

Cephem系経口抗生物質 7432-S (Ceftibuten) の

ラットにおける1ヵ月亜急性毒性試験

小林文彦・矢原 功・吉崎敏夫・村岡義博

塩野義製薬株式会社研究所*

7432-S (ceftibuten) の連続投与時の安全性を評価する目的で、300, 1000, 3000 mg/kg/日をJcl:SD系ラットに1日1回、35日間経口投与した。対照薬として、ceftaclor (CCL) 3000 mg/kg/日を用いて比較検討し、以下の成績を得た。

1. 軽度の軟便と盲腸拡張による腹部の膨満が検体投与全群に共通してみられた。CCL投与群の雄に軽度の体重増加抑制がみられたのみで中毒死例は発生せず、回復性も良好であった。

2. 尿検査では検体投与全群で尿量減少とpHの低下がみられ、血漿成分では7432-S 1000 mg/kg以上投与群の雄で総タンパク質、トリグリセリドが軽度低下し、3000 mg/kg投与群でカリウムの低下がみられた。CCL投与群でも総タンパク質、カリウムの低下がみられ、抗生剤による腸内細菌叢の変動が主因と考えられた。

これら諸変化は休薬により回復した。

3. 多量の泥状物を貯めた盲腸の拡張が検体投与全群にみられ、粘膜の出血性壊死や粘膜下水腫がみられる例があった。器質の変化は7432-S投与群と対照群では1例のみであり、休薬後のCCL投与群でこれらより高頻度に見られたことから検体投与との相関は明らかでなかった。

以上のとおり、7432-S投与により発現した諸変化はCCL投与群にも共通していた。

抗生剤投与時のげつ歯類に普遍的である盲腸の拡張を除けば、本試験条件下での7432-Sの無影響量は300 mg/kg/日と推定された。

Key words: 7432-S, Ceftibuten, 経口抗生物質, 亜急性毒性, ラット

7432-S (ceftibuten) は塩野義製薬研究所で合成された経口用セフェム系抗生物質である。ラットにおける急性毒性試験では10 g/kgでも耐容し、イヌでも毒性が極めて弱いことが明らかにされている¹⁾。

今回、我々は7432-Sの連続投与時の安全性を評価する目的で、ラットにおける1ヵ月間経口投与による亜急性毒性試験を実施したのでその成績を報告する。

I. 実験材料および実験方法

1. 使用動物および飼育条件

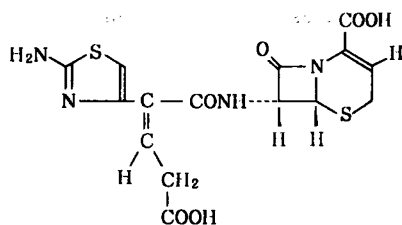
4週齢(体重範囲: 60~75 g)のSprague-Dawley系雌雄ラット(Jcl:SD, 日本クレア)を購入し、2週間の予備飼育後、6週齢より投与を開始した。投与開始時の体重は雄161~183 g、雌129~156 gであった。

動物は、試験期間中、室温23±1℃、相対湿度55±10%、新鮮空気による15回/時間の換気、午前8時から12時間照明に条件設定されたバリヤ飼育室でポリカーボネート製ケージ(クリーンケージ; W 262×D 425×

H 150 mm, 日本クレア)に雌雄別に2匹ずつ収容して飼育した。高圧滅菌した固型飼料(CA-1, 日本クレア)と濾過滅菌市水道水は自由に摂取させた。

2. 検体

被験物質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。



(6R, 7R)-7-[(Z)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-4-carboxy-2-butenoylamino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid

*〒553 大阪市福島区鷺州5-12-4

Table 1. Subacute toxicity study of 7432-S in rats

Compound	Dose (mg/kg/day)	No. of rats	
		Male	Female
Control	-	20 (10)	20 (10)
7432-S	300	10	10
7432-S	1000	10	10
7432-S	3000	20 (10)	20 (10)
Cefaclor	3000	20 (10)	20 (10)

() : No. of rats used for recovery study

Table 2. Test days and the number of animals examined

Item	Acclimatization period	Treatment period		Recovery period
	Males & females	Males	Females	Males & females
Auditory exam.	-5 (all)	29 (all)	30 (all)	68 (all)
Ophthalmoscopy	-2 (all)	33 (all)	34 (all)	65 (all)
Hematology		33 (10)	34 (10)	69 (all)
Urinalysis		29 (10)	30 (10)	68 (all)
Bone marrow, blood biochemistry, PT, APTT, organ weight		35 (10)	36 (10)	70 (all)
Biochemical analysis of liver		35 (8)	36 (8)	70 (8)

The day when dosing started was designated as Day 0.

() : Number of animals examined.

試験には lot No. 48801 (力価: 838.7 μ g/mg) およ
び lot No. 4X802 (力価: 885.3 μ g/mg, 3 日間のみ使
用) を用いた。検体調製にあたり、媒体として 5 %
(w/v) アラビアゴム溶液 (アラビアゴム末: Lot No.
905 H5124, 関東化学, 注射用蒸留水: 大塚製薬) を用
いた。3000 mg/kg 用には 25% (w/v) 懸濁液を用時調
製し、1000 mg/kg, 300 mg/kg 用にはこれを上記媒体
で希釈して、8.33% (w/v) および 2.5% (w/v) 懸濁
液を用時調製した。

対照物質 cefaclor (CCL) は lot No. 294 GK 4 A (力
価: 997.0 μ g/mg) を用い、上記媒体で 25% (w/v)
懸濁液を用時調製した。

3. 投与量および投与方法

7432-S はラットでの急性毒性試験¹⁾ および予備試験
の成績から、何らかの中毒症状の発現が予測される 3000
mg/kg/日を最高用量とし、公比 3 で減じた 1000 mg/
kg/日, 300 mg/kg/日 を中, 低用量群として設定した。
CCL は, 4000 mg/kg/日の連続投与では中毒死例が多
発する²⁾ ことから, 7432-S の最高用量と同じく 3000
mg/kg/日を設定した。

投与経路はヒトでの臨床適用経路である経口投与とし
た。投与容量は力価との関係で, lot No. 48801 では 14.3
ml/kg, lot No. 4X802 では 13.6 ml/kg, CCL は 12.0
ml/kg とし, 対照群には 7432-S と同容量の媒体を投

与した。いずれの群とも、1日1回、35日間(投与期間終了時解剖の雌のみ36日間)金属製胃ソンドを用いて経口投与した。

回復試験期間は35日間とした。

動物は体重別層化無作為抽出法により群分けし、各群雌雄10匹ずつの他に、対照群、7432-S 3000 mg/kg投与群およびCCL投与群には雌雄各10匹ずつの回復試験群を加えた(Table 1)。

これらの動物は一連番号を耳パンチして個体標識した。

4. 検査項目

投与開始日をday 0とした各検査実施日および検査対象動物数(群内番号の若い順)をTable 2に示した。

1) 一般状態

試験期間を通じて1日1回以上一般状態を観察した。

2) 体重

投与期間中は体重を毎投与時測定して投与容量算出にあて、回復試験期間中は5日ごとに測定した。

3) 摂餌量

摂餌量は5日ごとに測定した。

4) 聴覚検査

馴化期間中、投与期間末期および回復試験期間末期にガルトン笛音に対するPREYER反射試験を行った。

5) 眼検査

馴化期間中、投与期間末期および回復試験期間末期に肉眼的観察を行ったのち、散瞳剤(Mydrin-P®, 参天製薬)を点眼して眼底カメラ(RC-2 Δ Model 621型, 興和)による眼底検査を行った。

6) 血液学的検査

投与期間末期および回復試験期間末期に尾先端部切断により採血し、白血球数、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), 平均赤血球ヘモグロビン量(MCH), 平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)(以上7項目, Coulter counter model-S), 白血球型別分類, 赤血球形態, 有核赤血球数(GIEMSA染色塗抹標本), 網赤血球数(BRECHER法), 血小板数(Coulter counter model ZB)を検査した。また, 解剖時にペントバルビタール・ナトリウム(Somnopenit®, Pitman-Moore)麻酔下で後大静脈より採血し, プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間(COAG-A-MATE・X 2; Warner-Lambert)を測定した。

7) 骨髄検査

解剖時に大腿骨を採取して, 骨髄有核細胞数を測定(THOMA血球計算盤)し, さらに骨髄塗抹標本(MAY-GRÜNWARD-GIEMSA重染色)を作製して有核細胞500

個について型別分類(7432-Sの中, 低用量群は省略)を行った。

8) 尿検査

投与期間末期および回復試験期間末期に動物を個別代謝ケージに収容して, 絶食, 絶水下で4時間尿を採取した。検査項目はタンパク質, グルコース, ケトン体, 潜血, ビリルビン, ウロビリノーゲン, 比重(以上7項目, Multistix®SG, Ames), pH(pH試験紙, 東洋濾紙), 尿色, 尿量のほか, 1.5 ml以上採尿例については尿沈渣(キャピロット®, テルモ)を観察した。

9) 血液生化学検査

投与期間終了時および回復試験期間終了時に上記麻酔下で開腹し, 後大静脈からヘパリン加注射筒を用いて採血し, 血漿を遠心分離した。分析項目はグルコース(ヘキソキナーゼ法), 総タンパク質(ビウレット法), アルブミン(BCG法), クレアチニン(JAFFÉ法), 尿素窒素(ジアセチルモノオキシム法), GOT(UV法), GPT(UV法), アルカリフォスファターゼ(ALP, BESSEY-LOWRY法), 乳酸脱水素酵素(LDH, UV法), クレアチンホスホキナーゼ(CPK, SIEGEL-COHEN法), ロイシンアミノペプチダーゼ(LAP, NAGEL法), アミラーゼ(G5-DCP法), 総コレステロール(酵素法), トリグリセリド(酵素-UV法), 総ビリルビン(アルカリアゾビリルビン法), Na(イオン選択ガラス電極法), K(イオン選択バリノマイシン電極法), 塩化物(Cl, チオシアン酸第二水銀法), Ca(クレゾールフタレインコンプレクソン法), 無機リン(Pi, リンモリブデン黄法), 総鉄(Fe, フェロザイン法)であり, Technicon SMACⅢ(C9100)システムにより測定した。A/G比は総タンパク質とアルブミンの値から計算により求めた。

10) 肝内薬物代謝酵素活性

上記解剖時に肝臓中間葉の一部を採取してチトクロームP-450²⁾, 7-メトキシクマリン0-脱メチル化酵素(coumar, DMase), 7-エトキシクマリン0-脱エチル化酵素(coumar, DEase), 7-プロボキシクマリン0-脱プロビル化酵素活性(coumar, DPase)³⁾を肝ホモジネートを用いて測定した。

11) 器官重量および病理学的検査

全生存動物について, 上記採血後に腹部大動脈切断により放血, 致死させて諸器官・組織を肉眼的に観察したのち, 心臓, 肺, 腎臓, 肝臓, 脾臓, 胸腺, 副腎, 甲状腺, 脳, 下垂体, 精巣, 腹部前立腺, 卵巣, 子宮, 顎下腺(舌下腺を含む), 盲腸(内容物を含む)の重量を測定した。これらの器官に加え, 脾臓, 膀胱, 副甲状腺

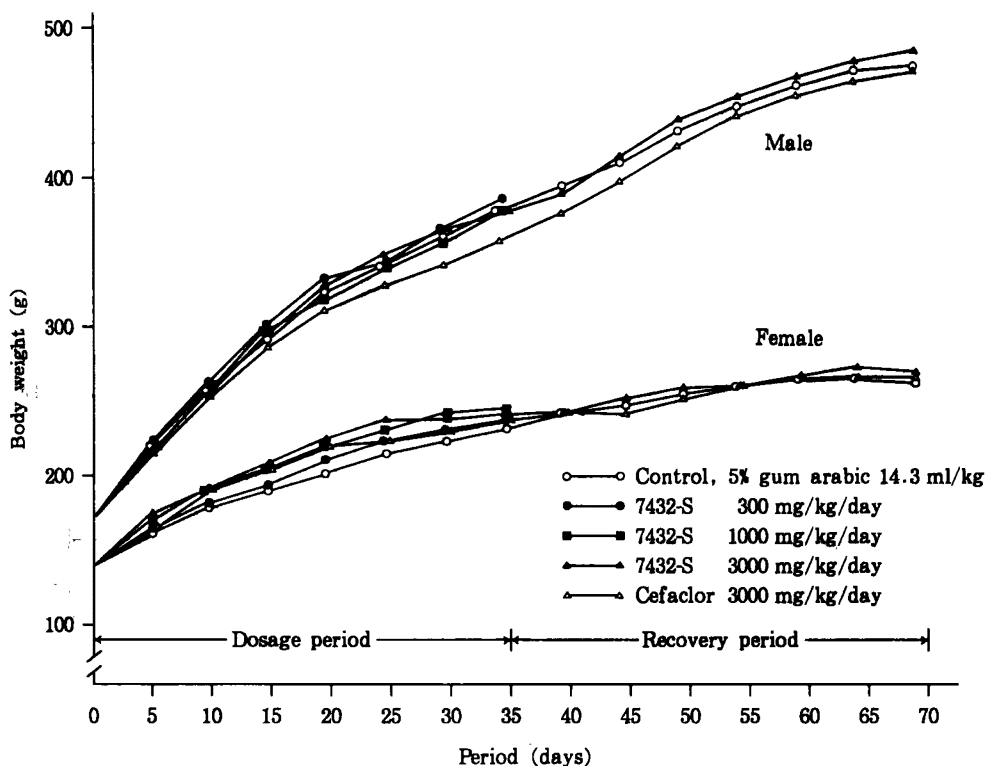


Fig. 1. Body weight changes of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days.

(切片上にみられた時のみ), 精巣上体, 精のう, 舌, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 結腸, 直腸, 気管, 胸部大動脈, 腸間膜リンパ節, 皮膚, 乳腺 (雌のみ), 大腿部筋肉, 大腿骨 (骨髓を含む), 眼球, ハーダー腺, 脊髄 (頸膨大部, 胸髄中央部および腰膨大部), 坐骨神経, 視神経, 喉頭および肉眼的に異常のみられた組織を10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定した。眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリン混液で固定した。常法によりパラフィン切片を作製してヘマトキシリン・エオジン染色のほか, 必要例はアザン染色, 神経系組織にはKLÜVER-BARRERA染色を施して光顕的に観察した。投与過誤により死亡した1例についても剖検し, 病理組織学的検査を行った。

また, 電顕的观察用として, 解剖時に各群の雄2例より肝臓中間葉の一部と腎臓皮質の一部を採取し, グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定を行ない, 常法に従ってEpok-812樹脂包埋した。超薄切片にウラン・鉛二重染色を施して電顕的に観察した。

光顕的および電顕的观察は, 先ず, 対照群, 7432-S

3000 mg/kg 投与群およびCCL投与群について行ったが, 7432-S起因性の変化がみられなかったため, 7432-Sの中, 低用量群の光顕的观察は肉眼的異常器官・組織のみにとどめた。電顕的观察も同理由により, 7432-Sの中, 低用量群と回復試験群の観察を省略した。

5. 統計学的手法

数値データに関しては, 各検体投与群の対照群に対する平均値の差の検定を, 等分散仮説が棄却された時はCOCHRAN-COXの検定, 棄却されない時はSTUDENTのt検定により行った。

II. 試験成績

1. 一般状態

7432-S, CCL投与群に共通して, 軽度の軟便と盲腸拡張によると思われる腹部の膨満が投与開始後数日からみられた。投与20日目頃より7432-S 3000 mg/kg投与群とCCL投与群の少数例に軽度の自発運動抑制と眼瞼下垂が観察された。ほかには, 投与時に流涎がみられたのみで一般状態は良好であった。7432-S 3000 mg/

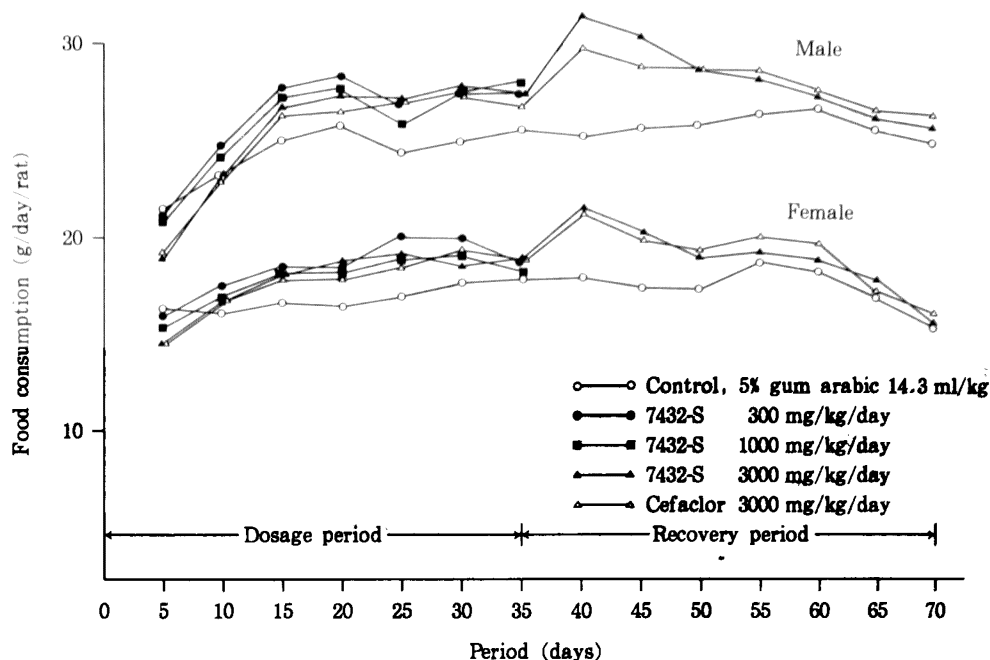


Fig. 2. Food consumption of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days.

kg 投与群の1例が投与過誤により死亡したほかは全例が1カ月間の投与に耐えた。

休業により、軟便および腹部の膨満は徐々に軽減し、休業2週後には回復した。

2. 体重変化

7432-S 投与群では、雄は対照群と同等の成長がみられ、雌では1000 mg/kg以上の投与群でむしろ対照群を上回る体重を示した。CCL 投与群でも、雌では対照群を上回る体重増加がみられたが、雄では15日目頃より軽度の体重増加抑制がみられた (Fig. 1)。

休業により、体重はいずれの群とも対照群の値に近づいた。

3. 摂餌量

7432-S 3000 mg/kg 投与群および CCL 投与群の雌雄に共通して、投与初期に摂餌量が一過性に減少したが、投与開始後10~15日目頃からは逆に軽度増加した (Fig. 2)。

休業により、摂餌量は両検体投与群に共通して増加した。

摂餌効率は全投与群で投与初期に一過性に上昇したが、7432-S 1000 mg/kg以上投与群および CCL 投与群では、投与期間終了近くになって低下した。休業により、

雌では一過性に摂餌効率が低下したが、いずれの群とも徐々に対照群の値に近づいた (Fig. 3)。

4. 聴覚検査および眼検査

いずれの検査時点においても、検体投与による異常は認められなかった。

5. 血液学的検査

7432-S, CCL 投与群とも特記すべき変化は生じなかった (Table 3)。

6. 骨髄検査

投与期間終了時検査では特記すべき変化はなかったが、回復試験終了時検査では雌の検体投与群で M/E 比が対照群よりやや低かった (Table 4)。

7. 尿検査

投与期間末期の検査では、両検体投与群で尿量減少と pH の低下がみられ、尿タンパクの増加が雌では検体投与全群、雄では 7432-S 3000 mg/kg 投与群と CCL 投与群にみられた。CCL 投与群ではグルコース陽性反応が約半数例にみられた (Table 5)。

これらの変化はいずれも休業により回復した。

8. 血液生化学検査

投与期間終了時検査では、7432-S 1000 mg/kg以上投与群の雄で総タンパク質とトリグリセリドの軽度低下、

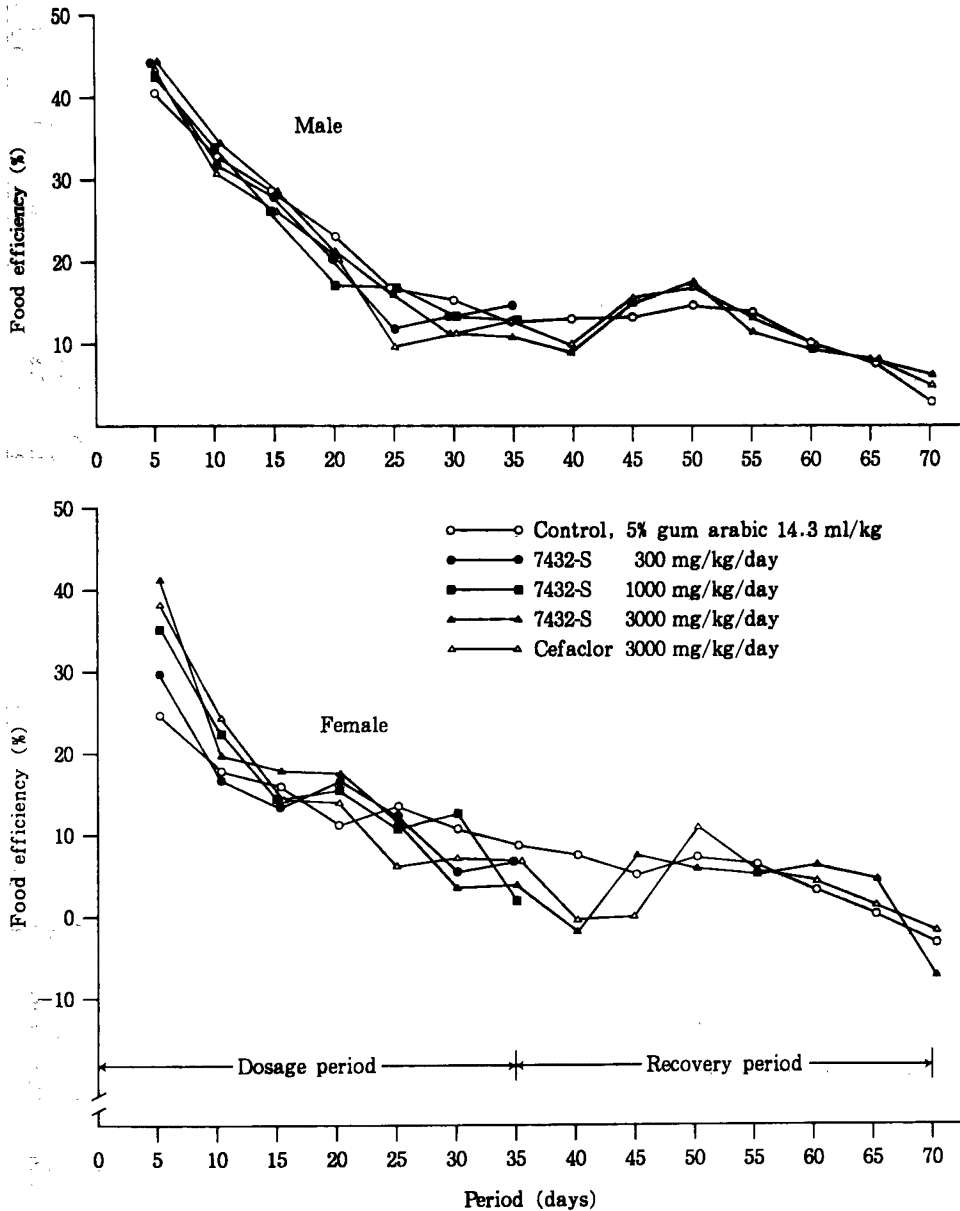


Fig. 3. Food efficiency of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days.

3000 mg/kg 投与群でカリウムの軽度低下, 3000 mg/kg 投与群の雌でクレアチニン, 尿素窒素の軽度上昇がみられた (Table 6)。これらの諸変化は CCL 投与群にもほぼ共通してみられたが, 雄ではコレステロールが上昇し, トリグリセリドには変化はなかった。

これらの変化は休薬により回復した。

9. 肝内薬物代謝酵素活性

7432-S 投与群では, 1000 mg/kg 以上の投与群の雌で coumar. DMase と coumar. DEase 活性が対照群よりわずかに高かった。CCL 投与群では雌雄ともに

Table 3. Hematological examination in rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	No. of rats	RBC ($\times 10^6$ /cmm)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulo-cyte (0/100)	WBC ($\times 10^3$ /cmm)	WBC differential				platelet ($\times 10^4$ /cmm)	Prothro. time (sec)	APTT (sec)
											E (%)	N (%)	L (%)	M (%)			
Male rats at the end of treatment period																	
Control	-	10	6.71a)	15.1	37.0	55	22.3	40.7	26.9	16.5	1.8	11.7	84.9	0.9	111	11.5	19.1
			± 0.10	± 0.2	± 0.6	± 0	± 0.2	± 0.4	± 1.8	± 0.9	± 0.5	± 1.8	± 1.9	± 0.3	± 5	± 0.2	± 0.3
7432-S	300	10	6.79	15.3	37.4	55	22.4	40.8	27.1	17.1	2.0	10.6	85.8	1.1	118	11.4	18.6
			± 0.17	± 0.3	± 0.8	± 1	± 0.4	± 0.4	± 1.9	± 0.7	± 0.4	± 1.2	± 1.1	± 0.3	± 6	± 0.2	± 0.5
7432-S	1000	10	6.64	15.1	36.8	56	22.5	40.9	26.5	17.0	1.9	16.9	79.8	1.3	108	11.5	18.8
			± 0.10	± 0.2	± 0.6	± 0	± 0.2	± 0.4	± 2.3	± 0.6	± 0.6	± 3.2	± 3.6	± 0.3	± 8	± 0.1	± 0.5
7432-S	3000	10	6.65	15.2	37.0	56	22.8	41.1	26.5	14.8	1.6	15.0	82.2	0.9	95*	11.0	18.7
			± 0.10	± 0.2	± 0.3	± 1	± 0.3	± 0.4	± 1.6	± 1.0	± 0.4	± 1.4	± 1.5	± 0.3	± 4	± 0.2	± 0.5
CCL	3000	10	6.64	14.4	34.8*	54	22.3	41.5	27.6	16.1	2.1	13.1	83.7	0.8	103	11.1	16.9**
			± 0.15	± 0.2	± 0.7	± 0	± 0.3	± 0.4	± 1.5	± 0.8	± 0.5	± 1.2	± 1.5	± 0.2	± 5	± 0.1	± 0.2
Male rats at the end of recovery period																	
Control	-	10	6.87	15.0	35.8	52	21.7	41.9	28.9	16.5	1.9	14.0	82.9	1.0	116	12.8	20.7
			± 0.15	± 0.2	± 0.7	± 1	± 0.4	± 0.5	± 1.4	± 0.7	± 0.6	± 2.6	± 3.2	± 0.3	± 4	± 0.2	± 0.5
7432-S	3000	10	6.88	15.1	37.0	54*	21.8	40.8	28.3	15.4	1.4	11.5	86.6	0.5	113	12.5	20.3
			± 0.08	± 0.3	± 0.4	± 0	± 0.3	± 0.3	± 1.2	± 0.6	± 0.5	± 1.6	± 1.9	$\pm 0.2^*$	± 4	± 0.3	± 0.4
CCL	3000	10	6.78	15.0	35.7	53	22.1	42.1	25.2*	13.4*	1.9	13.1	84.6	0.2	108	12.7	20.1
			± 0.15	± 0.1	± 0.6	± 1	± 0.5	± 0.7	± 0.9	± 0.5	± 0.4	± 1.0	± 1.0	± 0.1	± 3	± 0.2	± 0.3
Female rats at the end of treatment period																	
Control	-	10	6.64	15.1	37.5	57	22.6	40.2	26.8	12.6	2.3	11.9	84.6	0.9	97	10.7	19.9
			± 0.10	± 0.2	± 0.4	± 0	± 0.2	± 0.2	± 1.5	± 0.6	± 0.7	± 1.8	± 2.2	± 0.2	± 4	± 0.2	± 0.7
7432-S	300	10	6.54	14.7	36.4	56	22.4	40.5	28.5	12.4	2.4	9.3	86.6	1.1	91	10.8	19.1
			± 0.12	± 0.2	± 0.5	± 1	± 0.3	± 0.4	± 1.3	± 1.2	± 0.5	± 1.2	± 1.6	± 0.3	± 5	± 0.2	± 0.7
7432-S	1000	10	6.51	15.3	36.9	57	23.3*	41.4*	25.2	11.6	1.5	6.3*	91.2*	0.9	91	10.5	19.0
			± 0.09	± 0.2	± 0.6	± 0	± 0.2	± 0.4	± 1.7	± 0.9	± 0.5	± 0.8	± 0.5	± 0.2	± 4	± 0.2	± 0.8
7432-S	3000	10	6.67	15.5	37.8	57	23.2	41.1	23.7	11.9	1.9	10.8	85.8	1.3	90	10.3	18.5
			± 0.14	± 0.2	± 0.8	± 0	± 0.3	± 0.6	± 1.2	± 1.0	± 0.4	± 1.6	± 1.9	± 0.3	± 4	± 0.3	± 1.0
CCL	3000	10	6.48	14.7	36.3	56	22.6	40.4	26.8	12.3	1.4	11.6	86.4	0.5	96	11.4*	18.7
			± 0.05	± 0.2	± 0.4	± 0	± 0.2	± 0.3	± 1.2	± 0.9	± 0.4	± 1.2	± 1.3	± 0.2	± 3	± 0.2	± 0.6
Female rats at the end of recovery period																	
Control	-	10	6.78	15.2	37.4	56	22.2	40.4	27.6	8.0	2.3	12.1	85.3	0.1	112	12.2	18.6
			± 0.11	± 0.2	± 0.6	± 0	± 0.3	± 0.3	± 1.3	± 0.5	± 0.6	± 1.3	± 1.3	± 0.1	± 6	± 0.2	± 0.3
7432-S	3000	9	6.49	14.7	35.6*	55	22.5	41.2	24.8	7.8	1.8	13.9	83.9	0.3	111	12.2	17.0
			± 0.12	± 0.2	± 0.8	± 0	± 0.4	± 0.7	± 1.0	± 0.5	± 0.5	± 2.1	± 2.1	± 0.2	± 4	± 0.2	± 0.3
CCL	3000	10	6.70	14.9	38.0	54**	22.2	41.4	27.1	8.0	1.4	11.7	85.8	0.9*	125	12.4	16.3
			± 0.11	± 0.1	± 0.6	± 0	± 0.3	± 0.6	± 1.4	± 0.5	± 0.3	± 2.0	± 2.0	± 0.1	± 5	± 0.1	± 0.2

a). Mean $\pm$ SEStatistically significant against control: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 4. Bone marrow examination of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	No. of rats	Nucleated bone marrow cell ($\times 10^4$ /mg)	Erythrocytic series (%)					Myelocytic series (%)					Others (%)											
				Total	Pro-erythroblast	Basophilic normoblast	Polychromatic normoblast	Orthochromatic normoblast	Total	Myeloblast	Pro-myelocyte	Myelocyte	Mature		Lymphocyte	Plasma cell	Mast cell	Megakaryocyte	Mitotic cell	Miscellaneous	Undifferentiated cell				
													Neutrophil	Eosinophil											
Male rats at the end of treatment period																									
Control	-	10	2.21 ^{a)}	1.23	36.9	0.6	7.8	28.0	0.6	45.0	0.5	2.8	8.5	15.5	17.1	0.6	0.0	0.0	16.4	0.3	0.2	0.1	0.8	0.2	0.0
7432-S	300	10	± 0.07	± 0.05	± 1.1	± 0.0	± 0.7	± 0.7	± 0.1	± 1.2	± 0.1	± 0.3	± 0.5	± 1.0	± 0.5	± 0.1	± 0.0	± 0.0	± 1.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0
7432-S	1000	10	± 0.04																						
7432-S	3000	10	± 0.06	1.21	36.9	0.5	7.2	28.7	0.4	44.5	0.4	2.7	8.2	15.9	16.6	0.6	0.1	0.1	17.4	0.3	0.3	0.1	0.5	0.1	0.0
CCL	3000	10	± 0.10	± 0.04	± 0.6	± 0.1	± 0.8	± 1.2	± 0.1	± 1.1	± 0.1	± 0.3	± 0.4	± 0.7	± 0.8	± 0.1	± 0.0	± 0.0	± 1.1	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0
			2.14	1.28	36.6	0.6	7.0	28.6	0.4	46.7	0.4	2.6	9.0	15.6	18.5	0.7	0.0	0.1	15.2	0.2	0.2	0.1	0.8	0.1	0.0
			Male rats at the end of recovery period																						
Control	-	10	1.82	1.48	33.8	0.5	3.4	28.7	1.1	49.0	0.6	2.9	5.6	17.3	20.3	1.9	0.4	0.1	15.0	0.6	0.4	0.1	0.9	0.2	0.0
7432-S	3000	10	± 0.04	± 0.07	± 1.4	± 0.1	± 0.5	± 1.3	± 0.1	± 1.1	± 0.1	± 0.3	± 0.4	± 0.8	± 0.8	± 0.3	± 0.1	± 0.0	± 1.0	± 0.1	± 0.2	± 0.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0
CCL	3000	10	± 0.09	± 0.05	± 1.1	± 0.2	± 0.6	± 1.1	± 0.2	± 0.6	± 0.1	± 0.2	± 0.2	± 0.6	± 0.5	± 0.2	± 0.1	± 0.1	± 1.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.2	± 0.1	± 0.0
			1.72	1.41	33.2	0.5	3.4	27.9	1.4	46.6	0.6	2.7	6.6	14.8 [*]	19.6	1.8	0.4	0.1	17.7	0.5	0.4	0.0	0.9	0.4	0.0
			Female rats at the end of recovery period																						
Control	-	10	1.87	1.11	39.4	0.4	4.5	33.9	0.5	42.4	0.5	2.0	8.5	14.6	15.2	1.5	0.1	0.1	16.6	0.4	0.2	0.0	0.9	0.1	0.0
7432-S	300	10	± 0.08	± 0.09	± 1.8	± 0.1	± 0.6	± 1.7	± 0.1	± 1.5	± 0.1	± 0.2	± 0.7	± 0.8	± 0.8	± 0.2	± 0.0	± 0.0	± 0.8	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.1	± 0.0	± 0.0
7432-S	1000	10	± 0.14																						
7432-S	3000	10	± 0.13	1.14	38.9	0.4	4.0	34.1	0.4	44.1	0.5	2.5	7.9	15.1	16.7	1.4	0.0	0.1	15.2	0.4	0.2	0.0	0.8	0.2	0.0
CCL	3000	10	± 0.14	± 0.05	± 0.8	± 0.1	± 0.5	± 1.1	± 0.1	± 1.1	± 0.1	± 0.3	± 0.4	± 0.7	± 0.6	± 0.2	± 0.0	± 0.1	± 0.6	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0
			1.68	1.16	38.6	0.4	4.3	33.3	0.6	43.7	0.3 [*]	2.0	8.3	14.7	17.0	1.4	0.0	0.1	16.0	0.4	0.2	0.1	0.7	0.3 [*]	0.0
			Female rats at the end of treatment period																						
Control	-	10	2.26	1.58	32.0	0.6	4.3	25.5	1.6	49.9	0.8	2.7	5.2	16.7	21.0	2.7	0.8	0.2	15.5	0.6	0.2	0.1	1.1	0.5	0.0
7432-S	3000	9	2.08	1.28 [*]	35.8	0.4	3.5	30.1	1.8	44.7 [*]	0.6	2.4	4.4	14.5	19.7	2.2	0.8	0.2	16.7	0.6	0.2	0.0	1.4	0.5	0.0
CCL	3000	10	± 0.07	± 0.09	± 1.6	± 0.1	± 0.4	± 2.0	± 0.3	± 1.4	± 0.2	± 0.4	± 0.3	± 0.9	± 1.1	± 0.3	± 0.2	± 0.1	± 0.9	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.2	± 0.1	± 0.0
			2.09	1.35 [*]	35.1	0.6	5.2	28.4	1.0 [*]	46.3	0.8	2.6	5.5	15.6	18.2 ^{**}	2.8	0.8	0.1	15.9	0.7	0.2	0.1	1.1	0.5	0.0
			Female rats at the end of recovery period																						
Control	-	10	2.26	1.58	32.0	0.6	4.3	25.5	1.6	49.9	0.8	2.7	5.2	16.7	21.0	2.7	0.8	0.2	15.5	0.6	0.2	0.1	1.1	0.5	0.0
7432-S	3000	9	2.08	1.28 [*]	35.8	0.4	3.5	30.1	1.8	44.7 [*]	0.6	2.4	4.4	14.5	19.7	2.2	0.8	0.2	16.7	0.6	0.2	0.0	1.4	0.5	0.0
CCL	3000	10	± 0.07	± 0.09	± 1.6	± 0.1	± 0.4	± 2.0	± 0.3	± 1.4	± 0.2	± 0.4	± 0.3	± 0.9	± 1.1	± 0.3	± 0.2	± 0.1	± 0.9	± 0.1	± 0.1	± 0.0	± 0.2	± 0.1	± 0.0
			2.09	1.35 [*]	35.1	0.6	5.2	28.4	1.0 [*]	46.3	0.8	2.6	5.5	15.6	18.2 ^{**}	2.8	0.8	0.1	15.9	0.7	0.2	0.1	1.1	0.5	0.0
		10	± 0.10	± 0.08	± 1.4	± 0.1	± 0.9	± 3	± 0.2	± 1.3	± 0.1	± 0.3	± 0.6	± 0.8	± 0.3	± 0.3	± 0.1	± 0.0	± 0.9	± 0.2	± 0.1	± 0.0	± 0.1	± 0.1	± 0.0

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

Table 5. Urinary examination of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	No. of rats	4 hrs volume (ml)	Sp. gr.	pH	Protein		Glucose		Ketone bodies	Bili- rubin		Occult blood		Urobili- nogen		WBC	RBC	Sediment			Cast																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
						±	++	±	+		±	±	±	±	±	±			±	±	±		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

a) : Mean±S.E.
b) : No. of rats with the indicated finding.
Statistically significant against control : * ; p<0.05, ** ; p<0.01

Table 6. Plasma components of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	No. of rats	Glucose (mg/dl)	T _{protein} (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G (ratio)	Creati- nine (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LAP (mU/ml)	ALP (mU/ml)	LDH (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Amylase (mU/ml)	Choles- terol (mg/dl)	Trigly- ceride (mg/dl)	T.Bili- rubin (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Chloride (mEq/l)	Ca (mg/dl)	Pi (mg/dl)	Fe (μ g/dl)
Male rats at the end of treatment period																								
Control	-	10	198 ^{a)}	5.7	3.4	1.5	0.43	25	122	94	33	270	425	173	2208	52	168	0.09	147	4.7	109	10.3	8.5	173
			± 3	± 0.1	± 0.0	± 0.01	± 1	± 1	± 22	± 19	± 1	± 17	± 95	± 23	± 63	± 2	± 23	± 0.00	± 0	± 0.3	± 1	± 0.1	± 0.1	± 12
7432-S	300	10	188	5.4 ^{**}	3.3	1.8 ^{**}	0.42	24	102	68	32	259	390	244	2177	59 [*]	138	0.10	150 ^{**}	4.6	110	10.3	8.7	188
			± 6	± 0.0	± 0.0	± 0.02	± 1	± 10	± 10	± 10	± 1	± 18	± 49	± 40	± 68	± 2	± 14	± 0.00	± 0	± 0.3	± 0	± 0.1	± 0.2	± 6
7432-S	1000	10	189	5.1 ^{**}	3.2 ^{**}	1.7 ^{**}	0.44	23	112	66	31	262	352	283	2105	90 [*]	105 [*]	0.09	148	4.2	109	10.1	8.5	181
			± 9	± 0.1	± 0.1	± 0.02	± 1	± 13	± 9	± 9	± 1	± 28	± 36	± 50	± 89	± 2	± 9	± 0.01	± 0	± 0.3	± 2	± 0.1	± 0.1	± 10
7432-S	3000	10	181 ^{**}	5.1 ^{**}	3.3 ^{**}	1.8 ^{**}	0.46	22 [*]	89	54	28 ^{**}	246	249	171	2071	68 ^{**}	80 ^{**}	0.09	150 ^{**}	3.9	110	10.5	8.3	200
			± 4	± 0.1	± 0.0	± 0.01	± 1	± 7	± 7	± 6	± 1	± 20	± 46	± 16	± 51	± 3	± 8	± 0.01	± 0	± 0.2	± 0	± 0.1	± 0.2	± 10
OCL	3000	10	192	5.2 ^{**}	3.3 [*]	1.8 ^{**}	0.51 [*]	21	92	84	30 [*]	170 ^{**}	321	184	2867 ^{**}	91 ^{**}	143	0.09	149 ^{**}	3.8 [*]	110	10.6	9.5 ^{**}	197
			± 8	± 0.1	± 0.0	± 0.1	± 0.03	± 2	± 13	± 12	± 1	± 17	± 56	± 17	± 76	± 6	± 24	± 0.01	± 0	± 0.2	± 1	± 0.1	± 0.1	± 6
Male rats at the end of recovery period																								
Control	-	10	163	5.7	3.3	1.4	0.60	25	62	36	32	251	120	284	2086	50	136	0.08	148	5.7	106	9.8	6.8	146
			± 5	± 0.1	± 0.0	± 0.02	± 1	± 2	± 2	± 3	± 1	± 17	± 7	± 58	± 65	± 2	± 17	± 0.00	± 0	± 0.1	± 1	± 0.1	± 0.2	± 6
7432-S	3000	10	155	5.4 [*]	3.2	1.5	0.47 ^{**}	24	59	28 ^{**}	29 [*]	212	131	399	2165	55	164	0.09	149 ^{**}	5.7	107	9.8	7.1	153
			± 5	± 0.1	± 0.0	± 0.03	± 1	± 4	± 2	± 2	± 1	± 16	± 14	± 90	± 48	± 3	± 16	± 0.00	± 0	± 0.2	± 0	± 0.1	± 0.1	± 3
OCL	3000	10	163	5.7	3.4	1.6 ^{**}	0.50 ^{**}	23	56	28 [*]	33	200 [*]	155 ^{**}	281	2215	55	161	0.09	150 ^{**}	5.8	107	10.0	7.1	155
			± 6	± 0.1	± 0.1	± 0.01	± 1	± 2	± 2	± 1	± 1	± 8	± 8	± 69	± 67	± 4	± 18	± 0.00	± 0	± 0.2	± 1	± 0.1	± 0.2	± 3
Female rats at the end of treatment period																								
Control	-	10	176	5.4	3.3	1.6	0.48	23	66	38	25	172	133	164	1470	61	59	0.08	144	4.5	109	9.5	7.0	256
			± 8	± 0.2	± 0.1	± 0.1	± 0.02	± 1	± 6	± 3	± 1	± 17	± 17	± 50	± 53	± 4	± 7	± 0.00	± 3	± 0.2	± 3	± 0.2	± 0.3	± 15
7432-S	300	9	191	5.4	3.4	1.8	0.55	27	78	40	26	161	113	202	1361	53	54	0.08	146	4.6	110	9.9	8.0	318 [*]
			± 24	± 0.1	± 0.1	± 0.04	± 1	± 7	± 6	± 1	± 15	± 22	± 94	± 59	± 59	± 2	± 9	± 0.01	± 2	± 0.4	± 2	± 0.2	± 0.4	± 23
7432-S	1000	10	161	5.6	3.6 [*]	1.8	0.58 ^{**}	27	68	35	22	162	115	358 [*]	1586	60	58	0.09	147	4.0	111	10.0	8.3 ^{**}	280
			± 8	± 0.1	± 0.1	± 0.02	± 2	± 5	± 3	± 1	± 20	± 19	± 71	± 81	± 2	± 11	± 0.01	± 1	± 0.2	± 1	± 0.1	± 0.3	± 21	
7432-S	3000	10	156	5.4	3.5	1.9 [*]	0.59 ^{**}	30 ^{**}	65	30 [*]	20 [*]	153	111	274	1414	58	48	0.08	149	3.7 [*]	112	10.2 [*]	7.8	289
			± 4	± 0.1	± 0.0	± 0.02	± 2	± 1	± 2	± 1	± 17	± 11	± 74	± 45	± 2	± 5	± 2	± 5	± 0.00	± 0	± 0.2	± 1	± 0.1	± 0.3
OCL	3000	9	161	5.0	3.3	2.0 ^{**}	0.54 [*]	29 [*]	63	50 [*]	22	126	138	186	1819 [*]	66	61	0.09 [*]	149	3.4 ^{**}	110	10.0	8.5 ^{**}	362 ^{**}
			± 7	± 0.1	± 0.1	± 0.01	± 0.02	± 2	± 9	± 8	± 1	± 16	± 26	± 32	± 44	± 3	± 7	± 0.00	± 0	± 0.2	± 1	± 0.1	± 0.2	± 16
Female rats at the end of recovery period																								
Control	-	10	160	5.7	3.5	1.6	0.57	22	49	29	27	137	51	108	1461	59	68	0.08	150	4.0	111	9.8	5.1	309
			± 3	± 0.1	± 0.1	± 0.01	± 1	± 2	± 2	± 1	± 1	± 14	± 6	± 17	± 56	± 3	± 16	± 0.00	± 1	± 0.1	± 1	± 0.1	± 0.2	± 18
7432-S	3000	9	168	5.9	3.7 [*]	1.7 [*]	0.52	24	48	26	25	120	55	176	1547	64	157 ^{**}	0.09	150	4.0	109	10.0	5.7 [*]	280
			± 7	± 0.1	± 0.1	± 0.02	± 1	± 3	± 2	± 1	± 13	± 5	± 57	± 48	± 4	± 107	± 0.01	± 1	± 0.1	± 1	± 0.1	± 0.1	± 20	
OCL	3000	10	156	5.7	3.6	1.7	0.46 ^{**}	22	48	22 ^{**}	25	113	54	110	1545	62	107	0.09	151	3.9	110	9.9	5.8 [*]	254 [*]
			± 4	± 0.1	± 0.1	± 0.02	± 1	± 1	± 1	± 1	± 1	± 12	± 5	± 24	± 56	± 4	± 20	± 0.00	± 0	± 0.1	± 1	± 0.1	± 0.3	± 14

a): Mean $\pm$ SEStatistically significant against control : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 7. Hepatic cytochrome P-450 content and drug-metabolizing enzyme activity in rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	Male						Female					
		No. of rats	Abs. Wt (g)	Cyt.	Coumar.	Coumar.	Coumar.	No. of rats	Abs. Wt (g)	Cyt.	Coumar.	Coumar.	Coumar.
				P-450 (nmol/g)	DMase (unit/g)	DEase (unit/g)	DPase (unit/g)			P-450 (nmol/g)	DMase (unit/g)	DEase (unit/g)	DPase (unit/g)
At the end of treatment period													
Control	-	8	15.25 ^{a)}	28.8	58.4	65.3	72.1	8	9.05	31.2	35.6	27.4	7.2
			±0.46	±1.3	±4.2	±7.4	±11.2		±0.23	±1.1	±1.7	±1.1	±0.3
7432-S	300	8	15.53	28.7	69.3	76.1	85.2	8	9.01	30.1	38.4	32.5	9.7
			±0.74	±1.3	±2.8	±4.6	±6.7		±0.31	±1.2	±2.2	±2.9*	±1.6
7432-S	1000	8	14.54	29.7	66.0	73.5	84.8	8	8.89	30.5	42.7*	32.6	8.0
			±0.75	±1.2	±3.2	±5.6	±7.9		±0.37	±0.9	±1.8	±1.4	±0.4
7432-S	3000	8	13.83	28.0	62.1	76.1	88.6	8	8.67	27.7	42.4*	32.2	8.4
			±0.53	±1.3	±2.2	±5.0	±7.7		±0.20	±1.3	±2.6	±2.1	±0.6
CCL	3000	8	17.34	30.8	60.9	86.5*	109.8*	8	10.84**	28.4	50.7**	38.2**	9.9**
			±0.90	±1.1	±2.1	±4.4	±7.7		±0.14	±1.1	±2.1	±1.6	±0.4
At the end of recovery period													
Control	-	8	17.91	31.7	60.9	70.0	78.8	8	9.17	30.4	38.7	29.7	9.0
			±1.17	±1.1	±3.7	±6.1	±9.0		±0.37	±1.4	±1.2	±1.1	±0.6
7432-S	3000	8	18.49	31.5	63.1	66.9	71.6	8	9.94	31.2	40.2	31.0	8.3
			±0.39	±1.5	±2.6	±3.3	±5.7		±0.31	±1.2	±0.8	±0.6	±0.2
CCL	3000	8	19.55	31.2	68.3	74.9	81.9	8	9.75	31.1	41.0	31.6	8.7
			±1.35	±2.4	±2.9	±6.0	±9.2		±0.42	±1.0	±1.9	±1.4	±0.4

a): Mean ± SE

Statistically significant against control : * ; p<0.05, ** ; p<0.01

coumar. DEase, coumar. DPase 活性が軽度上昇し、雌では coumar. DMase 活性も上昇した。

これら諸変化は休業によりほぼ回復した (Table 7)。

10. 器官重量および剖検所見

泥状物を貯めた盲腸の拡張が検体投与全群に共通してみられ、7432-S 投与群では 1000 mg/kg 以上投与群で顕著であった。7432-S 投与群では他に 1000 mg/kg 以上投与群で心臓の軽度重量減少がみられ、300 mg/kg 投与群でもその傾向がうかがわれた。3000 mg/kg 投与群の雄で肝臓、脾臓および前立腺の軽度重量減少がみられた。CCL 投与群でも、心臓と脾臓の軽度重量減少が雌雄に共通してみられたが、肝臓は逆に軽度重量増加がみられた。CCL 投与群では他に胸腺の重量減少、腎臓の重量増加が認められた (Table 8, 9)。

35 日間の休業後にも、盲腸は両検体投与群とも軽度ながら拡張していた。7432-S 投与群の 1 例で回腸から結腸にかけて粘膜が赤かった。CCL 投与群では、盲腸壁の限局性的水腫が 5 例にみられ、稀に粘膜出血が観察

された。

11. 病理組織学的所見

投与期間終了時解剖例では、対照群の雌 1 例で盲腸粘膜の出血性壊死を伴う腸炎がみられ、CCL 投与群の雌 1 例に盲腸粘膜下の水腫と粘膜固有層のうつ血が観察された。胸腺皮質リンパ球の減少による萎縮が 7432-S 3000 mg/kg 投与群と CCL 投与群に共通してみられ、髄質の出血を伴う例もあった。CCL 投与群では腎臓において尿細管の拡張と好塩基性上皮からなる尿細管が雌雄各 1 例で限局性にみられ (Fig. 4)、雄で副腎束状層の肥厚が観察された (Table 10)。

回復試験終了時解剖例では、盲腸粘膜に細菌塊を伴った出血性壊死が 7432-S 投与群の 1 例と CCL 投与群の 4 例にみられ (Fig. 5)、粘膜下水腫が CCL 投与群の 4 例にみられた (Fig. 6)。

12. 電顕所見

肝臓および腎臓ともに特記すべき変化はなかった。

Table 8. Organ weights of male rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	No. of rats	Final BW (g)	Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Submax (g)	Thymus (mg)	Pituitary (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Prostate (g)	Brain (g)	Caecum (g)
Absolute organ weights of rats killed at the end of treatment period																
Control	10	380 a)	1.13	1.18	2.61	15.72	0.82	0.70	492	18.6	10.5	62.7	3.41	0.43	1.98	6.7
		±8	±0.02	±0.02	±0.06	±0.49	±0.03	±0.05	±24	±1.1	±0.5	±2.7	±0.07	±0.03	±0.02	±0.3
7432-S	300	383	1.06	1.16	2.77	15.89	0.82	0.64	473	16.8	11.3	57.6	3.56	0.68	1.97	10.9**
		±10	±0.03	±0.03	±0.07	±0.88	±0.04	±0.02	±23	±0.8	±0.4	±1.8	±0.06	±0.21	±0.03	±0.7
7432-S	1000	377	1.01**	1.17	2.56	14.20	0.82	0.62	428	18.8	10.6	58.9	3.43	0.41	1.97	18.7**
		±13	±0.03	±0.03	±0.11	±0.66	±0.04	±0.02	±24	±1.1	±0.7	±3.5	±0.06	±0.04	±0.04	±1.4
7432-S	3000	381	0.96**	1.16	2.61	13.62**	0.71**	0.65	420	15.5*	10.8	62.9	3.40	0.34*	1.95	29.7**
		±11	±0.03	±0.03	±0.06	±0.49	±0.02	±0.03	±31	±0.9	±0.4	±2.6	±0.08	±0.03	±0.01	±1.8
CCL	3000	354	0.89**	1.14	2.83*	16.75	0.71**	0.61	237**	16.8	10.1	76.6*	3.47	0.37	1.95	22.7**
		±13	±0.02	±0.03	±0.08	±0.82	±0.03	±0.03	±12	±0.9	±0.4	±4.0	±0.06	±0.02	±0.02	±1.4
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of treatment period																
Control	10		0.30	0.31	0.69	4.14	0.22	0.19	129	4.9	2.8	16.5	0.90	0.11	0.52	1.77
		±0.00	±0.00	±0.01	±0.08	±0.01	±0.02	±0.01	±5	±0.3	±0.1	±0.7	±0.03	±0.01	±0.01	±0.05
7432-S	300		0.28**	0.30	0.72*	4.13	0.21	0.17	123	4.4	3.0	15.1	0.93	0.18	0.52	2.85**
		±0.01	±0.01	±0.01	±0.14	±0.01	±0.01	±0.01	±4	±0.2	±0.2	±0.6	±0.02	±0.06	±0.02	±0.15
7432-S	1000		0.27**	0.31	0.68	3.76**	0.22	0.16	113*	5.1	2.8	15.7	0.92	0.11	0.53	5.00**
		±0.00	±0.01	±0.02	±0.07	±0.01	±0.01	±0.01	±4	±0.4	±0.2	±1.0	±0.04	±0.01	±0.02	±0.39
7432-S	3000		0.25**	0.30	0.69	3.57**	0.19**	0.17	110*	4.1*	2.8	16.4	0.90	0.09*	0.52	7.78**
		±0.00	±0.01	±0.01	±0.05	±0.01	±0.01	±0.01	±8	±0.2	±0.1	±0.6	±0.03	±0.01	±0.01	±0.40
CCL	3000		0.25**	0.32	0.80**	4.72**	0.20*	0.17	68**	4.8	2.8	21.7**	0.99	0.10	0.56	6.44**
		±0.01	±0.01	±0.02	±0.11	±0.00	±0.01	±0.01	±4	±0.3	±0.1	±0.9	±0.04	±0.01	±0.02	±0.36
Absolute organ weights of rats killed at the end of recovery period																
Control	1000	472	1.25	1.33	2.97	17.78	0.99	0.70	415	17.6	12.9	55.1	3.55	0.66	2.09	6.6
		±15	±0.06	±0.05	±0.15	±1.00	±0.06	±0.03	±41	±1.0	±0.6	±3.2	±0.08	±0.06	±0.02	±0.2
7432-S	3000	483	1.28	1.27	3.13	18.73	0.93	0.72	329	18.1	12.3	55.4	3.47	0.60	2.08	8.5**
		±10	±0.03	±0.03	±0.77	±0.36	±0.04	±0.02	±38	±1.1	±0.3	±3.0	±0.21	±0.20	±0.04	±0.5
CCL	3000	470	1.28	1.28	3.30	19.45	0.90	0.75	324	17.5	12.5	56.2	3.59	0.68	2.07	9.5**
		±14	±0.04	±0.01	±0.08	±1.07	±0.03	±0.03	±23	±0.7	±0.5	±1.4	0.07	±0.03	±0.02	±0.6
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of recovery period																
Control	-	10	0.26	0.28	0.63	3.75	0.21	0.15	89	3.8	2.7	11.7	0.76	0.14	0.45	1.42
		±0.01	±0.01	±0.02	±0.11	±0.01	±0.01	±0.01	±9	±0.2	±0.1	±0.6	±0.02	±0.01	±0.01	±0.05
7432-S	3000	10	0.27	0.26	0.65	3.89	0.19	0.15	69	3.7	2.6	11.5	0.72	0.12	0.43	1.75**
		±0.01	±0.01	±0.02	±0.09	±0.01	±0.01	±0.01	±8	±0.2	±0.1	±0.6	±0.04	±0.01	±0.01	±0.07
CCL	3000	10	0.27	0.28	0.65	4.12*	0.19	0.16	68	3.7	2.7	12.0	0.77	0.14	0.44	2.02**
		±0.01	±0.01	±0.01	±0.12	±0.01	±0.01	±0.01	±3	±0.2	±0.1	±0.4	±0.02	±0.01	±0.01	±0.12

a): Mean ± S. E.

Statistically significant against control: *p<0.05, **p<0.01

Table 9. Organ weights of female rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Compound	Dose (mg/kg)	No. of rats	Final BW (g)	Heart (g)	Lung (g)	Kidney (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Submax (g)	Thymus (mg)	Thyroid (mg)	Pituitary (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)	Uterus (g)	Brain (g)	Caecum (g)
Absolute organ weights of rats killed at the end of treatment period																	
Control	-	10	229 ^a	0.75 ± 0.01	1.00 ± 0.03	1.57 ± 0.04	9.09 ± 0.20	0.59 ± 0.02	0.46 ± 0.01	369 ± 33	14.2 ± 0.8	12.6 ± 0.5	68.7 ± 4.9	91 ± 4	0.60 ± 0.07	1.89 ± 0.02	4.6 ± 0.3
7432-S	300	10	237	0.72 ± 0.02	0.93 ± 0.02	1.66 ± 0.34	9.34 ± 0.61	0.61 ± 0.03	0.47 ± 0.01	387 ± 10	13.1 ± 0.4	12.3 ± 0.7	65.5 ± 2.2	92 ± 4	0.63 ± 0.13	1.88 ± 0.02	6.3 ± 0.4
7432-S	1000	10	242	0.69 ± 0.02	0.94 ± 0.05	1.63 ± 0.05	8.96 ± 0.30	0.58 ± 0.03	0.43 ± 0.01	386 ± 22	12.2 ± 0.5	13.5 ± 0.7	66.3 ± 2.2	83 ± 5	0.62 ± 0.08	1.90 ± 0.03	15.9 ± 0.8
7432-S	3000	10	240	0.66 ± 0.01	1.05 ± 0.03	1.59 ± 0.03	8.77 ± 0.55	0.55 ± 0.02	0.43 ± 0.01	315 ± 19	13.1 ± 0.7	12.4 ± 0.3	68.1 ± 2.7	92 ± 3	0.48 ± 0.04	1.88 ± 0.02	19.7 ± 1.4
CCL	3000	10	235	0.65 ± 0.01	0.92 ± 0.05	1.96 ± 0.05	10.79 ± 0.53	0.53 ± 0.01	0.46 ± 0.01	253 ± 15	12.8 ± 0.7	12.5 ± 0.5	74.8 ± 3.5	88 ± 3	0.47 ± 0.03	1.84 ± 0.02	16.8 ± 1.1
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of treatment period																	
Control	-	10		0.33 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.69 ± 0.02	3.98 ± 0.06	0.26 ± 0.01	0.20 ± 0.01	162 ± 14	6.2 ± 0.4	5.5 ± 0.3	30.1 ± 2.1	40 ± 1	0.26 ± 0.03	0.83 ± 0.02	2.02 ± 0.11
7432-S	300	10		0.30 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.70 ± 0.01	3.94 ± 0.26	0.26 ± 0.01	0.20 ± 0.01	164 ± 5	5.5 ± 0.2	5.2 ± 0.2	27.6 ± 0.8	39 ± 1	0.27 ± 0.06	0.80 ± 0.01	2.64 ± 0.13
7432-S	1000	10		0.29 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.67 ± 0.02	3.70 ± 0.24	0.24 ± 0.01	0.18 ± 0.01	159 ± 7	5.0 ± 0.2	5.5 ± 0.2	27.5 ± 1.0	34 ± 2	0.26 ± 0.04	0.79 ± 0.01	6.56 ± 0.30
7432-S	3000	10		0.27 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.66 ± 0.01	3.66 ± 0.23	0.23 ± 0.01	0.18 ± 0.01	131 ± 8	5.5 ± 0.3	5.2 ± 0.2	28.4 ± 1.2	38 ± 1	0.20 ± 0.02	0.79 ± 0.01	8.15 ± 0.47
CCL	3000	10		0.28 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.84 ± 0.01	4.59 ± 0.22	0.22 ± 0.01	0.19 ± 0.01	108 ± 6	5.5 ± 0.3	5.3 ± 0.2	31.9 ± 1.6	38 ± 1	0.20 ± 0.01	0.78 ± 0.01	7.14 ± 0.46
Absolute organ weights of rats killed at the end of recovery period																	
Control	-	10	260	0.81 ± 0.03	1.02 ± 0.02	1.70 ± 0.04	9.11 ± 0.30	0.62 ± 0.03	0.48 ± 0.01	304 ± 26	14.9 ± 1.1	15.8 ± 0.7	63.0 ± 1.8	81 ± 3	0.71 ± 0.10	1.98 ± 0.03	4.1 ± 0.1
7432-S	3000	9	267	0.78 ± 0.03	0.99 ± 0.02	1.62 ± 0.04	9.72 ± 0.58	0.58 ± 0.02	0.47 ± 0.01	270 ± 31	14.5 ± 0.7	14.7 ± 0.8	60.0 ± 1.8	84 ± 4	0.79 ± 0.10	1.91 ± 0.01	5.6 ± 0.5
CCL	3000	10	263	0.80 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.74 ± 0.05	9.70 ± 0.62	0.62 ± 0.02	0.46 ± 0.01	278 ± 19	15.9 ± 1.4	14.0 ± 0.6	64.5 ± 2.5	89 ± 3	0.54 ± 0.04	1.95 ± 0.01	5.7 ± 0.2
Relative organ weights (per 100g body weight) of rats killed at the end of recovery period																	
Control	-	10		0.31 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.66 ± 0.01	3.49 ± 0.06	0.24 ± 0.01	0.18 ± 0.01	116 ± 9	5.7 ± 0.4	6.1 ± 0.2	24.3 ± 0.8	31 ± 1	0.27 ± 0.04	0.76 ± 0.01	1.58 ± 0.07
7432-S	3000	9		0.29 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.61 ± 0.01	3.65 ± 0.22	0.22 ± 0.01	0.18 ± 0.01	100 ± 8	5.4 ± 0.2	5.5 ± 0.3	22.7 ± 1.0	32 ± 2	0.29 ± 0.03	0.72 ± 0.02	2.09 ± 0.16
CCL	3000	10		0.30 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.66 ± 0.01	3.69 ± 0.24	0.24 ± 0.01	0.18 ± 0.01	105 ± 5	6.1 ± 0.6	5.4 ± 0.3	24.7 ± 1.1	34 ± 2	0.21 ± 0.02	0.75 ± 0.02	2.18 ± 0.11

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

Table 10. Main pathological findings of rats administered 7432-S or cefaclor orally for 35 days

Findings	Compound	End of treatment period						End of recovery period					
	Dose (mg/kg/day)	Control	7432-S				CCL	Control	7432-S		CCL		
	Sex	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	M F	
	No. of rats observed	10 10	10 10	10 10	10 10	10 10	10 10	10 10	10 9	10 10			
Gross findings													
Caecum													
Enlargement with muddy contents			7 ^{a)} 8		10 10	10 10	10 10					3	
Slight enlargement with normal contents									6 5		6 3		
Edematous thickening of mucosa												3	
Thymus													
Atrophy		4		2 4		2 4	10 10						
Microscopic findings													
Caecum													
Hemorrhagic necrosis of mucosa with bacterial overgrowth		1								1	4		
Submucosal edema								1			4 4		
Thymus													
Decrease of cortical lymphocyte		5		4	1 5	10 10							
Kidney													
Localized tubular dilatation							1 1						
Adrenal													
Hypertrophy of z.fasciculata cell							10						
Lung													
Hemorrhagic change or pneumonia		2		2		2 1	1						

a) : No. of rats with findings

III. 考 察

7432-S 300, 1000, 3000 mg/kg と対照薬として CCL 3000 mg/kg をラットに 1 日 1 回, 35 日間経口投与した結果, 軟便と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。

検体投与群の雌では対照群を上回る体重増加がみられたが, 盲腸重量の増加分にはほぼ等しかった。雄では 7432-S 投与群での体重は対照群と同等であったことから, 盲腸重量増加分を差し引けば, 実質上の体重は対照群より低く, CCL 投与群の雄では更に低かった。検体投与群では摂取量が対照群より多いにもかかわらず 7432-S

1000 mg/kg 以上投与群の雄では血漿総タンパク質, トリグリセリドが軽度低下し, 3000 mg/kg 投与群でカリウムが低下した。これは CCL 投与群にもほぼ共通した現象であり, 投与検体の抗菌作用による腸内細菌叢の変動とそれによる消化, 吸収力の低下が主因と考えられる。

尿検査では, 尿量減少と pH の低下および尿タンパクの増加が検体投与群に共通してみられた。採尿は当日の検体投与直後から行うため, 尿量減少は高濃度の検体投与による物理的要因の関与が考えられ, 尿量減少が尿タンパク濃度の上昇の一因と思われる。尿 pH の低下は尿中排泄された検体あるいはその代謝物による蓄尿時の細

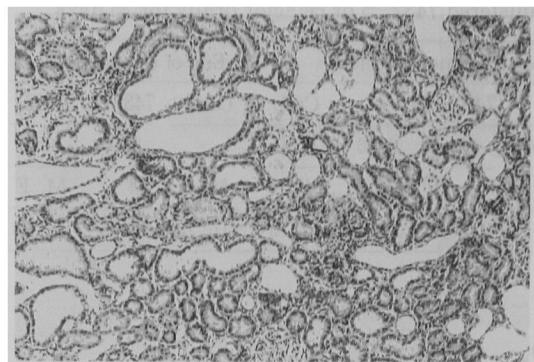


Fig. 4. Kidney : male rat given orally 3000 mg/kg/day of cefaclor for 35 days. Tubular dilatation and tubules lined by regenerated epithelium are observed. Slight inflammatory cell infiltration is also seen. H-E, $\times 115$

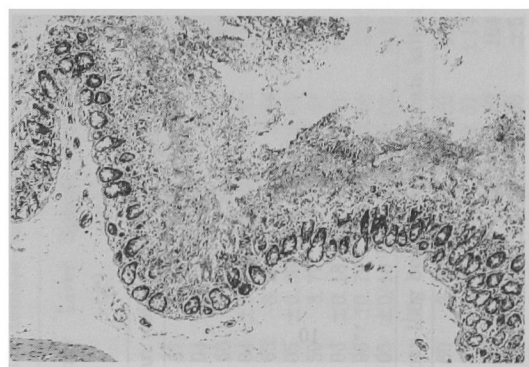


Fig. 5. Caecum : male rat provided for the recovery study after the treatment with 3000 mg/kg/day of cefaclor. Hemorrhagic necrosis with bacterial overgrowth in mucosa is seen. H-E, $\times 88$

菌増殖の抑制が関与していると思われる。7432-S 3000 mg/kg 投与群とCCL投与群の雌では、尿素窒素とクレアチニンが軽度上昇したが、腎臓の病理組織学的検査では、7432-Sの腎障害を示唆する所見はなかった。

器官重量変化として心臓および脾臓の軽度重量減少が両検体に共通してみられたが、心臓には組織学的変化はなかった。脾臓、胸腺の萎縮、副腎束状層の肥厚は非特異的ストレスによる変化と考えられ、7432-S投与群では3000 mg/kg投与群にほぼ限られており、CCL投与



Fig. 6. Caecum : female rat provided for the recovery study after the treatment with 3000 mg/kg/day of cefaclor. Submucosal edema is observed. H-E, $\times 34$

群より軽度であった。盲腸では粘膜の出血性壊死や粘膜下水腫がみられる例があったが、投与期間終了時解剖例では対照群とCCL投与群の1例のみであり、休業後のCCL投与群でこれらより発現頻度が高く、検体投与との相関性は不明であった。モルモット⁵⁻⁷⁾やハムスター^{8,9)}はclindamycinなどの抗生剤による致死性腸炎が知られているが、今回の試験では、盲腸粘膜に変性がみられた例でも一般状態や諸臨床検査値に異常は認められなかった。

以上のとおり、7432-Sは3000 mg/kgを1日1回、1カ月間投与しても重篤な毒性はみられなかったが、1000 mg/kg以上投与群で心臓の軽度重量減少や雄では血漿総タンパク質、トリグリセリドの軽度低下がみられた。抗生剤投与時にげっ歯類では普遍的にみられる盲腸の拡張を除けば、本試験条件下での7432-Sの無影響量は300 mg/kg日と推定された。

(試験実施期間：1984年10月～1985年10月)

IV. 謝 辞

本試験の遂行に御協力いただいた松井信志、藤島昇一、西部泰弘、原内敏夫、高野享治、池内滋郎、古川 仁、中野 瞭、花房友行、渡邊 弘、宮後直子、豊島靖子、横澤由香里、大利喜代子、宮本益子の諸氏に感謝する。

文 献

- 1) 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:

- 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。Chemotherapy 37(S-1): 804~815, 1989
- 2) 長谷川隆司, 三好幸二, 清水康資, 野村 章, 仲澤政雄, 原田喜男: Cefaclor の急性, 亜急性ならびに慢性毒性試験。Chemotherapy 27 (S-7): 765~811, 1979
 - 3) MATSUBARA, T. TOUCHI A. and OGAWA A.: Heterogeneous distribution of cytochrome P-450 monooxygenase system in rat liver lobes. Japan J. Pharmacol. 32: 999~1011, 1982
 - 4) MATSUBARA, T. OTSUBO S. YOSHIHARA E. and TOUCHI A.: Biotransformation of coumarin derivatives (2) oxidative metabolism of 7-alkoxycoumarin by microsomal enzymes and a simple assay procedure for 7-alkoxycoumarin O-dealkylase. Japan J. Pharmacol. 33: 41~56, 1983
 - 5) REHG, J. E.: Cecal toxin(s) from guinea pigs with clindamycin-associated colitis, neutralized by *Clostridium sordellii* anti-toxin. 27 (2): 387~390, 1980
 - 6) FARRAR, W.E. Jr., KENT T.H. and ELLIOTT V. B.: Lethal gram-negative bacterial superinfection in guinea pigs given bacitracin. J. Bacteriol. 92: 496~501, 1966
 - 7) KNOOP, F. D.: Clindamycin-associated enterocolitis in guinea pigs: evidence for a bacterial toxin. Infect. Immun. 23: 31~33, 1979
 - 8) BARTLETT, J. G. ONDERDONK A. B. CISNEROS R. L. and KASPER D. L.: Antibiotic-induced colitis due to a toxin-producing species of *Clostridium* in hamsters. J. Infect. Dis. 136: 701~705, 1977
 - 9) RIFKIN, G. D., SILVA J. and FEKETY F. R.: Gastrointestinal and systemic toxicity of fecal extracts from hamsters with clindamycin-induced colitis. Gastroenterology 74: 52~57, 1978

ONE MONTH SUBACUTE TOXICITY STUDY OF 7432-S (CEFTIBUTEN), AN ORAL CEPHEM ANTIBIOTIC, IN RATS

FUMIHIKO KOBAYASHI, ISAO YAHARA, TOSHIO YOSHIZAKI
and YOSHIHIRO MURAOKA

Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.
5-12-4, Sagisu, Fukushima-ku, Osaka 553, Japan

A subacute toxicity study of 7432-S was conducted by oral administration to male and female rats once daily for 35 days consecutively at the doses of 300, 1000 and 3000 mg/kg, and compared with that of 3000 mg/kg of cefaclor (CCL). The following results were obtained.

1) Slightly soft stools and abdominal enlargement were observed in all the groups treated. A slight suppression of body weight gain was noted in males of the CCL group, but no deaths occurred in either group. Some animals showed slight depression and blepharoptosis in the 7432-S 3000 mg/kg and CCL groups, but no other abnormal changes.

2) Decreased volume of urine and lowered pH level were observed in the urinalysis, decrease in total protein and potassium in the plasma analysis of all the treatment groups, and lowered triglyceride in the males of 7432-S groups.

3) Cecal dilation filled with a muddy residue was commonly observed in all the treatment groups at autopsy. Decreasing tendency or slight decrease in the weight of thymus, heart and spleen were observed in the groups given 1000 mg/kg or more of 7432-S or CCL. However, no changes suggesting toxic effects of the compounds on the organs were found. Histological findings of the CCL group suggested stress and slight renal disorders. Bleeding and necrosis were observed in the cecal mucous layer with bacterial growth in a few animals of the treatment groups including recovery test groups and the control group.

4) The above-mentioned changes disappeared when the drug was withdrawn for 35 days.

Various changes in the 7432-S groups were similar to and lighter than those of the CCL group when similar dose levels were compared. Since most of changes except for cecal enlargement were observed in the groups given 1000 mg/kg or more of 7432-S, the maximum no-effect dose of 7432-S was estimated to be 300 mg/kg/day.