

表4 ラットにおける経口及び静脈内投与後の尿及び糞中累積排泄率 (%)

n=3

投与経路	排泄経路	採取時間 (投与後時間)						
		0~6	0~12	0~24	0~48	0~72	0~96	0~120
経口	尿	27.7	43.7	57.2	66.2	67.0	67.4	67.7
	糞	—	—	15.3	22.2	23.3	23.7	24.0
静脈内	尿	34.0	57.5	68.1	69.7	70.2	70.4	70.7
	糞	—	—	16.0	20.0	20.2	20.5	20.8

ラット (系統不明、性別不明、匹数不明) に ^{14}C -標識クレンプテロールを経口投与 (2 mg/kg 体重) した際は、投与後 48 時間の尿中に約 60 % の排泄が認められ、クレンプテロールが胃腸管から速やかに吸収されることが示唆された。さらに、投与 48 時間後以降になると糞中に 20 % が排泄され、投与 48~72 時間後には尿及び糞中に約 5~10 % が排泄された。また、約 7 % が胆汁中に認められた。組織中濃度は肝臓、腎臓及び肺を除き、比較的低いことが確認された。(参照 3)

⑥ 胆汁中排泄

胆管カニュレーションを施したラット (Wistar 系、7~8 週齢、雄、3 匹) に ^{14}C -標識クレンプテロールを十二指腸内投与 (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、投与後のカニュレから滴下する胆汁の経時的変化及び累積排泄率を調べた。十二指腸内投与後の胆汁中への排泄は迅速で、投与 40~60 分後にピークに達し (排泄速度は 5.9 %/h)、投与後 6 時間までに排泄はほぼ完了した。胆汁中への累積排泄率は、投与後 6 時間で 18.2 %、投与後 24 時間では 23.1 % であった。(参照 7)

⑦ 腸肝循環

胆管カニュレーションを施したラット (Wistar 系、7~8 週齢、雄、2 匹) に ^{14}C -標識クレンプテロールを十二指腸内投与 (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) して得られた胆汁を、別のラット (雄、3 匹) の十二指腸内に投与 (0.8 mL/匹) し、腸肝循環を調べた。

腸肝循環により再び胆汁中へ出現する放射活性は投与 1~2 時間後にピークに達し、胆汁中排泄と同様であった。しかし、排泄速度は比較的緩やかであり、主な排泄は投与 12 時間後まで認められた。このときの累積排泄率 (投与後 24 時間) は 14.7 % であった。

(参照 7)

(3) 薬物動態試験 (イヌ) (参照 3、8)

イヌ (ビーグル種、概ね 9 ヶ月齢、雄 3 匹) に ^{14}C -標識クレンプテロールを単回強制経口投与 (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、全血中濃度、血漿中濃度、尿・糞中排泄率及び血漿タンパク結合率を調べた。(表 5、6)

全血中の C_{max} は 133 ng/mL、 T_{max} は投与 2~3 時間後で、その後は 2 相性の減少を示した。Log (血液中濃度) - 時間曲線から、全血中濃度からみた α 相の $T_{1/2}$ は 1.8 時間、 β 相の $T_{1/2}$ は 21.2 時間、 $\text{AUC}_{0-96\text{h}}$ は 1.43 h $\cdot\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。遠心限外ろ過法により求めた血漿タンパク結合率 (*in vivo*) は、投与 3 時間後で 71.0 %、投与 24 時間後では

92.3%であり、時間経過とともに結合率の増加傾向が認められた。(参照8)

表5 イヌにおける単回強制経口投与後の薬物動態パラメータ n=3

	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (時間)	T _{1/2} (時間)		AUC _{0-96h} (h・μg/mL)
			α相	β相	
全血	133	2~3	1.8	21.2	1.43
血漿	229	3	2.2	48.1	2.18

表6 イヌにおける単回強制経口投与後の尿及び糞中累積排泄率 (%) n=3

	試料採取時間 (投与後時間)								
	0~1	0~2	0~4	0~6	0~12	0~24	0~48	0~72	0~96
尿	3.1	7.7	27.5	46.2	47.8	62.1	68.1	69.0	69.2
糞						0.1	3.8	4.0	4.1
合計	3.1	7.7	27.5	46.2	47.8	62.2	71.9	73.0	73.3

イヌ(ビーグル種、雌雄不明、匹数不明)に¹⁴C-標識クレンプテロールを単回経口投与(2.5 mg/kg 体重)したときの血液及び血漿中のT_{max}は投与8時間後であった。投与量の約85%は投与後96時間に尿中に排泄され、糞中への排泄は4~9%であった。(参照3)

妊娠イヌ(ビーグル種、雌雄不明、匹数不明)に¹⁴C-標識クレンプテロールを単回経口投与(2.5 mg/kg 体重)すると、クレンプテロールは胎盤を通過して胎児から検出された。胎児血漿中の放射活性濃度は、投与4時間後に母動物の放射活性濃度の約16%に達し、母動物に対する総投与量の約0.4%が投与後4時間で胎児中に移行した。(参照3)

(4) 薬物動態試験(代謝、ラット及びイヌ)(参照9)

表7に示す各試験で得られた各種試料中の代謝物について調べた。

表7 各試験で得られた試料

対象	試験	試料
ラット (Wistar系、雄) (参照7)	¹⁴ C-標識クレンプテロールの経口及び静脈内投与(200 μg/kg 体重)試験	血漿(経口)・尿(経口及び静脈内)
	¹⁴ C-標識クレンプテロールの経口投与(200 μg/kg 体重)による組織内分布試験	肺・肝・腎
	¹⁴ C-標識クレンプテロールの十二指腸内投与(200 μg/kg 体重)試験(胆管カニュレーション処置)	胆汁
イヌ (ビーグル種、雄) (参照8)	¹⁴ C-標識クレンプテロールの経口投与(200 μg/kg 体重)試験	血漿・尿

血漿中代謝物は、いずれの動物種においても主に未変化体であった。未変化体の割合は、ラットでは投与 30 分~8 時間後において 31~36 %、イヌでは投与 1~6 時間後に 56~65 %であり、ほぼ一定の割合を示しているが、ラットと比較してイヌの割合には差が認められた。イヌでは代謝物 C が約 6~10 %、代謝物 A が約 10~17 %の割合で認められたが、ラットで認められた代謝物 B は検出されなかった。

経口投与後の尿中には、ラット及びイヌともに未変化体が最も多く、投与 0~6 時間後、投与 6~12 時間後及び投与 12~24 時間後においてラットでは 23~41 %、イヌでは 22~31 %を占めた。その他の代謝物として、ラット及びイヌに共通して代謝物 A (ラット : 8~9 %、イヌ : 2~22 %) 及び代謝物 B (ラット : 17~18 %、イヌ : 5~8 %) が認められたが、イヌでは更に未変化体及び代謝物 C のグルクロン酸抱合体 (未変化体の約 30~40 %、代謝物 C のほとんど) が認められた。

経口及び静脈内投与後の尿中代謝物は、いずれの動物種においても主に未変化体であり、次いで代謝物 B 及び代謝物 A が認められた。投与経路による代謝への影響は極めて少ないと考えられた。また、連続投与においても、単回投与の場合と同様に尿中には主に未変化体 (32~35 %) が存在し、次いで代謝物である代謝物 A (11~14 %) 及び代謝物 B (13~18 %) が認められた。投与回数による代謝への明らかな影響は認められなかった。

クレンブテロールの作用臓器である肺 (投与 0.5、1、4 及び 8 時間後 : 約 93~97 %) 及び肝臓 (投与 0.5、1、4、8 及び 24 時間後 : 約 82~92 %) 中にはほとんどが未変化体として存在し、その他の代謝物は極めて少量であった。一方、腎臓では未変化体 (経口投与 0.5~24 時間後 : 約 48~76 %) が大部分を占めたものの、代謝物として代謝物 B が約 4~20 %、代謝物 A が約 5~11 %存在した。

ラットの胆汁中では、主として未変化体 (約 40~50 %) 及び極性の高い代謝物 (34~38 %) の存在が認められ、次いで代謝物 B が約 20 %の割合で排泄された。

(5) 薬物動態試験 (代謝、ラット、ウサギ、イヌ、ヒヒ、牛、馬及びモルモット) (参照 3~5)

ラット、ウサギ及びイヌにおけるクレンブテロールの代謝は複雑である。尿中代謝物はイヌで 5 種類、ラット及びウサギでは 8 種類同定されている。これらの動物種では尿中の主要代謝物は未変化体であり、その他は各種の酸化及び抱合代謝物であった。これらの中で、代謝物 B、代謝物 D 及び代謝物 E が主要代謝物として同定されている。

ヒヒでは尿中の主要代謝物は未変化体 (18%) であり、さらに各種の代謝物がある。

牛ではクレンブテロール投与後、主要代謝物として未変化体が尿中 (28~52 %) 及び肝臓中 (50~80 %) に認められた。代謝物 C は尿中及び肝臓中に微量に検出され、代謝物 B は尿中に認められた。筋肉中には主として未変化体が認められた。

馬においても同様で、尿中、肝臓及び腎臓中の主要代謝物は未変化体であった。馬の肝臓中における代謝物の種類を同定した試験では、肝臓中の主要成分は未変化体であったが、微量ながら代謝物 F が同定された。

いずれの動物種においてもクレンブテロールの代謝物は類似しており、主な違いは代謝物の性質よりもその量であるとされている。(参照 3)

クレンプテロールの投与により、肝臓及び腎臓に残留する4種の代謝物のうち、薬理活性を有することが確認されている代謝物は、代謝物Gの1種である。この代謝物のモルモットに対する気管支拡張作用はクレンプテロールの作用の20%に満たず、残留量もごく微量である。また、この代謝物の体内での残留量は、牛でクレンプテロール投与6時間後の肝臓及び腎臓でそれぞれ約1~2%及び1%、馬では投与48時間後の肝臓でのみ9.7%検出されている。以上のことから、クレンプテロールの代謝物は薬理活性及び体内分布量が低いことから、ヒトのリスク評価には未変化体の残留量を確認することが重要であるとされている。(参照4、5)

(6) 薬物動態試験 (牛) (参照3、4、5、10、11)

泌乳牛(9頭)を用いて、第1相及び第2相からなる以下の2試験が実施された。

第1相試験

泌乳牛(フリージアン種、3頭/群)に¹⁴C-標識クレンプテロールを経口、静脈内及び筋肉内の3経路で単回投与(0.8 µg/kg体重)し、経時的に血漿(投与前、投与0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24、36、48、72、96及び120時間後)、乳汁(採取時刻:8時及び16時、投与49時間前から投与119時間後まで)、尿及び糞(投与24時間前~投与144時間後まで24時間間隔)を採取して濃度を測定した。(表8、9)

いずれの投与経路でも投与72時間後には0.02 ng-eq/mL以下となった。

表8 投与別の血漿及び乳汁中における薬物動態パラメータ

		経口投与	静脈内投与	筋肉内投与
血漿中	C _{max} (ng-eq/mL)	0.13	0.31	0.14
	T _{max} (時間)	12	0.25	3
	T _{1/2} (時間)	16.3	23.8	18.8
乳汁中	最高濃度 (ng-eq/mL)	0.43	0.66	0.68
	最高濃度到達時間 (時間)	23	7	7

乳汁中における総放射活性は血漿中より高値を示し、経口及び筋肉内投与では投与95時間後まで検出されたが、静脈内投与では投与79時間後以降にはほとんど検出されなくなった。経口、静脈内及び筋肉内投与における乳汁中最高濃度はそれぞれ0.43、0.66及び0.68 ng-eq/mL、最高濃度到達時間は経口投与で投与23時間後、静脈内及び筋肉内投与では投与7時間後であった。経口、静脈内及び筋肉内投与後144時間における乳汁中への平均累積排泄率は、それぞれ2.67、1.91及び2.06%であった。また、乳脂肪、凝乳及び乳清の3分画において放射活性は均等であり、投与経路による差は認められなかった。

表9 経口、静脈内及び筋肉内投与後144時間までの尿及び糞中の平均累積排泄率

	尿中 (%)	糞中 (%)
経口	57.67	20.45

静脈	58.81	20.58
筋肉	52.72	29.42

総放射活性の排泄及び回収量は、経口投与において吸収率の減少により持続的な排泄が認められたことを除き、投与経路による明らかな差異は認められなかった。(参照 10)

第 2 相試験

泌乳牛 (同上) に ^{14}C -標識クレンプテロールを単回筋肉内投与 (0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、経時的に血漿 (投与前、投与 2、6、12 時間後、その後 12 時間間隔)、乳汁 (投与前及び投与 143 時間後まで)、尿及び糞 (投与前 24 時間から 24 時間間隔)、組織 (肝臓、腎臓、骨格筋、投与部位、脂肪、血漿、全血、尿、乳汁、胆汁: 投与 6 時間、3 日及び 6 日後) を採取して濃度を測定した。

血漿、乳汁、尿及び糞中濃度の結果は第 1 相試験 (筋肉内投与) の結果をよく反映していた。血漿中 C_{max} は 0.23 ng-eq/mL、 T_{max} は投与 2 時間後であった。乳汁中最高濃度は 0.67 ng-eq/mL、最高濃度到達時間は投与 7 時間後であり、投与 79 時間後まで検出された。組織中残留濃度は肝臓>腎臓>投与部位の順で、肝臓では高濃度かつ長期残留 (投与 6 日後: 0.65 ng-eq/mL) が認められたが、肝臓、腎臓及び投与部位を除く全ての組織では投与 6 日後までに検出限界 (乳汁: 0.007 ng-eq/mL、血漿: 0.02 ng-eq/mL、脂肪以外組織: 0.06 ng-eq/mL、筋肉: 0.18 ng-eq/g、脂肪: 0.46 ng-eq/g) 未満となった。(参照 10)

第 1 相試験及び第 2 相試験 (共通データ)

単回筋肉内投与 6 時間後に採取した肝臓及び腎臓、投与後 24 時間に採取した尿及び糞、経口投与 8~12 時間後に採取した血漿を用いて HPLC により各試料中の放射性代謝物を同定した結果、いずれも主として未変化体が認められた。

第 1 相及び第 2 相試験における経口、静脈内及び筋肉内投与後 144 時間までの尿・糞中及び乳汁中への平均累積排泄率は、それぞれ 57.30、23.63 及び 2.12 %であった。(表 10) (参照 10)

表 10 牛における経口、静脈内、筋肉内投与後 144 時間までの尿、糞及び乳汁中の平均累積排泄率 (%)

試験	投与経路	尿中排泄率	糞中排泄率	乳汁中排泄率	合計
第 1 相	経口	57.67	20.45	2.67	80.79
	静脈内	58.81	20.58	1.91	81.30
	筋肉内	52.57	29.42	2.06	84.05
第 2 相	筋肉内	60.16	24.06	1.83	86.05
全経路平均		57.30	23.63	2.12	83.05

牛 (系統不明、性別不明、頭数不明) に ^{14}C -標識クレンプテロールを単回筋肉内投与 (0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) したとき、肝臓で高濃度の放射活性が確認された。投与直後の筋肉中

では、放射活性のほとんどは未変化体であった。(参照 3)

子牛 (ヘレフォード/フリージアン種、3頭/群:雄5頭、雌4頭) に ^{14}C -標識クレンプテロールを1日2回、10日間で21回筋肉内投与 ($0.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) した。初回投与後の血漿中の平均 C_{max} は $0.34 \text{ ng-eq}/\text{mL}$ で T_{max} は投与1時間後であった。血漿中濃度は投与期間を通して安定した上昇を示し、最終投与前の濃度は $1.37 \text{ ng-eq}/\text{mL}$ であった。その後、血漿中濃度は減少 ($T_{1/2}$: 約70時間) したが、最終投与10日後においても $0.22 \text{ ng-eq}/\text{mL}$ が検出された。高レベルの放射活性は肝臓及び腎臓で認められ、筋肉及び脂肪では最終投与6日後には検出限界 ($0.18 \text{ ng-eq}/\text{g}$) 未満となった。胆汁及び尿中にも有意な検出が認められた。投与部位の放射活性については、投与回数に関わらず血漿中濃度と類似の推移を示したことから、クレンプテロールは高い吸収性を示すとともに投与部位での組織結合性は低いことが示唆された。また、投与部位の病理組織学的検査では、投与による明らかな影響は認められなかった。(参照 4、5、11)

妊娠牛 (系統不明、頭数不明) に ^{14}C -標識クレンプテロールを筋肉内投与 ($7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) し、投与3時間後の体内分布を調べた。放射活性は胎盤を通過し、骨格筋、腎臓及び肝臓を含む胎児組織中に検出された。また、放射活性は母動物や胎児の眼球にも検出された。(参照 3)

(7) 薬物動態試験 (馬) (参照 3、4、5、12)

馬 (雌雄各6頭) に ^{14}C -標識クレンプテロールを1日2回、21日間経口投与 ($0.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日) したとき、初回投与時における血漿中の T_{max} は投与1.5~4時間後で、血漿中 C_{max} は $0.6\sim 1.2 \text{ ng-eq}/\text{mL}$ であった。連続投与期間中、血漿中濃度は速やかに定常状態に達し、 C_{max} は $1\sim 2 \text{ ng-eq}/\text{mL}$ 、 T_{max} は投与3時間後であった。最終投与後の血漿中 C_{max} は $1.1\sim 1.9 \text{ ng-eq}/\text{mL}$ 、 T_{max} は最終投与2~4時間後、末期 $T_{1/2}$ は約22時間であった。主要排泄経路は尿中、排泄率は約75~91%であり、主に未変化体であった。糞中排泄率は6~15%であった。放射活性の組織内への分布は、最終投与12時間、9、12及び28日後に調べられており、いずれも肝臓 (12時間後: $5.7\sim 27 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、9日後: $4.6\sim 7.2 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、12日後: $1.8\sim 7.5 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、28日後: $0.51\sim 0.79 \text{ ng-eq}/\text{g}$) 及び腎臓 (12時間後: $1.7\sim 8 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、9日後: $0.17\sim 0.59 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、12日後: $0.12\sim 0.44 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、28日後: $0.14\sim 0.23 \text{ ng-eq}/\text{g}$) で高濃度が検出され、筋肉及び脂肪への分布はバックグラウンドの範囲内あるいは定量限界 (筋肉 $0.3\sim 0.5 \text{ ng-eq}/\text{g}$ 、脂肪 $0.3\sim 1.6 \text{ ng-eq}/\text{g}$) 未満であった。(参照 3、4、5、12)

(8) 薬物動態試験 (サル及びヒヒ) (参照 3)

カニクイザル (性別不明、匹数不明) に ^{14}C -標識クレンプテロールを単回静脈内投与 ($30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重) すると、投与後72時間に尿中に総放射活性の約60%、糞中には4%が排泄された。排泄は2相性の形態をとり、 α 相の $T_{1/2}$ は算出できなかったが、 β 相では $T_{1/2}$ は20~30時間であった。

ヒヒ（雄、匹数不明）に¹⁴C-標識クレンプテロールを単回静脈内投与（2.5 mg/kg 体重）すると、投与後5日間に総放射活性の約82%が尿中（約68%）及び糞中（14%）に排泄され、そのうち72%は投与後48時間に排泄された。なお、経口投与した場合も同様の排泄パターンを示すことが確認されている。放射活性は肺、肝臓及び腎臓に迅速かつ高濃度の分布が認められた。

妊娠ヒヒに¹⁴C-標識クレンプテロールを単回静脈内投与（3.3 mg/kg 体重）したときの胎盤移行性について調べた結果、投与3.5時間後に投与量の約1.5%が胎児に検出された。

(9) ヒトにおける知見（参照3）

健常人ボランティアに¹⁴C-標識クレンプテロール塩酸塩を単回経口投与（20 µg/kg 体重）すると、尿中に67%が排泄され、糞中への排泄は微量であった。尿中における主要排泄物は未変化体であり、代謝経路は実験動物での報告と類似していた。血漿中 C_{max} は0.11 µg/L、 T_{max} は投与2~3時間後であり、投与量の約87%が尿中に認められたが、糞中への排泄は少量であった。

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛）（参照13、14）

子牛（ホルスタイン種、13~18ヶ月齢、雌、3頭/群、1頭/対照群）に塩酸クレンプテロールを単回静脈内投与（0.3（常用最高量）、0.6 mg/頭（2倍量））し、投与1、6、9、12及び15日後に（対照群は投与1日後）、血漿、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び小腸中濃度をELISA法により測定した。

0.3 mg/頭投与群では、投与1日後に全個体の血漿及び組織から検出され、肝臓に平均1.04 ng/g、腎臓及び小腸にそれぞれ平均0.73及び0.71 ng/gのほぼ同レベルの残留が認められた。血漿では1例で高濃度の残留（0.9 ng/g）があったため、平均0.60 ng/gと高値になった。また、低濃度ながら脂肪（0.14 ng/g）に残留が認められた。0.6 mg/頭投与群では、2例の脂肪を除く全試料から検出された。肝臓では平均3.47 ng/gと高濃度の残留が認められ、腎臓及び小腸ではそれぞれ平均1.23及び0.78 ng/gであり、残留傾向は0.3 mg/頭投与群と類似していた。投与6日後には、いずれの投与群においても血漿及び組織の全てが検出限界（0.1 ng/g）未満となった。（表11）（参照13）

表11 牛における単回静脈内投与後の血漿及び組織中の平均残留濃度（ng/g） n=3

投与量 (mg/頭)	採取試料	平均残留濃度(ng/g)				
		投与1日後	投与6日後	投与9日後	投与12日後	投与15日後
0.3	血漿	0.60	<0.1	<0.1	—	—
	筋肉	0.31	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	1.04	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	0.73	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	0.14	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.71	<0.1	<0.1	—	—
0.6	血漿	0.60	<0.1	<0.1	—	—

	筋肉	0.23	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	3.47	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	1.23	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	0.32 ¹⁾	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.78	<0.1	<0.1	—	—

1) 3頭中1頭で0.32 ng/gを検出、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

※ — : 分析せず

※ 検出限界は0.1 ng/g

子牛 (ホルスタイン種、9~10ヶ月齢、雌、3頭/投与群、1頭/対照群) に前述の試験 (参照 13) と同様に投与し、血漿及び組織中濃度を測定した。0.3 mg/頭投与群では、投与1日後の3例の脂肪、1例の血漿及び筋肉を除く全試料から検出され、特に肝臓には平均1.74 (0.67~2.46) ng/gの高濃度が認められた。0.6 mg/頭投与群は、投与1日後には脂肪を除く全試料から検出され、肝臓には平均1.64 (1.03~2.20) ng/gの高濃度が、腎臓には平均0.78 (0.52~0.98) ng/gの比較的高濃度が検出された。投与6日後には、いずれの投与群においても血漿及び組織の全てで検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。(表 12) (参照 14)

表 12 牛における単回静脈内投与後の血漿及び組織中の平均残留濃度 (ng/g) n=3

投与量 (mg/頭)	採取試料	平均残留濃度(ng/g)				
		投与1日後	投与6日後	投与9日後	投与12日後	投与15日後
0.3	血漿	0.26 ¹⁾	<0.1	<0.1	—	—
	筋肉	0.24 ²⁾	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	1.74	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	0.79	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	<0.1	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.46	<0.1	<0.1	—	—
0.6	血漿	0.20	<0.1	<0.1	—	—
	筋肉	0.19	<0.1	<0.1	—	—
	肝臓	1.64	<0.1	<0.1	—	—
	腎臓	0.78	<0.1	<0.1	—	—
	脂肪	<0.1	<0.1	<0.1	—	—
	小腸	0.31	<0.1	<0.1	—	—

1) 3頭中2頭で0.31、0.21 ng/gを検出、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

2) 3頭中2頭で0.18、0.30 ng/gを検出、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

※ — : 分析せず

※ 検出限界は0.1 ng/g

(2) 残留試験 (乳汁) (参照 15、16)

牛 (ホルスタイン種、2.5~3.5歳齢、雌、3頭/群) に塩酸クレンプテロールを単回静脈内投与 (0.3及び0.6 mg/頭) し、乳汁及び血漿中濃度を調べた。乳汁は投与前及び投与12時間後より12時間間隔で投与10日後まで採取し、血液は投与前から投与120時

間後まで計8時点を採取した。

乳汁中では投与12時間後において、0.3 mg/頭投与群の全例から平均0.86 (0.82~0.87) ng/g、0.6 mg/頭投与群の全例から平均0.61 (0.26~1.22) ng/gが検出された。いずれの投与群も減衰速度に個体差はあったものの、投与60時間後には全て検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。血漿中では、0.3 mg/頭投与群で投与1時間後に1例 (0.27 ng/g) にのみ検出され、投与6時間後には全例が検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。0.6 mg/頭投与群では、投与1時間後に1例で0.5 ng/g、他の1例で0.38 ng/gの比較的高濃度を示したが、投与24時間後には全例が検出限界未満となった。(表13) (参照15)

表13 牛における単回静脈内投与後の乳汁及び血漿中の平均残留濃度 (ng/g) n=3

試料	投与量	試料採取時間 (投与後時間)							
		1	6	12	24	36	48	60	72
乳汁	0.3	/	/	0.86	0.49	0.31	0.21	<0.1	<0.1
	0.6	/	/	0.61	0.355 ¹⁾	0.43 ²⁾	0.29 ³⁾	<0.1	<0.1
血漿	0.3	0.27 ⁴⁾	<0.1	<0.1	—	/	—	/	—
	0.6	0.44 ⁵⁾	0.23 ⁶⁾	0.12 ⁷⁾	<0.1	/	<0.1	/	—

1) 3頭中2頭で0.44、0.27 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

2) 3頭中2頭で0.50、0.36 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

3) 3頭中2頭で0.39、0.19 ng/g、残りは分析せず

4) 3頭中1頭で0.27 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

5) 3頭中2頭で0.50、0.38 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

6) 3頭中2頭で0.29、0.17 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

7) 3頭中1頭で0.12 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満及び分析せず

※ — : 分析せず

牛 (ホルスタイン種、4~5歳齢、雌、3頭/群) に前述の試験 (参照15) と同様の方法で投与し、乳汁及び血漿中濃度を調べた。

乳汁中では、0.3及び0.6 mg/頭投与群で投与12時間後にそれぞれ平均0.27 (0.17~0.38) 及び0.48 (0.33~0.58) ng/gが検出されたが、投与48時間後 (投与2日後) にはいずれの投与群も全例が検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。血漿中では、0.3 mg/頭投与群で投与1時間後に2例から検出されたが、投与6時間後には全例が検出限界 (0.1 ng/g) 未満となった。0.6 mg/頭投与群では、投与1時間後に平均0.29 (0.27~0.34) ng/gの比較的高濃度が検出されたが、投与12時間後には全例が検出限界未満となった。(表14) (参照16)

表14 牛における単回静脈内投与後の乳汁及び血漿中の平均残留濃度 (ng/g) n=3

試料	投与量	試料採取時間 (投与後時間)							
		1	6	12	24	36	48	60	72
乳汁	0.3	/	/	0.27	0.15	0.23	<0.1	<0.1	—
	0.6	/	/	0.48	0.37	0.24 ¹⁾	<0.1	<0.1	—
血漿	0.3	0.145 ²⁾	<0.1	<0.1	—	/	—	/	—

	0.6	0.29	0.17 ³⁾	<0.1	<0.1		—		—
--	-----	------	--------------------	------	------	--	---	--	---

1) 3頭中1頭で0.24、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

2) 3頭中2頭で0.17、0.12 ng/g、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

3) 3頭中1頭で0.17、残りは検出限界 (0.1 ng/g) 未満

※ — : 分析せず

3. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (マウス、ラット及びウサギ) (参照 17、18)

マウス (ddY 系、雌雄各 10 匹/群) 及びラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) に塩酸クレンプテロールを経口、皮下及び腹腔内投与したときの LD₅₀ は、マウスの雄でそれぞれ 150、63 及び 48 mg/kg 体重、雌では 147、69 及び 56 mg/kg 体重であった。ラットでは、雄でそれぞれ 184、148 及び 76 mg/kg 体重/日、雌では 159、155 及び 77 mg/kg 体重であった。LD₅₀ はマウス、ラットとも経口>皮下>腹腔内投与の順で、性差は認められなかった。また、種差は皮下投与において認められ、マウスの LD₅₀ はラットに比べて低かった。

一般状態では、マウス及びラットともにいずれの投与経路においても、歩行失調、自発運動の低下、鎮静あるいは呼吸促迫が認められ、高用量群では投与量に相関して横転、痙攣、流涙及び流涎等の症状が加わった。死亡例は、経口及び皮下投与ではマウス及びラットともに、それぞれ投与後 3 及び 6 時間以内、腹腔内投与ではラットで投与後 1 時間以内、マウスでは投与後 3 時間以内に認められた。剖検では、皮下投与部位に壊死様変化が認められた以外に明らかな変化は認められなかった。(参照 17)

表 15 マウス及びラットにおける投与経路別の LD₅₀

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
マウス	経口	150	147
	皮下	63	69
	腹腔内	48	56
ラット	経口	184	159
	皮下	148	155
	腹腔内	76	77

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) にクレンプテロールの代謝物 A を経口投与したときの LD₅₀ は、雌雄ともに >5,000 mg/kg 体重であった。また、同じく代謝物 C を経口投与したときの LD₅₀ は、雄で 4,930 mg/kg 体重、雌では 4,618 mg/kg 体重であった。

一般状態では、両代謝物投与群ともに自発運動の低下、歩行失調、呼吸運動の抑制が認められ、さらに代謝物 C では下痢が、代謝物 A では雌で赤色尿が認められた。また、両代謝物投与群ともに、死亡例は投与 2 日後までに認められ、剖検において代謝物 C 投与群で死亡例の幽門部及び空回腸に充血が認められた以外は、いずれの投与群でも生存例及び死亡例ともに特記すべき所見は認められなかった。(参照 17)

表 16 マウスにおけるクレンプテロール代謝物の LD₅₀

動物種	投与経路	投与物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
			雄	雌
マウス	経口	代謝物 A	>5,000	>5,000
		代謝物 C	4,930	4,618

マウス (ICR 系、7 週齢、雌雄各 10 匹/群) 及びラット (SD 系、11 週齢、雌雄各 10 匹/群) に経口、皮下、静脈内及び腹腔内投与したときの LD₅₀ 及びヒマラヤン系ウサギに皮下投与した際の LD₅₀ を調べた。マウスの経口投与による LD₅₀ は、雄、雌でそれぞれ 80、133 mg/kg 体重、皮下投与では雄、雌で 64、80 mg/kg 体重、静脈内投与では雄、雌で 38、46 mg/kg 体重、腹腔内投与では雄、雌で 46、74 mg/kg 体重であった。ラットの経口投与による LD₅₀ は、雄、雌でそれぞれ 170、180 mg/kg 体重、皮下投与では雌雄ともに 170 mg/kg 体重、静脈内投与では雌雄ともに 30 mg/kg 体重、腹腔内投与では雄、雌で 72、67 mg/kg 体重であった。ウサギ (ヒマラヤン系、3~4 ヶ月齢、雌雄各 4 匹/群) の皮下投与による LD₅₀ は、雄で 80 mg/kg 体重、雌で 87 mg/kg 体重であった。(参照 18)

表 17 マウス、ラット及びウサギにおける投与経路別の LD₅₀

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
ICR 系マウス	経口	80	133
	皮下	64	80
	静脈内	38	46
	腹腔内	46	74
SD 系ラット	経口	170	180
	皮下	170	170
	静脈内	30	30
	腹腔内	72	67
ヒマラヤン系ウサギ	皮下	80	87

(2) 急性毒性試験 (イヌ) (参照 3)

イヌ (品種不明、性別不明、匹数不明) にクレンプテロールを経口及び静脈内投与したときの LD₅₀ は、雌雄でそれぞれ 400~800 mg/kg 体重及び 45~52 mg/kg 体重であった。

4. 亜急性毒性試験

(1) 1 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 3、5、18)

ラット (SD 系、13 週齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた塩酸クレンプテロールの強制経口投与 (0、1、10、100 mg/kg 体重/日) による 1 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験期間中に、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 7 例 (46.7%) で投与に起因すると考えられる死亡が認められた。

一般状態では、100 mg/kg 体重/日投与群の数例で眼及び鼻に赤色の痂皮が認められた。また、流涎により口の周囲が濡れている例や口腔内に泡沫状の唾液を含んでいる例が認められた。

体重では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で顕著な増加抑制が認められた。摂餌量では、100 mg/kg 体重/日投与群で投与 1 週に減少が認められた。

血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で Glu の減少が認められた。

臓器重量では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の絶対重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、死亡例には明らかな変化は認められなかった。100 mg/kg 体重/日投与群では、2 例の左心室に慢性虚血性病変に類似した所見 (心筋線維の消失、線維化) が認められた。

本試験において、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で Glu の減少が認められたことから、雌雄とも NOAEL は 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 18 1 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
100	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・体重増加抑制 ・肝臓の絶対重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡例
	<ul style="list-style-type: none"> ・目及び鼻に赤色の痂皮、流涎、口腔内に泡沫状の唾液 (雌雄不明) ・摂餌量の減少 (雌雄不明) ・左心室に慢性虚血性病変に類似した所見 (心筋線維の消失、線維化) (雌雄不明) 	
10 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu の減少
1	毒性影響なし	毒性影響なし

(2) 3 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 19)

ラット (Wistar 系、6 週齢、雌雄各 25 匹/群) を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与 (0、0.4、2、10、25 mg/kg 体重/日) による 3 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、投与 45 日後に、各群とも雌雄各 10 例について各種臨床検査を実施し、剖検した。また、対照群及び 25 mg/kg 体重/日投与群には回復群 (雌雄各 15 匹/群) を設け、投与終了後 6 週間観察した。

試験期間中、25 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例及び雌 3 例に死亡が認められた。

一般状態では、10 mg/kg 体重/日以上投与群で鎮静、流涙、流涎、軟便及び下痢が認められた。

体重では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で体重減少あるいは増加抑制が認められた。

摂餌量、飲水量及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液学的検査では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌で Plt の減少が認められた。

血液生化学的検査では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌雄で Glu の減少及び雌で ALP の増加、2 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で ALP の増加が認められた。3 ヶ月間の投与終了時の検査では、投与 45 日後の検査と同様に全投与群の雌雄で Glu の減少及び雌で ALP の増加が認められ、さらに、雄では全投与群でカリウムの増加、10 mg/kg 体重/日以上投与群で ALP の増加が認められた。回復期間終了時には、25 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で ALP の増加が、雌で Glu の減少が認められた。

剖検では、死亡例で口腔周囲の汚れが認められた。生存例は、いずれの検査時期においても異常は認められなかった。

臓器重量では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌雄で肝臓の比重量²の減少³、雌で腎臓の絶対重量の増加、2 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝臓の絶対重量及び副腎の比重量の減少、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で副腎の絶対重量の減少が認められた。最終投与時の検査では、全投与群の雌雄で肝臓及び副腎の比重量の減少、精巣上体の比重量の減少が認められ、これらの絶対重量の減少が雌雄ともに 2 あるいは 10 mg/kg 体重/日以上投与群で認められた。また、10 mg/kg 体重/日以上投与群では精巣の絶対重量、前立腺の絶対及び比重量の減少が認められた。回復群では、25 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の絶対及び比重量の減少、雌で副腎の比重量の減少がいずれも回復傾向にはあるものの、対照群に比べて有意な変化として認められた (p<0.01)。

病理組織学的検査では、死亡例で肺にうっ血、無気肺様変化、気管支周囲及び血管周囲の細胞浸潤が認められた。生存例では、投与 45 日後の検査において、全投与群の雌雄各 1~3 例で、主に左心室乳頭部に限局して単核細胞浸潤及び線維化が認められた。最終投与時にも同様の病変が認められたが、発現頻度は雌より雄で多かった。回復期間終了時には、心筋への影響は対照群及び 25 mg/kg 体重/日投与群の雄各 2 例を除いて、ほとんどが消失した。なお、重量に変化が認められた肝臓を含むその他の臓器には組織学的変化は認められなかった。

本試験において、全投与群の雌雄で Glu の低値及び肝臓・副腎の比重量の減少、雌で Plt の減少、ALP の増加及び腎臓の絶対重量の増加、雄でカリウムの増加及び精巣上体の比重量の減少が認められ、また、左心室乳頭部に限局して単核細胞浸潤及び線維化が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は 0.4 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 19 3 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット) において認められた毒性影響

投与群 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
25	・死亡例	・死亡例

² 体重比重量を比重量という。以下同じ。

³ 雌の 2 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差なし。

	<ul style="list-style-type: none"> ・肺にうっ血、無気肺様変化、気管支炎周囲及び血管周囲の細胞浸潤（死亡例） 	<ul style="list-style-type: none"> ・肺にうっ血、無気肺様変化、気管支炎周囲及び血管周囲の細胞浸潤（死亡例）
10 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重減少あるいは増加抑制 ・副腎の絶対重量の減少 ・精巣の絶対重量の減少 ・前立腺の絶対及び比重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓の絶対重量の減少
	<ul style="list-style-type: none"> ・鎮静、流涙、流涎、軟便、下痢（雌雄不明） 	
2 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP の増加 ・肝臓の絶対重量 ・精巣上体の絶対重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・副腎の絶対重量の減少
0.4 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu の減少、カリウムの増加 ・肝臓の比重量の減少 ・副腎の比重量の減少 ・精巣上体の比重量の減少 ・左心室乳頭部に限局した単核細胞浸潤及び線維化 	<ul style="list-style-type: none"> ・Plt の減少 ・Glu の減少、ALP の増加 ・肝臓の比重量の減少 ・副腎の比重量の減少 ・腎臓の絶対重量の増加 ・左心室乳頭部に限局した単核細胞浸潤及び線維化
25（回復群）	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP の増加 ・肝臓の絶対及び比重量の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・Glu の減少、ALP の増加 ・副腎の比重量の減少

(3) 6ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）（参照 3、5、18）

ラット（SD 系、11 週齢、雌雄各 15 匹（最高量投与群のみ 20 匹）/群）を用いた塩酸クレンブテロールの混餌投与（0、1、5、25、75 mg/kg 体重/日）による 6 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。また、試験後に 1 ヶ月間の回復期間が設けられた。

試験期間中、75 mg/kg 体重/日投与群の雄 9 例及び雌 5 例の死亡が認められた。

一般状態、飲水量、血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

体重では、75 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で増加抑制が認められた。

摂餌量は、75 mg/kg 体重/日投与群で試験期間中に減少傾向を示したが、休薬により急速に回復した。

飲水量は、投与 1 週において全投与群の飲水量は用量依存的ではないが、有意に増加した。

血液生化学的検査では、全投与群で Glu の減少が認められたが、休薬により回復が認められた。

4 75 mg 投与群における被験物質の実摂取量については、最初の 1 ヶ月間で高値であったことを除き、摂餌量の減少に伴い目標摂取量（75 mg/kg）に良好な一致を示した。