

Temafloxacinのイヌを用いた経口投与法による26週間反復投与・毒性試験

山村高章・久世 博・周参見正行・川合是彰・堀 正樹
田辺製薬株式会社安全性研究所*

新しいアリルフロロキノロン誘導体である塩酸テマフロキサシンの安全性試験の一環として、イヌ(ビーグル)を用いて26週間の連続経口投与による毒性試験(4週間の回復試験を含む)を実施した。投与量は50, 75および100mg/kgとした。

結果は次のように要約される。

1. 観察期間中を通じ死亡例はなかった。
2. 被験物質投与群で投与後1~3時間に嘔吐, 流涎, 結膜・口腔粘膜充血および皮膚発赤が認められた。また, 100mg/kg群の雄1例でふらつき, 同群の雌1例で眼瞼浮腫あるいは元気消失が一過性にみられた。
3. 投与期間を通じ100mg/kgの雌で体重が減少し, 同群の雄および75mg/kg群で体重増加の抑制が認められた。摂餌量は投与期間を通じ, 被験物質投与群で減少する傾向にあった。
4. 網膜電位図測定では, 100mg/kg群で投与期間中aおよびb波の振幅が低かった。
5. 臨床検査では, 100mg/kg群の雄1例でGOT活性が軽度上昇した。
6. 病理検査では, 75mg/kg以上の群で関節軟骨中間層にchondrocyte clusterや裂隙形成がみられた。
7. 投与期間中あるいは投与終了時にみられた諸変化は回復期間終了時には消失ないしは軽減し, 修復性のものとみなされた。

以上から, 本試験条件下における確実中毒量は75mg/kg, 無影響量は50mg/kgと結論された。

Key words : temafloxacin, TMFX, イヌ, 26週間反復投与, 毒性試験

アボット社(米国)で新しく開発された塩酸テマフロキサシン(Temafloxacin, 以下TMFXと略す)はグラム陽性菌およびグラム陰性菌に広範な抗菌スペクトルを有するアリルフロロキノロン誘導体である。今回, TMFXの安全性試験の一環として, イヌを用いた経口投与法による26週間毒性試験(4週間の休業による回復試験を含む)を実施したので, その概要を報告する。

I. 材料および方法

1. 被験物質

TMFXはキノロン環の1位に2, 4-ジフロロフェニル基, 6位にフッ素原子, 7位に3-メチルピペラジニル基を有する新規合成抗菌剤である。投与に用いたTMFXはアボット社より供給されたロット番号28-929-ALである。

2. 使用動物

試験には5~6カ月齢で入荷したイヌ(ビーグル; 吉城ファーム産)雌雄各30匹について心電図検査ならび

に血液学および血液生化学検査を行い, 健康と判断された雌雄各24匹を選択した。投与開始時月齢は8~9カ月齢で, 投与開始前(-3日)の体重範囲は雄7.5kg~11.0kg, 雌6.3kg~9.7kgであった。

3. 飼育条件

試験に供したイヌは, 室温 $24 \pm 3^\circ\text{C}$, 湿度50~60%, 換気オールフレッシュ16回以上/時間, 12時間照明(6:30~18:30)に設定された動物室で, イヌ自動飼育機(日本ケージ株, W70×D80×H81cm)に個別収容して飼育した。

飼料はイヌ用固形飼料DS(オリエンタル酵母工業株式会社)を1日1匹当たり300gずつ午後3時頃に採尿日を除く毎日与えた。飲料水は水道水を自動給水器で自由に摂取させた。

4. 投与量, 投与方法および設定理由

先にアボット社で実施された4週間ならびに26週間経口投与毒性試験結果を参考に投与量を設定した。す

なわち、4週間毒性試験¹⁾では最高投与量の100mg/kgで雄に肝障害がみられ、無影響量は20mg/kgとなった。一方、最高投与量を50mg/kgとして実施した26週間毒性試験²⁾では明確な毒性徴候を捉えることができなかった。そこで、26週間毒性試験での確実中毒量および無影響量を明確にすることを目的として、50, 75および100mg/kgの投与量を設定した。試験群としてはこれら3被験物質投与群に对照群を加えた計4群とし、各群に雌雄各6匹(うち雌雄各2匹は回復試験に使用)を用いた。

投与方法はゼラチンカプセル(サイズ000号・日本エランコあるいは1/4 OZ・加商)に被験物質を詰めて、1日1回、週7回、一定時刻(13:00~14:00、ただし会社休日は午前中)に、26週間強制的に経口投与した。对照群の動物には空カプセルを最高投与群と同様に投与した。なお、本報告書記載の投与量はすべてフリー体換算値で表示した。

試験群の構成をTable 1に示す。

5. 観察項目

下記の項目について観察あるいは測定した。なお、特記しない限り測定あるいは観察は全動物について実施した。

本報告書では投与開始日を0日として投与経日数を起算し、投与開始以前の日数は-(マイナス)で表わした。

1) 死亡の有無

死亡の有無は毎日確認した。

2) 一般状態および症状

一般状態は投与前(-2日)から毎日1回午前中に観察した。投与期間中の症状観察は会社操業日の投与直前、

投与1および3時間後に実施した。

3) 体重測定

体重は投与3カ月までは毎週2回、その後は毎週1回測定した。

4) 摂餌量

摂餌量は給餌した300gのうちの残量を翌朝測定し、1日当りの摂餌量を算出した。

5) 生理検査

毎週1回、体温(直腸温)、呼吸数および心拍数を測定した。

6) 心電図検査

心電図は投与開始前、投与1カ月、投与3カ月、投与期間終了前および回復期間終了前の計5回、横臥位保定で記録した。誘導方法は標準肢誘導および増高単極肢誘導で行い、心電図の評価は第II誘導により得られた波形の各要素を計測して行った。

7) 眼科学検査

眼科学検査は投与開始前、投与1カ月、投与3カ月、投与期間終了前および回復期間終了前の計5回、検査当日の給餌および被験物質投与前に前眼部および眼底検査ならびに眼圧および網膜電位図(ERG)測定を実施した。

8) 聴覚検査

投与開始前、投与1カ月、投与3カ月、投与期間終了前および回復期間終了前の計5回、对照群および100mg/kg群の回復試験供試動物について、聴性脳幹反応(ABR)検査を実施した。

9) 尿検査

尿は投与開始前(-10日)、投与1カ月(32日)、投与3カ月(95日)および投与期間終了前(172日)に、採尿ケージで20時間尿を個別に採取し、尿検査を実施した。さらに、回復試験供試動物は初回投与後204日(最終投与後23日)にも尿検査を行った。検査項目は色調、pH、タンパク、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、尿量、比重、ナトリウム排泄量、カリウム排泄量、クロール排泄量である。

また、投与期間終了時および回復期間終了時の各剖検時に採取した膀胱尿から血球、上皮細胞、円柱、結晶、その他の成分について鏡検を行った。

10) 血液学検査

血液は投与前(-21, -14および-6日)ならびに投与開始後1, 8, 15, 29, 64, 92, 120, 155および179日の計12回、橈側皮静脈から採取した。さらに、回復試験供試動物は初回投与後197日(最終投与終了後16日)および212日(最終投与終了後31日)の合計14回、橈側皮静脈から採血した。

Table 1. Groups and numbers of dogs in 26-week oral toxicity study with temafloxacin

Dose mg/kg	Number /group	Animal numbers	
		male	female
0	6	9207, 9213, 9227	9686, 9689, 9698
		9235, (9208, 9220)	9716, (9695, 9706)
50	6	9223, 9226, 9230	9685, 9688, 9696
		9233, (9209, 9239)	9709, (9692, 9707)
75	6	9222, 9224, 9238	9677, 9671, 9703
		9241, (9211, 9219)	9719, (9679, 9697)
100	6	9210, 9212, 9221	9693, 9694, 9702
		9242, (9234, 9237)	9705, (9683, 9687)

(): animal numbers in recovery study

血液学検査にはエチレンジアミン四酢酸二カリウム添加血液を、凝固検査には3.8%クエン酸ナトリウム液1/10量添加血液から分離した血漿を使用し、赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網赤血球数、白血球百分率、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間について測定した。

11) 血液生化学検査

血液学検査に用いた血液と同時に採取した血液から分離した血清を使用した。ナトリウム、カリウムおよびクロールの測定にはヘパリンリチウム添加血液から分離した血漿を使用し、GOT, GPT, LDH, ALP, CPK, 総タンパク, アルブミン, 尿素窒素, 尿酸, クレアチニン, グルコース, 総コレステロール, リン脂質, トリグリセリド, 遊離脂肪酸, HDL-コレステロール, カルシウム, 無機リン, ナトリウム, カリウム, クロールについて測定した。

12) 肝薬物代謝酵素活性測定

投与期間終了時および回復期間終了時に計画殺動物の肝臓の一部を採取し、得られたマイクロゾーム分画を含む上清を用いて、アニリン水酸化活性およびアミノピリン脱メチル化活性について実施した。

13) 臓器重量測定

投与期間終了時および回復期間終了時に、すべての計画殺動物の体重(剖検時体重)を測定して麻酔下で放血致死させた後、心臓, 肺, 肝臓(胆嚢を含む), 顎下腺, 副腎, 下垂体, 甲状腺(上皮小体を含む), 脾臓, 胸腺, 脳(大脳, 小脳, 延髄を含む), 腎臓, 精巣, 精巣上体, 前立腺, 卵巣, 子宮の重量を測定した。さらに、秤量臓器の実測値(絶対重量)を、剖検時体重100g当りの重量に換算し、相対重量として記録した。

14) 病理解剖

投与期間終了時および回復期間終了時の計画殺動物の全例について解剖を行い、全身諸臓器を肉眼的に観察した。なお、肘関節部および膝関節部の観察はホルマリン固定後に行った。

15) 病理組織学検査

投与期間終了時および回復期間終了時の計画殺動物の全例について、全身の諸臓器・組織を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、常法に従ってパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン(HE)染色を施し、病理組織学検査を行った。また、病理解剖で肉眼病変が認められた臓器・組織についても病理組織学検査を行った。

骨髄塗抹標本は、ライト染色液およびギムザ染色液

で固定・染色し、保存した。

6. 統計処理

検査値の有意差検定は行わなかった。

II. 結 果

1. 死亡の有無

試験期間中を通じて対照群および被験物質投与群で死亡はなかった。

2. 一般状態および症状

すべての被験物質投与群で投与後1~3時間に嘔吐および流涎が認められた。すなわち、嘔吐および流涎は50mg/kg投与群では投与期間を通じて殆どの例にみられたが、その発現は散発的であった。一方、75mg/kg以上の投与群では全例に嘔吐および流涎が投与期間を通じ頻繁にみられ、その程度は用量に依存していた。

また、結膜・口腔粘膜充血が75mg/kg群の雄を除く被験物質投与群にみられ、下腹部皮膚の発赤がいずれの被験物質投与群においても認められた。これらは初回投与後から投与8週にかけて散発的に出現したが、その後はみられなかった。

さらに、100mg/kg群の雄(#9237)では投与後24週にふらつきが一過性に出現し、雌(#9683)では投与後15~19週にかけて眼瞼浮腫あるいは元氣消失が認められた。

以上の症状はいずれも回復期間終了時には認められなかった。

3. 体重

100mg/kg群の雌3例(#9693, #9702, #9683)で投与期間を通じて体重が減少した。このうち1例(#9702)は投与開始後100日頃から投与期間終了時にかけて体重の減少は徐々に回復する傾向にあった。また、100mg/kg群の雄および75mg/kg群では投与開始後から体重増加の抑制が認められた。

回復期間終了時には体重の減少は回復する傾向にあった。

4. 摂餌量

各被験物質投与群の摂餌量は投与期間を通じて減少する傾向にあった。しかし、摂餌量の減少は一部の例を除いて回復期間終了時には軽減する傾向にあった。

5. 生理検査

いずれの検査項目においても被験物質投与に起因すると思われる変化はなかった。

6. 心電図

いずれの被験物質投与群においても被験物質投与に起因する変化は観察期間を通じて認められなかった。

7. 眼科学検査(Table 2)

前眼部および眼底観察ではいずれの投与群においても特記すべき変化はみられなかった。

ERG検査では、投与1, 3および6カ月後に100 mg/kg群の雌雄でaおよびb波の振幅の低下を認めたが、回復期間終了時にはほぼ投与前の振幅に回復して

いた。一方、aおよびb波頂点潜時には投与期間ならびに回復期間を通じて著変は認められなかった。なお、100mg/kg群でaおよびb波振幅の低下を認めたので、75mg/kg投与群についても検査したが、投与3および6カ月後の検査ではaおよびb波振幅ならびに頂点潜時

Table 2. Amplitude of ERG in dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks

Dose (mg/kg)	Animal no.	Day	Amplitude (μ V)			
			left eye		right eye	
			a-wave	b-wave	a-wave	b-wave
0	9208	-3	50	130	50	100
		36	20	120	70	140
		99	40	140	60	120
		172	60	160	55	100
		210	70	120	70	140
	9220	-3	70	270	80	280
		36	60	220	100	240
		99	50	130	70	210
		172	85	190	80	160
		210	70	130	70	170
	9695	-3	40	210	50	200
		36	80	200	40	130
		99	40	80	45	110
		172	70	170	70	200
		210	80	170	80	190
9706	-3	50	220	100	240	
	36	60	160	60	150	
	99	50	120	65	115	
	172	50	100	70	140	
	210	90	170	70	150	
100	9234	-3	110	310	110	280
		36	110	280	80	210
		99	50	130	50	100
		172	70	170	85	170
		210	100	230	90	200
	9237	-3	70	240	90	300
		36	40	130	80	190
		99	35	70	90	180
		172	45	120	60	140
		210	80	220	90	195
	9683	-3	80	210	70	180
		36	90	200	50	150
		99	50	140	60	110
		172	40	110	30	100
		210	90	180	100	250
9687	-3	60	190	50	260	
	36	30	180	40	140	
	99	40	160	50	120	
	172	55	150	40	100	
	210	70	190	90	230	

に著変を認めなかった。

8. 聴覚検査

投与期間および回復期間を通じて、対照群および100mg/kg群について検査したが、音刺激に対する反応の差はなかった。

9. 尿検査

尿量および尿電解質などに散発的な変動がみられたのみで、特記すべき変化はみられなかった。

10. 血液学検査所見

血液学検査では、被験物質投与に関連した変動はなかった。

11. 血液生化学検査所見(Table 3-1~3-8)

100mg/kg群では雄の1例(#9234)でGOT活性が一過性に上昇した。また、50mg/kg以上の投与群では、投与開始8日頃から投与期間終了時の間に総タンパク、リン脂質、総コレステロールおよびHDL-コレステロールが減少する傾向にあった。しかし、回復期間中の検査では、これらの変動の程度は軽減する傾向を示した。その他にGPT活性あるいはCPK活性の上昇が

いずれの投与群においてもみられたが、いずれも散発的で被験物質投与との関連は明らかでなかった。

12. 肝臓の薬物代謝酵素活性

肝臓の薬物代謝酵素活性には、投与期間終了時および回復期間終了時を通じ、特記すべき変化はなかった。

13. 臓器重量

いずれの投与群においても被験物質投与に関連した変動は記録されなかった。

14. 病理解剖

いずれの投与群においても被験物質投与に関連した病変はなかった。

15. 病理組織検査(Table 4-1, 4-2)

上腕骨遠位端および大腿骨遠位端の関節軟骨中間層において裂隙形成およびchondrocyte clusterが75mg/kg以上の投与群にみられた。その他の臓器・組織に被験物質起因の変化はみられなかった。

III. 考 察

TMFXの0, 50, 75および100mg/kgをイヌに26週間経口投与した。

Table 3-1. Biochemical examination in male dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (0 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDL (mg/dl)
9207	-6	20.6	50.6	79	263	123.1	144.4	4.64	5.79	3.72	13.2	0.66	105	162.9	377	149.9
	1	24.4	50.7	77	255	127.5	147.3	4.20	5.95	3.84	14.0	0.75	93	178.8	383	157.4
	29	26.4	61.5	125	264	140.3	143.0	4.63	6.05	3.88	14.1	0.79	93	178.3	399	171.3
	92	19.6	44.9	39	184	61.7	146.3	4.51	6.29	3.54	16.0	0.80	72	178.2	395	151.4
	179	15.4	50.4	41	120	60.3	146.2	4.13	6.03	3.42	14.9	0.81	87	153.9	351	140.7
9213	-6	23.9	52.4	80	175	108.6	145.6	4.25	6.27	4.16	19.9	0.76	97	198.0	413	176.7
	1	25.7	43.7	76	170	125.8	145.6	4.31	6.34	3.97	19.3	0.81	96	212.0	420	179.9
	29	30.2	47.1	133	148	144.3	142.4	4.53	6.32	4.02	17.7	0.87	97	194.2	404	173.9
	92	21.4	50.5	45	144	71.0	146.5	4.37	6.57	4.05	19.9	0.88	87	203.0	421	164.3
	179	27.9	69.8	72	120	65.2	147.7	4.34	6.39	3.69	26.5	0.91	95	171.4	383	154.1
9227	-6	19.3	37.8	80	241	98.5	145.9	4.52	6.12	3.90	15.0	0.65	96	173.4	389	154.9
	1	20.6	31.8	68	260	113.2	145.3	4.19	6.04	3.76	15.3	0.63	88	187.3	405	161.8
	29	24.2	35.9	117	259	136.8	145.1	4.18	5.90	3.74	13.0	0.69	91	167.2	370	153.4
	92	18.8	28.9	41	179	63.5	146.3	4.41	6.40	3.64	14.8	0.66	90	142.5	351	118.0
	179	23.6	28.6	79	131	74.6	146.7	4.06	6.18	3.35	14.0	0.65	89	133.2	323	123.8
9235	-6	24.4	34.9	83	192	169.2	144.9	4.57	6.06	3.95	16.4	0.67	94	170.7	377	145.8
	1	25.3	29.2	73	170	185.6	145.0	4.48	5.78	3.65	13.8	0.66	106	150.2	320	127.5
	29	23.1	31.7	110	163	109.8	144.2	4.72	5.82	3.75	14.8	0.73	90	156.8	341	142.1
	92	23.2	33.4	39	110	67.9	145.5	4.45	6.21	3.66	14.0	0.75	90	149.3	349	127.5
	179	20.8	35.0	59	92	109.1	145.0	4.35	5.67	3.30	14.8	0.77	92	127.6	309	124.7
9208	-6	16.4	37.4	78	138	94.6	145.7	4.61	5.94	3.92	13.4	0.63	99	149.3	332	130.7
	1	18.0	37.2	73	144	216.0	146.2	4.61	6.05	3.98	11.9	0.60	102	141.4	330	130.2
	29	18.8	49.7	115	94	102.3	145.3	4.28	6.20	4.08	17.0	0.72	94	145.1	358	135.6
	92	19.0	49.4	49	86	77.8	146.6	4.36	6.28	3.84	19.2	0.81	102	128.5	329	118.3
	179	16.7	45.4	50	84	67.1	147.3	4.18	6.13	3.64	19.2	0.78	100	136.3	329	123.8
	212	16.8	46.5	38	70	71.0	147.9	4.23	6.36	3.92	15.8	0.79	107	132.2	348	126.5
9220	-6	19.6	43.2	83	113	128.1	147.4	4.14	6.16	3.95	15.5	0.63	103	238.9	481	176.3
	1	18.9	58.9	72	119	108.2	146.6	4.39	6.22	3.96	12.6	0.70	108	239.0	466	173.4
	29	26.1	133.8	102	107	89.9	144.3	4.32	6.35	4.08	14.3	0.73	98	232.3	482	179.6
	92	21.3	60.5	40	65	66.1	145.1	4.39	6.24	3.82	11.1	0.67	109	223.7	446	157.7
	179	18.0	50.9	45	80	50.3	146.2	4.35	6.39	3.69	23.4	0.78	97	219.3	451	162.5
	212	19.7	74.5	39	78	82.8	145.2	4.02	6.31	3.92	11.1	0.77	119	211.7	435	168.4

Table 3-2. Biochemical examination in male dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (50 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLC (mg/dl)
9223	-6	23.0	54.1	85	171	126.4	145.7	4.47	6.09	4.00	16.8	0.73	97	170.6	370	154.7
	1	21.8	51.1	71	161	122.0	146.2	4.49	6.10	3.77	19.1	0.79	87	167.1	359	154.2
	29	21.8	50.7	99	189	96.9	144.4	4.40	5.34	3.38	18.8	0.82	90	128.8	315	120.1
	92	23.9	72.0	36	99	101.0	146.6	4.53	5.82	3.82	19.2	0.84	102	138.0	307	122.3
	179	23.2	83.1	68	82	94.6	144.6	4.44	5.64	3.39	18.1	0.86	105	127.2	294	117.2
9226	-6	30.6	42.2	105	150	237.0	145.4	4.43	5.96	3.77	15.7	0.73	92	138.9	332	132.5
	1	31.9	41.1	112	131	240.7	145.4	4.42	6.07	3.57	17.4	0.74	85	141.0	335	133.6
	29	37.7	64.7	123	116	209.7	144.7	4.35	5.71	3.68	17.6	0.87	82	110.5	260	113.3
	92	49.5	79.1	54	84	273.1	148.8	4.35	5.74	3.83	16.9	0.85	78	112.7	268	100.9
	179	26.3	61.3	59	69	77.5	147.6	3.95	5.57	3.40	15.6	0.83	86	103.4	256	99.9
9230	-6	21.0	49.5	68	200	111.0	145.6	4.65	6.11	4.02	16.5	0.74	106	213.7	415	164.6
	1	22.5	95.6	53	172	79.7	146.7	4.64	6.02	3.79	20.6	0.80	98	196.9	393	161.5
	29	23.4	72.8	94	138	103.0	145.5	4.29	5.71	3.75	17.4	0.84	102	135.9	286	133.6
	92	24.4	93.9	40	109	60.2	148.5	4.10	5.73	3.84	17.2	0.94	104	136.9	290	111.3
	179	20.9	72.1	43	87	53.4	147.6	4.20	5.70	3.48	14.9	0.87	94	126.9	288	121.3
9233	-6	27.1	97.5	81	159	119.4	149.3	4.35	6.22	4.20	16.9	0.73	113	151.4	358	138.7
	1	23.6	66.9	65	138	96.4	148.0	4.19	5.78	3.87	18.4	0.79	129	130.3	301	118.4
	29	41.5	94.3	100	120	138.4	143.6	4.49	5.51	3.80	24.8	0.84	98	124.3	293	119.1
	92	27.2	88.0	20	88	73.0	149.3	4.14	5.47	3.81	17.5	0.82	79	125.2	279	106.2
	179	28.5	102.0	42	75	61.7	146.1	4.39	5.54	3.46	21.4	0.87	87	106.7	265	99.5
9209	-6	27.2	57.5	88	167	158.6	145.7	4.55	5.75	3.80	18.3	0.63	111	159.8	344	147.6
	1	28.7	46.3	69	189	135.5	147.0	3.94	5.65	3.60	15.3	0.66	92	158.4	345	138.3
	29	52.5	89.6	115	144	625.1	145.5	4.42	5.38	3.74	17.3	0.75	100	132.8	273	127.6
	92	27.5	88.8	59	104	83.7	148.1	4.49	5.47	3.62	19.4	0.82	95	126.4	274	109.6
	179	29.7	89.7	66	84	83.5	148.7	4.15	5.22	3.30	20.1	0.79	89	103.0	236	98.4
212	23.8	62.3	71	179	67.3	144.5	4.06	5.60	3.47	20.9	0.77	95	156.8	324	131.4	
9239	-6	24.8	53.6	105	221	199.5	148.2	4.36	6.50	4.22	12.8	0.63	97	201.9	403	169.6
	1	27.5	52.5	69	205	137.7	145.7	4.34	5.94	3.74	16.5	0.69	82	179.2	378	159.9
	29	25.4	48.0	109	193	158.1	145.7	4.12	5.44	3.81	14.7	0.80	87	150.7	306	144.2
	92	27.5	56.0	46	157	116.4	149.0	4.35	5.71	3.95	12.8	0.79	94	145.5	301	126.5
	179	22.7	62.8	72	121	100.4	147.2	4.24	5.26	3.44	13.8	0.81	94	111.1	246	109.0
212	23.5	36.6	75	131	102.3	145.9	4.33	5.87	3.78	15.7	0.87	88	126.1	280	112.5	

Table 3-3. Biochemical examination in male dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (75 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLC (mg/dl)
9222	-6	19.8	40.1	76	138	92.1	146.5	4.46	6.28	4.07	16.7	0.62	99	172.9	395	148.8
	1	20.9	35.6	68	135	95.6	146.0	4.65	6.27	3.96	17.7	0.76	94	170.7	374	154.6
	29	24.1	57.6	107	99	101.1	146.2	4.51	5.98	4.00	16.0	0.76	94	120.8	293	118.6
	92	26.0	50.7	49	82	79.5	147.3	4.42	5.62	3.84	18.1	0.84	95	113.9	279	97.6
	179	29.8	69.5	51	74	64.1	148.6	4.21	5.79	3.41	19.1	0.80	109	112.3	278	99.9
9224	-6	28.8	55.0	80	233	163.4	145.2	4.31	6.09	3.64	17.7	0.83	102	188.9	409	167.2
	1	24.2	46.5	67	239	138.8	145.5	4.23	6.16	3.65	14.4	0.90	91	193.7	397	172.7
	29	29.8	68.5	106	152	213.8	143.6	4.13	5.31	3.52	17.5	1.05	87	119.5	258	115.2
	92	21.4	94.7	43	104	105.5	146.3	4.69	5.31	3.54	20.5	0.98	106	134.3	289	113.9
	179	19.7	66.4	89	113	95.0	145.7	4.28	5.72	3.24	19.4	0.94	94	140.8	298	123.7
9238	-6	23.6	31.3	84	194	171.1	144.5	4.77	6.16	3.91	19.0	0.67	100	187.2	385	162.2
	1	33.7	53.4	72	179	137.7	146.2	4.65	6.00	3.72	25.6	0.78	91	184.1	390	160.9
	29	35.4	54.5	115	129	287.8	143.7	4.52	5.32	3.68	19.9	0.88	92	142.7	285	137.0
	92	52.9	77.0	41	90	607.8	148.3	4.63	5.36	3.67	21.4	0.96	99	142.6	291	120.0
	179	27.1	66.0	61	77	94.2	146.9	4.62	5.35	3.29	21.7	0.96	94	128.4	272	120.4
9241	-6	23.3	35.9	91	188	187.1	146.3	4.59	6.24	3.76	16.0	0.74	95	208.0	422	167.1
	1	20.8	40.4	66	169	130.1	147.5	4.56	6.14	3.61	17.8	0.80	84	199.8	384	167.7
	29	23.6	51.6	122	134	144.8	143.6	4.56	5.76	3.70	23.9	0.91	100	140.8	323	132.5
	92	21.2	50.6	52	104	86.3	147.8	4.45	5.67	3.68	19.4	0.94	84	116.3	273	95.3
	179	13.7	55.2	56	74	62.6	147.6	4.56	5.65	3.32	25.1	0.97	98	89.1	234	82.7
9211	-6	25.3	48.1	95	177	141.8	146.2	4.74	5.76	3.79	15.5	0.53	92	136.1	317	128.5
	1	25.3	39.9	72	172	102.7	145.7	4.55	5.61	3.60	17.2	0.60	109	134.0	315	125.6
	29	40.3	73.3	130	117	258.3	145.8	4.55	5.47	3.79	16.0	0.71	102	103.4	224	101.4
	92	26.1	74.2	52	89	98.1	147.8	4.40	5.41	3.71	17.6	0.63	108	96.6	244	86.2
	179	24.6	89.2	69	72	72.2	147.6	4.42	5.68	3.55	20.0	0.76	106	110.8	254	101.3
212	22.0	42.3	59	148	63.0	140.5	4.03	5.90	3.70	13.8	0.82	101	130.9	323	132.7	
9219	-6	23.0	41.1	89	225	157.0	145.3	4.32	6.15	3.85	16.3	0.77	104	216.7	429	173.1
	1	28.7	50.7	93	191	160.1	146.0	3.95	6.15	3.87	16.8	0.83	92	203.2	391	177.2
	29	25.3	109.9	113	147	126.5	144.1	4.37	5.83	3.73	15.2	0.99	109	150.5	303	139.7
	92	19.3	83.1	53	103	72.6	146.9	4.43	5.72	3.74	17.8	1.06	77	145.9	293	120.1
	179	21.0	64.8	66	113	66.7	146.9	4.12	5.54	3.38	17.9	0.87	65	148.7	299	127.7
212	18.8	38.4	46	154	66.6	145.1	4.49	6.18	3.77	16.1	0.93	111	197.5	417	169.6	

Table 3-4. Biochemical examination in male dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (100 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLc (mg/dl)
9210	-6	26.1	48.6	86	228	131.3	145.2	4.22	5.60	3.51	13.7	0.57	103	150.2	321	133.2
	1	26.2	48.2	73	201	91.9	146.5	4.32	5.74	3.51	23.6	0.72	80	146.3	328	135.0
	29	30.7	71.5	110	126	149.4	146.6	4.38	5.33	3.61	18.2	0.70	94	119.6	258	114.2
	92	25.9	81.4	57	94	76.1	149.3	4.02	5.24	3.53	15.7	0.69	94	116.1	248	99.7
	179	30.5	74.3	73	77	104.8	149.0	3.73	5.39	3.26	15.6	0.82	87	104.2	233	99.8
9212	-6	23.0	51.7	85	205	139.4	145.2	4.21	6.00	3.84	18.0	0.73	88	192.0	392	171.3
	1	24.3	64.1	63	254	110.6	145.9	4.15	6.04	3.75	19.3	0.79	82	192.6	387	173.2
	29	33.8	88.4	117	107	170.7	145.4	4.27	5.53	3.73	19.5	0.95	84	118.0	261	115.9
	92	24.0	97.9	42	86	68.5	147.5	4.45	5.47	3.82	26.3	1.07	78	121.1	291	108.0
	179	41.6	123.5	93	84	128.4	146.3	4.07	5.41	3.42	21.4	0.93	78	104.7	238	101.7
9221	-6	24.0	38.5	76	155	131.1	147.5	4.52	6.10	4.05	17.2	0.75	103	140.6	305	127.1
	1	42.3	75.6	86	144	789.8	147.7	4.17	6.28	4.16	17.7	0.80	89	133.9	290	126.2
	29	26.6	49.7	115	111	127.4	146.2	4.45	6.05	4.02	21.8	0.88	84	104.2	242	104.0
	92	25.2	122.0	51	90	101.4	147.7	4.27	5.80	3.92	17.3	0.90	73	90.4	217	77.6
	179	25.5	64.3	39	69	80.3	149.0	4.29	5.60	3.57	17.6	0.96	93	82.9	201	76.5
9242	-6	19.0	34.4	78	212	169.0	145.1	4.40	5.92	3.61	14.6	0.73	89	164.1	357	140.5
	1	15.8	27.3	62	200	93.8	145.9	4.69	6.21	3.52	22.4	0.78	107	162.0	372	150.3
	29	16.6	39.2	140	159	98.4	141.7	4.37	5.61	3.67	16.5	0.77	98	106.2	254	103.1
	92	20.2	47.7	47	119	106.3	145.7	4.49	5.74	3.77	19.5	0.95	79	100.3	259	88.8
	179	18.1	73.3	53	71	88.2	145.0	4.44	5.68	3.40	20.2	0.87	85	79.7	208	77.4
9234	-6	20.6	44.8	71	144	89.7	146.9	4.31	6.06	3.94	18.6	0.64	103	187.7	404	152.1
	1	101.9	83.8	102	149	4,481.4	146.7	4.75	6.34	3.95	18.1	0.81	105	175.5	371	159.1
	29	27.6	63.5	94	86	117.3	147.9	4.23	5.96	3.98	15.6	0.84	92	106.4	236	114.4
	92	38.9	111.4	53	59	65.7	147.7	4.47	5.27	3.70	21.5	0.94	80	70.2	193	61.5
	179	37.5	79.1	67	56	78.2	149.6	4.07	5.62	3.50	21.3	0.88	94	89.3	221	79.5
9237	-6	27.4	52.7	89	155	178.7	145.2	4.46	5.99	3.94	15.2	0.63	103	150.0	350	138.2
	1	43.9	74.0	99	137	165.3	146.5	4.08	5.54	3.54	17.3	0.70	96	134.1	306	123.8
	29	33.0	55.9	109	104	189.6	146.9	4.19	5.53	3.92	16.4	0.81	101	107.4	246	108.0
	92	27.5	93.5	45	68	91.4	148.5	4.43	5.72	3.92	18.3	0.86	106	114.6	259	102.5
	179	25.7	58.7	85	53	99.1	145.0	4.09	5.35	3.44	16.1	0.82	97	87.3	220	87.6
212	22.3	55.8	47	91	107.6	145.4	4.44	5.86	3.78	14.6	0.82	105	139.5	326	134.2	

Table 3-5. Biochemical examination in female dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (0 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLc (mg/dl)
9686	-6	21.2	48.1	80	156	85.1	147.2	3.82	5.89	3.90	16.3	0.82	105	149.7	341	139.6
	1	21.1	43.2	50	155	82.0	147.5	4.10	5.71	3.75	15.0	0.85	99	152.5	344	134.3
	29	22.9	53.8	100	127	87.0	144.4	4.32	5.92	3.88	21.0	0.88	91	158.3	367	146.5
	92	25.1	57.1	50	104	73.3	146.2	4.38	6.04	3.94	22.2	0.94	93	150.4	374	130.2
	179	19.1	54.7	60	84	58.3	147.3	4.19	5.87	3.69	22.2	0.83	91	137.3	348	128.4
9689	-6	18.5	41.4	79	118	98.5	144.9	4.03	6.38	4.04	16.9	0.67	85	161.3	393	147.7
	1	17.5	44.5	82	110	101.9	144.3	4.27	6.04	3.84	18.3	0.71	84	171.2	401	152.0
	29	20.8	38.5	115	106	82.0	140.7	4.45	6.16	3.79	20.5	0.80	82	204.7	465	192.9
	92	24.2	45.1	49	108	63.3	145.6	3.93	6.35	4.00	15.8	0.84	80	154.1	385	137.2
	179	21.1	34.7	47	90	64.2	146.6	4.24	6.07	3.57	19.4	0.80	60	129.1	339	125.2
9698	-6	20.3	50.8	73	167	87.8	146.9	4.39	6.06	3.89	17.7	0.70	104	155.4	343	132.5
	1	21.0	42.7	65	169	84.3	145.4	4.18	6.22	3.84	16.4	0.85	105	163.9	351	132.4
	29	21.6	58.6	106	150	78.7	146.6	3.93	6.37	4.00	14.7	0.75	98	163.9	352	142.1
	92	23.5	59.5	46	113	58.3	146.1	4.14	6.43	3.90	18.7	0.88	100	149.2	344	122.5
	179	19.1	44.1	53	88	53.6	147.3	4.22	6.40	3.61	16.0	0.74	98	145.0	331	134.3
9716	-6	19.9	42.3	71	172	114.2	147.8	4.29	6.27	4.09	13.8	0.66	111	165.5	365	141.2
	1	19.8	43.0	56	159	84.2	147.3	4.15	6.43	4.19	10.7	0.72	108	165.9	361	141.1
	29	16.9	36.7	98	199	83.4	144.5	4.26	6.24	3.97	12.6	0.72	96	160.9	347	148.3
	92	19.6	41.0	40	107	62.7	148.3	4.21	6.36	3.95	17.4	0.77	98	170.3	368	129.6
	179	21.4	37.5	52	69	58.1	150.7	3.59	6.23	3.47	19.2	0.73	102	117.4	295	107.6
9695	-6	23.9	41.6	97	150	136.9	146.5	3.91	5.98	3.96	17.5	0.68	96	149.8	340	140.8
	1	23.3	36.5	74	155	105.5	146.6	3.52	5.97	3.94	17.0	0.79	99	148.7	324	129.7
	29	27.9	36.5	126	139	158.9	143.4	4.09	5.88	3.73	16.6	0.76	93	146.4	313	133.3
	92	26.1	35.5	50	126	73.7	147.1	3.78	6.02	3.83	16.7	0.82	101	137.4	313	115.9
	179	28.3	32.1	72	104	90.6	147.6	3.80	5.96	3.33	19.2	0.84	93	126.2	289	120.9
212	45.5	40.4	83	148	645.4	145.4	4.09	6.34	3.63	15.2	0.84	103	153.0	359	140.2	
9706	-6	22.1	55.2	86	252	156.0	146.1	4.13	6.01	3.62	13.6	0.64	87	164.2	358	143.5
	1	37.7	56.9	87	277	825.1	146.5	3.81	6.18	3.61	15.3	0.69	106	166.8	357	150.0
	29	21.9	39.2	106	238	123.1	144.6	4.32	6.05	3.69	11.9	0.72	86	144.8	326	135.6
	92	21.1	41.2	52	217	89.8	148.3	3.99	6.25	3.76	14.5	0.69	100	155.7	349	130.3
	179	19.9	48.5	44	181	65.3	147.0	3.94	6.10	3.53	15.4	0.74	96	140.2	322	130.5
212	25.7	60.2	34	237	216.7	145.3	4.20	6.25	3.69	12.5	0.71	98	160.3	371	142.0	

Table 3-6. Biochemical examination in female dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (50 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLC (mg/dl)
9685	-6	21.1	41.6	97	162	96.6	146.2	3.95	6.01	3.86	15.9	0.72	92	173.5	385	168.6
	1	21.8	42.9	75	141	100.0	147.0	4.34	6.01	3.86	23.4	0.79	91	163.8	361	147.8
	29	25.6	80.3	124	116	117.5	146.8	4.26	5.75	3.85	23.5	0.89	78	146.2	333	142.0
	92	26.1	49.5	46	94	85.4	148.4	4.17	5.55	3.77	18.2	0.85	93	150.1	319	127.5
	179	23.6	50.6	77	72	78.8	148.6	4.19	5.68	3.44	27.4	0.85	92	142.3	316	131.4
9688	-6	24.6	32.0	82	165	97.1	145.2	4.20	6.11	3.73	19.8	0.70	94	152.3	353	137.7
	1	23.6	31.9	73	212	92.4	146.2	4.26	6.22	3.73	21.8	0.76	82	157.1	362	143.6
	29	21.2	37.9	100	120	98.2	143.6	4.19	5.65	3.67	18.8	0.76	75	176.6	374	173.0
	92	27.6	45.7	37	83	70.9	147.3	4.27	5.47	3.73	19.1	0.84	89	143.7	305	125.1
	179	20.5	37.7	50	78	59.7	148.4	4.10	5.19	3.17	19.0	0.78	86	121.0	287	118.3
9696	-6	19.7	43.5	80	133	86.1	146.9	4.31	6.10	4.00	20.3	0.75	102	129.0	310	121.2
	1	19.0	44.0	58	147	62.7	146.7	4.56	5.86	3.75	20.4	0.84	97	125.5	301	114.9
	29	25.7	61.2	114	95	94.8	147.1	4.50	5.81	3.92	26.1	0.91	88	116.2	277	110.7
	92	19.8	57.4	37	76	54.2	149.7	3.95	5.72	3.78	16.4	0.96	96	129.0	293	106.5
	179	24.1	64.6	92	65	75.1	147.9	4.33	5.51	3.21	28.4	0.83	82	88.0	224	86.7
9709	-6	19.0	55.9	103	173	94.2	145.4	4.33	5.97	3.54	20.8	0.62	70	178.4	374	163.5
	1	20.0	53.9	97	169	133.7	145.5	4.39	6.00	3.58	23.4	0.67	62	187.0	381	168.6
	29	20.0	63.9	108	121	76.4	146.8	4.25	5.49	3.59	20.1	0.69	57	165.7	308	156.0
	92	22.8	59.2	62	94	77.8	148.3	4.31	5.35	3.73	16.6	0.70	72	147.5	291	128.8
	179	20.1	60.1	62	83	81.2	146.9	4.10	5.24	3.24	17.2	0.67	81	134.3	274	123.7
9692	-6	22.6	62.1	67	162	96.4	146.0	4.15	5.97	3.78	15.9	0.74	109	156.4	335	143.4
	1	19.6	64.5	56	169	78.4	146.0	4.06	5.94	3.85	15.7	0.78	106	161.5	332	146.7
	29	26.7	80.4	95	120	94.9	145.8	4.28	5.81	3.90	22.2	0.92	93	139.1	290	134.5
	92	28.1	80.1	40	98	59.3	148.6	3.66	5.63	3.84	17.1	0.90	89	139.4	273	120.9
	179	29.3	75.4	76	79	67.7	150.3	3.57	5.72	3.57	16.8	0.84	84	122.2	251	119.1
212	18.9	48.3	70	226	59.3	142.6	3.75	5.84	3.52	17.9	0.79	98	199.0	351	149.4	
9707	-6	25.2	42.2	84	190	169.6	147.8	4.00	6.09	3.63	14.3	0.66	90	166.2	370	149.9
	1	23.5	43.2	65	183	178.8	145.9	3.98	5.86	3.52	14.8	0.71	90	147.9	351	141.1
	29	29.0	58.8	101	129	216.0	146.3	3.95	5.43	3.70	15.5	0.81	79	121.8	280	120.4
	92	26.3	63.4	45	116	115.1	150.4	4.09	5.65	3.76	18.2	0.90	73	139.5	301	124.4
	179	29.8	70.8	57	96	139.4	149.5	3.92	5.51	3.44	14.7	0.88	96	123.8	296	120.3
212	20.7	41.9	63	157	95.9	147.2	4.17	5.95	3.56	14.2	0.81	86	141.8	298	119.4	

Table 3-7. Biochemical examination in female dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (75 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLC (mg/dl)
9677	-6	31.7	50.7	98	216	179.6	145.6	4.18	5.91	3.99	14.4	0.65	101	176.4	376	155.3
	1	27.6	42.8	74	254	168.5	145.6	4.13	5.77	3.74	18.8	0.73	107	178.2	399	160.7
	29	36.4	69.4	115	128	181.2	146.1	3.95	5.72	3.94	15.0	0.87	83	156.8	313	148.7
	92	37.3	73.8	50	105	146.2	146.7	4.04	5.65	3.86	16.7	0.85	101	146.2	296	124.2
	179	32.2	60.2	76	90	123.2	149.1	3.98	5.40	3.43	15.2	0.84	86	135.1	283	123.2
9671	-6	20.1	52.7	67	194	99.1	147.1	4.21	6.20	3.92	13.9	0.66	107	194.5	392	170.3
	1	22.8	49.9	59	167	77.4	146.0	3.85	5.93	3.69	11.4	0.70	113	166.4	350	148.0
	29	28.0	68.4	118	97	94.2	145.6	4.38	5.43	3.75	15.0	0.86	97	114.2	255	116.5
	92	27.0	63.5	45	73	58.1	146.9	4.26	5.59	3.71	16.7	0.88	94	119.2	258	104.6
	179	23.2	57.8	39	60	48.3	148.3	4.68	5.32	3.29	24.3	0.85	91	107.4	271	104.0
9703	-6	21.1	73.5	75	173	138.9	148.0	3.52	6.11	3.89	13.6	0.59	102	143.1	330	133.7
	1	25.2	61.2	73	165	174.4	146.7	3.51	5.92	3.74	13.4	0.72	90	136.0	318	127.9
	29	34.7	70.6	117	113	198.5	147.4	3.44	5.54	3.71	16.0	0.84	69	105.8	246	101.7
	92	28.5	105.3	59	94	134.5	149.5	3.80	5.65	3.83	15.7	0.82	90	120.5	261	106.0
	179	26.0	71.1	76	74	82.1	150.9	3.52	5.60	3.51	16.0	0.88	83	99.4	239	99.7
9719	-6	23.9	43.9	79	172	106.5	144.1	4.23	6.22	3.90	20.0	0.64	90	159.1	369	141.0
	1	26.7	44.4	69	155	111.0	144.0	4.39	6.12	3.80	28.9	0.69	98	160.7	377	140.6
	29	31.1	48.7	109	103	122.1	144.2	4.24	5.59	3.74	21.9	0.81	98	120.9	287	114.0
	92	35.1	65.5	43	81	181.5	150.8	4.02	5.87	3.89	21.6	0.91	58	126.7	296	106.3
	179	25.6	58.2	55	58	76.9	147.3	4.08	5.88	3.56	19.8	0.80	84	137.7	313	126.6
9679	-6	21.2	34.6	86	208	108.0	145.2	4.39	6.20	3.90	18.9	0.79	98	230.5	436	186.8
	1	18.8	37.0	68	180	104.5	143.9	4.57	6.15	3.71	24.1	0.90	93	213.4	441	182.1
	29	20.5	57.3	119	106	92.5	145.1	4.70	5.83	3.84	23.5	1.00	84	176.0	380	157.6
	92	25.1	62.0	59	68	83.3	145.1	4.34	5.62	3.71	25.1	1.15	95	168.9	345	134.9
	179	22.4	73.9	51	79	104.9	147.3	4.04	5.54	3.45	23.0	1.07	100	136.9	294	121.0
212	14.5	39.1	64	289	49.8	143.8	4.13	6.20	3.77	11.7	0.82	109	228.1	450	179.8	
9697	-6	18.8	33.9	94	161	105.7	147.5	4.40	6.17	3.80	17.8	0.70	100	189.0	415	163.5
	1	19.3	43.8	86	142	95.6	146.0	4.30	6.28	3.95	17.9	0.78	82	169.5	377	150.9
	29	23.9	45.6	138	73	127.5	144.1	4.71	5.83	3.82	23.9	0.88	90	120.8	302	116.1
	92	21.5	51.6	77	57	69.9	147.6	5.04	5.89	3.71	29.0	1.09	95	110.8	278	97.4
	179	18.8	55.8	89	44	81.5	146.5	4.60	5.77	3.43	26.6	0.92	82	125.0	298	120.2
212	21.3	93.6	56	187	65.5	145.4	4.68	6.15	3.52	18.7	0.87	87	240.5	503	201.8	

Table 3-8. Biochemical examination in female dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks (100 mg/kg)

Animal no.	Day	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)	LDH (mU/ml)	ALP (mU/ml)	CPK (mU/ml)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	BUN (mg/dl)	CRNN (mg/dl)	GLU (mg/dl)	TC (mg/dl)	PL (mg/dl)	HDLc (mg/dl)
9693	-6	23.4	66.1	75	211	117.7	147.1	3.87	6.38	4.28	16.0	0.73	107	170.7	366	153.9
	1	22.2	63.9	57	199	77.3	145.7	4.44	6.41	4.11	24.7	0.78	91	165.4	363	153.0
	29	30.7	93.2	97	108	78.9	148.6	4.51	5.52	3.86	21.6	0.93	90	86.4	212	90.3
	92	26.0	75.3	43	63	65.4	149.6	4.43	5.47	3.92	19.0	0.92	98	100.2	223	90.4
	179	27.4	79.2	49	72	72.2	150.0	3.79	5.49	3.59	14.8	0.91	87	91.5	203	88.9
9694	-6	25.3	39.3	80	166	116.0	146.4	3.86	5.66	3.86	24.7	0.71	97	160.2	368	144.2
	1	24.6	47.7	65	147	112.1	146.0	3.96	5.86	3.85	24.8	0.75	89	153.8	357	139.0
	29	30.5	49.3	125	125	150.0	144.1	4.41	5.36	3.64	27.5	0.91	59	122.3	297	119.
	92	24.7	43.7	60	76	71.9	146.9	3.84	5.22	3.55	19.6	0.80	75	113.4	261	97.9
	179	26.6	52.4	49	63	84.0	148.9	3.78	5.23	3.34	22.0	0.82	81	103.0	244	96.8
9702	-6	24.1	50.7	94	268	135.4	145.9	4.54	5.89	3.70	17.8	0.58	98	165.9	388	152.5
	1	21.3	30.0	69	217	103.7	144.9	4.42	5.68	3.72	18.2	0.67	71	163.5	391	151.4
	29	25.1	39.6	105	146	119.0	145.7	4.30	5.36	3.61	14.5	0.83	83	104.9	248	102.7
	92	27.8	40.9	71	105	93.3	146.5	4.35	5.13	3.57	24.4	0.89	103	91.6	248	85.6
	179	23.8	42.2	59	91	71.0	147.8	3.98	5.38	3.42	15.1	0.74	89	111.7	259	108.6
9705	-6	22.9	41.5	92	263	154.1	146.7	3.81	6.18	3.65	18.1	0.72	100	149.7	344	136.0
	1	18.8	35.9	74	247	114.5	146.7	3.74	5.91	3.47	15.6	0.76	95	144.3	347	136.6
	29	25.5	65.8	110	157	191.8	145.8	3.51	5.44	3.64	15.0	0.88	71	104.4	245	103.1
	92	28.2	53.4	58	118	205.0	149.0	4.00	5.55	3.70	16.1	0.92	87	112.4	247	103.4
	179	19.6	44.0	60	114	71.6	148.1	3.86	5.66	3.28	16.9	0.89	89	105.2	242	100.1
9683	-6	22.8	42.2	109	140	180.7	146.4	4.39	6.42	3.90	15.5	0.66	98	198.5	406	158.1
	1	24.7	72.9	65	126	93.6	144.4	4.36	6.50	3.91	18.1	0.79	106	187.3	380	165.0
	29	24.7	72.1	127	73	99.0	145.4	4.18	5.25	3.71	8.7	0.80	85	93.0	175	86.8
	92	21.9	102.5	58	61	73.6	145.0	4.60	5.90	3.56	17.3	0.69	95	196.4	414	142.6
	179	23.7	70.8	91	59	70.5	145.8	4.09	5.68	3.40	23.4	0.79	75	114.5	296	103.2
	212	30.8	39.3	42	108	326.9	145.3	4.12	6.22	3.62	17.7	0.87	100	151.9	332	120.8
9687	-6	25.3	61.7	85	195	118.4	147.3	3.98	6.19	4.12	19.2	0.62	94	168.4	397	147.7
	1	31.2	57.5	81	203	824.0	146.9	4.26	6.00	3.92	21.1	0.74	103	149.7	390	135.4
	29	27.9	75.3	122	120	196.3	144.6	4.39	5.42	3.81	20.4	0.80	92	115.1	297	107.9
	92	29.6	121.7	42	86	95.0	147.4	4.47	5.66	3.85	24.4	0.98	87	116.2	309	103.0
	179	26.2	77.4	89	70	86.3	146.6	4.23	5.50	3.52	26.1	1.01	84	101.9	259	84.8
	212	22.1	82.5	27	119	78.1	147.4	3.78	6.08	4.08	17.0	0.82	103	162.6	376	154.1

死亡はみられなかったが、流涎および嘔吐がすべての被験物質投与群でみられ、特に75mg/kg以上の群では発現頻度が高かった。これらは本被験物質の苦みに基づくものとみなされた。

100mg/kg群においてERG検査ではaおよびb波の振幅の低下が認められたが、いずれも回復期間終了時にはほぼ投与前値に復する傾向を示していたので、視覚器に対する影響は可逆性と判断された。さらに、投与期間終了時の網膜の病理組織検査では異常は認められなかったことから、ERG検査で認められた変化は網膜の一時的な機能低下に留まり、器質的变化をもたらすものでないと考えられた。

血液生化学検査では、100mg/kg群の1例でGOT活性の一時的な上昇がみられ、被験物質の肝臓に対する影響が示唆された。しかし、病理組織検査では特記すべき変化がみられないことから、その程度はごく軽度なものと思われた。また、総タンパク、リン脂質、総コレステロールおよびHDL-コレステロールに変動がみられたが、体重および摂餌量が低下しており、病理学的に肝臓には明らかな病変がみられなかったことか

ら、これら検査値の変動の毒性学的意義は明らかではなかった。

キノロン系合成抗菌剤の毒性に関連し、幼若動物で関節毒性が出現することが知られている³⁾。この関節毒性は動物の年齢あるいは動物種によりその程度の差が大きく、イヌでは2週齢から12カ月齢の間に感受性が高く、また、イヌ、ウサギ、ラット、マウスの順で感受性が低くなると言われている。本試験でも関節病変がみられたが、これは投与開始が8ないし9カ月齢と比較的若齢期であったために被験物質の影響を受けたものと考えられた。ちなみに、3カ月齢の幼若ビーグルにおける本被験物質の関節毒性は30mg/kgの7日間経口投与によって発現することを確認している⁴⁾。また、関節軟骨でみられたchondrocyte clusterは関節軟骨病変の修復過程を示すものと言われており、本試験では投与初期に関節病変が発現したものの、日齢が進むに伴い修復に転じていたことを示すものと考えられた。

以上から、本試験条件下における確実中毒量は75mg/kg、無影響量は50mg/kgと判断された。

Table 4-1. Micropathological findings in male dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks

	Dose (mg/kg)			
	0	50	75	100
	9 9 9 9 9* 9*	9 9 9 9 9* 9*	9 9 9 9 9* 9*	9 9 9 9 9* 9*
Animal number	2 2 2 2 2 2 0 1 2 3 0 2 7 3 7 5 8 0	2 2 2 2 2 2 2 2 3 3 0 3 3 6 0 3 9 9	2 2 2 2 2 2 2 2 3 4 1 1 2 4 8 1 1 9	2 2 2 2 2 2 1 1 2 4 3 3 0 2 1 2 4 7
Proximal humerus (L): normal	+	+	+	+
Distal humerus (L): normal	+	+	+	+
: Appearance of fibrous substance in middle zone	-	-	+	-
: Rarefaction of cartilage matrix in middle zone	-	-	+	-
: Swelling of chondrocytes	-	-	-	+
: Fissures in middle zone	-	-	+	-
: Chondrocyte cluster	-	-	+	-
Distal humerus (R): normal	N	N	N	N
: Erosion with chondrocyte swelling	N	N	N	N
: Fibrillation	N	N	N	N
: Rarefaction of cartilage matrix in middle zone	N	N	N	N
: Chondrocyte cluster	N	N	N	N
Proximal femur (R): normal	+	+	+	+
Distal femur (L): normal	+	+	+	+
: Rarefaction of cartilage matrix in middle zone	-	-	-	+
: Appearance of fibrous substance in middle zone	-	-	-	+
: Fissures in middle zone	-	-	-	+
: Swelling of chondrocytes in middle zone	-	-	-	+
: Atrophy of chondrocytes	-	-	+	-
: Chondrocyte cluster	-	-	-	+

*: recovery study +: positive, -: negative, N: not examined

Table 4-2. Micropathological findings in female dogs receiving temafloxacin orally for 26 weeks

	Dose (mg/kg)			
	0	50	75	100
	9 9 9 9 9* 9*	9 9 9 9 9* 9*	9 9 9 9 9* 9*	9 9 9 9 9* 9*
Animal number	6 6 6 7 6 7 8 8 9 1 9 0 6 9 8 6 5 6	6 6 6 7 6 7 8 8 9 0 9 0 5 8 6 9 2 7	6 6 7 7 6 6 7 9 0 1 7 9 7 1 3 9 9 7	6 6 7 7 6 6 9 9 0 0 8 8 3 4 2 5 3 7
Proximal humerus (L): normal	+	+	+	+
Distal humerus (L): normal	+	+	+	+
: Appearance of fibrous substance in middle zone	-	-	+	-
: Rarefaction of cartilage matrix in middle zone	-	-	+	-
: Swelling of chondrocytes	-	-	+	-
Proximal femur (R): normal	+	+	+	+
Distal femur (L): normal	+	+	+	+
: Atrophy of chondrocytes	-	-	+	-

*: recovery study +: positive, -: negative

文 献

- 1) Kimura E T and Tekeli S: One-month toxicity study of ABBOTT-63004 hydrochloride (ABBOTT - 62254) administered orally to young adult dogs. ABBOTT laboratories 社内資料(PPRd/87/003), 1987
- 2) Kimura E T and Buratto B: Six-month toxicity study of ABBOTT-63004 hydrochloride (ABBOTT-62254) administered orally to dogs. ABBOTT laboratories 社内資料(PPRd/87/207), 1987
- 3) 小野寺 威: キノロン剤。医薬品, 毒性試験講座15巻(福田英臣, 秋元 健, 坂口 孝編)。地人書館: p.35~42, 東京, 1990
- 4) 小林欣滋, 藤原利久, 山村高章, 久世 博, 川合是彰, 堀 正樹: Temafloxacinの関節毒性試験。Chemotherapy 41 (S-5): 232~241, 1993

A 26-week oral toxicity study of temafloxacin in dogs

Takaaki Yamamura, Hiroshi Kuse, Masayuki Susami, Yosiaki Kawai and Masaki Hori
 Safety Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.
 16-89 Kashima 3-chome, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan

As part of a safety evaluation program for the new synthetic antibacterial agent temafloxacin (TMFX), a 26-week oral toxicity study (0, 50, 75 and 100 mg/kg/day) was carried out on beagle dogs and followed by a 4-week recovery study. No animal died during the treatment period. Transient salivation, vomiting, hyperemia of the skin and visible mucosa were noted in all TMFX-treated groups. One male dog receiving 100 mg/kg showed a transient staggering gait. In addition, sedation and transient edema of the eyelids were observed in a female receiving 100 mg/kg. Body weight decreased in males receiving 100 mg/kg and in females receiving 75 mg/kg or more. Food consumption tended to decrease in all TMFX-treated groups. On electroretinography, the a and b wave amplitudes were reduced in the 100 mg/kg dogs. As to clinical pathology, GOT activity was slightly elevated in one male dog in the 100 mg/kg group. Pathology revealed chondrocyte clusters and fissures in the middle cartilage zone in a few dogs in the 75 mg/kg and 100 mg/kg groups. After discontinuation of drug administration, the changes detected by clinical observation and laboratory examination disappeared or diminished. Thus, the long-term non-toxic dose of TMFX was estimated as 50 mg/kg in dogs.