

合成抗菌薬 sparfloxacin のマウス、 ラットおよびビーグル犬における急性毒性試験

飯田晶敏・矢寺成次・大西久美雄

大日本製薬株式会社総合研究所*

Sparfloxacin の急性毒性をマウスおよびラットでは経口、皮下および腹腔内投与、ビーグル犬では経口投与により検討した。

マウス、ラットおよびビーグル犬の各投与経路とも投与可能な最大量を投与したが、死亡動物はみられず、LD₅₀値はマウスおよびラットでは雌雄とも経口投与で 5000 mg/kg 以上、皮下および腹腔内投与で 2000 mg/kg 以上、ビーグル犬の経口投与では雌雄とも 600 mg/kg 以上と推定された。

症状観察ではマウス、ラットの経口および腹腔内投与で下痢・軟便あるいは行動減少、皮下投与で投与部位に痂皮形成などの変化、ビーグル犬の経口投与で元気消失、嘔吐、流涎および振顫がみられた。

体重については、マウスの経口、皮下および腹腔内投与、ラットの皮下および腹腔内投与でいずれも観察期間の前半に減少がみられた。摂餌量についてはラットにおいて体重の変化と同様に観察期間の前半に抑制がみられた。

剖検ではマウスおよびラットの皮下投与で投与部位の皮下に被験物質様物を被包化した嚢胞、腹腔内投与で腹腔内臓器の癒着と腹腔内臓器の漿膜面に被験物質様物を被包化した嚢胞がみられた。

Key words : 合成抗菌薬, Sparfloxacin, 急性毒性

Sparfloxacin は大日本製薬(株)総合研究所で新しく開発されたピリドンカルボン酸系抗菌薬で、強い抗菌力と広い抗菌スペクトルを有する¹⁾。今回は sparfloxacin の急性毒性をマウス、ラットおよびビーグル犬を用いて検討したので報告する。なお、本試験の実施期間は 1987 年 5 月から 9 月である。

I. 材 料 と 方 法

1. 被験物質

本試験には当社総合研究所で合成された sparfloxacin の三水和物(ロット番号 R 87005)を用いた。Sparfloxacin の三水和物は黄色の結晶性粉末で、においはなく、味は苦い。

2. 使用動物および飼育条件

1) マウスおよびラット

マウスは日本クレア(株)より購入した雌雄の Jcl : ICR 系マウスを 5 週齢(体重; 雄, 26.3~38.1 g; 雌, 22.8~31.4 g)で試験に用いた。ラットは日本クレア(株)より購入した雌雄の Jcl : SD 系ラットを 6 週齢(体重; 雄, 147.2~221.3 g; 雌, 122.4~168.2 g)で試験に用い

た。なお、動物の予備飼育期間はいずれも購入後 2 週間とした。

マウスは蒸気加圧滅菌した木屑を敷いたプラスチック製ケージに 4 匹ずつ、ラットは同様の木屑を敷いた金属製ケージに個別にそれぞれ収容し、温度 24±2℃、湿度 55±5%、換気回数 20 回/時間、人工照明 12 時間/日の動物室で、蒸気加圧滅菌した固型飼料(CE-2, 日本クレア(株))および水道水を自由に与えて飼育した。

動物の個体識別は各ケージに被験物質名、投与用量、動物番号、および個体識別番号(ラットのみ)を記入したラベルを掛け、マウスは被毛にピクリン酸溶液を塗布することにより、また、ラットは耳介に個体識別番号を刻んだ耳標を取り付けることにより行った。

2) ビーグル犬

オリエンタル酵母工業(株)よりマーシャルファーム(米国)産の雌雄ビーグル犬を 5~6 ヶ月齢で購入し、予備飼育の後 10~11 ヶ月齢(体重; 雄, 10.3~11.3 kg; 雌, 9.6~9.7 kg)で試験に用いた。

動物は、温度 22~25℃、換気回数 15 回/時間、人工照明 12 時間/日の動物室で、金属製ケージに個別に収容

*〒564 大阪府吹田市江の木町 33-94

して飼育した。飼料は1匹当たり固型飼料(DS, オリエンタル酵母工業㈱) 300 gに温水 400 ccを加えて1日1回与え、飲水は水道水を自動給水装置により自由に摂取させた。

動物の個体識別は各ケージに被験物質名、投与用量、動物番号および個体識別番号を記入したラベルを貼付し、さらに各個体の耳介に入墨された個体識別番号により行った。

3. 被験物質投与

投与経路はマウスおよびラットでは経口、皮下および腹腔内投与の3経路、ビーグル犬では経口投与の1経路とした。いずれの投与経路ともに被験物質をカルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC, 半井化学薬品㈱)の0.5%水溶液を用いて、投与容量をマウスでは体重10 g当たり経口投与で0.5 ml、皮下および腹腔内投与で0.2 ml、ラットでは体重100 g当たり経口投与で2 ml、皮下および腹腔内投与で1 ml、ビーグル犬の経口投与では体重1 kg当たり2~4 mlとなるように懸濁し、投与前の体重を基準にして単回投与した。また、マウスおよびラットでは対照群を設け、0.5% CMC水溶液のみを投薬群と同様に与えた。なお、マウスおよびラットの経口投与の場合は投与前に約18時間絶食させた。

4. 投与量および実験群

マウス、ラットではいずれも投与可能な最大量を投与したが、その投与量は経口投与で5000 mg/kg、皮下および腹腔内投与で2000 mg/kgとした。また、ビーグル犬の経口投与では100, 300および600 mg/kgの3用量とした。

なお、投与用量は無水物に換算して表示した。1群当たりの動物数はマウスおよびラットでは雌雄各群8匹、ビーグル犬では雌雄各群1匹とした。

5. 検査

症状観察はマウス、ラットおよびビーグル犬とも14日間にわたり毎日行った。

体重測定はマウス、ラットおよびビーグル犬とも投与7日目までは毎日、それ以後は投与10および14日目に行った。

摂餌量測定はラットおよびビーグル犬について実施し、体重測定と同日に行った。

14日間の観察期間終了後、すべての動物についてペントバルビタール麻酔下に放血致死せしめ、剖検して肉眼所見を記録した。また、異常所見のみられたマウスの脾臓についてはホルマリン固定後、常法によりヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、病理組織学的検査を

実施した。

II. 結 果

1. 死亡率

各動物種の投与経路、投与量および死亡率をTable 1に示した。

マウスおよびラットでは雌雄とも経口投与で5000 mg/kg、皮下および腹腔内投与で2000 mg/kgを投与したが、いずれも死亡動物は認められなかった。したがって、マウスおよびラットともにLD₅₀値は経口投与では5000 mg/kg以上、皮下および腹腔内投与では2000 mg/kg以上と推定された。

ビーグル犬では100, 300および600 mg/kgを経口投与したが、いずれも死亡動物は認められず、LD₅₀値は600 mg/kg以上と推定された。

2. 症状観察、体重、摂餌量および剖検所見

1) マウス

(1) 経口投与

症状観察により行動減少が投与後13~24分より雌雄の全例にみられたが、徐々に回復を示し、投与24時間目までに消失した。その他、下痢が投与後36分に雄の8例中1例にみられた。体重については、増加抑制が雄で投与1日目から6日目、雌で投与1日目から2日目の間にみられた。剖検では雌雄とも異常所見はみられなかった。

(2) 皮下投与

症状観察により雌雄とも投与部位(背部皮下)において皮膚の痂皮形成が投与7日目に少数例に出現し、その後しだいにその例数が増加して、観察期間の終了までには全例にみられた。体重については、減少が雌雄ともに投与1日目にみられたが、その後回復あるいは回復傾向を示した。剖検では投与部位の皮下に被験物質様の黄白色物を被包化した嚢胞が雌雄の全例に、脾臓の腫大が雄の8例中2例、雌の8例中3例にみられた。なお、病理組織学的検査では腫大した脾臓において髄外造血の亢進像がみられた。

(3) 腹腔内投与

症状観察により行動減少が投与後6~15分より雌雄の全例にみられたが、徐々に回復を示し、投与24時間目までには消失した。また、下痢が投与24時間目に雄の8例中5例、雌の8例中4例にみられたが、徐々に回復を示し、投与4日目までに消失した。体重については、減少が雌雄ともに投与1日目から3日目の間にみられたが、その後回復あるいは回復傾向を示した。剖検では雌雄の各8例中7例あるいは全8例に腹腔内臓器の癒

Table 1. Mortalities and LD₅₀ values of sparfloxacin in mice, rats and beagle dogs

Species	Route	Sex	Dose (mg/kg)	Mortality*	LD ₅₀ values (mg/kg)
Mice	p. o.	male	0	0/8	>5000
			5000	0/8	
		female	0	0/8	>5000
			5000	0/8	
	s. c.	male	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
		female	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
	i. p.	male	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
		female	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
Rats	p. o.	male	0	0/8	>5000
			5000	0/8	
		female	0	0/8	>5000
			5000	0/8	
	s. c.	male	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
		female	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
	i. p.	male	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
		female	0	0/8	>2000
			2000	0/8	
Beagle dogs	p. o.	male	100	0/1	
			300	0/1	> 600
			600	0/1	
		female	100	0/1	
			300	0/1	> 600
			600	0/1	

* No. of dead animals / no. of treated animals

着、および腹腔内臓器の漿膜面に被験物質様の黄白色物を被包化した変胞がみられた。また、雌の1例に小腸のバイエル氏板に網目状の黄色化がみられた。

2) ラット

(1) 経口投与

症状観察により軟便が投与24時間目で雌雄の全例にみられたが、その後発現例数は減少し、雄では投与5日目、雌では投与3日目には消失した。体重への影響は雌雄ともみられなかった。摂餌量は雌雄とも投与1, 2日目に抑制がみられた。剖検では雌雄とも異常所見はみられなかった。

(2) 皮下投与

症状観察により軟便が投与24時間目に雌の8例中3例にみられたが、投与2日目には消失した。投与部位(背部皮下)には硬結果が投与5日目より観察期間終了まで雌雄の全例にみられ、その多数例には皮膚の痂皮形成もみられた。体重については、減少が雌雄ともに投与1, 2日目にみられたが、その後回復あるいは回復傾向を示した。摂餌量は雌雄とも投与1日目から7日目の間で一過性の抑制がみられた。剖検では投与部位の皮下に被験物質様の黄白色物を被包化した変胞が雌雄の全例にみられた。

(3) 腹腔内投与

症状観察により行動減少、および時々後半身を持ち上げる姿勢が投与後18~30分より雌雄の全例にみられたが、いずれも投与後6時間までには消失した。その他、軟便が雌雄の全例に投与24時間目からみられたが、投与5日目までには消失した。体重については、減少が雌雄とも投与1, 2日目にみられたが、その後回復あるいは回復傾向を示した。摂餌量は一過性の抑制が雌雄とも投与1日目から6日目の間でみられた。剖検では雌雄の各8例中7あるいは全8例に腹腔内臓器の癒着がみられ、さらに腹腔内臓器の漿膜面に被験物質様の黄白色物を被包化した変胞がみられた。また、雄の1例に小腸のバイエル氏板に網目状の黄色化がみられた。

3) ビーグル犬(経口投与)

症状観察では、100 mg/kg 投与に異常はなかったが、300 mg/kg 投与以上で嘔吐、流涎(600 mg/kg 投与の雌を除く)および元気消失が投与後約1時間から5時間の間でみられ、さらに、600 mg/kg 投与の雌には投与24時間後に吐物が発見された。嘔吐の頻度は300 mg/kg 投与の雄で2回、雌で4回、600 mg/kg 投与の雄で13回、雌で7回であった。さらに、600 mg/kg 投与では雌雄とも振顫が投与後約1時間から5時間の間でみられた。体重および摂餌量に対する影響、および剖検

における異常所見は雌雄のいずれの投与群においてもみられなかった。

III. 考 察

Sparfloxacinの急性毒性をマウス、ラットでは経口、皮下および腹腔内投与により、また、ビーグル犬では経口投与により検討した。

いずれの動物種の各投与経路とも投与可能な最大量を投与したが、死亡動物はみられず、LD₅₀値はマウスおよびラットでは雌雄とも経口投与で5000 mg/kg以上、皮下および腹腔内投与で2000 mg/kg以上、ビーグル犬では雌雄とも経口投与で600 mg/kg以上と推定された。

症状観察では、マウス、ラットにおいて経口および腹腔内投与で下痢・軟便あるいは行動減少、皮下投与で投与部位の痂皮形成あるいは硬結果がみられた。また、ラットの腹腔内投与では後半身を持ち上げる姿勢がみられた。一方、ビーグル犬の経口投与では元気消失、嘔吐、流涎および振顫がみられた。これらの症状の変化は、マウス、ラットの皮下投与の投与部位における変化を除きいずれも一過性あるいは観察期間の前半における変化であった。

体重については、マウスの経口、皮下および腹腔内投与、ラットの皮下および腹腔内投与においてそれぞれ観察期間の前半に減少がみられたが、いずれも回復あるいは回復傾向を示す変化であった。摂餌量についてはラットにおいて体重の変化と同様に観察期間の前半に抑制がみられた。ビーグル犬では体重、摂餌量への影響はみられなかった。

剖検ではマウスおよびラットの皮下投与で投与部位の皮下に被験物質様物を被包化した変胞、腹腔内投与で腹腔内臓器の癒着と腹腔内臓器の漿膜面に被験物質様物を被包化した変胞がみられた。これらの変化は投与された被験物質に対する投与局所での反応性変化であり、毒性的にとくに問題とするものではないと考えられた。その他、マウスの皮下投与で脾臓の腫大、マウスおよびラットの腹腔内投与でバイエル氏板の網目状の黄色化がいずれも少数例にみられた。病理組織学的検査では上記の脾臓において髄外造血の亢進像がみられた。

以上より、sparfloxacinはその投与可能最大量を投与してもマウス、ラットおよびビーグル犬のいずれにも死亡動物は出現せず、また、症状観察あるいは剖検において毒性的にとくに問題となる異常は認められなかった。

文 献

- 1) Nakamura S, et al: *In vitro* and *in vivo* anti-bacterial activities of AT-4140, a new

broad-spectrum quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 33 : 1167~1173, 1989

ACUTE TOXICITY STUDY OF SPARFLOXACIN IN MICE, RATS AND BEAGLE DOGS

Masatoshi Iida, Seiji Yatera and Kumio Ohnishi
Research Laboratories, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd.
33-94 Enoki-cho, Suita, Osaka 564, Japan

Acute toxicity study of sparfloxacin was carried out in mice, rats and beagle dogs. Sparfloxacin was administered in a single dose to mice and rats by oral (p. o.), subcutaneous (s. c.) and intraperitoneal (i. p.) routes, and to dogs by p. o. route.

Maximal doses were administered to animals of each species by each route, and no deaths occurred. In mice and rats, the p. o. LD₅₀ values were estimated at 5000 mg/kg or more, while the s. c. and i. p. LD₅₀ values were estimated at 2000 mg/kg or more. In dogs, the p. o. LD₅₀ value was estimated at 600 mg/kg or more.

Major physical signs included diarrhea or loose stool, inactiveness in mice and rats receiving p. o. and i. p. administrations, and crust formation at the injection site in mice and rats receiving s. c. administration. In dogs, physical signs included inactiveness, vomiting, salivation and tremors.

Body weight decreased slightly during the first week of treatment in mice and rats (except rats receiving p. o. administration). In rats, food consumption decreased slightly during the first week. In dogs, there were no changes in body weight and food consumption.

Significant findings included cyst formation of the injection site in mice and rats receiving s. c. administration, and adhesions in various areas of the visceral organs and cyst formation on the serous surface of the visceral organs in mice and rats receiving i. p. administration.