Mofezolac (N-22) のラット経口投与による 3 カ月間亜急性毒性試験および 1 カ月間回復試験

新保幸太郎, 竹内 雅也, 岡崎 修三, 木口 雅夫, 橋本由佳里,
青木由加利, 桑田 雅彦*, 山下 和正*

株式会社化合物安全性研究所

*大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所

THREE-MONTH ORAL SUBACUTE TOXICITY STUDY OF MOFEZOLAC (N-22) IN RATS

Kotaro SHIMPO, Masaya TAKEUCHI, Shūzō OKAZAKI, Masao KIGUCHI,
Yukari HASHIMOTO, Yukari AOKI, Masahiko KUWATA*
and Kazumasa YAMASHITA*

Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.,
2-20, Nishi 11-chome, Kita 30-joh, Kita-ku, Sapporo 001, Japan

*Drug Safety Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.,
224-2 Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01, Japan

Accepted April 20, 1990

Abstract.....A three-month oral subacute toxicity study of mofezolac (N-22), a non-steroidal anti-inflammatory agent, was performed using dose levels of 6, 20, 60 and 200 mg/kg in rats, and recovery was also assessed one month after withdrawal.

1. Toxic signs caused by N-22 administration, observed only in the 200 mg/kg group, were as follows : soiling around the mouth and/or nose, piloerection, anemia, diarrhea, emaciation and decreased spontaneous locomotor activity.

Nine males and thirteen females in the 200 mg/kg group excreted bloody diarrhea and died of general exhaustion between weeks four and thirteen of study.

2. In the 200 mg/kg group, decrease in food consumption and suppression of body weight gain were noted in males from about week four and in females from about week six after initiation of administration, and increase in water consumption was noted in males from about week seven.

連絡先 : ☎771-01 *徳島市川内町平石字夷野224-2

大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所 山下 和正

3. Urinary examination revealed a decline in urinary pH in males of the 20 mg/kg and above groups and elevation of urobilinogen levels in males of the 60 and 200 mg/kg groups.

4. Hematological examination showed decreases in erythrocyte count (RBC), hematocrit value (Ht) and hemoglobin concentration (Hb) and increase in reticulocyte rate in both sexes of the 200 mg/kg group and an increase in neutrophil rate in males of the 200 mg/kg group.

5. Biochemical examination demonstrated a decrease in chloride (Cl^-) in males receiving the 20 mg/kg or above doses and a decrease in calcium (Ca^{++}) in males of the 60 and 200 mg/kg groups. Moreover, there were decreases in cholinesterase (ChE) activity, total protein (TP) and albumin (Alb) values, as well as increases in blood urea nitrogen (BUN), uric acid (UA) and potassium (K^+) in both sexes of the 200 mg/kg group, along with elevations in GOT and lactate dehydrogenase (LDH) activities in females of the 200 mg/kg group.

6. The absolute and/or relative organ weights for liver, kidneys, spleen and adrenals were increased in the 200 mg/kg group.

7. On pathological examination, perforating ulceration in the jejunum and ileum, turbid ascites, adhesion and inflammatory changes in capsules of the abdominal organs, splenomegaly, mesenteric lymph node hyperplasia and inflammatory changes in the thoracic cavity were observed in dead animals of the 200 mg/kg group. Similar pathological changes were observed in a few survival cases of the 200 mg/kg group.

8. After a one month recovery period, the above-mentioned changes had mostly recovered, indicating that they were reversible.

9. These results suggested no-effect dose levels of N-22 in rats to be 6 mg/kg for males and 60 mg/kg for females, and the toxic dose level to be 200 mg/kg for both sexes.

Key words : Mofezolac, N-22, analgesic and anti-inflammatory agent, subacute toxicity test, oral, rats.

緒 言

Mofezolac (以下N-22と記す)は大鵬薬品工業株式会社で新しく開発されたイソキサゾール骨格を有する鎮痛抗炎症剤である。

今回著者らは、N-22の安全性評価の一環として、ラット経口投与による3カ月間の亜急性毒性を検討するとともに1カ月間休薬による回復性についても検討したので報告する。

材料および方法

1. 被験物質

N-22の化学構造をFig. 1に示した。

Fig. 1. Chemical structure of Mofezolac (N-22).

N-22は化学名 [3, 4-di(4-methoxyphenyl)-5-isoxazolyl]acetic acidの白色結晶性の粉末で、においはないかまたはわずかに特異なにおいがあり、ジメチルホルムアミドに極めて溶けやすく、クロロホルムに溶けやすく、メタノール、エタノールまたはアセトンにやや溶けやすく、エーテルまたは希水酸化ナトリウム試液にやや溶けにくく、水またはヘキサンにほとんど溶けない化合物である。

本試験には大鵬薬品工業株式会社より提供されたN-22(Lot No. 1076. B-1, 含量100.1%)を使用した。

2. 試験動物および飼育条件

日本クレア株式会社により4週齢のWistar系ラット(SPF, Jcl: Wistar)雌雄各100匹を購入し、約1週間の予備飼育ののち体重の増加が良好で一般症状に異常の認められない健康な動物を試験に使用した。投与開始時の体重範囲は雄136~159 g, 雌115~148 gであった。試験期間中、ラットはブラケット式金属ケージに1ケージ2~3匹ずつ収容し、温度23±1℃, 湿度55±5%, 換気回数15回/時間(オールエアーフレッシュ方式), 照明時間12時間(午前8時~午後8時)のバリアシステム飼育室で飼育した。固型飼料(CRF-1: オリエンタル酵母工業株式会社)および水(水道水)は自由に摂取させた。

3. 検体調製, 投与量および投与方法

N-22は0.5%CMC(カルボキシメチルセルロース)水溶液でそれぞれ2, 0.6, 0.2および0.06%濃度となるように用時懸濁調製して使用した。

N-22の投与量は予備試験の結果を参考にして設定した。すなわち, N-22の300, 90, 30, 10, 3および1 mg/kgを投与した結果, 300mg/kgでは死亡例がみられ, 90mg/kgでは回腸の一部赤色化がみられた。30mg/kg以下では著変は認められなかった。従って, 本試験における投与量は200, 60, 20および6 mg/kgとし, 投与容量はいずれの群もラットの体重100 g当たり1.0mlとした。また, 対照群には0.5%CMC水溶液のみを投与した。

投与方法はディスポシリンジ(テルモ社)およびラット用金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。

4. 動物数および投与期間

動物数は各群とも雌雄各々17匹を用い, 3カ月間の投与期間終了時には各群10匹を剖検(13週解剖群)し, 残りの動物は1カ月間休薬(回復群)ののち剖検した。

なお、200mg/kg群では途中死亡例が多数みられたため投与期間終了時に全例屠殺剖検した。

5. 検査項目および方法

試験期間中、一般状態の観察を毎日行うとともに、体重はアニマルスケール（日本クレア(株)）を使用して週1回測定した。摂餌量および摂水量は週1回ケージ毎に測定し、1匹あたりの1日摂取量を算出した。投与期間終了日および回復期間終了日にはラットを代謝ケージ（夏目製作所）に収容して3時間（12:00～15:00）の蓄尿を採取して定性的検査を、また、21時間（12:00～9:00）の蓄積尿について定量的検査を行った。解剖時にはエーテル麻酔下で血液学的検査および血液生化学的検査のための採血を行った。すなわち、血液学的検査には股静脈より採取したEDTA・2K処理血液を用い、血液生化学的検査には腹部大動脈より採血し、3000rpmで10分間遠心分離後得られた血清を用いた。上記臨床検査の項目および方法をTable 1に示した。

動物は採血後直ちに放血致死させ、全身諸臓器の病理解剖学的検査と主要臓器（脳、下垂体、心、胸腺、肺、肝、腎、脾、副腎、精巣、子宮および卵巣）の重量を測定し、相対重量（体重比重量）を算出した。重量測定臓器のほかに胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、痔、腸間膜リンパ節、筋肉（大腿）、骨髄（胸骨、腰椎および大腿骨）、膀胱、前立腺、精巣上体、精囊および病変部について10%中性緩衝ホルマリン液で固定後パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（H. E.）染色を施して病理組織学的検査を行った。

6. 統計処理

体重、摂餌量、摂水量、尿検査（定量的項目）、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量および相対重量についてはBartlettの方法によって等分散性を検定した。その結果、等分散のものについては一元配置分散分析によって解析し、有意な（ $P < 0.05$ ）群間差が認められた場合、Dunnettの方法により対照群とN-22投与各群との比較を行った。一方、不等分散を示したもののおよび尿検査（定性的項目）についてはKruskal-Wallisの方法により解析し、有意な群間差が認められた場合、Mann-Whitneyの方法により対照群とN-22投与各群との比較を行った。

結 果

1. 一般状態の観察

200mg/kg群の雄9例、雌13例が投与4～13週に死亡した。死亡例はいずれも貧血、血液を混じた下痢および消瘦を呈した。生存例では雌雄に投与3週頃より死亡例と同様の変化のほか、鼻および口周囲の汚染、立毛、自発運動の減少などの症状が散見された。

そのほかの群には著変は認められなかった。

2. 体重の推移

各群の平均体重の推移をFig. 2に示した。

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

200mg/kg群では雄で投与4週頃より、雌で投与7週頃より体重の増加抑制がみられた。
そのほかの群には著変は認められなかった。

3. 摂餌量の推移

摂餌量の推移をFig. 3に示した。

200mg/kg群では雄で投与5週頃より、雌で投与6週頃より摂餌量の減少ないし減少傾向が認められた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

4. 摂水量の推移

摂水量の推移をFig. 4に示した。

200mg/kg群では雄で投与7週頃より軽度な増加傾向が認められたが、雌では著変はみられなかった。

そのほかの群には著変は認められなかった。

5. 尿検査

尿検査の結果をTable 2および3に示した。

1) 13週解剖群

200mg/kg群と60mg/kg群の雄ではpHの低下と半数以上の例にウロビリノーゲンの陽性化がみられた。60mg/kg群の雌ではpHの低下がみられた。20mg/kg群では雄にpHの低下がみられた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

2) 回復群

6および60mg/kg群の雌に尿比重の上昇あるいは上昇傾向がみられた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

6. 血液学的検査

血液学的検査の結果をTable 4および5に示した。

1) 13週解剖群

200mg/kg群では雌雄にRBC, Ht値, Hb量, MCHCの減少および網状赤血球率の増加が認められた。さらに雄ではMCHの減少と白血球分類で好中球の増加およびリンパ球の減少が、雌ではMCVの増加が認められた。60mg/kg群では雌に血小板数の減少を認めた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

2) 回復群

60mg/kg群の雌にMCVの減少がみられた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

7. 血液生化学的検査

血液生化学的検査の結果をTable 6および7に示した。

1) 13週解剖群

200mg/kg群では雌雄にChE, TP, AlbおよびCl⁻の減少とBUN, UAおよびK⁺の増加が

Table 1. Items and methods for hematological, serum biochemical and urinary examinations.

Examination	Items	Abbreviation	Method
Hematology	Erythrocyte	RBC	Auto cell counter (Sysmex CC-120 type)
	Hemoglobin	Hb	Auto cell counter (Sysmex CC-120 type)
	Hematocrit	Ht	Auto cell counter (Sysmex CC-120 type)
	Mean corpuscular volume	MCV	Calculation as $Ht \times 10 / RBC$
	Mean corpuscular hemoglobin	MCH	Calculation as $Hb \times 10 / RBC$
	Mean corpuscular hemoglobin concentration	MCHC	Calculation as $Hb \times 100 / Ht$
	Reticulocyte	Retic	Brecher method
	Leukocyte	WBC	Auto cell counter (Sysmex CC-120 type)
	Differential leukocyte count	Hemogram	Microscopic cell count (May-Giemsa stain)
	Neutrocyte-Stab form	N-St	
	Neutrocyte-Segmented	N-Seg	
	Lymphocyte	Lym	
	Monocyte	Mono	
	Eosinophil	Eosino	
	Basophil	Baso	
	Platelet	PLAT	Modified Fonio method
Biochemistry	Glutamic oxaloacetic transaminase	GOT	UV method
	Glutamic pyruvic transaminase	GPT	UV method
	Lactate dehydrogenase	LDH	Wróblewski-La Due method
	Alkaline phosphatase	AIP	Kind-King method
	Cholinesterase	ChE	Butyrylthiocholine iodide substrate method
	Glucose	GLU	Enzymatic method (Mutarotase GOD system)

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

	Total cholesterol	T. Cho	Enzymatic method (MEHA system)
	Total protein	TP	Biuret method
	Albumin	Alb	BCG method (or Bromeresol green method)
	Albumin-globulin ratio	A/G	Calculation as Alb/(TP-Alb)
	Total bilirubin	T. Bil	Jeudrassik-Cleghorn method
	Urea nitrogen	BUN	Enzymatic method
	Creatinine	CRN	Jaffé method
	Uric acid	UA	Enzymatic method (Uricase-MEHA system)
	Calcium	Ca ⁺⁺	Orthocresolphthalein complexone method
	Inorganic phosphorus	I-P	Direct molybdenum blue method
	Sodium	Na ⁺	Flame photometry method
	Potassium	K ⁺	Flame photometry method
	Chloride	Cl ⁻	Schales-Schales method
Urinalysis (Fresh voided)	pH, Protein, Glucose, Ketone body	pH, Pro, GLU, Ket	Urolubstix II [®] ; Miles-Sankyo Co.
	Occult blood, Urobilinogen	Occult blood, Uro	Urolubstix II [®] ; Miles-Sankyo Co.
(21 hrs	Urine volume	Volume	
accumulated)	Specific gravity	Grav	Refractometer
	Sodium	Na ⁺	Flame photometry
	Potassium	K ⁺	Flame photometry
	Chloride	Cl ⁻	Schales-Schales method
	Sediment		Microscopically modification of Addis method

Fig. 2. Changes in mean body weight of male and female rats during the oral administration of N-22 for 3 months and the recovery period for 1 month.

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

Fig. 3. Changes in mean food consumption in male and female rats during the oral administration of N-22 for 3 months and the recovery period for 1 month.

Fig. 4. Changes in mean water consumption in male and female rats during the oral administration of N-22 for 3 months and the recovery period for 1 month.

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

みられたほか、雄にI-Pの増加および Ca^{++} の減少が、雌にA/G比の減少、GOTおよびLDH活性の上昇が認められた。60mg/kg群では雄に Cl^- および Ca^{++} の減少が認められた。20mg/kg群では雄に Cl^- の減少が認められた。6 mg/kg群には著変は認められなかった。

2) 回復群

60mg/kg群の雄にA/G比、 Na^+ および Ca^{++} の減少と K^+ の増加が、また、雌にUAの増加がみられた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

8. 臓器重量および相対重量

臓器重量および相対重量をTable 8～11に示した。

1) 13週解剖群

200mg/kg群では雌雄に脾の重量増加がみられ、さらに雄では右副腎、雌では肝の重量増加が認められた。相対重量では200mg/kg群の雌雄に脳、肝、脾、腎および副腎の増加が、雄ではさらに下垂体、心、肺および精巣の増加が認められた。

そのほかの群には著変は認められなかった。

2) 回復群

60mg/kg群では雄に副腎および左精巣の重量増加ないし増加傾向が認められた。相対重量では雄に副腎および左精巣の増加がみられた。20mg/kg群では雄に肺および副腎の重量増加ないし増加傾向がみられた。相対重量では雄に右副腎の増加が、雌に肝の増加がみられた。6 mg/kg群には著変は認められなかった。

9. 病理解剖学的検査

1) 死亡動物

200mg/kg群の死亡例では共通して、透明胸水あるいは消化管内容物を含んだ混濁腹水の貯留、小腸の穿孔性潰瘍もしくは潰瘍とそれに伴う腹腔内諸臓器の癒着、胸腔内臓器の癒着、胸腺の萎縮、肝および脾の褪色、脾腫が認められ、少数例に腸間膜リンパ節の腫大、精囊および前立腺の萎縮などがみられた。

2) 13週解剖群

200mg/kg群では雌雄の少数例ないし約半数例に上記死亡動物にみられた小腸の潰瘍、腹腔内および胸腔内諸臓器の炎症性変化に加えて肝および脾の褪色、脾腫、腸間膜リンパ節の腫大が認められた。そのほか、対照群を含む雌各群に子宮内腔の拡張が散見された。

3) 回復群

20mg/kg群の雄および60mg/kg群の雌の各1例に胸腔内臓器の癒着がみられた。そのほか対照群を含む雄または雌の少数例に下顎リンパ節の腫大、子宮内腔の拡張、眼球白濁、肺の肝変などが散見された。

10. 病理組織学的検査

病理組織学的検査結果をTable 12および13に示した。

Table 2. Urinary findings in male and female rats

Sex		Male				
Dose (mg/kg/day)		Control	6	20	60	200
No. of Animals		10	10	10	10	8
pH	6.0~7.0	1 ^a	3	6	6	7
	7.5~8.0	2	5	4 ^{**}	4 ^{**}	1 ^{**}
	8.5~9.0	7	2	0	0	0
Pro	—	0	1	1	3	1
	trace	8	9	8	5	6
	+ / #	2	0	1	2	1
GLU	—	10	10	10	10	8
Ket	—	10	10	10	10	8
Uro	±	10	10	10	3	3
	+ / #	0	0	0	7 ^{**}	5 [*]
Occult	—	10	10	10	9	7
blood	+ / #	0	0	0	1	1
Sediment						
RBC	—	10	10	10	9	7
	A	0	0	0	1	1
WBC	—	10	10	10	10	8
Squa. EC	—	8	9	8	9	6
	±	2	1	2	1	2
	+	0	0	0	0	0
Round EC	—	10	10	9	10	8
	±	0	0	1	0	0
	+	0	0	0	0	0
S. R. EC	—	8	9	9	6	5
	±	2	1	1	4	3
Grav		1.0395±0.0095 ^b	1.0373±0.0093	1.0362±0.0077	1.0341±0.0088	1.0299±0.0105
Volume	ml	13.26±7.12	13.65±5.53	12.96±4.07	15.82±5.50	19.08±10.49
Na ⁺	mEq/day	0.3404±0.1285	0.3112±0.1381	0.2449±0.1035	0.4125±0.2288	0.8098±0.9328
K ⁺	mEq/day	1.4348±0.2408	1.4219±0.2820	1.3373±0.2450	1.4711±0.2136	1.2085±0.3834
Cl ⁻	mEq/day	0.5271±0.1434	0.5126±0.1527	0.4051±0.1657	0.5397±0.2091	0.8308±0.6955

a : Values are no. of animals

b : Values are means ± S. D.

A : male = 5~10/HPF, female = 7~15/HPF

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

after oral administration of N-22 for 3 months.

Female				
Control	6	20	60	200
10	10	10	10	4
2	2	0	6	1
2	0	2	2	2
6	8	8	2	1
0	0	0	5	2
6	3	4	4	2
4	7	6	1	0
10	10	10	10	4
10	10	10	10	4
9	9	7	7	2
1	1	3	3	2
10	10	10	10	3
0	0	0	0	1
10	10	10	10	3
0	0	0	0	1
10	10	10	10	4
7	8	6	4	2
3	2	4	4	2
0	0	0	2	0
9	9	9	7	4
1	1	1	2	0
0	0	0	1	0
10	10	9	8	3
0	0	1	2	1
1.0413±0.0144	1.0395±0.0128	1.0407±0.0116	1.0339±0.0097	1.0253±0.0071
8.21±4.55	8.97±5.42	7.76±5.45	10.33±3.68	15.85±6.45
0.3812±0.1464	0.2985±0.1144	0.3456±0.1222	0.3419±0.1748	0.4458±0.2915
0.8491±0.1910	0.9402±0.1664	0.9231±0.2994	0.8530±0.2745	1.1155±0.1688
0.4671±0.1795	0.5140±0.1681	0.5020±0.2056	0.4151±0.2016	0.5623±0.2748

Table 3. Urinary findings in male and female rats allowed to recover

Sex		Male			
Dose (mg/kg/day)		Control	6	20	60
No. of Animals		7	7	7	7
pH	6.0~7.0	0 ^a	0	0	0
	7.5~8.0	2	1	2	1
	8.5~9.0	5	6	5	6
Pro	—	0	0	0	0
	trace	5	7	6	6
	+	2	0	1	1
GLU	—	7	7	7	7
Ket	—	7	7	7	7
Uro	±	7	7	7	7
Occult	—	7	6	7	7
blood	+	0	1	0	0
Sediment					
RBC	—	7	7	7	7
WBC	—	7	7	7	7
Squa. EC	—	3	2	4	3
	±	4	4	2	4
	+	0	1	1	0
Round EC	—	7	7	6	7
	±	0	0	1	0
	+	0	0	0	0
S.R.EC	—	5	6	6	6
	±	2	1	1	1
Grav		1.0383±0.0107 ^b	1.0437±0.0089	1.0376±0.0086	1.0367±0.0094
Volume	ml	12.99±5.76	10.29±3.86	15.19±8.44	13.76±4.25
Na ⁺	mEq/day	0.3440±0.0908	0.3289±0.1645	0.4571±0.2827	0.3491±0.1329
K ⁺	mEq/day	1.3411±0.1518	1.3306±0.2144	1.4621±0.3050	1.3797±0.1904
Cl ⁻	mEq/day	0.5196±0.1239	0.5180±0.2097	0.6271±0.2081	0.6149±0.1717

^a : Values are no. of animals^b : Values are means ± S. D.

** : Differs from control (P<0.01)

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

for 1 month after oral administration of N-22 for 3 months.

Female			
Control	6	20	60
7	7	7	7
2	3	4	1
1	1	1	1
4	3	2	5
0	0	0	1
4	4	3	6
3	3	4	0
7	7	7	7
7	7	7	7
7	7	7	7
7	7	7	7
0	0	0	0
7	7	7	7
7	7	7	7
3	5	3	3
4	2	4	4
0	0	0	0
7	7	7	4
0	0	0	2
0	0	0	1
7	6	5	7
0	1	2	0
1.0336±0.0057	1.0491±0.0083**	1.0399±0.0119	1.0433±0.0051
9.91±3.42	5.21±1.84	8.63±5.46	6.23±0.97
0.2519±0.1008	0.3730±0.1020	0.3610±0.1601	0.3696±0.0900
0.7567±0.1830	0.8966±0.1995	0.7850±0.2949	0.7736±0.1673
0.3771±0.1403	0.5210±0.1267	0.4690±0.2574	0.4644±0.0783

Table 4. Hematological findings in male and female rats after oral administration of N-22 for 3 months.

Sex	Male					Female				
	Control		20		200	Control		20		200
	10	10	10	10	8	10	10	10	10	4
Dose (mg/kg/day)										
No. of Animals										
RBC ($10^3/\text{mm}^3$)	828.1 $\pm$ 59.9 ^a	829.8 $\pm$ 48.1	820.1 $\pm$ 45.2	800.9 $\pm$ 36.3	551.5 $\pm$ 93.2 ^{**}	782.0 $\pm$ 43.4	780.6 $\pm$ 26.0	767.9 $\pm$ 39.0	764.2 $\pm$ 38.2	471.0 $\pm$ 53.7 ^{**}
Ht (%)	46.29 $\pm$ 2.84	47.04 $\pm$ 2.43	47.19 $\pm$ 2.25	46.33 $\pm$ 2.15	32.28 $\pm$ 5.28 ^{**}	45.44 $\pm$ 2.23	45.42 $\pm$ 1.75	45.79 $\pm$ 1.68	44.96 $\pm$ 2.00	31.50 $\pm$ 3.87 ^{**}
Hb (g/dl)	14.92 $\pm$ 0.68	15.30 $\pm$ 0.66	15.12 $\pm$ 0.56	14.77 $\pm$ 0.82	8.94 $\pm$ 2.40 ^{**}	15.18 $\pm$ 0.67	15.31 $\pm$ 0.38	15.09 $\pm$ 0.47	15.21 $\pm$ 0.46	9.43 $\pm$ 1.80 ^{**}
MCV (μ^3)	56.0 $\pm$ 1.7	56.8 $\pm$ 2.3	57.6 $\pm$ 2.1	57.8 $\pm$ 1.6	58.8 $\pm$ 2.7	58.3 $\pm$ 1.8	58.1 $\pm$ 1.5	59.7 $\pm$ 2.2	58.9 $\pm$ 2.4	67.0 $\pm$ 5.5 [*]
MCH (γ)	18.0 $\pm$ 0.7	18.5 $\pm$ 0.8	18.4 $\pm$ 0.5	18.4 $\pm$ 0.8	16.0 $\pm$ 2.2 [*]	19.4 $\pm$ 0.8	19.7 $\pm$ 0.7	19.6 $\pm$ 0.8	20.0 $\pm$ 0.7	20.0 $\pm$ 2.2
MCHC (%)	32.3 $\pm$ 0.8	32.5 $\pm$ 1.0	32.1 $\pm$ 1.0	31.7 $\pm$ 1.3	27.5 $\pm$ 3.3 ^{**}	33.4 $\pm$ 1.0	33.7 $\pm$ 1.3	33.0 $\pm$ 0.8	33.8 $\pm$ 1.0	30.0 $\pm$ 2.2 ^{**}
Retic (%)	23.1 $\pm$ 5.3	26.0 $\pm$ 5.9	23.0 $\pm$ 5.2	28.5 $\pm$ 7.0	184.4 $\pm$ 115.4 ^{**}	24.9 $\pm$ 6.8	23.0 $\pm$ 7.8	27.0 $\pm$ 9.1	26.6 $\pm$ 5.6	246.8 $\pm$ 41.1 ^{**}
PLAT ($10^4/\text{mm}^3$)	76.9 $\pm$ 17.1	68.0 $\pm$ 14.5	79.4 $\pm$ 17.5	71.5 $\pm$ 6.2	87.6 $\pm$ 18.9	70.9 $\pm$ 18.0	60.6 $\pm$ 17.8	59.4 $\pm$ 17.6	49.4 $\pm$ 14.1 [*]	94.8 $\pm$ 12.4
WBC ($10^2/\text{mm}^3$)	97.1 $\pm$ 16.0	90.3 $\pm$ 22.7	96.1 $\pm$ 11.9	105.6 $\pm$ 26.6	115.8 $\pm$ 50.0	70.1 $\pm$ 14.6	65.0 $\pm$ 9.7	58.3 $\pm$ 11.4	66.2 $\pm$ 15.8	79.0 $\pm$ 27.5
Hemogram (%) of WBC										
N-St	3.95 $\pm$ 1.23	6.15 $\pm$ 4.56	6.70 $\pm$ 3.65	5.40 $\pm$ 3.29	6.38 $\pm$ 2.83	4.65 $\pm$ 3.37	5.70 $\pm$ 4.62	4.30 $\pm$ 1.89	6.80 $\pm$ 3.57	8.38 $\pm$ 5.11
N-Seg	11.45 $\pm$ 6.42	13.45 $\pm$ 7.27	10.45 $\pm$ 3.65	10.75 $\pm$ 5.74	23.06 $\pm$ 14.25 [*]	7.70 $\pm$ 4.70	8.95 $\pm$ 5.90	6.45 $\pm$ 3.14	7.95 $\pm$ 3.90	11.50 $\pm$ 5.58
Eosino	1.75 $\pm$ 0.86	0.95 $\pm$ 0.72	2.25 $\pm$ 2.34	1.35 $\pm$ 0.63	1.13 $\pm$ 1.43	1.35 $\pm$ 1.08	1.50 $\pm$ 1.25	1.90 $\pm$ 1.41	1.75 $\pm$ 0.79	2.75 $\pm$ 1.32
Baso	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Mono	0.05 $\pm$ 0.16	0.00 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.16	0.15 $\pm$ 0.24	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.16	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
Lym	82.75 $\pm$ 6.75	79.40 $\pm$ 10.98	80.55 $\pm$ 6.33	82.20 $\pm$ 8.40	69.38 $\pm$ 13.98 [*]	86.25 $\pm$ 7.60	83.85 $\pm$ 10.32	87.30 $\pm$ 3.99	83.45 $\pm$ 6.94	77.38 $\pm$ 10.54
Other	0.05 $\pm$ 0.16	0.05 $\pm$ 0.16	0.00 $\pm$ 0.00	0.15 $\pm$ 0.34	0.06 $\pm$ 0.18	0.05 $\pm$ 0.16	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.16	0.00 $\pm$ 0.00

^a : Values are means $\pm$ S.D.^{*} : Differs from control (P<0.05)^{**} : Differs from control (P<0.01)

Table 5. Hematological findings in male and female rats allowed to recover for 1 month after oral administration of N-22 for 3 months.

Sex	Dose(mg/kg/day)	No. of Animals	Male				Female			
			Control		60		Control		60	
			7	7	20	7	60	7	7	
RBC	(10 ⁴ /mm ³)		775.3±30.0 ^a	778.1±34.2	795.9±36.0	777.9±54.5	721.1±18.3	710.6±41.5	718.9±31.5	725.6±36.2
Ht	(%)		44.09±1.40	43.43±1.28	44.56±2.41	42.99±2.33	43.31±0.74	41.83±1.46	41.67±1.25	41.49±1.89
Hb	(g/dl)		15.14±0.28	14.91±0.39	15.37±0.54	14.93±0.45	15.09±0.46	14.50±0.61	14.87±0.21	14.89±0.54
MCV	(μ ³)		56.7±1.3	55.7±1.6	56.1±1.2	55.3±1.6	60.1±1.7	59.0±1.6	58.0±1.6	57.3±2.1*
MCH	(γ γ)		19.6±1.0	19.3±0.8	19.4±0.5	19.3±1.0	21.1±0.7	20.4±1.4	20.6±0.8	20.4±0.5
MCHC	(%)		34.4±1.0	34.4±0.5	34.6±0.8	34.9±1.2	34.9±0.7	34.7±1.7	35.7±1.0	36.0±1.0
Retic	(%)		32.7±9.1	29.4±8.6	29.0±10.9	26.7±8.2	33.9±8.4	30.6±5.0	32.7±5.1	30.3±4.2
PLAT	(10 ⁴ /mm ³)		86.0±12.5	83.1±13.0	76.9±7.0	79.3±9.7	78.1±8.9	76.6±12.9	69.1±14.6	76.7±14.6
WBC	(10 ² /mm ³)		97.0±23.5	86.0±18.8	91.9±12.8	106.3±29.6	54.0±9.1	59.7±14.0	58.0±11.7	63.6±17.2
Hemogram(%) of WBC										
N-St			8.29±4.12	7.29±2.06	7.86±3.24	10.14±5.57	6.07±3.23	6.07±1.92	8.50±4.39	8.64±3.54
N-Seg			11.57±10.00	10.57±2.95	10.29±4.19	14.29±7.53	8.71±5.98	5.07±1.17	9.93±5.16	10.50±4.86
Eosino			1.29±0.95	1.64±0.94	1.79±1.35	1.43±1.06	1.64±0.90	1.07±0.53	1.86±1.18	1.29±0.64
Baso			0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Mono			0.14±0.24	0.14±0.24	0.07±0.19	0.07±0.19	0.00±0.00	0.07±0.19	0.00±0.00	0.07±0.19
Lym			78.71±13.55	81.71±4.41	79.93±7.82	74.00±11.80	83.57±8.20	87.57±2.39	79.57±9.12	79.36±7.64
Other			0.00±0.00	0.07±0.19	0.07±0.19	0.07±0.19	0.00±0.00	0.14±0.24	0.14±0.24	0.14±0.24

a : Values are means $\pm$ S.D.* : Differs from control ($P < 0.05$)

Table 6. Biochemical findings in male and female rats after oral administration of N-22 for 3 months.

Sex	Male						Female					
	Control			200			Control			200		
	No. of Animals	10	6	10	20	60	No. of Animals	10	6	20	60	200
Dose (mg/kg/day)												
GOT (KU)	103.8±19.5 ^a	103.4±16.4	94.0±14.5	100.2±14.1	137.9±72.3	96.1±14.7	96.5±13.3	94.1±13.5	87.9±8.7	131.8±19.8 ^{**}		
GPT (KU)	20.9±3.6	18.5±4.9	19.7±3.2	21.2±3.1	24.4±16.4	19.2±2.6	20.3±7.6	19.7±5.7	17.5±2.2	15.8±2.6		
AIP (KAU)	11.86±2.01	11.44±2.58	10.95±4.44	9.56±2.25	12.31±4.57	7.12±3.43	6.11±1.89	6.93±1.97	6.55±2.22	7.60±3.48		
LDH (WU)	1946.8±579.9	1853.5±714.6	1438.7±523.2	1870.0±527.4	2098.4±689.0	1481.1±497.0	1359.7±420.4	1493.0±468.2	1525.6±382.2	2231.5±568.8 [*]		
ChE (IU)	172.2±30.4	166.4±42.0	175.1±28.0	193.5±43.7	79.9±29.9 ^{**}	1643.9±404.0	1640.1±281.2	1627.6±221.7	1377.5±209.4	255.0±184.7 ^{**}		
GLU (mg/dl)	136.9±16.0	136.4±9.7	138.3±20.2	147.4±13.3	122.6±15.0 ^b	129.2±23.3	136.1±22.5	135.7±14.8	131.0±19.6	120.0±18.8		
T. Cho (mg/dl)	113.7±24.5	114.8±18.8	103.7±10.7	118.1±14.9	104.9±22.7	87.4±11.7	94.9±14.8	84.9±8.8	99.9±17.1	110.5±34.7		
T. Bil (mg/dl)	0.14±0.05	0.20±0.07	0.20±0.07	0.20±0.05	0.21±0.06	0.18±0.10	0.15±0.07	0.22±0.12	0.13±0.05	0.25±0.13		
BUN (mg/dl)	17.1±1.9	15.4±1.6	16.9±1.8	16.5±0.8	29.0±13.5 ^{**}	20.7±3.8	19.0±2.5	19.4±3.5	19.1±3.1	27.0±2.7 ^{**}		
CRN (mg/dl)	0.86±0.20	0.71±0.20	0.68±0.15	0.69±0.12	0.66±0.15	0.91±0.12	0.85±0.15	0.79±0.16	0.84±0.13	0.70±0.08		
UA (mg/dl)	1.22±0.30	1.15±0.36	1.09±0.18	1.14±0.19	1.81±0.49 ^{**}	1.17±0.45	0.99±0.37	1.04±0.36	1.09±0.27	2.18±0.39 ^{**}		
Na ⁺ (mEq/l)	144.5±1.6	145.8±2.0	146.1±1.4	146.0±1.2	144.6±2.2	146.2±2.3	145.5±2.1	146.3±2.2	144.9±2.4	143.0±1.4		
K ⁺ (mEq/l)	4.85±0.35	4.83±0.31	4.95±0.40	4.88±0.28	5.95±0.65 ^{**}	4.10±0.59	4.00±0.29	3.93±0.25	4.14±0.21	5.53±0.62 [*]		
Cl ⁻ (mEq/l)	99.5±3.3	97.9±3.5	92.5±5.0 ^{**}	90.1±4.9 ^{**}	89.0±6.8 ^{**}	103.0±3.4	102.9±2.4	101.6±3.0	101.9±3.3	95.3±5.9 ^{**}		
Ca ⁺⁺ (mg/dl)	10.46±0.46	10.60±0.31	10.12±0.22	10.04±0.26 [*]	9.16±0.93 ^{**}	11.09±0.60	10.71±0.46	10.79±0.34	10.68±0.35	10.58±0.38		
I-P (mg/dl)	7.46±0.80	7.17±0.70	7.26±0.58	7.34±0.73	8.68±1.32 [*]	6.22±0.87	5.92±1.00	6.00±1.00	6.05±0.98	7.00±0.87		
TP (g/dl)	5.66±0.34	5.84±0.28	5.69±0.16	5.83±0.34	4.40±1.07 ^{**}	5.92±0.48	5.96±0.29	5.99±0.32	5.98±0.26	4.78±0.43 ^{**}		
A/G	0.706±0.070	0.697±0.066	0.712±0.030	0.714±0.056	0.626±0.126	0.746±0.043	0.749±0.055	0.773±0.046	0.718±0.075	0.593±0.040 ^{**}		
Alb (g/dl)	2.33±0.09	2.39±0.11	2.36±0.05	2.42±0.10	1.73±0.58 ^{**}	2.53±0.27	2.55±0.21	2.61±0.14	2.49±0.14	1.78±0.22 ^{**}		

a : Values are means ± S.D.

b : Seven animals were examined.

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 7. Biochemical findings in male and female rats allowed to recover for 1 month after oral administration of N-22 for 3 months.

Sex	Dose(mg/kg/day)	No. of Animals	Male			Female			
			Control	6	20	60	Control	6	20
			7	7	7	7	7	7	7
GOT (KU)	97.3±21.4 ^a	87.6±16.8	96.4±33.6	95.4±21.0	99.6±23.6	154.6±150.8	90.9±15.8	96.0±27.7	
GPT (KU)	22.4±4.7	19.0±2.2	26.1±13.2	24.9±9.2	25.6±13.3	44.9±46.6	18.6±8.4	22.4±13.1	
ALP (KAU)	10.94±2.00	11.00±3.04	9.26±1.73	10.43±2.31	8.81±2.99	9.10±3.77	6.29±1.61	7.14±1.99	
LDH (WU)	1798.9±604.6	1570.9±544.3	1336.4±544.4	1418.1±471.5	1450.0±651.0	1292.4±532.5	1546.4±495.8	1471.7±476.1	
ChE (IU)	213.9±77.0	261.4±55.7	224.4±27.3	190.1±37.6	1882.0±215.2	1722.6±468.2	1601.1±323.2	1676.9±398.5	
GLU (mg/dl)	142.1±16.2	149.3±22.9	148.9±21.8	134.9±13.4	116.6±17.4	128.7±17.8	119.1±21.1	130.0±20.0	
T.Cho (mg/dl)	96.1±12.4	102.3±18.5	96.1±15.9	79.0±12.9	79.1±17.0	78.1±11.0	88.0±16.2	92.1±20.0	
T.Bil (mg/dl)	0.31±0.04	0.31±0.04	0.33±0.08	0.36±0.05	0.37±0.05	0.41±0.07	0.37±0.10	0.44±0.16	
BUN (mg/dl)	18.3±2.1	19.9±1.8	18.1±2.5	18.9±2.3	20.6±1.7	21.1±2.7	19.7±2.1	18.3±1.9	
CRN (mg/dl)	0.77±0.05	0.80±0.08	0.74±0.05	0.76±0.05	0.79±0.09	0.80±0.06	0.77±0.08	0.80±0.06	
UA (mg/dl)	1.19±0.32	1.27±0.30	1.00±0.20	0.93±0.15	1.20±0.18	1.17±0.28	1.39±0.30	1.61±0.38*	
Na ⁺ (mEq/l)	145.1±1.1	144.6±1.1	144.7±1.3	143.0±1.2**	144.9±1.8	143.0±1.0	144.0±1.4	143.3±2.1	
K ⁺ (mEq/l)	4.71±0.22	4.69±0.32	4.77±0.26	5.10±0.29*	3.87±0.45	3.67±0.34	3.87±0.26	3.97±0.31	
Cl ⁻ (mEq/l)	99.4±1.0	99.3±1.0	100.1±0.9	98.4±3.0	102.4±1.3	102.4±1.3	101.9±0.9	101.1±1.5	
Ca ⁺⁺ (mg/dl)	8.44±0.25	8.36±0.18	8.29±0.13	7.97±0.33**	8.80±0.56	8.63±0.14	8.40±0.59	8.19±0.35	
I-P (mg/dl)	7.63±0.53	7.27±0.45	7.37±0.66	7.86±0.76	5.89±0.72	5.63±0.74	5.91±0.61	6.06±0.90	
TP (g/dl)	6.53±0.30	6.46±0.25	6.36±0.28	6.74±0.22	6.34±0.34	6.23±0.11	6.27±0.35	6.43±0.35	
A/G	0.674±0.071	0.707±0.026	0.706±0.042	0.606±0.052*	0.849±0.058	0.857±0.054	0.820±0.085	0.813±0.100	
Alb (g/dl)	2.61±0.09	2.67±0.08	2.63±0.05	2.54±0.11	2.90±0.10	2.87±0.10	2.81±0.13	2.87±0.23	

a : Values are means ± S. D.

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 8. Absolute organ weights in male and female rats after oral administration of N-22 for 3 months.

Group		Control	N-22			
Dose			6mg/kg	20mg/kg	60mg/kg	200mg/kg
No. of animals		10	10	10	10	8
Male	Body weight (g)	465.2±23.7 ^a	468.6±36.9	461.9±40.1	471.1±44.9	343.5±97.4 ^{**}
	Brain (g)	2.239±0.032	2.241±0.099	2.272±0.059	2.268±0.081	2.145±0.115
	Hypophysis (mg)	12.98±0.84	12.53±1.72	11.67±0.85	12.74±1.07	11.31±2.90
	Thymus (mg)	363.7±98.2	352.9±104.8	368.2±62.2	391.5±133.6	239.1±143.9
	Heart (g)	1.330±0.078	1.335±0.099	1.364±0.076	1.320±0.175	1.234±0.171
	Lung (g)	1.469±0.099	1.531±0.281	1.529±0.359 ^b	1.509±0.159	1.599±0.267
	Liver (g)	11.872±0.877	11.953±1.491	11.581±1.225	12.605±1.610	10.998±2.098
	Spleen (g)	0.799±0.087	0.754±0.061	0.825±0.110	0.856±0.109	1.214±0.401 ^{**}
	Kidney-R (g)	1.482±0.152	1.594±0.142	1.451±0.124	1.501±0.143	1.311±0.259
	Kidney-L (g)	1.444±0.112	1.535±0.172	1.454±0.140	1.448±0.166	1.243±0.243
	Adrenal-R (mg)	31.2±4.2	29.5±3.6	28.8±3.7	32.1±3.9	37.1±7.1 [*]
	Adrenal-L (mg)	32.0±2.9	31.6±4.7	31.6±5.9	33.3±3.6 ^b	37.1±7.9
	Testis-R (g)	1.993±0.142	1.938±0.095	1.894±0.106	1.990±0.128	1.766±0.449
	Testis-L (g)	2.026±0.137	1.964±0.103	1.935±0.117	2.027±0.100	1.793±0.456
Group		Control	N-22			
Dose			6mg/kg	20mg/kg	60mg/kg	200mg/kg
No. of animals		10	10	10	10	4
Female	Body weight (g)	266.1±14.4 ^a	280.7±24.9	269.3±16.7	276.7±17.0	222.3±21.3 ^{**}
	Brain (g)	2.064±0.078	2.098±0.085	2.072±0.135	2.083±0.082	2.053±0.046
	Hypophysis (mg)	13.21±1.76	15.06±1.69	13.58±1.30	15.08±2.27	12.20±2.07
	Thymus (mg)	311.3±26.1	342.3±82.7	297.6±61.4	282.5±51.5	246.3±86.7
	Heart (g)	0.907±0.064	0.904±0.061	0.904±0.127	0.922±0.053	0.815±0.065
	Lung (g)	1.099±0.092	1.189±0.197	1.067±0.108	1.115±0.134	1.060±0.050
	Liver (g)	6.499±0.630	6.959±0.827	6.571±0.590	6.704±0.363	7.903±0.734 ^{**}
	Spleen (g)	0.533±0.074	0.594±0.076	0.529±0.071	0.602±0.062	1.263±0.576 ^{**}
	Kidney-R (g)	0.861±0.068	0.899±0.066	0.864±0.073	0.884±0.055	0.905±0.136
	Kidney-L (g)	0.827±0.090	0.855±0.055	0.820±0.035	0.862±0.054	0.873±0.155
	Adrenal-R (mg)	31.7±4.9	35.2±7.4	33.2±6.3	36.3±6.5	38.0±3.6
	Adrenal-L (mg)	32.1±4.5	36.1±6.7	34.8±5.2	36.9±5.3	38.8±3.3
	Ovary-R (mg)	50.2±11.2	49.1±6.2	54.1±12.0	56.1±11.0	40.5±16.1
	Ovary-L (mg)	58.0±9.7	54.2±7.2 ^b	52.2±13.4	53.4±7.2	47.3±21.1
	Uterus (g)	0.730±0.224	0.733±0.133 ^b	0.806±0.224	0.614±0.124	0.525±0.299

a : Values are means ± S.D.

b : Nine animals were examined.

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

Table 9. Relative organ weights in male and female rats after oral administration of N-22 for 3 months.

Group		Control	N-22			
Dose			6mg/kg	20mg/kg	60mg/kg	200mg/kg
No. of animals		10	10	10	10	8
Male	Brain (%)	0.482±0.027 ^a	0.479±0.038	0.495±0.037	0.484±0.045	0.685±0.251**
	Hypophysis (%/10 ³)	2.80±0.19	2.66±0.28	2.55±0.17	2.72±0.29	3.35±0.39**
	Thymus (%/10 ³)	78.11±20.16	75.10±20.93	79.37±8.30	82.70±23.86	63.06±31.24
	Heart (%)	0.286±0.013	0.285±0.021	0.296±0.026	0.279±0.026	0.381±0.097**
	Lung (%)	0.314±0.012	0.327±0.061	0.337±0.090 ^b	0.322±0.027	0.530±0.268**
	Liver (%)	2.554±0.180	2.547±0.187	2.507±0.128	2.670±0.152	3.383±0.952**
	Spleen (%)	0.172±0.019	0.160±0.016	0.181±0.023	0.183±0.025	0.404±0.237**
	Kidney-R (%)	0.320±0.034	0.341±0.016	0.313±0.019	0.319±0.023	0.399±0.078*
	Kidney-L (%)	0.311±0.025	0.328±0.021	0.316±0.017	0.309±0.026	0.376±0.081*
	Adrenal-R (%/10 ³)	6.73±0.86	6.33±0.93	6.26±0.87	6.88±1.20	12.56±7.21**
	Adrenal-L (%/10 ³)	6.89±0.60	6.77±1.03	6.85±1.07	6.90±1.18	12.63±7.52**
	Testis-R (%)	0.430±0.034	0.415±0.030	0.412±0.044	0.426±0.048	0.523±0.064**
	Testis-L (%)	0.435±0.031	0.420±0.027	0.422±0.048	0.433±0.043	0.530±0.066**
Group		Control	N-22			
Dose			6mg/kg	20mg/kg	60mg/kg	200mg/kg
No. of animals		10	10	10	10	4
Female	Brain (%)	0.777±0.053	0.751±0.068	0.772±0.063	0.755±0.034	0.928±0.094**
	Hypophysis (%/10 ³)	4.97±0.58	5.38±0.65	5.05±0.41	5.48±0.85	5.45±0.48
	Thymus (%/10 ³)	117.33±11.83	122.81±29.77	110.61±22.45	101.94±15.80	110.95±39.00
	Heart (%)	0.340±0.030	0.323±0.028	0.336±0.032	0.333±0.016	0.370±0.049
	Lung (%)	0.411±0.029	0.429±0.104	0.395±0.027	0.403±0.043	0.483±0.057
	Liver (%)	2.441±0.191	2.475±0.114	2.438±0.125	2.428±0.114	3.595±0.603**
	Spleen (%)	0.200±0.019	0.212±0.022	0.196±0.020	0.218±0.022	0.588±0.318**
	Kidney-R (%)	0.325±0.026	0.321±0.021	0.320±0.021	0.320±0.031	0.405±0.024**
	Kidney-L (%)	0.310±0.031	0.305±0.018	0.306±0.020	0.312±0.026	0.393±0.032**
	Adrenal-R (%/10 ³)	11.93±1.98	12.55±2.35	12.30±2.12	13.18±2.59	17.18±1.92**
	Adrenal-L (%/10 ³)	12.05±1.38	12.91±2.34	12.92±1.78	13.37±1.99	17.60±2.79**
	Ovary-R (%/10 ³)	18.86±3.83	17.56±2.13	19.98±3.49	20.27±3.66	18.00±6.13
	Ovary-L (%/10 ³)	21.84±3.50	19.36±2.35 ^b	19.28±4.42	19.32±2.46	21.03±8.69
	Uterus (%)	0.275±0.080	0.261±0.043 ^b	0.302±0.090	0.223±0.044	0.230±0.105

a : Values are means ± S.D.

b : Nine animals were examined.

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 10. Absolute organ weights in male and female rats allowed to recover for 1 month after oral administration of N-22 for 3 months.

Group		Control		N-22	
Dose					
No. of animals		7		7	
Male	Body weight (g)	507.0±32.2 ^a	517.9±49.5	533.9±42.1	494.6±24.4
	Brain (g)	2.316±0.127	2.363±0.072	2.283±0.086	2.289±0.107
	Hypophysis (mg)	13.17±2.33	13.10±1.20	15.71±1.61	13.77±3.22 ^b
	Thymus (mg)	264.1±71.4	271.0±84.9	325.7±96.2	239.7±27.0
	Heart (g)	1.413±0.048	1.363±0.128	1.557±0.177	1.351±0.125
	Lung (g)	1.407±0.064	1.429±0.111	1.647±0.168*	1.517±0.188
	Liver (g)	12.597±0.859	12.420±2.142	13.274±1.857	11.916±1.162
	Spleen (g)	0.830±0.034	0.799±0.107	0.846±0.100	0.867±0.060
	Kidney-R (g)	1.417±0.140	1.406±0.242	1.569±0.132	1.520±0.156
	Kidney-L (g)	1.349±0.107	1.411±0.236	1.514±0.144	1.463±0.135
	Adrenal-R (mg)	24.4±2.3	26.1±3.0	30.6±3.4*	30.0±5.4*
	Adrenal-L (mg)	25.6±3.6	26.7±3.8	28.9±4.6	32.4±4.1*
	Testis-R (g)	1.856±0.121	1.934±0.080	2.051±0.216	2.020±0.092
	Testis-L (g)	1.900±0.126	1.954±0.099	2.056±0.177	2.080±0.066*
Group		Control		N-22	
Dose					
No. of animals		7		7	
Female	Body weight (g)	276.1±24.2	279.0±17.4	266.9±19.9	299.1±31.0
	Brain (g)	2.046±0.098	2.133±0.028	2.120±0.084	2.149±0.101
	Hypophysis (mg)	16.24±4.06	17.01±2.57	16.93±2.91	14.54±2.32
	Thymus (mg)	244.0±67.7	264.6±55.9	221.3±47.5	271.1±81.7
	Heart (g)	0.824±0.055	0.860±0.063	0.830±0.082	0.927±0.114
	Lung (g)	1.006±0.055	1.083±0.088	1.036±0.104	1.200±0.260 ^b
	Liver (g)	6.216±0.504	6.519±0.407	6.553±0.668	6.869±0.680
	Spleen (g)	0.524±0.084	0.539±0.041	0.534±0.079	0.581±0.094
	Kidney-R (g)	0.839±0.072	0.859±0.081	0.861±0.108	0.897±0.125
	Kidney-L (g)	0.823±0.057	0.808±0.057 ^b	0.830±0.109	0.909±0.160
	Adrenal-R (mg)	31.1±6.1	30.3±2.8	32.6±5.6	30.9±6.8
	Adrenal-L (mg)	33.1±3.8	30.5±3.7 ^b	33.4±4.6	28.9±5.0
	Ovary-R (mg)	43.6±10.5	47.4±5.5	44.6±9.7	48.0±9.8
	Ovary-L (mg)	48.7±8.8	44.3±6.3	46.7±11.5	48.0±11.5
	Uterus (g)	0.750±0.277	0.637±0.154	0.614±0.215	0.671±0.234

a : Values are means ± S.D.

b : Six animals were examined.

* : Differs from control (P<0.05)

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

Table 11. Relative organ weights in male and female rats allowed to recover for 1 month after oral administration of N-22 for 3 months.

Group		Control	N-22		
Dose			6mg/kg	20mg/kg	60mg/kg
No. of animals		7	7	7	7
Male	Brain (%)	0.459±0.030 ^a	0.459±0.045	0.430±0.040	0.464±0.031
	Hypophysis (%/10 ³)	2.59±0.42	2.54±0.32	2.96±0.28	2.78±0.67 ^b
	Thymus (%/10 ³)	52.87±16.84	52.29±15.70	60.39±13.87	48.71±7.00
	Heart (%)	0.280±0.022	0.264±0.019	0.291±0.028	0.273±0.017
	Lung (%)	0.279±0.018	0.277±0.014	0.307±0.026	0.306±0.027
	Liver (%)	2.489±0.140	2.384±0.228	2.479±0.202	2.407±0.169
	Spleen (%)	0.164±0.014	0.156±0.026	0.160±0.017	0.174±0.017
	Kidney-R (%)	0.280±0.031	0.269±0.029	0.294±0.020	0.307±0.026
	Kidney-L (%)	0.267±0.021	0.273±0.030	0.283±0.026	0.296±0.025
	Adrenal-R (%/10 ³)	4.83±0.35	5.04±0.46	5.73±0.65**	6.07±1.15**
	Adrenal-L (%/10 ³)	5.09±0.81	5.19±0.77	5.44±1.12	6.59±0.94*
	Testis-R (%)	0.367±0.023	0.376±0.037	0.389±0.066	0.409±0.023
	Testis-L (%)	0.377±0.028	0.381±0.038	0.387±0.058	0.423±0.017**
Group		Control	N-22		
Dose			6mg/kg	20mg/kg	60mg/kg
No. of animals		7	7	7	7
Female	Brain (%)	0.746±0.070	0.767±0.045	0.797±0.064	0.723±0.070
	Hypophysis (%/10 ³)	5.99±1.86	6.09±0.68	6.34±0.99	4.90±0.80
	Thymus (%/10 ³)	88.00±21.24	94.54±17.73	83.61±20.10	89.76±21.76
	Heart (%)	0.299±0.020	0.307±0.016	0.311±0.023	0.309±0.023
	Lung (%)	0.366±0.021	0.389±0.030	0.390±0.051	0.402±0.047 ^b
	Liver (%)	2.256±0.132	2.339±0.115	2.451±0.076**	2.299±0.094
	Spleen (%)	0.190±0.026	0.193±0.022	0.200±0.025	0.194±0.028
	Kidney-R (%)	0.304±0.028	0.310±0.033	0.323±0.031	0.301±0.022
	Kidney-L (%)	0.300±0.033	0.293±0.030 ^b	0.313±0.034	0.303±0.028
	Adrenal-R (%/10 ³)	11.30±2.15	10.90±1.21	12.37±2.74	10.31±2.01
	Adrenal-L (%/10 ³)	12.07±1.76	11.13±1.80 ^b	12.63±2.28	9.66±1.35
	Ovary-R (%/10 ³)	15.90±4.32	17.07±2.23	16.81±4.04	16.03±2.90
	Ovary-L (%/10 ³)	17.70±3.21	15.90±2.05	17.59±4.37	15.93±2.88
	Uterus (%)	0.279±0.112	0.231±0.059	0.231±0.082	0.227±0.092

a : Values are means ± S.D.

b : Six animals were examined.

* : Differs from control (P<0.05)

** : Differs from control (P<0.01)

Table 12. Histopathological findings in male and female rats after oral administration of N-22 for 3 months.

Organ	Findings	Dose (mg/kg)	Male						Female					
			Control			200 (Alive)			Control			200 (Alive)		
			No. of Animals	6	20	60	200 (Alive)	200 (Dead)	No. of Animals	6	20	60	200 (Alive)	200 (Dead)
Liver	Atrophy of hepatocytes (scattered)							4						7
	Necrosis of hepatocytes						1							1
	Small granuloma	1 ^a					2					2		1
	Swelling of Kupffer cells							2			1			4
	Cellular infiltration in Glisson's capsule		1	1		2	2					1	1	
	Congestion							4						1
	Inflammation in serous membrane							5						5
Kidney	Basophilic degeneration of tubular epithelium				1		1						2	
	Dilatation of tubules				1		2							
	Dilatation of renal pelvis						1							
	Cellular infiltration		1		2									
	Congestion							4		1				1
	Calcium deposition					1						1		1
	Cyst formation		1								1			
Spleen	Inflammation in serous membrane							2						
	Hemosiderin deposition													0(9)
	Extramedullary hematopoiesis						7	8		5	7	7	3	9(9)
	Focal myocarditis		1		1									1
	Inflammation in epicardium						1	2						5
	Thickening of alveolar wall		4	8	9	8	5	3		9	8	8	2	3
	Congestion							3						2
Lung	Increase of macrophage			2	2	1				2				1
	Edema							2						2
	Inflammation in pleura						1	2					1	5
	Congestion				1		0(7)	1(8)		2	4			3(11)
	Cyst formation		1				0(7)	0(8)			1		1 ^b	0(11)
	Diffused degeneration						2	7						12
	Vacuole formation in glandular cells						1	1						1
Thymus	Inflammation in serous membrane						1	9						13
	Atrophy of cortex						3	5(6)						9(9)
	Atrophy of medulla						2	2(6)						9(9)
	Hemorrhage				1		1	3(6)			1	2		1(9)

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

Mesenteric lymph node	Hyperplasia of lymph follicle	0(9)	5	3(7)	3	8(12)
	Swelling of endothelial cells	0(9)	6	7(7)	1	10(12)
	Swelling of reticulum cells	0(9)	4	5(7)	1	7(12)
	Hemorrhage	0(9)	1	2(7)	1	0(12)
	Infiltration of neutrophilic cells	0(9)	2	5(7)	2	5(12)
	Hyperplasia of plasma cells	0(9)	6	6(7)	4	10(12)
	Inflammation in serous membrane	0(9)		6(7)	2	11(12)
Glandular stomach	Ulcer			1(8)		1(12)
	Cellular infiltration					1(12)
Duodenum	Ulcer			1(7)		3(12)
	Cellular infiltration			1(7)		2(12)
	Congestion			3(7)		1(12)
Jejunum	Ulcer		3	8	0(9)	13
	Cellular infiltration		3	8	0(9)	11
	Congestion			2	0(9)	4
	Increase in connective tissue		2	4	0(9)	7
Ileum	Ulcer		4	7(8)		3
	Cellular infiltration		5	4(8)		3
	Congestion			1(8)		1(11)
	Increase in connective tissue		4	5(8)		3
Cecum	Cellular infiltration		1	1(5)	0(9)	0(9)
	(Sternum) Fatty vacuoles	10	10	10	8	10
	(Lumbar vertebra) Fatty vacuoles	10	10	10	9	10
	(Femur) Fatty vacuoles	10	10	10	10	10
Urinary bladder	Degeneration of mucous epithelium		1	0(2)	2	0(8)
Testis	Degeneration of spermatogenic cells		3	1		
Epididymis	Decrease of sperm in ducts		1			
Prostate	Atrophy		2	4(6)		
Seminal vesicle	Atrophy		2	4(6)		
Uterus	Dilatation of cavity			4	4	5
	Endometriosis				1	1
	Endometrial polyp				1	

a : Values are no. of animals.
b : Hyperplasia of acinus.
c : In serous membrane.
() : No. of animals examined.

Table 13. Histopathological findings in male and female rats allowed to recover for 1 month after oral administration of N-22 for 3 months.

Organ	Findings	Dose (mg/kg) No. of Animals	Male				Female			
			Control	6	20	60	Control	6	20	60
Liver	Small granuloma									
	Cellular infiltration in Glisson's capsule									
Kidney	Urinary cast									
	Calcium deposition									
Spleen	Hemosiderin deposition									
Lung	Focal myocarditis									
	Thickening of alveolar wall									
	Increase of macrophage									
	Calcium deposition in venous wall									
	Inflammation in pleura									
	Bronchopneumonia									
	Interstitial pneumonia									
Hypophysis	Congestion									
	Cyst formation									
Pancreas	Focal degeneration									
Thymus	Hemorrhage									
Mesenteric lymph node	Infiltration of neutrophilic cells									
	Hyperplasia of plasma cells									
Glandular stomach	Congestion									
Jejunum	Congestion									
Ileum	Congestion									
Bone marrow	(Sternum) Fatty vacuoles									
	(Lumbar vertebra) Fatty vacuoles									
	(Femur) Fatty vacuoles									
Urinary bladder	Degeneration of mucous epithelium									
Uterus	Dilatation of cavity									

^a: Values are no. of animals.

(): No. of animals examined.

1) 死亡動物

死亡例では雌雄に共通して空腸および回腸の潰瘍 (Photo 1), うっ血および細胞浸潤, 胸腺の萎縮, 肺のうっ血, 水腫および肺胞壁肥厚, 脾の被膜炎あるいはびまん性の腺細胞変性, 脾の髄外造血亢進, 肝の肝細胞萎縮および被膜炎, 腸間膜リンパ節の洞内皮および細網細胞の腫大あるいは形質細胞の増加を伴ったリンパ濾胞の過形成および被膜炎などを認めたほか, 雄では精嚢あるいは前立腺の萎縮がみられた。

Photo. 1. Jejunum of a male rat demonstrating ulceration, cellular infiltration, congestion and increase in connective tissue. The rat was treated orally with 200 mg/kg of N-22 for 13 weeks. H. E. staining, $\times 20$.

2) 13週解剖群

200mg/kg群の雌雄の少数例に上記死亡動物にみられた空腸, 回腸 (Photo 2, 3), 胸腺, 肺, 脾, 脾, 腸間膜リンパ節などの変化が軽度にもみられた。そのほか対照群を含む雄または雌の各群に肺胞壁の肥厚, 骨髄の脂肪空胞増加, 肝の小結節, 脾のヘモジデリン沈着, 子宮内腔の拡張などがみられた。

3) 回復群

対照群を含む雄あるいは雌の各群に肺胞壁の肥厚, 脾のヘモジデリン沈着, 骨髄の脂肪空胞, 下垂体のうっ血, 子宮内腔の拡張などがみられた。

Photo. 2. Ileum of a male rat demonstrating ulceration, cellular infiltration, congestion and increase in connective tissue. The rat was treated orally with 200 mg/kg of N-22 for 13 weeks. H. E. staining, $\times 20$.

Photo. 3. Ileum of a female rat demonstrating ulceration, cellular infiltration, and increase in connective tissue. The rat was treated orally with 200 mg/kg of N-22 for 13 weeks. H. E. staining, $\times 20$.

総括および考察

ラットにN-22の200, 60, 20および6 mg/kgを3カ月間連続経口投与し、その亜急性毒性および回復性を検討した。

一般状態の観察では最高用量群の200mg/kg群で雌雄とも投与3週間より口・鼻周囲の汚染、立毛、貧血、下痢、消瘦、自発運動の減少などを示すようになり、雄は投与4週間より、雌は投与6週間より摂餌量の減少および体重の増加抑制が、さらに雄では投与7週間より摂水量の増加がみられ始めた。上記諸症状を呈した例のうち雄9例、雌13例が投与4～13週に死亡した。死亡例では死亡前に血液を混じた下痢の排泄がみられ、病理学的に空腸および回腸では穿孔性潰瘍とそれに付随した混濁腹水、腹腔内諸臓器の癒着のほか、胸水の貯留、胸腔内臓器の癒着など胸膜炎がみられ、さらに胸腺の萎縮、肺のうっ血・水腫、脾の髄外造血亢進などが確認された。これらの結果から、その死因は消化管障害に付随した一般状態の悪化による衰弱死が推察された。非ステロイド系抗炎症薬はその投与により消化管潰瘍を誘発することは既に多数報告されている (Brodie et al., 1970; Shriver et al., 1975; Cioli et al., 1979; Diamantis et al., 1980)。本試験で確認されたほとんどの例の消化管潰瘍は空腸および回腸に発生しており、先に実施した急性毒性試験結果 (Sato et al., 1990) と同様、本剤のラットにおける潰瘍性病変の好発部位は小腸、特に空腸および回腸であることが示された。

尿検査では20mg/kg以上の群の雄にpHの低下と60mg/kg以上の群の雄にウロビリノーゲンの陽性化がみられた。また、血液生化学的検査では20mg/kg以上の群の雄にCl⁻の減少が、60mg/kg以上の群の雄にCa⁺⁺の減少が、さらに200mg/kg群にChE, TPおよびAlbの減少、BUN, UA, K⁺の増加などのほかGOT, LDH活性の上昇がみられた。一般に非ステロイド系抗炎症薬では消化管障害のほかに肝および腎障害が知られており (本間, 1980; 入交, 1982), 上記検査値は本剤の肝あるいは腎への影響を示唆する所見と考えられた。しかしながら、肝および腎では臓器重量あるいは相対重量の軽度増加がみられたのみであり、病理学的検査において肝あるいは腎障害を示唆する変化は認められていない。従って、上記検査値の変動は消化管の潰瘍性病変による一般状態の悪化あるいは衰弱に基づく変化と推察された。また、血液学的検査では200mg/kg群で赤血球系の減少と網状赤血球率あるいは好中球率の増加がみられ、病理学的にも髄外造血の亢進を伴った脾腫などが観察されたほか、諸臓器の褪色、腸間膜リンパ節の濾胞の過形成および形質細胞の増生を伴う腫大、腹腔内諸臓器の被膜の炎症性変化がみられるなど、消化管潰瘍による失血および強度の炎症反応により上記血液学的変化が招来されたものと推察された。

そのほか200mg/kg群では脾、副腎の重量ないし相対重量の増加、雄の精囊および前立腺の萎縮なども認められたが、いずれも本剤投与による直接的な障害というよりはむしろ二次的な要因によるものと推察された。

以上のように、N-22の3カ月間の経口投与により観察された主な毒性所見は消化管障害

であり、同変化は雌雄とも200mg/kg群では明らかであった。しかし、上記諸変化は1カ月間の休薬によりいずれも回復ないし回復傾向がみられ、可逆的な変化であることが示された。

以上の結果から、N-22のラットを用いた3カ月間亜急性毒性試験における無影響量は雄が6 mg/kg、雌が60mg/kg、また、確実中毒量は雌雄とも200mg/kgと推定された。

要 約

ラットにN-22の200, 60, 20および6 mg/kgを3カ月間連続経口投与し、その亜急性毒性および回復性について検討を行い、以下の知見を得た。

1. 一般状態の観察では200mg/kg群に口・鼻周囲の汚染、立毛、貧血、下痢、消瘦、自発運動の減少などがみられた。死亡は200mg/kg群の雄9例、雌13例で投与4～13週にみられ、血液を混じた下痢の排泄を呈し衰弱死した。
2. 摂餌量の減少および体重の増加抑制が200mg/kg群の雄では投与4週頃、雌では投与6週頃より、さらに摂水量の増加が200mg/kg群の雄で投与7週頃よりみられた。
3. 尿検査では20mg/kg以上の群の雄にpHの低下が、60mg/kg以上の群の雄にウロビリノーゲンの陽性化がみられた。
4. 血液学的検査では200mg/kg群の雌雄にRBC、Ht値、Hb量の減少と網状赤血球率の増加が、雄に好中球率の増加がみられた。
5. 血液生化学的検査では20mg/kg以上の群の雄にCl⁻の減少が、60mg/kg以上の群の雄にCa⁺⁺の減少が、また、200mg/kg群の雌雄にChE、TP、Albの減少、BUN、UA、K⁺の増加、雌にGOT、LDH活性の上昇がみられた。
6. 臓器重量では200mg/kg群に肝、腎、脾、副腎の重量あるいは相対重量の軽度増加がみられた。
7. 病理学的検査では200mg/kg群の死亡例に空腸および回腸の穿孔性潰瘍とそれに付随した混濁腹水、腹腔内諸臓器の癒着と被膜の炎症性変化、脾腫、腸間膜リンパ節の腫大、さらに胸腔内臓器の炎症性変化などがみられた。200mg/kg群の生存例では少数例ないし約半数例に死亡例と同様の諸変化が軽度に認められた。
8. 上記諸変化は1カ月間の休薬によりいずれも回復ないし回復傾向を示し、可逆性の変化であった。
9. 本試験における無影響量は雄が6 mg/kg、雌が60mg/kg、確実中毒量は雌雄とも200mg/kgと推定された。

文 献

- Brodie, D. A., Cook, P. G., Bauer, B. J., et al. (1970) : Indomethacin-induced intestinal lesions in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **17**, 615—624.
- Cioli, V., Putzolu, S., Rossi, V., et al. (1979) : The role of direct tissue contact in the production

Subacute toxicity study of mofezolac (N-22) in rats

of gastrointestinal ulcers by anti-inflammatory drugs in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **50**, 283–289.

Diamantis, W., Melton, J., Sofia, R. D., et al. (1980) : Comparative gastric ulcerogenic effects of meseclazone, 5-chlorosalicylic acid and other nonsteroidal antiinflammatory drugs following acute and repeated oral administration to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 454–461.

本間 光夫 (1980) : 抗炎症剤の副作用発現傾向について. *医薬品研究*, **11**, 529–541.

入交昭一郎 (1982) : 非ステロイド剤の種類と特徴. “炎症と抗炎症療法” 水島 裕, 塩川優一 編集, p.305–313. 医歯薬出版, 東京.

Satoh, K., Yamamoto, N., Kuwasaki, E., et al. (1990) : Acute toxicity tests of mofezolac (N-22) in mice and rats. *J. Toxicol. Sci.*, **15**, Suppl. II, 1 – 9.

Shriver, D. A., White, C. B., Sandor, A., et al. (1975) : A profile of the rat gastrointestinal toxicity of drugs used to treat inflammatory diseases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **32**, 73 – 835.