

## Panipenem/betamipronの90日間連続静脈内投与によるラットに対する亜急性毒性試験

真鍋 淳・木村邦男・松本悦嗣・矢本 敬・松沼尚史・増田 裕  
三共株式会社・安全性研究所\*

新しいカルバペネム系抗生物質であるpanipenem(PAPM)と有機イオン輸送の抑制作用を有するbetamipron(BP)の等量配合剤であるpanipenem/betamipron(PAPM/BP)の90日間連続静脈内投与によるラットに対する亜急性毒性試験を実施した。

7週齢の雌雄F344ラットにPAPM/BPの400, 200, 100mg/kg/day(以下同様にそれぞれPAPM/BP 400/400, 200/200, 100/100mg/kg/dayを意味する)およびBPの400, 200mg/kg/dayを投与し、溶媒対照群(生理食塩液投与群)と比較した。

投与初期に対照群を含む各群の数例に軟便の排泄が散見された以外、一般状態に変化はなく、試験期間を通じて死亡はなかった。体重はPAPM/BP400mg/kg群の雄で軽度な増加抑制を認めしたが、摂餌量推移に変化はなく、尿検査および眼科的検査にも異常は認められなかった。

90日間投与終了後の検査では、PAPM/BP100および400mg/kg群の雄で赤血球数の減少、平均赤血球ヘモグロビン量の増加、400mg/kg群の雄でヘマトクリット値の減少、200, 400mg/kg群の雌でナトリウムの減少など、またBP400mg/kg群の雄で赤血球、ヘマトクリット値の減少、200, 400mg/kg群の雌でナトリウムの減少など、いずれも軽度な変化が認められた。しかし、病理組織学的には検索したすべての臓器に異常はみられなかった。

以上、本試験ではPAPM/BPあるいはBPの毒性を示唆する特異的な変化は検出されなかった。

**Key words** : Panipenem/betamipron, 亜急性毒性試験, ラット

Panipenem/betamipron(PAPM/BP)は三共株式会社で開発されたカルバペネム系抗生物質panipenem(PAPM)とbetamipron(BP; N-ベンゾイル- $\beta$ -アラニン)を1:1(重量比)に配合した注射用抗生物質である。BPは腎臓における $\beta$ -ラクタム剤取り込み抑制作用を有する有機イオン輸送抑制剤であり、PAPMの腎臓に対する安全性をさらに高めるための配合剤として、その有用性が認められている。今回PAPM/BPの安全性評価の一環として、ラットに対する90日間連続静脈内投与試験を実施した。以下、本報告ではPAPM/BPの投与量はその表示量のPAPMおよびBPが1:1の配合比で含まれることを意味する。

### I. 材料と方法

#### 1. 実験動物および飼育条件

三共株式会社安全性研究所の生産施設で繁殖育成した4週齢のF344ラットを環境に約3週間馴化させたのち、7週齢で実験に使用した。動物は、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、照明13時間/日、換気回数12回以上/時間の条件に制御した試験室で、ブラケットケージ(日

本ケージ株式会社)に1匹ずつ収容し、放射線滅菌した固型飼料(NMF, オリエンタル酵母工業株式会社)および水(水道水)を自由に摂取させた。

対照群1群、PAPM/BP投与群3群およびBP投与群2群の計6群を設け、1群雌雄各10例とした。すなわち、雌雄各60例、合計120例のラットを用いた。試験開始時の動物の体重範囲は、雄182~205g、雌125~143gであった。

#### 2. 投与量および投与方法

今回の試験に先だて行ったPAPM/BPの14日間連続静脈内投与による亜急性毒性試験<sup>1)</sup>(投与量: 800, 400, 200, 100mg/kg/day)では、400mg/kg以上の雄の投与群および雌の800mg/kg群で体重増加抑制が認められた。この結果と本試験が90日間の連続静脈内投与であることを勘案し、本試験におけるPAPM/BPの最高用量を400mg/kg/dayと定め、以下200および100mg/kg/dayの投与群を設けた。さらに、BPの400, 200mg/kg/dayを投与する群および生理食塩液を投与する対照群の計6群を設定した。

PAPMの凍結乾燥品にBPを10%含む水溶液を加えて、PAPMおよびBPの両者を10%ずつ含む溶液を作製した。次いでこれを生理食塩液（大塚製薬株式会社）にて希釈し、PAPMおよびBPの両者を5あるいは2.5%含有する溶液を作製した。これらをそれぞれPAPM/BPの400, 200, 100mg/kg投与群に0.4ml/100g(体重)の投与容量で投与した。また、BPの10%水溶液およびこれを生理食塩液で希釈した5%溶液をそれぞれBPの400, 200mg/kg投与群に0.4ml/100g(体重)の投与容量で投与した。さらに、対照群には生理食塩液を0.4ml/100g(体重)の容量で投与した。投与検体は毎日投与直前に調製し、マイクロチューブポンプ(MP-3型：東京理科機械株式会社)とタイマー(505型：DIMCO-GRAY COMPANY)で構成した自動注入装置を用い、1.2ml/分の速度で尾静脈内に投与した。

### 3. 検査項目

#### 1) 一般状態

試験期間中毎日、動物の示す行動、糞および尿の状態を観察した。

#### 2) 体重

投与開始日を初回として試験終了までの週2回、自動天秤(ED-2000, ED-2800M型：株式会社島津製作所)を用い測定した。

#### 3) 摂餌量

試験開始日に給餌量を、その後は試験終了までの週1回、残餌量および給餌量を自動天秤(前述)を用いて測定した。測定値から計算によって1日1匹あたりの摂餌量を算出した。

#### 4) 尿検査

投与72日目の投与前に、対照群、BP400mg/kg群およびPAPM/BP400mg/kg群の雌雄全例の新鮮尿を採取して、マルチスティック検査紙(Ames社)を用い、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ビリルビンおよびウロビリノーゲンについて検査した。

#### 5) 眼科的検査

投与72日目の投与後に、対照群、BP400mg/kg群およびPAPM/BP400mg/kg群の雌雄全例について、眼瞼および眼瞼周囲を肉眼的に観察した後、瞬目反射および瞳孔反射を調べ、さらに眼底カメラ(RC-2型：興和株式会社)を用いて眼底を検査した。

#### 6) 血液学的検査

90日間投与終了の24時間後に、エチルエーテル軽麻酔下で腹部大動脈から採血し、以下の検査を実施した。

赤血球数(電気抵抗法<sup>a</sup>)、ヘモグロビン(オキシヘモグロビン法<sup>a</sup>)、ヘマトクリット値(MCV累積法<sup>a</sup>)、平均赤血球ヘモグロビン量(計算法<sup>a</sup>)、平均赤血球容積(計

算法<sup>a</sup>)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(計算法<sup>a</sup>)、血小板数(電気抵抗法<sup>a</sup>)、フィブリン濃度(散乱光法<sup>c</sup>)、プロトロンビン時間(散乱光法<sup>c</sup>)、活性化部分トロンボプラスチン時間(散乱光法<sup>c</sup>)、白血球数(電気抵抗法<sup>a</sup>)、白血球百分率(Wright染色<sup>d</sup>)、好中球数(計算法<sup>d</sup>)、リンパ球数(計算法<sup>d</sup>)、網赤血球数(ブレッカー法<sup>d</sup>)。

なお、測定には以下の機器を用いた。

a：CC-720カウンター(東亜医用電子株式会社)

b：PL-100(東亜医用電子株式会社)

c：コアグマスター(三共株式会社)

d：マイクロックスHEG-70A(オムロン)

#### 7) 臨床生化学的検査

90日間投与終了24時間後に採取した血液(前述)の一部を室温に30分間放置した後、冷却遠心機(日立05PR-22型：株式会社日立製作所)で遠心分離(2000r.p.m., 10min)して得られた血清について、以下の検査を実施した。

トランスアミナーゼ(GOTおよびGPT, UV法)、アルカリホスファターゼ(Kind-King変法)、総ビリルビン(blue alkalizo bilirubin法)、総コレステロール(酵素法)、グルコース(酵素法)、総蛋白(Biuret法)、アルブミン(bromocresol green法)、A/G比(計算法)、尿素窒素(urease indophenol法)、クレアチニン(Jaffé変法)、ナトリウム(flame photometry法)、カリウム(flame photometry法)、カルシウム(OCPC法)、無機リン(Fiske-Subbarow変法)。ナトリウムおよびカリウムは炎光度計775型(株式会社日立製作所)により、他の項目は自動分析装置726型(株式会社日立製作所)により測定した。

#### 8) 病理解剖学的検査および臓器重量測定

90日間投与終了24時間後に、腹部大動脈より大量採血して致死させたのち、解剖して肉眼的な異常を観察、次いで以下の臓器を摘出して自動天秤(ED-H60型, ED-200型, ED-200M型：株式会社島津製作所)にてそれぞれ重量を測定した。

重量測定臓器：脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、前立腺、精囊、卵巣、子宮。なお、腎臓、副腎、精巣、卵巣については左右別々に測定した。

#### 9) 病理組織学的検査

##### (1) 光学顕微鏡検査

90日間投与終了24時間後に重量測定用として採取した諸臓器に加え、膵臓、骨髄、胃、小腸、大腸、膀胱、脊髄、腸間膜リンパ節、顎下腺、内耳、眼球およびハーダー腺を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液(内耳と眼球はブアン液)で固定した。固定後、常法に従っ

て組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織学的検索を行った。

なお、脊髄、眼球、ハーダー腺および内耳の採材と検査は、対照群、BP400mg/kg群およびPAPM/BP400mg/kg群の雌雄各5例のみとした。

## (2) 電子顕微鏡検査

90日間投与終了24時間後に対照群、BP400mg/kg群およびPAPM/BP400mg/kg群の雌雄各2例の肝臓と腎臓の一部を採取した。採取した試料は、4%グルタルアルデヒド溶液(4℃)で2時間固定し、さらに2%四酸化オスmium溶液(4℃)で2時間後固定を行った。次いで、常法に従って脱水し、Poly/Bed 812(Polyscience社)に包埋した。完成した電顕ブロックから超薄切片を作製し、ウラン・鉛二重染色を施してJEM-100 CX II(日本電子株式会社)で観察した。

## 10. 統計学的処理

体重、摂餌量、臓器重量の測定値および血液学的検査値、臨床生化学的検査値はコンピュータに入力し、所定のプログラムに従って、雌雄各群別の平均値と標準誤差を求めた。さらに、対照群と各投与群の平均値の差については、BMDP-3D法(BMDP Statistical Software, Inc.)によりその有意差を検定した。

## II. 結 果

### 1. 一般状態

一般状態の変化として、雌雄のPAPM/BP200, 400mg/kg群、BP雄200mg/kg群、雌雄のBP400mg/kg群および雄の対照群に軟便の排泄が散見された。その出現頻度はPAPM/BP400mg/kg群でやや高い傾向を示した。

### 2. 体重変化

対照群と比較して雌雄各投与群とも試験期間を通じ統計学的に有意な変化を認めなかった。なお、投与49日目に対照群を含む雌雄全群で一過性の体重減少がみられたが、これは給水不良により生じた事象であり、投与52日目には回復した。

### 3. 摂餌量

PAPM/BP雄100mg/kg群の投与70日目およびPAPM/BP雄400mg/kg群の投与77日目の値のみが対照群と比較して統計学的に有意に小さかった。雄の各投与群は対照群に比して統計学的に有意な差を示さなかった。

### 4. 尿検査

雌雄各投与群のいずれの検査項目にも対照群との差は認められなかった。

### 5. 眼科的検査

対照群、BP400mg/kg群およびPAPM/BP400mg/kg

群とも、今回実施したすべての検査項目に異常を認めなかった。

## 6. 血液学的検査

検査結果をTable 1, 2に示す。また、対照群と比較して平均値が統計学的な有意差を示した項目および投与群を以下にまとめた。

高い値を示した項目および投与群：平均赤血球ヘモグロビン量(PAPM/BP雄100, PAPM/BP雄400およびBP雄400mg/kg)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(PAPM/BP雄400mg/kg)、平均赤血球容積(BP雌400mg/kg)。

低い値を示した項目および投与群：赤血球数(PAPM/BP雄100, PAPM/BP雄400およびBP雄400mg/kg)、ヘマトクリット値(PAPM/BP雄400およびBP雄400mg/kg)。

## 7. 臨床生化学的検査

結果をTable 3, 4に示す。また、対照群と比較して平均値が統計学的な有意差を示した項目および投与群を以下にまとめた。

低い値を示した項目および投与群：ナトリウム(PAPM/BP雌200, PAPM/BP雌400, BP雌200およびBP400mg/kg)。

## 8. 病理解剖学的検査

90日間投与終了後の病理解剖学的検査では、雌雄各群とも異常は観察されなかった。

## 9. 臓器重量

対照群との比較において、PAPM/BPあるいはBP投与群の肝臓、腎臓、副腎、脾臓の実測値あるいは比体重値に統計学的に有意な差が認められた。しかし、実測値および比体重値がともに統計学的な有意差を持って同一方向に変動したのは、PAPM/BP雌200mg/kg群の肝臓(高値)のみであった。

## 10. 病理組織学的検査

### (1) 光学顕微鏡検査

対照群を含む全群の肝臓に、背景病変と判断される軽度の細胞浸潤が観察されたが、PAPM/BPおよびBPの両投与群にこれらの化合物の毒性を示唆する特異的な病理組織学的変化は検出されなかった。

### (2) 電子顕微鏡検査

対照群、PAPM/BP投与群およびBP投与群の肝臓および腎臓を観察したが、それらの微細形態学的構造に異常は検出されなかった。

## III. 考 察

PAPMとBPの配合剤(PAPM/BP)の90日間連続静脈内投与によるラットに対する亜急性毒性を検討する目的で、PAPM/BPあるいはBPをラットに投与して、

Table 1. Hematological findings in male rats treated intravenously with panipenem/betamipron or betamipron for 90 days

Dose mg/kg	N	RBC ×10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	HGB g/dl	HCT %	RET %	MCH pg	MCV μ <sup>3</sup>	MCHC %	PLT ×10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup>	FIB mg/dl	(Mean ± S.E.M.)	
											PT Sec.	APTT Sec.
0	10	8.83 ±0.04	15.83 ±0.07	45.8 ±0.2	1.8 ±0.2	17.9 ±0.1	51.8 ±0.2	34.6 ±0.1	66.32 ±1.21	283.0 ±5.8	19.06 ±0.17	23.58 ±0.22
betamipron 200	10	8.67 ±0.05	15.71 ±0.09	45.4 ±0.3	1.5 ±0.2	18.1 ±0.1	52.4 ±0.2	34.6 ±0.1	67.57 ±0.91	288.1 ±4.8	19.23 ±0.07	23.21 ±0.08
400	10	8.54* ±0.05	15.59 ±0.09	44.9* ±0.2	1.4 ±0.2	18.3* ±0.1	52.5 ±0.2	34.7 ±0.1	64.61 ±1.19	280.4 ±4.0	19.26 ±0.10	23.38 ±0.08
panipenem/ betamipron 100	10	8.63* ±0.04	15.74 ±0.06	45.2 ±0.2	1.3 ±0.2	18.3* ±0.1	52.4 ±0.2	34.9 ±0.1	65.56 ±0.95	273.7 ±3.0	19.25 ±0.08	23.31 ±0.06
200	10	8.70 ±0.07	15.81 ±0.06	45.3 ±0.2	1.6 ±0.1	18.2 ±0.1	52.2 ±0.2	34.9 ±0.1	68.42 ±1.34	275.8 ±2.9	19.26 ±0.17	23.26 ±0.08
400	10	8.59* ±0.04	15.65 ±0.07	44.7* ±0.2	1.7 ±0.1	18.2* ±0.1	51.9 ±0.2	35.0* ±0.1	68.33 ±1.12	272.5 ±5.3	19.38 ±0.08	22.83 ±0.25

  

Dose mg/kg	WBC ×10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>				Differential count of leukocytes (LY)			
	WBC	BA	EO	NE	LY	MO	(NE)	(LY)
0	5.01 ±0.10	0.0 ±0.0	1.8 ±0.3	19.5 ±2.0	74.0 ±2.4	4.7 ±0.9	1.0 ±0.1	3.7 ±0.1
betamipron 200	4.62 ±0.35	0.0 ±0.0	1.5 ±0.3	19.4 ±1.5	75.5 ±1.5	3.8 ±0.5	0.9 ±0.1	3.5 ±0.3
400	4.97 ±0.33	0.0 ±0.0	1.4 ±0.2	19.4 ±2.2	74.3 ±2.6	5.0 ±0.9	0.9 ±0.1	3.7 ±0.3
panipenem/ betamipron 100	4.71 ±0.11	0.0 ±0.0	1.4 ±0.4	17.5 ±1.4	76.9 ±1.8	4.3 ±0.6	0.8 ±0.1	3.6 ±0.1
200	4.59 ±0.18	0.0 ±0.0	1.2 ±0.2	18.6 ±1.7	75.3 ±1.8	5.0 ±0.4	0.8 ±0.1	3.5 ±0.2
400	4.51 ±0.20	0.0 ±0.0	1.8 ±0.4	18.6 ±2.2	77.3 ±2.2	2.4 ±0.3	0.8 ±0.1	3.5 ±0.2

\* ; Significant at 1% level compared with control  
RBC ; erythrocyte count HGB ; hemoglobin concentration HCT ; hematocrit value RET ; reticulocyte MCH ; mean corpuscular hemoglobin  
MCV ; mean corpuscular volume MCHC ; mean corpuscular hemoglobin concentration PLT ; platelet count FIB ; fibrinogen  
PT ; prothrombin time APTT ; activated partial thromboplastin time WBC ; leukocyte count BA ; basophil EO ; eosinophil  
NE ; neutrophil LY ; lymphocyte MO ; monocyte (NE), (LY) ; absolute number

Table 2. Hematological findings in female rats treated intravenously with panipenem/betamipron or betamipron for 90 days (Mean  $\pm$  S.E.M.)

Dose mg/kg	N	RBC $\times 10^6/\text{mm}^3$	HGB g/dl	HCT %	RET %	MCH pg	MCV $\mu^3$	MCHC %	PLT $\times 10^4/\text{mm}^3$	FIB mg/dl	PT Sec.	APTT Sec.
		WBC $\times 10^3/\text{mm}^3$	BA	EO	NE %	LY	MO					
0	10	7.93 $\pm 0.07$	15.53 $\pm 0.12$	44.2 $\pm 0.4$	1.7 $\pm 0.2$	19.6 $\pm 0.1$	55.8 $\pm 0.2$	35.2 $\pm 0.1$	66.70 $\pm 1.08$	213.4 $\pm 3.3$	18.08 $\pm 0.21$	21.81 $\pm 0.23$
betamipron 200	10	7.94 $\pm 0.06$	15.71 $\pm 0.11$	44.7 $\pm 0.3$	1.5 $\pm 0.1$	19.8 $\pm 0.1$	56.2 $\pm 0.2$	35.2 $\pm 0.1$	70.18 $\pm 1.34$	217.3 $\pm 4.6$	18.14 $\pm 0.20$	22.26 $\pm 0.15$
panipenem/ betamipron 100	10	7.95 $\pm 0.05$	15.69 $\pm 0.07$	45.1 $\pm 0.3$	1.3 $\pm 0.1$	19.7 $\pm 0.1$	56.6* $\pm 0.2$	34.8 $\pm 0.1$	68.86 $\pm 1.57$	216.7 $\pm 3.4$	18.08 $\pm 0.15$	21.93 $\pm 0.27$
200	10	7.97 $\pm 0.07$	15.58 $\pm 0.15$	44.7 $\pm 0.4$	1.4 $\pm 0.1$	19.5 $\pm 0.05$	56.0 $\pm 0.2$	34.9 $\pm 0.1$	72.44 $\pm 6.69$	229.4 $\pm 7.3$	18.05 $\pm 0.11$	21.99 $\pm 0.23$
400	10	8.02 $\pm 0.05$	15.73 $\pm 0.07$	44.7 $\pm 0.2$	1.4 $\pm 0.1$	19.6 $\pm 0.1$	55.8 $\pm 0.1$	35.2 $\pm 0.2$	70.25 $\pm 0.92$	218.2 $\pm 3.2$	18.23 $\pm 0.15$	21.93 $\pm 0.15$
panipenem/ betamipron 100	10	7.90 $\pm 0.04$	15.52 $\pm 0.08$	44.4 $\pm 0.2$	1.6 $\pm 0.1$	19.7 $\pm 0.05$	56.1 $\pm 0.2$	35.0 $\pm 0.1$	70.14 $\pm 1.51$	214.5 $\pm 3.4$	18.28 $\pm 0.17$	21.55 $\pm 0.31$
0		4.81 $\pm 0.26$	0.0 $\pm 0.0$	1.1 $\pm 0.2$	16.5 $\pm 1.4$	78.7 $\pm 1.6$	3.9 $\pm 0.5$	0.8 $\pm 0.1$	3.8 $\pm 0.2$			
betamipron 200		4.86 $\pm 0.28$	0.0 $\pm 0.0$	1.4 $\pm 0.3$	16.2 $\pm 1.5$	78.7 $\pm 1.3$	3.8 $\pm 0.6$	0.8 $\pm 0.1$	3.8 $\pm 0.2$			
400		5.16 $\pm 0.17$	0.0 $\pm 0.0$	1.4 $\pm 0.2$	15.5 $\pm 0.6$	79.9 $\pm 0.6$	3.3 $\pm 0.4$	0.8 $\pm 0.0$	4.1 $\pm 0.1$			
panipenem/ betamipron 100		5.76 $\pm 0.61$	0.0 $\pm 0.0$	1.0 $\pm 0.3$	18.3 $\pm 3.4$	76.6 $\pm 3.2$	4.2 $\pm 0.5$	1.2 $\pm 0.5$	4.2 $\pm 0.2$			
200		4.92 $\pm 0.32$	0.0 $\pm 0.0$	1.6 $\pm 0.2$	13.5 $\pm 1.3$	82.0 $\pm 1.5$	3.1 $\pm 0.4$	0.7 $\pm 0.1$	4.0 $\pm 0.2$			
400		4.57 $\pm 0.14$	0.0 $\pm 0.0$	1.3 $\pm 0.3$	13.3 $\pm 1.3$	82.1 $\pm 1.6$	3.4 $\pm 0.5$	0.6 $\pm 0.1$	3.7 $\pm 0.1$			

\* ; Significant at 1% level compared with control  
 RBC ; erythrocyte count HGB ; hemoglobin concentration HCT ; hematocrit value RET ; reticulocyte MCH ; mean corpuscular hemoglobin  
 MCV ; mean corpuscular volume MCHC ; mean corpuscular hemoglobin concentration PLT ; platelet count FIB ; fibrinogen  
 PT ; prothrombin time APTT ; activated partial thromboplastin time WBC ; leukocyte count BA ; basophil EO ; eosinophil  
 NE ; neutrophil LY ; lymphocyte MO ; monocyte (NE), (LY) ; absolute number

Table 3. Serum biochemical findings in male rats treated intravenously with panipenem/betamipron or betamipron for 90 days

Dose mg/kg	N	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (KA-U)	T. BIL (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	(Mean $\pm$ S.E.M.)	
									ALB (g/dl)	IP (mg/dl)
0	10	134.10 $\pm$ 19.73	50.50 $\pm$ 9.57	56.23 $\pm$ 1.06	0.10 $\pm$ 0.01	61.50 $\pm$ 2.04	172.00 $\pm$ 3.80	6.15 $\pm$ 0.03	2.74 $\pm$ 0.02	
betamipron 200	10	103.50 $\pm$ 7.16	35.50 $\pm$ 3.84	55.96 $\pm$ 0.95	0.10 $\pm$ 0.01	61.40 $\pm$ 1.20	170.50 $\pm$ 4.03	6.14 $\pm$ 0.03	2.72 $\pm$ 0.01	
400	10	102.80 $\pm$ 5.92	37.80 $\pm$ 3.68	55.76 $\pm$ 1.46	0.10 $\pm$ 0.01	59.10 $\pm$ 0.86	171.80 $\pm$ 3.48	6.10 $\pm$ 0.04	2.71 $\pm$ 0.02	
panipenem/ betamipron 100	10	100.10 $\pm$ 6.80	34.10 $\pm$ 3.01	56.14 $\pm$ 1.02	0.10 $\pm$ 0.01	58.10 $\pm$ 0.85	173.20 $\pm$ 3.89	6.12 $\pm$ 0.03	2.73 $\pm$ 0.02	
200	10	89.40 $\pm$ 3.63	29.00 $\pm$ 1.59	54.61 $\pm$ 1.17	0.11 $\pm$ 0.01	58.40 $\pm$ 0.86	173.60 $\pm$ 2.24	6.12 $\pm$ 0.03	2.72 $\pm$ 0.01	
400	10	93.40 $\pm$ 6.18	27.20 $\pm$ 1.47	56.40 $\pm$ 1.17	0.10 $\pm$ 0.01	56.50 $\pm$ 1.11	174.40 $\pm$ 3.25	6.06 $\pm$ 0.03	2.73 $\pm$ 0.02	
Dose mg/kg	A/G	UN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CAL (mg/dl)	IP (mg/dl)			
0	0.80 $\pm$ 0.01	25.10 $\pm$ 0.44	0.58 $\pm$ 0.01	141.80 $\pm$ 0.61	4.04 $\pm$ 0.12	10.09 $\pm$ 0.05	5.19 $\pm$ 0.09			
betamipron 200	0.80 $\pm$ 0.01	24.80 $\pm$ 0.38	0.58 $\pm$ 0.01	141.50 $\pm$ 0.40	4.08 $\pm$ 0.06	10.02 $\pm$ 0.07	5.48 $\pm$ 0.21			
400	0.80 $\pm$ 0.01	24.88 $\pm$ 0.44	0.58 $\pm$ 0.01	141.10 $\pm$ 0.38	4.05 $\pm$ 0.08	9.96 $\pm$ 0.06	5.39 $\pm$ 0.10			
panipenem/ betamipron 100	0.81 $\pm$ 0.01	24.09 $\pm$ 0.37	0.58 $\pm$ 0.01	141.50 $\pm$ 0.43	4.00 $\pm$ 0.05	10.06 $\pm$ 0.08	5.20 $\pm$ 0.17			
200	0.80 $\pm$ 0.01	23.92 $\pm$ 0.56	0.57 $\pm$ 0.01	141.30 $\pm$ 0.42	4.00 $\pm$ 0.10	10.00 $\pm$ 0.08	4.98 $\pm$ 0.07			
400	0.82 $\pm$ 0.01	23.90 $\pm$ 0.70	0.58 $\pm$ 0.01	140.40 $\pm$ 0.34	3.99 $\pm$ 0.07	10.03 $\pm$ 0.14	5.27 $\pm$ 0.17			

GOT ; glutamic oxaloacetic transaminase activity GPT ; glutamic pyruvic transaminase activity

ALP ; alkaline phosphatase activity T. BIL ; total bilirubin T. CHO ; total cholesterol GLU ; glucose

T. PRO ; total protein ALB ; albumin A/G ; albumin/globulin ratio UN ; urea nitrogen CRE ; creatinine

NA ; sodium K ; potassium CAL ; calcium IP ; inorganic phosphorus

Table 4. Serum biochemical findings in female rats treated intravenously with panipnem/betamipron or betamipron for 90 days

Dose mg/kg	N	(Mean $\pm$ S. E. M.)														
		GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (KA-U)	T. BIL (mg/dl)	T. CHO (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T. PRO (g/dl)	ALB (g/dl)	A/G	UN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CAL (mg/dl)	IP (mg/dl)
0	10	90.60 $\pm$ 3.22	32.80 $\pm$ 1.78	57.44 $\pm$ 1.88	0.09 $\pm$ 0.00	74.60 $\pm$ 1.43	171.10 $\pm$ 3.48	6.39 $\pm$ 0.06	2.92 $\pm$ 0.03							
betamipron 200	10	87.30 $\pm$ 5.83	32.10 $\pm$ 2.05	57.45 $\pm$ 2.12	0.10 $\pm$ 0.01	76.30 $\pm$ 1.69	165.60 $\pm$ 4.47	6.42 $\pm$ 0.03	2.90 $\pm$ 0.03							
400	10	90.70 $\pm$ 3.72	32.40 $\pm$ 1.86	55.76 $\pm$ 2.00	0.09 $\pm$ 0.01	75.60 $\pm$ 1.38	165.30 $\pm$ 3.99	6.38 $\pm$ 0.06	2.88 $\pm$ 0.03							
panipnem/ betamipron 100	10	83.70 $\pm$ 3.51	30.10 $\pm$ 2.01	56.38 $\pm$ 3.15	0.09 $\pm$ 0.01	76.50 $\pm$ 0.97	166.50 $\pm$ 3.96	6.18 $\pm$ 0.22	2.79 $\pm$ 0.11							
200	10	85.90 $\pm$ 4.41	30.60 $\pm$ 2.04	52.71 $\pm$ 1.58	0.10 $\pm$ 0.00	76.80 $\pm$ 1.66	174.70 $\pm$ 2.14	6.46 $\pm$ 0.05	2.92 $\pm$ 0.04							
400	10	89.90 $\pm$ 3.68	29.30 $\pm$ 1.53	54.36 $\pm$ 1.60	0.10 $\pm$ 0.00	75.60 $\pm$ 1.45	172.20 $\pm$ 2.85	6.33 $\pm$ 0.04	2.87 $\pm$ 0.03							
0		0.84 $\pm$ 0.01	24.18 $\pm$ 0.72	0.58 $\pm$ 0.01	140.70 $\pm$ 0.40	3.38 $\pm$ 0.08	10.05 $\pm$ 0.14	4.86 $\pm$ 0.25								
betamipron 200		0.82 $\pm$ 0.01	22.84 $\pm$ 0.38	0.56 $\pm$ 0.01	139.00* $\pm$ 0.33	3.37 $\pm$ 0.09	10.17 $\pm$ 0.06	5.05 $\pm$ 0.10								
400		0.82 $\pm$ 0.01	23.68 $\pm$ 0.86	0.58 $\pm$ 0.01	138.80* $\pm$ 0.51	3.31 $\pm$ 0.09	9.74 $\pm$ 0.05	4.75 $\pm$ 0.22								
panipnem/ betamipron 100		0.82 $\pm$ 0.01	23.78 $\pm$ 0.55	0.57 $\pm$ 0.01	139.20 $\pm$ 0.49	3.30 $\pm$ 0.10	9.87 $\pm$ 0.17	5.24 $\pm$ 0.16								
200		0.83 $\pm$ 0.01	22.95 $\pm$ 0.34	0.56 $\pm$ 0.02	139.10* $\pm$ 0.18	3.29 $\pm$ 0.08	9.85 $\pm$ 0.04	4.87 $\pm$ 0.16								
400		0.83 $\pm$ 0.01	23.90 $\pm$ 0.50	0.57 $\pm$ 0.01	138.80* $\pm$ 0.47	3.46 $\pm$ 0.09	9.88 $\pm$ 0.06	4.60 $\pm$ 0.24								

\* ; Significant at 1% level compared with control

GOT ; glutamic oxaloacetic transaminase activity GPT ; glutamic pyruvic transaminase activity

ALP ; alkaline phosphatase activity T. BIL ; total bilirubin T. CHO ; total cholesterol GLU ; glucose

T. PRO ; total protein ALB ; albumin A/G ; albumin/globulin ratio UN ; urea nitrogen CRE ; creatinine

NA ; sodium K ; potassium CAL ; calcium IP ; inorganic phosphorus

その結果を対照群(生理食塩液投与群)と比較した。

一般状態の変化として、対照群を含む各投与群の少数例に軟便の排泄を認めた。この変化はPAPM/BPの400mg/kg群でやや高頻度に出現する傾向を示した。PAPM/BP雄400mg/kg群に軽度な体重増加の抑制傾向が認められたが、その他の一般状態、摂餌量推移、尿検査および眼科的検査に異常は認められず、試験期間を通じて死亡は観察されなかった。PAPMをラットに90日間連続静脈内投与した試験<sup>2)</sup>において報告した尿の色調の変化(褐色尿)はBPを併用した本試験では検出されなかった。本試験およびPAPM単独投与試験ともに尿検査には異常を認めていない。

また、投与終了後の検査ではPAPM/BP投与群の100および400mg/kg群の雄で赤血球数の減少、平均赤血球ヘモグロビン量の増加、400mg/kg群の雄でヘマトクリット値の減少、平均赤血球ヘモグロビン濃度の増加、200および400mg/kg群の雌でナトリウムの減少、200mg/kgの雌で肝重量の増加が認められた。

一方、BP投与群では、400mg/kg群の雄で赤血球数およびヘマトクリット値の減少、平均赤血球ヘモグロビン量の増加、200および400mg/kg群の雌でナトリウムの減少、400mg/kg群の雌で平均赤血球容積の増加などが観察された。

しかし、これらの変化はいずれも対照群との差が極めて軽度で、電子顕微鏡検査を含めた病理組織学的検

査でも検索したすべての臓器に異常は認められなかった。さらに、これらの変化には明確な投与量依存性を認めなかった。従って、今回検出された種々の変化は検体の投与に起因した特異的な毒性を示すものではないと考える。

一般にこの種の抗生物質で問題となる腎障害に対してラットは比較的感度が低いとされる。PAPMと同様カルバペネム系の抗生物質であるimipenemの900mg/kgをラットに21日間連続静脈内投与しても腎毒性は発現しない<sup>3)</sup>。さらに、PAPMではその900mg/kgをラットに90日間連続静脈内投与した試験<sup>2)</sup>でも腎毒性をはじめとしてPAPMの特異的な毒性は検出されなかった。従って、本試験の結果も考え合わせるとこの種の抗生物質はラットに特異的な毒性を発現しにくいものと考えられる。

#### 文 献

- 1) 三共株式会社社内資料：No.TR133-018
- 2) 真鍋 淳，木村邦男，戸塚繁夫，松本悦嗣，松沼尚史，増田 裕：Panipenemの90日間連続静脈内投与によるラットに対する亜急性毒性試験。Chemotherapy 39(S-3):157~165, 1991
- 3) 臼居敏仁，久野博司，小林速雄，松井恭子，花見正幸：Imipenem/Cilastatin sodium(MK-0787/MK-0791)の安全性に関する研究(第4報)ラットにおける腎障害の他剤との比較ならびにfurosemideおよびglycerolによる増強効果。Chemotherapy 33(S-4):207-226, 1985



## SUBACUTE TOXICOLOGICAL STUDY IN RATS TREATED INTRAVENOUSLY WITH PANIPENEM/BETAMIPRON FOR 90 DAYS

Sunao Manabe, Kunio Kimura, Etsuji Matsumoto, Takashi Yamoto,  
Naochika Matsunuma and Hiroshi Masuda

Laboratory Animal Science and Toxicology Laboratories, Sankyo Co., Ltd.  
717 Horikoshi, Fukuroi, Shizuoka 437, Japan

Pamipenem/betamipron (PAPM/BP) is a combination of newly developed carbapenem (panipenem (PAPM)) and betamipron (BP). The combination ratio is 1:1. PAPM/BP was intravenously administered to rats for 90 days in order to clarify its subacute toxicity.

Male and female F344 rats, 7 weeks of age, were given 400, 200 and 100mg/kg of PAPM/BP (PAPM/BP 400/400, 200/200, and 100/100mg/kg, respectively), 400 and 200mg/kg of BP, and saline.

No abnormalities in general conditions were observed without soft stool which was found in a few animals from all groups, including control, and no animals died during study period. Although a slight suppression of weight gain was observed in males given 400mg/kg of PAPM/BP, urinalysis and ophthalmology revealed no abnormalities in all treated groups. Moreover, food intake levels did not varied significantly in all treated groups.

At the end of administration, hematological and serum biochemical examination showed slight changes in PAPM/BP treated groups, *e.g.*, decrease of RBC count and increase of mean corpuscular hemoglobin in males given 100 and 400mg/kg, decrease of hematocrit value in males of 400mg/kg group, reduction of sodium level in females receiving 200 and 400mg/kg. In BP treated groups, decrease of RBC count and hematocrit value in females of 200 and 400mg/kg groups, and reduction of sodium level in females receiving 200 and 400mg/kg were observed. However, pathological examination revealed no toxic findings in all organs examined.

In conclusion, any specific findings which indicated the toxicity of PAPM/BP or BP were not detected in the present study.