

## 新キノロン系抗菌剤Fleroxacinのマウス、ラット及びイヌにおける急性毒性試験

相島 博・土屋 剛・篠田和俊・佐山典子・阿部泰夫  
杏林製薬株式会社 中央研究所\*

今井 繁・野本恭之・笠井正博  
棚瀬裕文・大竹正二・鳥屋部保  
杏林製薬株式会社 開発技術センター

新キノロン系抗菌剤fleroxacinの急性毒性をマウス、ラット及びイヌを用いて検討し、次の結果を得た。

1) LD<sub>50</sub>値は、経口投与時において、マウス、ラットともに4000mg/kg以上、イヌでは1000mg/kg以上であった。皮下及び腹腔内投与時においては、マウス、ラットともに1500mg/kg以上であり、静脈内投与では、マウス雄217mg/kg、雌237mg/kg、ラット雄205mg/kg、雌261mg/kgであった。

2) 中毒症状としては、マウスの経口、腹腔内及び静脈内投与並びにラットの腹腔内及び静脈内投与で、鎮静、腹臥、眼瞼下垂等がみられ、またイヌの経口投与で、嘔吐と関節障害によると思われる立位、歩行の忌避、歩行異常が全例に認められた。

3) イヌの経口投与では、血液学的検査でESRの増加、血液生化学的検査で軽度の血清総たん白量の増加とA/G比の低下が認められた。剖検では、全例の可動関節の関節軟骨表面に水疱形成及びびらんがみられ、病理組織学的には限局性の空隙形成及びその外側軟骨層の剥離として認められた。

**Key words** : Fleroxacin, 急性毒性, マウス, ラット, イヌ

6, 8-Difluoro-1-(2-fluoroethyl)-1, 4-dihydro-7-(4-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (fleroxacin)はquinolone母核を有する合成抗菌剤で、広い抗菌スペクトラムを示すことが確認されている<sup>1)</sup>。本報ではfleroxacinの安全性を確認する目的で、マウス、ラット及びイヌにおける急性毒性試験を実施したのでその成績について述べる。

### I. 実験材料及び方法

#### 1. 被験物質

本試験には杏林製薬株式会社で合成されたLot No. 830316, 840217, 830530の原末を使用した。

また、静脈内投与には、1%水溶液(Lot No. L489010)を使用し、その組成は、fleroxacin : 1%, 乳酸 : 0.52%, ブドウ糖 : 0.95%, 乳酸ナトリウム : 1.87%, 水酸化ナトリウム : 0.015%であった。

#### 2. 実験動物及び飼育条件

##### 1) マウス及びラット

経口、皮下、腹腔内投与では、7週齢のSlc : ICRマウス(静岡実験動物農業協同組合)及び同週齢のJcl : Wistarラット(日本クレア)を用いた。投与時の体重は、マウス

の場合、経口では雄29.3~34.1g、雌23.8~26.4g、皮下では雄28.2~32.9g、雌23.1~28.1g、腹腔内では雄31.5~35.7g、雌24.3~28.7gであった。ラットの場合、経口では雄190.7~223.6g、雌143.1~172.4g、皮下では雄190.7~222.1g、雌149.6~173.7g、腹腔内では雄200.9~219.5g、雌148.7~169.1gであった。

静脈内投与では、7週齢のCrj : CD-1(ICR)マウス雌雄各80匹(日本チャールス・リバー、投与時体重 雄32.2~38.9g、雌22.4~28.4g)及び同週齢のCrj : Wistarラット雌雄各70匹(日本チャールス・リバー、投与時体重雄203.3~254.2g、雌148.6~186.9g)を用いた。

予備飼育及び実験期間中は、室温20~26℃、湿度42~78%のバリア内で、床敷(ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー)を敷いたポリカーボネイトケージで飼育した。

1ケージあたりの収容動物数はマウスの場合雌雄とも5~10匹、ラットの場合、雌雄とも3~5匹とした。飼料(CE-2 : 日本クレア)及び水(水道水)は自由に摂取させた。各動物種、各投与経路ともに雌雄各10匹/群とした。

##### 2) イヌ

\* 〒329-01 栃木県下都賀郡野木町御手洗2399-1

日本クレアより購入した3.9ヵ月齢の日本EDM産のビーグル犬雌雄各6頭を、11日間の予備飼育期間を設け検疫、馴化後用いた。投与時は4ヵ月齢で体重は雄6.4~7.7kg, 雌5.2~6.8kgであった。

動物は個別にステンレスケージ(W90×D85×H75cm)に収容し、室温22~24℃, 湿度45~75%の環境下で飼育した。固型飼料(DS:オリエンタル酵母)は1日250gを、飲料水(水道水)は1日1lを与えた。動物数は、雌雄各2頭/群とした。

### 3. 投与量及び投与方法

#### 1) マウス及びラット

投与経路は、臨床適用の経口の他、皮下、腹腔内及び静脈内投与の4経路とし、静脈内投与以外は動物を前日より22時間絶食させた後に投与を行った。被験物質は経口投与では0.3% CMC溶液に、皮下及び腹腔内投与では生理食塩水に懸濁した。投与量は経口投与では4000mg/kg, 皮下及び腹腔内投与では1500mg/kgとした。各投与方法における投与量の設定は、技術的に投与可能と考えられた最大量とした。経口投与は金属製胃ゾンデを用い胃内に、また皮下及び腹腔内投与は1/3針を用いて、各々背部皮下及び腹腔内に投与した。静脈内投与では、マウスの場合、100mg/kgから360mg/kgまでの8用量を設定し、ラットの場合、100mg/kgから300mg/kgまでの7用量を設定した。それぞれ1%水溶液を1/3針を用いて、約2~3ml/分の速度で尾静脈内に投与した。なお、1%水溶液を用いた場合、300mg/kgはラットの静脈内投与での最大投与可能量(30ml/kg)と考えた。

#### 2) イヌ

投与経路は経口とし、カプセルによる強制投与とした。被験物質は硬ゼラチンカプセル(サイズ:00, 日本エランコ)に最大400mgを充てんし、最高投与量は投与カプセル数から考えて投与可能な最大量と思われる1000mg/kgとし、以下、400, 160mg/kgの3用量を設定した。投与は動物を約16時間絶食させた後に行った。

### 4. 観察方法

#### 1) マウス及びラット

投与直後から2週間にわたり毎日一般状態を観察した。体重測定は経口、皮下、腹腔内投与では、投与前並びに観察期間中9回、静脈内投与では、投与前並びに観察期間中5回行った。

死亡動物は発見直後に剖検し、生存動物は全例投与14日目にエーテル麻酔下にて放血屠殺し、剖検した。経口、皮下、腹腔内投与では、肉眼的に異常の認められた組織のみ、組織学的検索のため10%緩衝ホルマリン溶液にて固定した。その後常法に従いパラフィン切片を作製し、H・E染色を施して鏡検した。

LD<sub>50</sub>値及び95%信頼限界値は、投与後14日間の累積死亡率からProbit法により算出した。

#### 2) イヌ

##### (1) 一般状態観察並びに体重、摂餌量測定

投与直後から2週間にわたり毎日一般状態を観察した。また、投与4日前、投与直前及び投与後1, 4, 6時間目、1, 7, 13日目に脈拍数と呼吸数の測定を行った。体重は、投与日、投与後1, 3, 7, 10, 14日目に、摂餌量は、投与1日前、投与後1, 3, 7, 10及び14日目に測定した。

##### (2) 血液学的検査

投与5日前、投与後7及び13日目に、橈側皮静脈より採血し、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量(自動血球計算器ACM-503, エルマ光学)、血小板数(自動血小板計数器ACM-403, エルマ光学)、ヘマトクリット値(Wintrobe法)及び赤血球沈降速度(ESR)を測定した。また、同時に耳介静脈より採血し、血液塗抹標本(May-Giemsa染色)を作製、白血球種別分類を行った。

##### (3) 血液生化学的検査

投与5日前、投与後7及び13日目に、橈側皮静脈より採血し、得られた血清について総たん白、アルブミン、A/G比、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、グルコース、総ビリルビン、直接ビリルビン、間接ビリルビン、Ca, GOT, GPT, ALP, ChE, LDH, CPK, 無機リン(Pi)、総コレステロール、遊離コレステロール、リン脂質、トリグリセライド(TG)、遊離脂肪酸(FFA)、尿酸(UA)を日立705型自動分析装置にて、Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>を日立775型炎光光度計にて測定した。

##### (4) 尿検査

投与5日前、投与後7及び13日目に新鮮尿にて、pH, たん白、グルコース、ケトン体、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン(試験紙法:マルティスティックスⅢ, マイルス・三共)を検査した。

##### (5) 眼科的検査

投与4日前及び投与後10日目に外眼部の視診、瞳孔反射の確認後、ミドリリンP(参天製薬)で散瞳させ、細隙灯顕微鏡(SL-2, 興和)を用いて前眼部と中間透光体を、眼底カメラ(RC-2, 興和)を用いて眼底を検査した。

##### (6) 病理学的検査

投与後2週目にベントバルビタール麻酔下にて、放血屠殺し剖検するとともに、脳、下垂体、顎下腺、胸腺、心臓、肺、脾臓、肝臓、盲腸、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮の重量を測定した。

また、環椎後頭関節、環軸関節及び四肢の可動関節の軟骨表面については、肉眼及び実体顕微鏡により精査した。

上腕骨頭、大腿骨遠位端、肝臓、盲腸、腎臓、副腎、精巣、卵巣、眼球及び剖検時肉眼的に異常のみられた組織は10%緩衝ホルマリン溶液にて固定した。その後常法に従いパラフィン切片を作製し、関節はトルイジン・ブルー染色、その他はH・E染色を施して鏡検した。

## II. 実験結果

### 1. LD<sub>50</sub>値と死亡状況

LD<sub>50</sub>値及びその95%信頼限界値をTable 1に、また、各用量における死亡状況をTable 2にそれぞれ示した。

マウス、ラットの静脈内投与におけるLD<sub>50</sub>値には明らかな性差、種差は認められなかった。また、死亡例は、静脈内投与以外には、ラットの腹腔内投与の雄1例に認められたのみであった。

### 2. 一般状態観察と検査所見

#### 1) 経口投与

##### (1) マウス

雌雄ともに投与15分後に、鎮静、腹臥、眼瞼下垂が全例にみられた。60分後には呼吸促進の個体も散見された。以上の症状は5時間後から徐々に回復し始め、翌日は総て正常に復した。体重は投与翌日より増加した。14日目における剖検所見には何ら異常は認められなかった。

##### (2) ラット

一般状態に特に異常は認められなかった。体重は投与後一過性に増加抑制がみられたが、4日目頃から徐々に回復し、その後順調に増加した。14日目における剖検所見には何ら異常は認められなかった。

##### (3) イヌ

#### i) 一般状態観察、体重及び摂餌量

投与30分以降、全例に嘔吐がみられたが、その初発

時間は個体により差異がみられ、30分後からほぼ4時間後まで様々であり、嘔吐の頻度とともに用量依存性はなかった。嘔吐物には、被験物質と思われる白色の物質が含まれていることが多かった。投与1時間以降、全例に脈拍数の増加がみられたが、そのピーク時間や増加程度に用量依存性はなかった。また、400mg/kg群の雌1例では投与後2時間すぎに、間代性痙攣が単発的にみられた。この個体では投与後30分頃に発声や軟便が、痙攣と同時期から流涎や自発運動減少がみられた。その他に各群で発声、自発運動の増加や減少、外来刺激に対する反応性の亢進や低下、流涎、眼瞼下垂、軟便、食思不振及び呼吸数増加が散見された。これらの症状は投与翌日以降にはほとんど認められなかった。更に、全例において投与後2日目から立位や歩行を嫌い、後肢を引きずるような歩行がみられ始め、4日目頃にその症状は最も激しくなった。以後、徐々に軽減し始めたが観察終了日まで継続してみられる例が多かった。この症状は1000mg/kg群で最も激しく、継続期間も長かったが、160mg/kg群と400mg/kg群との間では差は認められなかった。その他にfleroxacin投与に起因すると思われる一般状態の異常は認められなかった。

体重及び摂餌量ともに、投与翌日以降、減少する個体が各群に認められたが、観察期間終了時には回復した。

#### ii) 血液学的検査

投与前値と比較して、7日目の検査でESRの増加がみられる個体が多かったが、13日目には回復する傾向がみられた。この変動は雄でより激しかったが、用量依存性はなかった(Table 3)。

#### iii) 血液生化学的検査

投与前値と比較して7日目の検査で、ほぼ全例に軽度

Table 1. LD<sub>50</sub> values of fleroxacin in mice, rats and dogs

Species	Route	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	
		male	female
Mouse	p.o.	>4000	>4000
	s.c.	>1500	>1500
	i.p.	>1500	>1500
	i.v.	217.3 (198.0~237.6)	236.8 (215.7~258.7)
Rat	p.o.	>4000	>4000
	s.c.	>1500	>1500
	i.p.	>1500	>1500
	i.v.	204.5 (185.0~227.6)	261.4 (238.3~302.9)
Dog	p.o.	>1000	>1000

The LD<sub>50</sub> values were calculated by probit method.

Figures in parentheses represent 95% confidence limits.



Table 3-1. Hematological findings in male dogs orally treated with fleroxacin

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	Leucocytes ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )	Erythrocytes ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	Platelets ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	ESR (mm/h)
160	05M	bef	105	614	17.6	15.0	40.9	0.5
		7	95	566	24.7	13.5	38.6	12.6
		13	91	578	28.1	13.4	38.0	8.0
	06M	bef	153	616	34.3	14.2	38.9	0.6
		7	98	538	30.7	12.4	34.5	24.1
		13	126	620	40.0	12.9	36.3	9.0
400	07M	bef	112	647	25.6	14.5	39.6	4.5
		7	106	617	30.1	14.1	40.8	7.9
		13	122	606	30.9	13.7	41.4	0.9
	08M	bef	122	604	29.7	13.5	38.0	1.1
		7	112	544	29.7	13.0	37.1	12.5
		13	143	568	33.3	12.4	35.4	4.5
1000	09M	bef	118	545	21.9	13.8	39.5	1.4
		7	81	503	22.8	12.9	35.4	10.5
		13	80	535	29.1	12.8	36.3	4.0
	10M	bef	121	620	32.4	12.4	34.7	1.5
		7	108	605	39.5	14.1	39.4	9.8
		13	116	575	36.2	12.3	35.5	3.6

bef: 5 days before administration, 7: 7 days after administration, 13: 13 days after administration.

Table 3-2. Hematological findings in female dogs orally treated with fleroxacin

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	Leucocytes ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )	Erythrocytes ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	Platelets ( $\times 10^4/\text{mm}^3$ )	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	ESR (mm/h)
160	05F	bef	104	643	22.2	12.6	37.2	1.0
		7	93	578	25.2	12.6	36.4	6.8
		13	85	594	25.3	13.0	35.0	4.2
	06F	bef	131	509	15.0	12.3	37.6	1.0
		7	146	542	28.6	13.1	38.3	5.9
		13	119	542	30.0	12.7	37.7	1.2
400	07F	bef	92	530	19.1	13.4	41.3	0.5
		7	70	594	10.8	13.3	41.9	1.3
		13	88	577	22.4	13.9	39.1	0.9
	08F	bef	124	611	36.4	15.0	42.6	0.8
		7	84	574	27.0	14.0	42.6	0.9
		13	80	565	24.0	13.4	38.0	1.1
1000	09F	bef	124	612	30.7	13.8	40.5	1.2
		7	97	608	33.1	13.1	38.5	3.0
		13	127	599	31.8	14.1	32.9	7.5
	10F	bef	95	636	27.5	14.9	44.9	0.5
		7	92	711	37.7	17.4	49.9	1.0
		13	105	703	28.1	15.9	49.8	0.5

bef: 5 days before administration, 7: 7 days after administration, 13: 13 days after administration.

の総たん白量の増加とA/G比の低下がみられたが、13日目にはほぼ回復した(Table 4)。

#### iv) 尿検査

尿たん白の陽性(++, +)が、投与後7日目には160mg/kg群の雌雄に各1例、400mg/kg群の雌に2例、1000mg/kg群の雄に1例、また、13日目には400、1000mg/kg群の雌に各1例みられたが、これらは用量依存的な変動ではなかった。その他には著変は認められなかった。

#### v) 眼科的検査

瞳孔反射、外眼部、前眼部、中間透光体及び眼底にfloxacinに関連すると思われる異常は認められなかった。

#### vi) 器官重量

1000mg/kg群の雄1例で内容物を含めた盲腸の絶対、相対重量がともに他の個体と比べ若干増加したが、内容物を含まない重量では、ほとんど差は認められなかった。また、雄の精巣及び雌の胸腺の重量は、絶対、相対重量とも、投与量に比例した軽度の減少傾向を示した。

#### vii) 肉眼的所見

全例に関節軟骨表面の水疱形成並びにびらんが高頻度に認められた。また、400mg/kg群雌雄各1例を除き、全例で褐色ないし淡黄褐色の滑液の増量が認められた。軟骨表面に損傷がみられた関節は、環椎後頭、環軸、肩、肘、前腕手根、中手指節、指節間、股、膝、足根腿、距踵、足根中足、中足趾節及び趾節間関節であった。また、滑液増量が明らかに認められたのは、肩、膝、股、前腕手根及び足根腿関節であった。これら関節障害の強さは用量依存的ではなく、また、一般状態観察でみられた立位や歩行の忌避及び歩行異常の程度と必ずしも一致するものではなかった。その他にfloxacin投与に起因すると思われる著変は認められなかった。

#### viii) 病理組織学的所見

肉眼的にみられた関節軟骨の異常は、組織学的には関節軟骨の限局性の空隙形成あるいはびらんと認められた。空隙は嚢状で周囲軟骨基質は粗鬆化しており、びらんはこの外側の軟骨層が剥離したものである。400mg/kg群の雌1例の大腿骨遠位端では肉眼的変化は認められなかったが、組織学的には関節軟骨上層部に軽度な限局性の粗鬆化が認められた。

1000mg/kg群の雌1例の肝臓に、いわゆる風船細胞巢の散在が認められたが、他の個体の肝臓に異常は認められなかった。腎臓、副腎、盲腸、眼球、精巣、卵巣には全例とも特筆すべき異常は認められなかった。

#### 2) 皮下投与

##### (1) マウス

一般状態に特に異常は認められなかった。体重は投与

翌日より増加した。14日目の剖検においても特に異常は認められなかった。

##### (2) ラット

一般状態に特に異常は認められなかった。投与部位の皮下の一部は、水腫、硬結を呈して14日目まで残存した。体重は投与翌日より順調に増加し続けた。

14日目の剖検では、投与部位皮下の炎症以外に肉眼的な異常は認められなかった。注射部位の皮下では限局性に水腫(水疱)、血腫を主とした変化がみられた。かかる変化は投与用量に依存して、雌より雄でやや強く出現した。組織学的にはいずれも異物除去のための肉芽組織による被包化であった。

#### 3) 腹腔内投与

##### (1) マウス

雌雄ともに投与15分後に、鎮静、腹臥、眼瞼下垂等が全例にみられた。60分後には呼吸促進や立毛する個体も散見された。以上の症状は5時間後から徐々に回復し始め、翌日には総て正常に復した。体重は投与後一過性に軽度減少したが、3日目からは増加した。14日目の剖検所見では、肝及び脾臓の被膜の極めて軽度な白色化が散見された。これらの変化は組織学的には漿膜炎として、被膜の一部が線維性に肥厚していた。

##### (2) ラット

雌雄ともに投与20分後に鎮静、腹臥や横臥の体位が全例にみられた。30分後には更に眼瞼下垂や閉眼が加わり、60分後には呼吸促進する個体も散見された。体位の異常は4時間後より徐々に回復し始めた。翌日、雄の1例に死亡がみられた。死亡例の剖検では、脾周囲に薬物が粉末状に付着していた以外は特に肉眼的な異常は認められなかった。生存例中、雄の2例では投与日にみられた症状は翌日には完全に回復したが、他の例では軽度な腹臥、眼瞼下垂、立毛等がなお続いた。これらの症状は大多数、投与2日目に回復した。しかし、雌雄各2例では、上記症状に鼻出血、紅涙あるいは体温下降を伴った全身症状の悪化が2日目まで続き、3日目に回復した。体重は投与後一過性に増加抑制がみられたが、3日目からは順調に増加した。生存例の剖検では雌雄各6例ずつに、脾被膜の白色化がみられた以外、特に肉眼的な異常は認められなかった。脾被膜の変化は組織学的には線維性の肥厚を伴った漿膜炎と判断された。

#### 4) 静脈内投与

##### (1) マウス

一般状態では、生存例、死亡例ともに投与直後より眼瞼下垂、立毛、腹臥を伴う鎮静状態を呈し、これらの症状は雌雄いずれも最小用量群(100mg/kg群)より観察され、用量に依存して強くなる傾向を示した。

Table 4-1. Biochemical findings of serum in male dogs orally treated with fleroxacin

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Creatinine (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Free cholesterol (mg/dl)	TG (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Ca (mg/dl)	FFA ( $\mu$ eq/l)
160	05M	bef	5.6	3.1	1.24	0.5	15.7	96	226	63	45	441	10.6	543
		7	5.9	3.0	1.03	0.5	10.4	90	229	64	35	433	10.3	502
		13	5.8	3.1	1.14	0.6	18.4	95	229	67	45	448	11.1	456
	06M	bef	5.3	3.0	1.30	0.4	13.4	94	173	48	44	363	10.3	605
		7	5.5	2.6	0.89	0.4	10.1	88	220	60	32	350	10.1	494
		13	5.3	2.7	1.03	0.4	13.0	78	162	47	37	352	10.3	868
400	07M	bef	5.0	2.8	1.27	0.4	8.4	97	138	38	33	285	10.2	580
		7	5.4	2.7	1.00	0.5	9.8	87	136	37	26	279	10.1	494
		13	5.1	2.8	1.21	0.5	9.9	88	130	36	24	290	10.4	579
	08M	bef	5.1	3.0	1.42	0.5	10.4	95	141	37	35	302	10.2	727
		7	5.5	2.8	1.03	0.5	11.8	89	152	39	25	301	10.0	807
		13	5.1	2.9	1.31	0.6	13.3	89	135	38	29	298	10.4	770
1000	09M	bef	5.1	3.0	1.42	0.5	17.9	102	161	44	25	344	10.3	711
		7	5.7	2.9	1.03	0.5	13.0	93	167	45	25	332	10.1	534
		13	5.2	2.8	1.16	0.5	11.5	97	150	44	33	322	9.9	379
	10M	bef	4.9	2.9	1.44	0.5	9.7	105	139	40	29	303	10.5	649
		7	6.1	3.0	0.96	0.5	16.7	88	222	62	25	372	10.7	197
		13	5.3	2.8	1.11	0.4	12.2	95	148	44	38	309	10.4	663

bef: 5 days before administration, 7: 7 days after administration, 13: 13 days after administration.

Table 4-2. Biochemical findings of serum in male dogs orally treated with fleroxacin

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	UA (mg/dl)	T-Bil (mg/dl)	D-Bil (mg/dl)	I-Bil (mg/dl)	Na <sup>+</sup> (meq/l)	K <sup>+</sup> (meq/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	ChE ( $\Delta$ pH)	LDH (IU/l)	CPK (IU/l)	Pi (mg/dl)
160	05M	bef	0.3	0.1	0.1	0.0	159.4	4.93	22	12	290	0.71	123	182	7.8
		7	0.3	0.1	0.1	0.0	153.2	5.32	23	10	245	0.63	311	269	7.5
		13	0.3	0.1	0.1	0.0	159.3	5.20	21	10	318	0.67	177	194	8.1
	06M	bef	0.3	0.3	0.1	0.1	155.7	5.89	27	13	333	0.75	242	242	8.2
		7	0.2	0.1	0.1	0.0	151.0	5.26	42	27	284	0.62	598	270	8.0
		13	0.3	0.1	0.0	0.0	155.6	5.47	27	16	392	0.66	306	230	8.1
400	07M	bef	0.2	0.1	0.0	0.0	153.4	5.55	20	15	268	0.61	126	164	7.8
		7	0.2	0.1	0.1	0.0	152.4	5.50	24	35	337	0.59	373	212	7.1
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	155.7	5.65	22	20	384	0.63	208	170	7.5
	08M	bef	0.2	0.1	0.1	0.0	156.6	5.25	23	13	338	0.76	163	172	8.0
		7	0.3	0.2	0.1	0.0	154.5	5.55	25	13	299	0.76	449	256	7.4
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	156.8	5.33	22	19	377	0.71	245	180	7.8
1000	09M	bef	0.2	0.1	0.1	0.0	158.5	4.94	21	16	290	0.47	133	183	8.4
		7	0.2	0.2	0.1	0.0	153.6	5.20	23	9	252	0.47	332	233	7.7
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	153.9	5.21	21	13	311	0.44	208	195	7.8
	10M	bef	0.2	0.1	0.1	0.0	153.6	5.45	17	12	271	0.49	99	177	7.8
		7	0.3	0.2	0.1	0.0	156.9	5.47	18	25	339	0.54	366	175	7.0
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	151.1	5.45	19	14	326	0.51	119	147	7.3

bef: 5 days before administration, 7: 7 days after administration, 13: 13 days after administration.

Table 4-3. Biochemical findings of serum in female dogs orally treated with fleroxacin

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G ratio	Creatinine (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Free cholesterol (mg/dl)	TG (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)	Ca (mg/dl)	FFA ( $\mu$ eq/l)
160	05F	bef	5.0	2.9	1.38	0.4	8.0	103	144	40	33	300	10.2	762
		7	5.6	2.7	0.93	0.4	11.4	94	167	48	33	322	10.0	932
		13	5.3	2.8	1.11	0.5	12.4	96	144	43	40	312	10.5	811
	06F	bef	4.9	2.9	1.44	0.4	7.8	110	116	29	20	256	10.2	649
		7	5.2	2.9	1.26	0.4	12.7	105	117	30	25	250	10.1	648
		13	4.9	2.9	1.44	0.5	9.5	111	108	29	22	253	9.6	618
400	07F	bef	5.2	3.2	1.59	0.4	11.3	94	133	38	40	303	10.5	879
		7	5.6	2.9	1.07	0.4	12.3	92	158	44	28	309	10.3	521
		13	5.2	3.0	1.36	0.5	11.8	87	136	40	40	312	10.1	551
	08F	bef	5.5	3.2	1.39	0.6	19.0	105	131	36	25	304	10.7	134
		7	5.1	3.0	1.42	0.6	21.6	113	114	32	28	259	10.0	205
		13	5.2	3.2	1.59	0.7	15.3	113	117	33	18	271	10.4	114
1000	09F	bef	5.1	3.0	1.42	0.5	14.5	96	157	43	44	325	10.7	856
		7	5.7	2.7	0.89	0.5	11.5	92	188	55	34	322	10.4	604
		13	5.5	2.8	1.03	0.6	13.7	82	168	48	43	350	10.6	1011
	10F	bef	5.1	3.2	1.68	0.5	9.9	112	164	42	28	335	10.8	626
		7	5.9	3.0	1.03	0.5	18.9	98	196	56	40	377	10.4	198
		13	5.5	3.1	1.29	0.4	13.4	97	152	45	56	320	10.0	601

bef: 5 days before administration, 7: 7 days after administration, 13: 13 days after administration.

Table 4-4. Biochemical findings of serum in female dogs orally treated with fleroxacin

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	UA (mg/dl)	T-Bil (mg/dl)	D-Bil (mg/dl)	I-Bil (mg/dl)	Na <sup>+</sup> (meq/l)	K <sup>+</sup> (meq/l)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	ChE ( $\Delta$ pH)	LDH (IU/l)	CPK (IU/l)	Pi (mg/dl)
160	05F	bef	0.2	0.1	0.1	0.0	154.3	5.25	23	13	250	0.51	145	213	7.3
		7	0.2	0.2	0.1	0.0	154.4	5.25	27	10	264	0.50	330	204	7.0
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	156.0	5.21	26	13	323	0.53	198	197	7.2
	06F	bef	0.2	0.1	0.1	0.0	156.3	4.91	23	16	473	0.44	153	203	7.8
		7	0.2	0.1	0.1	0.0	153.2	5.12	22	12	337	0.42	261	208	7.7
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	154.2	4.99	22	23	484	0.42	162	163	7.6
400	07F	bef	0.3	0.3	0.2	0.0	155.9	4.84	29	18	254	0.63	278	230	7.9
		7	0.3	0.2	0.1	0.0	153.9	5.11	28	10	259	0.62	652	294	7.2
		13	0.3	0.1	0.1	0.0	154.3	5.29	23	10	299	0.63	219	231	7.5
	08F	bef	0.2	0.2	0.1	0.0	156.7	5.65	22	18	497	0.52	95	136	8.1
		7	0.2	0.2	0.1	0.0	153.8	5.49	25	21	467	0.44	116	160	7.1
		13	0.2	0.1	0.0	0.0	160.2	5.19	23	25	476	0.44	102	134	7.4
1000	09F	bef	0.2	0.1	0.1	0.0	154.7	4.87	26	14	361	0.52	151	199	7.4
		7	0.3	0.2	0.1	0.0	151.8	5.24	23	25	356	0.50	288	186	6.5
		13	0.3	0.1	0.0	0.0	153.6	5.29	23	13	384	0.50	138	169	7.3
	10F	bef	0.2	0.2	0.1	0.0	157.0	4.98	18	14	649	0.43	88	157	8.2
		7	0.4	0.2	0.1	0.0	156.3	5.87	18	14	408	0.45	128	163	7.2
		13	0.3	0.2	0.1	0.0	157.2	5.38	22	15	662	0.45	153	177	7.9

bef: 5 days before administration, 7: 7 days after administration, 13: 13 days after administration.



生存例はこの状態が1~2時間続いた後漸次回復し、3~4時間後にはほぼ正常に復した。観察期間中の体重の推移には著しい変化はなく、また、剖検でも特記すべき所見は認められなかった。

一方、死亡例では上記の症状に加え、眼球突出、呼吸困難が認められ、強直性痙攣を起こした後死亡した。死亡までの時間は、1例を除き、投与後は3分以内であった。剖検では、いずれの臓器にも何ら異常は認められなかった。208mg/kg群の雄1例は、生存例と同様に投与直後は鎮静状態を呈し、その後回復したものの12日目に立毛、眼瞼下垂、体温降下がみられ、13日目に死亡した。体重は9日目までほとんど変化なく推移したが、死亡時には著しく(約14g)減少しており、剖検では消化管内に内容物が認められなかった。

## (2) ラット

生存例、死亡例ともに投与直後より腹臥、眼瞼下垂、立毛を伴う鎮静状態を呈した。これらの症状は雌雄いずれも145mg/kg以上の用量群で観察され、用量に依存して強くなる傾向を示した。

生存例はこの状態が1~2時間続いた後、漸次回復し、3~4時間後にはほぼ正常に復した。観察期間中の体重の推移には著しい変化はなく、また剖検でも特記すべき所見は認められなかった。

一方、死亡例では上記の症状に加え、眼球突出、呼吸困難が認められ、強直性痙攣を起こした後斃死した。また、この一部には鼻腔、口腔より淡紅色の微細な泡沫を流出するものも認められた。死亡までの時間は、投与後は5分以内であった。剖検では、145、208、300mg/kgの各群雄に1例ずつ肺気腫が認められた。

208mg/kg群の雌1例は、投与直後には生存例と同じ症状を呈したものの、その後回復することなく3日目に死亡した。剖検では、飼料と床敷から成る塊による食道閉塞がみられ、胃、腸管内には内容物が認められなかった。

## Ⅲ. 考 察

新キノロン系の合成抗菌剤であるfleroxacinの急性毒性試験をマウス、ラット及びイヌを用いて実施した。

経口投与でのLD<sub>50</sub>値は、マウス、ラットともに4000mg/kg以上、イヌで1000mg/kg以上と考えられた。マウスでは4000mg/kgの全例に鎮静、腹臥、眼瞼下垂がみられた以外特に顕著な変化は認められず、ラットでは4000mg/kgで何ら中毒症状が観察されなかった。一方、イヌでは、160、400及び1000mg/kgのいずれの用量でも全例に激しい嘔吐が認められた。嘔吐の頻度に用量依存性はみられなかったが、fleroxacinに起因するものと考えられた。投与後2日目から出現し、4日目頃に

最も激しくみられた立位や歩行を嫌う行動と後肢を引きずるような歩行は、病理学的検査で明らかとなった関節障害に起因する症状と考えられた。同様の関節障害は幼若犬において、fleroxacinと類似の多くの合成抗菌剤でみられており<sup>2-5)</sup>、今回用いたイヌが4ヵ月齢と幼若であることから発現したものと考えられた。また、ESRの増加、軽度の血清総たん白量の増加とA/G比の低下がみられたが、5歳齢のイヌを用いた急性毒性予備試験<sup>6)</sup>では、これらの変動はみられておらず(ESRは検査せず)、これらも幼若犬に特有な作用と考えられた。400mg/kg群の雌1例にみられた間代性痙攣は、予備試験<sup>6)</sup>においても300mg/kg群の雌1例に認められており、fleroxacinに起因するものと考えられた。精巢重量の減少が用量に依存してみられているが、病理組織学的には異常は認められておらず重篤な変化とは考えられなかった。

皮下及び腹腔内投与のLD<sub>50</sub>値は、マウス、ラットとも1500mg/kg以上であり、マウス、ラットともに、皮下投与では中毒症状は観察されなかったが、腹腔内投与では鎮静、腹臥、眼瞼下垂等がみられ、ラットの1500mg/kgに死亡1例が認められた。

静脈内投与でのLD<sub>50</sub>値は、マウス雄217mg/kg、雌237mg/kg、ラット雄205mg/kg、雌261mg/kgであった。このLD<sub>50</sub>値を類似の合成抗菌剤と比較すると、nor-floroxacin<sup>7)</sup>やofloxacin<sup>8)</sup>とほぼ同等であると考えられた。一般状態にはマウス、ラットともに腹臥、眼瞼下垂等を伴う鎮静が認められ、生存例はその回復したが、死亡例では呼吸困難の後、強直性痙攣を起こし死亡した。マウスで13日目に死亡した208mg/kg群の雄1例は死亡時の体重が著しく減少しており、また、剖検においても消化管内に内容物が認められなかったことから摂餌低下により衰弱死したものと考えられた。ラットで投与5分以内に死亡した雄の3例に肺気腫が認められたが、頻度も少なく薬物による特異的な変化とは考えられなかった。また、投与3日目に死亡した208mg/kg群の雌1例では胃・腸管中に内容物が認められず、また、著しい体重減少を示したことから食道の閉塞により飼料を摂取できずに衰弱死したものと考えられた。

以上の結果から、fleroxacinの急性毒性には、性差はなく、他の構造類似化合物と比較し特異的な作用を示すものではなかった。

## 文 献

- HIRAI K, AOYAMA H, HOSAKA M, OOMORI Y, NIWATA Y, SUZUE S, IRIKURA T *In vitro* and *in vivo* antibacterial activity of AM-833, a new quinolone derivative. *Antimicrob Agents Chemother* 29 1059~1066, 1986

- 2) TATSUMI H, SENDA H, YATERA S, TAKEMOTO Y, YAMAYOSHI M, OHNISHI K : Toxicological Studies on pipemidic acid. V. Effect on diarthrodial joints of experimental animals. *J Toxicol Sciences* 3 : 357 ~ 367, 1978
- 3) GOUGH A, BARSOWN N J, MITCHELL L, MCGUIRE E J, DE LA IGLESIA F A Juvenile canine drug-induced arthropathy : Clinicopathological studies on articular lesions caused by oxolinic and pipemidic acids. *Toxicol Appl Pharmacol* 51 : 177 ~ 187, 1979
- 4) 野村 譲, 稲毛富士郎, 赤羽浩一, 加藤道幸, 柿畑耕司, 山田明甫, 小野寺 威 : 合成抗菌剤 DL-8280 のイヌにおける4週経口亜急性毒性。 *Chemotherapy* 32(S-1) : 1105~1121, 1984
- 5) 仙田博美, 里村州久, 佐藤義考, 竹本勇一, 大西久美雄, 松岡信男, 吉田耕一 : AT-2266 の毒性的研究 第4報 イヌにおける6ヶ月の慢性毒性試験。 *Chemotherapy* 32 (S-3) : 242 ~ 278, 1984
- 6) 今井 繁, 野本恭之, 笠井正博, 大竹正二, 鳥屋部保, 棚瀬裕文, 吉田安彦 : Fleroxacin のイヌにおける経口投与による急性毒性試験のための予備試験。未発表 1985
- 7) 入倉 勉, 相島 博, 土屋 剛, 杉本 勉, 棚瀬裕文 : AM-715 の毒性的研究, 第1報, マウスおよびラットにおける急性毒性並びにラットにおける亜急性毒性試験。 *Chemotherapy* 29 (S-4) : 766~783, 1981
- 8) 大野広志, 稲毛富士郎, 赤羽浩一, 相原 清, 吉田貢由, 小野寺 威 : 合成抗菌剤 DL-8280 のマウス, ラット, イヌおよびサルにおける急性毒性。 *Chemotherapy* 32(S-1) : 1084 ~ 1090, 1984

## ACUTE TOXICITY STUDY ON FLEROXACIN IN MICE, RATS AND DOGS

HIROSHI AJIMA, TAKESHI TSUCHIYA, KAZUTOSHI SHINODA, NORIKO SAYAMA and YASUO ABE

Central Research Laboratories, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

2399-1 Mitarai, Nogi, Shimotsuga-gun, Tochigi 329-01, Japan

SHIGERU IMAI, YASUYUKI NOMOTO, MASAHIRO KASAI, HIROFUMI TANASE, SHOJI OHTAKE and TAMOTSU TORIYABE

Technical Center of Development, Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.

We performed an acute toxicity study on fleroxacin in mice, rats and dogs.

The results obtained are summarized as follows:

1. The LD<sub>50</sub> values of fleroxacin were more than 4000 mg/kg in mice and rats and more than 1000 mg/kg in dogs by oral administration; more than 1500 mg/kg in mice and rats by subcutaneous and intraperitoneal injection; and 217 mg/kg (male) and 237 mg/kg (female) in mice, 205 mg/kg (male) and 261 mg/kg (female) in rats by intravenous injection.
2. As toxic signs, prone position, ptosis of the eyelids and sedation were found in mice who were given the drug orally, intraperitoneally or intravenously, and in rats injected intraperitoneally or intravenously. Vomiting, reluctance to rise and walk, and abnormal gait due to arthropathy were found in all dogs given the drug orally.
3. An increase in blood sedimentation rate, a slight increase in total serum protein and a slight decrease in the albumin/globulin-ratio were found in dogs. Blisters and erosions on the surface of articular cartilages were found in several joints of all dogs. Histologically, the changes were found to be cavitation and desquamation of the upper cartilage layers.