8	74±3	3.3±0.5	86.3±2.2	0	0	1.4±0.8	12.3±1.9

Mean ± Standard deviation
*, **: Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01

Table 5 Biochemical findings and urinalysis in rats treated orally with KW-1100 for 30 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Total protein (g/dl)	A/G	ALP (K.A. Unit)	GOT (IU)	GPT (IU)	BUN (mg/dl)	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)	Chole- sterol (mg/dl)	Phospho lipid (mg/dl)	Total lipid (mg/dl)	Inorga- nic phospho- rus (mg/dl)	Urine				
																Occult blood	pH	Protein (mg/dl)	Glucose	Ketones
Male	Saline		5.9±0.2	1.35±0.13	28.8±1.4	40±5	12±3	17.7±1.6	141±2	4.7±0.5	104±2	43±4	89±4	290±23	8.8±0.5	—	6.4±0.2	30±27	—	—
	KW-1100	67	5.9±0.1	1.36±0.13	30.1±2.6	42±3	13±2	17.5±1.9	141±1	4.6±0.4	103±1	48±3	95±5	298±21	8.5±0.6	—	6.4±0.2	30±27	—	—
	KW-1100	200	5.7±0.1	1.34±0.09	28.2±2.2	40±3	12±3	17.4±1.3	141±1	4.7±0.5	103±1	51±6	100±10	300±31	8.8±0.8	—	6.4±0.2	22±30	—	—
	KW-1100	600	5.6±0.1	1.36±0.11	26.6±3.1	41±5	12±3	17.4±1.5	141±1	4.6±0.4	103±2	54±7	108±12	330±27	8.8±1.1	—	6.1±0.2	62±87	—	—
	KW-1100	1800	5.1±0.1	1.37±0.11	25.0±2.6	41±9	16±5	15.7±1.0	141±1	4.6±0.3	103±1	58±7	109±8	324±22	9.6±0.3	—	6.0±0.0	44±40	—	—
Female	Saline		5.7±0.2	1.48±0.08	22.2±2.6	33±4	9±1	17.5±1.5	141±2	4.6±0.5	104±1	65±6	119±8	319±32	7.1±1.0	—	6.4±0.2	10±11	—	—
	KW-1100	67	5.7±0.2	1.45±0.11	21.8±3.4	35±3	11±3	17.2±1.7	142±2	4.6±0.5	104±1	69±10	127±17	339±48	7.3±0.7	—	6.3±0.3	8±8	—	—
	KW-1100	200	5.7±0.1	1.46±0.08	20.7±2.6	36±5	10±3	20.5±10.4	140±7	4.8±0.8	102±5	71±6	130±9	337±50	7.2±0.9	—	6.3±0.3	15±13	—	—
	KW-1100	600	5.4±0.2	1.44±0.06	19.7±1.6	37±4	9±3	17.2±2.8	141±1	4.5±0.5	104±1	69±10	135±20	343±46	7.6±0.9	—	6.2±0.3	13±12	—	—
	KW-1100	1800	5.1±0.3	1.44±0.11	21.3±1.6	38±5	14±4	18.9±2.7	142±3	5.0±0.5	104±2	64±10	126±18	372±100	8.8±0.8	—	6.0±0.0	88±118	—	—

Mean ± Standard deviation

*, ** : Significantly different from control *p<0.05, ** p<0.01

Table 6 Biochemical findings and urinalysis in rats treated orally with KW-1100 for 30 days (Recovery test)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Total protein (g/dl)	A/G	ALP (K.A.) (Unit)	GOT (IU.)	GPT (IU.)	BUN (mg/dl)	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)	Chole- sterol (mg/dl)	Phospho lipid (mg/dl)	Total lipid (mg/dl)	Inorga- nic phospho- rus (mg/dl)	Urine				
																Occult blood	pH	Protein (mg/dl)	Glucose	Ketones
Male	Saline		6.4±0.3	1.13±0.07	25.0±4.2	38±3	14±2	17.6±1.5	142±1	5.1±0.7	104±1	49±3	97±5	261±26	7.1±0.4	—	6.4±0.2	27±28	—	—
	KW-1100	67	6.1±0.3	1.10±0.09	20.8 [*] ±3.6	39±3	14±2	18.3±1.2	141±2	4.8±0.3	104±2	50±7	95±12	256±29	7.1±0.5	—	6.3±0.3	27±28	—	—
	KW-1100	200	6.2±0.2	1.13±0.07	22.5±5.1	38±6	15±3	17.8±0.8	142±1	4.6±0.4	104±1	49±4	92±8	242±16	7.1±0.8	—	6.3±0.3	18±13	—	—
	KW-1100	600	6.1±0.2	1.13±0.05	22.0±5.3	37±4	13±2	18.2±1.6	141±1	4.7±0.4	104±1	49±5	92±8	244±12	7.1±0.2	—	6.3±0.4	23±12	—	—
	KW-1100	1800	6.2±0.2	1.17±0.05	23.0±4.2	37±3	12±2	18.8±1.3	142±1	4.8±0.4	104±2	46±5	91±6	238±15	7.3±0.4	—	6.3±0.3	16±13	—	—
Female	Saline		6.2±0.2	1.35±0.15	16.3±2.6	35±4	12±3	18.1±1.7	142±1	4.6±0.5	104±1	83±11	151±20	315±38	5.6±0.9	—	6.1±0.2	20±30	—	—
	KW-1100	67	6.2±0.1	1.31±0.06	16.4±1.7	35±4	10±2	18.1±2.0	142±1	4.4±0.3	105±1	74±8	137±12	291±17	5.3±0.5	—	6.3±0.3	20±30	—	—
	KW-1100	200	6.2±0.2	1.30±0.09	13.1 [*] ±2.0	36±4	11±2	19.7±5.4	142±2	4.7±0.5	104±1	77±10	141±19	294±28	5.4±0.6	—	6.3±0.3	10±11	—	—
	KW-1100	600	6.2±0.2	1.34±0.10	16.6±2.4	35±3	10±2	17.5±1.7	142±2	4.6±0.2	104±1	79±11	144±17	308±38	5.6±0.7	—	6.3±0.3	13±12	—	—
	KW-1100	1800	6.1±0.2	1.34±0.10	16.2±2.4	33±4	9±2	18.2±1.8	142±1	4.6±0.3	105±1	78±8	142±14	305±24	5.9±0.9	—	6.1±0.2	13±13	—	—

Mean ± Standard deviation

*, ** : Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01

Table 7 Organ weights of rats treated orally with KW-1100 for 30 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lungs (g)	Spleen (g)	Liver (g)	Kidney (Right) (g)	Testis or Ovary (mg) (Right)	Prostate or Uterus (g)	Adrenal (Right) (mg)	Hypo-physis (mg)	Caecum (g)
Male	Saline		1.63±0.08	0.30±0.05	0.67±0.06	0.77±0.06	0.45±0.04	6.17±0.49	0.71±0.05	1.22±0.09	0.12±0.05	17±2	6±1	3.01±0.71
	KW-1100	67	1.65±0.05	0.29±0.05	0.68±0.05	0.80±0.04	0.46±0.03	6.38±0.53	0.73±0.06	1.21±0.10	0.12±0.03	17±1	6±1	4.68±0.90
	KW-1100	200	1.62±0.06	0.33±0.03	0.69±0.05	0.79±0.07	0.47±0.05	6.52±0.68	0.77±0.06	1.19±0.18	0.14±0.05	16±2	6±1	5.54±1.09
	KW-1100	600	1.65±0.05	0.31±0.05	0.67±0.04	0.76±0.06	0.46±0.04	6.66±0.75	0.75±0.06	1.19±0.10	0.14±0.06	18±2	6±1	7.59±1.92
Female	KW-1100	1800	1.59±0.04	0.25±0.05	0.62±0.09	0.73±0.05	0.40±0.04	6.79±0.66	0.71±0.05	1.11±0.18	0.07±0.04	20±3	6±1	13.62±1.74
	Saline		1.53±0.04	0.28±0.04	0.49±0.04	0.61±0.03	0.36±0.03	4.14±0.36	0.51±0.02	34±5	0.25±0.09	20±2	7±1	2.43±0.45
	KW-1100	67	1.55±0.02	0.27±0.04	0.47±0.02	0.63±0.05	0.35±0.02	4.30±0.34	0.53±0.03	35±5	0.24±0.04	20±3	8±2	3.09±0.67
	KW-1100	200	1.54±0.05	0.27±0.04	0.47±0.05	0.60±0.05	0.35±0.03	4.21±0.33	0.53±0.04	34±5	0.25±0.10	20±3	7±1	3.79±0.96
Female	KW-1100	600	1.55±0.04	0.30±0.05	0.48±0.03	0.62±0.06	0.35±0.04	4.34±0.35	0.54±0.04	35±6	0.31±0.16	22±2	7±1	5.36±1.17
	KW-1100	1800	1.51±0.04	0.23±0.03	0.44±0.05	0.60±0.07	0.31±0.03	4.67±0.31	0.54±0.02	31±7	0.20±0.08	24±3	7±2	10.40±1.87

Mean ± Standard deviation

*, ** : Significantly different from control * p< 0.05, ** p < 0.01

Table 8 Relative organ weights of rats treated orally with KW-1100 for 30 days (mg/100g body weight)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain	Thymus	Heart	Lungs	Spleen	Liver	Kidney (Right)	Testis or Ovary (Right)	Prostate or Uterus	Adrenal (Right)	Hypo-physis	Caecum
Male	Saline		756±28	139±21	311±22	356±15	210±12	2849±128	329±10	564±29	57.0±24.2	7.9±1.2	2.8±0.5	1392± 330
	KW-1100	67	737±29	132±24	306±14	361±24	206±11	2852±155	329±11	542±37	53.1±14.2	7.5±0.5	2.8±0.5	2089± 361
	KW-1100	200	715±53	144±14	304±11	349±31	208±12	2860±134	337±16	521±20	62.2±20.9	7.1±0.8	2.7±0.3	2436± 469
	KW-1100	600	735±42	139±22	298±11	340±16	205±13	2958±192	334±13	530±30	59.9±25.6	7.9±1.4	2.8±0.5	3398± 896
Female	KW-1100	1800	765±47	121±25	296±29	348±27	190±14	3241±148	340±17	526±64	33.3±18.0	9.5±1.4	2.6±0.5	6549± 994
	Saline		1022±57	187±25	326±25	408±27	238±14	2756±138	344±17	22.8±3.0	162±56	13.5±1.6	4.7±0.7	1620± 305
	KW-1100	67	1011±56	175±27	307±18	413±27	228± 9	2794±161	344±18	23.1±3.7	155±28	13.3±1.7	5.2±1.1	2014± 463
	KW-1100	200	996±42	173±25	302±19	390±23	230±20	2726± 92	341±19	22.2±2.9	162±60	13.1±1.7	4.4±0.7	2454± 619
Female	KW-1100	600	993±40	191±28	305±17	398±29	223±18	2777±167	346±14	22.2±3.7	197±99	14.4±1.4	4.7±0.8	3453± 809
	KW-1100	1800	991±47	152±16	285±21	395±38	204±12	3057±127	353±13	20.4±3.9	131±49	15.5±1.6	4.3±0.9	6845±1369

Mean ± Standard deviation

*, ** : Significantly different from control * p< 0.05, ** p< 0.01

Table 9 Organ weights and relative organ weights of rats treated orally with KW-1100 for 30 days (Recovery test)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Thymus		Spleen		Liver		Prostate or Uterus		Caecum	
			(g)	(mg/100g B.W.*)	(g)	(mg/100g B.W.)	(g)	(mg/100g B.W.)	(g)	(mg/100g B.W.)	(g)	(mg/100g B.W.)
Male	Saline		0.27±0.04	94±14	0.57±0.03	202±10	7.47±0.46	2622±129	0.22±0.07	78.2±25.9	3.31±0.60	1162±206
	KW-1100	67	0.27±0.04	94±12	0.60±0.03	209±13	7.81±0.48	2726±160	0.25±0.06	85.9±20.2	3.44±1.01	1194±324
	KW-1100	200	0.25±0.03	87±10	0.61±0.08	215±30	7.61±0.63	2683±183	0.23±0.07	79.8±25.2	3.75±1.12	1317±360
	KW-1100	600	0.25±0.05	89±18	0.58±0.05	205±11	7.44±0.51	2624±104	0.22±0.06	77.3±18.7	4.12±1.05*	1458±399
	KW-1100	1800	0.25±0.03	92±9	0.53±0.04*	193±10	7.95±0.60	2869±185**	0.24±0.07	87.1±26.3	3.75±0.62	1353±211
Female	Saline		0.25±0.03	138±14	0.40±0.03	224±15	4.68±0.40	2609±182	0.39±0.19	222±119	2.35±0.66	1306±330
	KW-1100	67	0.23±0.04	130±19	0.40±0.03	225±11	4.45±0.27	2489±88	0.38±0.10	212±47	2.11±0.38	1178±201
	KW-1100	200	0.25±0.03	138±12	0.41±0.03	229±14	4.66±0.26	2613±143	0.40±0.10	222±56	2.53±0.52	1414±268
	KW-1100	600	0.25±0.03	138±17	0.41±0.02	226±9	4.64±0.26	2565±91	0.46±0.17	254±98	2.30±0.65	1270±350
	KW-1100	1800	0.25±0.04	141±20	0.39±0.01	216±9	4.69±0.22	2595±114	0.36±0.11	202±61	2.48±0.45	1378±260

Mean ± Standard deviation

*, ** : Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01

* : Relative organ weight

Table 10 Histopathological findings in rats treated orally with KW-1100 for 30 days

Organ	Histopathological findings	Doses, Sex and No. of animals									
		Control		KW-1100 (mg/kg)							
				67		200		600		1800	
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver	Swelling of hepatocyte	+								5	1
		++								1	1
	Clearcytoplasm	+								3	
	PAS positive* deposit	+	2			2		1			1
Stomach		++						5		5	4
	Round cell infiltration	+								1	3
		++									2

+ : Very slight ++ : Slight +++ : Moderate
* : Five out of ten animals from each group was examined

Photo. 1 Liver: Slight swelling of hepatocyte
HE ×200
KW-1100 1800mg/kg

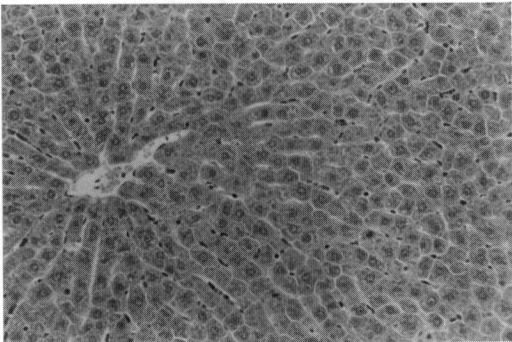
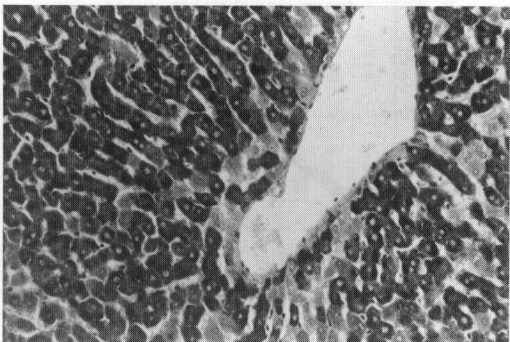


Photo. 2 Liver: Increased PAS positive deposition
PAS ×200
KW-1100 1800mg/kg



く、次いで i. p., s. c., p. o. の順となり、臨床適用経路が最も弱かった。p. o. における LD₅₀ 値は同系の経口薬剤^{2~4)}とほぼ同程度、投与後認められた自発運動の減少、眼瞼下垂、失調性歩行、呼吸不整、腹臥などの症状も同様であり、KW-1100 に特異的と思われる変化は認められなかった。

ラットにおける亜急性毒性試験では 1800 mg/kg 投与群で死亡が雌雄各 1 例、症状としては軟便、流涎および腹部膨満が認められた。死亡例では体重増加抑制が認められ、全身状態の悪化により死亡したと推察した。また同群で白血球数、血清総蛋白、無機リンおよび尿 pH などに変動が認められたが、その程度は軽度であり、殆んどが正常範囲内と思われる変動幅であった⁵⁾。組織学的検査において、肝細胞の軽度腫大および淡明化が 1800

mg/kg 投与群で認められ、さらに 600 mg/kg 以上の投与群では肝細胞内に PAS 陽性物質が認められた。これらの所見は dose response をもって認められていることから検体によるものと思われた。また PAS 陽性物質はジアスターゼ消化により消失することからグリコーゲンである可能性が高いと考えられた。しかし血液生化学的検査で肝毒性を示唆する所見は認められず、休薬後検査で回復していることから肝毒性を示唆する所見ではないと思われた。このような PAS 陽性物質沈着は BRL 25000⁶⁾, Sulbactam⁷⁾ でも認められており、本検体の特異的所見とは考えられなかった。

慢性毒性試験においては、亜急性毒性試験と同様に主として高用量群に軟便、下痢、血清中脂質の軽度増加、肝細胞の淡明化および PAS 陽性物質沈着等が認められ

Table 11 Experimental design and body weight change in rats treated orally with KW-1100 for 180 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	No. of animals	No. of death (Days of death)	Body weight (g)			
					Day 30	Day 90	Day 180	Day 200*
Male	Saline		15	0	231± 9	333±14	407±20	416±22
	KW-1100	22	15	0	229±12	334±26	413±36	422±26
	KW-1100	67	15	0	232±13	332± 13	407±20	411±15
	KW-1100	200	15	0	235±12	338± 17	416±22	424±13
	KW-1100	400	15	0	233±15	334±22	399±21	408±18
Female	Saline		15	0	143± 6	188± 7	216± 9	216± 6
	KW-1100	22	15	0	150 ^{**} ± 7	189± 9	216±10	218± 7
	KW-1100	67	15	0	150 [*] ± 7	189± 9	219±10	219±13
	KW-1100	200	15	0	152 ^{**} ± 8	193±11	220±13	219±20
	KW-1100	400	15	0	152 ^{**} ± 6	192± 8	218±10	217± 9

Mean ± Standard deviation *, ** : Significantly different from control

* p<0.05, ** p<0.01 *: n=5 (Recovery test)

Fig. 4 Body weight changes in rats treated orally with KW-1100 for 180 days

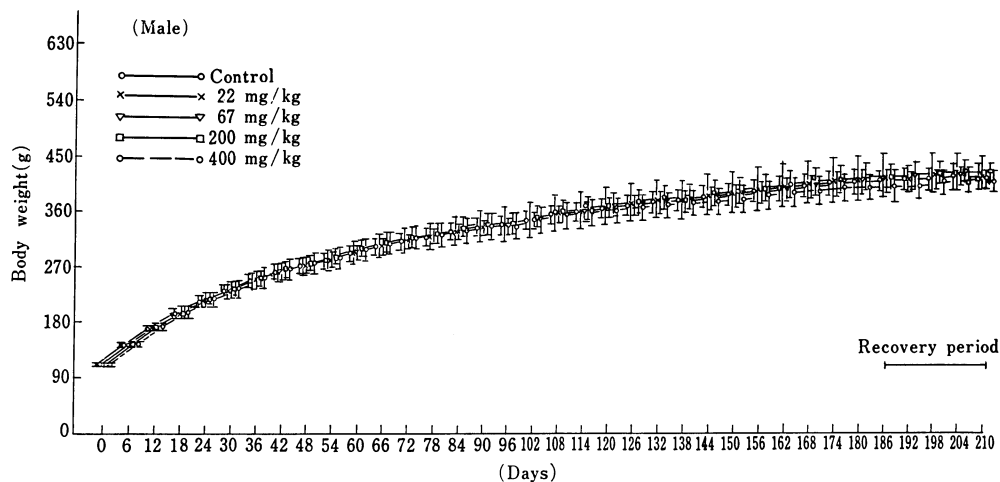


Fig. 5 Body weight changes in rats treated orally with KW-1100 for 180 days

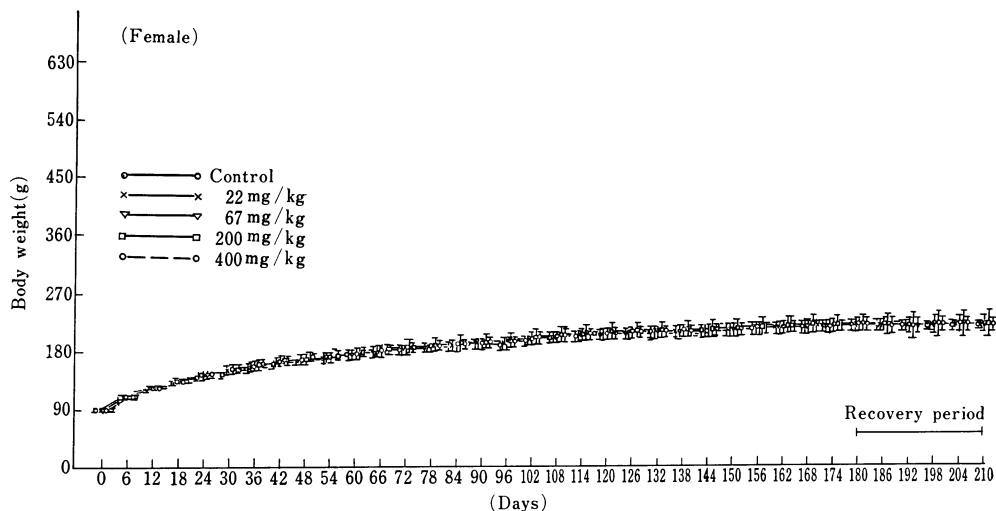


Table 12 Hematological findings in rats treated orally with KW-1100 for 180 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ³ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (10 ² /mm ³)	Platelet (10 ⁴ /mm ³)	Prothrom- bin time (sec)	Reticulo- cyto (10 ⁴ /mm ³)	WBC Differential count (%)				
										Lymph.	Mono.	Baso.	Eosi.	Neut.
Male	Saline		913±18	15.3±0.3	48±1	55±5	71±3	14.6±1.2	4.2±0.6	77.0±4.6	0	0	1.5±1.1	21.5±4.0
	KW-1100	22	917±16	15.3±0.3	48±1	57±5	69±2	14.3±1.1	3.9±0.4	77.1±5.2	0	0	1.7±1.2	21.2±5.3
	KW-1100	67	918±21	15.4±0.3	48±1	57±7	68±4	14.5±1.3	4.1±0.5	75.1±2.3	0	0	2.6±1.6	22.3±3.2
	KW-1100	200	921±23	15.5±0.3	49±1	56±11	67±2	14.1±0.9	4.0±0.5	74.7±3.9	0	0	2.4±1.4	22.9±4.8
	KW-1100	400	920±20	15.6±0.3	50±1	54±9	67±4	14.5±1.2	3.8±0.3	75.7±4.1	0	0.1±0.3	2.0±1.7	22.2±4.6
Female	Saline		847±26	15.2±0.4	48±2	36±2	65±2	12.6±1.4	4.5±0.5	80.0±4.8	0	0	1.9±1.1	18.1±4.7
	KW-1100	22	835±22	15.0±0.2	47±2	31±7	64±3	12.9±1.7	4.1±0.4	79.0±4.3	0	0	1.7±1.1	19.3±3.9
	KW-1100	67	850±25	15.3±0.4	48±1	38±5	64±3	12.4±1.8	4.4±0.4	76.2±3.9	0	0	1.8±0.9	22.0±4.0
	KW-1100	200	826±9	15.0±0.3	47±1	36±5	62±5	12.3±1.5	4.4±0.5	79.5±5.3	0	0	2.2±1.7	18.3±4.4
	KW-1100	400	830±19	15.0±0.3	47±1	34±4	62±3	12.0±1.5	4.5±0.4	78.6±4.9	0	0	2.3±1.1	19.1±4.7

Mean ± Standard deviation

*, ** : Significantly different from control *p<0.05, **p<0.01

Table 13 Hematological findings in rats treated orally with KW-1100 for 180 days (Recovery test)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	RBC (10 ³ /mm ³)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC (10 ² /mm ³)	Platelet (10 ⁴ /mm ³)	Prothrom- bin time (sec)	Reticulo- cyte (10 ⁴ /mm ³)	WBC Differential count (%)				
										Lymph.	Mono.	Baso.	Eosi.	Neut.
Male	Saline		922±21	15.4±0.3	48±1	50±8	69±5	15.8±0.6	3.9±0.4	75.5±1.4	0	0	3.4±1.5	21.1±1.3
	KW-1100	22	921±40	15.5±0.5	48±3	52±5	70±3	15.5±0.5	3.7±0.4	74.4±3.6	0	0	1.6±1.6	24.0±4.8
	KW-1100	67	907±23	15.5±0.3	48±1	48±8	68±4	15.9±0.6	4.0±0.7	78.0±2.5	0	0	1.6±1.5	20.4±3.5
	KW-1100	200	898±27	15.2±0.4	48±2	50±4	69±5	15.5±0.4	3.7±0.5	76.5±3.0	0	0	1.2±0.8	22.3±2.6
	KW-1100	400	908±21	15.7±0.3	49±2	49±8	67±3	15.6±0.5	4.2±0.5	75.9±4.7	0	0	1.6±1.1	22.4±5.2
Female	Saline		822±29	15.0±0.4	46±1	27±3	65±3	16.2±0.4	4.6±0.2	78.4±3.2	0	0	2.8±3.0	18.8±2.8
	KW-1100	22	830±19	14.9±0.3	46±1	27±2	63±1	16.0±0.4	4.6±0.6	80.3±5.1	0	0	1.0±0.7	18.6±5.4
	KW-1100	67	852±26	15.5±0.6	47±2	32±6	64±2	16.6±0.5	4.5±0.2	81.0±5.6	0	0	2.2±1.3	16.8±5.5
	KW-1100	200	847±46	15.3±0.5	47±3	32±2 [*]	65±5	16.3±0.4	4.0±0.4	77.5±5.2	0	0	1.7±1.6	20.8±4.3
	KW-1100	400	841±27	15.3±0.4	47±2	29±2	64±5	17.3±1.7	4.1±0.4	81.2±1.5	0	0	1.2±1.3	17.6±2.1

Mean ± Standard deviation

*, ** :Significantly different from control *p<0.05, ** p<0.01

Table 14 Biochemical findings and urinalysis in rats treated orally with KW-1100 for 180 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Total protein (g/dl)	A/G	ALP K.A. _n (Unit)	GOT (IU.)	GPT (IU.)	BUN (mg/dl)	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)	Chole- sterol (mg/dl)	Trigly- ceride (mg/dl)	Phospho- lipid (mg/dl)	Total lipid (mg/dl)	Inorga- nic phospho- rus (mg/dl)	LDH (IU.)	Urine				
																		Occult blood	pH	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)
Male	Saline		6.4 ±0.1	1.14 ±0.07	14.7 ±1.6	56 ±10	27 ±5	16.1 ±0.8	140 ±2	4.4 ±0.3	102 ±2	68 ±9	122 ±35	126 ±13	366 ±43	5.2 ±0.4	602 ±121	—	6.2 ±0.4	43 ±14	115 ±35	81 ±31
	KW-1100	22	6.3** ±0.1	1.12 ±0.05	16.1 ±1.6	58 ±11	27 ±7	16.7 ±0.9	140 ±2	4.5 ±0.4	101 ±2	71 ±8	131 ±42	131 ±9	378 ±40	5.0 ±0.2	659 ±144	—	6.2 ±0.2	48 ±19	112 ±26	78 ±25
	KW-1100	67	6.2** ±0.1	1.14 ±0.06	13.6 ±1.7	56 ±14	23 ±5	16.4 ±0.7	139 ±1	4.5 ±0.2	101 ±2	73 ±6	120 ±35	132 ±11	372 ±40	5.1 ±0.4	697* ±49	—	6.0 ±0.2	51 ±9	111 ±28	95 ±26
	KW-1100	200	6.3 ±0.2	1.15 ±0.06	12.4** ±1.0	65 ±12	26 ±5	15.6 ±1.0	140 ±2	4.4 ±0.2	101* ±2	85** ±6	174** ±38	155** ±13	464* ±46	5.1 ±0.5	786* ±174	—	6.1 ±0.3	56* ±14	126 ±21	125** ±23
	KW-1100	400	6.2** ±0.2	1.16 ±0.05	13.2 ±2.9	49 ±11	23 ±7	15.3* ±0.8	140 ±2	4.7 ±0.4	100** ±1	84* ±16	167** ±34	154** ±16	455** ±46	5.4 ±0.7	524 ±81	—	5.9 ±0.7	71** ±20	142 ±47	143* ±47
Female	Saline		6.6 ±0.2	1.37 ±0.10	10.1 ±1.8	39 ±9	14 ±3	17.4 ±1.8	139 ±2	4.2 ±0.2	102 ±3	109 ±14	65 ±15	194 ±17	439 ±51	3.4 ±0.7	329 ±104	—	5.9 ±0.7	39 ±17	125 ±61	91 ±30
	KW-1100	22	6.6 ±0.3	1.45* ±0.07	10.3 ±2.0	51 ±21	18 ±7	17.6 ±0.9	140 ±2	4.2 ±0.4	102 ±1	117 ±6	64 ±11	208* ±13	467 ±34	3.7 ±0.6	457* ±99	—	5.8 ±0.5	33 ±13	99 ±40	84 ±39
	KW-1100	67	6.5 ±0.3	1.36 ±0.09	11.5 ±2.5	40 ±15	14 ±4	17.1 ±1.1	139 ±2	4.2 ±0.4	102 ±1	116 ±12	77 ±13	207 ±12	474 ±39	3.7 ±0.4	441* ±112	—	5.8 ±0.5	44 ±12	127 ±48	87 ±39
	KW-1100	200	6.4 ±0.3	1.37 ±0.13	8.0** ±1.3	40 ±23	13 ±7	16.8 ±0.9	138 ±2	4.1 ±0.3	101 ±2	121 ±13	79* ±15	217* ±22	464 ±43	3.4 ±0.7	401 ±104	—	5.6 ±0.4	44 ±14	110 ±32	106 ±40
	KW-1100	400	6.2** ±0.3	1.29 ±0.07	9.0 ±1.9	38 ±11	13 ±5	16.5 ±1.0	139 ±2	4.4 ±0.4	102 ±1	109 ±12	75 ±15	203 ±21	460 ±40	4.0 ±0.9	477* ±187	—	6.0 ±0.4	45 ±18	107 ±44	157** ±62

Mean ± Standard deviation
*, ** : Significantly different from control * p < 0.05, ** p < 0.01

Table 15 Biochemical findings and urinalysis in rats treated orally with KW-1100 for 180 days (Recovery test)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Total protein (g/dl)	A/G	ALP (K.A. Unit)	GOT (IU.)	GPT (IU.)	BUN (mg/dl)	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)	Chole- sterol (mg/dl)	Trigly- ceride (mg/dl)	Phospho lipid (mg/dl)	Total lipid (mg/dl)	Inorga- nic phospho- rus (mg/dl)	LDH (IU.)	Urine				
																		Occult blood	pH	Na (meq/l)	K (meq/l)	Cl (meq/l)
Male	Saline		6.4 ±0.2	1.16 ±0.07	16.0 ±2.2	65 ±13	28 ±5	17.2 ±0.4	139 ±1	4.7 ±0.3	103 ±1	65 ±5	104 ±25	114 ±6	304 ±25	5.2 ±0.1	805 ±80	—	5.8 ±0.3	16 ±4	147 ±23	36 ±5
	KW-1100	22	6.4 ±0.1	1.16 ±0.06	15.1 ±3.6	58 ±12	24 ±4	18.3 ±1.1	139 ±1	4.5 ±0.2	103 ±1	66 ±8	115 ±8	111 ±5	312 ±23	5.1 ±0.4	796 ±183	—	5.9 ±0.2	11 ±6	145 ±33	41 ±16
	KW-1100	67	6.3 ±0.2	1.12 ±0.08	13.6 ±2.7	67 ±15	27 ±7	17.7 ±0.9	140 ±0	4.7 ±0.4	103 ±1	69 ±4	95 ±17	112 ±6	300 ±25	5.1 ±0.2	804 ±136	—	5.8 ±0.3	9* ±3	131 ±44	34 ±6
	KW-1100	200	6.4 ±0.2	1.13 ±0.05	13.8 ±1.3	66 ±6	27 ±5	18.3 ±1.2	140 ±1	4.4 ±0.1	103 ±1	67 ±5	111 ±26	111 ±6	306 ±29	5.3 ±0.1	771 ±168	—	6.1 ±0.2	8* ±4	143 ±57	32 ±12
	KW-1100	400	6.5 ±0.2	1.19 ±0.06	12.2* ±1.8	71 ±5	30 ±3	18.5 ±1.5	139 ±1	4.9 ±0.4	103 ±1	71 ±8	87 ±15	113 ±12	296 ±33	5.6* ±0.3	777 ±90	+	6.0 ±0.4	7* ±6	124 ±50	33 ±13
Female	Saline		6.8 ±0.2	1.32 ±0.09	9.9 ±0.5	41 ±13	16 ±4	19.7 ±1.4	139 ±1	4.7 ±0.7	105 ±1	120 ±13	65 ±7	200 ±16	418 ±34	4.0 ±0.6	427 ±93	—	5.9 ±0.2	25 ±25	148 ±57	58 ±29
	KW-1100	22	6.9 ±0.3	1.47* ±0.40	10.8 ±1.4	36 ±5	13 ±2	17.5 ±2.0	139 ±1	4.3 ±0.3	105 ±1	114 ±11	64 ±10	198 ±18	415 ±40	3.0* ±0.6	394 ±104	—	6.1 ±0.2	8 ±6	104 ±52	41 ±21
	KW-1100	67	6.9 ±0.3	1.40 ±0.13	11.5 ±1.7	43 ±16	15 ±8	18.5 ±1.8	139 ±1	4.5 ±0.2	103 ±2	112 ±8	69 ±7	195 ±15	413 ±25	4.0 ±0.6	408 ±112	—	6.2 ±0.3	8 ±4	89 ±53	25* ±10
	KW-1100	200	6.9 ±0.1	1.38 ±0.10	11.3** ±0.7	37 ±8	14 ±4	18.9 ±1.8	139 ±1	4.3 ±0.5	105 ±1	111 ±14	65 ±10	193 ±17	412 ±30	3.9 ±0.6	421 ±41	—	6.2 ±0.3	29 ±27	161 ±85	66 ±44
	KW-1100	400	6.8 ±0.2	1.37 ±0.07	11.0 ±2.5	41 ±15	15 ±4	18.5 ±1.8	139 ±1	5.1 ±1.1	104 ±1	115 ±5	72 ±9	198 ±9	446 ±17	4.0 ±0.4	539 ±278	—	6.5 ±0.9	20 ±19	148 ±58	62 ±35

Mean ± Standard deviation
*, ** : Significantly different from control * p < 0.05, ** p < 0.01

Table 16 Organ weights of rats treated orally with KW-1100 for 180 days

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Lungs (g)	Spleen (g)	Liver (g)	Kidney (Right) (g)	Testis (g) or Ovary (mg) (Right)	Adrenal (Right) (mg)	Caecum (g)
Male	Saline		1.83±0.05	0.20±0.04	0.99±0.04	1.33±0.17	0.73±0.06	9.71±0.71	1.07±0.05	1.51±0.06	19±2	3.60±0.68
	KW-1100	22	1.81±0.06	0.20±0.05	1.02±0.13	1.31±0.20	0.71±0.07	10.10±1.39	1.10±0.14	1.47±0.10	19±2	4.37±0.59
	KW-1100	67	1.84±0.06	0.20±0.07	1.00±0.06	1.34±0.18	0.70±0.06	10.15±0.69	1.12±0.07	1.46±0.08	19±2	5.00±0.97
	KW-1100	200	1.83±0.05	0.20±0.05	0.99±0.04	1.22±0.17	0.70±0.04	11.32±0.76	1.10±0.04	1.51±0.07	20±3	4.52±1.23
Female	KW-1100	400	1.82±0.03	0.19±0.03	0.99±0.06	1.18±0.18	0.69±0.06	11.35±0.83	1.16±0.08	1.50±0.05	22±3	7.37±1.23
	Saline		1.65±0.08	0.16±0.04	0.58±0.04	0.86±0.07	0.43±0.04	5.00±0.40	0.62±0.04	43±8	22±3	2.39±0.59
	KW-1100	22	1.70±0.04	0.16±0.03	0.60±0.04	0.88±0.08	0.42±0.02	5.03±0.34	0.63±0.05	42±5	22±2	3.06±0.51
	KW-1100	67	1.68±0.04	0.16±0.03	0.60±0.04	0.87±0.08	0.42±0.04	5.09±0.34	0.64±0.05	41±6	22±3	2.98±0.45
	KW-1100	200	1.68±0.07	0.16±0.03	0.61±0.05	0.88±0.15	0.44±0.03	5.56±0.37	0.64±0.05	44±9	23±2	3.38±0.58
	KW-1100	400	1.66±0.05	0.15±0.03	0.61±0.08	0.85±0.07	0.42±0.02	5.56±0.32	0.64±0.05	43±4	23±2	3.90±0.96

Mean ± Standard deviation
*, **: Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01

Table 17 Relative organ weights of rats treated orally with KW-1100 for 180 days (mg/100g body weight)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Brain	Thymus	Heart	Lungs	Spleen	Liver	Kidney (Right)	Testis or Ovary (Right)	Adrenal (Right)	Caecum
Male	Saline		451±24	48±10	243±8	325±35	180±12	2383±116	263±10	371±20	4.8±0.5	880±137
	KW-1100	22	442±38	47±8	247±19	319±41	171±6	2444±120	266±12	357±31	4.5±0.3	1069±179
	KW-1100	67	453±18	50±17	244±6	328±38	172±11	2493±99	276±10	360±19	4.6±0.5	1229±233
	KW-1100	200	441±28	47±12	238±13	294±44	168±8	2724±84	264±11	365±23	4.7±0.8	1088±297
Female	KW-1100	400	458±23	47±8	247±14	295±34	173±8	2843±87	290±10	377±19	5.5±0.7	1847±279
	Saline		765±40	74±17	267±17	398±26	200±16	2310±138	286±17	20.0±3.9	10.2±1.3	1103±258
	KW-1100	22	789±33	74±16	278±15	410±26	193±7	2340±104	293±11	19.5±2.2	10.4±1.2	1423±213
	KW-1100	67	767±32	72±10	276±14	399±46	194±17	2325±116	291±20	18.7±2.7	10.0±1.3	1366±227
	KW-1100	200	766±45	73±14	277±22	404±66	199±15	2537±106	294±16	20.2±3.8	10.6±0.8	1547±279
	KW-1100	400	765±43	68±13	281±39	393±42	195±14	2562±98	294±15	20.0±1.8	10.8±1.3	1802±452

Mean ± Standard deviation
*, **: Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01

Table 18 Organ weights and relative organ weights of rats treated orally with KW-1100 for 180 days (Recovery test)

Sex	Drug	Dose (mg/kg)	Liver		Kidney (Right)		Spleen		Caecum	
			(g)	(mg/100gB.W.*)	(g)	(mg/100gB.W.)	(g)	(mg/100gB.W.)	(g)	(mg/100gB.W.)
Male	Saline		9.58±0.68	2303±59	1.10±0.04	265±12	0.72±0.05	175±15	3.37±0.42	812±113
	KW-1100	22	9.90±1.15	2339±142	1.12±0.07	265±8	0.73±0.07	174±11	4.19±0.83	992±191
	KW-1100	67	9.55±0.67	2320±103	1.06±0.08	257±17	0.72±0.07	175±12	4.09±0.58	993±112
	KW-1100	200	10.31±0.83	2427±124	1.13±0.04	266±7	0.79±0.07	185±12	4.26±0.46	1006±135
	KW-1100	400	10.02±0.64	2456±69	1.13±0.01	277±10	0.78±0.09	192±17	4.20±0.50	1030±130
Female	Saline		5.13±0.28	2370±116	0.67±0.04	309±23	0.48±0.04	223±16	2.59±0.40	1199±200
	KW-1100	22	5.03±0.34	2312±161	0.66±0.05	301±21	0.43±0.02	197±8	2.45±0.11	1128±86
	KW-1100	67	5.10±0.69	2324±195	0.64±0.04	294±14	0.44±0.05	202±13	2.73±0.42	1254±225
	KW-1100	200	5.22±0.64	2380±109	0.64±0.08	293±20	0.45±0.05	208±19	2.68±0.36	1224±126
	KW-1100	400	5.35±0.27	2474±92	0.64±0.05	297±16	0.49±0.07	225±30	2.85±0.59	1317±268

Mean ± Standard deviation
*, **, *** : Significantly different from control * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001
* : Relative organ weight

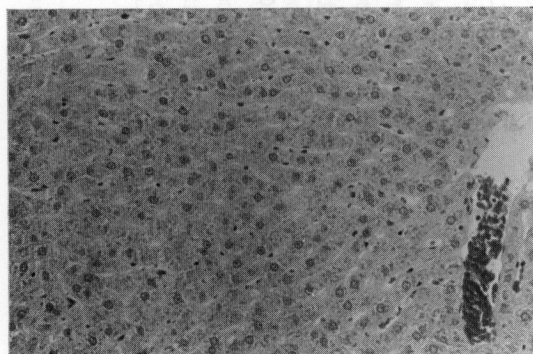
Table 19 Histopathological findings in rats treated orally with KW-1100 for 180 days

Organ	Histopathological findings	Doses, Sex and No. of animals										
		Saline		KW-1100 (mg/kg)								
				22		67		200		400		
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Heart	Myocarditis	+	4	2	4		2	4		3	1	
		++	3		2		3	4		3		
Lung	Foam cell aggregate	+	1	1	3	1	3	2	1	1	2	
		++			1	2	1		1			
	Round cell infiltration	+	1		2	1	2	1	2	1	3	
Liver	Clearcytoplasm	+	3		5		5		4	3	6	5
		++					2		4		3	
		+++									1	
	PAS positive* deposit	+	3				4					5
		++					1		5		1	
		+++								4		

+ : Very slight ++ : Slight +++ : Moderate M : Male, F : Female

* : Five out of ten animals from each group was examined

Photo. 3 Liver : Slight clear-cytoplasm
HE ×200
KW-1100 400mg/kg



たが、これらの諸変化は休薬後検査で回復が認められた。また腎臓の変化は慢性毒性試験で臓器重量の軽度増加が認められただけで、血液生化学的検査および病理組織学的検査で腎毒性を示唆する所見は認められなかった。

以上の毒性試験結果より本検体の毒性は弱く、既存の経口 penicillin 剤とほぼ同程度と推察された。

文 献

- JOSEFSSON K; T. BERGAN, L. MAGNI, B. G. PRING & D. WESTERLUND : Pharmacokinetics of bacmecillinam and pivmecillinam in volunteers. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 23 (3) : 249~252, 1982
- 第24回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム。Pivmecillinam, 1976
- 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) : 17~29, 1979
- 増田 裕, 鈴木善雄, 此木 丘 : Pivampicillin の実験動物に対する毒性試験。 *Chemotherapy* 22 : 357~387, 1974
- 長瀬すみ, 田中寿子 : 実験動物の臨床生化学データ, 36~40頁, ソフトサイエンス社, 1976
- 幸嶋祥亘, 倉片康雄, 日浦謙一郎, 芝田敏勝, T. L. HARDY : BRL 14151 K および BRL 25000 の急性毒性および亜急性毒性試験。 *Chemotherapy* 31 : 113~141, 1983
- 第30回日本化学療法学会総会, 新薬シンポジウム。Sulbactam/Cefoperazone, 1982

SAFETY EVALUATION OF KW-1100 (I)

ACUTE TOXICITY IN MICE, RATS AND DOGS AND SUBACUTE AND CHRONIC TOXICITY IN RATS

TAKASHI SAIJYO, SATOSHI NISHIKAWA, TAKUJI HARA,
HIDEHARU MIYAZAKI and YUJI OHGURO
Safety Research Laboratory, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.

Acute, subacute and chronic toxicities of KW-1100 (Bacmecillinam hydrochloride), a new orally active mecillinam derivative, were studied in mice, rats and dogs.

1) Acute toxicity test

The LD₅₀ values in mice, rats and dogs given orally were 6.03 g/kg (male) and 5.56 g/kg (female), 6.04 g/kg (male) and 5.41 g/kg (female), 3.22 g/kg (male and female), respectively.

2) Subacute toxicity test

Four groups of rats, 20 males and 20 females in each, were given KW-1100 orally every day for 30 days. The dose levels were 67, 200, 600 and 1800 mg/kg. Another group of rats served as a control and received saline.

One male and 1 female rats receiving 1800 mg/kg were found dead in day 27 and 28 probably on account of prostration.

Loosed feces and salivation were observed in high dose groups.

The hematology, blood chemistry and urine analysis did not indicate any damage caused by the treatment.

The pathological examination revealed that slight swelling, clear-cytoplasm and PAS positive deposition of hepatocytes in high dose group.

3) Chronic toxicity test

Four groups of rats, 15 males and 15 females in each, were given KW-1100 orally for 180 days. The dose levels were 22, 67, 200 and 400 mg/kg. Another group of rats served as a control and received saline.

No animals were found dead during the experiment. The loosed feces and slight diarrhoea were observed mainly in high dose group.

The hematology and urine analysis did not indicate any damage caused by the treatment. A slight increase of neutral fats, cholesterol and phospholipid were observed in male of 200 and 400 mg/kg groups.

The pathological examination revealed that clear-cytoplasm and PAS positive deposition of hepatocytes in 200 and 400 mg/kg groups.

Other findings were incidental observation without any relation to the treatment and without any importance for evaluation of the toxicity of KW-1100.