

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) のイヌにおける 急性および1カ月亜急性毒性試験

奈良 博・武居秀夫・渡辺 弘・佐藤誠二
西部泰弘・豊島久美子・村岡義博・吉崎敏夫
上田元彦・吉田 正・松原尚志・原田喜男
塩野義製薬株式会社研究所

1. 急性毒性試験

Oxacephem 系抗生物質 6315-S (Flomoxef) 1,250 mg/kg, 2,500 mg/kg および 5,000 mg/kg をビーグル犬に1回静脈内投与し, Cefazolin (CEZ) を対照薬として急性毒性試験を実施した。流涎, 嘔吐, 脱糞等の中枢作用は CEZ に比して軽度であり, 6315-S の最大耐量は 5,000 mg/kg 以上と推定された。

2. 亜急性毒性試験

6315-S 250 mg/kg, 500 mg/kg および 1,000 mg/kg をビーグル犬に1カ月間連続静脈内投与し, CEZ 1,000 mg/kg を対照薬として亜急性毒性試験を実施した。

1) 流涎, 嘔吐, 脱糞等の中枢作用は, CEZ に比して軽度であった。

2) 体重, 摂餌量, 眼および聴覚検査, 心電図検査に検体起因性的変化を認めなかった。6315-S の血漿中濃度は良好な用量-濃度相関を示し, 連続投与による蓄積傾向は認められなかった。血液学的検査, 骨髄検査で特異的な変化を認めなかった。血漿中コレステロール, リン脂質, トリグリセリドの上昇が 6315-S 投与群と CEZ 投与群で同様に認められた。6315-S 投与群および CEZ 投与群に肝臓および腎臓の重量の増加傾向がみられた。病理組織学的検索では, 投与局所の障害以外に検体に関連した変化はみられず, 肝臓重量の変化は肝臓単位重量当りの薬物代謝酵素活性の低下に対する代償性変化と推察された。腎臓重量の変化は, 薬物排泄機能亢進によるものと推察された。以上の結果から 6315-S に特異的な毒性は検出されず, 6315-S のイヌにおける最大無影響量は 250 mg/kg/日と推定された。

6315-S (Flomoxef : FMOX) は, 塩野義製薬研究所において合成された新しい oxacephem 系抗生物質である。本化合物のラットにおける毒性試験では, 安全性の高いことが報告されている¹⁻³⁾。今回, イヌにおける静脈内投与による急性ならびに1カ月亜急性毒性試験を実施したので, 成績を報告する。

I. 実験材料および方法

1. 実験動物および飼育条件

塩野義製薬油日ラボラトリーズ産のビーグル犬雌雄計 55 頭を用いた。急性毒性試験では, 生後 8 カ月齢, 投与開始時体重が雄 8.3~9.8 kg, 雌 6.9~9.5 kg, 亜急性毒性試験では, 生後 6~7 カ月齢, 投与開始時体重雄 7.1~9.4 kg, 雌 6.7~9.1 kg の健康な動物を用いた (Table 1)。

Table 1 Intravenous acute and subacute toxicity studies of 6315-S in beagle dogs

	Drug	Dose (mg/kg)	No of dogs	
			Male	Female
Acute toxicity study	6315-S	1,250	2	1
	6315-S	2,500	1	2
	6315-S	5,000	2	1
	C E Z	1,250	1	2
	C E Z	2,500	2	1
Subacute toxicity study	Control	—	4	4
	6315-S	250	4	4
	6315-S	500	4	4
	6315-S	1,000	4	4
	C E Z	1,000	4	4

これらのイヌを投与開始の約1カ月前から室温 23 ± 1 °C、相対湿度 $55\pm10\%$ 、換気回数新鮮空気15回/時間、午前8時から12時間照明に条件設定された飼育室でステンレス製代謝ケージ(W68×D80×H90cm)に個別に収容し飼育した。1日1回1頭あたり180gの固型飼料(DB,オリエンタル酵母工業)を午前中(急性毒性試験の投与日は午後5時)に与え、飲料水は、濾過市水道水を自動給水装置にて自由に摂取させた。

2. 検体

6315-Sの凍結乾燥品, Lot No F003NNを急性毒性試験に, Lot No F036NNおよびF037NNを1ヵ月亜急性毒性試験に用いた。対照薬としてCefazolin sodium (CEZ, 市販品)を用いた。各検体(力価で表示)を用時, 局方注射用蒸留水で溶解し, 0.25g(力価)/mlの溶液に調製した。

3. 投与量および投与方法

投与経路は, ヒトの予定臨床適用経路と同じく静脈内投与とし, 以下の用量を, 小型自動ポンプ(ペリスタ®, アトー)を用いて5ml/minの速度で投与した。

1) 急性毒性試験

6315-Sの最高投与量を静脈内投与時の投与限界量とされる5,000mg/kgとし, 公比2で減量した2,500mg/kgおよび1,250mg/kgの3用量を設定した。CEZは6315-Sの中用量および低用量に合わせて2用量とした。1群雌雄合計3頭からなる5群の動物の前肢または後肢静脈内に1回(午前9:00~11:00)注射した。

2) 亜急性毒性試験

急性毒性試験において, 6315-S 1,250mg/kg投与で血尿が認められたため, 連続投与を考慮し最高投与量を1,000mg/kgとし, 公比2で減量した500mg/kgおよび250mg/kgの3用量を設けた。CEZは6315-Sの最高投与量に一致させた1,000mg/kgを設定した。対照群には局方生理食塩水を, 最高用量群と同一容量である4ml/kgを投与した。雌雄各4頭からなる5群の動物に, 上記の投与量を1日1回(午前9:00~11:00), 雄は30日間, 雌は31日間前肢静脈内に投与した。投与容量は1週毎に行なった体重測定により補正した。

4. 検査項目

1) 一般状態

一般状態の観察は, 全期間を通じて毎日行なった。急性毒性試験の投与当日は, 投与直後から6時間連続して観察した。

2) 体重

急性毒性試験では, 投与8日前, 5日前, 1日前, 投与後1, 3, 6, 9および13日目に測定した。亜急性毒性

試験では, 投与開始10日前から1週毎および投与30日目に測定した。

3) 摂餌量

毎日測定記録した。

4) 聴覚検査(亜急性毒性試験のみ)

投与開始8日前および投与28日目にPreyer耳介反射による聴覚検査を行なった。

5) 眼検査(亜急性毒性試験のみ)

投与開始11, 10日前および投与28, 29日目に, スリットランプ(SL-2, Kowa)による眼検査を行ない, その後散瞳剤(Mydrin-P®, 参天製薬)を点眼し, 眼底カメラ(RC-2, Kowa)で眼底検査を行なった。

6) 心電図検査(亜急性毒性試験のみ)

投与開始6または5日前および投与24または25日目に四肢第I, 第II, 第III誘導心電図をポリグラフ(RMP-6004, 日本光電)を用いて測定した。心拍数, 心電図波形は, 主として第II誘導心電図から測定した。

7) 血液学的検査

急性毒性試験では, 投与5日前および1日前, 投与後1, 6および13日目に, 亜急性毒性試験では, 投与開始3日前, 投与17および29日目に前肢静脈より採血し, 赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), 白血球数(以上7項目Coulter Counter Model-S), 白血球分画(GIEMSA染色), 血小板数(Coulter Counter Model-ZB), 全血凝固時間(LEE-WHITE法), プロトロンビン時間(Clotek®, Hyland)を測定した。亜急性毒性試験では, ほかに, 網状赤血球数(BRECHER法)および赤血球脆弱性試験(PARPART法変法, 投与開始6日前, 投与11および23日目に実施)を行なった。

8) 骨髄検査(亜急性毒性試験のみ)

剖検時に右第7~9肋骨を摘出し, その一部を用いて骨髄有核細胞数を測定(トーマ計算板)した。さらに骨髄の塗抹標本作製し, MAY-GRÜNWARD, GIEMSA重染色を施し, 有核細胞500個または1,000個について分類を行なった。

9) 血液生化学検査

急性毒性試験では, 投与開始5日前および1日前, 投与後1, 6および13日目に, 亜急性毒性試験では, 投与開始3日前, 投与17および29日目に, 前肢静脈(急性毒性試験)あるいは頸静脈(亜急性毒性試験)より採血して得たヘパリン添加血漿について, 下記の項目について検査した。グルコース(グルコース・オキシダーゼ法), 総蛋白質(ビウレット法), アルブミン(BCG法),

尿素窒素(ジアセチルモノオキシム法), クレアチニン(JAFFE法), 総ビリルビン(JENDRASSIK-GROF法), GPT(UV法), GOT(UV法), ALP(BESSEY-LOWRY法), LDH(UV法), 総コレステロール(LIEBERMANN-BURCHARD法)および塩化物(チオシアン酸第二水銀法)の12項目は, Technicon Auto Analyzer, SMA PLUS MICRO systemで, Na, K, CaおよびMgは原子吸光法で測定した。亜急性毒性試験では, ほかに, Fe(原子吸光法), リン脂質(Phospholipids B-Test, Wako)およびトリグリセリド(アセチルアセトン法)を測定し, さらに, 同じ日に採血して得た血清について, ハプトグロビン(ディスク電気泳動法)を測定した。

10) 尿検査

急性毒性試験では, 投与後1および7日目に, 亜急性毒性試験では, 投与開始4日前, 投与15および25日目に, 16時間尿を用い, pH(試験紙, 東洋濾紙), 沈渣(キャピロット®, テルモ), 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビルルビン, 潜血およびウロビリノーゲン(以上6項目, Multistix® III, Ames)を検査した。亜急性毒性試験では, ほかに比重(Multistix® SG, Ames)も検査した。

11) 肝臓成分の分析(亜急性毒性試験のみ)

剖検時に肝臓の一部(内側左葉および外側右葉)を採取し, 総蛋白質(ビウレット法), GOT, GPT(以上2項目UV法), 総コレステロール(ZAK-HENLY法の変法), リン脂質(湿式灰化, リンモリブデン青法), トリグリセリド(アセチルアセトン法), チトクロームP-450含量⁴⁾, アルコキシマリリン脱アルキル化酵素活性⁵⁾およびアルデヒド脱水素酵素活性⁶⁾を測定した。なお, 標本は測定の日まで-70°Cにて保存した。

12) 検体の血漿中濃度測定(亜急性毒性試験のみ)

検体投与0日目, 16日目および28日目の投与後1時間, 6時間および24時間後に採血し血漿を分離した。*Escherichia coli* 7437を検定菌とするband-culture法で6315-SおよびCEZの血漿中濃度測定を行なった⁷⁾。

13) 器官重量および病理組織学的検査

試験終了時に, ペントバルビタール(Somnopenthyll®, Pitman Moore)麻酔下で, 頸動脈より放血致死させて解剖し, 肉眼的観察の後, 急性毒性試験では心臓, 肺, 腎臓, 肝臓, 脾臓, 膵臓の, 亜急性毒性試験では前記のほかに, 胸腺, 膀胱, 副腎, 甲状腺(副甲状腺を含む), 脳, 下垂体, 精巣, 前立腺, 卵巣, 子宮, 顎下腺, 眼球の重量を測定した。

また, これらの器官に加えて, 以下の組織を採取した。急性毒性試験: 胸腺, 膀胱, 副腎, 甲状腺, 脳, 下垂体,

精巣, 前立腺, 卵巣, 子宮, 顎下腺, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 結腸, 胆嚢, リンパ節(頸部, 腸間膜), 脊髓(痙攣を発現し, 死亡した1例のみ頸部, 胸部, 腰部), 坐骨神経, 視神経, 肋骨, 投与局所。亜急性毒性試験: 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 結腸, 胆嚢, リンパ節(頸部, 腸間膜), 気管, 大動脈(弓部, 腹部), 輸尿管, 皮膚, 筋肉, 骨髄(頸部, 胸部, 腰部), 坐骨神経, 視神経, 胸骨, 肋骨, 投与局所。

採取した器官・組織は, 10%中性緩衝ホルマリン液で固定した(ただし, 眼球は3%グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン混合液で固定)。常法に従いパラフィン切片作製後, ヘマトキシリン・エオジン染色を施し, 必要例にはKLÜVER-BARRERA染色, VAN GIESON染色, VON KÓSSA染色, MALLORY-Azan染色も併用して光顕的に観察した。また, 亜急性毒性試験では, 各群の雌雄各2頭の肝臓と腎臓をグルタルアルデヒド固定後, オスミウム酸で後固定し, 常法に従ってepok包埋した。超薄切片をウラン・鉛二重染色し, 電顕的に観察した。

14) 統計学的解析(亜急性毒性試験のみ)

各投与群と対照群の平均値の差の検定には, まず等分散の検定を行ない, 等分散仮説が棄却されるときはCOCHRAN-COXの検定を行ない, 棄却されないときはSTUDENTのt検定を行なった。

II. 実験成績

1. 急性毒性試験

1) 一般状態

観察期間中, 6315-S全投与群に死亡例はみられなかった。6315-Sの投与中および投与直後に, 1,250 mg/kg以上の投与群に軽度の流涎, 脱糞が, 2,500 mg/kg以上の投与群に散発的な嘔吐が認められた。6315-S 5,000 mg/kg投与群では, 投与中に全例が排尿し, 1/3例は肉眼的血尿を示した。投与終了後は, これらの症状は速かに消失し, 剖検時まで明らかな変化を示さなかった。

CEZ投与群では, 投与中および投与直後に1,250 mg/kg以上の投与群に6315-S投与群に比して著明な流涎, 脱糞を認め, 全例に頻回の嘔吐を認めた。2,500 mg/kg投与群の2/3例の吐物には少量の血液を混じ, これら2例は投与終了後に30~40分間持続する間代性・強直性の痙攣を発し, 投与終了後43分目に1例が死亡した。そのほかの1例でも, 投与終了後約1時間は嘔吐などを認めたが, それ以降は剖検時まで明らかな変化を示さなかった。

2) 体重, 摂餌量, 血液学的検査

Table 2 Hematological examination in acute toxicity study of 6315-S in beagle dogs

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)					WBC differential (%)			Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Clotting time (min)	Prothrombin time (sec)
						5 days before dosage					1 day before dosage					
			E					N			L			M		
6315-S	1,250	3	6.68-7.89 ^a	15.3-17.0	46.1-50.7	10.6-18.1	1-4	49-86	80-48	0-4	17.3-20.6	8.5-10.0	7.4-8.0			
6315-S	2,500	3	6.34-7.29	14.2-16.3	43.3-46.9	10.8-15.0	5-21	35-52	81-39	1-5	20.5-27.7	8.5-9.0	7.4-8.1			
6315-S	5,000	3	6.32-7.20	14.9-16.2	43.8-46.8	10.7-12.7	4-7	48-54	84-45	1-8	16.5-22.6	9.0-9.5	7.4-8.3			
C E Z	1,250	3	5.99-6.91	13.4-15.7	40.1-47.2	10.8-14.2	4-9	42-58	35-48	2-6	8.5-8.55	9.0-10.0	7.1-7.9			
C E Z	2,500	3	6.23-6.97	14.0-16.3	41.7-48.8	9.8-12.3	2-10	49-57	39-41	1-6	15.1-19.5	9.0-9.5	7.6-8.0			
6315-S	1,250	3	6.05-6.98	14.3-16.2	41.5-47.2	10.5-13.3	6-17	42-60	32-48	2-3	12.2-22.1	8.0-9.0	7.2-7.8			
6315-S	2,500	3	5.99-6.79	13.6-15.7	40.8-46.1	8.7-14.1	4-7	39-67	24-51	0-3	18.0-24.3	8.5-9.5	7.4-7.5			
6315-S	5,000	3	5.96-6.87	14.1-15.4	41.1-44.8	9.4-11.6	4	47-54	39-47	2-3	23.5-25.5	8.0-8.5	7.4-8.0			
C E Z	1,250	3	6.43-6.71	14.8-15.7	43.1-45.7	10.4-12.2	4-8	40-55	39-50	2-4	11.1-22.5	9.0-9.5	7.4-8.0			
C E Z	2,500	3	6.18-6.59	13.9-15.2	41.1-44.5	8.0-11.3	2-5	43-56	42-50	0-2	16.3-31.0	9.0-10.5	7.6-7.7			
6315-S	1,250	3	5.97-6.78	13.7-15.8	41.5-46.6	10.3-11.6	3-13	50-52	36-44	0-3	14.2-23.6	9.0-10.5	7.4-8.0			
6315-S	2,500	3	5.96-6.89	13.6-15.2	41.1-44.7	10.0-12.3	3-13	41-58	35-44	1-4	20.5-22.6	9.0-10.0	7.1-8.1			
6315-S	5,000	3	6.29-6.48	14.3-15.2	42.1-44.6	9.6-12.1	5-10	43-57	33-51	1-6	20.3-23.9	8.5-9.5	7.5-8.0			
C E Z	1,250	3	5.88-6.51	13.5-14.7	40.0-44.2	11.6-15.1	2-7	59-64	30-84	2-3	12.0-23.0	8.5-10.0	7.3-7.9			
C E Z	2,500	2*	5.92-6.12	13.2-13.8	39.7-41.6	8.5-11.1	6-10	54-60	29-39	1	13.9-29.2	8.0-9.0	7.5-7.7			
6315-S	1,250	3	6.01-6.74	13.7-15.4	41.4-46.5	9.2-13.6	5-14	54-57	30-38	1-2	16.0-25.0	8.0-10.5	7.7-8.1			
6315-S	2,500	3	5.98-6.71	13.7-14.8	41.2-44.7	10.4-14.2	2-13	53-56	27-37	4-7	22.7-29.1	8.5-10.5	7.2-7.5			
6315-S	5,000	3	6.30-6.85	14.7-14.9	43.0-44.9	11.3-14.1	6-13	56-68	23-32	0-5	19.3-27.2	9.0-10.5	7.4-7.8			
C E Z	1,250	3	6.57-6.75	14.9-15.4	44.9-45.9	12.3-14.7	3-7	45-60	32-44	3-5	17.3-19.7	8.5	7.3-8.0			
C E Z	2,500	2*	6.00-6.37	13.4-14.3	40.4-43.0	8.7-9.7	4-12	52	33-39	3-5	14.3-26.2	8.5	7.7			
6315-S	1,250	3	5.99-6.71	14.2-15.8	43.1-46.5	10.5-12.1	4-12	39-47	46-48	1-5	20.4-27.3	9.0-9.5	7.6-8.1			
6315-S	2,500	3	5.92-6.71	13.4-14.8	40.4-43.8	10.0-12.2	7-20	28-56	31-52	0-6	23.4-34.1	8.5-9.0	7.8-8.1			
6315-S	5,000	3	6.38-6.56	14.4-14.8	42.9-44.5	9.7-14.0	7-18	41-55	36-48	0-3	25.7-29.4	8.0-9.0	7.4-8.2			
C E Z	1,250	3	6.16-6.61	14.0-15.3	41.5-46.2	11.1-13.1	5-8	54-58	30-39	1-4	18.3-27.9	8.0-8.5	7.3-7.9			
C E Z	2,500	2*	6.16-6.37	14.0-14.8	41.0-42.9	8.5-9.4	4-6	47-53	42-45	1-2	15.9-30.6	8.0-8.5	7.9-8.4			

* One dog died on day 0 (48 minutes after dosage)

a) Ranges

Table 3 Urinary examination in acute toxicity study of 6315-S in beagle dogs

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	pH	Color ^{a)}	Protein	Occult blood	Urobilinogen	Sediment				Cast presence
								WBC	RBC	Epithelium	Abnormal crystalline presence	
1 day after administration												
6315-S	1,250	3	1 ^{b)} 2 0	3 0	0 0 0	1 0 0	3 0 0	1 1 1	0 0 0	1 0 0	0 0 0	0
6315-S	2,500	3	0 1 2	3 0	0 0 0	0 1 1	3 0 0	0 0 2	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0
6315-S	5,000	3	0 1 2	1 2	0 1 1	1 0 2	3 0 0	0 1 2	0 0 3	1 0 0	0 0 0	0
C E Z	1,250	3	1 2 0	3 0	0 1 1	0 0 0	3 0 0	0 0 3	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0
C E Z	2,500	2*	1 1 0	2 0	1 0 0	1 0 0	3 0 0	0 0 2	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0
7 days after administration												
6315-S	1,250	3	2 0 1	3 0	2 0 0	0 0 0	3 0 0	0 0 3	0 0 0	2 0 1	0 0 0	0
6315-S	2,500	3	3 0 0	3 0	2 0 0	0 0 0	1 2 0	0 1 2	0 0 0	1 1 0	0 0 0	0
6315-S	5,000	3	3 0 0	3 0	2 0 0	0 0 0	2 1 0	1 1 1	0 0 0	1 1 0	0 0 0	0
C E Z	1,250	3	2 1 0	3 0	0 0 0	0 0 0	2 1 0	0 0 3	0 0 0	0 2 0	0 0 0	0
C E Z	2,500	2*	2 0 0	2 0	1 0 0	0 0 0	1 1 0	1 0 1	0 0 0	2 0 0	0 0 0	0

No abnormal scores were found in glucose, ketone bodies and bilirubin

a) Color : Y : yellow, RY : reddish yellow

b) No. of dogs with the indicated finding

* One dog died on day 0 (48 minutes after dosage)

体重, 摂餌量, 血液学的検査値 (Table 2) に検体投与に起因したと考えられる変化を認めなかった。

3) 尿検査

投与後1日目の検査で6315-S 1,250 mg/kg以上の投与群に潜血反応が, 2,500 mg/kg以上の投与群の尿沈渣中に赤血球が, それぞれほぼ用量依存的に観察された。潜血反応はCEZ 2,500 mg/kg,尿沈渣中赤血球は

CEZ 1,250 mg/kg投与群にも認められた。投与7日後の検査では全例に異常を認めなかった (Table 3)。

4) 血液生化学検査

6315-S投与群ではいずれの検査日でも血液生化学検査値に著変を認めなかった。CEZ投与群では投与後1および6日目の検査でGPT値の低下を認めたが, 投与13日後にはほぼ回復した (Table 4)。

Table 4 Plasma components in acute toxicity study of 6315-S in beagle dogs

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Glucose (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Creatinine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	Cholesterol (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Chloride (mEq/L)	Ca (mg/dl)	Mg (mg/dl)	
																				5 days before dosage
6315-S	1,250	3	110-117*	6.2-6.8	3.1-3.4	0.9-1.1	0.7-0.8	15-21	28-39	17-21	75-116	55-82	152-180	0.2	148-149	4.3-4.7	111	11.4-12.4	1.7-2.2	
6315-S	2,500	3	105-110	6.1-6.6	3.0-3.2	0.9-1.0	0.6-0.8	12-14	29-50	17-39	69-94	52-57	130-144	0.2-0.3	147-148	4.1-4.3	112-114	12.3-12.4	2.0-2.1	
6315-S	5,000	3	103-111	6.4-6.7	3.0-3.4	0.9-1.0	0.8	13-16	35-39	19-41	95-127	49-64	140-157	0.2	148-148	4.0-4.5	110-113	12.3-13.1	1.8-2.1	
C.E.Z	1,250	3	112-114	6.2-6.7	2.9-3.3	0.9-1.0	0.8-0.9	16-24	36-49	18-45	69-98	55-67	144-171	0.2-0.3	146-153	4.0-4.2	111-112	12.4-13.2	1.9-2.1	
C.E.Z	2,500	3	102-110	6.4-6.7	3.0-3.2	0.9	0.8-0.9	13-17	35-50	16-36	60-79	61-71	147-174	0.2	145-147	3.9-4.3	112-118	12.5-12.7	1.8-2.0	
1 day before dosage																				
6315-S	1,250	3	97-102	5.7-6.3	3.0-3.2	1.0-1.1	0.8-1.0	16-20	34-41	17-25	70-110	64-82	154-186	0.3	148-158	4.3-4.7	113-114	11.6-12.5	1.8-2.1	
6315-S	2,500	3	95-99	5.4-5.9	2.9	1.0-1.2	0.7-0.9	13-16	32-49	20-37	69-78	64-81	142-147	0.2-0.3	145-149	4.0-4.2	114-115	11.9-12.5	1.9-2.2	
6315-S	5,000	3	92-99	5.8-6.0	2.9-3.1	1.0-1.1	0.8-0.9	13-19	39-42	22-42	87-128	87-112	142-163	0.3	149-152	4.2-4.4	113-115	13.0-13.2	1.9-2.1	
C.E.Z	1,250	3	97	5.6-6.1	2.7-3.2	0.9-1.1	0.8-0.9	17-21	41-54	20-45	69-87	78	159-174	0.2-0.3	145-152	4.0-4.2	112-118	12.9-13.7	1.9-2.1	
C.E.Z	2,500	3	88-102	5.5-6.0	2.7-3.0	0.9-1.0	0.9	13-18	49-111	27-51	58-76	82-128	147-171	0.2-0.3	148-149	4.0-4.2	115-115	12.9-14.0	1.8-2.0	
1 day after dosage																				
6315-S	1,250	3	97-110	5.8-6.0	2.9-3.0	0.9-1.1	0.8-1.0	22-27	34-42	23-35	67-108	60-78	153-185	0.2	149-151	4.4-5.0	112-115	11.1-12.5	1.7-2.2	
6315-S	2,500	3	95-109	5.7-6.1	2.9-3.1	1.0-1.1	0.7-0.8	13-20	35-49	20-73	67-78	55-64	143-146	0.2	146-151	4.1-4.2	113-115	12.2-13.3	2.0-2.1	
6315-S	5,000	3	92-102	5.9-6.2	2.9-3.0	0.9-1.0	0.8	15-27	43-45	26-41	85-117	53-67	141-159	0.2	149-150	4.0-4.6	112-118	13.0-13.5	2.0-2.1	
C.E.Z	1,250	3	107-115	5.3-6.3	2.7-3.3	0.9-1.1	0.9	13-28	48-110	2-5	69-90	71-81	173-187	0.2-0.3	148-150	4.2-4.3	112-114	13.1-13.5	2.1	
C.E.Z	2,500	2*	97-105	6.0	3.0	1.0	0.9	16-19	45-66	0	62-72	64-66	155-164	0.2	151	4.1-4.2	112-115	12.9-13.5	2.0-2.1	
6 days after dosage																				
6315-S	1,250	3	105-111	5.8-6.0	3.0-3.3	1.0-1.2	0.8-1.0	20-22	28-39	24-26	69-115	47-65	141-183	0.2	148-147	4.4-4.8	109-112	10.9-12.6	1.8-2.1	
6315-S	2,500	3	95-106	5.7-6.2	3.0-3.1	1.0-1.2	0.7-0.9	15-16	33-45	21-43	67-80	46-71	139-143	0.2	146-149	4.1-4.2	112	12.0-13.2	1.8-2.1	
6315-S	5,000	3	100-110	5.9-6.4	3.0-3.3	1.0-1.1	0.8-0.9	14-19	35-39	22-41	96-128	46-60	148-162	0.2	149-150	4.2-4.5	112-113	12.5-13.7	1.9-2.1	
C.E.Z	1,250	3	106-111	5.8-6.3	2.8-3.3	0.9-1.2	0.8	15-20	35-53	11-21	69-87	64-65	154-173	0.2	147-148	4.1-4.2	111-113	12.5-13.2	1.9-2.0	
C.E.Z	5,000	2*	103-110	6.0	3.0	1.0	0.8	13-16	42-43	11-13	58-72	55-59	139-151	0.2	148	3.3-4.2	113-114	12.3-13.7	1.9-2.0	
13 days after dosage																				
6315-S	1,250	3	103-116	5.7-6.0	2.8-3.2	0.9-1.1	0.8-1.0	15-21	32-40	19-27	53-105	45-57	140-133	0.2	149-149	4.5-4.7	113-115	11.1-12.7	1.7-2.1	
6315-S	2,500	3	95-108	5.7-6.0	2.9-3.0	0.9-1.0	0.6-0.8	14-16	36-47	18-38	53-72	42-67	132-145	0.1-0.2	149-152	4.3-4.4	114-116	12.2-13.1	1.8-2.1	
6315-S	5,000	3	102-110	5.8-6.0	2.9-3.1	1.0-1.1	0.8	13-18	33-42	23-41	82-115	52-68	147-182	0.2	150-151	4.0-4.5	113-116	12.3-13.4	1.8-2.0	
C.E.Z	1,250	3	108-117	5.5-6.0	2.6-3.1	0.9-1.1	0.8	17-20	45-55	15-34	63-78	60-81	154-165	0.2	148-150	4.0-4.4	112-116	12.2-13.3	1.8-1.9	
C.E.Z	2,500	2*	106-110	5.9-6.1	3.0-3.1	1.0	0.9	13-16	50-60	13-32	52-70	58-70	142-159	0.2	147-149	4.0-4.3	115	12.3-13.5	1.8-1.9	

* One dog died on day 0 (43 minutes after dosage)

a) Ranges

Table 5 Summary of general conditions in beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

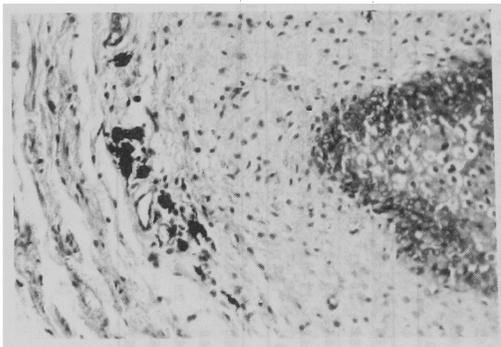
Findings*	Treatment Daily dose No. of dogs	Control	6315-S			CEZ
		8	250 mg/kg 8	500 mg/kg 8	1,000 mg/kg 8	1,000 mg/kg 8
Day 0 to 10						
Vomiting		L (1)	L (3)	L (2), M (3), H (1)	L (3), M (3), H (1)	H (6)
Salivation		—	—	—	M (1)	L (1), H (7)
Defecation		L (1)	—	—	L (2)	M (1), H (7)
Day 11 to 20						
Vomiting		—	L (1)	L (6), M (2)	L (1), M (2)	M (3), H (6)
Salivation		—	—	—	—	L (1), H (7)
Defecation		—	—	—	—	M (3), H (6)
Day 21 to 30						
Vomiting		—	—	L (3), M (1)	—	M (3), H (5)
Salivation		—	—	—	—	H (6)
Defecation		—	—	—	—	M (1), H (6)

* Findings appeared during or immediately after (within 80 minutes) drug infusion.

L : single instance M : lasted for 2-4 days. H : lasted for more than 5 days

() : No. of dogs with the findings

Photo. 1 Hemosiderin deposition in lamina propria of the urinary bladder in a male dog receiving single injection of 5,000 mg/kg of 6315-S
Berlin blue stain $\times 200$



5) 器官重量および病理組織学的所見

死亡例、生存例ともに器官重量、剖検時肉眼所見に検体投与に起因すると思われる変化を認めなかった。

病理組織学的検査では、6315-S 5,000 mg/kg 投与群の1/3例の膀胱粘膜固有層に、出血とヘモジデリン沈着を認めた (Photo. 1)。CEZ 2,500 mg/kg 投与群の死亡例に、脊髓灰白質部に小出血を認めた。このほかに

検体投与に起因したと考えられる変化を認めなかった。

2. 亜急性毒性試験

1) 一般状態

全例が1カ月間の連続投与に耐容した。

6315-Sの投与中および投与後30分以内に嘔吐がみられ、その頻度は用量依存性であったが、投与10日目以降は各群とも漸減した。流涎と脱糞は、1,000 mg/kg 投与群の投与初期に散発的に認められただけであった。一方、CEZ投与群では、全期間を通じて嘔吐、流涎、脱糞とも著明であった。特に流涎は投与回数が増えるに従って著しくなり、投与開始10分以上前から流涎を示す個体も認められた (Table 5)。

上記以外に、検体投与に関連したと思われる明らかな変化は認められなかった。

2) 体重

全期間を通じて対照群、検体投与群のどの例においても明らかな体重の変動は認められなかった (Fig. 1)。

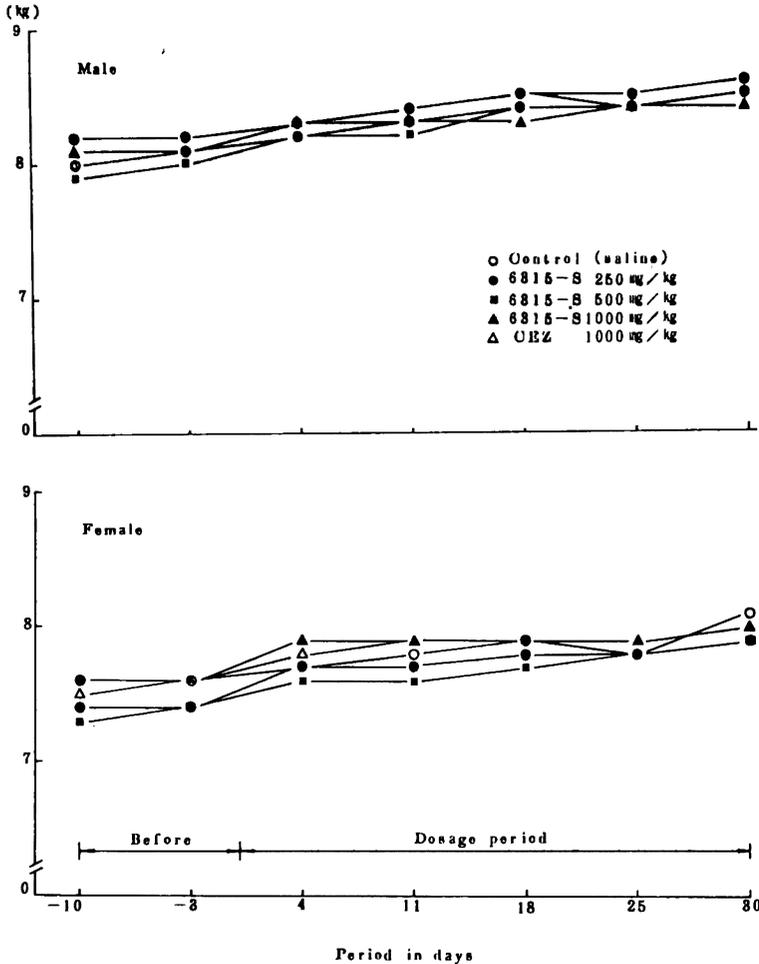
3) 摂餌量

検体投与による摂餌量の低下は、対照群、検体投与群のどの例にも認められなかった。

4) 聴覚検査および眼検査

Preyer 耳介反射による聴覚検査では、全例に異常は認められなかった。また、スリットランプおよび眼底カメラによる検査および組織検査において、検体投与に起因したと思われる変化は認められなかった。

Fig. 1 Body weight changes in beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month



5) 心電図検査

6315-S または CEZ の投与による心電図波形への影響は認められなかった。しかし、CEZ 投与群では雌雄とも投与 24 日目または 25 日目の検査において、対照群との間に差はなかったが、投与前値に比して軽度の心拍数減少が認められた (Table 6, 7)。

6) 血液学的検査

全投与群の平均値において生理的変動範囲を越える変化は認められなかった (Table 8~11)。個別には投与前値との比較において、投与 29 日目の検査で 6315-S 1,000 mg/kg 投与群雌 1 例に軽度の赤血球数の減少 ($4.77 \times 10^6/\text{mm}^3$)、6315-S 500 mg/kg および 1,000 mg/kg 投与群雌雄各 1 例に血小板数の著減 (3.5~6.5

$\times 10^4/\text{mm}^3$)、6315-S 500 mg/kg 投与群雌雄各 1 例および 1,000 mg/kg 投与群雄 1 例、CEZ 投与群雌 2 例の全血凝固時間の軽度延長 (13~15分)、CEZ 投与群雌 1 例に白血球数の増加 ($18.7 \times 10^3/\text{mm}^3$) を認めた。また、投与 23 日目の赤血球脆弱性試験において CEZ 投与群の雄 1 例に、最小抵抗のわずかな低下が認められた。

7) 骨髄検査

全投与群において生理的変動範囲を越える変化は認められなかった (Table 12)。個別にみると、CEZ 投与群の雌 1 例に成熟好中球比の著増による M/E 比の高値 (7.64) が認められた。この個体は、骨髄の組織学的検査においても顆粒球系細胞の増加を示した。

Table 6 ECG (lead II) in male beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No of dogs	Heart rate (beats/min)	PQ (m sec)	QRS (m sec)	QT (m sec)
6 or 5 days before dosage						
Control	—	4	128.6±11.8 ^{a)}	99.9±7.9	88.4±0.5	188.9± 8.2
6315-S	250	4	188.5±17.1	96.0±4.5	88.4±0.8	179.8± 8.8
6315-S	500	4	151.9± 9.8	96.4±2.8	87.0±0.8	170.8± 2.8
6315-S	1,000	4	118.7± 8.0	102.7±6.2	86.9±1.4	180.7± 6.8
CEZ	1,000	4	186.8± 5.8	96.7±4.5	85.6±1.8	175.6± 4.9
Day 24 or 25 of dosage period						
Control	—	4	127.1±12.4	100.9±7.8	88.5±0.5	178.9± 8.5
6315-S	250	4	140.9±15.8	97.0±7.9	87.7±0.6	175.5± 8.8
6315-S	500	4	188.4± 5.8	99.9±3.7	86.6±0.4	168.9± 8.2
6315-S	1,000	4	111.6±10.2	105.1±5.7	86.6±1.6	179.9±10.4
CEZ	1,000	4	116.9± 4.7*	100.2±3.6	86.5±0.8	176.8± 8.9

a) Mean ± S. E.

Statistically significant against the values before dosage, *P<0.05

Table 7 ECG (lead II) in female beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No of dogs	Heart rate (beats/min)	PQ (m sec)	QRS (m sec)	QT (m sec)
6 or 5 days before dosage						
Control	—	4	148.8±18.8 ^{a)}	85.7±2.4	86.8±0.6	178.8±6.5
6315-S	250	4	148.2± 8.8	87.9±3.8	86.7±1.6	174.9±3.8
6315-S	500	4	151.1± 5.3	96.8±4.0	86.4±1.8	166.6±3.4
6315-S	1,000	4	145.0±12.9	87.6±5.7	87.9±0.9	171.2±5.2
CEZ	1,000	4	142.8±14.9	87.8±4.0	87.9±0.7	168.8±5.2
Day 24 or 25 of dosage period						
Control	—	4	184.7±12.7	85.8±2.3	87.3±1.0	175.2±6.8
6315-S	250	4	151.8± 8.9	84.6±2.3	86.3±1.4	167.2±1.5
6315-S	500	4	148.8± 7.9	92.3±3.8	86.8±1.8	158.5±3.8
6315-S	1,000	4	126.9±10.5	90.2±7.1	87.9±1.0	171.8±1.0
CEZ	1,000	4	116.8± 9.4	97.8±2.1	87.6±0.7	172.7±5.8

a) Mean ± S. E.

8) 血液生化学検査

6315-S 全投与群において、コレステロール、リン脂質およびトリグリセリドの増加が、投与17および29日目にうかがわれたが、同様の傾向はCEZ投与群でも認められた。また、6315-S投与群でハプトグロビンの用量依存性のない減少が投与17日目に認められたが、29日目には上昇の傾向を示し、1,000 mg/kg 投与群で投与前値に回復した。CEZ投与群で、投与17日目および

29日目にGPT値が著減した (Table 13, 14)。

9) 尿検査

投与25日目の検査において、6315-S 500 mg/kg, 1,000 mg/kg およびCEZ投与群において、尿沈渣中に微量の赤血球が各々雌1例に認められたほか、明らかな変化は認められなかった (Table 15, 16)。

10) 肝臓成分の分析

6315-S 投与群では、肝臓単位重量当りのチトクロ

Table 8 Hematological examination in male beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	3 days before dosage										Day 17 of dosage period										Day 29 of dosage period																																																																																																																																																																														
			RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$) (g/dl)	Hb (%)	Ht (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo-cyte (%)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC differential (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Clotting time (min)	Prothrombin time (sec)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (%)	Ht (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo-cyte (%)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC differential (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Clotting time (min)	Prothrombin time (sec)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (%)	Ht (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo-cyte (%)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC differential (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Clotting time (min)	Prothrombin time (sec)																																																																																																																																																															
Control	—	4	6.26 ^{a)} ±0.18	14.0 ±0.4	41.2 ±1.1	67 ±1	22.5 ±0.8	34.2 ±0.1	4.9 ±1.4	11.4 ±0.9	7.5 ±1.8	51.0 ±6.7	37.5 ±7.2	4.0 ±1.1	29.2 ±1.0	8.9 ±0.1	8.0 ±0.2	Control	—	4	6.01 ±0.24	13.4 ±0.8	39.7 ±0.9	67 ±1	22.3 ±0.4	33.8 ±0.1	4.4 ±0.9	10.6 ±0.8	9.0 ±1.1	42.0 ±2.3	45.8 ±3.1	3.8 ±1.3	26.6 ±3.2	10.4 ±0.1	7.9 ±0.2	6315-S	250	4	6.18 ±0.14	14.2 ±0.3	41.5 ±0.9	68 ±1	23.1 ±0.8	34.4* ±0.2	4.0 ±1.4	9.6 ±0.9	12.8 ±1.1	46.8 ±4.9	39.5 ±4.3	1.5 ±0.3	22.1 ±1.9	9.9 ±0.2	7.8 ±0.0	6315-S	500	4	6.45 ±0.10	14.7** ±0.2	43.1* ±0.5	67 ±0	22.9 ±0.0	34.3 ±0.2	4.6 ±0.5	9.9 ±0.7	8.5 ±2.2	35.8 ±4.5	52.8 ±2.9	2.0 ±0.9	26.4 ±1.1	10.0 ±0.2	7.7 ±0.2	6315-S	1000	4	5.71 ±0.16	13.0 ±0.8	33.4 ±0.8	68 ±1	23.0 ±0.2	34.2 ±0.2	2.0 ±0.6	9.5 ±0.7	8.3 ±1.0	37.5 ±6.0	51.3 ±6.1	3.0 ±1.2	26.1 ±2.0	10.3 ±0.3	7.8 ±0.2	CEZ	1000	4	5.91 ±0.18	13.2 ±0.2	39.8 ±0.4	68 ±2	22.4 ±0.6	33.2* ±0.2	2.6 ±0.4	8.4 ±0.6	4.3 ±2.4	43.5 ±5.7	50.0 ±4.6	2.3 ±0.3	23.6 ±2.5	9.9 ±0.4	7.5 ±0.2	Control	—	4	5.99 ±0.31	13.4 ±0.5	39.5 ±1.5	66 ±1	22.5 ±0.4	34.0 ±0.2	5.5 ±1.1	9.7 ±0.5	7.0 ±2.5	44.5 ±7.3	45.8 ±6.8	2.8 ±0.6	29.1 ±3.0	10.4 ±0.5	8.0 ±0.2	6315-S	250	4	6.22 ±0.06	14.2 ±0.1	41.6 ±0.2	67 ±0	23.0 ±0.2	34.3 ±0.3	2.8 ±0.3	8.9 ±1.0	11.0 ±2.9	51.0 ±5.3	34.3 ±6.1	3.8 ±0.5	21.0 ±0.3	10.5 ±0.3	7.7 ±0.2	6315-S	500	4	6.50 ±0.20	14.7 ±0.5	43.8 ±1.3	67 ±0	22.8 ±0.1	34.2 ±0.3	5.6 ±0.7	9.4 ±0.7	7.5 ±1.9	53.5 ±5.9	35.5 ±6.2	3.5 ±2.5	18.3 ±4.7	11.9 ±0.9	8.2 ±0.1	6315-S	1000	4	5.60 ±0.31	12.8 ±0.7	37.6 ±1.9	67 ±0	22.9 ±0.1	34.1 ±0.2	1.8* ±0.7	9.1 ±0.5	6.0 ±1.1	58.8 ±5.4	35.3 ±5.1	5.0* ±0.6	19.7 ±5.9	11.4 ±0.8	7.8 ±0.1	CEZ	1000	4	6.18 ±0.21	13.5 ±0.2	41.3 ±0.9	68 ±2	22.0 ±0.6	32.8** ±0.1	5.1 ±2.2	9.0 ±1.0	7.5 ±1.7	56.8 ±4.9	31.5 ±4.9	4.3 ±1.9	19.4 ±4.8	11.4 ±0.4	7.9 ±0.2

a) Mean ± S.E. Statistically significant against control, * P<0.05, ** P<0.01

Table 9 Hematological examination in female beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	8 days before dosage			WBC differential (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Clotting time (min)	Prothrombin time (sec)		
									Reticulo-cyte (%)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	E						
Control	—	4	6.98 ^{a)} ± 0.23	15.8 ± 0.6	46.2 ± 1.7	67 ± 1	22.8 ± 0.2	34.3 ± 0.2	5.4 ± 1.6	12.2 ± 1.0	8.3 ± 2.1	56.3 ± 4.5	30.0 ± 3.6	5.5 ± 0.6	21.4 ± 1.2	10.0 ± 0.4	8.1 ± 0.1
6315-S	250	4	6.24 ± 0.40	14.2 ± 1.0	41.3 ± 2.8	67 ± 1	22.8 ± 0.1	34.4 ± 0.2	3.5 ± 0.7	9.9 ± 0.2	4.5 ± 1.7	48.0 ± 3.1	45.8* ± 8.2	1.8** ± 0.3	27.8 ± 3.1	9.6 ± 0.5	8.0 ± 0.1
6315-S	500	4	6.84 ± 0.19	14.5 ± 0.5	42.6 ± 1.3	67 ± 0	23.0 ± 0.3	34.2 ± 0.2	5.3 ± 1.5	11.6 ± 0.6	5.5 ± 2.3	68.0 ± 5.3	26.3 ± 4.4	5.3 ± 1.5	22.7 ± 2.1	9.9 ± 0.1	8.0 ± 0.2
6315-S	1,000	4	6.42 ± 0.16	15.1 ± 0.6	44.1 ± 1.4	69 ± 1	23.6 ± 0.4	34.3 ± 0.3	3.6 ± 1.3	11.7 ± 1.5	8.8 ± 2.0	60.5 ± 3.3	23.8 ± 2.5	7.0 ± 1.1	19.3 ± 2.0	9.3 ± 0.3	7.5** ± 0.1
CEZ	1,000	4	6.00* ± 0.82	13.7 ± 0.8	39.7 ± 2.4	66 ± 1	23.0 ± 0.4	34.7 ± 0.3	3.0 ± 0.5	10.5 ± 1.1	4.8 ± 0.8	56.0 ± 4.1	35.5 ± 3.9	3.3 ± 1.8	24.1 ± 6.0	9.0 ± 0.5	8.0 ± 0.0
Day 17 of dosage period																	
Control	—	4	6.25 ± 0.14	14.8 ± 0.3	41.8 ± 0.7	67 ± 1	23.0 ± 0.2	34.3 ± 0.1	2.9 ± 0.7	10.0 ± 1.0	9.5 ± 1.0	42.3 ± 7.2	45.3 ± 6.3	2.0 ± 0.0	22.2 ± 2.5	10.4 ± 0.2	7.9 ± 0.1
6315-S	250	4	6.42 ± 0.12	14.6 ± 0.5	42.6 ± 1.1	67 ± 1	22.8 ± 0.3	34.4 ± 0.2	2.5 ± 0.6	9.2 ± 0.5	10.5 ± 3.4	37.5 ± 1.9	50.0 ± 3.0	2.0 ± 1.1	25.5 ± 3.0	9.6 ± 0.6	7.8 ± 0.2
6315-S	500	4	6.17 ± 0.17	14.2 ± 0.4	41.4 ± 0.9	67 ± 0	23.1 ± 0.2	34.4 ± 0.2	2.8 ± 0.7	10.9 ± 1.0	5.5 ± 1.8	46.0 ± 7.4	46.3 ± 6.4	2.3 ± 0.6	25.6 ± 2.3	10.0 ± 0.5	7.9 ± 0.1
6315-S	1,000	4	6.25 ± 0.20	14.8 ± 0.7	42.9 ± 1.8	69 ± 1	23.7 ± 0.4	34.5 ± 0.3	2.8 ± 0.6	10.6 ± 1.1	4.3** ± 0.8	54.3 ± 7.0	36.0 ± 7.1	5.5 ± 1.3	29.8 ± 0.6	10.6 ± 0.2	7.8 ± 0.2
CEZ	1,000	4	5.99 ± 0.08	13.5 ± 0.4	40.4 ± 1.0	68 ± 1	22.6 ± 0.4	33.5* ± 0.2	2.9 ± 0.7	8.8 ± 1.2	4.8 ± 1.8	55.0 ± 3.6	37.3 ± 4.2	3.0 ± 1.1	25.1 ± 1.7	9.5* ± 0.0	8.0 ± 0.2
Day 29 of dosage period																	
Control	—	4	6.45 ± 0.18	14.9 ± 0.6	43.4 ± 1.2	67 ± 1	23.2 ± 0.2	34.4 ± 0.2	3.1 ± 0.9	10.4 ± 0.8	5.8 ± 0.8	49.8 ± 6.9	39.8 ± 6.8	5.3 ± 1.5	21.6 ± 0.8	10.3 ± 0.6	7.5 ± 0.2
6315-S	250	4	6.57 ± 0.15	15.0 ± 0.6	43.7 ± 1.8	67 ± 0	22.9 ± 0.3	34.4 ± 0.2	3.4 ± 0.8	9.1 ± 0.6	6.5 ± 2.9	46.0 ± 2.9	43.3 ± 3.6	4.3 ± 1.7	25.2 ± 2.3	10.0 ± 0.3	7.9 ± 0.2
6315-S	500	4	6.11 ± 0.12	13.9 ± 0.4	40.9 ± 0.9	67 ± 1	22.9 ± 0.3	34.1 ± 0.2	5.3 ± 1.1	9.7 ± 0.6	9.3 ± 2.4	52.4 ± 6.0	31.3 ± 6.4	6.5 ± 2.0	17.3 ± 5.0	11.9 ± 0.7	7.8 ± 0.1
6315-S	1,000	4	6.44 ± 0.20	15.0 ± 0.6	44.4 ± 1.6	69 ± 1	23.4 ± 0.4	34.0 ± 0.4	5.9 ± 0.9	9.9 ± 1.2	8.5 ± 1.9	51.0 ± 6.9	37.3 ± 7.9	3.3 ± 0.6	16.9 ± 4.3	11.6 ± 0.4	7.8 ± 0.3
CEZ	1,000	4	5.88 ± 0.21	13.1 ± 0.7	40.0 ± 1.8	68 ± 1	22.4 ± 0.4	32.8** ± 0.3	2.0 ± 0.7	11.4 ± 2.6	5.8 ± 1.6	56.3 ± 3.7	32.0 ± 7.3	4.5 ± 1.3	22.6 ± 4.1	12.3 ± 1.0	8.0 ± 0.2

a) Mean \pm S.E.* Statistically significant against control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Table 10 Osmotic fragility in male beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No of dogs	% hemolysed						
			NaCl (%)						
			0.90	0.55	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30
6 days before dosage									
Control	—	4	0.00±0.00 ^{a)}	0.50±0.29	8.75±1.89	45.25± 9.08	84.75± 4.61	98.50±1.26	100.00±0.00
6315-S	250	4	0.00±0.00	1.00±0.71	12.25±6.62	51.75±18.05	85.75±12.50	98.50±1.71	100.00±0.00
6315-S	500	4	0.00±0.00	1.00±0.41	14.00±8.11	58.75± 8.71	97.50± 1.19	101.50±1.26	100.00±0.00
6315-S	1.000	4	0.00±0.00	0.75±0.25	10.00±8.24	46.00± 9.94	89.75± 6.50	99.25±0.48	100.00±0.00
CEZ	1.000	4	0.00±0.00	1.25±0.75	15.50±8.24	58.25±18.29	92.75± 8.17	98.75±1.60	100.00±0.00
Day 11 of dosage period									
Control	—	4	0.00±0.00	1.50±0.65	18.25±4.81	62.00± 6.28	99.25± 1.49	100.00±1.08	100.00±0.00
6315-S	250	4	0.00±0.00	2.25±1.11	24.50±9.67	62.50±16.75	89.75±10.81	97.25±1.49	100.00±0.00
6315-S	500	4	0.00±0.00	1.75±0.48	15.25±8.09	62.75± 7.68	95.25± 8.54	102.00±1.08	100.00±0.00
6315-S	1.000	4	0.00±0.00	0.00±0.00	9.25±2.78	47.75± 8.28	91.25± 3.09	97.50±1.71	100.00±0.00
CEZ	1.000	4	0.00±0.00	1.50±0.87	18.25±5.51	62.25± 9.58	98.50± 2.66	98.00±2.04	100.00±0.00
Day 23 of dosage period									
Control	—	4	0.00±0.00	2.25±1.11	21.75±8.80	65.00± 5.70	97.25± 1.60	102.50±0.65	100.00±0.00
6315-S	250	4	0.00±0.00	8.00±1.22	22.50±7.82	65.25±17.40	89.75± 8.98	99.00±1.22*	100.00±0.00
6315-S	500	4	0.00±0.00	1.75±0.85	17.25±4.66	60.75± 9.70	92.00± 3.49	100.50±1.26	100.00±0.00
6315-S	1.000	4	0.00±0.00	1.00±0.41	11.25±8.50	58.75±10.57	94.25± 4.01	99.00±0.41**	100.00±0.00
CEZ	1.000	4	0.00±0.00	7.50±8.97	81.00±8.44	70.25± 9.28	98.50± 8.28	101.25±1.11	100.00±0.00

a) Mean ± S. E.

Statistically significant against control. * P < 0.05, ** P < 0.01

Table 11 Osmotic fragility in female beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No of dogs	% hemolysed						
			NaCl (%)						
			0.90	0.55	0.50	0.45	0.40	0.35	0.30
6 days before dosage									
Control	—	4	0.00±0.00 ^{a)}	0.75±0.48	18.50±4.27	54.50±10.68	95.00±8.70	100.00±1.41	100.00±0.00
6315-S	250	4	0.00±0.00	0.75±0.25	12.00±8.42	52.00± 9.75	90.75±8.07	98.25±1.08	100.00±0.00
6315-S	500	4	0.00±0.00	0.25±0.25	10.75±5.76	40.75±12.08	91.25±4.77	96.00±1.47	100.00±0.00
6315-S	1.000	4	0.00±0.00	0.50±0.29	11.00±8.81	53.75± 9.66	94.50±4.44	99.75±0.85	100.00±0.00
CEZ	1.000	4	0.00±0.00	0.75±0.48	10.25±2.66	55.00± 8.64	95.75±2.46	100.25±0.68	100.00±0.00
Day 11 of dosage period									
Control	—	4	0.00±0.00	1.50±0.50	17.50±6.02	61.50±10.62	98.25±2.69	101.75±1.08	100.00±0.00
6315-S	250	4	0.00±0.00	1.25±0.48	16.00±4.58	57.75± 7.60	96.00±2.68	97.00±1.73	100.00±0.00
6315-S	500	4	0.00±0.00	0.50±0.87	11.75±6.48	47.50± 5.55	92.25±1.65	99.25±1.38	100.00±0.00
6315-S	1.000	4	0.00±0.00	0.75±0.85	18.00±5.46	56.00± 9.81	92.25±8.04	99.00±1.08	100.00±0.00
CEZ	1.000	4	0.00±0.00	2.00±1.08	21.25±6.41	67.75± 9.45	96.75±1.08	98.50±0.65*	100.00±0.00
Day 23 of dosage period									
Control	—	4	0.00±0.00	1.50±1.19	17.50±4.97	60.50± 4.99	98.25±2.29	98.25±1.11	100.00±0.00
6315-S	250	4	0.00±0.00	1.50±0.87	14.25±4.87	54.00± 6.01	88.25±1.49	98.00±2.04	100.00±0.00
6315-S	500	4	0.00±0.00	1.50±1.50	11.25±5.92	50.25± 8.98	92.00±8.79	98.75±1.98	100.00±0.00
6315-S	1.000	4	0.00±0.00	1.75±1.08	15.50±6.54	59.50±11.62	95.50±8.80	98.50±2.87	100.00±0.00
CEZ	1.000	4	0.00±0.00	4.25±1.25	25.75±6.47	62.25± 5.63	90.00±2.27	99.00±1.78	100.00±0.00

a) Mean ± S. E.

Statistically significant against control. * P < 0.05

Table 12 Bone marrow examination in beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Nucleated marrow cell (<10 ⁶ /mg)	M/E ratio	Erythrocytic series(%)				Myelocytic series(%)						Others(%)										
					Total erythroblast	Pro-erythroblast	normo-blast	ortho-blast	Myelo-blast	Total	Myelo-blast	Pro-myelo-cyte	Myelo-cyte	Meta-cyte	Band-cyte	Mature phill	Baso-phill	Monocyte	Lymphocyte	Plasma cell	Mega-karyocyte	Mitotic cell	Miscellaneous	Unidentified	
Control	—	4	1,729 ± 0.14	2.08 ± 0.86	292 ± 3.8	1.8 ± 0.3	7.0 ± 1.2	18.8 ± 2.5	1.6 ± 0.1	56.5 ± 5.1	1.6 ± 0.3	3.9 ± 0.5	9.6 ± 1.0	10.8 ± 1.0	4.2 ± 0.4	2.4 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	12.1 ± 2.5	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0	1.5 ± 0.1	0.1 ± 0.0		
					392 ± 5.9	1.8 ± 0.2	11.9 ± 2.1	23.6 ± 4.2	2.1 ± 0.5	47.7 ± 4.7	2.1 ± 0.3	2.6 ± 0.5	7.9 ± 0.7	8.8 ± 0.5	3.1 ± 0.3	21.0 ± 2.1	2.1 ± 0.6	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	10.8 ± 2.2	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0	1.3 ± 0.2	0.0 ± 0.0	
					300 ± 2.5	2.4 ± 0.4	7.6 ± 1.1	17.4 ± 1.4	2.6 ± 0.6	56.8 ± 3.2	2.1 ± 0.1	3.2 ± 0.5	10.6 ± 0.4	3.2 ± 0.6	2.9 ± 0.3	26.2 ± 2.2	2.9 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.1	11.1 ± 0.6	0.5 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.2 ± 0.0
					306 ± 1.4	2.6 ± 0.4	8.7 ± 1.1	18.0 ± 1.7	1.8 ± 0.2	59.4 ± 0.7	1.8 ± 0.2	3.3 ± 0.5	7.5 ± 0.6	9.3 ± 0.9	4.3 ± 0.5	30.9 ± 1.7	2.2 ± 0.3	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	7.5 ± 1.6	0.7 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0
					344 ± 1.8	2.7 ± 0.3	9.2 ± 1.0	20.7 ± 0.7	1.9 ± 0.1	58.1 ± 1.5	2.1 ± 0.5	3.8 ± 0.3	9.0 ± 0.4	9.4 ± 0.6	2.8 ± 0.7	24.2 ± 0.7	1.7 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	16.8 ± 0.8	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.1	1.1 ± 0.2	0.2 ± 0.1
Control	—	4	1,64 ± 0.13	1.95 ± 0.32	27 ± 0.8	6.4 ± 1.1	19.5 ± 1.4	2.2 ± 0.6	57.8 ± 3.8	1.2 ± 0.4	2.7 ± 0.3	9.8 ± 1.3	9.1 ± 0.4	3.1 ± 0.2	3.1 ± 0.6	3.0 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	9.9 ± 1.6	0.6 ± 0.1	0.2 ± 0.1	1.1 ± 0.2	0.2 ± 0.0		
					312 ± 5.8	2.1 ± 0.6	7.7 ± 2.1	19.0 ± 8.0	1.4 ± 0.2	52.5 ± 3.8	2.0 ± 0.6	2.6 ± 0.7	8.8 ± 0.9	2.6 ± 0.3	25.6 ± 4.7	2.2 ± 0.6	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	18.9 ± 2.2	0.9 ± 0.3	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.3 ± 0.2	
					277 ± 1.6	1.5 ± 0.6	6.0 ± 0.6	18.7 ± 0.5	1.6 ± 0.5	58.4 ± 1.1	1.9 ± 0.3	2.7 ± 0.6	9.4 ± 0.7	3.9 ± 0.6	3.6 ± 1.6	27.6 ± 1.6	3.6 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	10.2 ± 1.3	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	
					300 ± 2.8	2.4 ± 0.3	4.8 ± 0.7	20.9 ± 2.1	2.0 ± 0.2	59.1 ± 1.8	1.6 ± 0.1	2.7 ± 0.8	11.0 ± 1.0	2.7 ± 0.6	2.8 ± 0.5	28.2 ± 2.6	2.8 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.1	9.0 ± 1.3	0.7 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0	
					298 ± 7.5	1.9 ± 0.5	8.9 ± 2.6	17.4 ± 4.3	1.6 ± 0.7	56.5 ± 3.5	1.7 ± 0.8	3.1 ± 0.3	8.5 ± 0.3	8.7 ± 0.4	3.0 ± 0.2	30.4 ± 2.0	1.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	12.0 ± 0.9	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.2 ± 0.1	
6315-S	250	4	1,86 ± 0.09	1.85 ± 0.29	2.8 ± 0.4	1.1 ± 0.4	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2	58.1 ± 1.5	2.1 ± 0.5	3.8 ± 0.3	9.0 ± 0.4	9.4 ± 0.6	2.8 ± 0.7	1.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0	16.8 ± 0.8	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.0	1.1 ± 0.2	0.2 ± 0.1				
6315-S	500	4	1,73 ± 0.04	2.17 ± 0.16	1.5 ± 0.6	1.8 ± 0.6	1.6 ± 0.5	58.4 ± 1.1	1.9 ± 0.3	2.7 ± 0.6	9.4 ± 0.7	3.9 ± 0.6	3.6 ± 1.6	27.6 ± 1.6	3.6 ± 0.2	0.1 ± 0.0	10.2 ± 1.3	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0				
6315-S	1,000	4	1,85 ± 0.18	3.00 ± 1.57	1.9 ± 0.5	2.6 ± 0.5	1.6 ± 0.7	56.5 ± 3.5	1.7 ± 0.8	3.1 ± 0.3	8.5 ± 0.3	8.7 ± 0.4	3.0 ± 0.2	30.4 ± 2.0	1.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0	12.0 ± 0.9	0.5 ± 0.2	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2	0.2 ± 0.1				

a) Mean ± S.E. Statistically significant against control. * P<0.05

Table 13 Plasma components in male beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	T. Prot- (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Haptog- lobin ^b (mg/dl)	Creati- nine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	Choles- terol (mg/dl)	Phosph- olipid (mg/dl)	Trigly- ceride (mg/dl)	T. Bili- rubin (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Chloride (mEq/L)	Ca (mg/dl)	Mg (mg/dl)	Po (μg/dl)
3 days before dosage																						
Control	—	4	111 ^{a)} ± 3	5.7 ± 0.1	1.2 ± 0.1	208 ± 14	0.58 ± 0.08	14 ± 8	48 ± 12	86 ± 10	86 ± 10	45 ± 2	184 ± 4	288 ± 8	98 ± 4	0.80 ± 0.02	164 ± 1	4.6 ± 0.1	118 ± 1	12.2 ± 0.4	2.1 ± 0.0	152 ± 12
6315-S	250	4	117 ± 4	5.6 ± 0.1	1.1 ± 0.1	200 ± 17	0.65 ± 0.05	14 ± 1	88 ± 4	88 ± 9	88 ± 6	54 ± 6	138 ± 13	258 ± 8	40 ± 8	0.80 ± 0.02	148 ± 2	4.5 ± 0.1	114 ± 1	10.7 [*] ± 0.2	1.9 ± 0.1	228 [*] ± 23
6315-S	500	4	117 ± 4	5.6 ± 0.1	1.2 ± 0.0	179 ± 8	0.58 ± 0.08	15 ± 1	87 ± 8	87 ± 8	87 ± 5	82 [*] ± 5	146 ± 12	294 ± 8	88 ± 9	0.80 ± 0.02	140 ^{mm} ± 6	4.4 ± 0.1	114 ± 1	10.7 [*] ± 0.2	1.9 [*] ± 0.1	179 ± 4
6315-S	1,000	4	117 ± 2	5.7 ± 0.1	1.2 ± 0.1	192 ± 10	0.70 ± 0.04	13 ± 0	37 ± 2	88 ± 4	88 ± 5	58 ± 5	156 ± 25	306 ± 36	34 ± 5	0.80 ± 0.02	146 ± 4	4.4 ± 0.1	115 ± 1	11.6 ± 0.8	1.9 ± 0.1	184 ± 17
CEZ	1,000	4	122 ± 8	5.6 ± 0.1	1.2 ± 0.1	190 ± 13	0.68 ± 0.08	14 ± 2	38 ± 8	98 ± 6	98 ± 2	48 ± 2	151 ± 11	279 ± 16	30 ± 6	0.80 ± 0.02	189 ^{mm} ± 2	4.1 ^{mm} ± 0.0	115 ± 9	10.5 ^{mm} ± 0.2	1.8 ^{mm} ± 0.0	154 ± 12
Day 17 of dosage period																						
Control	—	4	115 ± 4	5.7 ± 0.1	1.1 ± 0.0	219 ± 24	0.78 ± 0.08	18 ± 1	39 ± 2	47 ± 10	76 ± 9	58 ± 6	181 ± 1	254 ± 2	45 ± 5	0.80 ± 0.02	147 ± 3	4.7 ± 0.1	118 ± 1	11.1 ± 0.3	2.0 ± 0.0	195 ± 15
6315-S	250	4	108 ± 2	5.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	195 [*] ± 13	0.68 ± 0.06	14 ± 1	37 ± 4	21 ± 5	100 ± 5	64 ± 2	165 ± 18	320 ± 29	58 ± 4	0.18 ± 0.03	148 ± 2	4.7 ± 0.1	112 ± 1	11.4 ± 0.3	2.1 ± 0.1	268 [*] ± 13
6315-S	500	4	112 ± 3	6.1 [*] ± 0.1	1.1 ± 0.0	102 [*] ± 27	0.70 ± 0.00	14 ± 0	37 ± 1	22 ± 9	101 ± 6	48 ± 9	187 [*] ± 8	356 [*] ± 20	64 [*] ± 5	0.15 ± 0.03	150 ± 1	4.6 ± 0.0	112 ± 1	12.0 ± 0.2	2.1 ± 0.0	259 [*] ± 13
6315-S	1,000	4	111 ± 2	6.0 [*] ± 0.1	1.0 ± 0.0	146 ± 20	0.68 [*] ± 0.08	13 ± 0	37 ± 8	41 ± 9	92 ± 7	55 ± 4	178 ± 19	365 ± 48	69 [*] ± 7	0.30 ± 0.00	147 ± 1	4.5 ± 0.1	113 ± 1	12.1 [*] ± 0.2	2.1 ± 0.0	244 ± 36
CEZ	1,000	4	131 ± 6	6.3 ± 0.2	1.1 ± 0.0	273 ± 63	0.75 ± 0.08	15 ± 1	37 ± 1	93 ± 10	93 ± 8	61 ± 8	177 ± 18	346 [*] ± 24	69 ± 8	0.80 ± 0.02	152 ± 3	4.3 [*] ± 0.1	115 ± 2	11.8 ± 0.4	2.2 ± 0.1	242 ± 15
Day 29 of dosage period																						
Control	—	4	114 ± 2	5.8 ± 0.1	1.1 ± 0.0	209 ± 14	0.72 ± 0.08	13 ± 1	41 ± 12	58 ± 13	76 ± 10	55 ± 5	125 ± 4	265 ± 9	48 ± 1	0.80 ± 0.02	148 ± 2	4.7 ± 0.1	113 ± 1	11.1 ± 0.1	2.1 ± 0.0	179 ± 30
6315-S	250	4	108 ± 4	5.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	187 [*] ± 15	0.65 ± 0.05	12 ± 2	38 ± 6	22 [*] ± 6	104 ± 8	58 ± 6	166 ± 20	224 ± 36	54 ± 10	0.13 ± 0.03	152 ± 2	4.7 ± 0.0	111 ± 1	11.5 ± 0.2	2.1 ± 0.1	259 ± 35
6315-S	500	4	112 ± 1	6.2 [*] ± 0.1	1.1 ± 0.0	146 ± 25	0.65 ± 0.08	13 ± 1	42 ± 4	22 ± 8	107 [*] ± 8	48 ± 1	175 ^{mm} ± 9	369 [*] ± 30	58 ± 9	0.13 ± 0.03	153 [*] ± 1	4.7 ± 0.1	111 ± 0	12.0 [*] ± 0.2	2.1 ± 0.0	269 ± 47
6315-S	1,000	4	112 ± 2	6.2 [*] ± 0.1	0.9 [*] ± 0.1	191 ± 49	0.65 ± 0.08	12 ± 0	45 ± 6	57 ± 12	94 ± 10	56 ± 8	186 ± 22	366 ± 41	67 ± 9	0.13 ± 0.02	154 [*] ± 1	4.6 ± 0.1	113 ± 1	12.0 ^{mm} ± 0.2	2.1 ± 0.0	215 ± 29
CEZ	1,000	4	128 [*] ± 3	6.4 [*] ± 0.1	1.1 ± 0.0	190 ± 31	0.68 ± 0.08	12 ± 1	38 ± 2	88 ± 0	89 ± 9	49 ± 2	161 [*] ± 11	329 ± 30	55 ± 6	0.80 ± 0.02	155 ^{mm} ± 1	4.5 ± 0.1	118 ± 0.2	11.2 ± 0.2	2.2 ± 0.1	198 ± 13

a) Mean ± S.E.
 b) Statistically significant against control, * P<0.05. ** P<0.01
 c) Serum concentration

Table 14 Plasma components in female beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Glucose (mg/dl)	T. Prot- ein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Haptag-Creati- tohain ^{b)} (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	ALP (U/L)	LDH (U/L)	Choles- terol (mg/dl)	Phosph- orolipid (mg/dl)	Trigly- ceride (mg/dl)	T. Bili- rubin (mg/dl)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Calcium (mEq/L)	Ca (mg/dl)	Mg (mg/dl)	Fe (μg/dl)
3 days before dosage																						
Control	—	4	118 ^{a)} ± 2	5.6 ± 0.2	3.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	176 ± 4	0.60 ± 0.04	14 ± 3	37 ± 5	48 ± 9	42 ± 3	139 ± 13	269 ± 23	31 ± 4	0.20 ± 0.03	149 ± 3	4.5 ± 0.1	112 ± 2	11.5 ± 0.4	2.0 ± 0.0	166 ± 14
6315-S	250	4	120 ± 8	5.7 ± 0.2	3.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1	180 ± 25	0.73 ± 0.05	15 ± 1	36 ± 8	113 ± 8	50 ± 5	148 ± 22	238 ± 42	27 ± 5	0.20 ± 0.03	142 ± 3	4.4 ± 0.1	112 ± 1	10.9 ± 0.2	1.9 ± 0.1	165 ± 13
6315-S	500	4	128 ± 2	5.5 ± 0.1	3.2 ± 0.0	1.4 ± 0.0	168 ± 15	0.73 ± 0.03	18 ± 1	38 ± 6	84 ± 6	65 ± 6	135 ± 8	270 ± 18	24 ± 3	0.20 ± 0.03	141 ± 3	4.2 ± 0.1	112 ± 1	10.8 ± 0.3	1.9 ± 0.1	187 ± 20
6315-S	1,000	4	115 ± 2	6.0 ± 0.1	3.2 ± 0.0	1.1 ± 0.0	120 ± 20	0.70 ± 0.04	15 ± 2	40 ± 8	91 ± 14	56 ± 8	164 ± 14	380 ± 21	28 ± 5	0.20 ± 0.03	145 ± 3	4.3 ± 0.1	114 ± 1	11.2 ± 0.3	1.9 ± 0.1	177 ± 15
CEZ	1,000	4	118 ± 2	5.6 ± 0.1	3.1 ± 0.0	1.3 ± 0.1	173 ± 11	0.75 ± 0.08	15 ± 0	28 ± 6	89 ± 2	55 ± 4	137 ± 19	274 ± 34	20 ± 3	0.20 ± 0.03	141 ± 1	4.0 ^{***} ± 0.1	116 ± 0	10.7 ± 0.1	1.9 ± 0.1	177 ± 21
Day 17 of dosage period																						
Control	—	4	113 ± 2	5.9 ± 0.2	3.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	159 ± 3	0.75 ± 0.03	15 ± 4	48 ± 2	92 ± 11	49 ± 5	148 ± 11	285 ± 25	50 ± 3	0.20 ± 0.03	148 ± 2	4.8 ± 0.2	112 ± 2	11.7 ± 0.3	2.1 ± 0.0	209 ± 16
6315-S	250	4	112 ± 8	6.1 ± 0.1	3.3 ± 0.0	1.2 ± 0.0	97 ± 36	0.78 ± 0.08	14 ± 0	35 ± 5	127 ± 9	46 ± 7	160 ± 26	380 ± 55	48 ± 5	0.18 ± 0.03	146 ± 1	4.7 ± 0.1	111 ± 1	11.9 ± 0.2	2.0 ± 0.0	206 ± 31
6315-S	500	4	115 ± 2	5.9 ± 0.2	3.2 ± 0.0	1.2 ± 0.0	94 ± 21	0.70 ± 0.00	14 ± 2	38 ± 7	100 ± 7	54 ± 2	155 ± 13	309 ± 23	58 ± 4	0.15 ± 0.03	149 ± 1	4.5 [*] ± 0.1	112 ± 1	12.1 ± 0.1	2.0 ± 0.0	241 ± 39
6315-S	1,000	4	109 ± 8	6.4 ± 0.1	3.3 ± 0.0	1.0 ± 0.0	96 ± 22	0.68 ± 0.08	14 ± 2	39 ± 10	119 ± 20	50 ± 2	196 ± 10	412 ^{**} ± 28	58 ± 4	0.20 ± 0.03	147 ± 1	4.8 [*] ± 0.1	112 ± 1	12.2 ± 0.3	2.1 ± 0.1	253 ± 13
CEZ	1,000	4	128 ± 6	6.2 ± 0.1	3.5 ± 0.0	1.8 ± 0.0	145 ± 14	0.70 ± 0.00	14 ± 2	0 ^{***} ± 0	94 ± 8	68 ± 2	145 ± 25	307 ± 56	58 ± 4	0.20 ± 0.03	147 ± 3	4.6 ^{**} ± 0.2	116 ± 1	11.6 ± 0.4	2.2 ± 0.1	253 ± 27
Day 29 of dosage period																						
Control	—	4	116 ± 1	5.9 ± 0.2	3.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	146 ± 10	0.75 ± 0.08	14 ± 2	45 ± 12	86 ± 12	47 ± 3	138 ± 13	297 ± 22	44 ± 6	0.20 ± 0.03	151 ± 1	4.9 ± 0.1	110 ± 2	11.7 ± 0.1	2.2 ± 0.0	188 ± 12
6315-S	250	4	116 ± 2	6.1 ± 0.1	3.2 ± 0.0	1.1 ± 0.0	138 ± 29	0.68 ± 0.03	14 ± 0	36 ± 8	129 ± 10	50 ± 2	165 ± 26	339 ± 45	36 ± 6	0.10 ^{***} ± 0.03	150 ± 1	4.7 ± 0.1	111 ± 1	11.8 ± 0.2	2.1 ± 0.0	237 ± 17
6315-S	500	4	116 ± 1	6.1 ± 0.1	3.1 ± 0.0	1.1 ± 0.0	164 ± 31	0.66 ± 0.01	14 ± 0	60 ± 9	98 ± 6	57 ± 2	167 ± 17	337 ± 38	41 ± 7	0.10 ^{***} ± 0.03	151 ± 1	4.8 ± 0.1	111 ± 1	11.8 ± 0.3	2.0 ^{***} ± 0.0	260 ± 22
6315-S	1,000	4	108 ^{***} ± 8	6.6 ± 0.1	3.3 ± 0.0	1.0 ± 0.0	120 ± 28	0.63 ± 0.08	18 ± 2	20 ± 10	128 ± 20	47 ± 4	318 ^{***} ± 9	417 ^{***} ± 19	52 ± 6	0.10 ^{***} ± 0.03	151 ± 1	4.5 [*] ± 0.1	109 ± 1	12.3 ± 0.2	2.2 ± 0.1	289 ± 19
CEZ	1,000	4	122 ± 4	6.5 ± 0.1	3.4 ± 0.1	1.1 ± 0.1	236 ± 51	0.68 ± 0.11	28 ± 2	0 ^{***} ± 0	89 ± 7	81 ± 1	153 ± 23	288 ± 46	68 ± 6	0.15 ± 0.03	164 ± 3	4.1 ^{***} ± 0.2	113 ± 0.1	11.2 ± 0.1	2.3 ± 0.1	189 ± 18

a) Mean ± S.E. b) Statistically significant against control. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

Table 15 Urinary examination in male beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Specific gravity	pH	Protein ± + + <	Glucose ± ≤	Keton bodies ± ≤	Bilirubin ± ≤	Occult blood ± ≤	Urobilinogen ± + + <	Sediment		
											WBC ± + + <	RBC ± + <	Epi/thelium ± + + <
4 days before dosage													
Control	—	4	1.023 ^{a)} ±0.004	7.1 ±0.4	2 0 0	0	0	0	0	8 1 0	1 8 0	0 0	8 0 0
6315-S	250	4	1.025 ±0.002	6.9 ±0.8	1 0 0	0	0	0	0	8 1 0	1 1 1	0 0	1 0 1
6315-S	500	4	1.028 ±0.002	6.8 ±0.2	2 0 0	0	0	0	0	8 1 0	8 0 1	0 0	8 1 0
6315-S	1,000	4	1.027 ±0.004	7.0 ±0.4	8 0 0	0	0	0	0	4 0 0	2 0 2	0 0	4 0 0
CEZ	1,000	4	1.080 ±0.000	6.8 ±0.0	1 0 0	0	0	0	0	8 1 0	1 1 2	0 0	4 0 0
Day 15 of dosage period													
Control	—	4	1.023 ±0.008	7.1 ±0.4	2 2 0	0	0	0	0	8 1 0	1 1 0	0 0	1 0 0
6315-S	250	4	1.023 ±0.008	7.1 ±0.5	2 1 0	0	0	0	0	4 0 0	0 4 0	0 0	4 0 0
6315-S	500	4	1.023 ±0.001	6.5 ±0.2	8 1 0	0	0	0	0	4 0 0	0 8 1	0 0	8 0 0
6315-S	1,000	4	1.080 ±0.000	6.8 ±0.1	2 1 0	0	0	0	0	4 0 0	0 1 3	0 0	8 1 0
CEZ	1,000	4	1.028 ±0.003	6.7 ±0.1	8 1 0	0	0	0	0	4 0 0	0 2 1	0 0	2 1 0
Day 25 of dosage period													
Control	—	4	1.025 ±0.002	7.1 ±0.4	8 0 0	0	0	0	0	8 1 0	1 2 0	0 0	8 0 0
6315-S	250	4	1.027 ±0.002	6.6 ±0.4	4 0 0	0	0	0	0	8 1 0	8 0 1	0 0	2 1 0
6315-S	500	4	1.030 ±0.000	6.2 ±0.0	4 0 0	0	0	0	0	8 1 0	1 0 2	0 0	2 1 0
6315-S	1,000	4	1.027 ±0.002	6.4 ±0.2	8 0 0	0	0	0	0	4 0 0	2 0 2	0 0	0 0 8
CEZ	1,000	4	1.026 ±0.002	6.8 ±0.3	4 0 0	0	0	0	0	4 0 0	8 1 0	0 0	2 0 0

Abnormal crystals and casts were not found in the sediment of all dogs.

a) Mean ± S. E.

b) No. of dogs with the indicated finding

ΔP-450, 7-メトキシマリン脱メチル化酵素および7-プロポキシマリン脱プロピル化酵素活性の軽度低下が用量依存性をもってみられ、雄では大部分の用量群で統計学的に有意であった。CEZ 群では、ほぼ同様の変化がみられたほか、7-エトキシマリン脱エチル化酵素, low Km アルデヒド脱水素酵素および GPT の活性低下も認められた (Table 17)。

11) 血漿中濃度

6315-S および CEZ 投与群の投与初日, 16 および 28 日目の各検体投与後の血漿中濃度は、いずれも良好な用量-濃度相関を示した。いずれの群も、血漿中濃度の蓄積傾向は認められず、投与 24 時間後には、検出限界以下の濃度となった (Table 18)。

12) 器官重量

6315-S 投与群において用量依存性のある肝臓重量の増加がみられた。腎臓重量も増加したが、用量依存性は不明瞭であった。CEZ 投与群にも同様の傾向がみられ、さらに顎下腺重量の増加も認められた (Table 19, 20)。

13) 剖検時肉眼所見および病理組織学的検査

剖検時の肉眼所見では、すべての投与群に検体投与に関係すると思われる明らかな変化は認められなかった。

組織学的には、対照群も含めた全例の投与局所に皮下出血と軽度の炎症性反応が認められた (Photo. 2)。この他、一部の例に心臓の炎症性細胞浸潤 (6315-S 500 mg/kg 投与群雌 1 例, 1,000 mg/kg 投与群雄 1 例) および石灰化 (6315-S 1,000 mg/kg 投与群雌 1 例)

Table 18 Urinary examination in female beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Specific gravity	pH	Protein ± + + <	Glucose ± ≤	Keton bodies ± ≤	Bilirubin ± ≤	Occult blood ± ≤	Urobilinogen ± + + <	Sediment		
											WBC ± + + <	RBC ± + <	Epithelium ± + + <
4 days before dosage													
Control	—	4	1.028 ^{a)} ±0.008	6.8 ±0.2	1 0 0	0	0	0	0	3 1 0	0 2 2	0 0	2 1 0
6315-S	250	4	1.081 ±0.001	6.5 ±0.1	1 0 0	0	0	0	0	2 2 0	0 1 3	0 0	3 1 0
6315-S	500	4	1.081 ±0.001	6.4 ±0.1	2 0 0	0	0	0	0	3 1 0	1 1 2	0 0	2 1 1
6315-S	1,000	4	1.028 ±0.008	7.0 ±0.4	0 0 0	0	0	0	0	3 1 0	0 0 4	0 0	1 2 1
CEZ	1,000	4	1.022 ±0.004	7.1 ±0.5	1 0 0	0	0	0	0	3 1 0	1 0 2	0 0	2 1 0
Day 15 of dosage period													
Control	—	4	1.080 ±0.000	6.5 ±0.2	2 0 0	0	0	0	0	4 0 0	0 0 3	0 0	1 1 0
6315-S	250	4	1.027 ±0.002	6.8 ±0.0	1 1 0	0	0	0	0	4 0 0	0 0 3	0 0	1 2 0
6315-S	500	4	1.080 ±0.000	6.4 ±0.0	4 0 0	0	0	0	0	3 1 0	0 1 2	0 0	2 1 0
6315-S	1,000	4	1.020 ±0.008	7.5 ±0.5	1 2 0	0	0	0	0	4 0 0	0 0 3	0 0	1 0 2
CEZ	1,000	4	1.028 ±0.002	6.6 ±0.0	2 0 0	0	0	0	0	4 0 0	0 1 2	0 0	2 1 0
Day 25 of dosage period													
Control	—	4	1.028 ±0.002	6.7 ±0.2	2 0 0	0	0	0	0	2 2 0	0 0 4	0 0	2 2 0
6315-S	250	4	1.080 ±0.000	6.4 ±0.0	3 0 0	0	0	0	0	3 1 0	1 0 3	0 0	3 0 1
6315-S	500	4	1.080 ±0.000	6.2 ±0.0	3 0 0	0	0	0	0	4 0 0	1 0 2	1 0	3 1 0
6315-S	1,000	4	1.027 ±0.002	6.7 ±0.4	4 0 0	0	0	0	0	4 0 0	0 0 4	1 0	4 0 0
CEZ	1,000	4	1.020 ±0.002	6.5 ±0.1	2 0 0	0	0	0	0	4 0 0	0 1 3	1 0	3 1 0

Abnormal crystals and casts were not found in the sediment of all dogs.

a) Mean ± S. E.

b) No. of dogs with the indicated finding

Photo. 3) が、また、大腿直筋の炎症性反応 (6315-S 1,000 mg/kg 投与群雌雄各 1 例, CEZ 投与群雌 1 例 Photo. 4) が認められた (Table 21)。

肝臓と腎臓の電顕観察では、6315-S 1,000 mg/kg 投与群および CEZ 投与群において、対照群に対して差のある変化は認められなかった。

Ⅲ. 考 察

1. 急性毒性試験

6315-S 1,250 mg/kg, 2,500 mg/kg および 5,000 mg/kg を 1 回静脈内投与したところ、投与中あるいは投与直後に流涎、脱糞のほか、2,500 mg/kg 以上で嘔吐がみられた。5,000 mg/kg 投与群の 3 例全例が排尿

し、うち 2 例に尿蛋白陽性反応、1 例に血尿、2,500 mg/kg 投与群の一部にも尿潜血陽性反応を認めた。組織学的検査により血尿の原因は、膀胱粘膜からの出血によるものと思われた。死亡例はなく、投与後 2 週までの観察では著変を認めなかった。

対照薬 CEZ 1,250 mg/kg および 2,500 mg/kg でも類似した所見を 6315-S 投与群に比して著明に認めたが、さらに 2,500 mg/kg 投与群の 2/3 例に、血性吐物、痙攣を認め、うち 1 例が死亡した。

同様な所見は他の oxacephem 系および cephem 系の抗生剤をイヌに大量静脈内投与した場合によくみられる変化であり⁸⁻¹²⁾、6315-S 投与による特異的障害は認められなかった。

Table 17 Hepatic components in beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Liver weight (g)	Protein (mg/g)	GOT (mU/mg)	GPT (mU/mg)	Choles-terol (mg/g)	Phosph-olipid (mg/g)	Trigly-ceride (mg/g)	Cytochrome P-450 (n mol/g)	7-Methoxy-7-Ethoxy-7-Propoxy-coumarin O-demethylase (n mol/min/g)		ALDH ^{a)}		
											Low-km	High-km	Low-km	High-km	
Male															
Control	—	4	265.8 ^{b)} ± 10.9	216 ± 3	217 ± 7	91 ± 16	225 ± 0.05	80.8 ± 1.0	1.8 ± 0.1	19.8 ± 1.8	41.6 ± 2.2	88.2 ± 6.7	17.6 ± 1.7	7.01 ± 0.57	16.71 ± 1.86
6315-S	250	4	291.9 ± 26.3	211 ± 5	224 ± 6	50 ± 8	2.07 ± 0.10	27.1* ± 0.6	2.5 ± 0.5	17.1 ± 2.8	30.4** ± 1.8	67.1* ± 8.8	12.0* ± 1.2	N. E. ^{c)}	N. E.
6315-S	500	4	312.3* ± 10.3	212 ± 4	228 ± 4	50 ± 16	1.97* ± 0.07	27.0* ± 0.5	2.4 ± 0.3	14.3* ± 0.9	29.8** ± 2.0	71.1 ± 4.8	12.0* ± 1.1	N. E.	N. E.
6315-S	1000	4	326.3* ± 17.7	205* ± 3	227 ± 7	84 ± 4	2.02* ± 0.07	27.5 ± 1.0	2.2 ± 0.4	11.6* ± 1.8	27.3** ± 2.3	72.1 ± 8.2	11.0* ± 1.3	7.24 ± 0.75	17.59 ± 1.47
CEZ	1000	4	318.6** ± 7.2	209 ± 3	198 ± 8	18* ± 2	2.21 ± 0.18	28.9 ± 1.0	2.4 ± 0.6	16.0 ± 0.9	32.7* ± 1.6	64.1* ± 8.0	11.0* ± 0.9	3.32** ± 0.35	14.64 ± 1.30
Female															
Control	—	4	248.5 ± 14.2	212 ± 4	202 ± 9	87 ± 13	2.08 ± 0.13	26.2 ± 1.6	1.7 ± 0.2	16.9 ± 1.0	40.8 ± 5.0	91.0 ± 13.8	16.7 ± 2.4	7.08 ± 0.21	14.53 ± 1.32
6315-S	250	4	273.6 ± 14.2	212 ± 1	237* ± 4	74 ± 3	1.97 ± 0.06	28.6 ± 0.4	2.4 ± 0.3	17.0 ± 0.9	38.9 ± 2.3	92.2 ± 2.9	16.4 ± 1.2	N. E.	N. E.
6315-S	500	4	295.9 ± 18.2	210 ± 1	217 ± 5	75 ± 13	2.03 ± 0.06	26.7 ± 0.9	1.5 ± 0.1	14.4 ± 0.8	35.1 ± 4.0	89.5 ± 11.3	16.0 ± 2.2	N. E.	N. E.
6315-S	1000	4	332.8* ± 23.2	214 ± 5	238** ± 4	75 ± 4	1.95 ± 0.16	24.8 ± 0.9	2.3* ± 0.2	14.5 ± 1.3	30.8 ± 2.7	82.2 ± 6.1	13.1 ± 1.2	6.95 ± 0.29	15.25 ± 0.36
CEZ	1000	4	289.5* ± 7.0	207 ± 1	188 ± 5	17* ± 2	2.07 ± 0.06	28.2 ± 0.8	2.0 ± 0.2	13.2 ± 1.4	32.7 ± 1.1	66.8 ± 1.9	12.5 ± 0.5	3.15** ± 0.14	13.67 ± 2.16

a) ALDH: aldehyde dehydrogenase

b) Mean ± S. E.

* Statistically significant against control, *P<0.05. **P<0.01

c) N. E.: not examined

Table 18 Plasma levels in beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Plasma levels ($\mu\text{g/ml}$)											
			Day 0				Day 16				Day 28			
			1	6	24(hours)		1	6	24(hours)		1	6	24(hours)	
Male														
6315-S	250	4	328 ^{a)} ± 259	512 ± 151	<0.2	216 ± 136	259 ± 0.80	<0.2	283 ± 305	274 ± 0.86	<0.2	283 ± 305	274 ± 0.86	<0.2
6315-S	500	4	715 ± 88.5	728 ± 0.64	<0.2	527 ± 261	497 ± 1.15	<0.2	611 ± 363	360 ± 0.46	<0.2	611 ± 363	360 ± 0.46	<0.2
6315-S	1,000	4	1710 ± 794	1580 ± 8.56	<0.2	1800 ± 731	758 ± 2.41	<0.2	1110 ± 930	683 ± 222	<0.2	1110 ± 930	683 ± 222	<0.2
C E Z	1,000	4	1810 ± 101.9	6257 ± 14.39	<1.0	1480 ± 497	2288 ± 2.81	<1.0	1450 ± 457	1905 ± 278	<1.0	1450 ± 457	1905 ± 278	<1.0
Female														
6315-S	250	4	846 ± 154	505 ± 1.55	<0.2	255 ± 11.6	216 ± 0.61	<0.2	249 ± 94	233 ± 0.86	<0.2	249 ± 94	233 ± 0.86	<0.2
6315-S	500	4	704 ± 187	850 ± 0.98	<0.2	588 ± 894	278 ± 0.40	<0.2	550 ± 186	351 ± 1.14	<0.2	550 ± 186	351 ± 1.14	<0.2
6315-S	1,000	4	1870 ± 116.0	1125 ± 1.19	<0.2	1180 ± 663	398 ± 0.19	<0.2	1080 ± 692	400 ± 0.48	<0.2	1080 ± 692	400 ± 0.48	<0.2
C E Z	1,000	4	1980 ± 87.67	8888 ± 4.55	<1.0	1680 ± 467	1185 ± 0.97	<1.0	1360 ± 240	817 ± 126	<1.0	1360 ± 240	817 ± 126	<1.0

a) Mean \pm S. E.

Table 19 Organ weights in male beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No. of dogs	Fin. BW (kg)	Absolute organ weights											Eye (g)	U. Bladder (g)			
				Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Submax (g)	Thymus (mg)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Brain (mg)			Adrenal (mg)	Testis (g)	Prostate (g)
Control	—	4	8.5 ^{a)} ± 0.2	61.0 ± 1.8	65.1 ± 5.1	85.4 ± 1.8	265.8 ± 10.9	22.9 ± 3.0	14.5 ± 0.8	7.7 ± 0.2	9.4 ± 1.7	75.4 ± 3.9	57 ± 6	74.9 ± 2.0	79.9 ± 6.6	7.7 ± 1.1	2.1 ± 0.6	10.8 ± 0.1	4.1 ± 0.1
6315-S	250	4	8.6 ± 0.3	60.1 ± 3.3	61.1 ± 2.9	41.5 ± 3.9	291.9 ± 26.8	19.4 ± 2.1	16.5 ± 2.0	8.6 ± 0.5	9.9 ± 1.9	74.8 ± 2.8	52 ± 1	77.0 ± 8.0	66.1 ± 2.8	10.5 ± 2.9	1.6 ± 0.1	11.1 ± 0.4	4.0 ± 0.2
6315-S	500	4	8.5 ± 0.3	60.4 ± 3.8	58.6 ± 1.2	40.2 ± 2.2	312.8* ± 10.8	32.4 ± 9.9	14.4 ± 1.0	8.3 ± 0.3	10.6 ± 1.3	75.8 ± 11.5	54 ± 2	78.6 ± 1.4	74.0 ± 1.8	9.6 ± 1.2	1.9 ± 0.7	10.6 ± 0.2	3.7 ± 0.2
6315-S	1,000	4	8.4 ± 0.2	64.0 ± 2.5	61.8 ± 3.0	42.7 ± 2.5	326.3* ± 14.7	22.8 ± 2.1	18.5 ± 1.7	8.6 ± 0.6	6.2 ± 1.1	84 ± 3	68 ± 8	80.9 ± 1.3	78.1 ± 4.4	9.3 ± 1.0	2.2 ± 1.0	10.6 ± 0.2	4.4 ^{ab} ± 0.1
CEZ	1,000	4	8.5 ± 0.1	60.9 ± 3.2	58.9 ± 2.9	40.7 ± 2.2	318.6** ± 7.2	28.7 ± 2.1	16.2 ± 0.4	10.0 ± 1.0	7.3 ± 1.5	86.5 ± 9.8	54 ± 4	75.4 ± 2.3	75.4 ± 3.8	9.4 ± 0.9	2.1 ± 0.9	10.4* ± 0.1	3.8 ± 0.5
				Relative organ weights (per kg body weight)															
Control	—	4		7.2 ± 0.2	7.7 ± 0.4	4.8 ± 0.1	31.4 ± 0.6	2.7 ± 0.3	1.7 ± 0.1	0.91 ± 0.01	1.11 ± 0.20	8.9 ± 0.5	6.7 ± 0.5	8.9 ± 0.2	9.4 ± 0.6	0.92 ± 0.16	0.26 ± 0.08	1.28 ± 0.03	0.48 ± 0.01
6315	250	4		7.0 ± 0.3	7.1 ± 0.1	4.9 ± 0.6	38.7 ± 2.0	2.2 ± 0.2	1.9 ± 0.2	1.00 ± 0.07	1.18 ± 0.27	8.7 ± 3	6.0 ± 0.3	9.0 ± 0.3	7.7 ± 4	1.19 ± 0.30	0.19 ± 0.01	1.30 ± 0.04	0.47 ± 0.02
6315	500	4		7.1 ± 0.3	6.9 ± 0.2	4.7* ± 0.1	35.9** ± 0.7	3.9 ± 1.3	1.7 ± 0.1	0.98 ± 0.11	1.24 ± 0.12	8.9 ± 1.2	6.4 ± 0.3	9.3 ± 0.2	8.7 ± 1	1.14 ± 0.16	0.28 ± 0.08	1.25 ± 0.04	0.44 ± 0.02
6315	1,000	4		7.6 ± 0.1	7.4 ± 0.4	5.1 ± 0.4	39.0 ± 3.2	2.7 ± 0.3	2.2 ± 0.3	1.08 ± 0.07	0.74 ± 0.14	9.8 ± 2	8.1 ± 0.5	9.6 ± 0.4	9.8 ± 4	1.10 ± 0.10	0.26 ± 0.11	1.26 ± 0.08	0.58 ± 0.02
CEZ	1,000	4		7.2 ± 0.3	7.0 ± 0.3	4.8 ± 0.2	37.7** ± 1.4	3.4 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.18 ± 0.11	0.85 ± 0.17	10.3 ± 1.3	6.8 ± 0.5	8.9 ± 0.3	8.9 ± 6	1.11 ± 0.11	0.25 ± 0.10	1.23 ± 0.02	0.44 ± 0.05

a) Mean ± S. E. Statistically significant against control, * P<0.05, ** P<0.01

Table 20 Organ weights in female beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Drug	Dose (mg/kg)	No of dogs	Fin. BW (kg)	Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Submax (g)	Thymus (g)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Brain (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)	Uterus (g)	Eye (g)	U. Bladder (g)
Absolute organ weights																			
Control	—	4	8.1 ^{a)} ± 0.3	61.0 ± 2.8	54.2 ± 4.4	32.6 ± 0.9	248.5 ± 14.2	24.1 ± 2.5	18.9 ± 0.8	8.0 ± 0.3	5.2 ± 2.0	676 ± 95	59 ± 6	77.3 ± 2.3	724 ± 35	620 ± 57	1.2 ± 0.2	10.4 ± 0.2	2.6 ± 0.3
6315-S	250	4	7.9 ± 0.3	55.5 ± 1.5	57.0 ± 2.5	35.6 ± 1.1	273.6 ± 14.2	21.2 ± 2.5	12.6 ± 0.8	7.9 ± 0.3	8.6 ± 1.7	700 ± 75	52 ± 8	73.0 ± 0.9	756 ± 36	451 ± 35	1.0 ± 0.2	10.3 ± 0.2	3.2 ± 0.2
6315-S	500	4	7.9 ± 0.2	56.6 ± 3.0	59.8 ± 3.2	36.6 ± 0.2	295.9 ± 18.2	23.8 ± 0.8	13.9 ± 0.8	7.4 ± 0.2	7.5 ± 1.5	774 ± 63	68 ± 5	74.9 ± 2.9	711 ± 38	585 ± 35	1.5 ± 0.5	10.5 ± 0.1	3.0 ± 0.2
6315-S	1,000	4	8.0 ± 0.4	56.6 ± 3.1	55.7 ± 3.4	36.7 ± 2.5	332.8 ± 28.2	25.8 ± 3.2	17.5 ± 1.9	8.3 ± 0.1	6.1 ± 0.7	736 ± 56	51 ± 6	75.1 ± 1.7	744 ± 94	511 ± 31	1.1 ± 0.3	10.2 ± 0.3	3.6 ± 0.3
CEZ	1,000	4	8.0 ± 0.2	58.2 ± 3.3	58.4 ± 0.9	38.5 ± 0.8	289.5 ± 7.0	25.0 ± 0.6	14.1 ± 0.5	9.5 ± 0.4	4.8 ± 1.7	906 ± 45	56 ± 3	70.9 ± 1.9	826 ± 81	528 ± 48	2.3 ± 0.4	10.3 ± 0.2	3.3 ± 0.2
Relative organ weights (per kg body weight)																			
Control	—	4		7.6 ± 0.2	6.7 ± 0.4	4.1 ± 0.1	30.9 ± 1.8	3.0 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.00 ± 0.05	0.68 ± 0.23	84 ± 11	7.3 ± 0.6	9.6 ± 0.5	91 ± 7	77 ± 5	0.15 ± 0.02	1.29 ± 0.03	0.45 ± 0.02
6315-S	250	4		7.1 ± 0.3	7.2 ± 0.3	4.5 ± 0.2	34.6 ± 0.5	2.7 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.00 ± 0.03	1.07 ± 0.19	88 ± 7	6.5 ± 0.7	9.3 ± 0.4	97 ± 9	58 ± 8	0.12 ± 0.03	1.30 ± 0.04	0.42 ± 0.02
6315-S	500	4		7.2 ± 0.3	7.6 ± 0.3	4.7 ± 0.1	37.9 ± 2.5	3.9 ± 1.2	1.8 ± 0.1	0.95 ± 0.02	0.96 ± 0.20	99 ± 10	8.0 ± 0.6	9.5 ± 0.3	90 ± 3	68 ± 6	0.19 ± 0.06	1.33 ± 0.02	0.38 ± 0.02
6315-S	1,000	4		7.1 ± 0.3	7.0 ± 0.2	4.6 ± 0.2	41.8 ± 1.1	3.1 ± 0.2	2.2 ± 0.1	1.05 ± 0.05	0.78 ± 0.12	98 ± 6	6.3 ± 0.6	9.5 ± 0.5	92 ± 7	64 ± 0	0.13 ± 0.03	1.29 ± 0.05	0.46 ± 0.04
CEZ	1,000	4		7.8 ± 0.3	7.8 ± 0.2	4.8 ± 0.1	36.8 ± 0.9	3.1 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.19 ± 0.03	0.61 ± 0.22	114 ± 7	7.0 ± 0.4	8.9 ± 0.2	104 ± 13	66 ± 6	0.30 ± 0.06	1.29 ± 0.04	0.41 ± 0.02

a) Mean ± S.E.
 * Statistically significant against control, * P < 0.05, ** P < 0.01

Photo. 2 Hemorrhage and hyperplasia of the connective tissue in the injection site of a female dog receiving daily 1,000 mg/kg of 6315-S for one month.

H.E. ×20

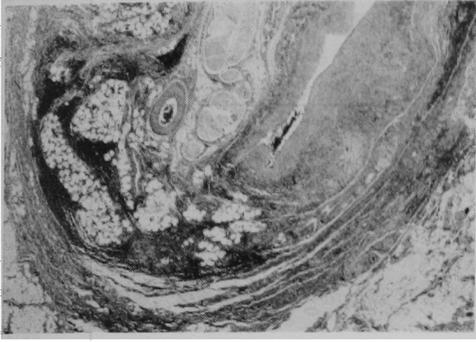


Photo. 4 Inflammatory cells infiltration in the m. rectus femoris of a male dog receiving daily 1,000 mg/kg of 6315-S for one month.

H.E. ×200



Photo. 3 Calcification in the subendocardium of a female dog receiving daily 1,000 mg/kg of 6315-S for one month.

Kossa's method ×100



以上の成績から、6315-Sの急性毒性はCEZに比して弱く、最大耐量は5,000 mg/kg以上と推定された。

2. 亜急性毒性試験

6315-S 250 mg/kg, 500 mg/kg および 1,000 mg/kg を1か月間静脈内投与した。6315-S投与後30分以内に嘔吐がみられ、その回数は用量依存性であったが、投与回数が増すにつれ漸減した。対照薬CEZ 1,000 mg/kg投与群では、全期間を通じて、嘔吐、流涎、脱糞がみられ、症状は漸次強くなる傾向がみられた。体重、摂餌量、眼および聴覚検査、心電図検査には、6315-S投

与による変化は認められなかった。投与初日、6および28日目の投与後の6315-Sの血漿中濃度は良好な用量-濃度相関を示したが、24時間後の測定で検出限界以下となり、連続投与による蓄積傾向は認められなかった。血液学的検査項目では、各群の平均値に生理的変動範囲を越える変化はみられなかった。しかし、6315-S 500 mg/kg以上投与群のごく少数例に、血小板数の減少あるいは全血凝固時間の延長を示す例が認められた。CEZ投与群にも全血凝固時間の延長を示す例がみられた。少数例にのみみられる同様の変化は、イヌを用いた他の抗生剤の毒性試験でも散見された^{8, 11, 12)}。

骨髄の検査では6315-S投与による変化を認めなかった。CEZ投与群では、1例にのみ成熟好中球比の著増によるM/E比の高値が認められた。血液生化学検査では、6315-S 500 mg/kg以上の群で、コレステロール、リン脂質およびトリグリセリドの増加が認められたが、CEZ投与群でも同様であった。他にCEZ投与群では、GPT活性の著減がみられた。肝臓成分の検査では、肝臓単位重量当りの薬物代謝酵素活性の軽度低下が6315-S, CEZ両検体投与群にみられたが、肝臓全体としては、これら酵素活性は対照群と差がなかった。6315-S最高投与量である1,000 mg/kg投与群でアルデヒド脱水素酵素活性の阻害はみられず、6315-Sによるdisulfiram様作用はほとんどないものと推察された。CEZ投与群では、動物実験上disulfiram様作用として判定されない程度⁶⁾のlow Kmアルデヒド脱水素酵素活性の低下がみられた。6315-S 500 mg/kg以

Table 21 Histological findings in beagle dogs administered 6315-S intravenously for one month

Findings	Drug	Control	6315-S	6315-S	6315-S	6315-S	CEZ
	Dose (mg/kg)	—	250	500	1,000	1,000	1,000
	Sex	M F	M F	M F	M F	M F	M F
No. of dogs	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4
Heart							
mononuclear cells aggregation	0 ^{a)} 0	0 0	0 0	0 1	1 0	0 0	0 0
Calcification	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 0	0 0
Striated muscle (m. rectus femoris)							
mononuclear cells aggregation	0 0	0 0	0 0	0 0	1 1	0 0	0 0
granuloma	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1
Liver							
Single cell necrosis	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	1 1	1 1
Small intestine							
hyperemia of mucosa	0 1	0 2	0 0	0 0	0 1	0 0	0 0
Bone marrow							
increase of granulopoiesis	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1
Injection site							
hemorrhage and/or inflammatory cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4
infiltration in subcutis							
granuloma	0 0	1 0	0 0	0 0	0 0	1 0	1 0
edema in subcutis	0 0	0 0	0 0	0 1	0 0	0 0	0 0

a) Number of dogs with findings

No abnormal findings were found in other organs

上およびCEZ投与群に肝臓および腎臓の重量増加が認められたが、光顕的および電顕的検査では、投与局所の障害以外に検体投与に関連した変化はみられず、肝臓重量の増加は検体の大量投与によって生じた肝臓単位重量当りの機能低下に対する代償性変化と推察される。腎臓重量の増加は、薬物排泄機能亢進によるものと推察される。他に、CEZ投与群で認められた顎下腺重量の増加は、検体投与の際の著明な流涎に対応するものと考えられた。なお、6315-S 500 mg/kg および 1,000 mg/kg, CEZ投与群の少数例で心臓あるいは骨格筋に炎症性細胞浸潤や石灰化が認められたが、正常ビーグル犬でときどき経験する変化であることから、偶発的所見と判断した。

以上の結果から、6315-Sのイヌにおける1カ月間連日静脈内投与時の最大無影響量は250 mg/kg日と推定された。

(試験実施期間：急性毒性試験 1982年12月～1983年5月；亜急性毒性試験 1983年2月～11月)

文 献

- 1) 村岡義博, 矢原 功, 渡辺 弘, 松井信志, 西部泰弘, 中野 瞭, 花房友行, 松原尚志, 吉崎敏夫, 原田喜男: Oxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef)のラットにおける急性ならびに1ヵ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 35 (S-1): 207~225, 1987
- 2) 村岡義博, 矢原 功, 西部泰弘, 中野 瞭, 東山昇, 花房友行, 渡辺 弘, 吉崎敏夫, 小林文彦, 原田喜男: 6315-Sのラットにおける3ヵ月亜急性毒性試験。塩野義製薬株式会社 社内資料
- 3) 小林文彦, 矢原 功, 村岡義博, 吉崎敏夫, 原田喜男: Oxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef)のラットにおける6ヵ月慢性毒性試験。Chemotherapy 35 (S-1): 270~291, 1987
- 4) MATSUBARA, T.; M. KOIKE, A. TOUCHI, Y. TOCHIINO & K. SUGENO: Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. Anal. Biochem. 75: 596~603, 1976
- 5) MATSUBARA, T.; S. OTSUBO, E. YOSHIIHARA & A. TOUCHI: Biotransformation of coumarin derivatives (2) Oxidative metabolism of 7-alkoxycoumarin by microsomal enzymes and a simple assay procedure for 7-alkoxycoumarin O-dealkylase. Jpn. J. Pharmacol. 33: 41~56, 1983
- 6) 松原尚志, 大坪 龍, 小川文子: ラットのアルコール代謝系に対するOxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef)の影響。Chemotherapy 35 (S-1): 460~469, 1987
- 7) 木村靖雄, 中清水 弘, 中野雅夫, 大坪 龍, 松原尚志, 吉田 正: Oxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef)の各種動物における体内動態。Chemotherapy 35 (S-1): 161~175, 1987
- 8) 小林文彦, 松浦 稔, 長谷川紀昭, 吉崎敏夫, 原田喜男: 6059-Sのイヌにおける亜急性毒性試験。Chemotherapy 28(Suppl.7):1029~1071, 1980
- 9) 村岡義博, 奈良 博, 吉崎敏夫, 原田喜男: Latamoxefのビーグル犬における慢性毒性試験。Jpn. J. Antibiotic. 35 (1): 222~239, 1982
- 10) 渡辺信夫, 岩波黄登, 藤井登志之: Cefazolin sodiumの毒性および胎児への影響。Chemotherapy 18 (5): 528~543, 1970
- 11) 斉藤知一, 鈴木 弘, 吉田俊夫, 堺 俊治, 尾崎浩: Cefotetan disodiumのビーグル犬における静脈内投与5週間毒性試験。基礎と臨床16(1): 15~38, 1982
- 12) 斉藤知一, 鈴木 弘, 吉田俊夫, 尾崎 浩, 三木寿雄, 塩原有一: Cefpiramide (SM-1652)のビーグル犬における静脈内投与6週間毒性試験。基礎と臨床17 (1): 7~31, 1983

INTRAVENOUS ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY OF 6315-S (FLOMOXEF) IN BEAGLES

HIROSHI NARA, HIDEO TAKESUE, HIROSHI WATANABE, SEIJI SATOH,
YASUHIRO NISHIBE, KUMIKO TESHIMA, YOSHIHIRO MURAOKA, TOSHIO YOSHIZAKI,
MOTOHIKO UEDA, TADASHI YOSHIDA, TAKASHI MATSUBARA and YOSHIO HARADA
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.

Intravenous acute and subacute toxicity studies of 6315-S (flomoxef), a new oxacephem antibiotic, were conducted in beagles.

Acute toxicity study : Dogs received as a single i. v. infusion 1,250 mg/kg, 2,500 mg/kg or 5,000 mg/kg, of 6315-S or 1,250 mg/kg, or 2,500 mg/kg of CEZ as a reference compound. They tolerated 6315-S up to 5,000 mg/kg, while one of three dogs died after administration of 2,500 mg/kg of CEZ. Toxic signs were salivation, vomiting and defecation during and immediately after infusion of 6315-S or CEZ, these signs being more prominent in the CEZ-treated dogs. An other finding was hematuria, which was observed in the dogs treated with 2,500 mg/kg or more of 6315-S.

Subacute toxicity study : Dogs received 0 (saline), 250 mg/kg, 500 mg/kg or 1,000 mg/kg of 6315-S, or 1,000 mg/kg of CEZ i. v. for one month. All dogs tolerated treatment with both substances. Salivation, vomiting and defecation were observed in those receiving 1,000 mg/kg of 6315-S or CEZ.

Hematological examination revealed a decrease in platelet count and prolonged clotting time in a few dogs receiving more than 500 mg/kg of 6315-S or 1,000 mg/kg of CEZ, but the changes were slight and dose-unrelated. The main histological finding was inflammatory reaction at the injection site of all dogs, including the saline-treated group.

The results showed that the maximum tolerated dose of 6315-S in the acute toxicity study was more than 5,000 mg/kg and the maximum no-effect dose in the one-month toxicity study was 250 mg/kg/day.