

7432-S およびその trans 体のラット、イヌにおける急性毒性試験

小林文彦・矢原 功・小川幹男
 東山 昇・村岡義博・古川 仁
 奈良 博・吉田 正・吉崎敏夫
 塩野義製薬株式会社研究所*

経口用セフェム系抗生物質である 7432-S の急性毒性をラットおよびイヌで検討した。又、7432-S の Na 塩 (7432-S · Na) およびその trans 体の比率が高い 7432-S-trans · Na の急性毒性を併せ検討した。

1. 7432-S は技術的な投与限界量である 10 g/kg をラットに経口投与しても、軽度の不活発、脱力、軟便や下痢、盲腸拡張による腹部の膨満がみられたのみで、中毒死例は発生しなかった。器官の障害もみられず "Practically nontoxic" な薬物に分類された。

2. ラットへの 7432-S-trans · Na の経口投与では 7432-S と同様 10 g/kg でも致死例は発生せず、軟便・下痢から正常便への回復は早かった。7432-S · Na の経口投与時の LD₅₀ 値は雄が約 10 g/kg、雌が 8.3 g/kg であり、毒性は雌雄ともに極めて弱かった。

3. 7432-S-trans · Na, 7432-S · Na のラットの静脈内投与時の毒性は、投与直後の強直性痙攣、諸器官における出血、腹水・胸水の増量、蒼白腎、病理組織学的に尿管拡張、肝小葉中心性の壊死など、急性循環障害やショックによると思われる所見がみられ、これらの変化は大量の高張液投与によると考えられた。生死は投与後 30 分以内に決定され、LD₅₀ 値は 7432-S-trans · Na では雄が 4.0 g/kg、雌が 4.5 g/kg、7432-S-Na では雄が 3.3 g/kg、雌が 3.6 g/kg であった。

4. 7432-S の 2.5 および 5.0 g/kg を雌雄のビーグル犬に 1 回経口投与したところ、投与後 24 時間まで嘔吐、下痢などがみられたのみで、他の諸検査では本剤に起因すると考えられる変化は全くみられなかった。従ってビーグル犬でも 7432-S の毒性は極めて弱く、その最大耐量は 5 g/kg 以上と推定された。

Key words : 7432-S, Acute toxicity, Rat, Dog, Cefitibuten

7432-S は塩野義製薬研究所で新しく合成された経口用セフェム系抗生物質で、広範囲のグラム陰性菌および一部のグラム陽性菌に抗菌スペクトルを有する。今回、7432-S の安全性評価の一環として、ラットおよびイヌに 1 回大量経口投与した時の毒性を検討した。

7432-S は cis 体であり、室温、密栓、遮光下での安定性は良好であるが、経口投与後血中で trans 体が徐々に増加することから、ラットを用いた実験では trans 体の毒性も検討した。しかし、化合物としては 7432-S の trans 体のみは得られないため cis 体を約 20% 含む trans rich 体 (7432-S-trans) について調べた。7432-S-trans は腸管から殆ど吸収されないため、Na 塩 (7432-S-trans · Na) として静脈内投与し、比較のため 7432-S の Na 塩 (7432-S · Na) も合成して静脈内投与による検討を行った。この 7432-S-trans ·

Na 及び 7432-S · Na については経口投与による急性毒性試験も行い、7432-S の毒性と比較した。

実験はいずれも塩野義製薬研究所神崎川分室で行い、ラットを用いる実験は昭和 59 年 9 月より昭和 62 年 2 月にかけて、イヌを用いる実験は昭和 59 年 9 月より昭和 62 年 3 月にかけて行った。

I. 実験材料および方法

1. ラットを用いた実験

1) 実験動物および飼育条件

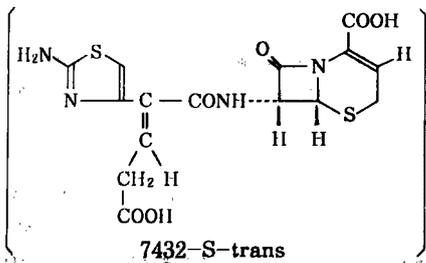
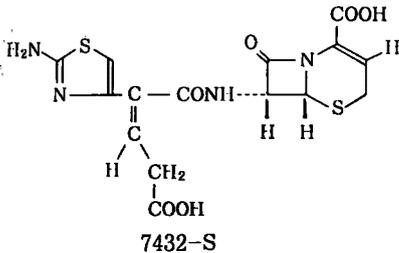
Sprague-Dawley 系雌雄ラット (Jcl : SD, 日本クレア) を 4 週齢で購入したのち、検疫、馴化期間を経て 6 週齢で投与に供した。

動物はプラスチックケージ (262 × 425 × 150 mm, 日本クレア) あたり 2 匹ずつ収容し、室温 23 ± 1℃、

相対湿度 55±10%, 新鮮空気による 15 回/時換気, 午前 8 時から 12 時間照明に設定されたバリア飼育室で維持した。餌は固型飼料 (CA-1, 日本クレア) をオートクレーブ処理して, 飲水は豊中市上水を二重濾過後, 流水殺菌燈照射して与えた。投与前 16~20 時間絶食させ, 投与 2~3 時間後に再給餌したほかは, これら餌および水は自由摂取とした。検体投与時の動物の体重範囲は, 雄が 130~171 g, 雌が 108~141 g であった。

2) 検体および調製法

7432-S は下記構造式で示される淡黄白色の結晶性粉末である。本試験には lot No. 48801 (力価: 838.7 μg/mg) を用い, 5% アラビアゴム水溶液 (アラビアゴム: 関東化学, Test No. 905H5124) を媒体として, 25% (w/v) 懸濁液を用時調整した。



(6R,7R)-7-[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-4-carboxy-2-butenoylamino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4, 2, 0]oct-2-ene-2-carboxylic acid

7432-S-trans · Na (lot No. 50304, 力価: 678.4 μg/mg, trans/cis 比; 78.55/21.45) および 7432-S · Na (lot No. 50914, 力価: 800.3 μg/mg) は生理食塩液 (大塚製薬) で 25% (w/v) 溶液を用時調製した。

3) 実験群の構成および投与方法

雌雄とも 1 群 8 匹とし, 検体投与前に体重別層化無作為抽出法により群分けして Table 1 に示した如く各検体当り 2~4 群を設置した。

経口投与の場合は, 金属製胃ゾンデを用いて, 2.38~4.77 ml/100 g 体重の容量範囲で胃内に 1 回投与した。

静脈内投与の場合には 1/3 静注針を装着した注射筒を用いて 1.2~2 ml/100 g 体重の容量範囲で尾静脈より 5 ml/分の速度で 1 回投与した。

4) 観察および検査項目

(1) 一般状態

投与当日は投与後少なくとも 7 時間観察を続け, 翌日からは 1 日 1 回, 15 日間 (7432-S 投与群) あるいは, 14 日間 (7432-S-trans · Na および 7432-S · Na 投与群) 観察した。

(2) 体重測定

投与日と投与後 3, 7 および 14 日目に生存例の体重を測定し, 平均値を算出した。

(3) LD₅₀ 値

BLISS 法により算出した。

(4) 剖検および病理組織学的検査

死亡例はそのつど, 生存例は投与後 14 日目あるいは 15 日目に屠殺して, 全例について諸器官・組織を肉眼的に観察した。

中毒死例, 生存例とも代表例より主要器官・組織と消化管, 肉眼的異常部位, 静脈内投与例ではさらに尾の投与局所を採取し, 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定したのち, 常法に従ってパラフィン切片を作製, H-E 染色を施して光顕的に観察した。

2. イヌを用いた実験

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雌雄ビーグル犬各 4 頭を使用した。受け入れ検査後約 2 週間の予備飼育, さらに 12 日間の馴化飼育の後, 8.0~9.0 ヶ月齢で投与に供した。検体投与時の体重は 7.7~8.6 kg であった。動物は, 全実験期間中, ラットと同じ環境条件に設定された飼育室で, ステンレス製代謝ケージ (68×80×90 cm) に個体別に収容した。給餌は 1 日 1 回, 午前中とし, 1 頭あたり 180 g の固型飼料 (DS, オリエンタル酵母) を与え, 飲水は豊中市上水を濾過して自動給水装置で自由摂取させた。

2) 検体および調整法

7432-S は lot No. 48801 (力価: 838.7 μg/mg) を使用した。投与に際し, 5% アラビアゴム水溶液を媒体として 25% (w/v) 懸濁液を用時調製, 投与検体とした。

3) 投与量および投与方法

7432-S の投与は, ヒトの予定適用経路に合わせ, 経口投与とした。投与量設定のために行った予備試験で, 7432-S の 25% (w/v) 懸濁液を 1 頭ずつのイヌに 2500 および 5000 mg/kg 1 回経口投与したところ, 2500 mg/kg では水様便, 5000 mg/kg では嘔吐と水様便がみら

れたのみであった。そこで、イメへの投与可能限界量である 5000 mg/kg を高用量とし、その半量の 2500 mg/kg の 2 用量を設定した。投与前日の夕刻から絶食した 1 群雌雄各 2 頭からなる 2 群の動物に、ネラトンカテテル（出雲ゴム）を用いて午前 10 時までには検体を 1 回強制投与した。

4) 検査項目

(1) 一般状態

観察は全期間を通じて少なくとも 1 日 1 回行い、投与当日は投与後 8 時間観察を続けた。

(2) 体重

投与 8 日前、4 日前、投与日、投与後 3、6、9、12 および 14 日目に測定した。

(3) 摂餌量

投与 11 日前から毎日測定した。

(4) 聴覚検査

投与 4 日前および投与後 10 日目に Preyer 反射による聴覚検査を行った。

(5) 眼検査

投与 4 日前および投与後 10 日目に、スリットランプ (SL-2, 興和) による眼検査を行い、その後散瞳剤 (Mydrin-P®, 参天製薬) を点眼し、眼底カメラ (RC-2, 興和) により眼底検査を行った。

(6) 血液学的検査

投与 4 日前、投与後 3 および 13 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、MCV、MCH、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、活性化部分トロンボプラスチン時間（以上 2 項目、COAG-A-MATE・X2, Warner-Lambert）を測定した。

(7) 血液生化学検査

血液学的検査実施日に、前肢静脈よりヘパリン加注射筒で採血、分離した血漿について、Technicon Auto Analyzer SMA PLUSMICRO system を用いて下記の項目を測定した。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（JAFFÉ 法）、総ビリルビン（JENDRASSIK-GROF 法）、GPT (UV 法)、GOT (UV 法)、LDH (UV 法)、ALP (BESSEY-LOWRY 法)、総コレステロール（LIEBERMAN-BURCHARD 法）、および塩素（チオシアン酸第二水銀法）。

(8) 血中濃度

投与後 1、3 および 24 時間目に前肢静脈よりヘパリン加注射筒で採血、分離した血漿について、*E. coli* 7437 を検定菌とする Band-culture 法により 7432-S の血中濃度を測定した。

(9) 器官重量および病理学的検査

投与後 14 日目に、ペントバルビタールナトリウム (Somnopentyl®, Pitman-Moore) 麻酔下で頸動脈より放血致死させ、解剖した。主要器官について肉眼的観察を行った後、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮について重量を測定した。また、これらの器官・組織に加えて、副腎、膀胱、精巣上体、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、胆のう、腸間膜リンパ節、胸骨、眼球を採取し、10% 中性緩衝ホルマリン液で固定、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリン混合液固定し、常法に従いパラフィン切片を作製、H-E 染色および必要例には、鉄染色（ベルリン青法）も併用して、光顕的に観察した。

II. 実験成績

1. ラットを用いた実験

1) 経口投与

(1) LD₅₀ 値 (Table 1)

7432-S および 7432-S-trans・Na とともに 10 g/kg の用量を経口投与しても中毒死例は発生しなかった。7432-S・Na の LD₅₀ 値は、雄が約 10 g/kg、雌が約 8.3 g/kg と推定され、前 2 者より幾分毒性が強かった。

(2) 中毒症状および死亡経過

① 7432-S 投与群

投与後 20~30 分頃より不活発な例が発現し始め、徐々にうずくまり姿勢となって、軽度の呼吸抑制、立毛、眼瞼下垂などが加わった。投与後 7 時間頃にも軽度ながら立毛、不活発な例がみられ、翌日には腹部がやや膨満して軟便や下痢が観察された。投与後 2 日目以降、上記抑制症状は消退したが、軟便は投与後 6~9 日目まで続いた。雌雄とも中毒死例は発生せず、5000 及び 10000 mg/kg 投与群間に一般状態の質的差異もなく、順調な体重増加がみられた。また、性差は殆どなかった。

② 7432-S-trans・Na 投与群

投与後 30 分頃より不活発な例がみられ始めた。7692 mg/kg 以上の投与群では投与後 4 時間頃より水様便の排泄や脱力が観察され、5917 mg/kg 投与群でも投与翌日に軟便がみられた。抑制症状はいずれの群とも投与翌日には回復し、便の状態も投与 3 日後までに回復したが、腹部の膨満は投与後 10 日頃までみられた。雌雄とも 7432-S と同様、10 g/kg 投与でも中毒死例は発生せず、

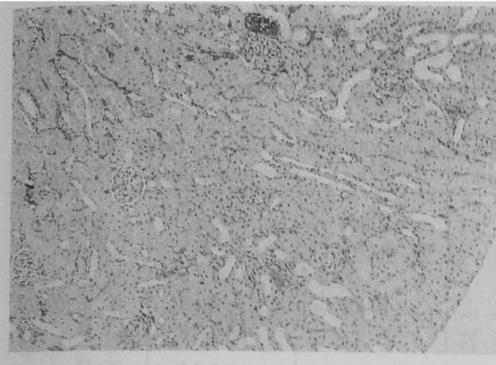


Fig. 1. Kidney of dead female rat given orally 10,000 mg/kg of 7432-S·Na. Slight tubular dilatation in cortex is seen. H-E, $\times 112$

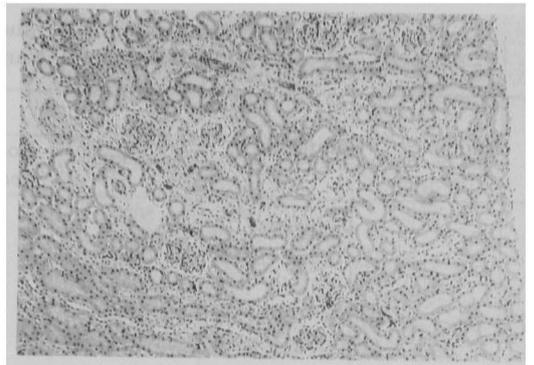


Fig. 4. Kidney of dead male rat given intravenously 5000 mg/kg of 7432-S·Na. Tubular dilatation and slight necrotic changes of tubular epithelia are observed. H-E, $\times 112$

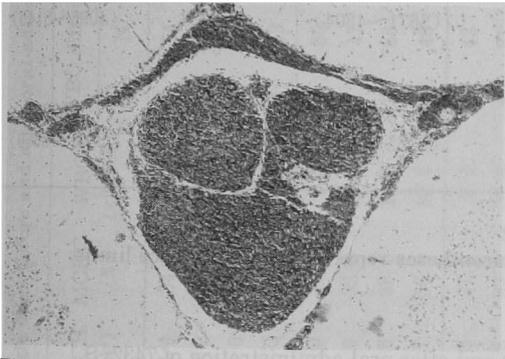


Fig. 2. Cerebrum of dead male rat given intravenously 3473 mg/kg of 7432-S-trans. Hemorrhage in the third ventricle is noted. H-E, $\times 112$

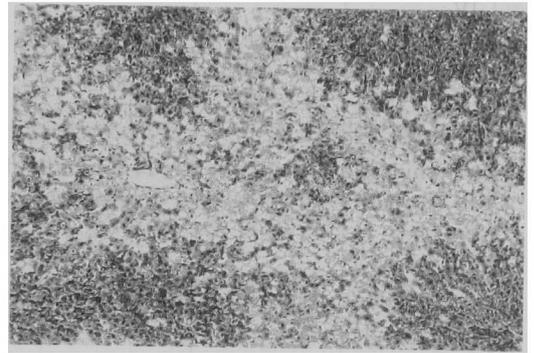


Fig. 5. Liver of dead female rat given intravenously 5000 mg/kg of 7432-S·Na. Intensive congestion and vacuolization to necrotic changes in centrilobular hepatocytes are seen. H-E, $\times 112$

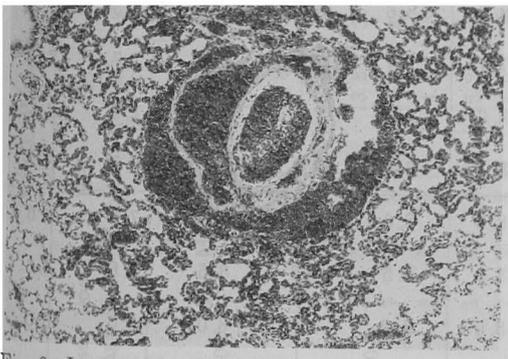


Fig. 3. Lung of dead male rat given intravenously 2894 mg/kg of 7432-S·Na. Marked perivascular hemorrhage is noted. Slight intraalveolar hemorrhage is also seen. H-E, $\times 112$

生存例は順調な体重増加を示した。

③7432-S·Na 投与群

投与後 30 分頃より不活発となり, 7432-S-trans·Na 投与群と同様, 水様便の排泄, 四肢の脱力などがみられた。投与後 4~5 時間頃より体温低下やチアノーゼなどが用量に依って認められた。中毒死例は投与後 8 時間以降, 2 日目までに発生し, 強直性および間代性痙攣を示す例もあった。生存例では投与翌日から全群で腹部の膨満がみられ, 解剖時まで続いたが, 便状態は投与後 3 日目までに正常となり, 順調に体重増加した。

(3)剖検および病理組織学的所見

死亡例のみられなかった 7432-S および 7432-S-

Table 1. Mortality and LD₅₀ values in rats after a single administration of 7432-S, 7432-S-trans or 7432-S · Na

Route	Compound	Dose (mg/kg)	Male		Female	
			No. of rats ^{a)} dead/used	LD ₅₀ values ^{b)} (mg/kg)	No. of rats dead/used	LD ₅₀ values (mg/kg)
PO	7432-S	5000	0/8		0/8	
		10000	0/8	> 10000	0/8	> 10000
	7432-S-trans · Na	5917	0/8		0/8	
		7692	0/8	> 10000	0/8	> 10000
		10000	0/8		0/8	
		5917	0/8		0/8	
	7432-S · Na	7692	0/8	10000(ca.)	2/8	8332
		10000	4/8		8/8	(7554~9194)
IV	7432-S-trans · Na	2894	0/8		0/8	
		3473	1/8	3977	0/8	4469
		4167	5/8	(3671~4304)	3/8	(4096~5145)
		5000	8/8		6/8	
	7432-S · Na	2894	3/8		0/8	
		3473	3/8	3301	3/8	3636
		4167	8/8	(2525~3751)	7/8	(3361~3956)
		5000	8/8		8/8	

a) Cumulative mortality during 14 days after dosing

b) LD₅₀ values were calculated by Bliss method. Parentheses represent 95% confidence limits.

Table 2. Body weights of beagle dogs before and after oral administration of 7432-S

Compound	Dose (mg/kg)	Dog No.	Sex	Day of experiment							
				Day-8	Day-4	Day 0	Day 3	Day 6	Day 9	Day 12	Day 14
7432-S	2500	1	M	8.6 ^{a)}	8.6	8.6	8.6	8.5	8.4	8.3	8.3
		2	M	7.7	7.8	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7
		3	F	8.0	7.9	8.0	7.9	7.8	7.8	7.9	7.8
		4	F	8.2	8.1	8.1	8.1	8.0	8.1	8.2	8.2
	5000	5	M	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.9	7.9	8.0
		6	M	8.6	8.6	8.5	8.5	8.6	8.6	8.6	8.6
		7	F	8.1	8.1	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
		8	F	7.6	7.6	7.7	7.5	7.6	7.6	7.6	7.6

a) kg

7432-S was orally administered on Day 0 of experiment

Table 3. Hematological data of beagle dogs before and after oral administration of 7432-S

Day of experiment	Dose (mg/kg)	Dog No.	Sex	RBC ($\times 10^9/\text{cmm}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	WBC ($\times 10^9/\text{cmm}$)	WBC differential (%)				Platelet ($\times 10^9/\text{cmm}$)	Clotting time (min)	Prothrombin time (sec)	APTT (sec)
											E	N	L	M				
Day-4																		
		1	M	6.19	14.4	41.9	68	23.4	34.6	10.0	15	54	30	1	23.8	9.5	6.7	12.9
	2500	2	M	5.81	13.4	39.7	68	23.2	34.0	7.7	5	55	39	1	26.8	10.5	6.9	10.9
		3	F	5.74	13.1	38.8	68	23.0	34.1	9.4	15	62	21	2	22.9	9.0	6.4	12.0
		4	F	5.77	13.8	38.2	66	24.0	36.3	9.2	14	63	23	0	27.7	9.5	6.7	13.3
		5	M	5.68	13.6	38.6	68	24.0	35.4	9.5	7	60	31	2	22.0	9.5	6.9	11.0
	5000	6	M	5.81	13.8	38.7	67	23.9	35.8	10.8	11	47	40	2	27.2	9.0	6.7	11.4
		7	F	6.62	16.3	42.4	64	24.8	38.6	10.3	3	66	30	1	18.8	9.0	6.5	11.9
		8	F	6.08	14.3	39.0	64	23.7	36.9	10.5	14	48	36	2	17.1	9.0	6.5	11.4
Day 3																		
		1	M	6.22	15.2	41.2	66	24.5	37.0	9.6	11	43	43	3	24.1	9.5	6.5	13.3
	2500	2	M	5.68	14.0	37.1	65	24.8	37.8	7.9	4	61	34	1	29.8	9.0	6.0	11.5
		3	F	6.32	14.9	41.9	66	23.8	35.9	8.8	14	48	34	4	24.0	11.0	6.2	11.4
		4	F	6.15	14.3	40.3	66	23.4	35.7	7.7	22	56	20	2	28.2	10.0	6.2	13.7
		5	M	5.99	14.1	39.4	66	23.7	36.1	9.3	4	47	46	3	20.1	10.5	6.4	10.4
	5000	6	M	5.92	13.8	38.5	65	23.4	36.0	9.5	6	56	36	2	28.2	9.5	6.2	11.8
		7	F	6.44	15.2	42.1	65	23.7	36.3	7.9	14	49	37	0	26.6	11.0	6.0	11.6
		8	F	6.58	14.5	40.9	62	22.2	35.7	10.5	17	53	29	1	14.4	9.5	5.8	11.0
Day 13																		
		1	M	5.95	15.5	40.7	69	26.3	38.4	7.7	4	47	48	1	26.5	10.5	6.9	12.0
	2500	2	M	5.77	14.4	39.7	69	25.1	36.5	7.4	3	51	44	2	25.2	10.0	6.8	11.0
		3	F	6.15	14.9	41.8	68	24.3	35.8	7.8	18	53	28	1	14.0	10.0	6.6	12.1
		4	F	5.82	14.4	39.3	68	24.9	36.9	8.3	12	56	32	0	24.4	10.5	6.8	15.0
		5	M	5.81	15.1	40.4	70	26.1	37.6	9.3	15	65	18	2	22.0	10.0	6.9	12.4
	5000	6	M	5.73	14.3	39.4	69	25.0	36.4	10.9	11	44	43	2	27.2	9.5	6.6	12.7
		7	F	5.74	13.8	40.7	71	24.2	36.3	9.1	8	48	43	1	24.7	9.5	6.6	12.2
		8	F	6.16	14.5	40.1	65	23.6	36.3	11.7	13	58	29	0	21.7	10.0	6.4	12.0

7432-S was orally administered on Day 0 of experiment

Table 4. Blood biochemical analysis of beagle dogs before and after oral administration of 7432-S

Day of experiment	Dose (mg/kg)	Dog No.	Sex	Glucose (mg/dl)	T. Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Creatinine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	ALP (mU/ml)	LDH (mU/ml)	Choles-terol (mg/dl)	T. Bilirubin (mg/dl)	Cl ⁻ (mEq/l)
Day-4	2500	1	M	108	6.1	3.0	1.0	0.9	12	32	37	109	83	116	0.2	114
		2	M	99	6.1	2.9	0.9	0.7	11	42	46	57	72	118	0.3	112
		3	F	102	5.4	3.1	1.3	0.8	13	39	54	51	59	103	0.2	118
		4	F	96	5.7	3.1	1.2	1.0	14	38	44	39	37	122	0.2	118
Day-4	5000	5	M	99	6.4	3.1	0.9	0.8	11	40	50	88	89	115	0.2	116
		6	M	108	6.0	2.9	0.9	1.0	14	30	39	62	65	130	0.2	118
		7	F	97	6.3	3.3	1.1	0.9	15	40	45	54	61	108	0.2	118
		8	F	96	5.9	2.8	0.9	0.9	15	44	42	38	73	115	0.2	120
Day 3	2500	1	M	119	6.4	3.1	0.9	0.9	12	37	39	121	91	117	0.2	118
		2	M	122	6.4	3.0	0.9	0.7	10	47	58	59	78	126	0.2	118
		3	F	110	5.9	3.2	1.2	0.8	13	40	69	54	63	104	0.2	117
		4	F	117	5.6	3.1	1.2	0.9	14	39	43	42	57	118	0.2	118
Day 3	5000	5	M	113	6.5	3.0	0.9	0.8	14	46	47	85	78	113	0.2	116
		6	M	123	6.2	3.0	0.9	0.9	13	30	45	61	66	128	0.2	117
		7	F	108	6.5	3.3	1.0	0.9	13	39	53	62	64	108	0.2	114
		8	F	115	6.0	2.8	0.9	0.9	16	47	45	38	76	121	0.2	119
Day 13	2500	1	M	128	6.5	3.1	0.9	0.9	17	39	47	121	90	135	0.2	119
		2	M	115	6.4	3.0	0.9	0.7	11	46	66	57	73	115	0.3	118
		3	F	110	6.2	3.4	1.2	0.9	15	39	60	48	71	105	0.2	118
		4	F	113	5.7	3.2	1.3	1.0	17	40	45	37	60	110	0.2	120
Day 13	5000	5	M	115	6.5	3.1	0.9	0.9	17	47	58	83	76	117	0.3	117
		6	M	120	6.2	3.0	0.9	1.0	14	34	42	60	67	129	0.2	118
		7	F	104	6.4	3.4	1.1	0.9	16	43	50	48	60	102	0.3	119
		8	F	118	5.8	2.8	0.9	0.9	16	45	45	31	83	118	0.3	120

7432-S was orally administered on Day 0 of experiment

Table 5. Blood levels of 7432-S after a single oral administration in dogs

Compound	Dose (mg/kg)	Dog No.	Sex	Hours after administration		
				1	3	24
7432-S	2500	1	M	224 ^{a)}	336	13.5
		2	M	204	171	2.8
		3	F	257	256	4.1
		4	F	390	383	42.1
	5000	5	M	306	309	1.2
		6	M	104	251	52.0
		7	F	563	740	31.9
		8	F	118	193	45.5

a) $\mu\text{g/ml}$

trans · Na 投与群では 14 または 15 日目の生存例の剖検で、盲腸の軽度拡張を示すラットがみられたのみであった。病理組織学的観察では、7432-S 投与群では特記すべき変化はみられず、7432-S-trans · Na 投与例で稀にごく小範囲の肝細胞壊死がみられたのみであった。

7432-S · Na 投与後の中毒死例の剖検では肺の鬱血、腎臓の皮質の蒼白化と髄質の鬱血、脳髄膜の出血、液状物を貯めた消化管の拡張、脾臓の萎縮などがみられた。病理組織学的検査では、肝細胞の空胞化、脾臓の白脾髄の萎縮、腎臓皮質尿管上皮細胞の小範囲の変性・壊死 (Fig. 1)、肺の出血・水腫などが 1~2 例にみられた。生存例では、他の検体投与群と同様、肉眼的には盲腸の拡張がみられたのみであり、病理組織学的観察でも腎臓皮質尿管上皮細胞の小範囲の再生像が稀にみられたのみであった。

2) 静脈内投与

(1) LD₅₀ 値 (Table 1)

静脈内投与時の LD₅₀ 値は、7432-S-trans · Na では雄が約 4 g/kg、雌が約 4.5 g/kg であった。7432-S · Na ではこれより幾分低値を示し、雄が約 3.3 g/kg、雌が 3.6 g/kg であった。いずれも明らかな性差はなかった。

(2) 中毒症状および死亡経過

① 7432-S-trans · Na 投与群

中毒死例は投与中から投与直後に苦悶様動作、呼吸困難、強直性痙攣を惹起して死に至り、しばしば血性の泡沫状鼻汁も観察された。死への転帰は早く、投与 15 分後には生死が決定した。死を免れた例も、苦悶様動作の

のち不活発となったが、投与後 2~3 時間で回復した。尾の投与局所には早期からチアノーゼがみられる例があり、なかには潰瘍や壊疽となるものもみられた。生存例では、投与後 4 日目頃より小数例で軽度の腹部膨満がみられたのみで、いずれも順調な成長を示した。以上の経過に性差は殆ど認められなかった。

② 7432-S · Na 投与群

7432-S · Na を投与後、7432-S-trans · Na と同質の中毒症状がみられ、投与 30 分後には生死が決定された。腹部膨満は 7432-S-trans · Na 投与群に比して明らかであり、高用量群では軽度ながら解剖日まで観察された。投与局所の変化は 7432-S-trans · Na 投与群より弱かった。以上観察された変化に性差は殆どみられなかった。

(3) 剖検および病理組織学的所見

7432-S-trans · Na と 7432-S · Na の静脈内投与時の所見は共通していた。中毒死例では肺の出血・水腫、胸腺の出血、腎臓皮質の蒼白化と髄質の鬱血、脳髄膜出血、胸水および腹水の軽度増量などが多数例にみられ、尾の投与局所には痂皮形成例もあった。病理組織学的には脳髄膜や脳室内出血 (Fig. 2)、胸腺の出血、肺の出血を伴う水腫 (Fig. 3)、腎尿管の拡張と尿管上皮細胞の変性像 (Fig. 4)、肝臓のうっ血、肝細胞の空胞変性、小葉中心域肝細胞の壊死 (Fig. 5) など急性循環障害やショックを示唆する所見が得られた。生存例でも少数例に腎皮質尿管上皮細胞の再生像や稀に肝臓の小範囲の壊死がみられた。

2. イヌを用いた実験

Table 6. Organ weights of beagle dogs 14 days after oral administration of 7432-S

Compound	Dose (mg/kg)	Dog No.	Sex	BW (kg)	Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Pancreas (g)	Testis (g)	Prostate (g)	Ovary (mg)	Uterus (g)
Absolute organ weights														
7432-S	2500	1	M	8.3	64.2	69.4	36.2	246.4	16.1	15.6	13.2	1.6		
		2	M	7.7	60.3	62.7	45.2	219.4	19.7	18.2	15.9	3.0		
		3	F	7.8	67.3	59.3	35.2	224.7	26.5	19.5			652	3.8
		4	F	8.2	68.5	67.6	32.6	215.7	17.5	15.7			538	1.5
	5000	5	M	8.0	55.6	60.6	32.6	241.0	21.1	14.6	9.8	2.9		
		6	M	8.6	57.3	66.0	33.8	237.3	20.9	18.5	10.7	1.4		
		7	F	8.0	64.6	69.4	33.2	206.2	19.9	19.5			738	2.5
		8	F	7.6	54.8	60.9	30.5	186.2	16.9	16.1			464	1.8
Relative organ weights ^{a)}														
7432-S	2500	1	M		7.7	8.4	4.4	29.7	1.9	1.9	1.59	0.19		
		2	M		7.8	8.1	5.9	28.5	2.6	2.4	2.07	0.39		
		3	F		8.6	7.6	4.5	28.8	3.4	2.5			84	0.49
		4	F		8.3	8.2	4.0	26.3	2.1	1.9			66	0.19
	5000	5	M		7.0	7.6	4.1	30.1	2.6	1.8	1.22	0.37		
		6	M		6.7	7.7	3.9	27.6	2.4	2.2	1.25	0.16		
		7	F		8.1	8.7	4.2	25.8	2.5	2.4			92	0.32
		8	F		7.2	8.0	4.0	24.5	2.2	2.1			61	0.23

a) g or mg per kg of body weight

1) 一般状態

7432-S 投与後の観察期間中に死亡例は発生しなかった。7432-S 投与に関連すると考えられる変化は嘔吐と下痢、水様便であった。嘔吐は両投与群とも投与後 30 分から 5 時間後にかけてほぼ全例でみられた。また、投与 5 時間後以降、全例で下痢あるいは水様便の排泄がみられ、翌朝まで続いた。これら以外には剖検時まで特に変化はみられなかった。

2) 体重 (Table 2), 摂餌量

実験期間を通じていずれの動物にも体重および摂餌量に変化はみられなかった。

3) 聴覚検査

7432-S 投与全例で何ら異常を認めなかった。

4) 眼検査

視診, スリットランプ検査, 眼底検査のいずれでも異常例はみられなかった。

5) 血液学的検査 (Table 3)

投与後 3 日目および 13 日目のいずれの検査でも全測定項目とも 7432-S 投与に関連した変化はみられなかった。

6) 血液生化学検査 (Table 4)

7432-S 投与後 3 日目および 13 日目のいずれの検査でも本剤の毒性を反映したと考えられる変化は、測定したいずれの項目でもみられなかった。

7) 血中濃度 (Table 5)

7432-S の 2500 および 5000 mg/kg 投与後 1, 3, 24 時間目の血中濃度は、個体差が大きいため明確でないが、投与後 1~3 時間目にピークがみられ、投与後の時間経過につれ、投与量に相関した血中濃度が認められた。

8) 器官・組織重量 (Table 6)

絶対および相対重量とも、7432-S 投与によると考えられる異常値は認められなかった。

9) 病理組織学的検査

膀胱粘膜出血, 顎下腺の腺房萎縮, 消化管粘膜の充血出血, 眼球網膜の変性像などが一部の動物に軽度で観察された。しかし、これらの変化には、用量相関性がないこと、無処置動物でも従来みられてきた程度の変化であることなどから、7432-S 投与に起因した変化ではないと考えられた。

III. 考 察

新しい経口用セフェム系抗生物質である 7432-S の急性毒性を雌雄の SD 系ラットおよびビーグル犬を用いて検討した。また、7432-S・Na および 7432-S の

trans 体の比率が多い 7432-S-trans・Na を用いてラットでの静脈内および経口投与による急性毒性も検討した。

1. ラットを用いた実験

7432-S を技術的投与限界量である 10 g/kg まで経口投与しても中毒死例は発生しなかった。中毒症状として、軽度の抑制症状が発現したが体重の 5% 近い容量を投与していることから、一過性にせよ物理的要因も加わり、抑制症状が発現したと考えられる。軟便や盲腸の拡張は、げっ歯類では抗生剤投与時の普遍的な所見である。致死例が発生しなかったことから、病理検査は投与後 15 日目の生存例に限られた。しかし、これらの例でも諸器官・組織に障害の修復像や早期に障害が発生したと考えられる組織反応像がみられなかった。これらの成績から、7432-S の経口投与時の毒性は非常に軽微であると考えられ、LD₅₀ 値が 10 g/kg 以上であることは、化合物の毒性基準から "Practically nontoxic"²⁾ に属すると判断される。

一方、7432-S は生体内で trans 体に変わり得る¹⁾ ことから、7432-S の trans rich 体についても検討を加えた。7432-S-trans は腸管から殆ど吸収されないため、Na 塩で経口および静脈内投与と実験を行い、7432-S の Na 塩も合成して同時に比較検討した。7432-S-trans・Na では 7432-S (cis) と同様経口投与では 10 g/kg でも致死例が発生しなかった。また、7432-S・Na も経口投与での LD₅₀ 値は 8 g/kg 以上であり、いずれも毒性は極めて弱かった。これら 2 化合物の静脈内投与時には諸器官・組織の出血性障害や水腫、肝小葉中心域肝細胞の壊死、尿管管拡張を伴う蒼白腎など、急性循環障害やショックを示唆する所見が得られ、これらは大量の高浸透圧溶液の投与によると考えられた。

7432-S-trans・Na 投与例では、7432-S あるいは 7432-S・Na 投与例に比べて盲腸の拡張が幾分弱かったが、これは 7432-S-trans・Na が他の 2 検体より抗菌作用が弱いことを反映していると考えられる。

7432-S-trans・Na の急性毒性は 7432-S と本質的に異なるのではなく、経口投与時の毒性は 7432-S と同様に極めて弱かった。また、7432-S 投与後に出現する 7432-S-trans は量的にもごく少量であることから、生体内で 7432-S の毒性に影響を与える可能性はないと考えられる。

2. イヌを用いた実験

7432-S の 2500 および 5000 mg/kg を 1 回経口投与したが、致死例は出現しなかった。従ってイヌの最大耐量は 5000 mg/kg 以上といえる。

7432-S 投与後にみられた変化は、投与後 24 時間までに生じた嘔吐、下痢、水様便のみであった。このような変化は cephalexin³⁾, cefaclor^{4, 5)}, cefadroxil⁶⁾ などの経口セファロsporin 抗生剤の非臨床試験で共通してみられているもので、7432-S に特異的に発現しているものではない。下痢、水様便の発現は、これら抗生剤投与による腸内細菌叢の変化、消化管壁への直接作用等の結果と推察される。

7432-S の大量投与にもかかわらず、その他の諸検査指標、即ち、体重、摂餌量、視聴覚検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官・組織重量および病理組織学的検査の成績に、本剤に起因すると考えられる変化は全く認められなかった。

以上の成績から、7432-S の 5000 mg/kg までの 1 回投与は、イヌに明らかな毒性的作用を惹起しないと見える。

謝 辞

本実験の遂行に御協力いただいた松井信志、藤島昇一、松浦 稔、山根英弘、森山哲郎、西村清一、豊島靖子、平柴優子の諸氏に感謝する。

文 献

- 1) 溝尻顕爾, 高嶋 彰, 湯川忠彦, 中野正行: Cephem 系抗生物質 7432-S のラットにおける

体内動態 (第 1 報)。¹⁴C-7432-S 経口および静脈内投与後の血漿濃度と排泄。Chemotherapy 37 (S-1): 774~782, 1989

- 2) LOOWLS, T. A.: Potency versus Toxicity. *Essential of Toxicology*, Lea & Febiger (LOOWLS, T. A. ed.), pp. 17~19, 1968
- 3) WELLS, J. S., FROMAN, R. O, GIBSON, W. R., OWEN, N. V. & ANDERSON, R. C.: Toxicology and pharmacology of cephalexin in laboratory animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1968: 489~496, 1968
- 4) HASEGAWA, G. K., OWEN, N. V., GIBSON, W. R., HOFFMAN, D. G. & MORTON, D. M.: An evaluation of the toxicity of cefaclor in laboratory animals. *Postgraduate Medical J.* 55: 17~21, 1979
- 5) 小林文彦, 松浦 稔, 長谷川紀昭: Cefaclor のビーグル犬における亜急性毒性試験。Chemotherapy 27 (S-7): 812~845, 1979
- 6) 田内清憲, 川西広明, 五十嵐章之, 前田康行, 前山由紀, 海老野耕一: Cefadroxil (s-578) の毒性に関する研究。第 4 報, イヌにおける亜急性ならびに慢性毒性。J. Antibiotics XXXII-12: 1289~1334, 1979

ACUTE TOXICITY STUDY OF 7432-S AND 7432-S-TRANS IN RATS AND DOGS

FUMIHIKO KOBAYASHI, ISAO YAHARA, MIKIO OGAWA,
NOBORU HIGASHIYAMA, YOSHIHIRO MURAOKA,
HITOSHI FURUKAWA, HIROSHI NARA, TADASHI YOSHIDA
and TOSHIO YOSHIIZAKI
Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.
5-12-4, Sagisu, Fukushima-ku, Osaka 553, Japan

We studied the acute toxicity of 7432-S, an oral cephalosporin antibiotic, by giving the compound to Sprague-Dawley rats and to beagle dogs by a single oral administration. We also studied the acute toxicity of sodium salts of trans-isomer-rich 7432-S (7432-S-trans·Na) and of 7432-S (7432-S·Na) by given orally and intravenously.

1. Oral administration of 10 g/kg of 7432-S, which is the technically applicable maximum dose, caused slight inactivity, weakness, loose stools, diarrhea and abdominal distention due to cecal dilatation, but no death attributable to intoxication occurred in rats. There were no findings suggesting visceral disorder and 7432-S was classified as "practically non-toxic"

2. As with 7432-S, no death occurred after oral administration of 7432-S-trans·Na to rats at a dose of 10 g/kg, and the rats recovered from loose stools or diarrhea quickly. The LD₅₀ value of 7432-S·Na after oral administration to rats was about 10 g/kg for males and 8.3 g/kg for females, indicating very low toxicity in both sexes.

3. The findings after intravenous administration of 7432-S-trans·Na and 7432-S·Na to rats included toxic signs considered attributable to acute circulatory disorder and shock such as tonic convulsion immediately after administration, bleeding in various organs and tissues, increased hydrothorax and ascites, pale kidney accompanying tubular dilatation histopathologically, and centrilobular hepatocyte necrosis. Administration of a large volume of hypertonic solution was considered mainly responsible for these changes. Death occurred within 15 minutes after dosing, and the LD₅₀ value for 7432-S-trans·Na was 4.0 g/kg for males and 4.5 g/kg for females, and that for 7432-S·Na was 3.3 g/kg for males and 3.6 g/kg for females.

4. 7432-S was administered orally to male and female beagle dogs at doses of 2.5 or 5.0 g/kg. With the exception of vomiting and diarrhea within 24 hours after dosing, there were no changes considered attributable to the administration of this compound in other parameters. These results indicate that oral administration of 7432-S dose not induce any definite toxicity in beagle dogs and the maximum tolerable dose is assumed to be 5.0 g/kg or more.