

Potassium clavulanate および BRL 28500 の生殖試験 (第1報)

ラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験

藤田 和司・西岡 佳隆・倉片 康雄・幸嶋 祥亘

ビーチャム薬品株式会社

中村 厚・石田 茂

株式会社ボゾリサーチセンター

JOHN A. BALDWIN

Beecham Pharmaceuticals Research Division

CVA-K の 12.5, 25, 50 および 75 mg/kg, BRL 28500 の 200, 400 および 800 mg/kg を雄ラットには 63 日, 雌ラットには 14 日間静脈内投与した後交配させ, 雌はさらに妊娠 7 日まで投与を継続して親動物の生殖能力および胎仔に対する影響を検討し, 以下の知見を得た。

CVA-K では雄の 50 mg/kg 以上の投与群で肝重量の増加, 雌の 75 mg/kg 投与群で妊娠初期に摂餌量の軽度減少, BRL 28500 では雄の 800 mg/kg 投与群で投与期間の後半に, 摂餌量の軽度減少が認められたほかは, 一般症状, 体重および摂餌量に異常はみられなかった。

交尾率および受胎率に関しては雌雄ともに, 両検体の投与による影響は認められなかった。また, 黄体数, 着床数, 死亡吸収胚数等の胎仔所見にも, 両検体の投与による影響は認められなかった。

生存胎仔の外表, 内臓および骨格観察所見において, 両検体の投与による影響と考えられる異常は認められなかった。

以上の結果より, 本実験条件下での親動物に対する一般毒性学的な無影響量は CVA-K では 25 mg/kg, BRL 28500 では 400 mg/kg, 生殖能力に対する無影響量は CVA-K では 75 mg/kg, BRL 28500 では 800 mg/kg, 胎仔に対する無影響量は CVA-K では 75 mg/kg, BRL 28500 では 800 mg/kg と考えられる。

BRL 28500 は, β -lactamase 阻害作用を有する clavulanic acid (CVA) のカリウム塩 (CVA-K) と ticarcillin (TIPC) を遊離酸重量として 1:15 に配合した抗生物質である。

配合成分の一つである TIPC については, 生殖試験の成績がすでに報告されている¹⁾。今回, 著者らは CVA-K および BRL 28500 を交配前の雌雄ならびに妊娠初期のラットに静脈内投与し, 生殖能力および胎仔におよぼす影響を検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 検体

CVA-K は生理食塩液, BRL 28500 は注射用蒸留水に溶解させ, 投与量が各群とも 5 ml/kg となるように用時調製した。なお, BRL 28500 については, 投与液の浸透圧を生理的浸透圧により近づけるために, 注射用蒸留水を溶媒として用いた。

2. 使用動物および飼育条件

Crj: CD(SD) ラット (日本チャールス・リバー) を購入後 1 週間以上予備飼育したのち, 雄は 6 週齢, 雌は 13 週齢で使用した。なお, 各群の動物数は雌雄とも 20~22 匹とした。

固型飼料 (NMF, オリエンタル酵母) および水道水を自由に摂取させ, 飼育室は温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$ に保った。

3. 投与方法

投与期間は, 雄では交配前 63 日から交配期間を含み剖検時まで, 雌では交配前 14 日から交配期間を含み妊娠 7 日までとし, 検体を 1 日 1 回, 投与速度 0.05 ml/sec で静脈内に投与した。なお, 対照群には浸透圧を考慮して両検体とも生理食塩液を同様に投与した。

4. 投与量の設定

投与量は, CVA-K についてはラットの亜急性毒性試験²⁾, BRL 28500 については 2 週間の用量設定試験の結果を参考にして, 長期間投与可能な最大量として CVA-

K では 75 mg/kg, BRL 28500 では 800 mg/kg を最高用量とした。以下の投与量は, CVA-K では 50, 25 および 12.5 mg/kg, BRL 28500 では 400 および 200 mg/kg とし, 各々計 4 および 3 用量とした。なお, 投与量はすべて遊離酸として示した。

5. 交配方法

雄では 63 日間, 雌では 14 日間投与後, 同一投与群内の雌雄を 1 対 1 で, 交尾が成立するまで最高 14 日間同居させた。交尾が確認されなかった雌雄は, さらに最高 14 日間組合せを変えて同居を継続した。なお, 交尾の確認は腔栓形成あるいは腔垢中の精子の存在によって行い, この日を妊娠 0 日とした。

6. 検査方法

一般状態の観察を実験期間中毎日行い, 体重および摂餌量の測定は, 交配前では雌雄ともに週 2 回, 妊娠期間中は妊娠 0 日より 20 日まで 3 ないし 4 日ごとに行行った。

雄は交配期間終了後, 雌は妊娠 20 日に屠殺して主要臓器および生殖器の肉眼的観察, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 精巣, 精巣上体および卵巣の重量測定を行い, さらに, 子宮を摘出して黄体数, 着床数, 生存胎仔数および死亡吸収胚数を調べた。なお, 剖検時に観察された異常部位ならびに交尾, 妊娠の確認されなかった雌雄の精巣, 精巣上体, 前立腺, 子宮および卵巣について H・E 染色後, 病理組織学的検査を行った。

生存胎仔は, 体重, 胎盤重量の測定および性別の判定を行い, 外表異常の有無を観察した。また, 各腹につき生存胎仔の約 1/3 を Bouin 液に固定し, WILSON の free-hand razor 法³⁾および西村の方法⁴⁾に準じて各部の内臓異常の検索を行った。残りの約 2/3 は, 70% アルコール液で固定し, Dawson 法⁵⁾に従い alizarin red S 染色によ

る透明骨格標本を作製し, 骨格異常, 骨格変異, 骨化進行度 (胸骨核, 中手骨, 中足骨および仙尾椎) を調べた。

7. 統計処理

性比, 交尾率, 受胎率については χ^2 検定, その他の数値については KRUSKAL-WALLIS の H 検定を行い, 群間に差を認めた場合のみ対照群との多重比較⁶⁾を行った。

II. 実験結果

1. 雄動物への影響 (Fig. 1, 2)

CVA-K では, 75 mg/kg 投与群で投与開始後 47 日 (交配前) に死亡が 1 例みられた。本例は, 44 日の投与直後に横臥, 触刺激に対する無反応, 45 日より下腹部皮毛汚染および体温低下などの症状がみられ, 47 日の投与後に死亡した。剖検では腎臓の退色, 尿管および膀胱に暗赤色液貯留がみられた。しかし, 同群の生存例では, 体重推移および摂餌量に変化なく, 一般状態には特記すべき症状の発現は認められなかった。

BRL 28500 では, 死亡例は観察されず, 一般状態にも異常は認められなかった。体重には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかったものの, 摂餌量では, 800 mg/kg 投与群で軽度な減少が投与期間の中期以降で認められた。

交配後の剖検では, CVA-K の対照群, 50 および 75 mg/kg 投与群の各 1 例で片側性または両側性の精巣および精巣上体の萎縮がみられたが, 発生頻度には対照群との間に有意差は認められず, 偶発的な変化と考えられた。また, これらの臓器の病理組織学的検査では精巣の精子形成減退が認められた。BRL 28500 では, 特記すべき所見はみられなかった。臓器重量の測定では, CVA-K の 50 mg/kg 以上の投与群で肝重量の増加が認められたほかには, 両検体の投与群に変化は認められなかった。

Fig. 1 Changes of body weight and food consumption in male rats treated intravenously with CVA-K before mating

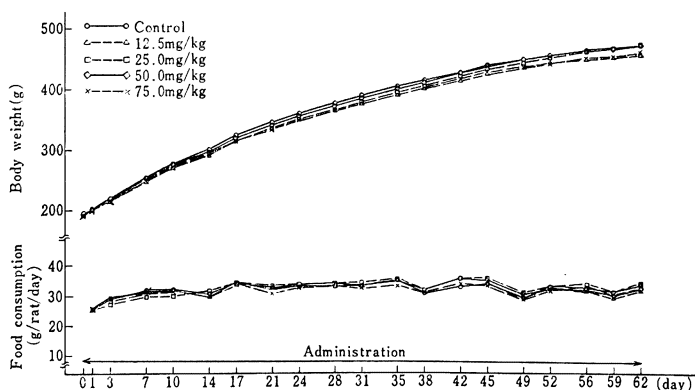


Fig. 2 Changes of body weight and food consumption in male rats treated intravenously with BRL 28500 before mating

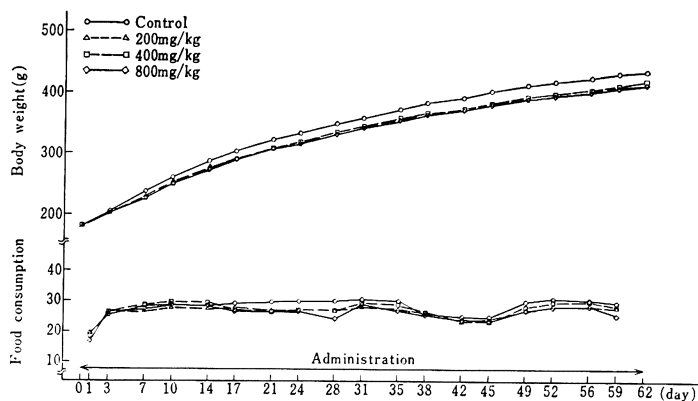


Fig. 3 Changes of body weight and food consumption in female rats treated intravenously with CVA-K before mating

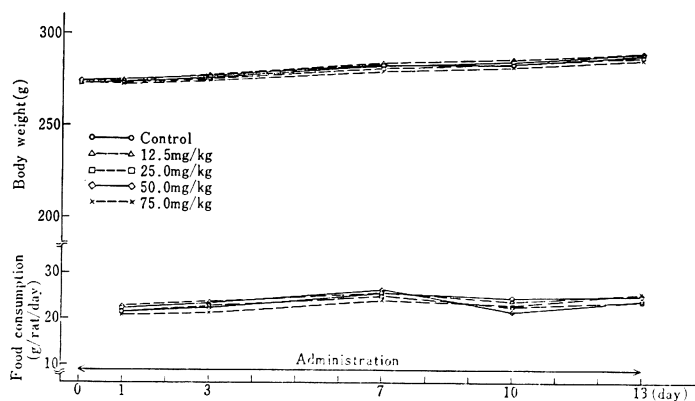


Fig. 4 Changes of body weight and food consumption in female rats treated intravenously with BRL 28500 before mating

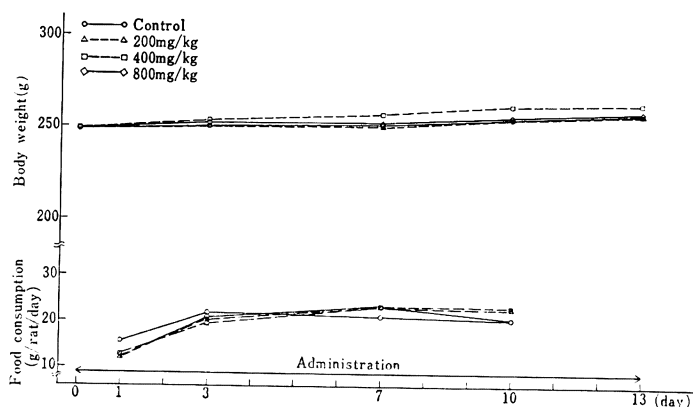


Fig. 5 Changes of body weight and food consumption in rat dams treated intravenously with CVA-K

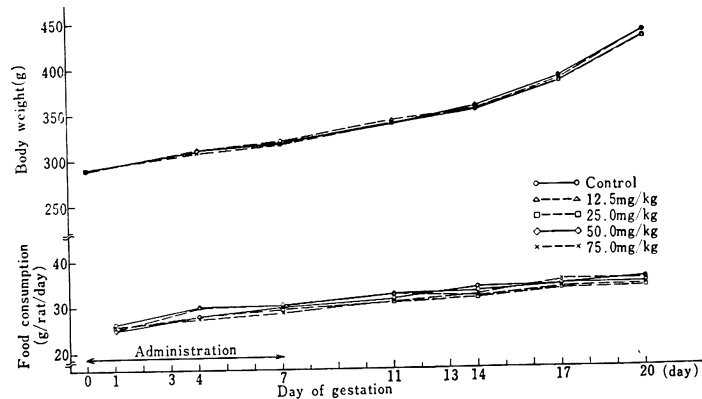
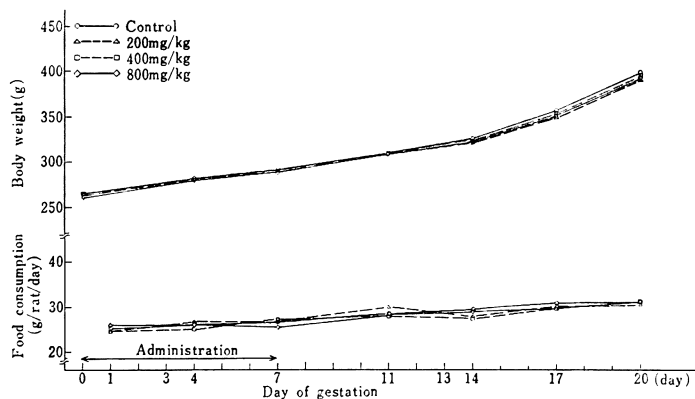


Fig. 6 Changes of body weight and food consumption in rat dams treated intravenously with BRL 28500



2. 雌動物への影響 (Fig. 3~6)

両検体の投与群において、死亡は観察されず、一般状態にも異常は認められなかった。また、体重の推移においても、両検体とも対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。摂餌量では、CVA-K で交配前の投与 10 日に 50 mg/kg 投与群、妊娠 4 日に 75 mg/kg 投与群、BRL 28500 で交配前の投与初日に 200 mg/kg 以上の投与群でそれぞれ一時的な減少がみられただけであった。

帝王切開時の剖検では、両検体の投与群に特記すべき所見はみられず、臓器重量にも変化は認められなかった。

3. 生殖能力への影響 (Table 1, 2)

両検体とも交尾率および受胎率に影響を与えなかった。CVA-K では、対照群を含む各投与群に不妊が 1 な

いし 4 例みられたが受胎率には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。また、BRL 28500 では、200 mg/kg 投与群の 1 組で交尾の確認されない動物がみられたが、交配期間の延長により交尾および妊娠が確認された。

4. 胎仔への影響 (Table 3, 4, 5, 6)

両検体の各投与群において、黄体数、着床数、生存胎仔数、死亡吸収胚数、性比、雌雄の生存胎仔体重および胎盤重量には対照群との間に有意差は認められなかった。外表観察では、CVA-K の 25 mg/kg 投与群で臍帯ヘルニア、BRL 28500 の 400 mg/kg 投与群で口蓋裂を伴った小顎症がそれぞれ 1 例みられたのみで、外表異常の出現頻度には両検体とも対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の内臓観察では、内臓異常として、CVA-K の 25

Table 1 Effect of CVA-K on reproductive ability in rats

Dose (mg/kg)	Sex	No. of animals			Copulation ^{a)} index (%)	Pregnancy ^{b)} index (%)
		mated	copulated	pregnant		
Control	M	22	22		100	
	F	22	22	19	100	86.4
12.5	M	22	22		100	
	F	22	22	21	100	95.5
25	M	22	22		100	
	F	22	22	20 ^{c)}	100	90.9
50	M	22	22		100	
	F	22	22	18	100	81.8
75	M	21	21		100	
	F	22	22	19	100	86.4

^{a)}: (No. copulated/No. mated) × 100.^{b)}: (No. pregnant/No. copulated) × 100.^{c)}: Included one animal, which was delivered due to misconfirmation of mating day.

M: Male F: Female

Table 2 Effect of BRL28500 on reproductive ability in rats

Dose (mg/kg)	Sex	No. of animals			Copulation ^{a)} index (%)	Pregnancy ^{b)} index (%)
		mated	copulated	pregnant		
Control	M	20	20		100	
	F	20	20	20	100	100
200	M	20	19 ^{c)}		95	
	F	20	19 ^{c)}	19	95	100
400	M	20	20		100	
	F	20	20	20	100	100
800	M	20	20		100	
	F	20	20	20	100	100

^{a)}: (No. copulated/No. mated) × 100^{b)}: (No. pregnant/No. copulated) × 100^{c)}: Copulation and pregnancy of remaining one couple which did not copulate during 1st mating period were confirmed during 2nd mating period.

* M: Male F: Female

mg/kg 投与群で水頭症, 12.5 および 75 mg/kg 投与群で心室中隔欠損がそれぞれ 1 例ずつ, BRL 28500 の 400 mg/kg 投与群で側脳室・第 3 脳室の拡張, 鼻腔の閉鎖および肝臓の位置異常の複合奇形が 1 例認められたが, それらの出現頻度には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。内臓変異についても, 頸部胸腺遺残および腎盂拡張等が対照群を含めた両検体の各投与群で散見されたが, それらの出現頻度にも対照群と各投与

群との間に有意差は認められなかった。

胎仔の骨格異常は, CVA-K の対照群および各投与群では 1 例もみられなかった。一方, BRL 28500 では, 対照群で 1 例, 400 mg/kg 投与群で 2 例, 800 mg/kg 投与群で 1 例みられたが, 出現頻度には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。異常の種類では, 対照群, 400 および 800 mg/kg 投与群の各 1 例に波状肋骨, さらに 400 mg/kg 投与群の 1 例で第 4 および第 5

Table 3 Effects of CVA-K on fetuses

Dose (mg/kg)	Control	12.5	25	50	75
No. of dams	19	21	19 ^{a)}	18	19
No. of corpora lutea	16.2±2.1	16.3±1.4	15.9±2.2	16.8±3.0	16.5±1.6
No. of implants	14.6±3.3	15.0±1.9	14.2±3.3	14.2±3.5	15.5±2.2
No. of dead fetuses					
early	0.7±1.1	0.5±1.0	0.9±1.1	0.5±0.6	0.5±0.7
late	0	0	0.1±0.2	0	0
No. of live fetuses	13.9±3.4	14.5±1.9	13.2±3.9	13.7±3.5	15.0±2.4
Sex ratio (Male/Female)	0.87	0.98	1.18	1.24	0.85
Fetal weight (g)					
Male	4.04±0.30	4.11±0.28	3.95±0.50	4.11±0.22	3.96±0.26
Female	3.75±0.32	3.86±0.25	3.79±0.48	3.90±0.27	3.72±0.26
Placental weight (g)	0.55±0.08	0.54±0.07	0.55±0.08	0.56±0.17	0.52±0.04

a) : Excluded one animal, which was delivered due to misconfirmation of mating day.

Mean ± S.D.

Table 4 Effects of BRL28500 on fetuses

Dose (mg/kg)	Control	200	400	800
No. of dams	20	20	20	20
No. of corpora lutea	16.5±3.0	17.3±2.9	17.8±2.8	16.5±2.2
No. of implants	14.9±3.8	14.6±2.6	14.9±2.5	13.9±1.4
No. of dead fetuses				
early	1.2±1.1	0.7±0.8	0.9±1.4	0.7±0.9
late	0	0.1±0.2	0	0
No. of live fetuses	13.7±4.0	13.8±2.7	14.0±2.9	13.3±1.8
Sex ratio (Male/Female)	1.19	1.09	0.87	1.07
Fetal weight (g)				
Male	3.46±0.28	3.36±0.21	3.41±0.30	3.34±0.26
Female	3.28±0.20	3.15±0.24	3.24±0.31	3.23±0.22
Placental weight (g)	0.55±0.17	0.49±0.04	0.49±0.06	0.49±0.04

Mean ± S.D.

頸椎弓の癒合と第2および第3胸椎弓の癒合の複合奇形がみられた。骨格変異として、対照群を含めた両検体の各投与群で頸肋骨、胸椎椎体の分離および14肋骨等が散見されたが、これらの出現率について対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。また、骨化進行度にも両検体投与の影響は認められなかった。

III. 総括および考察

Crj: CD(SD) ラットを用いて、CVA-K の 12.5, 25, 50 および 75 mg/kg, BRL 28500 の 200, 400 および 800 mg/kg を雄ラットには、交配前 63 日から交尾確認後の剖検日まで、雌ラットには、交配前 14 日から妊娠 7 日まで、それぞれ静脈内投与し、雌雄ラットの生殖能力および胎子におよぼす影響を検討した。

一般症状では、CVA-K の 75 mg/kg 投与群の雄に 1 例死亡が認められた。本例では死亡 3 日前の投与直後に横臥、触刺激に対する無反応が認められており、投与速度の上昇による一時的な血中カリウム濃度の上昇が原因と考えられた。一般症状はその後回復せずに死亡した

こと、ならびに、このほかの動物には何ら異常はみられなかったことより、本例の死因は CVA 自体の中毒作用によるものとは考え難かった。BRL 28500 では、雌雄いずれの投与群にも異常はみられなかった。体重の推移では、両検体の各投与群で対照群との間に有意差のある変化はみられなかった。一方、摂餌量の軽度減少が、CVA-K の雌の 75 mg/kg 投与群で妊娠初期に、BRL 28500 の雄の 800 mg/kg 投与群で投与期間の後半に認められたほかは、両検体の投与によると考えられる変化は認められなかった。臓器重量の測定では、CVA-K の雄の 50 mg/kg 以上の投与群で肝重量の増加が認められたほかには、両検体の投与群に変化は認められなかった。

交尾率、受胎率は、いずれも良好で両検体の投与による影響は認められなかった。また、不妊は CVA-K の対照群を含む各投与群に少数例みられたが受胎率には対照群と各投与群との間に有意差は認められなかった。また、その後の病理組織学的検査でも検体投与によると考

Table 5 Morphological findings in F₁ rat fetuses from dams treated with CVA-K

Dose(mg/kg)	Control	12.5	25.0	50.0	75.0
<u>External observation</u>					
No.of fetuses observed	265	305	251	246	285
No.of fetuses with abnormality (%)	0 (0.0)	0(0.0)	1(0.4)	0(0.0)	0(0.0)
Type of abnormality					
Umbilical hernia	0 (0.0)	0(0.0)	1(0.4)	0(0.0)	0(0.0)
<u>Visceral observation</u>					
No.of fetuses observed	84	101	86	85	94
No.of fetuses with abnormality (%)	0 (0.0)	1(1.0)	1(1.2)	0(0.0)	1(1.1)
No.of fetuses with variation (%)	3 (3.6)	0(0.0)	8(9.3)	5(5.9)	3(3.2)
Type of abnormality					
Hydrocephaly	0 (0.0)	0(0.0)	1(1.2)	0(0.0)	0(0.0)
Ventricular septal defect	0 (0.0)	1(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(1.1)
Type of variation					
Thymic remnant in the neck	0 (0.0)	0(0.0)	1(1.2)	2(2.4)	1(1.1)
Dilatation of the renal pelvis	3 (3.6)	0(0.0)	1(1.2)	1(1.2)	2(2.1)
Dilatation of the ureter	2 (2.4)	0(0.0)	1(1.2)	2(2.4)	2(2.1)
Kinked ureter	3 (3.6)	0(0.0)	4(4.7)	2(2.4)	1(1.1)
Left umbilical artery	0 (0.0)	0(0.0)	1(1.2)	1(1.2)	0(0.0)
Dislocation of the umbilical vein	0 (0.0)	0(0.0)	1(1.2)	0(0.0)	0(0.0)
<u>Skeletal observation</u>					
No.of fetuses observed	181	204	165	161	191
No.of fetuses with abnormality (%)	0 (0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
No.of fetuses with variation (%)	27(14.9)	16(7.8)	16(9.7)	14(8.7)	19(9.9)
Type of variation					
Cervical rib	0 (0.0)	1(0.5)	0(0.0)	3(1.9)	2(1.0)
Splitting of the thoracic vertebral body	2 (1.1)	1(0.5)	3(1.8)	0(0.0)	5(2.6)
Shortened 13th rib	0 (0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.6)	0(0.0)
14th rib	22(12.2)	13(6.4)	12(7.3)	11(6.8)	10(5.2)
Deformation of the transverse process	2 (1.1)	1(0.5)	1(0.6)	0(0.0)	2(1.0)
Splitting of the lumbar vertebral body	0 (0.0)	0(0.0)	1(0.6)	0(0.0)	0(0.0)
Splitting of the sternebra	1 (0.6)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

A fetus may be entered under more than one category.

えられる異常は認められなかった。

帝王切開時の胎仔所見では、黄体数、着床数、死亡吸収胚数、生存胎仔数、性比、雌雄の生存胎仔体重および胎盤重量に両検体投与の影響は認められなかった。

従って、CVA-K および BRL 28500 は、配偶子形成、排卵、受精および着床に対し影響を与えないものと考えられた。

胎仔に関しても、その外表、内臓、骨格および骨化進行度に、両検体の投与に起因したと考えられる異常は認められなかった。

以上、ラットの妊娠前および妊娠初期に、CVA-K あるいは BRL 28500 を静脈内投与したところ、CVA-K

では雄に肝重量の増加が 50 mg/kg 以上で、雌に摂餌量の軽度減少が妊娠初期に 75 mg/kg 群で認められ、BRL 28500 では雄に摂餌量の軽度減少が 800 mg/kg 群で認められたが、雌雄ラットの生殖能力および胎仔におよぼす影響は認められなかった。従って、本実験条件下における親動物に対する一般毒性学的な無影響量は CVA-K では 25 mg/kg、BRL 28500 では 400 mg/kg、生殖能力に対する無影響量は CVA-K では 75 mg/kg、BRL 28500 では 800 mg/kg、胎仔に対する無影響量は CVA-K では 75 mg/kg、BRL 28500 では 800 mg/kg と考えられる。

Table 6 Morphological findings in F₁ rat fetuses from dams treated with BRL28500

Dose(mg/kg)	Control	200	400	800
<u>External observation</u>				
No. of fetuses observed	274	276	280	265
No. of fetuses with abnormality (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)	0 (0.0)
Type of abnormality				
Cleft palate and micrognathia	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)	0 (0.0)
<u>Visceral observation</u>				
No. of fetuses observed	95	92	96	91
No. of fetuses with abnormality (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
No. of fetuses with variation (%)	2 (2.1)	4 (4.3)	11(11.5)	10(11.0)
Type of abnormality				
Dilatation of lateral and 3rd ventricle	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
Atresia of the nasal cavity	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
Malposition of the liver	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
Type of variation				
Thymic remnant in the neck	1 (1.1)	3 (3.3)	6 (6.3)	6 (6.6)
Abnormal lobulation of the liver	1 (1.1)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
Dilatation of the ureter	0 (0.0)	1 (1.1)	0 (0.0)	1 (1.1)
Kinked ureter	0 (0.0)	1 (1.1)	0 (0.0)	1 (1.1)
Dilatation of the renal pelvis	1 (1.1)	1 (1.1)	3 (3.1)	3 (3.3)
Left Umbilical artery	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
<u>Skeletal observation</u>				
No. of fetuses observed	179	184	184	174
No. of fetuses with abnormality (%)	1 (0.6)	0 (0.0)	2 (1.1)	1 (0.6)
No. of fetuses with variation (%)	11 (6.1)	17 (9.2)	7 (3.8)	12 (6.9)
Type of abnormality				
Wavy rib	1 (0.6)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.6)
Fusion of the cervical vertebral arches and fusion of the thoracic vertebral arches	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)
Type of variation				
Retarded ossification of the cervical vertebral arches	4 (2.2)	1 (0.5)	1 (0.5)	2 (1.1)
Cervical rib	1 (0.6)	4 (2.2)	1 (0.5)	2 (1.1)
Splitting of the thoracic vertebral body	2 (1.1)	6 (3.3)	4 (2.2)	2 (1.1)
Shortened 13th rib	0 (0.0)	4 (2.2)	1 (0.5)	1 (0.6)
14th rib	6 (3.4)	3 (1.6)	1 (0.5)	5 (2.9)
Sacralization of the lumbar vertebra	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)

A fetus may be entered under more than one category.

文 献

- 1) 福原幸輝, 江見義明, 岩波黄葵, 藤井登志之, 古川 剛, 渡辺信夫: Ticarcillin sodium の毒性試験。基礎と臨床 12 : 556~576, 1978
- 2) 倉片康雄, 他: Potassium clavulanate および BRL 28500 の急性毒性および亜急性毒性試験。Chemotherapy 34(S-4) : 69~95
- 3) WILSON, J. G.: Method for administering agents and detecting malformations in experimental animals. Teratology-principles and techniques (WILSON, J. G. & J. WARKANY),

University of Chicago Press, Chicago, pp. 262~277, 1965

- 4) 西村耕一: マウスおよびラット胎仔の胸部内臓形状観察のための顕微解剖法。先天異常 14 : 23~40, 1974
- 5) DAWSON, A. B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain Technol. 1 : 123~124, 1926
- 6) HOLLANDER, M. & D. A. WOLF : KRUSKAL-WALLIS and JONCKHEERE test. Nonparametric statistical method (WILEY, J.) pp.114~132, 1973

REPRODUCTION STUDIES OF POTASSIUM CLAVULANATE AND BRL 28500

I. FERTILITY STUDIES IN RATS

KAZUSHI FUJITA, YOSHITAKA NISHIOKA, YASUO KURAKATA and YOSHINOBU KOSHIMA
Beecham Yakuhin K.K.

ATSUSHI NAKAMURA and SHIGERU ISHIDA
Bozo Research Center, Co., Ltd.

JOHN A. BALDWIN
Beecham Pharmaceuticals Research Division

Potassium clavulanate (CVA-K) at 12.5, 25, 50 and 75 mg/kg or BRL 28500 at 200, 400 and 800 mg/kg were administered intravenously to male Crj: CD (SD) rats for 63 days and to female Crj: CD (SD) rats for 14 days before mating, and then until day 7 of gestation. The effects of treatment on the parent animals and fetuses were studied.

Increased liver weight was noted in males at 50 and 75 mg/kg CVA-K and in the female 75 mg/kg CVA-K group, a slight decrease in food consumption was observed during early pregnancy. In the male 800 mg/kg BRL 28500 group, a slight decrease in food consumption was observed during the latter half of the treatment period. With these exceptions, general condition, body weight and food consumption were normal.

No adverse effects on the copulation and fertility indices were noted that could be attributable to either drug. Neither were fetal observations such as the number of corpora lutea, implantations, dead and resorbed embryos etc., adversely affected by any treatment.

No treatment related abnormalities were noted in the viable fetuses with regard to external, visceral and skeletal observations.

In view of the above findings and under the experimental conditions employed, the maximum no-effect doses for general toxicological responses in the parent animals are considered to be 25 mg/kg for CVA-K and 400 mg/kg for BRL 28500 and the no-effect doses for reproductive performance as well as for the fetuses are considered to be 75 mg/kg for CVA-K and 800 mg/kg for BRL 28500.