

べられている。

第2試験は¹⁴C標識プロチゾラムを泌乳牛(2♀および3♀)に単回静脈内投与した際の体内動態について調べられている。

①第1試験

a. 第1相試験、Phase 1：試験開始後1-6日目

¹⁴C標識プロチゾラムを泌乳牛1頭(1♀)に単回静脈内(10 µg/kg)投与した際の、総放射活性の回収率および排泄経路、血漿、全血および乳汁中における残留量が調べられている。血液試料は投与前および投与後144時間までに19時点で、糞尿は投与後12-24時間間隔で、乳汁は朝夕(08:00および18:00の2回)の時点で採取され、それぞれにおける回収率が測定された。

放射活性の総回収率は投与後6日目で112%を示し、投与量の25%は投与後144時間までに尿中に排泄され(24時間では24%)、86%は糞中から排泄された。

単回静脈内(10 µg/kg)投与した際の血漿中の総放射活性値は、投与5分後の16.4から投与1時間後には8.6 ng eq/mLまで低下した。さらに、投与12時間後には0.47 ng eq/mLまで低下し、その後は検出限界未満となった。全血の放射活性値は血漿のそれらに比べて低かったが、同様の動態傾向を示した。

乳汁中における総放射活性値は非常に低く、総投与量に対する回収量の比率はわずか0.1%であった。総放射活性のC_{max}(0.58 ng eq/mL)は初回乳汁サンプル(0-9時間)で確認され、それ以降、乳汁中の放射活性の濃度は検出限界未満であった。乳汁成分である乳脂、凝乳および乳清のうち、高濃度の放射活性が認められたのは乳脂分画でC_{max}は1.73 ng eq/mLであった。

b. 第2相試験、Phase 2：試験開始後7日目

第1相試験終了後、¹⁴C標識プロチゾラムを泌乳牛1頭(1♀)に単回静脈内(10 µg/kg)投与し、その6.5時間後に安楽死させ、全血、血漿、臓器および組織中それぞれの総放射活性の残留量について調べられている。血液試料は投与前および投与6.5時間後までの計5時点で採取した。投与6.5時間後に安楽死させた後、肺、心臓、骨格筋、肝臓、皮膚、胃粘膜、舌、骨塩、骨髄、脂肪(腎臓および皮下)、脾臓、腎臓、副腎、脳、乳汁、胆汁、乳房組織、血漿および全血が採取され、個々の組織および臓器については重量が測定された。また、投与後6時間までの糞尿、乳汁および胆汁が採取され、重量あるいは容量の測定が行われた。

血漿中の総放射活性の濃度は投与30分後に14.05 ng eq/mL、投与1時間後では10.71 ng eq/mLを示し、投与6.5時間後には1.22 ng eq/mLまで低下した。全血中の濃度は投与30分後に11.00 ng eq/mL、投与1時間後では8.25 ng eq/mLを示し、投与6.5時間後には1.16 ng eq/mLまで低下した。これらの結果は、第1相試験の結果と同程度であった。

臓器および組織中濃度は胆汁、肝臓および腎臓の順で高く、総放射活性値はそれぞれ192.5、16.9および5.3 ng eq/gであった。

未変化体の存在について、第1相試験で投与0.25、0.75、1.5、2および8時間後に採取した血漿を用いて調べたところ、それぞれ5.91、5.71、2.97、1.85および0.59 ng/mL

の未変化体が検出された。

肝臓および腎臓中の代謝物産物について HPLC にて分析したところ、代謝物 A あるいは代謝物 B の代謝物は検出されなかったが、少量の未変化体（肝臓で 22.5%、腎臓で 21.5%）が確認された。

②第 2 試験

^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛 2 頭（2 雌および 3 雌）に 12 時間毎に 2 回（0 および 12 時間）、静脈内（10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）投与したときの体内動態について調べられている。2 回目の静脈内投与後、泌乳牛 1 頭（2 雌）は 24 時間に、泌乳牛 1 頭（3 雌）は 72 時間に屠殺した。

泌乳牛 1 頭（2 雌）では投与後 36 時間までに放射活性の 70% が回収され、そのうち 57% は糞中に、13% は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1% と微量であった。泌乳牛 1 頭（3 雌）では投与後 84 時間までに放射活性の 79% が回収され、そのうち 63% は糞中に（36 時間までに 59% が排泄）、15% は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1% と微量であった。

泌乳牛 1 頭（2 雌）に初回（0 時間）静脈内投与したときの血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 30.9 ng eq/mL から投与 3 時間後（ $T_{1/2}$ は投与後 0.5 時間であると推測）には 3.1 ng eq/mL まで低下し、投与 12 時間後では 0.5 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与 5 分後で 15.2 ng eq/mL を示し、投与 16 時間後（ $T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測）では 1.0 ng eq/mL まで低下した後、投与 20 時間後には 0.6 ng eq/mL となった。泌乳牛 1 頭（3 雌）に初回静脈内投与後の血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 23.9 ng eq/mL から投与 2 時間後（ $T_{1/2}$ は投与後 1 時間と推測）には 5.0 ng eq/mL まで低下し、投与 12 時間後では 1.0 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与 5 分後で 27.0 ng eq/mL を示し、投与 15 時間後では 3.7 ng eq/mL まで低下した（ $T_{1/2}$ は投与後 1 時間であると推測）。その後、投与 24 時間後では 1.1 ng eq/mL となった（ $T_{1/2}$ は投与後 5 時間であると推測）。泌乳牛 2 頭（2 雌および 3 雌）の総放射活性値は、第 1 試験の第 1 相試験で確認した泌乳牛 1 頭（1 雌）の結果と類似していた。

泌乳牛 2 頭（2 雌および 3 雌）に ^{14}C 標識プロチゾラムを 2 回、静脈内投与した後の乳汁中濃度は、2 頭共に 0.1% と微量であった。2 回目の投与 0-9 時間後に採取された乳汁中の最高値は、2 雌で 0.1 ng eq/mL、3 雌で 0.7 ng eq/mL であった。乳汁中の濃度についても、第 1 試験の第 1 相試験の泌乳牛 1 頭（1 雌）の結果と類似していた。

泌乳牛 2 頭に ^{14}C 標識プロチゾラムを 2 回、静脈内投与したときの 24 時間後（2 雌）および 72 時間後（3 雌）の肺、心臓、肝臓、腎臓、舌、皮膚、脂肪（腎臓および皮下）、全血、胆汁および骨格筋の総放射活性値について調べたところ、肝臓以外のほとんどは検出限界未満であった。肝臓では 2 回目の投与 24 時間後で 9.7 ng eq/mL（0.8%）、投与 72 時間後では 12.0 ng eq/mL（0.7%）の濃度が確認された。

以上の 2 試験の結果から、 ^{14}C 標識プロチゾラムを泌乳牛 3 頭（1 雌、2 雌および 3 雌）

に静脈内 (10 µg/kg) 投与すると、放射活性は急速に排泄されることが確認された。主要排泄経路は糞中 (57-86%) であり、多くが胆汁中に排泄されることが考えられた。一方、尿中排泄は少量であった (15-25%)。これらの結果は、先に実施されたラット (糞中排泄 : 86%、尿中排泄 : 6%) およびサル (糞中排泄 : 59%、尿中排泄 : 28%) の試験結果と一致するものであった (参照 10,11)。また、いずれにおいても放射活性の大部分は投与後 24 時間までに排泄された。

血漿中からも急速に排泄され、泌乳牛 3 頭に静脈内投与したときの $T_{1/2}$ は 0.5-1 時間であった。これらの結果は、ラット ($T_{1/2}$: 0.3 時間)、イヌ ($T_{1/2}$: 0.9 時間) およびサル ($T_{1/2}$: 1.3 時間) を用いた先の試験結果と一致している (参照 12)。全血中の濃度は血漿中よりも低い (1♀)、赤血球中への選択的な取り込みは示されていない。

泌乳牛 3 頭共に乳汁中の総放射活性値は低く、わずか 0.1% であることが確認された。乳汁成分の分析では、乳脂分画中に高濃度の放射活性が認められた (1♀)。

泌乳牛 3 頭に静脈内投与 6.5 時間後 (1♀)、投与 24 時間後 (2♀) および投与 72 時間後 (3♀) に屠殺したときの肝臓における濃度は、それぞれ 16.9 ng eq/mL (2.6%)、9.7 ng eq/mL (0.8%) および 12.0 ng eq/mL (0.7%) あった。腎臓中の濃度は投与 6.5 時間後で 5.3 ng eq/mL を示し、投与 24 および 72 時間後では検出限界未満となった。この結果より、糞中への排泄は高く、尿中への排泄は低いことが明らかになった。また、肝臓では投与 72 時間後において 0.1% 以下のプロチゾラムおよび/あるいはその代謝物の残留が確認された。(参照 8)

泌乳牛 (3 頭/群) に ^{14}C 標識プロチゾラムを静脈内 (2 µg/kg) 投与 6.5、24、72 時間後に各 3 頭から血液、乳汁および組織・臓器 (血漿、骨格筋、脂肪、腎臓、胆汁、肝臓) を採取し、各試料中のプロチゾラム濃度を測定した。血漿では二相性の半減期がみられ、投与 7 分後に C_{max} (2.83 ng eq/mL) が認められ、投与 3 時間後には 0.53 ng eq/mL まで急速に減少 ($T_{1/2}$ は 1.2 時間) し、その後は緩やかな減少を示し投与 36 時間後には 0.01 ng eq/mL まで減少した ($T_{1/2}$ は 5 時間)。乳汁中の残留量は低く、初回搾乳 7 時間後で C_{max} (0.08 ng eq/mL) が認められ、47 時間後には検出限界まで減少した。各組織・臓器中における残留は主に肝臓 (投与 6.5 時間後 : 3.54 ng eq/mL、24 時間後 : 1.24 ng eq/mL、72 時間後 : 0.56 ng eq/mL) および腎臓 (投与 6.5 時間後 : 1.12 ng eq/mL、24 時間後 : 0.13 ng eq/mL、72 時間後 : 0.02 ng eq/mL) で認められた。肝臓では投与 72 時間後まで明らかな残留が認められ、 $T_{1/2}$ は 30 分であった。また、胆汁中にはかなりの量の残留が認められ (投与 6.5 時間後 : 33.61 ng eq/mL、24 時間後 : 3.94 ng eq/mL、72 時間後 : 0.01 ng eq/mL)、プロチゾラムの主要排泄経路は糞中であることが示唆された。筋肉および脂肪中の残留はいずれの時点においても微量であった。(参照 9)

(7) 残留試験 (牛) (参照 13,14,15,16)

雌子牛 (約 6 ヶ月齢、31 頭) に SPV-708 (プロチゾラム 0.2 mg/mL 製剤) を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL (有効成分として 0.2 mg、以下同じ) および 2 倍量群 2.0 mL (有効成分として 0.4 mg、以下同じ) として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与 2 時間、1、2、3 および 5 日後に各群 3 頭から各組織・臓器を採取してプロチ

ゾラムの経時的な残留推移を確認した。表1に示すように最終投与1日後には全例が検出限界未満となった。(参照13)

表1 ブロチゾラム製剤投与後の組織内残留濃度 3試行 単位: µg/g

試料		採材時点		
		2時間目	1日目	2日目
常用量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	<0.001	<0.001	—
	腎臓	<0.001	<0.001	—
	脂肪	<0.001	<0.001	—
	小腸	<0.001	<0.001	—
	血液	<0.001	<0.001	—
2倍量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	<0.001	<0.001	—
	腎臓	<0.001	<0.001	—
	脂肪	0.001*	<0.001	<0.001
	小腸	<0.001	<0.001	—
	血液	<0.001	<0.001	—

・(*) 3例中2例が検出限界未満 ・ —: 実施せず

同じ試験を異なる雌子牛(約6ヶ月齢、31頭)を用いて実施された残留試験の結果は、表2に示すように最終投与1日後においては、いずれの試料も検出限界未満となった。(参照14)

表2 ブロチゾラム製剤投与後の組織内残留濃度 3試行 単位: µg/g

試料		採材時点		
		2時間目	1日目	2日目
常用量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	0.001 0.003*	<0.001	<0.001
	腎臓	0.002**	<0.001	<0.001
	脂肪	0.002**	<0.001	<0.001
	小腸	0.002**	<0.001	<0.001
	血液	0.001**	<0.001	<0.001
2倍量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	<0.001	<0.001	—
	腎臓	<0.001	<0.001	—
	脂肪	0.001*	<0.001	—
	小腸	<0.001	<0.001	—
	血液	<0.001	<0.001	—

*は3例中1例で検出限界未満、**は3例中2例で検出限界未満 —: 実施せず

泌乳牛 (2~6 才齢、3 頭/群) に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL として、朝の搾乳直後に左頸静脈内に 3 日間連続投与した。乳汁採取は 1 回目投与前 1 回 (対照)、最終投与 12、24、36、48、60 および 72 時間後に、血液採取は 1 回目投与前 1 回 (対照)、最終投与 15、30 分、1、2、6 および 12 時間後に右頸静脈から行い、プロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。表 3 においては乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与 24 時間後まで全試料が検出限界未満であった。表 4 においては血液においては、最終投与 1 時間後にはいずれも検出限界未満となった。(参照 15)

表 3 プロチゾラム製剤投与後の乳汁中残留濃度 単位: $\mu\text{g/g}$

	投与前	12 時間	24 時間	36 時間
常用量	<0.001	<0.001	<0.001	—
2 倍量	<0.001	<0.001	<0.001	—

表 4 プロチゾラム製剤の血液中残留濃度 単位: $\mu\text{g/g}$

	投与前	15 分	30 分	1 時間	2 時間
常用量	<0.001	0.001, 0.002, 0.002	0.001*	<0.001	<0.001
2 倍量	<0.001	0.002, 0.003, 0.003	0.001, 0.002, 0.002	<0.001	<0.001

同じ試験で異なる泌乳牛 (4 才齢、3 頭/群) を用いて実施された残留試験の結果は、表 5 と表 6 に示すように乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与 12 時間後まで全試料が検出限界未満であった。血液においては、常用量群および 2 倍量群でそれぞれ最終投与 30 分および 1 時間後には検出限界未満となった。(参照 16)

表 5 プロチゾラム製剤投与後の乳汁中残留濃度 単位: $\mu\text{g/g}$

	投与前	12 時間	24 時間
常用量	<0.001	<0.001	<0.001
2 倍量	<0.001	<0.001	<0.001

36 時間以降は実施せず

表 6 プロチゾラム製剤の血液中残留濃度 単位: $\mu\text{g/g}$

	投与前	15 分	30 分	1 時間	2 時間
常用量	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	—
2 倍量	<0.001	0.003, 0.002, 0.002	0.002, 0.002*	<0.001	<0.001

— は実施せず

*3 例中 1 例で検出限界未満

6 時間以降は検査実施せず

2. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (マウス) (参照 17,18,19)

Chbi: NMRI 系アルビノマウス (雌雄各 10 匹/群) にプロチゾラムを単回強制経口 (6,000、8,000、10,000 mg/kg 体重/日) 投与したときの LD_{50} は雌雄ともに 10,000 mg/kg

体重以上であった。死亡例は 8,000 mg/kg 投与群の雄 3 例 10,000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。死亡した雄 1/3 例の胃腸管内は乳白色の投与液で満たされていた。また、2/3 例では胃腸管内に残留物は認められなかったものの、1 例の粘膜に充血が認められた。雄 2/3 例および雌 1 例では脱水が認められた。計画解剖例では投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

薬物による影響として、全例において投与後に自発運動の著しい減少あるいは睡眠が認められたが、投与後 4 日までには完全に回復した。なお、これらの症状の程度に群間差および性差は認められなかった。(参照 17,19)

ICR-JCL 系マウス (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回静脈内 (0、20 mg/kg 体重/日) 投与したが、死亡例は認められず、LD₅₀ は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮静、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、翌日には回復した。剖検では病理学的変化は認められなかった。(参照 18)

ICR-JCL 系マウス (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回腹腔内 (0、1,000 mg/kg 体重/日) 投与したが、死亡例は認められず、LD₅₀ は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮静、睡眠、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、投与 2 日後には全例が回復した。剖検ではいずれの投与群においても腹膜炎が認められた。(参照 18)

(2) 急性毒性試験 (ラット) (参照 18,20)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回静脈内 (0、16 (雌のみ)、20 mg/kg 体重/日) 投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。死亡例は 20 mg 投与群の雌 2 例で認められ、1 例は睡眠中投与 5 分後に、別の 1 例は投与 6 時間後に強直性痙攣および呼吸困難により死亡した。

薬物による影響として、雌雄共に鎮静および睡眠が認められたが、投与後 6 時間以内に回復した。また、雌雄共に摂水量の高値が認められた。剖検では、死亡例および計画解剖例に病理学的変化は認められなかった。(参照 18)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回腹腔内 (0、1,000 mg/kg 体重/日) 投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。投与翌日に 1,000 mg 投与群の雄 1 例で死亡が認められ、剖検では胃底部粘膜の点状出血、腹腔内には被験物質の白色沈着がみられた。

薬物による影響として、鎮静および睡眠、失調様歩行、自発運動の減少、軟便等が認められたが、投与 2~3 日後に回復した。体重変化は雄で投与 7 日後まで遅延が認められ、この期間は摂水量にも低値が認められた。雌では摂水量は高値を示した。計画解剖例ではいずれの投与群でも腹膜炎が認められた。(参照 18)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 10 匹) にプロチゾラムを単回強制経口 (7,000 mg/kg 体重) 投与したとき死亡例は雌 1 例で認められ、LD₅₀ は雌雄ともに 7,000 mg/kg 体重以上で

あった。剖検では胃腸管内に投与液が満たされていた以外、明らかな変化は認められなかった。

薬物による影響として、雌雄共に投与 5 分後から鎮静、投与 10 分後にうずくまり、投与 1 時間後に腹臥位、投与 3 時間後には雄では失調様歩行を開始し、雌では腹臥位のまま労作性呼吸を行っていた。雄は翌朝には回復していたが、雌の 3 例が衰弱状態に陥り、そのうち 1 例が死亡した。なお、雌雄共にこれらの症状は投与後 48 時間までには回復した。(参照 20)

(3) 急性毒性試験 (イヌ) (参照 19)

イヌ (雌雄 2 頭/群、計 6 頭) にプロチゾラムを単回経口投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、投与 1-28 時間後に心拍数および呼吸数の増加、運動失調が認められ、投与後 48 時間までに睡眠、鎮静、振戦および嘔吐が認められた。投与 2~4 日後に摂餌量の低値および体重の軽度な低値が認められた。

(4) 急性毒性試験 (ウサギ) (参照 19)

ウサギ (雌雄 2 羽/群、計 4 羽) にプロチゾラムを単回経口投与したときの LD₅₀ は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、運動失調、筋弛緩および鎮静が認められた。

(5) 急性毒性試験 (サル) (参照 21)

カニクイザル (雌雄各 1 頭) を用いた強制経口 (0.063、0.25、1、4 mg/kg 体重/日) 投与による急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与は雌雄各 1 頭に対し、各用量を 7 日間隔で行なった。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.063 mg 投与群の雌雄で発声やひっかき行動の減少、怯えや攻撃性の低下を示す例が認められた。また、振戦、握力の低下および探索行動の増加がいずれも軽度ながら認められた。0.25 および 1 mg 投与群では、自発運動および探索行動の増加が認められた後、鎮静および無関心の状態となった。これ等の症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。4 mg 投与群の症状および程度は 1 mg 投与群と類似していたが、投与後に探索行動は認められず、鎮静状態が長時間認められた。なお、鎮静状態は投与後 24 時間までに回復が認められた。

3. 亜急性毒性試験

(1) 4 週間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 19)

ラット (雌雄各 20 匹/群、最高用量の雌は 30 匹) を用いた強制経口 (0.3、10、400 mg/kg 体重/日) 投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群で鎮静を示した後、興奮が認められた。

摂餌量では、400 mg 投与群の雌で高値が認められた。

血液生化学検査では、400 mg 投与群で Tcho の高値が認められた。

臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の高値が認められたが、回復期間中に回復がみられた。

病理組織学的検査では、肝臓を含めて投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は 0.3mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 5 週間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 20,22)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 15 匹/群) を用いた強制経口 (0.5、100、1,000 mg/kg 体重/日、低用量の 0.5 mg/kg は推定臨床用量である 0.005 mg/kg の 100 倍量に相当) 投与における 5 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群にはそれぞれ雌雄各 10 匹を加えて回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。100 mg 以上投与群で投与 10~15 分後から鎮静状態が認められた。鎮静は 100 mg 投与群では 4 時間、1,000 mg 投与群では 4~7 時間継続したが、投与回数を重ねるにつれて徐々に短くなり、投与終了時には両群ともに継続時間は約 2 時間となった。また、両群共に投与 2 週目から攻撃性を示すようになり、1,000 mg 回復群では投与終了後 3~4 日間、全例において興奮と自発運動の亢進が認められた。

体重変化では、1,000 mg 回復群の雄で体重増加に有意な低値が認められた。

摂餌量は 100 mg 投与群以上の雌で増加傾向が認められた。1,000 mg 回復群の雌雄では回復期間第 1 週に減少が認められた。

摂水量は 100 mg 投与群以上の雌および、1000 mg 投与群の雄で投与第 1 週中に増加が認められたが、その後は投与に関連した変動は認められなかった。

血液学的検査では、100 mg 投与群の雌で赤血球数の減少、1,000 mg 投与群の雄で白血球の減少、雌では Hb 量、RBC、Ht 値および好酸球率の減少、分葉核好中球率の増加が認められた。回復群では、1,000 mg 投与群の雌で RBC になお低値が認められたが、その他の項目については対照群との間に有意差は認められなかった。

骨髄塗抹検査は対照群と 1,000 mg 投与群で実施され、1,000 mg 投与群の雌雄で分葉核好中球率の増加、雌で好酸球率の減少にいずれも僅かな有意差が認められた。また、1000mg 投与群の雌で骨髄の桿状球にも有意な増加が認められている。しかし、回復期間終了時には、これらの値に有意差は認められなかった。

血液生化学検査では、0.5 mg 以上の雌でグルコースの軽度ながら有意な高値が認められたが、背景データと比較して対照群の値が低かったことによるものであり²、これらの

² 本試験におけるグルコースの背景データは $9.1 \pm 0.7 \text{ mmol/l}$ 、対照データは $8.4 \pm 0.8 \text{ mmol/l}$ であった。

高値は投与による影響ではないと考えられた。また、1,000 mg 投与群の雌雄でコレステロールの軽度な高値が認められた。また、雄ではカリウムおよびナトリウムの高値、雌ではGPT、総タンパク、アルブミン、カルシウムの高値およびAP、クロライドの低値が認められた。その他、回復群ではいくつかの項目で有意差がみられたが、いずれも対照群との差はわずかであった。

尿検査では、1000mg 投与群の雄の尿比重は有意に高値を示し、2例のタンパク反応は+++を示したが回復期間終了時には、いずれの投与群出でも明らかな変化は認めなかった。

臓器重量では、1,000 mg 投与群の雌雄で甲状腺の絶対・比重量³の高値と脾臓および胸腺の絶対・比重量の低値が認められ、雄では肝臓と腎臓の比重量の高値が、雌ではそれらの絶対・比重量の有意な増加が認められ、回復期間終了時においても肝重量の有意な高値が認められた。

剖検、病理組織学的検査および肝細胞の電子顕微鏡学的検査では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験のNOAELは0.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 13週間亜急性毒性試験（ラット）（参照19）

ラット（雌雄各20匹/群、高用量群は雌雄各30匹）を用いた混餌（0.3、10、400 mg/kg 体重/日）投与における13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群の雌雄各10匹は回復群とし、投与終了後6週間の観察と検査を行った。

本試験期間中、投与に関連すると考えられる死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、400 mg 投与群の雌雄で、投与9週頃から触れると怖がり防御反応を示すなど反応性の増強が認められたが、これらの反応は回復性を示した。体重変化および摂餌量は、いずれも400 mg 投与群の雌雄で低値が認められた。

血液生化学的検査では、400 mg 投与群でAPの低値およびTchoの高値が認められたが、いずれも回復期間中に回復した。

臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の増加認められたが、回復期間中に回復した。

病理組織学的検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

本試験のNOAELは10mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 13週間亜急性毒性試験（サル）（参照24）

アカゲザル（雌雄各3頭/群）を用いた強制経口（0、1、10、100 mg/kg 体重/日）投与による13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、脳波検査用として、別に100 mg 投与群（雌雄各3頭）を設定し、13週間の投与終了後に5週間の回復期間を設けて観察した後に脳波検査に供した。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

³ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

一般的な臨床症状観察では、1 mg 以上投与群で運動失調、10 mg 以上投与群では睡眠傾向、攻撃性の明らかな低下、運動失調に伴う筋肉の痙攣が認められ、症状の程度には用量相関性がみられた。100 mg 投与群では過反射やハンドリングによる四肢筋肉の痙攣が認められた。回復群では、音刺激による強直性間代性痙攣を示す例が認められた。

体重変化では、投与群の全例において体重増加量の高値が認められたが、回復期間中に回復を示した。摂餌量および摂水量の測定は行なわれていないが、投与期間中の摂餌は旺盛であった。

血液生化学的検査では、100 mg 投与群でカルシウムの低値が認められたが、回復期間中に回復した。

臓器重量では、100 mg 投与群で肝臓重量の高値が認められたが、回復期間中に回復した。

性周期、筋電図、脳波、血液学的検査、尿排泄、尿検査、眼科学的検査、剖検および病理組織学的検査に、被験物質の投与によると考えられる明らかな異常は認められなかった。

本試験ではNOAELは求められず、LOAELは1mg/kg 体重/日と考えられた。

(5) 4週間亜急性毒性試験(イヌ)(参考)(参照23)

ビーグル犬(雌雄各3匹/群)を用いた静脈内(0, 0.05, 0.1, 0.3 mg/kg 体重/日)投与における4週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験は5群構成とし、対照群には生理食塩液を、溶媒対照群には10%アルコール溶液を投与した。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.05 mg 投与群以上で重篤な運動失調が認められたが、症状は数分以内に軽減し、1時間以内に消失した。なお、本症状の発現は試験の経過とともに軽減した。溶媒対照群および0.05 mg 以上投与群で軽度の流涎が認められ、0.1 および0.3 mg 投与群雄の各1例では下痢が頻発した。

本薬の薬理作用として、自発運動能について投与2週および4週の投与後3時間まで調べられている。いずれの時点においても、0.05 mg 以上投与群で対照群に比べ自発運動の亢進がみられ、症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、臓器重量、剖検および病理組織学的検査に、被験物質の投与による明らかな影響は認められなかった。

表7 各種亜急性毒性試験の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	4週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	0.3 鎮静