

## Potassium clavulanate および BRL 28500 の 急性毒性および亜急性毒性試験

倉片康雄・植村昌平・西岡佳隆・幸嶋祥巨

ビーチャム薬品株式会社

大高忠彦・根田公一・大滝義博

三好幸二・野村章・仲吉洋

株式会社野村生物科学研究所

TERRY L. HARDY

Beecham Pharmaceuticals Research Division

CVA-K および BRL 28500 を用いて、マウス、ラットでの静脈内、筋肉内、経口および皮下投与急性毒性試験、ならびにラットでの 35 日間静脈内投与亜急性毒性試験を実施した。

マウス、ラットでの LD<sub>50</sub> 値は、BRL 28500 では静脈内投与時最も小さく、皮下、経口投与の順に大きかった。なお、筋肉内投与では、投与可能限度 (2,000 mg/kg) 以上であった。CVA-K でも、LD<sub>50</sub> 値は静脈内投与、筋肉内投与の順であった。動物種間および雌雄間の比較では、いずれの場合も一定の傾向は認められなかった。

亜急性毒性試験では、CVA-K の高用量群で 2 例が死亡した。両検体の投与直後に一時的な全身状態の抑制が見られた。さらに BRL 28500 では、軟便、下痢が認められた。

CVA-K では肝重量の増加がみられ、両検体で肝細胞内に PAS 陽性物質の貯留が用量に相関して認められた。しかし、GOT, GPT および肝臓の他の病理組織学的所見などには影響はみられず毒性学的な意義は低いと考えられた。

血液学的検査では、両検体の高用量群で投与局所の出血に伴うと思われる軽度な貧血傾向およびその代償性変化が認められた。

BRL 28500 の高用量では、投与局所の刺激性変化が認められた。

以上の所見は、休薬期間終了時にいずれも軽減ないし消失しており回復性が認められた。

また、BRL 28500 の毒性は CVA-K と TIPC の毒性をほぼ反映していると考えられ、CVA-K と TIPC を配合することにより新たな作用を生ずることはないと考えられた。

この試験での CVA-K の無影響量は 10 mg/kg、BRL 28500 のそれは 80 mg/kg であった。

BRL 28500 は、 $\beta$ -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、毒性試験の成績がすでに報告されている<sup>1)</sup>。今回、著者らは CVA-K および BRL 28500 を用いて、マウス、ラットでの急性毒性試験、ならびに静脈内投与によるラットでの 35 日間亜急性毒性試験を実施したので、その結果について報告する。

### I. 実験材料および方法

#### 1. 検体および投与方法

急性毒性：CVA-K および BRL 28500 は、注射用蒸

留水または生理食塩液に溶解させて、静脈内、筋肉内、経口または皮下投与を行った (CVA-K は静脈内および筋肉内投与のみ)。経口投与の場合には、経口胃ゾンデを用いた強制経口投与とした。

亜急性毒性：CVA-K および BRL 28500 とともに注射用蒸留水に溶解させて、1日1回 35 日間連続で静脈内に投与した。投与液量は CVA-K については 2.5 ml/kg、BRL 28500 については 5.0 ml/kg とし、投与速度は CVA-K については 0.025 ml/sec、BRL 28500 については 0.05 ml/sec とした。

なお、投与量は遊離酸重量として表示した。

#### 2. 使用動物および飼育条件

Crj: CD-1 (ICR) マウスおよび Crj: CD (SD) ラ

ットを日本チャールス・リバーより購入し、約 10 日間の予備飼育後、試験に使用した。

急性毒性試験には、1 群雌雄各 10 匹の 6 週齢マウス（体重：雄 28.4～35.6 g，雌 20.3～27.4 g）および 6 週齢ラット（体重：雄 184～251 g，雌 128～205 g）を使用した。

亜急性毒性試験には、1 群雌雄各 20 匹（最低用量群は雌雄各 16 匹）の 6 週齢ラット（体重：雄 195～268 g，雌 137～171 g）を使用した。

固型飼料（CRF-1 または MF，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  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ，湿度  $55 \pm 10\%$  に保った。

### 3. 急性毒性

検体投与後 14 日間にわたり、一般症状ならびに体重を定期的に観察および測定し、観察期間中の累積死亡率から Probit 法により  $\text{LD}_{50}$  値を算出した。すべての死亡例は発見後速やかに、生存例は観察期間終了時にペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させ、剖検した。

### 4. 亜急性毒性

#### 1) 投与量およびその設定理由

14 日間投与の用量設定試験の結果より、CVA-K では確実に毒性変化が予想される量として 120 mg/kg，BRL 28500 では連続投与可能な量として 1,250 mg/kg をともに最高用量とした。以下の投与量は、推定臨床用量および公比を勘案して、CVA-K については、30, 10 および 5 mg/kg，BRL 28500 については、500, 200 および 80 mg/kg にそれぞれ設定した。対照群には生理食塩液を各検体について用いた投与液量で投与した。35 日間の投与終了後、各群より雌雄各 6 ないし 8 例についてそれぞれ 35 日間の休薬期間を設け、検体投与による影響の回復性を検討した。

#### 2) 観察項目

##### a) 一般症状

投与期間中は、毎日投与直前および投与後の 2 回、休薬期間中は毎日 1 回観察した。

##### b) 体重

投与開始後 1 週間は日曜日を除く毎日、その後は週 2 回測定した。

##### c) 摂餌・摂水量

1 ケージ（2 匹収容）ごとに週 1 回測定し、ラット 1 匹当たりの週平均 1 日摂取量を算出した。

##### d) 眼底検査

投与開始前、投与期間および休薬期間の最終週に、電子顕微鏡の検査用動物を除く各群の雌雄各半数例について散瞳させた後、小動物用眼底カメラを用いて眼底を撮

影した。

##### e) 尿検査

投与期間および休薬期間の最終週に、蒸留水を 20 ml/kg 経口投与した後、2 時間尿を採取した。尿量測定、外観観察後、pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血および尿比重を検査した。さらに、遠心後の沈渣を鏡検した。

##### f) 血液学的検査

投与期間終了後および休薬期間終了後、生存例全例からペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹部大動脈より採血し（EDTA-2K 処理）、赤血球数および白血球数、血小板数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、白血球百分率、網状赤血球比率を測定した。さらに、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCC）を赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビンより算出した。また、腹部大動脈より採血し（クエン酸ナトリウム処理）、プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）を測定した。

##### g) 血清生化学的検査

血液学的検査と同時期に採血して得た血清について、GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ、血糖、総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、尿素窒素、トリグリセリド、クレアチニン、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  および血清蛋白分画を測定した。また、A/G 比は総蛋白およびアルブミンより算出した。

##### h) 剖検および臓器重量

投与期間終了後および休薬期間終了後、生存例全例をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させ、内臓の肉眼的観察を行い、脳、下垂体、胸腺、甲状腺（右）、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、盲腸（内容物を含む場合および含まない場合）、精巣、前立腺、卵巣および子宮の重量測定を行った。

さらに、これらの臓器重量の最終体重に対する百分率（相対重量）を算出した。

##### i) 病理組織学的検査

重量測定した臓器に加えて、甲状腺（左）、脾臓、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、骨髄、膀胱、眼球、坐骨神経、脊髄および投与部位、さらに、BRL 28500 では、精巣上体、精囊および胸部大動脈を 10% 中性緩衝ホルマリン（眼球はブアン液）で固定後、H・E 染色を施した。また、CVA-K では、肝臓、腎臓に PAS 染色および Sudan III 染色も施した。BRL 28500 では、肝臓、腎臓、心臓に PAS 染色、肝臓に PAS 消化試験、また、肝臓、腎臓に Sudan III 染色も施した。

## j) 電子顕微鏡的検査

CVA-K では、120 mg/kg 投与群および対照群の雌雄各2例、BRL 28500 では、80 mg/kg 投与群を除く各投与群および対照群の雌雄各2例について、投与期間終了後および休薬期間終了後に、肝臓および腎臓の電子顕微鏡的検査を行った。ただし、BRL 28500 の腎臓の観察は、1,250 mg/kg 投与群および対照群に限り行った。

## k) 統計処理

等分散のものについては STUDENT の t 検定、不等分散のものについては ASPIN-WELCH の t 検定を用いた。

## II. 実験結果

## 1. 急性毒性

マウス、ラットの各投与経路における両検体の LD<sub>50</sub> 値を Table 1 に示す。

## 1) マウス

a) 一般症状、体重：静脈内投与では投与直後に、CVA-K、BRL 28500 とも鎮静、腹臥、痙攣、呼吸困難および立毛が、さらに CVA-K では自発運動の低下および心拍動の減弱、BRL 28500 では呼吸促進、歩行異常および体温低下が認められた。このほかの主な所見として、筋肉内投与の CVA-K、BRL 28500 および皮下投与の BRL 28500 で跛行および投与部位の腫脹、脱毛、痲

皮が認められた。また、経口投与の BRL 28500 では下痢が認められた。

生存例では、投与後観察された変化は、皮下投与による投与部位の変化を除いて投与後2日までは回復していた。

死亡例は、CVA-K および BRL 28500 の静脈内投与では、痙攣または心拍動の減弱を起し、ほとんどが投与直後に、BRL 28500 の経口および皮下投与では、全身状態の悪化を示し投与後3時間から5日の間に認められた。

体重は、観察期間前半で増加抑制あるいは軽度な減少がみられた群があったが、その後は増加に転じ、ほぼ順調に推移した。

b) 剖検 死亡例：主な所見として静脈内投与では、両検体で肺の暗赤色化、さらに CVA-K で消化管の赤色化、BRL 28500 で胸水、腹水、膀胱内赤色内容物、腎臓周囲および腺胃部の出血が認められた。また、BRL 28500 の経口投与および皮下投与では、腺胃部の出血および消化管内容物の黒色化が認められた。

生存例：腎臓の表面粗造化あるいは退色、盲腸の拡張、脾臓の肥大および投与部位の壊死が両検体の投与群に散見された。

Table 1 Acute toxicity of CVA K and BRL 28500 in mice and rats

(LD<sub>50</sub> value mg/kg)

Animal (Strain)	Route	Sex	CVA-K	BRL 28500
Mouse (Crj: ICR)	I.V.	Male	348 ( 335 - 362)	4.551 ( 4.268 - 4.852)
		Female	352 ( 331 - 374)	3.792 ( 3.552 - 4.048)
	I.M.	Male	>2.000 <sup>a)</sup>	>2.000 <sup>a)</sup>
		Female	>2.000 <sup>a)</sup>	>2.000 <sup>a)</sup>
	P.O.	Male	4.526 (3.223 - 6.355) <sup>b)</sup>	13.153 (12.549 - 13.786)
		Female	6.933 (6.229 - 7.716)	12.635 (11.989 - 13.316)
	S.C.	Male	2.185 (1.877 - 2.544) <sup>b)</sup>	7.350 ( 7.112 - 7.596)
		Female	2.276 (1.832 - 2.827)	7.118 ( 6.788 - 7.464)
Rat (Crj: SD)	I.V.	Male	338 ( 315 - 364)	4.968 ( 4.684 - 5.268)
		Female	326 ( 303 - 351)	5.140 ( 4.814 - 5.489)
	I.M.	Male	2.040 (1.964 - 2.120)	>2.000 <sup>a)</sup>
		Female	1.680 (1.610 - 1.754)	>2.000 <sup>a)</sup>
	P.O.	Male	9.695 (8.986 - 10.460) <sup>b)</sup>	15.417 (14.800 - 16.060)
		Female	7.936 (7.182 - 8.769)	12.990 (12.455 - 13.548)
	S.C.	Male	1.781 (1.720 - 1.845) <sup>b)</sup>	7.491 ( 7.170 - 7.827)
		Female	1.398 (1.254 - 1.558)	7.295 ( 7.084 - 7.512)

LD<sub>50</sub> values were obtained by the method of probit.

Figures in parentheses are 95% confidence limits.

<sup>a)</sup> No death occurred up to this dose level.

<sup>b)</sup> Values from the paper by Koshima et al.<sup>(2)</sup>

## 2) ラット

α) 一般症状、体重：静脈内投与では投与直後に、CVA-K, BRL 28500 とも鎮静、痙攣、呼吸困難および歩行異常が、さらに、CVA-K では自発運動の低下、横臥、腹臥、心拍動の減弱および立毛、BRL 28500 では軟便が認められた。このほかの主な所見として、筋肉内投与の CVA-K および BRL 28500、皮下投与の BRL 28500 で体温低下、跛行および投与部位の腫脹、痂皮、脱毛が認められた。また、経口投与の BRL 28500 では、下痢および腹部膨満が認められた。

生存例では、投与後観察された変化は多くの場合投与後2日までには回復していたが、静脈内、経口および皮下投与による軟便は8日まで、皮下投与による投与部位

の変化は観察期間終了時まで認められた。

死亡例は、CVA-K および BRL 28500 の静脈内投与では、痙攣または心拍動の減弱を起し全例が投与直後に、CVA-K の筋肉内投与では全身状態の悪化を示し投与翌日から9日の間に、BRL 28500 の経口および皮下投与でも、全身状態の悪化を示し投与後3時間から5日の間に認められた。

体重は、観察期間前半に増加抑制あるいは軽度な減少がみられた群があったが、その後は増加に転じ、ほぼ順調に推移した。

β) 剖検 死亡例：主な所見として、静脈内投与では両検体で肺の暗赤色化、BRL 28500 ではさらに胸水および腹水が認められた。筋肉内投与では、CVA-K で肺の

Fig. 1 Body weight change in rats receiving intravenously CVA-K

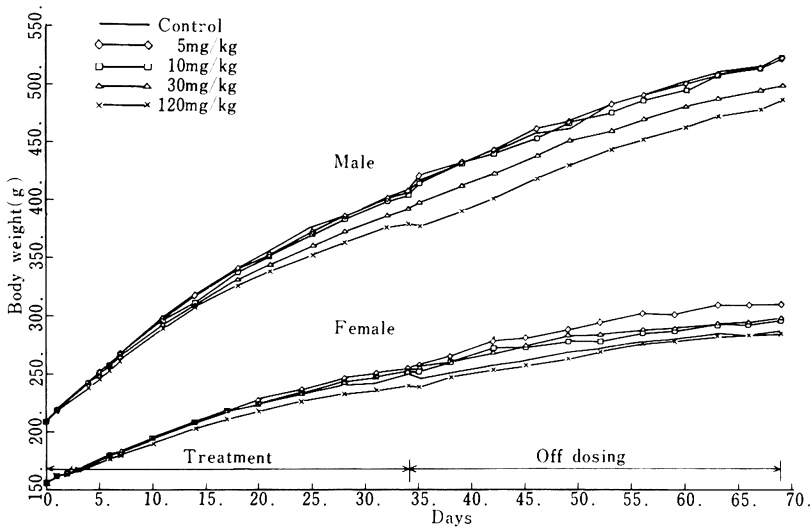
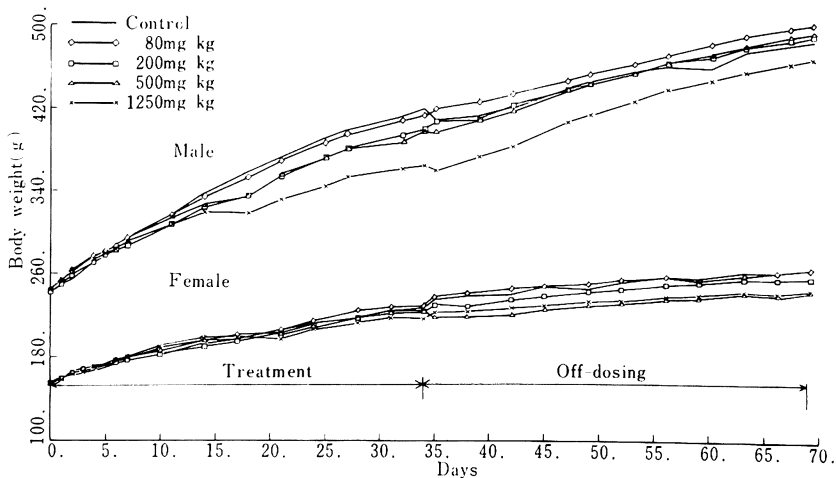


Fig. 2 Body weight change in rats receiving intravenously BRL 28500



暗赤色化、副腎の赤色化あるいは腫大、胸腺の萎縮、脾臓の退色、腎臓の蒼白あるいは腫大、投与部位の出血あるいは壊死が認められた。

BRL 28500 の経口投与では、水溶性内容物を含んだ消化管の膨満、腺胃部の出血、脾臓の退色または萎縮、副腎の暗赤色化および盲腸の拡張が認められた。BRL 28500 の皮下投与では、腺胃部の出血、副腎の暗赤色化および投与部位の点状出血が認められた。

生存例：腎臓の蒼白および腫大、脾臓の腫大、精巣の腫大、萎縮あるいは軟化、盲腸の拡張および投与部位の壊死が、両検体の投与群に散見された。

## 2. 亜急性毒性

### 1) 一般症状

CVA-K では 30 mg/kg 投与群の雄 1 例が投与 10 日に、120 mg/kg 投与群の電子顕微鏡的検査用の雄 1 例が投与 16 日に、いずれも心拍動の減弱をきたし死亡した。

Table 2 Haematology in rats receiving intravenously CVA-K (Treatment)

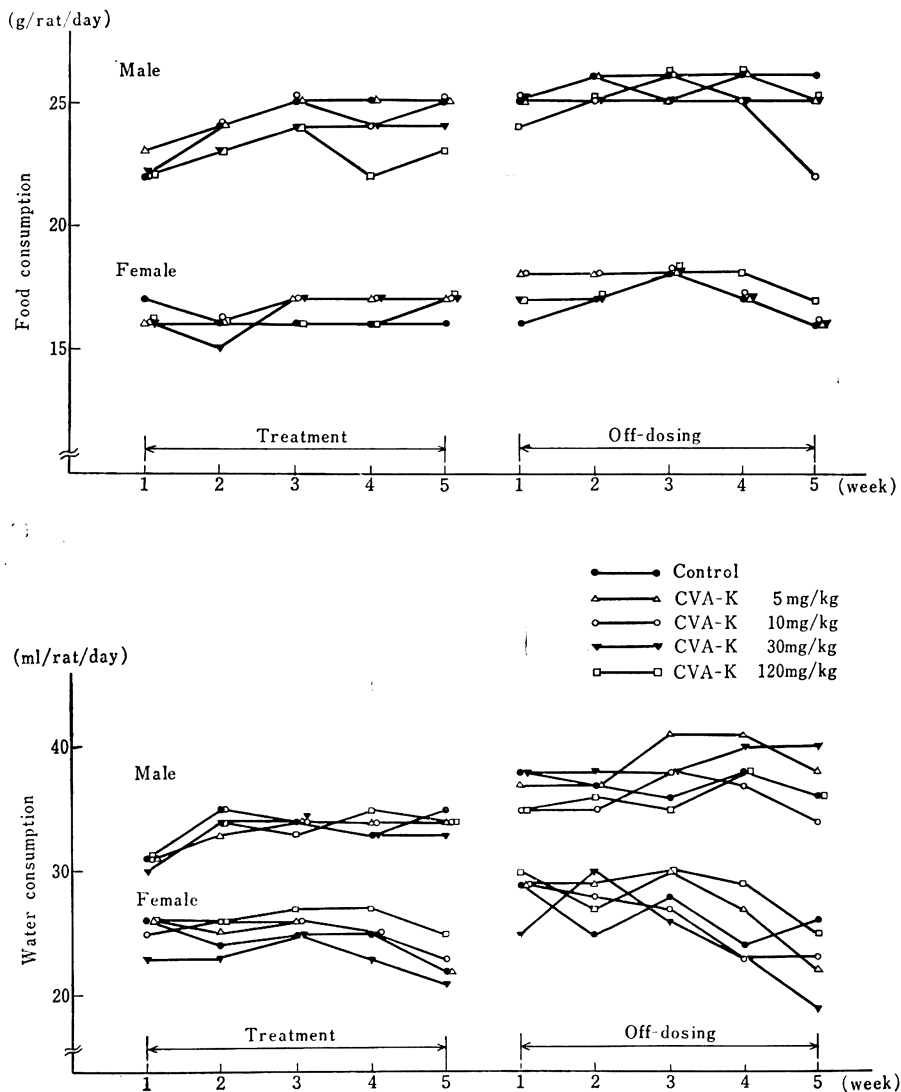
Sex	Compound		CVA-K			
	Dose (mg/kg)	P. saline	5	10	30	120
	No. of animals	10	10	10	9	10
Male	RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	867 ± 69	865 ± 57	916 ± 56	888 ± 56	864 ± 63
	Ht. (%)	47.1 ± 1.8	45.0 ± 1.8*	47.6 ± 1.5	46.4 ± 1.3	43.8 ± 2.1**
	Hb. (g/dl)	16.2 ± 0.7	15.7 ± 0.5	16.5 ± 0.7	16.2 ± 0.5	15.0 ± 0.7**
	MCH (pg)	18.7 ± 0.9	18.1 ± 0.8	18.1 ± 0.7	18.3 ± 1.1	17.4 ± 0.6**
	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	54.6 ± 3.3	52.1 ± 2.0	52.1 ± 2.6	52.5 ± 3.5	50.8 ± 2.3**
	MCC (%)	34.3 ± 0.6	34.8 ± 0.6	34.7 ± 0.6	34.9 ± 0.6*	34.3 ± 0.7
	Platelet ( $10^4/\text{mm}^3$ )	98.0 ± 9.5	93.6 ± 9.4	104.8 ± 8.8	103.4 ± 11.4	117.2 ± 9.8**
	PT (sec)	13.9 ± 1.9	13.1 ± 1.3	12.8 ± 0.5	14.0 ± 3.5	12.3 ± 1.0 <sup>+</sup>
	APTT (sec)	22.0 ± 1.6	21.1 ± 1.5	20.8 ± 1.4	21.6 ± 2.4	18.4 ± 1.6**
	Reticulo. (%)	23 ± 5	26 ± 5	22 ± 4	30 ± 8*	36 ± 6**
	WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	67 ± 23	62 ± 18	67 ± 17	74 ± 19	74 ± 25
	Lymph. (%)	94 ± 3	95 ± 3	94 ± 3	94 ± 2	94 ± 3
	Seg. (%)	4 ± 2	3 ± 2	4 ± 2	4 ± 2	4 ± 2
	Stab. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Mono. (%)	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1
	Eosi. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0
Baso. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	817 ± 47	813 ± 50	812 ± 38	807 ± 58	790 ± 62
	Ht. (%)	43.4 ± 1.8	43.3 ± 2.1	43.3 ± 1.5	42.8 ± 1.2	41.3 ± 1.6*
	Hb. (g/dl)	14.8 ± 0.7	14.8 ± 0.7	15.0 ± 0.5	14.7 ± 0.4	14.1 ± 0.5*
	MCH (pg)	18.1 ± 0.6	18.3 ± 0.8	18.5 ± 0.7	18.3 ± 1.0	17.9 ± 1.0
	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	53.2 ± 2.0	53.4 ± 2.4	53.4 ± 2.2	53.3 ± 3.0	52.5 ± 3.2
	MCC (%)	34.0 ± 0.6	34.2 ± 0.3	34.6 ± 0.4*	34.4 ± 0.6	34.2 ± 0.3
	Platelet ( $10^4/\text{mm}^3$ )	103.4 ± 7.4	99.9 ± 11.1	101.3 ± 8.7	109.3 ± 13.1	120.1 ± 14.9**
	PT (sec)	11.9 ± 0.4	11.8 ± 0.4	11.8 ± 0.4	11.7 ± 0.3	11.6 ± 0.3
	APTT (sec)	17.8 ± 0.7	17.4 ± 0.9	17.3 ± 0.7	17.7 ± 1.1	16.3 ± 0.9**
	Reticulo. (%)	26 ± 7	24 ± 6	22 ± 4	24 ± 6	26 ± 7
	WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	35 ± 11	39 ± 12	33 ± 10	40 ± 20	40 ± 12
	Lymph. (%)	94 ± 3	95 ± 3	94 ± 3	94 ± 2	94 ± 3
	Seg. (%)	4 ± 2	3 ± 2	4 ± 2	4 ± 2	4 ± 2
	Stab. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	Mono. (%)	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1
Eosi. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 1	0 ± 0	
Baso. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	

Mean ± S.D.

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

<sup>+</sup> P < 0.05, <sup>++</sup> P < 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Fig. 3 Food consumption and water consumption in rats receiving intravenously CVA-K



CVA-K の 30 mg/kg 以下の投与群, BRL 28500 の 80 mg/kg 投与群では, 一般症状に軟便が散見された他に異常はなかった。CVA-K の 120 mg/kg 投与群では, 投与直後に一時的な心拍動の減弱, 呼吸困難および鎮静化が散見された。これらの症状は, 死亡した 1 例を除いて発症後速やかに回復した。BRL 28500 では, 投与直後に一時的な症状として, 200 mg/kg 以上の投与群で歩行異常, 自発運動抑制, 500 mg/kg 以上の投与群で, 四肢麻痺, 眼球暗赤色化, 1, 250 mg/kg 投与群で痙攣, 呼吸困難, 呼吸促進, 鎮静が散見された。これらの症状は発症後 1~5 分以内に回復した。また, この他に 200 mg/

kg 投与群では軟便, 500 mg/kg 以上の投与群で下痢, 1, 250 mg/kg 投与群で投与部位の壊死が散見された。

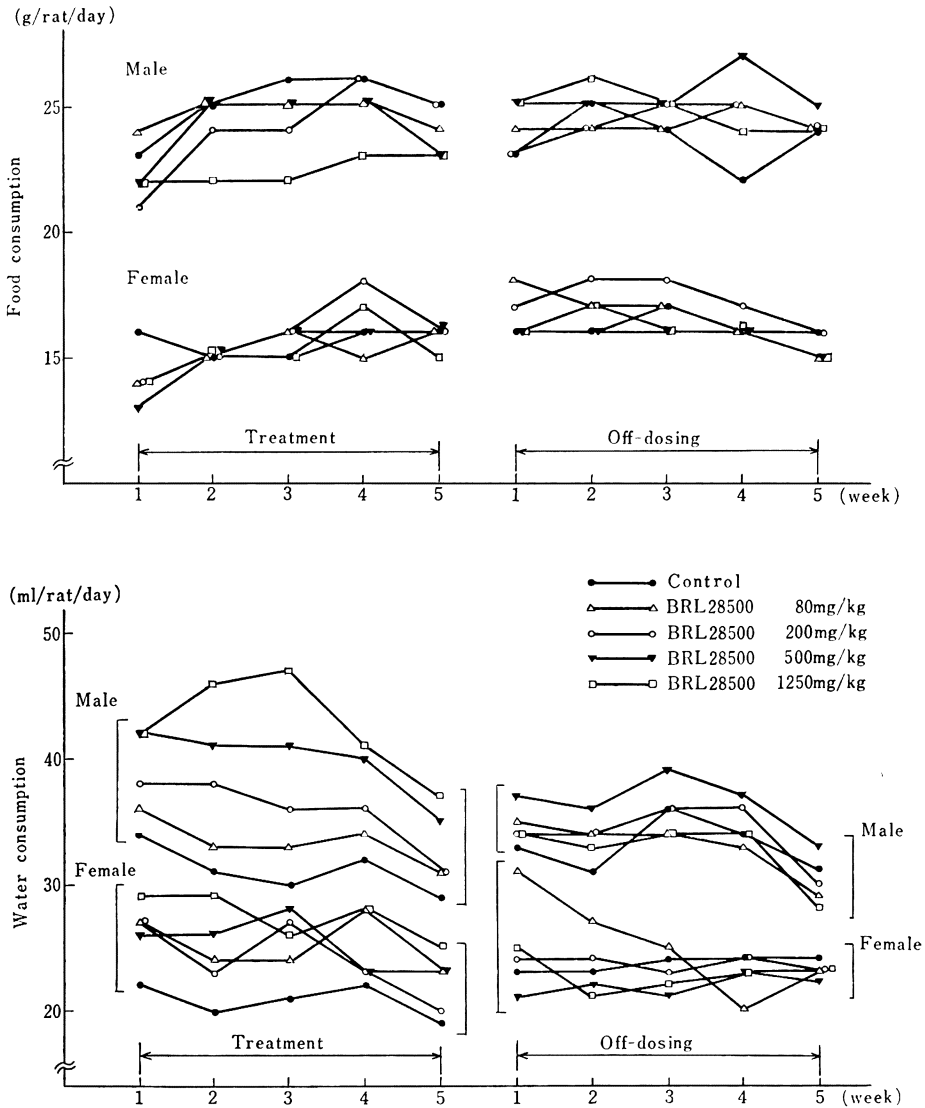
## 2) 体重 (Fig. 1, 2)

CVA-K では, 体重の増加抑制が 30 mg/kg 投与群の雄では投与 3 週以後, 120 mg/kg 投与群の雄では投与 1 週以後, 雌では投与期間終了時に認められた。

BRL 28500 では, 体重増加抑制あるいは軽度な減少が雄の 200 mg/kg 以上の投与群で投与 2 週以後認められた。

休薬期間には, 両検体とも体重増加量は対照群とほぼ同様か上回った。

Fig. 4 Food consumption and water consumption in rats receiving intravenously BRL 28500



3) 摂餌・摂水量 (Fig. 3, 4)

摂餌量は、CVA-K では雌雄とも対照群と差を認めなかった。BRL 28500 では、雄の 500 mg/kg 投与群の投与期間終了時に軽度低下、1, 250 mg/kg 投与群の投与3週以後に低下が認められた。また、雌では投与群全群で投与1週に低下を認めたが、投与2週には回復した。

摂水量は、CVA-K では雌雄とも対照群と差を認めなかった。BRL 28500 では、雄の 200 mg/kg 以上の投与群および雌の 80 mg/kg 以上の投与群で、投与1週より2または5週まで増加が認められた。

休業期間には、摂餌量、摂水量とも両検体の投与群は

対照群とほぼ同様であった。

4) 眼底検査

両検体とも各検査時期において特記すべき所見はなかった。

5) 尿検査

両検体とも各検査時期において特記すべき所見はなかった。

6) 血液学的検査 (Table 2~5)

CVA-K では、30 mg/kg 以上の投与群の雄および120 mg/kg 投与群の雌で網状赤血球比率の増加、120 mg/kg 投与群の雌雄でヘマトクリットおよびヘモグロ

ビンの低下, 血小板数の増加, APTT の短縮が認められ, 雄ではさらに, MCV および MCH の低下が認められた。

BRL 28500 でも, 1,250 mg/kg 投与群の雌雄で赤血球数, ヘマトクリットおよびヘモグロビンの低下, 網状赤血球比率の増加が, 雄ではさらに血小板数の増加が認められた。また, 雌では 500 mg/kg 以上の投与群でヘマトクリットおよびヘモグロビンの低下, PT の短縮が認

められた。

休薬期間終了時には, これらの所見は軽減または消失した。

#### 7) 血清生化学的検査 (Table 6~13)

CVA-K では, 30 mg/kg 以上の投与群の雄および 120 mg/kg 投与群の雌で, クレアチニンの減少, グロブリン  $\beta$  画分比率増加およびグロブリン  $\gamma$  画分比率の低下が認められた。さらに雄の 30 mg/kg 以上の投与群では, 総

Table 3 Haematology in rats receiving intravenously CVA-K (Off-dose)

Sex	Compound	Control	CVA-K			
	Dose (mg/kg)	P. saline	5	10	30	120
	No. of animals	6	6	5	6	6
Male	RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	899 $\pm$ 63	906 $\pm$ 32	918 $\pm$ 38	928 $\pm$ 36	932 $\pm$ 36
	Ht. (%)	46.3 $\pm$ 1.4	46.5 $\pm$ 2.0	47.4 $\pm$ 0.9	47.2 $\pm$ 1.7	46.6 $\pm$ 1.5
	Hb. (g/dl)	15.5 $\pm$ 0.7	15.6 $\pm$ 0.7	15.9 $\pm$ 0.5	16.0 $\pm$ 0.5	15.5 $\pm$ 0.5
	MCH (pg)	17.2 $\pm$ 0.6	17.3 $\pm$ 0.3	17.3 $\pm$ 0.7	17.2 $\pm$ 0.8	16.6 $\pm$ 0.6
	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	51.6 $\pm$ 2.3	51.3 $\pm$ 2.0	51.7 $\pm$ 2.1	50.9 $\pm$ 2.5	50.0 $\pm$ 2.1
	MCC (%)	33.4 $\pm$ 0.7	33.7 $\pm$ 0.9	33.5 $\pm$ 0.4	33.9 $\pm$ 0.3	33.2 $\pm$ 0.7
	Platelet ( $10^4/\text{mm}^3$ )	97.7 $\pm$ 11.1	101.1 $\pm$ 10.7	99.4 $\pm$ 3.6	101.4 $\pm$ 9.7	97.8 $\pm$ 12.6
	PT (sec)	12.2 $\pm$ 0.7	12.5 $\pm$ 0.7	12.1 $\pm$ 0.4	13.1 $\pm$ 1.3	13.0 $\pm$ 1.3
	APTT (sec)	21.0 $\pm$ 1.7	20.9 $\pm$ 0.8	20.4 $\pm$ 1.6	22.5 $\pm$ 1.7	21.6 $\pm$ 1.2
	Reticulo. (%)	15 $\pm$ 4	16 $\pm$ 1	16 $\pm$ 2	13 $\pm$ 2	16 $\pm$ 3
	WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	84 $\pm$ 32	63 $\pm$ 27	69 $\pm$ 25	64 $\pm$ 28	76 $\pm$ 22
	Lymph. (%)	89 $\pm$ 4	91 $\pm$ 2	91 $\pm$ 2	90 $\pm$ 2	91 $\pm$ 3
	Seg. (%)	6 $\pm$ 3	5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 2	7 $\pm$ 2	6 $\pm$ 3
	Stab. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
	Mono. (%)	3 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1
	Eosi. (%)	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
	Baso. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Female	No. of animals	6	6	6	5	6
	RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	855 $\pm$ 46	772 $\pm$ 146	822 $\pm$ 24	820 $\pm$ 47	843 $\pm$ 38
	Ht. (%)	44.2 $\pm$ 1.6	42.2 $\pm$ 4.6	43.8 $\pm$ 1.3	44.8 $\pm$ 1.4	44.8 $\pm$ 1.0
	Hb. (g/dl)	15.1 $\pm$ 0.7	14.1 $\pm$ 1.9	15.2 $\pm$ 0.4	15.7 $\pm$ 0.6	15.4 $\pm$ 0.6
	MCH (pg)	17.7 $\pm$ 0.7	18.5 $\pm$ 1.3	18.5 $\pm$ 0.4*	19.1 $\pm$ 1.0*	18.3 $\pm$ 0.6
	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	51.7 $\pm$ 1.9	55.6 $\pm$ 6.1	53.4 $\pm$ 1.7	54.7 $\pm$ 2.7	53.3 $\pm$ 2.4
	MCC (%)	34.3 $\pm$ 0.5	33.3 $\pm$ 1.3	34.6 $\pm$ 0.5	35.0 $\pm$ 0.6	34.4 $\pm$ 1.2
	Platelet ( $10^4/\text{mm}^3$ )	100.3 $\pm$ 5.7	106.4 $\pm$ 23.9	101.7 $\pm$ 8.8	100.3 $\pm$ 8.1	99.0 $\pm$ 12.3
	PT (sec)	11.8 $\pm$ 0.4	12.1 $\pm$ 1.5	11.5 $\pm$ 0.3	11.6 $\pm$ 0.3	11.7 $\pm$ 0.3
	APTT (sec)	17.7 $\pm$ 0.3	16.1 $\pm$ 4.9	18.7 $\pm$ 0.4**	18.1 $\pm$ 0.9	17.6 $\pm$ 0.6
	Reticulo. (%)	20 $\pm$ 4	50 $\pm$ 71	22 $\pm$ 4	20 $\pm$ 6	22 $\pm$ 4
	WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	28 $\pm$ 10	25 $\pm$ 11	31 $\pm$ 9	25 $\pm$ 13	25 $\pm$ 7
	Lymph. (%)	90 $\pm$ 3	90 $\pm$ 4	89 $\pm$ 2	89 $\pm$ 4	87 $\pm$ 4
	Seg. (%)	8 $\pm$ 3	7 $\pm$ 3	8 $\pm$ 3	7 $\pm$ 4	9 $\pm$ 3
	Stab. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	Mono. (%)	2 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1
	Eosi. (%)	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1*	1 $\pm$ 1
Baso. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	

Mean  $\pm$  S.D.

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+  $P < 0.05$ , ++  $P < 0.01$  Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)



蛋白および総ビリルビンの増加, 120 mg/kg 投与群ではアルブミンおよびカルシウムの増加, A/G 比, 血糖およびトリグリセリドの減少, 雌の 120 mg/kg 投与群ではグロブリン  $\alpha_1$  画分比率の増加, A/G 比の減少が認められた。

BRL 28500 では, 雄の 1,250 mg/kg 投与群で総蛋白, アルブミン, トリグリセリド, クレアチニンの低下, グロブリン  $\alpha_1$  および  $\alpha_2$  画分比率の増加, アルブミ

ン比率の低下が認められた。雌の 1,250 mg/kg 投与群もほぼ同様の傾向が認められたが雄よりも軽度なものだった。

休薬期間終了時には, これらの所見は軽減または消失した。

#### 8) 剖検

死亡例は, CVA-K 投与の 2 例で肺の軽度または中等度の赤色化および肝臓の軽度な肥大が観察された。

Table 4 Haematology in rats receiving intravenously BRL 28500 (Treatment)

Sex	Compound	Control	BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals	10	10	10	10	10
Male	RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	873 $\pm$ 55	855 $\pm$ 63	861 $\pm$ 53	851 $\pm$ 44	785 $\pm$ 63**
	Ht. (%)	46.2 $\pm$ 1.5	45.8 $\pm$ 1.9	45.7 $\pm$ 2.0	45.1 $\pm$ 1.3	42.6 $\pm$ 2.2**
	Hb. (g/dl)	15.5 $\pm$ 0.6	15.5 $\pm$ 0.7	15.5 $\pm$ 0.6	15.3 $\pm$ 0.4	14.3 $\pm$ 0.8**
	MCH (pg)	17.7 $\pm$ 0.7	18.2 $\pm$ 1.0	18.1 $\pm$ 0.7	18.0 $\pm$ 0.8	18.2 $\pm$ 0.7
	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	53.0 $\pm$ 2.5	53.8 $\pm$ 3.4	53.1 $\pm$ 2.0	53.2 $\pm$ 2.3	54.4 $\pm$ 2.4
	MCC (%)	33.5 $\pm$ 0.6	33.8 $\pm$ 0.6	34.0 $\pm$ 0.5*	33.8 $\pm$ 0.4	33.5 $\pm$ 0.5
	Platelet ( $10^4/\text{mm}^3$ )	92 $\pm$ 8	84 $\pm$ 7*	82 $\pm$ 8*	94 $\pm$ 10	104 $\pm$ 12*
	PT (sec)	11.9 $\pm$ 0.6	12.0 $\pm$ 1.1	11.7 $\pm$ 0.5	11.8 $\pm$ 0.3	11.5 $\pm$ 0.4
	APTT (sec)	19.7 $\pm$ 1.1	20.6 $\pm$ 1.6	20.5 $\pm$ 1.4	20.9 $\pm$ 1.2*	18.8 $\pm$ 1.3
	Reticulo. (%)	39 $\pm$ 7	34 $\pm$ 6	41 $\pm$ 8	39 $\pm$ 6	56 $\pm$ 13**
	WBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	70 $\pm$ 16	66 $\pm$ 23	68 $\pm$ 27	78 $\pm$ 20	75 $\pm$ 21
	Lymph. (%)	81 $\pm$ 6	88 $\pm$ 4**	87 $\pm$ 7	81 $\pm$ 13	76 $\pm$ 12
	Seg. (%)	15 $\pm$ 6	8 $\pm$ 3**	10 $\pm$ 5	14 $\pm$ 14	20 $\pm$ 12
	Stab. (%)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
	Mono. (%)	3 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2
	Eosi. (%)	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
Baso. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	RBC ( $10^4/\text{mm}^3$ )	779 $\pm$ 74	744 $\pm$ 34	741 $\pm$ 49	722 $\pm$ 41	676 $\pm$ 57**
	Ht. (%)	42.3 $\pm$ 2.5	40.3 $\pm$ 1.7*	40.9 $\pm$ 2.0	39.4 $\pm$ 2.0**	38.4 $\pm$ 2.4**
	Hb. (g/dl)	13.9 $\pm$ 0.7	13.4 $\pm$ 0.4	13.4 $\pm$ 0.5	13.1 $\pm$ 0.5*	12.6 $\pm$ 0.8**
	MCH (pg)	18.0 $\pm$ 0.9	18.0 $\pm$ 0.5	18.1 $\pm$ 0.7	18.2 $\pm$ 0.8	18.7 $\pm$ 1.0
	MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	54.6 $\pm$ 3.5	54.1 $\pm$ 1.7	55.4 $\pm$ 1.9	54.6 $\pm$ 3.0	57.0 $\pm$ 2.5
	MCC (%)	32.9 $\pm$ 0.9	33.3 $\pm$ 0.8	32.7 $\pm$ 1.2	33.3 $\pm$ 1.1	32.9 $\pm$ 0.8
	Platelet ( $10^4/\text{mm}^3$ )	92 $\pm$ 8	82 $\pm$ 9*	85 $\pm$ 7	83 $\pm$ 7*	92 $\pm$ 8
	PT (sec)	11.4 $\pm$ 0.3	11.2 $\pm$ 0.6	11.2 $\pm$ 0.5	11.0 $\pm$ 0.2**	10.9 $\pm$ 0.3**
	APTT (sec)	17.9 $\pm$ 1.2	18.3 $\pm$ 1.8	17.8 $\pm$ 0.7	18.0 $\pm$ 0.6	17.3 $\pm$ 0.8
	Reticulo. (%)	35 $\pm$ 10	36 $\pm$ 8	40 $\pm$ 9	41 $\pm$ 10	57 $\pm$ 22 <sup>+</sup>
	WBC ( $10^2/\text{mm}^3$ )	25 $\pm$ 12	24 $\pm$ 9	22 $\pm$ 7	20 $\pm$ 7	25 $\pm$ 10
	Lymph. (%)	84 $\pm$ 7	83 $\pm$ 7	87 $\pm$ 5	85 $\pm$ 6	83 $\pm$ 7
	Seg. (%)	11 $\pm$ 4	10 $\pm$ 5	9 $\pm$ 4	10 $\pm$ 5	12 $\pm$ 6
	Stab. (%)	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
	Mono. (%)	3 $\pm$ 2	4 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	3 $\pm$ 3
Eosi. (%)	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	2 $\pm$ 2	
Baso. (%)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	

Mean  $\pm$  S.D.

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

<sup>+</sup>  $P < 0.05$ , <sup>++</sup>  $P < 0.01$  Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

生存例について、CVA-K 投与では検体投与によると考えられる異常所見は認められなかった。BRL 28500 では、盲腸の拡張が全投与群の雌雄全例に認められたほか、1,250 mg/kg 投与群で副腎の肥大、脾臓の軽度肥大ならびに脾材の不明瞭、投与部位の痙皮形成または壊死などが散見された。

休薬期間終了時には、BRL 28500 の 1,250 mg/kg 投与群の雌 1 例で、投与部位の壊死に伴う尾部脱落がみら

れたほかは、両検体投与によると考えられる異常所見は認められなかった。

#### 9) 臓器重量 (Table 14~17)

絶対および相対重量ともに変化のみられた臓器は以下のものであった。

CVA-K では、肝重量の増加が 30 mg/kg 以上の投与群の雄、120 mg/kg 投与群の雌で認められた。

BRL 28500 では、盲腸重量の増加が全投与群の雌雄全

Table 5 Haematology in rats receiving intravenously BRL 28500 (Off-dose)

Sex	Compound	Control	BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals	6	6	6	6	6
Male	RBC (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	899 ± 39	908 ± 40	926 ± 73	940 ± 27	916 ± 44
	Ht. (%)	46.1 ± 1.7	45.7 ± 1.1	47.0 ± 1.6	48.3 ± 1.8*	47.0 ± 1.7
	Hb. (g/dl)	15.6 ± 0.6	15.6 ± 0.4	16.0 ± 0.6	16.4 ± 0.5*	16.1 ± 0.7
	MCH (pg)	17.4 ± 0.5	17.2 ± 0.4	17.3 ± 0.8	17.4 ± 0.5	17.6 ± 0.6
	MCV (μm <sup>3</sup> )	51.3 ± 1.5	50.3 ± 1.2	50.9 ± 2.9	51.4 ± 1.3	51.4 ± 1.9
	MCC (%)	33.9 ± 0.4	34.1 ± 0.3	34.0 ± 0.5	33.9 ± 0.3	34.3 ± 0.6
	Platelet (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	86 ± 10	80 ± 6	83 ± 11	88 ± 9	83 ± 8
	PT (sec)	11.8 ± 0.4	11.5 ± 0.2	11.7 ± 0.7	12.2 ± 0.9	12.2 ± 0.6
	APTT (sec)	20.7 ± 1.8	20.8 ± 1.7	21.8 ± 1.9	22.4 ± 1.5	22.5 ± 1.8
	Reticulo. (%)	27 ± 5	26 ± 4	25 ± 7	26 ± 2	24 ± 6
	WBC (10 <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> )	54 ± 13	62 ± 35	66 ± 14	58 ± 9	55 ± 17
	Lymph. (%)	83 ± 4	76 ± 14	84 ± 5	80 ± 4	81 ± 6
	Seg. (%)	12 ± 4	19 ± 12	11 ± 4	14 ± 4	14 ± 7
	Stab. (%)	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
	Mono. (%)	3 ± 1	3 ± 2	2 ± 2	3 ± 2	2 ± 1
	Eosi. (%)	1 ± 1	1 ± 2	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
Baso. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
Female	No. of animals	6	6	6	6	6
	RBC (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	865 ± 39	844 ± 32	859 ± 19	902 ± 39	868 ± 43
	Ht. (%)	44.3 ± 1.2	44.5 ± 0.9	44.7 ± 1.0	45.2 ± 1.3	44.7 ± 1.1
	Hb. (g/dl)	15.4 ± 0.4	15.4 ± 0.4	15.6 ± 0.4	15.8 ± 0.4	15.5 ± 0.3
	MCH (pg)	17.9 ± 0.4	18.2 ± 0.4	18.2 ± 0.2	17.5 ± 0.5	17.9 ± 0.8
	MCV (μm <sup>3</sup> )	51.2 ± 1.8	52.7 ± 1.3	52.0 ± 0.4	50.1 ± 1.4	51.5 ± 2.4
	MCC (%)	34.9 ± 0.5	34.6 ± 0.3	34.9 ± 0.3	34.9 ± 0.3	34.7 ± 0.8
	Platelet (10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup> )	84 ± 10	83 ± 9	70 ± 5**	80 ± 6	77 ± 2
	PT (sec)	11.9 ± 0.2	11.6 ± 0.2*	11.5 ± 0.3*	11.5 ± 0.3	11.7 ± 0.2
	APTT (sec)	19.2 ± 0.8	18.5 ± 0.6	18.7 ± 1.4	18.5 ± 1.5	19.4 ± 1.4
	Reticulo. (%)	23 ± 3	27 ± 4	21 ± 4	18 ± 3*	17 ± 4*
	WBC (10 <sup>2</sup> /mm <sup>3</sup> )	18 ± 5	22 ± 9	31 ± 21	24 ± 12	26 ± 12
	Lymph. (%)	82 ± 11	74 ± 5	80 ± 12	77 ± 10	74 ± 13
	Seg. (%)	14 ± 9	18 ± 6	16 ± 12	17 ± 9	20 ± 13
	Stab. (%)	1 ± 1	1 ± 1	0 ± 0 <sup>+</sup>	0 ± 0	0 ± 1
	Mono. (%)	2 ± 2	5 ± 2*	2 ± 1	4 ± 1*	4 ± 2
Eosi. (%)	1 ± 2	2 ± 2	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 2	
Baso. (%)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	

Mean ± S.D.

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P < 0.05, ++ P < 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Table 6 Serum biochemistry in rats receiving intravenously CVA-K (Treatment)

Sex	Compound		CVA-K			
	Dose (mg/kg)	Control	5	10	30	120
	No. of animals	P. saline	10	10	9	10
Male	GOT (IU/l)	97 ± 9	107 ± 22	107 ± 17	101 ± 16	104 ± 14
	GPT (IU/l)	30 ± 4	29 ± 4	31 ± 3	30 ± 6	28 ± 3
	ALP (IU/l)	168 ± 38	152 ± 31	151 ± 32	135 ± 27*	174 ± 25
	GLU (mg/dl)	150 ± 20	145 ± 14	142 ± 12	135 ± 19	124 ± 11 <sup>++</sup>
	TP (g/dl)	5.2 ± 0.2	5.2 ± 0.1	5.3 ± 0.2	5.5 ± 0.2*	5.8 ± 0.2 <sup>**</sup>
	ALB (g/dl)	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.3 ± 0.2	3.4 ± 0.1	3.5 ± 0.2 <sup>**</sup>
	A/G	1.64 ± 0.10	1.64 ± 0.11	1.66 ± 0.12	1.61 ± 0.09	1.55 ± 0.07*
	BIL (mg/dl)	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.01*	0.18 ± 0.04 <sup>+</sup>
	BUN (mg/dl)	15 ± 2	13 ± 1	14 ± 1	14 ± 1	15 ± 3
	TG (mg/dl)	62 ± 15	69 ± 11	70 ± 12	56 ± 10	46 ± 11*
	CRE (mg/dl)	0.62 ± 0.06	0.60 ± 0.05	0.59 ± 0.05	0.55 ± 0.04 <sup>**</sup>	0.54 ± 0.05 <sup>**</sup>
	CA (mg/dl)	9.3 ± 0.3	9.3 ± 0.3	9.2 ± 0.3	9.3 ± 0.3	9.6 ± 0.2*
	NA (mEq/l)	143 ± 1	144 ± 2	143 ± 2	143 ± 1	143 ± 2
	K (mEq/l)	5.3 ± 0.6	5.1 ± 0.5	5.2 ± 0.4	5.0 ± 0.4	5.3 ± 0.7
CL (mEq/l)	104 ± 2	105 ± 2	105 ± 2	103 ± 2	104 ± 1	
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	GOT (IU/l)	97 ± 11	99 ± 16	104 ± 13	100 ± 18	105 ± 12
	GPT (IU/l)	21 ± 3	25 ± 4*	24 ± 4*	22 ± 4	23 ± 5
	ALP (IU/l)	103 ± 32	99 ± 16	106 ± 15	86 ± 17	102 ± 17
	GLU (mg/dl)	120 ± 15	126 ± 20	117 ± 13	123 ± 13	107 ± 15
	TP (g/dl)	5.4 ± 0.2	5.4 ± 0.3	5.3 ± 0.2	5.5 ± 0.3	5.4 ± 0.2
	ALB (g/dl)	3.4 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.4 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.3 ± 0.1
	A/G	1.79 ± 0.11	1.83 ± 0.14	1.75 ± 0.16	1.71 ± 0.07	1.60 ± 0.14 <sup>**</sup>
	BIL (mg/dl)	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.03
	BUN (mg/dl)	17 ± 3	16 ± 3	17 ± 2	16 ± 3	15 ± 2*
	TG (mg/dl)	43 ± 9	41 ± 7	37 ± 7	40 ± 4	36 ± 4
	CRE (mg/dl)	0.64 ± 0.06	0.62 ± 0.04	0.61 ± 0.04	0.62 ± 0.04	0.51 ± 0.05 <sup>**</sup>
	CA (mg/dl)	9.5 ± 0.3	9.5 ± 0.3	9.3 ± 0.4	9.5 ± 0.3	9.7 ± 0.3
	NA (mEq/l)	140 ± 1	140 ± 1	139 ± 1	140 ± 2	140 ± 2
K (mEq/l)	4.8 ± 0.4	4.9 ± 0.4	4.8 ± 0.4	5.0 ± 0.4	5.0 ± 0.3	
CL (mEq/l)	105 ± 1	105 ± 1	105 ± 2	106 ± 2	104 ± 1	

Mean ± S.D.

\* P &lt; 0.05, \*\* P &lt; 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P &lt; 0.05, ++ P &lt; 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

例に認められた。その他に有意差のあるものもみられたが、特に著明なものはない。

休薬期間終了時には、これらの所見は軽減または消失した。

#### 10) 病理組織学的検査 (Table 18~20)

CVA-K では、肝細胞質内淡明化が 120 mg/kg 投与群の雄で軽度、肝細胞質内の周辺部に局在化した PAS 陽性物質の細胞質内貯留が雄の 30 mg/kg 以上の全例と雌の 120 mg/kg 投与群の全例に認められた。この PAS 陽性物質の貯留は小葉単位には弥漫性ないし散在性に、極く軽度から高度に用量に相関して認められた。また、

赤脾髄にヘモジリン沈着の軽度増加および赤芽球系髄外造血の軽度活性化が 120 mg/kg 投与群の雌雄の 2 ないし 6 例に認められた。また、投与部位では尾部間質内出血、間質内好中球の浸潤などの軽度な変化が雌雄の各群に散見された。

BRL 28500 でも、CVA-K と同様に、PAS 陽性物質の肝細胞質内貯留が 500 mg/kg 以上の投与群の雄ではほぼ全例に、1,250 mg/kg 投与群の雌の半数例に極く軽度から中等度に認められ、この物質は PAS 消化試験で消失した。投与部位では、表皮細胞壊死、皮膚潰瘍が雌雄の 1,250 mg/kg 投与群で認められた。

Table 7 Serum biochemistry in rats receiving intravenously CVA-K (Off-dose)

Sex	Compound		Control	CVA-K			
	Dose (mg/kg)		P. saline	5	10	30	120
	No. of animals		6	6	5	6	6
Male	GOT	(IU/l)	99 ± 9	103 ± 20	94 ± 13	89 ± 5*	93 ± 7
	GPT	(IU/l)	30 ± 4	28 ± 4	26 ± 4	28 ± 3	29 ± 6
	ALP	(IU/l)	116 ± 28	94 ± 25	107 ± 20	92 ± 19	98 ± 12
	GLU	(mg/dl)	144 ± 11	156 ± 20	155 ± 25	155 ± 18	155 ± 16
	TP	(g/dl)	5.5 ± 0.1	5.4 ± 0.3	5.5 ± 0.2	5.5 ± 0.2	5.8 ± 0.3
	ALB	(g/dl)	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.2 ± 0.1	3.4 ± 0.2
	A/G		1.39 ± 0.06	1.49 ± 0.12	1.35 ± 0.07	1.38 ± 0.04	1.38 ± 0.05
	BIL	(mg/dl)	0.18 ± 0.03	0.17 ± 0.04	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.02
	BUN	(mg/dl)	15 ± 1	15 ± 2	17 ± 3	16 ± 2	17 ± 2
	TG	(mg/dl)	75 ± 17	66 ± 25	63 ± 11	72 ± 5	54 ± 8*
	CRE	(mg/dl)	0.65 ± 0.03	0.64 ± 0.05	0.63 ± 0.04	0.64 ± 0.02	0.62 ± 0.04
	CA	(mg/dl)	9.4 ± 0.2	9.3 ± 0.3	9.4 ± 0.2	9.3 ± 0.3	9.6 ± 0.3
	NA	(mEq/l)	142 ± 2	142 ± 2	142 ± 2	143 ± 1	143 ± 2
	K	(mEq/l)	5.0 ± 0.3	5.2 ± 0.5	5.3 ± 0.3	5.1 ± 0.2	5.0 ± 0.1
CL	(mEq/l)	105 ± 1	104 ± 2	104 ± 1	105 ± 1	104 ± 2	
Female	No. of animals		6	6	6	5	6
	GOT	(IU/l)	97 ± 15	106 ± 42	101 ± 29	114 ± 55	79 ± 10*
	GPT	(IU/l)	26 ± 2	32 ± 21	28 ± 9	36 ± 22	21 ± 2**
	ALP	(IU/l)	56 ± 12	45 ± 11	58 ± 12	51 ± 9	58 ± 12
	GLU	(mg/dl)	124 ± 14	135 ± 10	134 ± 23	132 ± 6	124 ± 20
	TP	(g/dl)	5.6 ± 0.2	6.0 ± 0.3**	5.7 ± 0.3	5.8 ± 0.4	5.6 ± 0.5
	ALB	(g/dl)	3.4 ± 0.2	3.7 ± 0.1*	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.3
	A/G		1.53 ± 0.16	1.61 ± 0.11	1.57 ± 0.09	1.59 ± 0.10	1.48 ± 0.11
	BIL	(mg/dl)	0.15 ± 0.02	0.18 ± 0.05	0.15 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.02
	BUN	(mg/dl)	17 ± 2	17 ± 2	17 ± 2	16 ± 2	17 ± 4
	TG	(mg/dl)	43 ± 5	59 ± 38	40 ± 6	52 ± 4*	40 ± 5
	CRE	(mg/dl)	0.64 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.68 ± 0.06	0.66 ± 0.03	0.64 ± 0.06
	CA	(mg/dl)	9.3 ± 0.1	9.6 ± 0.4	9.4 ± 0.2	9.5 ± 0.1*	9.3 ± 0.1
	NA	(mEq/l)	141 ± 2	140 ± 1	141 ± 1	141 ± 2	143 ± 1*
K	(mEq/l)	5.0 ± 0.6	5.1 ± 0.3	5.0 ± 0.2	5.0 ± 0.3	4.8 ± 0.3	
CL	(mEq/l)	105 ± 1	105 ± 1	106 ± 2	107 ± 2	107 ± 1*	

Mean ± S.D.

\* P &lt; 0.05, \*\* P &lt; 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P &lt; 0.05, ++ P &lt; 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

休薬期間終了時には、これらの所見は軽減または消失した。

#### 11) 電子顕微鏡的検査

CVA-K では、肝細胞にαならびにβ-タイプのグリコーゲン顆粒の増加、ゴルジ装置と滑面小胞体の増加が、120 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。腎臓では対照群と比較し、特記すべき所見はみられなかった。

BRL 28500 では、肝細胞にゴルジ装置と滑面小胞体の増加が 200 mg/kg 以上の投与群で、グリコーゲン顆粒の増加が 500 mg/kg 以上の投与群の雄および 1,250 mg/kg 投与群の雌で認められ、1,250 mg/kg 投与群の

雌では特にβ-タイプの増加がみられた。腎臓では対照群と比較し、特記すべき所見はみられなかった。

休薬期間終了時には、肝臓に認められた所見はいずれも軽減していた。

### III. 考 察

#### 1. 急性毒性

LD<sub>50</sub> 値を各投与経路で比較すると静脈内投与で最も小さく、皮下、経口投与の順で大きくなった。また、雌雄間の比較では、特定の傾向は見いだせず、大きな差が認められなかった。マウスとラットの間にも大きな差はなかった。

Table 8 Serum biochemistry in rats receiving intravenously BRL 28500 (Treatment)

Sex	Compound		BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals	10	10	10	10	10
Male	GOT (IU/l)	116 ± 16	101 ± 13*	94 ± 7**	100 ± 15*	103 ± 20
	GPT (IU/l)	28 ± 5	25 ± 5	26 ± 3	31 ± 13	26 ± 5
	ALP (IU/l)	121 ± 33	120 ± 17	134 ± 32	119 ± 36	106 ± 28
	GLU (mg/dl)	141 ± 28	142 ± 15	153 ± 14	150 ± 21	130 ± 18
	TP (g/dl)	5.5 ± 0.2	5.3 ± 0.3*	5.3 ± 0.2*	5.6 ± 0.2	5.2 ± 0.3*
	ALB (g/dl)	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.1 ± 0.1	2.8 ± 0.2*
	A/G	1.23 ± 0.08	1.35 ± 0.09**	1.33 ± 0.12*	1.26 ± 0.05	1.19 ± 0.08
	BIL (mg/dl)	0.26 ± 0.06	0.23 ± 0.08	0.22 ± 0.03	0.20 ± 0.03*	0.22 ± 0.04
	BUN (mg/dl)	19 ± 3	17 ± 2	18 ± 2	18 ± 2	19 ± 3
	TG (mg/dl)	90 ± 17	81 ± 35	97 ± 19	75 ± 30	65 ± 17**
	CRE (mg/dl)	0.66 ± 0.11	0.58 ± 0.08	0.61 ± 0.08	0.60 ± 0.08	0.55 ± 0.08*
	CA (mg/dl)	9.7 ± 0.2	9.5 ± 0.2	9.6 ± 0.2	9.7 ± 0.3	9.6 ± 0.3
	NA (mEq/l)	144 ± 1	144 ± 2	143 ± 1*	142 ± 2*	143 ± 1
	K (mEq/l)	5.1 ± 0.4	4.8 ± 0.4	4.9 ± 0.5	5.2 ± 0.5	5.1 ± 0.4
	CL (mEq/l)	105 ± 1	105 ± 1	104 ± 1	105 ± 1	104 ± 1*
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	GOT (IU/l)	95 ± 10	91 ± 13	92 ± 13	91 ± 11	93 ± 16
	GPT (IU/l)	22 ± 4	21 ± 5	21 ± 4	19 ± 4	20 ± 4
	ALP (IU/l)	90 ± 24	97 ± 20	96 ± 26	75 ± 14	76 ± 16
	GLU (mg/dl)	94 ± 9	99 ± 10	101 ± 6*	103 ± 11*	98 ± 8
	TP (g/dl)	5.5 ± 0.2	5.2 ± 0.4	5.3 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.2 ± 0.2*
	ALB (g/dl)	3.3 ± 0.1	3.2 ± 0.3	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.2 ± 0.1*
	A/G	1.59 ± 0.09	1.62 ± 0.14	1.64 ± 0.12	1.60 ± 0.08	1.55 ± 0.11
	BIL (mg/dl)	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.03
	BUN (mg/dl)	18 ± 2	16 ± 2*	17 ± 4	16 ± 1**	17 ± 3
	TG (mg/dl)	64 ± 13	55 ± 20	68 ± 30	52 ± 14	54 ± 11
	CRE (mg/dl)	0.68 ± 0.08	0.65 ± 0.13	0.70 ± 0.13	0.61 ± 0.09	0.59 ± 0.06**
	CA (mg/dl)	9.7 ± 0.3	9.7 ± 0.3	9.7 ± 0.2	9.7 ± 0.3	9.6 ± 0.2
	NA (mEq/l)	142 ± 1	142 ± 2	142 ± 1	142 ± 2	142 ± 1
	K (mEq/l)	4.8 ± 0.2	4.6 ± 0.4	4.6 ± 0.3	4.5 ± 0.5	4.7 ± 0.3
CL (mEq/l)	105 ± 2	106 ± 2	106 ± 2	106 ± 1	105 ± 3	

Mean ± S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P&lt;0.05, ++ P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

両検体間で LD<sub>50</sub> 値を比較すると、ラット静脈内投与では、BRL 28500 は CVA-K のその約 12~16 倍であった。TIPC のラット静脈内投与 LD<sub>50</sub> 値は、5,350 (雄), 6,130 (雌) mg/kg と報告されており<sup>1)</sup>, BRL 28500 の値は CVA-K と TIPC の毒性をほぼ反映していると考えられた。各投与経路のマウス、ラットの BRL 28500 の LD<sub>50</sub> 値を TIPC<sup>1)</sup> および CVA-K<sup>2)</sup> のそれと比較検討すると、ラット静脈内投与とはほぼ同様の傾向であり、CVA-K と TIPC の配合により毒性は増強しないと考えられた。

両検体の推定臨床用量の約 70 倍以上の静脈内投与で

は、直後に一時的な痙攣、心拍動の減弱などが見られた。これは、一般に知られているカリウムの大量投与ないし高濃度の検体の大量投与<sup>3,4)</sup> により生じた非特異的なものと考えられた。また、BRL 28500 投与後にみられた一般症状は、CVA-K 投与で今回または前回の試験<sup>2)</sup> にて観察されたもの、あるいは TIPC で報告<sup>1)</sup> されているもののいずれかに該当するものであった。

死亡例の剖検では、両検体の静脈内投与により、肺のうっ血と考えられる暗赤色化ならびに胸水および腹水が認められ、死因は検体の大量投与による循環障害<sup>4)</sup> が一因と推測された。また、消化管、胸腺、脾臓などで観察

Table 9 Serum biochemistry in rats receiving intravenously BRL 28500 (Off-dose)

Sex	Compound		Control	BRL 28500			
	Dose (mg/kg)		P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals		6	6	6	6	6
Male	GOT	(IU/l)	74 ± 8	96 ± 18*	94 ± 32	86 ± 9*	90 ± 28
	GPT	(IU/l)	28 ± 4	33 ± 8	28 ± 3	28 ± 3	34 ± 10
	ALP	(IU/l)	105 ± 23	100 ± 34	100 ± 22	120 ± 35	100 ± 30
	GLU	(mg/dl)	152 ± 10	180 ± 51	175 ± 21*	153 ± 19	164 ± 26
	TP	(g/dl)	5.3 ± 0.3	5.4 ± 0.3	5.3 ± 0.2	5.3 ± 0.3	5.4 ± 0.1
	ALB	(g/dl)	3.1 ± 0.1	3.0 ± 0.2	3.0 ± 0.1	3.0 ± 0.2	3.1 ± 0.1
	A/G		1.36 ± 0.08	1.25 ± 0.06*	1.36 ± 0.11	1.29 ± 0.04	1.33 ± 0.09
	BIL	(mg/dl)	0.26 ± 0.03	0.29 ± 0.10	0.23 ± 0.05	0.22 ± 0.06	0.26 ± 0.03
	BUN	(mg/dl)	18 ± 2	17 ± 2	18 ± 1	18 ± 1	17 ± 3
	TG	(mg/dl)	113 ± 20	111 ± 25	103 ± 36	107 ± 36	101 ± 22
	CRE	(mg/dl)	0.63 ± 0.06	0.60 ± 0.07	0.69 ± 0.08	0.64 ± 0.05	0.60 ± 0.06
	CA	(mg/dl)	9.6 ± 0.2	9.7 ± 0.3	9.7 ± 0.3	9.6 ± 0.2	9.8 ± 0.2
	NA	(mEq/l)	144 ± 1	142 ± 2	142 ± 2	144 ± 2	142 ± 1
	K	(mEq/l)	4.8 ± 0.3	5.0 ± 0.5	5.3 ± 0.3*	4.9 ± 0.3	5.0 ± 0.4
CL	(mEq/l)	103 ± 2	104 ± 1	105 ± 2	104 ± 2	103 ± 1	
Female	No. of animals		6	6	6	6	6
	GOT	(IU/l)	106 ± 52	89 ± 18	86 ± 6	95 ± 18	86 ± 12
	GPT	(IU/l)	29 ± 15	23 ± 3	23 ± 3	23 ± 4	24 ± 4
	ALP	(IU/l)	55 ± 16	59 ± 15	56 ± 3	50 ± 8	62 ± 14
	GLU	(mg/dl)	112 ± 22	117 ± 19	124 ± 25	113 ± 15	110 ± 20
	TP	(g/dl)	5.7 ± 0.2	5.5 ± 0.4	5.7 ± 0.2	5.2 ± 0.3*	5.2 ± 0.3*
	ALB	(g/dl)	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.2 ± 0.1	3.1 ± 0.1
	A/G		1.40 ± 0.15	1.47 ± 0.07	1.55 ± 0.14	1.52 ± 0.06	1.45 ± 0.19
	BIL	(mg/dl)	0.26 ± 0.06	0.21 ± 0.04	0.27 ± 0.15	0.20 ± 0.03*	0.21 ± 0.06
	BUN	(mg/dl)	17 ± 3	18 ± 2	17 ± 3	18 ± 3	21 ± 4
	TG	(mg/dl)	85 ± 28	79 ± 24	120 ± 100	69 ± 15	67 ± 23
	CRE	(mg/dl)	0.64 ± 0.09	0.71 ± 0.07	0.64 ± 0.05	0.69 ± 0.07	0.67 ± 0.09
	CA	(mg/dl)	9.8 ± 0.2	9.9 ± 0.4	9.9 ± 0.2	9.8 ± 0.2	9.7 ± 0.2
	NA	(mEq/l)	143 ± 1	141 ± 1*	141 ± 1	142 ± 2	141 ± 0
K	(mEq/l)	5.0 ± 0.4	5.2 ± 0.6	4.6 ± 0.4	5.2 ± 0.7	4.9 ± 0.4	
CL	(mEq/l)	108 ± 2	108 ± 2	108 ± 1	108 ± 2	107 ± 2	

Mean ± S.D.

\* P &lt; 0.05, \*\* P &lt; 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P &lt; 0.05, ++ P &lt; 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

された所見も循環障害による全身状態の悪化を示していると推測された。

盲腸の拡張および投与局所の変化が、死亡例および生存例の双方に認められた。前者は、既に知られているように抗生物質の投与による腸内細菌叢の変化<sup>5)</sup>と関連したものと考えられ、後者は両検体の高濃度における軽度な刺激性によるものと考えられた。

このほかに生存例では、特に検体に特有な所見と考えられるものはなかった。

## 2. 亜急性毒性

CVA-K および BRL 28500 をラットにそれぞれ 35 日

間連続静脈内投与してそれらの亜急性毒性を検討し、さらに 35 日間の休薬期間を設けて、検体による影響の回復性も合わせて検討した。

投与期間中、CVA-K の 30 および 120 mg/kg 投与群で、それぞれ雄 1 例が心拍動の減弱をきたし死亡した。このような症状は、急性毒性試験でも認められており、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、CVA 自体の中毒作用によるものとは考え難かった。このほかに一般症状として、両検体の投与直後に鎮静、呼吸困難、歩行異常、痙攣などが認められたが、いずれも一時的かつ散発的に認められてお

Table 10 Serum protein electrophoresis in rats receiving intravenously CVA-K (Treatment)

Sex	Compound	Control	CVA-K			
	Dose (mg/kg)	P. saline	5	10	30	120
	No. of animals	10	10	10	9	10
Male	Total protein (g/dl)	5.2±0.2	5.2±0.1	5.3±0.2	5.5±0.2*	5.8±0.2**
	Albumin (%)	58.1±2.6	58.3±2.2	58.5±1.5	57.9±1.1	54.5±1.7**
	Alpha 1 (%)	16.6±1.8	15.4±2.1	16.3±1.9	16.7±1.6	16.7±2.8
	Alpha 2 (%)	4.3±0.7	4.6±0.6	4.4±0.6	4.0±0.9	3.9±0.9
	Beta (%)	13.9±0.9	14.2±1.0	14.1±0.8	15.4±1.0**	19.5±1.6**
	Gamma (%)	7.1±0.9	7.4±1.7	6.8±1.1	5.9±0.8**	5.3±0.8**
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	Total protein (g/dl)	5.4±0.2	5.4±0.3	5.3±0.2	5.5±0.3	5.4±0.2
	Albumin (%)	61.5±2.9	61.8±1.8	61.9±1.9	60.7±2.8	57.0±2.0**
	Alpha 1 (%)	11.4±1.4	11.8±1.7	11.6±1.3	12.3±1.9	14.7±2.4**
	Alpha 2 (%)	5.0±0.9	4.8±0.7	4.6±1.0	5.0±1.1	4.3±0.8
	Beta (%)	13.7±0.9	13.6±0.8	13.7±1.1	13.9±1.3	16.8±1.1**
	Gamma (%)	8.5±1.2	7.9±1.5	8.2±1.4	8.0±1.7	7.3±1.3*

Mean±S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P&lt;0.05, ++ P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Table 11 Serum protein electrophoresis in rats receiving intravenously CVA-K (Off-dose)

Sex	Compound	Control	CVA-K			
	Dose (mg/kg)	P. saline	5	10	30	120
	No. of animals	6	6	5	6	6
Male	Total protein (g/dl)	5.5±0.1	5.4±0.3	5.5±0.2	5.5±0.2	5.8±0.3
	Albumin (%)	57.8±1.6	56.8±3.9	56.0±2.6	54.0±2.5*	56.2±2.2
	Alpha 1 (%)	15.8±1.2	14.7±2.7	17.6±2.8	18.9±2.3*	16.9±1.5
	Alpha 2 (%)	4.8±0.9	6.3±2.8	4.9±0.6	5.1±0.7	5.5±0.8
	Beta (%)	14.8±0.9	15.6±0.6	14.3±0.7	14.6±0.6	15.6±1.0
	Gamma (%)	6.8±0.5	6.6±0.9	7.3±0.8	7.3±0.7	5.8±0.8*
Female	No. of animals	6	6	6	5	6
	Total protein (g/dl)	5.6±0.2	6.0±0.3**	5.7±0.3	5.8±0.4	5.6±0.5
	Albumin (%)	62.6±3.6	64.6±3.1	65.0±1.3	62.6±1.7	61.4±2.7
	Alpha 1 (%)	10.6±0.8	11.4±1.6	10.9±1.1	10.3±1.1	11.2±1.6
	Alpha 2 (%)	3.3±0.9	4.0±1.1	3.9±0.5	4.8±0.4**	4.8±1.1*
	Beta (%)	14.8±2.0	12.9±1.3	13.2±1.0	13.5±1.3	14.6±1.3
	Gamma (%)	8.8±1.9	7.1±0.9	7.1±0.4	8.9±0.6	7.9±1.1

Mean±S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P&lt;0.05, ++ P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

り、カリウムの筋肉に対する作用、あるいは高浸透圧溶液の大量投与に伴う非特異的な一時的循環障害<sup>4)</sup>に起因するものと推定された。

摂水量の増加が、BRL 28500 の雌雄の投与群で投与開始後認められたが、投与期間後半には回復あるいは回復傾向を示した。この変化は、BRL 28500 投与群ではほぼ同

時期に軟便ならびに下痢が認められていることより、これに関連したものと考えられた。

血液学的検査において、赤血球数、ヘマトクリットおよびヘモグロビンの低下、血小板数および網状赤血球比率の増加が両検体に共通して認められた。また、病理組織学的検査においても、赤脾髄にヘモジデリン沈着の軽

Table 12 Serum protein electrophoresis in rats receiving intravenously BRL 28500 (Treatment)

Sex	Compound	Control	BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals	10	10	10	10	10
Male	Total protein (g/dl)	5.5±0.2	5.3±0.3*	5.3±0.2*	5.6±0.2	5.2±0.3*
	Albumin (%)	57.1±2.4	58.0±2.2	59.5±3.3	56.7±2.1	51.6±5.1+
	Alpha 1 (%)	17.1±1.6	18.3±3.0	16.3±1.8	18.0±2.0	19.2±2.8*
	Alpha 2 (%)	5.8±0.6	5.6±0.7	5.8±1.4	6.2±1.3	8.9±2.4++
	Beta (%)	14.3±0.8	13.1±1.0**	13.8±1.1	14.3±0.6	15.4±1.6
	Gamma (%)	5.7±1.4	5.0±1.3	4.6±1.8	4.9±0.6	4.9±0.9
Female	No. of animals	10	10	10	10	10
	Total protein (g/dl)	5.5±0.2	5.2±0.4	5.3±0.3	5.4±0.3	5.2±0.2*
	Albumin (%)	66.2±2.5	68.0±2.7	67.7±2.9	67.0±2.8	64.3±3.9
	Alpha 1 (%)	8.1±0.9	8.8±1.6	8.1±1.1	8.4±1.3	9.7±2.6
	Alpha 2 (%)	4.7±0.8	4.3±1.1	4.5±1.2	4.3±1.1	4.5±1.0
	Beta (%)	13.9±1.4	12.5±1.0*	13.1±1.3	13.9±1.6	15.5±1.3*
Gamma (%)	7.1±1.5	6.4±1.0	6.5±1.7	6.4±1.2	6.0±1.0	

Mean±S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P&lt;0.05, ++ P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

Table 13 Serum protein electrophoresis in rats receiving intravenously BRL 28500 (Off-dose)

Sex	Compound	Control	BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals	6	6	6	6	6
Male	Total protein (g/dl)	5.3±0.3	5.4±0.3	5.3±0.2	5.3±0.3	5.4±0.1
	Albumin (%)	58.0±2.7	56.1±2.4	56.8±2.2	56.8±2.0	55.8±3.6
	Alpha 1 (%)	14.6±1.9	17.2±2.5	15.5±2.9	17.4±2.1*	17.1±2.6
	Alpha 2 (%)	5.0±1.0	5.2±0.8	5.3±1.5	4.7±0.9	5.2±0.9
	Beta (%)	14.9±1.1	15.6±1.3	15.3±0.3	14.2±0.7	15.9±0.8
	Gamma (%)	7.5±1.8	5.9±0.6	7.2±1.7	6.8±1.5	5.9±1.5
Female	No. of animals	6	6	6	6	6
	Total protein (g/dl)	5.7±0.2	5.5±0.4	5.7±0.2	5.2±0.3*	5.2±0.3*
	Albumin (%)	60.3±3.8	61.1±1.9	62.9±3.1	59.7±4.0	58.1±2.9
	Alpha 1 (%)	12.7±3.1	12.7±2.9	12.7±3.1	14.0±4.2	15.0±3.4
	Alpha 2 (%)	5.1±1.4	4.6±0.8	4.7±0.4	5.0±0.9	5.0±0.6
	Beta (%)	14.1±1.5	13.3±1.9	12.4±1.1	13.6±0.6	13.6±1.4
Gamma (%)	7.8±1.3	8.3±1.7	7.3±1.4	7.7±1.8	8.3±1.6	

Mean±S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+ P&lt;0.05, ++ P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

度増加および赤芽球系髄外造血の軽度活性化が CVA-K の高用量投与群で認められ、軽度ではあるが貧血傾向があると考えられた。これらの血液学的ならびに病理組織学的所見は TIPC および各種抗生物質投与の際に報告されており<sup>8-9)</sup>、検体投与による局所の出血に伴う貧血ならびにその代償性変化と考えられている。休薬期間終

了時には、上記の所見はいずれも認められず、回復性があると考えられた。

肝細胞内に PAS 陽性物質の貯留が、両検体の投与群に共通して認められた。同様の所見は、他の  $\beta$ -lactamase 阻害剤の sodium sulbactam<sup>10)</sup>、sultamicillin tosilate<sup>11)</sup> および既報の経口投与による CVA-K の悪化



Table 14 Organ weights in rats receiving intravenously CVA-K (Treatment)

Sex	Compound		CVA-K				
	Dose (mg/kg)		Control	5	10	30	120
	No. of animals		P. saline	5	10	30	120
Male	No. of animals		10	10	10	9	10
	Brain	(g)	1.98± 0.06	2.01± 0.07	1.99± 0.06	1.96± 0.06	1.98± 0.07
	Pituitary	(mg)	11 ± 2	12 ± 2	13 ± 2	13 ± 2*	12 ± 2
	Thymus	(mg)	518 ± 139	538 ± 200	444 ± 86	473 ± 112	517 ± 83
	Thyroid	(mg)	12 ± 2	11 ± 3	11 ± 2	11 ± 3	11 ± 2
	Heart	(g)	1.39± 0.14	1.37± 0.13	1.34± 0.08	1.33± 0.08	1.28± 0.10
	Lung	(g)	1.40± 0.06	1.45± 0.09	1.37± 0.08	1.38± 0.03	1.39± 0.10
	Liver	(g)	10.3 ± 1.0	10.7 ± 0.9	10.7 ± 0.9	11.9 ± 0.7**	14.8 ± 0.9**
	Spleen	(mg)	728 ± 84	721 ± 123	699 ± 59	711 ± 74	768 ± 81
	Adrenal	R. (mg)	30 ± 4	33 ± 3	35 ± 3**	31 ± 5	29 ± 4
		L. (mg)	34 ± 7	35 ± 5	36 ± 2	36 ± 5	31 ± 5
	Kidney	R. (g)	1.37± 0.08	1.39± 0.13	1.33± 0.07	1.43± 0.11	1.42± 0.09
		L. (g)	1.36± 0.09	1.38± 0.11	1.34± 0.08	1.39± 0.10	1.43± 0.08
	Testis	R. (g)	1.49± 0.10	1.49± 0.12	1.51± 0.12	1.59± 0.07*	1.55± 0.08
		L. (g)	1.49± 0.09	1.51± 0.12	1.51± 0.13	1.56± 0.08	1.55± 0.07
	Prostate	(mg)	541 ± 109	546 ± 72	578 ± 93	533 ± 112	472 ± 60
	Caecum	+ <sup>a)</sup> (g)	4.04± 1.19	3.57± 0.52	4.24± 0.96	3.96± 1.01	4.26± 0.83
		- <sup>b)</sup> (g)	1.34± 0.33	1.41± 0.28	1.25± 0.16	1.34± 0.26	1.35± 0.15
Final body wt.	(g)	378 ± 18	379 ± 24	368 ± 12	368 ± 19	360 ± 13*	
Female	No. of animals		10	10	10	10	10
	Brain	(g)	1.88± 0.08	1.81± 0.06	1.87± 0.07	1.89± 0.06	1.88± 0.06
	Pituitary	(mg)	17 ± 2	16 ± 3	16 ± 3	16 ± 2	15 ± 3
	Thymus	(mg)	455 ± 88	468 ± 107	489 ± 116	452 ± 102	439 ± 79
	Thyroid	(mg)	7 ± 3	9 ± 2*	8 ± 2	8 ± 2	9 ± 3
	Heart	(mg)	865 ± 76	880 ± 91	905 ± 118	854 ± 49	832 ± 71
	Lung	(g)	1.16± 0.11	1.15± 0.20	1.13± 0.09	1.11± 0.07	1.10± 0.08
	Liver	(g)	6.43± 0.51	6.41± 0.69	6.37± 0.89	6.72± 0.55	7.48± 0.80**
	Spleen	(mg)	530 ± 72	486 ± 112	509 ± 73	535 ± 45	565 ± 106
	Adrenal	R. (mg)	33 ± 4	30 ± 4	35 ± 3	33 ± 4	33 ± 4
		L. (mg)	35 ± 5	34 ± 5	40 ± 4	36 ± 3	34 ± 3
	Kidney	R. (mg)	854 ± 74	857 ± 77	879 ± 95	875 ± 56	919 ± 97
		L. (mg)	837 ± 79	831 ± 80	852 ± 93	861 ± 63	898 ± 98
	Ovary	R. (mg)	56 ± 12	46 ± 9	55 ± 9	49 ± 8	54 ± 11
		L. (mg)	59 ± 10	47 ± 10*	48 ± 8*	47 ± 7**	52 ± 10
	Uterus	(mg)	476 ± 152	418 ± 64	468 ± 55	429 ± 61	438 ± 132
	Caecum	+ <sup>a)</sup> (g)	2.59± 0.51	2.66± 0.59	2.66± 0.61	2.64± 0.68	2.64± 0.45
		- <sup>b)</sup> (g)	1.04± 0.19	1.01± 0.16	1.01± 0.22	0.96± 0.15	1.00± 0.13
Final body wt.	(g)	233 ± 7	237 ± 14	235 ± 17	236 ± 10	224 ± 17	

Mean±S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

<sup>a)</sup> Caecum with content. <sup>b)</sup> Caecum without content.

性毒性試験<sup>2)</sup>でも認められてる。また、休薬期間終了時には、この PAS 陽性物質の貯留は軽減ないし消失しており、血清生化学検査でも肝障害を示唆する所見は認められなかった。CVA-K 投与により、肝重量の増加が高用量群で認められたが、sodium sulbactam でも同様の所見が報告されており、器質的ならびに血清生化学的に

もこれに関連する異常はみられず、また、休薬期間終了時には軽減することにより、毒性学的意義の低い変化と考えられた。

盲腸重量の増加が BRL 28500 投与により認められたが、TIPC および各種抗生物質の投与の際に報告されており<sup>5-9)</sup>、抗菌作用による腸内細菌叢の変化に起因した

Table 15 Organ weights in rats receiving intravenously CVA-K (Off-dose)

Sex	Compound		Control		CVA-K			
	Dose (mg/kg)		P. saline		5	10	30	120
	No. of animals		6	6	5	6	6	
Male	Brain	(g)	2.08 ± 0.12	2.06 ± 0.08	2.06 ± 0.07	2.07 ± 0.05	2.05 ± 0.06	
	Pituitary	(mg)	13 ± 2	13 ± 2	13 ± 2	12 ± 2	13 ± 2	
	Thymus	(mg)	402 ± 97	433 ± 93	526 ± 93	408 ± 75	417 ± 156	
	Thyroid	(mg)	13 ± 1	12 ± 3	11 ± 2	11 ± 4	11 ± 3	
	Heart	(g)	1.56 ± 0.15	1.57 ± 0.09	1.49 ± 0.14	1.48 ± 0.13	1.55 ± 0.08	
	Lung	(g)	1.58 ± 0.07	1.64 ± 0.08	1.59 ± 0.16	1.44 ± 0.16	1.52 ± 0.07	
	Liver	(g)	12.8 ± 1.2	13.3 ± 1.4	12.7 ± 2.1	13.2 ± 1.0	15.4 ± 1.7*	
	Spleen	(mg)	841 ± 103	858 ± 70	831 ± 165	823 ± 131	805 ± 158	
	Adrenal	R. (mg)	34 ± 4	30 ± 3	32 ± 2	31 ± 3	30 ± 4	
		L. (mg)	34 ± 6	34 ± 6	33 ± 5	36 ± 3	32 ± 4	
	Kidney	R. (g)	1.55 ± 0.14	1.55 ± 0.06	1.55 ± 0.20	1.49 ± 0.12	1.46 ± 0.12	
		L. (g)	1.54 ± 0.21	1.54 ± 0.04	1.54 ± 0.22	1.44 ± 0.13	1.46 ± 0.14	
	Testis	R. (g)	1.64 ± 0.15	1.68 ± 0.10	1.71 ± 0.12	1.58 ± 0.11	1.66 ± 0.11	
		L. (g)	1.63 ± 0.17	1.68 ± 0.06	1.64 ± 0.10	1.57 ± 0.11	1.61 ± 0.13	
	Prostate	(mg)	730 ± 213	657 ± 94	613 ± 194	708 ± 135	748 ± 277	
	Caecum	+ <sup>a)</sup> (g)	5.73 ± 1.62	4.51 ± 1.16	5.10 ± 1.15	4.60 ± 0.62	4.20 ± 0.56	
		- <sup>b)</sup> (g)	1.74 ± 0.25	1.75 ± 0.23	1.68 ± 0.38	1.76 ± 0.26	1.52 ± 0.20	
Final body wt.	(g)	499 ± 42	492 ± 23	493 ± 25	475 ± 35	453 ± 36		
	No. of animals	6	6	6	5	6		
Female	Brain	(g)	1.97 ± 0.07	1.95 ± 0.08	1.93 ± 0.10	1.96 ± 0.06	1.97 ± 0.12	
	Pituitary	(mg)	19 ± 3	20 ± 3	19 ± 3	20 ± 3	20 ± 4	
	Thymus	(g)	349 ± 80	353 ± 112	391 ± 93	387 ± 71	350 ± 39	
	Thyroid	(mg)	9 ± 3	10 ± 4	10 ± 1	13 ± 2*	10 ± 4	
	Heart	(mg)	923 ± 39	1002 ± 146	945 ± 111	931 ± 59	874 ± 69	
	Lung	(g)	1.13 ± 0.05	1.22 ± 0.06*	1.24 ± 0.15	1.21 ± 0.10	1.19 ± 0.10	
	Liver	(g)	6.62 ± 0.37	7.21 ± 0.66	6.83 ± 0.77	6.90 ± 0.39	7.47 ± 0.91	
	Spleen	(mg)	554 ± 54	536 ± 69	529 ± 63	500 ± 40	523 ± 45	
	Adrenal	R. (mg)	34 ± 9	31 ± 3	34 ± 6	37 ± 7	37 ± 7	
		L. (mg)	35 ± 4	34 ± 4	34 ± 7	36 ± 4	39 ± 6	
	Kidney	R. (mg)	853 ± 45	938 ± 87	824 ± 83	893 ± 102	896 ± 94	
		L. (mg)	852 ± 52	866 ± 57	829 ± 104	868 ± 91	890 ± 114	
	Ovary	R. (mg)	53 ± 11	49 ± 6	55 ± 9	54 ± 17	54 ± 13	
		L. (mg)	51 ± 12	52 ± 5	56 ± 14	62 ± 20	54 ± 8	
	Uterus	(mg)	556 ± 215	467 ± 104	536 ± 170	663 ± 198	647 ± 209	
	Caecum	+ <sup>a)</sup> (g)	2.76 ± 0.55	2.47 ± 0.65	2.76 ± 0.98	2.91 ± 0.46	2.64 ± 0.50	
		- <sup>b)</sup> (g)	1.15 ± 0.22	1.08 ± 0.25	1.20 ± 0.34	1.23 ± 0.18	1.22 ± 0.22	
Final body wt.	(g)	266 ± 7	291 ± 26	280 ± 15	279 ± 18	268 ± 12		

Mean ± S.D.

\* P &lt; 0.05, \*\* P &lt; 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+P &lt; 0.05, ++P &lt; 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

<sup>a)</sup> Caecum with content. <sup>b)</sup> Caecum without content.

ものと考えられた。

投与局所の刺激性変化が、BRL 28500 の高用量群に認められ、病理組織学的検査では表皮細胞壊死、皮膚潰瘍が観察された。このことは、静脈内投与による機械的作用だけでなく、検体そのものに軽度な刺激性があることを示唆したものと考えられたが、上記の所見は休薬時に

は回復性が認められた。なお、CVA-K にも軽度ながら刺激性変化が散見されたが用量相関性はなかった。

以上の結果を総合して無影響量を求めると、CVA-K については 10 mg/kg、BRL 28500 については 80 mg/kg と考えられた。

なお、BRL 28500 で認められた所見は CVA-K また

Table 16 Organ weights in rats receiving intravenously BRL 28500 (Treatment)

Sex	Compound		BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	Control	80	200	500	1250
	No. of animals	P. saline	10	10	10	10
Male	Brain (g)	2.04 ± 0.08	2.02 ± 0.05	1.99 ± 0.05	2.04 ± 0.08	1.99 ± 0.06
	Pituitary (mg)	13 ± 1	13 ± 2	13 ± 2	14 ± 2	12 ± 2
	Thymus (mg)	491 ± 113	466 ± 98	447 ± 102	472 ± 57	370 ± 93*
	Thyroid (mg)	11 ± 1	10 ± 2	9 ± 3	11 ± 2	10 ± 3
	Heart (g)	1.29 ± 0.19	1.19 ± 0.11	1.21 ± 0.15	1.18 ± 0.17	1.11 ± 0.11 <sup>+</sup>
	Lung (g)	1.41 ± 0.12	1.35 ± 0.09	1.28 ± 0.07**	1.42 ± 0.14	1.30 ± 0.16
	Liver (g)	11.0 ± 0.6	10.3 ± 1.0	10.1 ± 1.0*	11.9 ± 1.1*	10.6 ± 1.0
	Spleen (mg)	758 ± 82	705 ± 101	662 ± 70*	745 ± 101	691 ± 127
	Adrenal L. (mg)	32 ± 4	31 ± 5	30 ± 4	31 ± 4	34 ± 7
	Adrenal R. (mg)	29 ± 4	30 ± 5	29 ± 4	30 ± 4	30 ± 8
	Kidney L. (g)	1.34 ± 0.09	1.34 ± 0.12	1.35 ± 0.14	1.42 ± 0.13	1.38 ± 0.20
	Kidney R. (g)	1.33 ± 0.07	1.33 ± 0.13	1.34 ± 0.13	1.41 ± 0.12	1.36 ± 0.18
	Testis L. (g)	1.55 ± 0.08	1.40 ± 0.12**	1.45 ± 0.11*	1.47 ± 0.11	1.52 ± 0.14
	Testis R. (g)	1.54 ± 0.11	1.40 ± 0.10**	1.45 ± 0.11	1.48 ± 0.09	1.48 ± 0.14
	Prostate (mg)	632 ± 161	581 ± 109	653 ± 136	635 ± 105	607 ± 125
	Caecum + <sup>a)</sup> (g)	4.3 ± 1.0	12.7 ± 4.2 <sup>++</sup>	14.1 ± 6.0 <sup>++</sup>	10.3 ± 2.0 <sup>++</sup>	11.2 ± 2.5 <sup>++</sup>
	Caecum - <sup>b)</sup> (g)	1.22 ± 0.13	1.77 ± 0.37 <sup>++</sup>	1.95 ± 0.30 <sup>++</sup>	1.76 ± 0.24 <sup>++</sup>	1.90 ± 0.35 <sup>++</sup>
Final body wt. (g)	406 ± 19	393 ± 21	378 ± 25*	383 ± 25*	345 ± 26**	
	No. of animals	10	10	10	10	10
Female	Brain (g)	1.83 ± 0.07	1.75 ± 0.22	1.84 ± 0.08	1.86 ± 0.06	1.83 ± 0.05
	Pituitary (mg)	14 ± 1	14 ± 2	15 ± 4	15 ± 2	15 ± 3
	Thymus (mg)	336 ± 45	343 ± 42	339 ± 70	339 ± 83	342 ± 70
	Thyroid (mg)	8 ± 1	8 ± 2	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 2
	Heart (mg)	738 ± 70	700 ± 91	712 ± 56	730 ± 54	692 ± 50
	Lung (g)	1.03 ± 0.11	1.02 ± 0.07	0.99 ± 0.10	1.01 ± 0.07	0.98 ± 0.10
	Liver (g)	5.43 ± 0.41	5.35 ± 0.61	5.65 ± 0.53	5.80 ± 0.44	5.77 ± 0.40
	Spleen (mg)	454 ± 63	456 ± 64	472 ± 60	470 ± 53	486 ± 94
	Adrenal L. (mg)	35 ± 4	36 ± 6	34 ± 4	32 ± 6	35 ± 4
	Adrenal R. (mg)	32 ± 4	34 ± 6	32 ± 4	29 ± 4	32 ± 3
	Kidney L. (mg)	783 ± 60	791 ± 66	808 ± 35	801 ± 56	814 ± 52
	Kidney R. (mg)	800 ± 54	815 ± 49	811 ± 62	787 ± 35	807 ± 59
	Ovary L. (mg)	40 ± 6	44 ± 6	46 ± 8	44 ± 5	40 ± 8
	Ovary R. (mg)	42 ± 8	42 ± 5	45 ± 6	44 ± 12	40 ± 6
	Uterus (mg)	437 ± 106	425 ± 58	498 ± 174	533 ± 184	508 ± 142
	Caecum + <sup>a)</sup> (g)	2.67 ± 0.75	13.14 ± 4.48 <sup>++</sup>	9.40 ± 4.41 <sup>++</sup>	7.46 ± 1.88 <sup>++</sup>	7.94 ± 1.86 <sup>++</sup>
	Caecum - <sup>b)</sup> (g)	0.81 ± 0.13	1.74 ± 0.42 <sup>++</sup>	1.58 ± 0.14 <sup>**</sup>	1.67 ± 0.43 <sup>++</sup>	1.69 ± 0.21 <sup>**</sup>
Final body wt. (g)	206 ± 7	212 ± 12	215 ± 14	211 ± 14	203 ± 5	

Mean ± S.D.

\* P &lt; 0.05, \*\* P &lt; 0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

<sup>+</sup>P < 0.05, <sup>++</sup>P < 0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)<sup>a)</sup> Caecum with content. <sup>b)</sup> Caecum without content.

Table 17 Organ weights in rats receiving intravenously BRL 28500 (Off-dose)

Sex	Compound	Control	BRL 28500			
	Dose (mg/kg)	P. saline	80	200	500	1250
	No. of animals	6	6	6	6	6
Male	Brain (g)	2.05± 0.06	2.09± 0.02	2.13± 0.05*	2.10± 0.07	2.11± 0.07
	Pituitary (mg)	14 ± 2	14 ± 3	13 ± 2	13 ± 3	13 ± 2
	Thymus (mg)	361 ± 100	339 ± 119	323 ± 6	367 ± 43	314 ± 96
	Thyroid (mg)	11 ± 2	12 ± 3	10 ± 2	10 ± 2	11 ± 4
	Heart (g)	1.33± 0.09	1.36± 0.19	1.31± 0.11	1.35± 0.10	1.37± 0.24
	Lung (g)	1.52± 0.12	1.45± 0.14	1.45± 0.06	1.57± 0.17	1.46± 0.16
	Liver (g)	11.8 ± 0.5	12.6 ± 1.4	11.8 ± 1.4	12.1 ± 0.8	13.0 ± 2.1
	Spleen (mg)	759 ± 84	658 ± 117	712 ± 95	725 ± 106	717 ± 123
	Adrenal L. (mg)	29 ± 3	28 ± 4	28 ± 2	32 ± 4	28 ± 6
	R. (mg)	28 ± 5	28 ± 7	26 ± 1	28 ± 4	27 ± 6
	Kidney L. (g)	1.45± 0.13	1.49± 0.17	1.41± 0.15	1.43± 0.14	1.48± 0.15
	R. (g)	1.42± 0.12	1.49± 0.19	1.35± 0.14	1.42± 0.13	1.45± 0.18
	Testis L. (g)	1.58± 0.11	1.48± 0.18	1.58± 0.17	1.56± 0.12	1.57± 0.04
	R. (g)	1.59± 0.13	1.47± 0.19	1.57± 0.15	1.57± 0.14	1.60± 0.11
	Prostate (mg)	867 ± 203	838 ± 200	755 ± 95	846 ± 160	817 ± 46
	Caecum + <sup>a)</sup> (g)	4.18± 1.10	4.51± 0.81	5.62± 0.51*	6.55± 1.05**	5.19± 1.04
	- <sup>b)</sup> (g)	1.32± 0.37	1.47± 0.25	1.54± 0.25	1.69± 0.26	1.59± 0.30
Final body wt. (g)	464 ± 14	478 ± 40	467 ± 19	460 ± 36	456 ± 53	
Female	No. of animals	6	6	6	6	6
	Brain (g)	1.90± 0.05	1.88± 0.06	1.81± 0.07*	1.79± 0.10*	1.87± 0.09
	Pituitary (mg)	15 ± 2	14 ± 2	14 ± 3	14 ± 4	14 ± 2
	Thymus (mg)	233 ± 57	289 ± 47	247 ± 55	291 ± 75	232 ± 45
	Thyroid (mg)	9 ± 2	7 ± 1*	8 ± 2	8 ± 2	8 ± 2
	Heart (mg)	775 ± 66	752 ± 47	809 ± 76	708 ± 79	732 ± 116
	Lung (g)	1.08± 0.13	1.07± 0.14	1.05± 0.11	1.07± 0.09	1.08± 0.13
	Liver (g)	6.08± 0.83	6.18± 0.66	6.18± 0.95	5.72± 0.83	5.84± 0.54
	Spleen (mg)	513 ± 67	541 ± 135	454 ± 58	409 ± 91*	469 ± 36
	Adrenal L. (mg)	31 ± 5	32 ± 9	34 ± 2	30 ± 5	34 ± 3
	R. (mg)	30 ± 3	29 ± 7	32 ± 3	28 ± 4	30 ± 4
	Kidney L. (mg)	822 ± 100	769 ± 39	801 ± 32	768 ± 93	793 ± 52
	R. (mg)	838 ± 116	792 ± 22	796 ± 44	781 ± 94	811 ± 62
	Ovary L. (mg)	38 ± 6	38 ± 6	37 ± 7	37 ± 4	39 ± 7
	R. (mg)	35 ± 5	38 ± 5	37 ± 6	39 ± 7	38 ± 8
	Uterus (mg)	539 ± 67	520 ± 158	508 ± 120	492 ± 134	520 ± 160
	Caecum + <sup>a)</sup> (g)	2.72± 0.40	3.46± 0.73	3.28± 1.12	3.22± 0.50	3.51± 0.72*
- <sup>b)</sup> (g)	0.84± 0.11	1.23± 0.29	1.20± 0.40	1.03± 0.25	1.20± 0.32*	
Final body wt. (g)	247 ± 22	249 ± 21	250 ± 28	234 ± 25	232 ± 6	

Mean±S.D.

\* P&lt;0.05, \*\* P&lt;0.01 Significant difference from control (STUDENT'S t-test)

+P&lt;0.05, ++P&lt;0.01 Significant difference from control (ASPIN-WELCH'S t-test)

<sup>a)</sup> Caecum with content.<sup>b)</sup> Caecum without content.

Table 18-1 Histopathological findings in rats receiving intravenously CVA-K

Findings	Compound	Control	CVA-K																							
			5			10			30			120														
Male	Dose (mg/kg)	P. saline	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	10							
	No. of animals	10	10			10			9			10						10								
	Grade*	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
Liver																										
Pale granular appearance in hepatocyte		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	3	7	0	0	
Spleen																										
Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis		9	1	0	0	9	1	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	4	6	0	0					
Increase in hemosiderin deposition		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	0	0	5	5	0	0					
Injection site																										
Hemorrhage		9	1	0	0	7	3	0	0	10	0	0	0	8	1	0	0	9	1	0	0					
Neutrocyte infiltration		10	0	0	0	7	2	1	0	10	0	0	0	9	0	0	0	10	0	0	0					
Female																										
	No. of animals	10	10			10			10			10			10			10								
	Grade*	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
Spleen																										
Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis		8	2	0	0	9	1	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0	7	3	0	0					
Increase in hemosiderin deposition		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0					
Injection site																										
Hemorrhage		10	0	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0					
Cellular infiltration		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0	9	1	0	0					
Foreign giant cell		10	0	0	0	9	1	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0	10	0	0	0					
Neutrocyte infiltration		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	9	1	0	0					
Foreign body in stroma		10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0	10	0	0	0					

\* Degree of histopathological changes : (0) No lesion, (1) Slight, (2) Moderate and (3) Marked.

Table 18-2 Histopathological findings in rats receiving intravenously CVA-K

Findings	Compound	Control	CVA-K					
			5	10	30	120		
Male	Dose (mg/kg)	P. saline	5	10	30	120		
	No. of animals	6	5	6	6			
	Grade*	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3		
Liver								
Pale granular appearance in hepatocyte		6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0	5 1 0 0		
Spleen								
Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis		4 2 0 0	5 1 0 0	3 2 0 0	4 2 0 0	4 2 0 0		
Increase in hemosiderin deposition		6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0		
Injection site								
Hemorrhage		5 1 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0		
Neutrocyte infiltration		6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0		
Off-dose	No. of animals	6	6	5	6			
	Grade*	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3			
Female								
Spleen								
Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis		6 0 0 0	4 1 1 0	6 0 0 0	5 0 0 0	4 2 0 0		
Increase in hemosiderin deposition		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0		
Injection site								
Hemorrhage		6 0 0 0	6 0 0 0	5 1 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0		
Cellular infiltration		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0		
Foreign giant cell		6 0 0 0	3 3 0 0	3 3 0 0	3 2 0 0	4 2 0 0		
Neutrocyte infiltration		6 0 0 0	6 0 0 0	6 0 0 0	5 0 0 0	6 0 0 0		
Foreign body in stroma		6 0 0 0	3 3 0 0	3 3 0 0	3 2 0 0	3 3 0 0		

\* Degree of histopathological changes: (0) No lesion, (1) Slight, (2) Moderate and (3) Marked.

Table 19-1 Histopathological findings in rats receiving intravenously BRL 28500

Findings	Compound		Control			BRL 28500																			
	Dose (mg/kg)	P. saline	10			80			200			500			1250										
	No. of animals	10	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3								
Male	Grade*	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3				
Spleen	Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	7	3	0	0
Bone marrow	Hyperplasia of erythropoiesis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0
Injection site	Periangitis and angitis	4	6	0	0	4	6	0	0	4	6	0	0	4	6	0	0	2	5	3	0	0	4	6	0
Thrombus	Thrombus	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0	3	1	6	0
Epidermal cell necrosis	Epidermal cell necrosis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	5	0	3	2
Ulcer	Ulcer	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	5	1	3	1
Organized thrombus	Organized thrombus	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Foreign body granuloma	Foreign body granuloma	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Female	No. of animals	10	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
	Grade*	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Spleen	Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	6	4	0	0
Bone marrow	Hyperplasia of erythropoiesis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	2	0	0
Injection site	Periangitis and angitis	4	6	0	0	4	6	0	0	3	7	0	0	3	6	1	0	3	6	1	0	1	5	4	0
Thrombus	Thrombus	9	1	0	0	9	1	0	0	8	2	0	0	8	2	0	0	8	2	0	0	2	8	0	0
Epidermal cell necrosis	Epidermal cell necrosis	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	9	0	1	0
Ulcer	Ulcer	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	8	0	0	2
Organized thrombus	Organized thrombus	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
Foreign body granuloma	Foreign body granuloma	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0

\* Degree of histopathological changes: (0) No lesion, (1) Slight, (2) Moderate and (3) Marked.

Table 19-2 Histopathological findings in rats receiving intravenously BRL 28500

Findings	Compound		Control		BRL 28500													
	Dose (mg/kg)	No. of animals	P. saline	6	80			200			500			1250				
		Grade*	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Male			0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Spleen			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Bone marrow			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Hyperplasia of erythropoiesis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Injection site			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Periangitis and angitis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Thrombus			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Epidermal cell necrosis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Ulcer			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Organized thrombus			4	2	0	0	4	2	0	0	3	3	0	0	3	3	0	0
Foreign body granuloma			6	0	0	0	5	1	0	0	5	1	0	0	4	2	0	0
Off-dose			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Female			0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Spleen			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Hyperactivity of extramedullary erythropoiesis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Bone marrow			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Hyperplasia of erythropoiesis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Injection site			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Periangitis and angitis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Thrombus			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Epidermal cell necrosis			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Ulcer			6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
Organized thrombus			4	2	0	0	4	2	0	0	4	2	0	0	5	1	0	0
Foreign body granuloma			5	1	0	0	5	1	0	0	4	2	0	0	5	1	0	0

\* Degree of histopathological changes : (0) No lesion, (1) Slight, (2) Moderate and (3) Marked.



Table 20 Histopathological findings of PAS reaction on livers in rats receiving intravenously CVA-K and BRL 28500

Treatment	Compound	Control																									
		P. saline				5				10				30				120									
	Dose (mg/kg)	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	
	Grade*					10				10				9				10									
	No. of animals					10				10				10				10									
	PAS reaction	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	4	4	1	0	0	0	0	0	2	8
	Female No. of animals	10				10				10				10				10									
	PAS reaction	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	1	3	6	0	
	Male No. of animals	6				6				5				6				6									
	PAS reaction	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	2	4	0	
	Female No. of animals	6				6				6				5				6									
	PAS reaction	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	
	Compound	BRL 28500																									
	Dose (mg/kg)	P. saline				80				200				500				1250									
	Grade*	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	
	No. of animals	10				10				10				10				10									
	PAS reaction	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	1	5	4	0	0	0	2	3	5	0	
	Female No. of animals	10				10				10				10				10									
	PAS reaction	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	5	3	2	0	0	
	Male No. of animals	6				6				6				6				6									
	PAS reaction	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	3	3	0	0	0	
	Female No. of animals	6				6				6				6				6									
	PAS reaction	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	

\* Degree of PAS reaction: (0) No lesion, (1) Slight, (2) Mild, (3) Moderate, (4) Marked.

は TIPC の 亜急性毒性試験<sup>1,2)</sup>で得られた結果と質的、量的に類似しており、その程度もほぼ同程度であった。従って、BRL 28500 の毒性は CVA-K と TIPC の毒性をほぼ反映していると考えられ、CVA-K と TIPC を配合することにより新たな毒性が生じることはないと考えられた。

以上のごとく、両検体の急性毒性試験では、大量投与による循環障害、それに続く全身状態の悪化を示す所見が主に肺、胸腺に見られた。亜急性毒性試験では、抗生物質の投与で一般的に認められる盲腸の変化を除くと、両検体とも主に肝に PAS 陽性物質の貯留が認められたが可逆的なものであった。

#### 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: 110~130, 1978
- 2) 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 の急性および亜急性毒性試験。Chemotherapy 31 (S-2): 113~141, 1983
- 3) 福田 保, 片岡美紀子, 山口 東, 谷沢久之: アミノ酸輸液の注入速度と急性毒性。日薬理誌 74: 589~595, 1978
- 4) 小林文彦, 古川 仁, 長谷川紀昭, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-S のラットにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy 28 (S-7): 1007~1028, 1980
- 5) 森本宏一, 清水 充, 田所 規, 高橋昌三, 宮地徹: Cefroxadime (CGP-9000) の毒性試験。第2報: 亜急性毒性試験。Chemotherapy 28 (S-3): 103~115, 1980
- 6) WOLD, J. S.; J. S. WELLES, N. V. OWEN, W. R. GIBSON & D. M. MORTON: Toxicologic evaluation of Cefamandole nafate in laboratory animals. J. Infect. Dis. 137: S 51~S 59, 1978
- 7) 村岡義博, 伊藤文男, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-S のラットにおける慢性毒性試験。Chemotherapy 28 (S-7): 1089~1107, 1980
- 8) 今村和憲, 鈴木 弘, 吉田俊夫, 岡宮英明, 尾崎浩: Cefotetan のラットにおける腹腔内投与5週間毒性試験。Chemotherapy 30 (S-1): 213~227, 1982
- 9) 野口晏弘, 橋 正克, 菜畑博司, 飯島護丈, 山河静子, 大槻勲夫: Sulbactam および Sulbactam/Cefoperazone の毒性試験。Chemotherapy 32 (S-4): 97~107, 1984
- 10) 橋 正克, 菜畑博司, 飯島護丈, 大槻勲夫: Sultamicillin tosilate の毒性試験。Chemotherapy 33 (S-2): 102~111, 1985

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY STUDIES OF  
POTASSIUM CLAVULANATE AND BRL 28500  
IN THE MOUSE AND RAT

YASUO KURAKATA, SHOHEI UEMURA, YOSHITAKA NISHIOKA and YOSHINOBU KOSHIMA  
Beecham Yakuhin K. K.

TADAHIKO OHTAKA, KOICHI NEDA, YOSHIHIRO OHTAKI, KOJI MIYOSHI,  
AKIRA NOMURA and HIROSHI NAKAYOSHI  
NRI Life Science

TERRY L. HARDY  
Beecham Pharmaceuticals Research Division

Potassium clavulanate (CVA-K) and BRL 28500 were administered to mice and rats by the intravenous, intramuscular, oral and subcutaneous route in single dose acute toxicity studies. Rats were also dosed intravenously for 35 days in subacute toxicity studies.

The LD<sub>50</sub> values of BRL 28500 in mice and rats were lowest when given by the intravenous route, this was followed by the subcutaneous and the oral route. The LD<sub>50</sub> values using the intramuscular route were greater than the highest dose which could be administered (2000 mg/kg). The LD<sub>50</sub> values for CVA-K were also lowest when given by the intravenous route, followed by the intramuscular route. There were no obvious sex or species differences in acute toxicity.

In the subacute toxicity studies, two rats in the CVA-K high dose group died. Immediately after administration of both drugs, there was a temporary reduction in spontaneous activity and respiration and some sedation. In addition, there were soft faeces and diarrhoea when rats were dosed with BRL 28500.

Liver weight was increased when rats were dosed with CVA-K, and there was an apparent dose related increase in PAS positive substance in the hepatocyte cytoplasm with both CVA-K and BRL 28500. However, since there were no change in GPT or GOT or histopathological changes, the above findings were not considered to be of toxicological importance.

Haematological examination revealed a mild reduction in erythrocyte parameters in the high dose groups of rats treated with drugs; these changes were believed to be related to slight haemorrhage at the injection site as a result of a mild irritant response. In the high dose group of BRL 28500 there was also local injection site irritancy.

All of the above changes had either regressed entirely or were changing to normal limits by the end of the off dose period.

The toxicity of BRL 28500 reflected that of the two components-CVA-K and TIPC- and there was no additional toxicity with the formulation of the two drugs.

In the present studies the no effect levels for CVA-K and BRL 28500 were 10 mg/kg and 80 mg/kg respectively.