

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

5) ヒトリンパ球の染色体異常頻度を指標とする *in vitro* 細胞遺伝学的試験

(資料 No.25)

検体の純度： アシュラム

[申請者注]酸としてのアシュラムを指す

試験方法：培養したヒトリンパ球を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下での検体の染色体異常誘発性を調べた。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S-9 Mix 非存在下で 125、250、500 及び 1000 µg/mL、S-9 Mix 存在下で 1000、1500、2000 及び 2500 µg/mL の各 4 用量とした。S-9 Mix 非存在下では、PHA 入り培養液で 24 時間培養後に検体等の処理を行った。検体処理開始 49 時間後にコルセミド含有新鮮培養液に交換してから 2 時間後に標本を作製した。S-9 Mix 存在下では、24 時間培養後に遠心分離により細胞を集め、牛胎児血清なしの培養液で再懸濁させてから 60 分間検体等の処理を行った。洗浄した細胞を新鮮な培養液に交換してから 49 時間後に標本を作製した。リンパ球は低張 KCl で処理して集め、スライドガラス上に滴下した。観察は 50 個ずつの分裂中期細胞について各濃度で 2 回行った。

試験結果：染色体異常検査結果を次ページの表に示す。

S-9 Mix 非存在下で、最高濃度の 1000 µg/mL では細胞毒性のため 100 細胞が得られなかった。陰性対照と溶媒対照の染色体異常頻度は背景値の範囲内であり、陽性対照の Mitomycin C では有意な染色体異常増加が認められた。検体処理により、細胞毒性のみられた 1000 µg/mL でも染色体異常増加は観察されず、正の用量相関もみられなかったことから、染色体異常誘発は陰性であった。

S-9 Mix 存在下では、陰性対照と溶媒対照の染色体異常頻度は背景値の範囲内であり、陽性対照の Cyclophosphamide では有意な染色体異常増加が認められた。従って S-9 Mix 存在下でも検体の染色体異常誘発は陰性であった。

以上の結果より、本検体の染色体異常誘発性は陰性であると結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表1 染色体異常試験結果のまとめ

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S-9Mix	観察 細胞 数	染色分体						染色体					その他			異常数 /細胞	異常保 有細胞 (%)	2以上の 異常保 有細胞 (%)		
				TB	TD	F	TR	QR	CR	SB	AF	D	R	MT	PU	E	他					
陰性 対照	-	-	100																			
溶媒 対照 (DMSO)	(1%)	-																				
MC	0.2	-	23																			
検体	125	-	100																			
	250	-	100																			
	500	-	100																			
	1000	-	34																			
陰性 対照	-	+	100																			
溶媒 対照 (DMSO)	(1%)	+																				
Cyc	50	+	50																			
検体	1000	+	100																			
	1500	+	100																			
	2000	+	100																			
	2500	+	100																			

a : 細胞毒性あり

\*\* : (対照+DMSO) と比較して  $p < 0.01$  の有意差あり

MC : Mitomycin C

Cyc : Cyclophosphamide

染色体異常略称説明 :

TB: Chromatid break

TD: Chromatid deletion

F: Chromatid fragment

TR: Triradical

QR: Quadriradical

CR: Complex rearrangement

SB: Chromosome break

AF: Acentric fragment

D: Dicentric

R: Ring

MT: Minute chromosome

PU: Pulverized chromosome

E: Endoreduplication

ID: Interstitial deletion

DM: "Double minute" fragment



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

6) マウスを用いた小核試験

(資料 No. 26)

検体の純度： アシュラム-Na

供試動物： Hsd/Win:NMRI 系雄マウス、試験開始時 6-12 週齢・体重範囲 36~43 g、1 群雄 5 匹

試験方法： 検体を脱イオン水に溶解し、0、1000、2000 及び 4000 mg/kg を 24 時間間隔で 2 回腹腔内投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。2 回投与終了 24 時間後に動物を屠殺して各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上に塗抹した (Schmid 法)。一夜室温乾燥後 Ames Hema-Tek Slide Stainer を用いて自動染色した。陽性対照群には生理食塩水に溶解した Cyclophosphamide を 20 mg/kg、溶媒対照群には脱イオン水 10 mL/kg を同様に投与した。観察は光学顕微鏡の約 1000 倍の倍率でコード番号付けしたスライドで行い、各標本について 1 個体あたり 2000 個の多染性赤血球をカウントし、その中の小核を有する多染性赤血球の出現頻度を求めた。同時に多染性赤血球 2000 個当たりの正染性赤血球数もカウントし、小核を有する正染性赤血球の出現頻度も求めた。後者は試験開始前からあった障害動物の検出と、小核保有多染性赤血球と考え合わせて陽性対照の時間-作用曲線提示が可能になるからである。

試験結果： 骨髓標本の観察結果を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

薬物	計測した多染性赤血球数	2000個の多染性赤血球当たりの正染性赤血球数	小核保有赤血球数	
			2000個の正染性赤血球当たり	2000個の多染性赤血球当たり
溶媒対照 (脱イオン水)	10000			
検体 1000 mg/kg	10000			
検体 2000 mg/kg	10000			
検体 4000 mg/kg	10000			
陽性対照 (Cyclophosphamide)	10000			

平均±標準偏差

Wilcoxon のノンパラメトリック順位和検定 : \* p<0.01

検体投与群で、屠殺時まで無気力、引っ掻き行動、身づくろい、体重減少、痙攣、呼吸困難、眼瞼下垂が観察された。全群で死亡動物は認められなかった。小核を有する多染性赤血球の出現頻度には、最大耐量の 4000 mg/kg までの検体投与群と溶媒対照群の間には有意差は認められなかった。一方陽性対照の Cyclophosphamide 投与群では小核保有多染性赤血球数の有意な増加が認められた。また、小核を有する正染性赤血球の出現頻度には検体投与群及び陽性対照群とも有意な増加を認めなかった。

以上より、本検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

7) C3H/10T 1/2 細胞を用いた形質転換試験

(資料 No. 27)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

試験方法：1用量当たり 12 枚の培養プレートに 1000 個/枚の C3H/10T 1/2 細胞を播種し、アセトンで希釈した 256、512、1024 及び 2048 µg/mL の検体で処理した。陽性対照にはアセトンに溶解した 7, 12-Dimethylbenz(a)anthracene を用い、0.25 及び 0.5 µg/mL の処理を同様に行った。検体培養プレートと並行して毒性測定用培養プレート 4 枚にそれぞれ 200 個の細胞を播種し、同じ検体希釈液で処理した。処理約 18 時間後に検体等を含まない新鮮な培養液に交換し、培養を続けた。毒性測定用培養プレートは 8 日間培養後固定・染色して以下に示す式により相対クローニング出現率 (RCE) を求めた。試験用培養プレートは 5%牛胎児血清を加えた BME 培養液で 1 週間に一度培養液を交換しながら培養を続けた。検体等を取り除いてから 35 日目に固定・染色して Reznikoff の基準 (Ⅱ・Ⅲ型 posi) に従って形質転換測定を行った。

クローニング出現率 (CE) 及び相対クローニング出現率 (RCE)

$$CE = \frac{\text{プレート当たりの平均コロニー数}}{\text{プレート当たりの播種細胞数}} \times 100$$

$$RCE = \frac{\text{検体培養細胞の CE}}{\text{溶媒対照培養細胞の CE}} \times 100$$

試験結果：結果を次頁以下の表に示した。

毒性試験の結果、2048 µg/mL では RCE が 47%であり、CE 出現率を 50-75%低下させる範囲に入っていた。形質転換試験では、陽性対照群以外ではⅢ型コロニーは全くみられず、溶媒対照群に 2 個のⅡ型、検体 256、512、1024 及び 2048 µg/mL 投与群でそれぞれ 1、2、2 及び 1 個のⅡ型コロニーが認められた。プレート当たりの平均形質転換コロニー数 (Ⅱ型+Ⅲ型) は、溶媒対照群の 0.18 に対して検体投与群が 0.08 - 0.17 であった。一方陽性対照群では両濃度とも明らかな形質転換コロニーの発生が認められた。

結論：以上の結果から、本試験条件下において、本検体は C3H/10T 1/2 細胞に形質転換作用を及ぼさないと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 並行細胞毒性試験結果

薬物・濃度(μg/mL)	平均コロニー数 /プレート	CE (%)	RCE (%)
溶媒対照(アセトン)			
検体 256 512 1024 2048			
陽性対照(DHBA) 0.25 0.5			

DHBA : 7, 12-Dimethylbenz(a)anthracene

CE : クローニング出現率

RCE : 相対クローニング出現率

表 2 形質転換試験結果

薬物・濃度(μg/mL)	形質転換コロニー数		
	Ⅱ型	Ⅲ型	(Ⅱ+Ⅲ) /プレート
溶媒対照(アセトン)			
検体 256 512 1024 2048			
陽性対照(DHBA) 0.25 0.5			

溶媒対照は 11 枚のプレートで算出。他は 12 枚

DHBA : 7, 12-Dimethylbenz(a)anthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

8) アシュラムのマウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (資料 No.28)

検体純度: アシュラムナトリウム  
[申請者注]酸としてのアシュラムを指す

試験方法: マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリフルオロチミジン (TFT) 存在下でのコロニー増殖を指標とするチミジンキナーゼ (TK) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。検体は培地 (血清無添加) に溶解し、S9 mix 非存在下 24 時間あるいは S9 mix 存在下 4 時間、検体で細胞を処理した。試験は各処理 1 連 (陰性対照群のみ 2 連) で、マイクロウエル法を用いて 1 回行った。

なお、誘発された突然変異頻度 (検体処理群の突然変異頻度から陰性対照群の突然変異頻度を減じたもの) がクローン可能な細胞 100 万個当たり 126 を超える場合、反応は陽性、誘発された突然変異頻度がクローン可能な細胞 100 万個当たり 88 を超える場合、反応は擬陽性と判定した。突然変異頻度が用量相関的に増加した場合、あるいは検体処理群の少なくとも 1 濃度において再現性のある陽性反応が認められた場合、検体は突然変異誘発性を有するものと判定した。

試験結果: 結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下および存在下ともに細胞毒性 (相対初期細胞収率、相対浮遊細胞増殖率 (RSG) および相対総増殖率 (RTG) を指標とした) は認められなかった。S9 mix 存在下で一部の濃度において相対浮遊細胞増殖率 (RSG) および相対総増殖率 (RTG) がやや減少したが (最大 28% の減少)、用量相関性が認められないことから、細胞毒性に関連するものではないと考えられた。試験最高濃度 (10 mmol/L) の相対総増殖率 (RTG) は S9 mix 非存在下では 138%、S9 mix 存在下では 80% であった。

S9 mix 存在下および非存在下のいずれの濃度においても、クローン可能な細胞 100 万個当たり 126 あるいは 88 を超える突然変異頻度の増加は認められず、陰性対照群と比較して、陽性あるいは陽性が疑われる反応は認められなかった。いずれの結果も陰性対照群の範囲内および背景値の範囲内 (平均値  $\pm$  SD (範囲): S9 mix 非存在下 (24 時間処理)  $125 \pm 41$  (60~247)、S9 mix 存在下 (4 時間処理)  $99 \pm 27$  (45~168)) であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

一方、陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチル (S9 mix 非存在下) および 3-メチルコラントレン (S9 mix 存在下) では、突然変異頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、検体は、代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において遺伝子突然変異誘発性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

薬物	濃度 (mmol/L) )	S9 mix の有無	相対初期 細胞収率 <sup>a)</sup> (%)	相対浮遊細 胞増殖率 <sup>b)</sup> (%)	相対総増 殖率 <sup>c)</sup> (%)	突然変異 頻度 <sup>d)</sup> ( $\times 10^6$ )
陰性対照 (培養液)	0	—				
検体	0.05	—				
	0.10	—				
	0.21	—				
	0.41	—				
	0.82	—				
	1.7	—				
	3.4	—				
	7.0	—				
10	—					
陽性対照 (MMS)	0.1	—				
陰性対照 (培養液)	0	+				
検体	0.10	+				
	0.21	+				
	0.41	+				
	0.82	+				
	1.7	+				
	3.4	+				
	4.9	+				
	7.0	+				
10	+					
陽性対照 (MCA)	10 ( $\mu\text{g/mL}$ )	+				

a) 相対初期細胞収率：陰性対照群に対する処理後の細胞数の割合

b) 相対浮遊細胞増殖率 (RSG)：陰性対照群に対する処理 24 時間および 48 時間後における累積増殖率の指標

c) 相対総増殖率 (RTG)：相対初期細胞収率、相対浮遊細胞増殖率および処理 48 時間後の陰性対照群に対する相対コロニー形成率の積

d) 突然変異頻度：クローン可能な細胞 100 万個当たりの突然変異頻度

e) 2 連の平均値 (( ) 内の数値は各連における値)

MMS：メタンサルホン酸メチル

MCA：3-メチルコラントレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

9) マウスにおける優性致死試験

(資料 No. 29)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物： Carworth CF-1 雄マウス及び CD-1 雌マウス、交配開始時雌 8-10 週齢、試験開始時平均体重 雄 21.8 g、1 群雄 15 匹、雌 28~30 匹 (陽性対照群は 1 群雄 10 匹、雌 20 匹)

試験方法： 検体を飼料中に 0、1500 及び 5000 ppm の濃度で混入し、雄マウスに 45 日間混餌投与した。陽性対照として突然変異誘発化合物である triethylenemelamine (TEM) を飼料中に混入し、0.1 及び 0.3 mg/kg/day の投与量で 10 日間投与した。投与終了後、これらの雄マウスを薬物無投与の処女雌マウス 2 匹ずつと一週間ずつ、計 2 週間交配させた。交配の週半ばから 13 日間の間雌マウスを屠殺し (妊娠期間は 9-15 日)、妊娠の有無、子宮内着床総数、生存着床数、早期及び後期死亡胎児数を調べた。黄体数は数えなかった。

評価指標： 得られた結果を基に算出した以下の指標を評価対象とした。検体投与群と対照群の有意差検定は  $\chi^2$  検定または分散分析を用いて実施した。

- (1) 妊娠率(%) = (妊娠動物数/交配した雌数) × 100
- (2) 妊娠雌当たりの着床数
- (3) 妊娠雌当たりの早期死亡胎児数
- (4) 母動物当たりの死亡胎児数、これは着床数に対する割合(%)として計算し、母動物の群別平均として表示
- (5) 死亡胎児数は雄親の関数として表示

結果： 表 1 及び表 2 に示すとおり検体投与群雄と対照群雄の平均体重及び摂餌量には有意差は認められなかった。検体摂取量は 1500 及び 5000 ppm 群でそれぞれ 258 及び 835 mg/kg/day であった。第 1 回目の交配と第 2 回目の交配において、両検体投与群の妊娠率、着床数、着床率、早期死亡胎児数、早期死亡胎児率、妊娠雌及び雄親動物当たりの早期死亡胎児率に有意差は認められなかった。第二回目の交配で 1500 ppm 群雄と交配した雌の早期死亡胎児率に増加がみられたが、5000 ppm 群との間に用量との関連性が認められず、対照群との間に有意差もみられなかったことから検体投与の影響ではないと考えられた。  
[申請者注]この様に第 1 回目と 2 回目の試験結果に論議すべき差は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

結論：以上の結果から、本試験条件下において、本検体はマウスに対して優性致死を誘発しないと判断される。

表1 1回目の交配結果まとめ

薬物	対照	検体(ppm)		TEM(mg/kg/day)	
		45日間		10日間	
投与期間	-	45日間		10日間	
投与量	0	1500	5000	0.1	0.3
雄動物数					
交配した雌数					
妊娠雌数					
妊娠率(%)					
総着床数					
着床数/妊娠雌数 ±標準誤差					
早期死亡胎児総数					
早期死亡胎児/妊娠雌 ±標準誤差					
早期死亡保有雌数					
早期死亡保有妊娠雌(%)					
早期死亡/雌親動物(%) <sup>b</sup> ±標準誤差					
早期死亡/雄親動物(%) <sup>c</sup> ±標準誤差					

a: 1匹は評価から除外(会陰部に争った傷があったため)

b: (雌親当たりの早期死亡胎児総数/雌親当たりの着床数) × 100

c: (同じ雄からの児を妊娠した雌での早期死亡胎児総数/その雌の総着床数) × 100

TEM: triethylenemelamine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 2 回目の交配結果まとめ

薬物	対照	検体(ppm)		TEM(mg/kg/day)	
投与期間	-	45 日間		10 日間	
投与量	0	1500	5000	0.1	0.3
雄動物数					
交配した雌数					
妊娠雌数					
妊娠率(%)					
総着床数					
着床数/妊娠雌数 ±標準誤差					
早期死亡胎児総数					
早期死亡胎児/妊娠雌 ±標準誤差					
早期死亡保有雌数					
早期死亡保有妊娠雌(%)					
早期死亡/雌親動物(%) <sup>b</sup> ±標準誤差					
早期死亡/雄親動物(%) <sup>c</sup> ±標準誤差					

a : 1 匹は評価から除外 (会陰部に争った傷があったため)

b : (雌親当たりの早期死亡胎児総数/雌親当たりの着床数) × 100

c : (同じ雄からの児を妊娠した雌での早期死亡胎児総数/その雌の総着床数) × 100

d : この高い値は、1 匹の雌動物が死亡した胎児 1 匹のみを有しており 100%の値であったことによる

TEM : triethylenemelamine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(10) 生体機能影響

1) 一般薬理試験

(資料 No. 30 (参考資料))

検体の純度： アシュラム-Na

1. 脊髄麻酔ネコに対する作用

供試動物：ネコ（系統・週齢・体重不明、動物数不明）、

試験方法：検体を 50 - 2000 mg/kg の用量で静脈内注射して、血圧に対する作用を検討した。

結果：500 mg/kg 以上の検体を静注すると、通常血圧は一度低下した後程度の一定しない上昇を示した。コカイン (5 mg/kg) またはフェントールアミン (5 mg/kg) の前投与を行っても、この血圧上昇は妨げられなかった。アセチルコリン、ジメチルフェニルピペラジウム、フェニルプロパノールアミンまたはチラミンによる脊髄麻酔ネコへの血圧反応には、検体の 50 - 100 mg/kg 投与は何ら影響を及ぼさなかった。1000 mg/kg 以上の検体投与では死亡例が認められた。死亡は心臓停止と零までの急速な血圧低下を伴っていた。一方、2500 mg/kg 以上の静注後も生存する動物が認められた<申請者注：500 - 2000 mg/kg で血圧上昇と書かれているが、どこまでの高濃度を投与したのか不明>。

2. クロラロース麻酔ネコに対する作用

供試動物：ネコ（系統・週齢・体重不明、動物数不明）、

試験方法：検体をクロラロース麻酔ネコ (60 - 80 mg/kg) に静脈内注射して、血圧及び神経節前刺激に対する瞬膜反応に及ぼす検体の作用を検討した。

結果：結果は脊髄麻酔ネコと同様であった。1000 mg/kg の検体静注により、頸部交感神経の節前刺激に対する瞬膜反応は多少阻害された。

3. ラットの横隔膜神経標本を用いた *in vitro* 試験

供試動物：ラット（系統・週齢・体重不明、動物数不明）、

試験方法：摘出した横隔膜神経標本に検体を暴露し、神経筋遮断作用に対する検体の影響を検討した。

結果：ラットの横隔膜神経標本に対し、100 µg/mL までの濃度の検体は神経筋遮断作用を示さなかったが、一方ツボクラリンは 1 µg/mL で神経筋遮断作用を示した。

4. モルモットの回腸標本を用いた *in vitro* 試験

供試動物：モルモット（系統・週齢・体重不明、動物数不明）、

試験方法：アセチルコリンまたはヒスタミンのモルモットの摘出回腸標本に対する作用に、検体が影響を与えるかどうかを検討した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

結 果：モルモットの摘出回腸標本に対するアセチルコリンまたはヒスタミンの反応に対し、100 µg/mL までの濃度の検体は阻害などの影響を及ぼさなかった。

#### 5. モルモットの輸精管標本を用いた *in vitro* 試験

供試動物：モルモット（系統・週齢・体重不明、動物数不明）、

試験方法：下腹神経の節前及び節後刺激に対するモルモット輸精管の反応に、検体暴露が影響を与えるかどうかを検討した。

結 果：高濃度である 100 µg/mL の検体は、モルモットの輸精管に対する下腹神経の最大上刺激による反応を完全に阻害したが、経壁刺激に対する反応にはそれほど影響を及ぼさなかった。

検体は水溶性が高いにもかかわらず非常に低毒性である。検体投与に関する唯一の反応は血圧の可逆的低下及び上昇であった。この血圧上昇はコカインまたはフェントールアミンの前投与で妨げられなかった。*in vitro* 試験で、検体は神経筋遮断作用も、抗アセチルコリンまたは抗ヒスタミン作用も示さなかった。若干の阻害作用がモルモットの輸精管標本でみられたが、それは高濃度の場合に限られていた。結論として、今回の試験で使用されたような大量投与でも検体は薬理作用を及ぼさないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

2) 反復経口投与後、ラットの全血コリンエステラーゼ活性及び血中グルコース濃度に及ぼす影響 (資料 No. 31)

検体の純度：アシュラム-Na 60%W/V 液剤

供試動物：CFY系雌雄ラット、試験開始時約5週齢、1群雌雄各10匹

投与期間：13週間（試験年月日不明）

投与方法：検体を0、400、2000、10000 ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって毎日摂食させた。全血コリンエステラーゼ活性測定のための陽性対照物質として Malathion を用い、3000 ppmの濃度で飼料に混入して同様に投与した。陰性対照物質には Carbetamide を用い、週に5日間、13週にわたって強制経口投与した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

投与群	雄			雌		
	群平均 餌消費量 試験期間 合計 (0-11 週) (g/ラット)	群平均 餌消費量 (日換算) (g/ラット)	検体 摂取量 (mg/ラッ ト/日)	群平均 餌消費量 試験期間 合計 (0-11 週) (g/ラット)	群平均 餌消費量 (日換算) (g/ラット)	検体 摂取量 (mg/ラッ ト/日)
対照群						
400 ppm						
2000 ppm						
10000 ppm						
Malathion 3000 ppm						
Carbetmide 200 mg/kg						

観察・検査項目：動物の一般状態を毎日記録した。毎週1回体重を測定し、摂餌量を投与開始前に1回とその後ほぼ2週間ごとに測定・記録した。また、投与前、投与2、4、8、10、12週時（投与開始週が1週）に、全動物から心臓穿刺法により血液を採取し、全血コリンエステラーゼ活性は全6群について、血中グルコース濃度は検体の0、400、2000、10000 ppm 投与群について測定した。全血コリンエステラーゼ活性は Gaballah 法（1968年）で、血中グルコース濃度は過塩素酸による除蛋白後の Glucose oxidase peroxidase assay により測定した。

[申請者注]全血コリンエステラーゼ活性（Gaballah 法）では放射性のアセチルコリンを用いて各試験区における分解速度の阻害について調べている。この検定法を本試験と全く同一の方法、同一の条件で使用した「犬におけるアシユラムの亜急性経口投与が全血コリンエステラーゼ活性に及ぼす影響」（資料 No. 32）によると 1000 カウント/分は 0.035  $\mu$  モルのアセチルコリンの加水分解に相当しているとしている。

結 果：

臨床症状；かなりの数の死亡例があったが、投与過誤による Carbetamide 群の1例を除き、他のすべての死亡例は心臓穿刺後のショックによるものであった。検体群では臨床症状は認められなかったが、Malathion 群は対照群より不活発のように

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

見受けられ、Carbetamide 群雌雄ラットで投与開始 5 週後に 2 日間続く流涎がみられたのみであった。

体重；13 週間の投与期間終了後の体重増加量には、雌雄とも投与群と対照群の間に有意差はみられなかった。

摂餌量；1 週間のラット 1 匹当たりの g 数で表した摂餌量はいずれの群でもばらつきがみられたが、合計値では検体投与群雄で対照群の 97.6-103.6%、雌で 105.3-107.3%であった。Malathion 群は対照群よりやや低く、雄で 92.9%、雌で 92.2%であった。Carbetamide 群は粉末飼料ではないオートクレーブ処理固型飼料を与えられたため比較対象としなかった。

血中グルコース；表 1 に平均値、標準誤差、検査匹数を表示した。

投与前、検体投与群すべての雄が有意な低下を示した。第 2 週の検体投与全群雌と 10000 ppm 群雄、第 4 週の 400 ppm 群雌に低下がみられたが、第 8、10、12 週ではみられた有意差はすべて上昇であった。また、4 週の低下はどの値も低血糖域には入っていなかった。8 週以降にみられた上昇は雄より雌が顕著であったが、100 mg%を超えた値はわずか 5 つの個別別データのみであった。従ってこれらの上昇が毒性学的に意味あるものとは考えられなかった。

全血コリンエステラーゼ；表 2 に平均値、標準誤差、検査匹数を表示した。

検体投与群で有意差がみられたのは、4 週の 400 及び 2000 ppm 群の上昇、8 週の 10000 ppm 群の低下、10 週の 2000 ppm 群の上昇、12 週の 400 ppm 群の上昇であった。8 週の 10000 ppm 群の低下は検体によるものと考えられたが、変動は小さく、10 週、12 週と持続しなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。上昇については明らかな用量依存性はなく、各用量での時期による変動は対照群と同程度であったことから、検体投与による影響ではないと判断された。一方、Malathion 投与群では投与期間中のいずれの時点でも有意な減少が認められた。

以上の結果から、血中グルコースならびに全血コリンエステラーゼについて検体投与に起因する変化はみられなかったと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 血中グルコース濃度

投与群	性	平均血中グルコース濃度(mg%)±標準誤差					
		投与前	投与週				
			2	4	6	8	10
対照群	♂						
	♀						
検体 400 ppm 群	♂						
	♀						
検体 2000 ppm 群	♂						
	♀						
検体 10000 ppm 群	♂						
	♀						

( ): カッコ内は検査例数、10を超えるのは予備動物も含む

- : 6週時は一部の雄のみ検査した。

Student の t 検定法 :    ↑↓, p<0.05、    ↑↑, p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 全血コリンエステラーゼ活性

投与群	平均全血コリンエステラーゼ活性(カウ/分)±標準誤差						
	投与前	投与週					
		2	4	6	8	10	12
対照群							
検体 400 ppm 群							
検体 2000 ppm 群							
検体 10000 ppm 群							
Malathion 群 3000 ppm							
Carbetamide 群 200 mg/kg/day							

( ): カッコ内は検査例数、20 を超えるのは予備動物も含む

Student の t 検定: ↑↓, p<0.05、↑↑, p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

3) 反復経口投与後、イヌの全血コリンエステラーゼ活性に及ぼす影響 (資料 No.32)

検体の純度：アシュラム-Na 塩 40%W/V 水溶液

供試動物：純系ビーグル犬、試験開始時約6カ月齢、1群雌雄各2匹

投与期間：10週間

投与方法：検体を0、5、50、500 mg/kg/dayの用量で胃チューブを用いて10週間毎日動物に経口投与を行った。全血コリンエステラーゼ活性測定の陽性対照物質として Malathion を用い、150 mg/kg/dayの用量をカプセルに封入し同様に経口投与した。陰性対照物質には Carbetamide を用い、200 mg/kg/dayの用量をカプセルに封入し同様に経口投与した。

観察・検査項目：動物の一般状態を毎日記録した。毎週1回体重を測定した。投与前の期間に4回、投与2、3、4、6、8週時(投与開始週が1週)に、外側頸静脈から血液を採取し、全血コリンエステラーゼ活性について、Gaballah 法の変法により測定した。

結果：

臨床症状；全試験期間を通し、全群に異常症状は認められず、死亡動物もいなかった。

体重；全投与群の平均体重増加量は対照群を上回っており、統計学的有意差も認められなかった。

全血コリンエステラーゼ；表1に平均値を表示した。

5 mg/kg/day 群の検体投与群で投与前2週に、Carbetamide 群で投与前3週に統計学的に有意な上昇がみられたが、偶発的変動であると考えられた。検体投与群では全投与期間を通して有意差はみられず、毒性学的に意義のある変化が認められなかったのでこれ以上の投与継続は意味がないと判断した(10週で終了)。一方陽性対照の Malathion 群では投与期間を通じて顕著な低下が認められた。

以上の結果から、全血コリンエステラーゼ活性に検体投与に起因する変化はみられなかったと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 全血コリンエステラーゼ活性 (平均値、カウント/分) a

投与群	投与週								
	-5	-4	-3	-2	2	3	4	6	8
対照群									
検体 500 mg/kg 群									
検体 50 mg/kg 群									
検体 5 mg/kg 群									
Malathion 群 150 mg/kg									
Carbetamide 群 200 mg/kg									

a: コリンエステラーゼ活性は  $10^{-4}$ M の硫酸フィソスチグミンで抑制され、1000 カウント/分が  $0.035 \mu\text{M}$  のアセチルコリンでの加水分解に相当する。

Student の t 検定法:  $\uparrow\downarrow$ ,  $p < 0.05$ ,  $\uparrow\uparrow$ ,  $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

4) 麻酔ネコを用いた神経筋伝達に及ぼす作用

(資料 No. 33)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物： ネコ (系統・週齢・体重不明)、試験動物 5 匹・対照動物 4 匹 (雌雄不明)

試験方法： クロラーズとペントバルビタール Na の腹腔内注射で麻酔した動物の左坐骨神経を取り出して中心を切開し、遮断して電極対をはめ込んだ。連合した前脛骨筋を、切断した中足骨の着点に結んだ結紮糸で等張性変位トランスジューサーに接続した。血圧は左頸動脈に挿入したカニューレに接続した圧力変換器で測定した。試験中動物には人工呼吸を続けた。検体は 0.75%トラガカントゴム水溶液で 500 mg/mL 懸濁液とし、胃管を通して 2 mL/kg の容量を蒸留水 1 mL と共に流し入れた。すなわち検体投与用量は 1 g/kg の経口投与とした。媒体対照としてトラガカントゴムを同様に投与した。坐骨神経に矩形波による最大下刺激を与え、脛骨筋の収縮をペンレコーダーで連続記録した。血圧も同時に記録した。

結果： 各時期における個々の変化をすべて平均し、投与前の平均値に対する変化を百分率で表現した結果を表 1 に示す。この表には、得られた数値のバラツキの大きさを示すために測定値幅も示しておいた。また、筋収縮の個別別結果を表 2 及び表 3 に示す。

1 g/kg の検体を経口投与したが、投与後 6 時間まで神経筋伝達に影響はほとんどみられなかった。検体投与動物 5 匹中 3 匹に筋収縮の可逆的阻害がみられたが、これは 4 匹の媒体対照群動物でみられたよりもわずかに強いだけであった。検体を 1 g/kg 経口投与した動物では、投与 6 時間後まで体血圧に明瞭な影響は認められなかった。

以上の結果から、麻酔ネコに 1 g/kg の検体を経口投与するとわずかな神経筋伝達阻害作用がみられると思われるが、この作用の結果として何らかの臨床的悪影響がみられるということはないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表1 麻酔ネコの神経筋伝達および体血圧に対する検体及び媒体の作用まとめ  
(投与前の平均値に対する百分率の変化)

投与後 時間 (分)	筋収縮 (%)		収縮期血圧 (%)		拡張期血圧 (%)	
	媒体	検体	媒体	検体	媒体	検体
投与前						
30						
60						
90						
120						
180						
240						
300						
360						

投与前の値は、平均±標準誤差

( ): 測定値の変化%幅

[ ] : 検査例数、他は媒体群は4・検体群は5

n.d. : 検査せず



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 麻酔ネコの筋収縮の個体別表－検体投与群

動物 番号	ASM 1		ASM 2		ASM 3		ASM 4		ASM 5	
	mm	変化%	mm	変化%	mm	変化%	mm	変化%	mm	変化%
投与 30 分前か ら 10 分毎 (計 4 回)の 平均値										
投与後時 間(分)										
30										
60										
90										
120										
180										
240										
300										
360										

変化%：投与前 4 回測定の平均値に対する百分率の変化

n.d.：検査せず

\*:本検体のみ 2 回測定 of 平均値

表 3 麻酔ネコの筋収縮の個体別表－対照群

動物 番号	POC 1		POC 2		POC 3		POC 4	
	mm	変化%	mm	変化%	mm	変化%	mm	変化%
投与 30 分前 から 10 分毎 (計 4 回) の平均値								
投与後時間 (分)								
30								
60								
90								
120								
180								
240								
300								
360								

変化%：投与前の平均値に対する百分率の変化

n.d.：検査せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

5) モルモットの回腸に及ぼす影響に関する *in vitro* 試験

(資料 No. 34)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物： モルモット (系統・週齢・体重不明、動物数不明)、

試験方法： Magnus の方法に基づいた。摘出した 2 cm の回腸の両端に糸を付け、一端を平滑筋等張性トランスジューサーに取付け、もう一方を 37°C の器官浴に入れて荷重して 0.5 から 1 g の張力をかけた。10 mL/分の速度でクレーブス溶液の表面還流を行った。30 分後、薬剤を 45 秒間クレーブス還流液中加入した。アセチルコリンと 5-ヒドロキシトリプタミンで正常反応を示すことを確かめた。炭酸水素ナトリウムに溶解した検体を 10 分間隔で 45 秒間注入し、組織到達濃度がそれぞれ  $8.5 \times 10^{-6}$  M、 $8.5 \times 10^{-5}$  M、 $8.5 \times 10^{-4}$  M、 $2.5 \times 10^{-4}$  M、 $8.5 \times 10^{-3}$  M になるようにした。また標準拮抗剤の作用を測定して陽性対照とした。

結果： 回腸収縮に対する検体の反応結果を次ページの表 1 に示す。

6 試験中 5 試験において、検体のモルモット回腸への直接的影響は全くみられなかった。1 試験で濃度に依存しない小さな収縮がみられた。炭酸水素ナトリウム投与に続く反応は全く認められなかった。

検体の存在下と非存在下での反応を比較した結果を表 2 に示す (試験成績図 1、図 2 より申請者が作成)。モルモットの摘出回腸標本に対するアセチルコリン及び 5-ヒドロキシトリプタミンの反応に対し、検体は全く影響を及ぼさなかった。また、陽性対照ではアトロピンがアセチルコリンの反応に、メチセルジドが 5-ヒドロキシトリプタミンの反応に拮抗することが認められた。

以上の結果、検体はモルモット回腸への直接的刺激作用を示さず、拮抗作用もないことが判った。検体は  $8.5 \times 10^{-3}$  M という非常な高濃度でも薬理学的作用を全く示さないと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表1 モルモット回腸への作用—in vitro 試験

試験番号	モルモット回腸収縮(mm)				
	検体濃度(M)				
	$8.5 \times 10^{-6}$	$8.5 \times 10^{-5}$	$8.5 \times 10^{-4}$	$2.5 \times 10^{-4}$	$8.5 \times 10^{-3}$
1					
2					
4					
5					
6					
7					

n.d. : 検査せず

[申請者注]試験番号は正しく1~6と考えられる(3番は欠番)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2

(アセチルコリン)

(最大応答に対する百分率)

投与量(M)	$10^{-7}$	— <sup>1)</sup>	$10^{-6}$	—	$10^{-5}$
アゴニストのみ (%)					
アゴニスト+アシユラム(%)					

注1) 投与量  $10^{-7}$  乗と  $10^{-6}$  乗の中間量の投与を示す。

他の中間量も同様に表示投与量の中間量であることを示す。

(5-ヒドロキシトリプトアミン)

(最大応答に対する百分率)

投与量(M)	—	$10^{-6}$	—	$10^{-5}$	—	$10^{-4}$	—
アゴニストのみ (%)							
アゴニスト+アシユラム(%)							

\*2 回測定の前平均

(アセチルコリン)

(最大応答に対する百分率)

投与量(M)	$10^{-7}$	—	$10^{-6}$	—	$10^{-5}$	—	$10^{-4}$	—	$10^{-3}$	—
アゴニストのみ (%)										
アゴニスト+アトロピン ( $10^{-9}$ M) (%)										

(5-ヒドロキシトリプトアミン)

(最大応答に対する百分率)

投与量(M)	$10^{-7}$	—	$10^{-6}$	—	$10^{-5}$	—	$10^{-4}$	—	$10^{-3}$
アゴニストのみ (%)									
アゴニスト+メチセルジド ( $10^{-6}$ M) (%)									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

6) マウスの神経系及びウサギの血液凝固に及ぼす影響

(資料 No.35)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

1. マウスの神経系に及ぼす影響 (IRWIN 法)

供試動物： CD-1 系雌雄マウス、体重 20 - 25 g、1 群雌雄各 5 匹

試験方法： 検体を 10%アラビアゴム水溶液に懸濁し、100、200、400、800、1600、3200 及び 6400 mg/kg の投与量で経口投与した。投与容量は 50 mL/kg とした。動物の観察は投与 0.5、1、2、4、6 時間後に行い、その後は 15 日間にわたって 1 日 1 回実施した。

結果： 検体の 1600 mg/kg 以下の投与量ではいかなる症状も全く観察されなかった。3200 mg/kg の投与により投与 1 時間後からごく軽い鎮静作用が認められたが投与 6 時間後で正常に戻った。6400 mg/kg では投与 30 分後から体温の低下を伴う明確な鎮静作用がみられたが、投与後 24 時間で動物は正常に戻り、その後 15 日の観察期間中は正常な状態を保った。死亡動物は認められなかった。

2. 無麻酔ウサギの血液凝固に及ぼす影響

供試動物： Hy/Cr 系雌雄白ウサギ、体重 2.0 - 2.4 kg、1 群雌雄各 2 匹

試験方法： 検体を 10%アラビアゴム水溶液に懸濁し、100 及び 400 mg/kg の投与量で経口投与した。投与容量は 1 mL/kg とした。経口投与前、投与 3 時間後と 24 時間後に耳介内側動脈から血液試料を採取し、クエン酸ナトリウムの 3.8%蒸留水溶液 1 に対して血液 9 の割合 (容量) で混合した。活性化部分トロンボプラスチン時間を測定するとともに、HORM コラーゲンにより誘発された血漿血小板凝集を Born の方法 (1963 年) で判定した。

結果： 検体の 100 及び 400 mg/kg の経口投与による活性化部分トロンボプラスチン時間への影響は、投与 3 時間後及び 24 時間後ともに全く観察されなかった。また、コラーゲン誘発性血小板凝集に対しても全く影響を与えなかった。

以上の結果より、マウスへの 3200 mg/kg 以上の経口投与により、本検体は一過性の鎮静作用を起こすが、ウサギへの 400 mg/kg までの経口投与では抗血液凝固作用はなく、コラーゲン誘発性血小板凝集に対しても全く影響を与えないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

7) ウサギ血小板の凝集に及ぼす影響に関する *in vivo* 及び *in vitro* 試験 (資料 No. 36)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物：ニュージーランドホワイト系ウサギ、体重 3.0 - 4.0 kg

試験方法： (*in vitro* 試験) ウサギの左頸動脈にナイロンカニューレを挿入して採取した血液を軽く (330×g) 遠心分離して血小板に富んだ血漿 (PRP) を得た。更に、1990×g で遠心分離して血小板含量の少ない血漿 (PPP) を得た。PPP でゼロ調整した血小板凝集計測器を用いて PRP に ADP、コラーゲン及びトロンビンを添加して血小板凝集を誘発させ、PRP の吸光度の変化を記録した。検体の影響については、ADP、コラーゲン及びトロンビンを添加する 1 分前に、PRP に検体 (0.1、1.0、10.0、100.0 µg/mL) を加えて測定した。

(*in vivo* 試験) ウサギの大腿動脈にカニューレを挿入し、連続的に動脈血圧を測定した。コラーゲン投与は大腿静脈より行った。頸動脈に特別設計の二重カニューレを装着し、血小板自動計測機に接続した。血小板が安定した基準計数値に達した時、コラーゲン (30 µg/kg) を 30 分間隔で投与し、さらにその後胃管を通して検体を経口投与 (1.5 g/kg、投与容量は 1.0 mL/kg) して、コラーゲンに対する検体の影響を 3 時間調べた。

結果：*in vitro* での血小板凝集に対する影響を表 1 に、*in vivo* でのコラーゲン誘発血管内血小板凝集に対する影響を表 2 に示す。

検体濃度が 0.1~100 µg/mL の範囲では、ADP、コラーゲン及びトロンビンにより誘発された血小板凝集に対し、検体は有意な影響を示さなかった。0.1~100 µg/mL の濃度範囲で検体による血小板凝集促進作用は観察されなかった。検体を経口投与後 3 時間観察したが、コラーゲン誘発による血小板数の減少あるいは収縮期血圧において、対照と比較して検体の影響はみられなかった。

以上の結果より、誘発された血小板凝集に対して、検体は抑制作用も相乗作用も示さず、高用量を経口投与された場合でも、ウサギ血管内におけるコラーゲン誘発血小板凝集に対して抑制作用も相乗作用も示さないと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表1 ADP、コラーゲン及びトロンビンによる血小板内凝集への影響試験結果

前投与 凝固因子	検体(μg/mL)による凝集反応の変動%				
	媒体 (0.1 M Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	検体 0.1	検体 1.0	検体 10.0	検体 100.0
ADP (試料数 4)					
コラーゲン (試料数 4)					
トロンビン (試料数 2)					

平均±標準誤差

マイナスは抑制、プラスは増強。

[申請者注]トロンビン以外は統計処理を実施したと報告書に記載があるが、使用した手法に関する記載はない。

表2 コラーゲンによる血管内凝集に対する影響試験結果

経口投与 用量	n	血小板数 の対照 減少%	コラーゲンによる血管内凝集の変動%					
			投与後時間(分)					
			30	60	90	120	150	180
溶媒対照(ト ラカ <sup>®</sup> カトゴム)	5							
検体 (1.5 g/kg)	5							

平均±標準誤差

対照減少以外は、マイナスは抑制、プラスは増強。

報告書に統計処理についての記載なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

8) ウサギを用いた溶血作用試験

(資料 No. 37)

試験機関 : May & Baker Ltd.

報告書作成年 : 1981 年

検体の純度 : アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物 : ニュージーランドホワイト系ウサギ、体重 3.0-4.0 kg、in vivo でウサギ 4 匹使用

試験方法 : (洗浄赤血球試験) 動物の左頸動脈にナイロンカニューレを挿入して採取した血液を遠心分離 (1470×g) して赤血球を沈降させ、リン酸塩緩衝液 (PBS) 中に懸濁させたものを再度遠心分離して得た赤血球を PBS で洗浄した (洗浄赤血球)。試験管に入った洗浄赤血球の PBS 懸濁液に検体溶液、媒体または PBS を加え、37°C で 20 分間反応させた。試験管を遠心分離 (1470×g) して得た上澄液を分光光度計で 540 nm (ヘモグロビンの最大吸光波長) における吸光度を測定した。全血についても同様に反応させ、遠心分離して得た血漿について同様に分光光度計で吸光度測定を実施した。検体処理の上澄液ないし血漿の吸光度が媒体対照のものより 0.03 O.D. 単位以上違っている場合、有意に溶血が起こったものとみなした。

(全血試験) 動物の耳動脈から採取した血液を遠心分離 (1470×g) して赤血球を沈降させ、血漿について分光光度計で吸光度を測定した。また別に上澄液を取り除いて PBS を加えてから吸光度測定も実施した。その後、トラガカントゴムで懸濁した検体を 1.5 g/kg 動物に経口投与した。3 時間経過後対照処置と同様にして吸光度を測定した。検体処理の試料の吸光度が投与前と比べて 0.03 O.D. 単位以上大幅に増加している場合、有意に溶血が起こったものとみなした。

結果 : 洗浄赤血球の溶血試験結果を表 1 に、全血の溶血試験結果を表 2 に示す。

溶血基準に照らすと、検体は有意な溶血を起こすことはなかった。検体を経口投与して 3 時間後に採血した全血に対する影響を調べたが、4 匹の動物の中で、投与前と投与 3 時間後の試料で溶血の程度に差はみられなかった。従って、検体の 1.5 g/kg 経口投与はどの動物にも溶血作用に関して影響を及ぼさなかった。

以上の結果から、ウサギの洗浄赤血球及び全血に対して本検体は溶血を起こす原因にはならず、検体の 1.5 g/kg 経口投与も溶血を起こす原因とはならないと結論される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 ウサギ洗浄赤血球の溶血試験結果 (O.D.単位)

処置	試験 1			試験 2			試験 3		
	吸光度 540 nm	平均 吸光度	OD 差(試 料-媒体)	吸光度 540 nm	平均 吸光度	OD 差(試 料-媒体)	吸光度 540 nm	平均 吸光度	OD 差(試 料-媒体)
ブランク (PBSのみ)									
対照 (加 PBS)									
検体 0.1 µg/mL									
検体 1 µg/mL									
検体 10 µg/mL									
検体 100 µg/mL									
媒体 (生食/Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 ウサギ全血の溶血試験結果 (O.D.単位)

処置	試験 1			試験 2			試験 3		
	吸光度 540 nm	平均 吸光度	OD 差(試 料-媒体)	吸光度 540 nm	平均 吸光度	OD 差(試 料-媒体)	吸光度 540 nm	平均 吸光度	OD 差(試 料-媒体)
対照 (加 PBS)									
検体 0.1 µg/mL									
検体 1 µg/mL									
検体 10 µg/mL									
検体 100 µg/mL									
媒体 (生食/Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )									

\* : 両試料を混合してブランクとして「0」調節を実施した。

( ) : 血液不足のため小さなカニューレで再度採血した時に溶血が起こった。

従って薬剤処置前に起こった溶血である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

9) ネコ及びイヌの心血管系に及ぼす影響試験

(資料 No. 38)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物：麻酔ネコ；ネコ（系統・週齢・性別不明）、体重 2.4 - 2.5 kg、検体経口投与 3 匹・媒体経口投与 2 匹

麻酔イヌ；ビーグル犬（週齢・性別不明）、体重 8.5 - 11.5 kg、検体経口投与 3 匹・媒体経口投与 2 匹

無麻酔イヌ；ウィペット種の成犬（週齢不明）、体重 9.5 - 16.4 kg、雄 1 匹雌 3 匹

試験方法：検体を 0.25%トラガカントゴム溶液（ネコでは 0.2%溶液）に懸濁させ、3 mL/kg の投与容量で 1500 mg/kg 用量の経口投与を行った。手術により各記録計・計測機器に接続させて試験した。イヌでは測定開始前一晩絶食させた。麻酔ネコでは手術終了 30 分後に経口投与を行い、収縮期血圧（S.B.P.）、拡張期血圧（D.B.P.）、心拍数（H.R.）、肺膨張圧（L.I.P.）を投与 210 分後まで測定した。投与前の平均値（対照値）に対する各値の百分率の増減で表示した。麻酔イヌでは手術終了 1 時間後に経口投与を行い、頸動脈の S.B.P.（収縮期血圧）、D.B.P.（拡張期血圧）、収縮期肺動脈圧（S.PAP）、拡張期肺動脈圧（D.PAP）、H.R.、心拍出量（C.O.）、1 回拍出量（S.V.、 $1000 \times C.O./H.R.$ ）を投与 4 時間後まで測定した。投与前の平均値（対照値）に対する各値の百分率の増減で表示した。無麻酔イヌでは頸動脈露出手術終了後、棒と留具で立位に動物を固定し、拘束状態に慣らした後試験を行った。投与前に計測を行い（対照値）、経口投与後 5 時間、頸動脈の S.B.P.（収縮期血圧）、D.B.P.（拡張期血圧）、平均血圧（M.B.P.）、頸動脈、H.R.、頸動脈波前縁の傾きの最大値（ $dp/dt$ ）、心電図（ECG）の P-R 間隔・QRS 間隔・Q-T 間隔・R-R 間隔を測定した。投与前の値（対照値）に対する各値の百分率の増減で表示した。投与は 4 匹に実施したが、1 匹が投与 30 分以内に嘔吐したためこの 1 匹を評価対象から除外した。

結果：（麻酔ネコ）媒体対照と比較すると、検体は血圧・心拍数・気管支音（肺膨張圧の変動から判断）の変動にはほとんど影響を与えなかった。

（麻酔イヌ）血圧は、媒体対照ではほとんど影響がないかわずかに上昇がみられたが、検体投与では 2-4 時間後に全般的に低下した。また、1 回拍出量も、媒体対照と比べても全般的に低下した。しかし、動物間で反応に一貫性がなかったため、胃腸管からの吸収差を考え、経口投与 5 時間後（試験終了時）に 100 mL/kg の検体を静脈内投与して調べてみた所、血圧及び心拍数に検体投与の影響はみられなかった。

（無麻酔イヌ）血圧及び頸動脈圧  $dp/dt$ （最大値）に検体は全くないしほとんど影響しなかった。投与 180 - 300 分後に漸進的な徐脈を生じたが、これは自然の日周変化ないし試験手段に動物が慣れてストレスが緩和された結果と考えら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

れた。心電図変化に心拍間隔変化が記録されたが、呼吸障害や継続的呼吸パターンの変化はみられなかった。

以上の結果から、本検体は、多量の経口投与（1500 mg/kg）においても心血管系ならびに呼吸器系に対して何ら顕著なあるいは重大な影響を及ぼさないと結論される。

表1 麻酔ネコの血圧、心拍数及び肺膨張圧に及ぼす影響（検体経口投与、3匹の平均）

時間 (分)	S.B.P. (mmHg)	D.B.P. (mmHg)	H.R. (bpm)	L.I.P. (mmHg)
対照				
以下は対照値に対する変動%				
30				
60				
90				
120				
150				
180				
210				

平均値±標準誤差

注釈は表2の欄外参照

表2 麻酔ネコの血圧、心拍数及び肺圧に及ぼす影響（媒体経口投与、2匹の平均）

時間 (分)	S.B.P. (mmHg)	D.B.P. (mmHg)	H.R. (bpm)	L.I.P. (mmHg)
対照				
以下は対照値に対する変動%				
30				
60				
90				
120				
150				
180				
210				

S.B.P. : 収縮期血圧

D.B.P. : 拡張期血圧

H.R. : 心拍数

L.I.P. : 肺膨張圧

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表3 麻酔イヌの心血管系に及ぼす影響（検体経口投与、3匹の平均）

時間 (分)	S.B.P. (mmHg)	D.B.P. (mmHg)	S.PAP (mmHg)	D.PAP (mmHg)	H.R. (bpm)	C.O. L/分	S.V. mL
対照							
以下は対照値に対する変動%							
30							
60							
90							
120							
150							
180							
210							
240							

平均値±標準誤差

S.B.P. : 収縮期血圧（頸動脈）

D.B.P. : 拡張期血圧（頸動脈）

S.PAP : 収縮期肺動脈圧

D.PAP : 拡張期肺動脈圧

H.R. : 心拍数

C.O. : 心拍出量

S.V. : 一回拍出量（ $1000 \times C.O./H.R.$ ）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 4 麻酔イヌの心血管系に及ぼす影響（媒体経口投与、2匹の平均）

時間 (分)	S.B.P. (mmHg)	D.B.P. (mmHg)	S.PAP (mmHg)	D.PAP (mmHg)	H.R. (bpm)	C.O. L/分	S.V. mL
対照							
以下は対照値に対する変動%							
30							
60							
90							
120							
150							
180							
210							
240							

平均値±標準誤差

S.B.P. : 収縮期血圧（頸動脈）

D.B.P. : 拡張期血圧（頸動脈）

S.PAP : 収縮期肺動脈圧

D.PAP : 拡張期肺動脈圧

H.R. : 心拍数

C.O. : 心拍出量

S.V. : 一回拍出量 (1000×C.O./H.R.)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 5 無麻酔イヌの心血管系に及ぼす影響 (検体経口投与、3匹の平均)

時間 (分)	S.B.P. (mmHg)	D.B.P. (mmHg)	M.B.P. (mmHg)	H.R. (bpm)	最大 dP/dt (mmHg/s)	P-R (ms)	QRS (ms)	Q-T (ms)	R-R (ms)
対照									
以下は対照値に対する変動%									
60									
90									
120									
180									
300									

平均値±標準誤差

S.B.P. : 収縮期血圧 (頸動脈)

D.B.P. : 拡張期血圧 (頸動脈)

M.B.P. : 平均血圧 (頸動脈)

H.R. : 心拍数

最大 dP/dt : 頸動脈波前縁の傾きの最大値

P-R : ECG の P-R 間隔

QRS : ECG の QRS 間隔

Q-T : ECG の Q-T 間隔

R-R : ECG の R-R 間隔

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 6 無麻酔イヌの呼吸数に及ぼす影響（検体経口投与、個体別値）

投与後の時間 (分)	個々の動物の呼吸数（回数/分）		
	CV14/16 <sup>a</sup>	CV14/17	CV14/18
対照			
60			
90			
120			
180			
300			

\* : あえぎがみられた

<sup>a</sup> : 動物番号



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

「生体機能影響」の総括表

資料 No	試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 mg/kg	動物数 /群	作用量 mg/kg	無作用量 mg/kg	結果の概要
30	一般薬理 血圧	ネコ (麻醉下)	静注		不明	500	100	500 mg/kg 以上で低下後上昇、1000 mg/kg 以上で死亡 <sup>1)</sup>
	血圧・瞬膜	ネコ (麻醉下)	静注		不明	1000	< 1000	1000 mg/kg で瞬膜反応阻害
	横隔膜	ラット	<i>in vitro</i>		不明	なし	100µg/mL	作用なし
	回腸	モルモット	<i>in vitro</i>		不明	なし	100µg/mL	作用なし
	輸精管	モルモット	<i>in vitro</i>		不明	100	<100µg/mL	100 µg/mL で最大上刺激反応阻害
31	連投による影響 全血 ChE 及び血糖 (13 週間)	ラット	飼料混入	0、400、2000 10000 ppm <sup>3)</sup>	♂: 10 ♀: 10	なし	10000 ppm	10000 ppm まで毒性学的影響なし
32	全血 ChE (10 週間)	イヌ	胃管 (水)	0、5、50 500	♂: 2 ♀: 2	なし	500	作用なし
33	体性神経系 神経筋伝達	ネコ (麻醉下)	胃管 (トラカカトゴム)	0、1000	♂♀: 5	なし	1000	作用なし
34	回腸収縮	モルモット	Magnus 法	$8.5 \times 10^{-6} \sim 8.5 \times 10^{-3} M$	不明	なし	$8.5 \times 10^{-3} M$	作用なし
35	中枢神経系 (Irwin 法)	マウス	経口 (アブピアコム)	100、200、400、 800、1600、 3200、6400	♂5 ♀5	3200	1600	3200 mg/kg 以上で鎮静作用、 6400mg/kg 以上で体温低下を伴う鎮静作用
	血液凝固	ウサギ	経口 (アブピアコム)	100、400	♂2 ♀2	なし	400	作用なし
36	血小板凝集	ウサギ (麻醉下)	経口と <i>in vitro</i>	経口: 1500 <i>in vitro</i> : 0.1 - 100µg/mL	5	なし	経口: 1500 <i>in vitro</i> : 100µg/mL	作用なし
37	溶血	ウサギ (麻醉下)	経口と <i>in vitro</i>	経口: 1500 <i>in vitro</i> : 0.1 - 100µg/mL	4	なし	経口: 1500 <i>in vitro</i> : 100µg/mL	作用なし
38	呼吸循環器系	ネコ (麻醉下)	経口 (トラカカトゴム)	0、1500	3 (媒体は 2)	なし	1500	作用なし
		イヌ (麻醉下)			3 (媒体は 2)	なし	1500	作用なし
		イヌ (無麻醉)			4 <sup>2)</sup>	なし	1500	作用なし

1) 報告書には 500-2000mg/kg で書かれているが、どこまでの高濃度を投与したのかは不明である。

2) うち 1 匹は投与 30 分以内に嘔吐したため評価対象から除外した。

3) ラット体重不明のため投与量 (mg/kg) 算出できず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

## 2. 原体混在物及び代謝物を用いた試験

(1) ラットにおける (資料 No.S1)  
急性経口毒性試験 (固定用量法)

検体の純度 :

供試動物 : Wistar (RccHan:WIST) 系雌ラット (未経産及び非妊娠)、8~12 週齢、  
体重 : 162~187 g、一群 5 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 固定用量法  
投与量 2000 mg/kg での見当付け試験 (1 匹) に続いて、同投与量を 4 匹の動物に投与した。

投与方法 : 検体を落花生油に懸濁し、一晚絶食させた動物に 10 mL/kg の容量で単回経口投与した。

試験項目 : 一般状態および死亡の有無を、投与後 30 分、1、2 および 4 時間に観察した。その後 14 日間にわたって、一般状態を 1 日 1 回並びに病的状態および死亡を 1 日 2 回観察した。観察期間中の死亡動物および試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。体重は、投与日、投与後 7 および 14 日 (剖検日) に測定した。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雌 >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌 >2000

一般状態および剖検では、動物に異常は認められなかった。全観察期間を通じて、全動物に順調な体重増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(2) ラットにおける 28 日間反復経口毒性試験 (資料 No.S2)

検体の純度：

供試動物：Wistar (RccHan:WIST)系雌雄ラット、約 6～8 週齢、雄 222～257 g、  
雌 168～193 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：28 日間 (2011 年 10 月 21 日～11 月 18 日)

投与方法：検体を 30、300 および 600 mg/kg/day の用量で、28 日間にわたって投与容量  
4 mL/kg で 1 日 1 回強制経口投与した。対照群には、落花生油 BP のみを投与  
した。

投与量設定根拠：

本検体の急性経口毒性試験の結果に基づいて選定した。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率： 全ての動物について、毒性を示す明らかな徴候、病気および  
行動変化を、投与直前、投与の 30 分後まで並びに就業週中の投与後 1 および 5 時  
間に検査した。週末は、投与直前、直後および投与後 1 時間に動物を観察した。

途中死亡はみられなかった。臨床徴候は、600 mg/kg 群の両性および 300 mg/kg  
群の雄における、投与後短時間および時には最大 1 時間後までの流涎の増加とい  
う一過性の症状に限定されていた。

30 mg/kg 群には、臨床観察所見はみられなかった。

体重： 個体別体重は、1 日目およびその後は毎週測定した。最終屠殺前にも測定した。

週当たりの群平均体重増加量の測定結果を、次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

測定期間	用量							
	雄				雌			
	0	30	300	600	0	30	300	600
1～2週								
2～3週								
3～4週								
4～5週								

t検定またはMann-WhitneyのU検定 ↑↓: <0.01, †‡: <0.05

投与の最初の3週間中に、600 mg/kg 群の雄に体重増加量の低下がみられ、2および3週目中には統計学的に有意 ( $p < 0.01$ ) な低下が明らかにみられた。この結果、対照に比較して全体的な体重増加量の低下となった。

300 および 30 mg/kg 群の雄には体重増加量の低下がみられたが、検出された統計学的有意差は最小限であり ( $p < 0.05$ )、用量に関連した反応は観察されなかった。従って、これらの低下が投与による悪影響を表しているとはみなさなかった。

投与の最終週中に雌に検出された統計学的に有意な増大は、健康に対する悪影響を表しているとはみなさなかった。

摂餌量および食餌効率： 摂餌量は、全試験期間を通じてケージごとに1週間間隔で測定した。食餌効率は、遡及的に計算した。

対照に比較して、600 mg/kg 群の両性に摂餌量の低下(全期間の平均で雄が約13%および雌が約7%)がみられた。雄の食餌効率も、同様に悪影響を受けた。

300 および 30 mg/kg 群の両性には、摂餌量に対する悪影響はみられなかった。

飲水量： ケージごとに1日1回測定した。

600 および 300 mg/kg 群の両性並びに 30 mg/kg 群の雌に、飲水量の増加がみられた。対照群と比較して、全期間の平均で 600 mg/kg 群は飲水量が雄で約30%増加、雌で約43%増加した。また 300 mg/kg 群の雄は約22%増加、雌は約37%増加した。さらに、30 mg/kg 群の雄では飲水量の差異は認められなかったが、雌では約28%の増加を示した。30mg/kg 群の雄は対照群と比較して明確な差は認められなかった。

神経学的検査： 投与開始前並びに4、11、18 および 25 日目に、全ての動物について機能的/行動的な毒性を示す徴候を観察した。機能検査も、様々な刺激に対する感覚反応性の評価と共に、全ての動物について4週目中に実施した。観察は、各場合に投与後約2時間から実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

詳細な状態観察： 以下に示した個体別の詳細な臨床観察を、特製のアリーナを用いて動物ごとに実施した。排尿、排便、移動性及び挙尾については、Irwin(1968年)及びMoser et al.のスコアリングシステムを用いた。

歩行状態、振せん、筋攣縮、痙攣、奇異な行動/異常行動/常同行動、流涎、立毛、眼球突出、流涙、高体温/低体温症、皮膚の色調、呼吸状態、眼瞼閉鎖、排尿、排便、移動性 (transfer arousal)、挙尾

機能検査： 自発運動および前肢/後肢の握力を測定した。

感覚反応性： 各動物について、聴覚、視覚および固有受容性刺激に対する感覚反応性を個体別に評価した。以下のパラメーターを観察した。試験の評価にはIrwin(1968年)及びMoser et al.のスコアリングシステムを用いた。

取り扱い時の反応、接触逃避行動、発声、足指の圧迫刺激および尾部の圧迫刺激に対する反応、接近反応、瞳孔反射、瞬き反射、驚愕反射

全ての用量群の雄において、2週目に排尿頻度の増大が観察された。この所見は、3週目の評価中に600 mg/kg群の両性および300 mg/kg群の雌にもみられた。この影響は30 mg/kg群の雌にはみられなかった。その他、投与に関連した影響は検出されなかった。

血液学的検査： 血液学的および血液生化学的検査は、最終投与日(28日目)に各投与群および対照群からの全ての動物について実施した。血液試料は、尾静脈腹側から採取した。試料採取前には動物を絶食させなかった。

ヘモグロビン量、赤血球数、ヘマトクリット値、赤血球指数(平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積および平均赤血球ヘモグロビン濃度)、総白血球数、白血球百分率(好中球、リンパ球、単球、好酸球および好塩基球)、血小板数、網状赤血球数、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

600および300 mg/kg群の両性に、ヘモグロビン量、赤血球数およびヘマトクリット値の低下がみられた。これらの動物では、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積および網状赤血球数が高く、平均赤血球ヘモグロビン濃度が低かった。また、白血球百分率のうちのリンパ球が600 mg/kg群の雄で低かった。しかし、これらは1または2例の逸脱した値によるものであり、それらの有意性は最小限( $p < 0.05$ )であることから、この結果が投与の影響であるかは不明瞭であった。

30 mg/kg群の両性には、投与に関連した影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

統計学的有意差の認められた項目を、次頁の表に示した。

検査項目	用量					
	雄			雌		
	30	300	600	30	300	600
ヘモグロビン量						
赤血球数						
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						
総白血球数						
白血球百分率/リンパ球						
血小板数						
網状赤血球数						

↑↓: < 0.01、↑↑: < 0.05、表中の数値は対照群の群平均値を 100 とした場合の値を示す。

血液生化学的検査： 上記で採取した血液について、以下の項目を測定した。

尿素、グルコース、総タンパク、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリフォスファターゼ、クレアチニン、総コレステロール、総ビリルビン、胆汁酸

統計学的有意差の認められた項目を、下表に示す。

検査項目	用量					
	雄			雌		
	30	300	600	30	300	600
尿素						
総タンパク						
アルブミン						
アルブミン/ グロブリン比						
カルシウム						
アラニンアミノトランス フェラーゼ						
総コレステロール						

↑↓: < 0.01、↑↑: < 0.05、表中の数値は対照群の群平均値を 100 とした場合の値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

600 mg/kg 群の雄では総タンパク、アルブミンの低下に伴い A/G 比が低下した。また、有意差は無いが血糖の増加も認められた。600 および 300 mg/kg 群の雄では、尿素が増加した。

600 および 300 mg/kg 群の雄では、高い血中尿素値もみられた。このことは、雌においては明らかではなかった。

600 および 300 mg/kg 群の雌並びに 30 mg/kg 群の両性には、投与に関連した血液生化学的変化はみられなかった。

600 および 300 mg/kg 群の雄が、カルシウムレベルに統計学的に有意な上昇を示した ( $p < 0.05$ ) が、用量に関連した反応は観察されず、これらの上昇は正常範囲よりも低い 4 例に起因すると考えられた。

600 mg/kg 群の雄が、アラニンアミノトランスフェラーゼの値に増大を示した ( $p < 0.05$ )。個体別の全ての値は正常範囲内にあり、肝臓の病理組織学的変化が観察されなかったことから、この増大は偶発的に起こったものと考えられた。さらに、600 mg/kg 群の雄に観察されたコレステロール値の統計学的に有意な低下は、正常範囲よりも高い値を示した 3 例に起因すると考えられた。

**肉眼的病理検査：** 投与期間の終了時点で全ての動物を過量のペントバルビトンナトリウムの静脈注射後、放血により安楽死した。全ての動物を完全な外表および体内検査に供試し、肉眼的異常があれば記録した。

600 mg/kg 群の両性並びに 300 mg/kg 群の雌 1 例および雄 2 例に、暗色の脾臓が認められた。雄には対照群と比較して脾臓の肥大もみられた。この他には、投与に関連した肉眼的異常はみられなかった。

**臓器重量：** 試験の終了時点で屠殺した動物から摘出した以下の臓器から脂肪を除去し、固定化する前に秤量した。

副腎、肝臓、脳、卵巣、精巣上体、脾臓、心臓、精巣、腎臓、胸腺、下垂体、甲状腺/上皮小体、前立腺および精囊（凝固腺および内容液を含む）、子宮（子宮頸管を含む）

統計学的有意差の認められた項目を、次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

臓器	項目	用量					
		雄			雌		
		30	300	600	30	300	600
心臓	絶対重量						
	対体重比						
腎臓	絶対重量						
	対体重比						
脳下垂体	絶対重量						
	対体重比						
前立腺/ 精囊	絶対重量						
	対体重比						
脾臓	絶対重量						
	対体重比						

↑↓: < 0.01、↑↑: < 0.05、表中の数値は対照群の群平均値を 100 とした場合の値を示す。

以下の臓器重量の変化は投与の影響と考えられた。

600 および 300 mg/kg 群の雄が、脾臓の絶対及び対体重比重量の両方に統計学的に有意な増加を示し ( $p < 0.01$ )、ほとんどの個体が正常値から逸脱する値を示した。統計学的有意差がみられず用量相関性も明らかではなかったが、600 および 300 mg/kg 群の雌も、脾臓の絶対及び対体重比重量の両方に僅かな増加を示し、幾つかの個体別の値は正常範囲外であった。

このような影響は、30 mg/kg 群の両性では明らかではなかった。

600 mg/kg 群の雄が、対体重比の腎臓重量に統計学的に有意な増加を示し ( $p < 0.01$ )、この投与群には正常範囲よりも高い値の 2 例が検出された。この用量群の雄は、前立腺の絶対及び対体重比重量の両方にも統計学的に有意な減少を示した。みられた有意性は最小限であったが ( $p < 0.05$ )、前立腺の絶対重量に正常範囲よりも低い値の 1 例が観察されおよび対体重比に正常範囲よりも低い 2 例が観察された。

他に被験物質の投与に起因すると考えられる臓器重量の変化はみられなかった。

600 mg/kg 群の雄が、腎臓の絶対重量に統計学的に有意な減少を示した。しかし、300 mg/kg 群の雄は、腎臓の絶対重量に統計学的に有意な増加を示した。これに反して、30 mg/kg 群の雄が、腎臓の絶対重量に統計学的に有意な減少を示した。各場合における有意性は  $p < 0.01$  であり、各用量において 2 例が正常範囲外であっ



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

た。用量に関連した反応がみられなかったことから、これらの群間差は正常範囲外であった対照値 5 例中 4 例に起因していると考えられた。さらに、300 および 30 mg/kg 群の雄が、体重に対比した腎臓重量の増加を示した。全ての個体別の値は正常範囲内にあり、腎臓には何らの病理組織学的変化も観察されなかったことから、これらの増加には毒性学的な重要性はないものと考えられた。

脳下垂体重量（絶対及び対体重比重量の両方）が、600 および 300 mg/kg 群の雄において減少した（それぞれ  $p < 0.01$  および  $p < 0.05$ ）。これらの用量における全ての個体別の値は正常範囲内にあり、従ってこの減少は対照群に観察された絶対重量における正常範囲よりも高い 4 例および体重に対比した値における高い 3 例に起因するものと考えられた。従って、この減少は投与の真の影響を表していないと考えられた。

雄の全投与群で、心臓の絶対重量及び対体重比の有意な増加がみられた。全ての個体別の値は正常範囲内にあり、用量に関連した反応は明らかではなかった。

#### 病理組織学的検査：

以下の組織の試料を全ての動物から摘出し、病理組織学的検査に供試した。

副腎、卵巣、大動脈（胸部）、膵臓、骨および骨髄（膝関節を含む大腿骨）、下垂体、骨および骨髄（胸骨）、前立腺、脳（大脳、小脳および脳橋を含む）、直腸、盲腸、唾液腺（下顎）、結腸、坐骨神経、十二指腸、精囊（凝固腺および内容液を含む）、精巣上体、皮膚（後肢）、眼、脊髄（頸部、中胸部および腰部）、肉眼的病変部、心臓、脾臓、回腸、胃、空腸、精巣、腎臓、胸腺、肝臓、甲状腺/上皮小体、肺（気管支を含む）、気管、リンパ節（下顎および腸間膜）、膀胱、乳腺組織、子宮（子宮頸管を含む）、筋肉（骨格）、膈、食道

検鏡で認められた所見を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	30	300	600	0	30	300	600
検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5
臓器・組織	所見	所見の例数/平均重篤度				所見の例数/平均重篤度			
肝臓									
脾臓									
骨髄	胸骨								
	大腿骨								
膀胱									

統計処理未実施

肝臓において 600 mg/kg 群の両性および 300 mg/kg 群の雄に、髄外造血が観察された。このような影響は、300 mg/kg 群の雌および 30 mg/kg 群の両性ではみられなかった。

脾臓において 600 および 300 mg/kg 群の両性に、鬱血およびヘモシデリン沈着の発現頻度増加および/または程度の悪化が認められ、髄外造血の発現頻度増加および程度の悪化を伴っていた。被膜炎が、600 mg/kg 群の雄 1 例に観察された。このような影響は、30 mg/kg 群ではみられなかった。

骨髄において 600 および 300 mg/kg 群の雄において、赤血球生成の発現頻度の増加が記録された。この変化の発現頻度増加および/または程度の悪化は、300 および 600mg/kg 群の雌にも記録された。

このような影響は、30 mg/kg 群ではみられなかった。

膀胱において 600 および 300 mg/kg 群の雄において、移行上皮には瀰漫性肥大が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

軽微から軽度に、粘膜下固有層には単核細胞巣が軽微に認められ、用量相関があった。

この症状は、雌または 30 mg/kg 群の両性の動物には観察されなかった。

結論：主な臨床所見は、600 mg/kg 体重/day 投与群の雌雄及び 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄における投与後の一過性の流涎増加であった。流涎の増加は、刺激性のある嗜好性の低い被験物質の経口投与後に認められ、600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄及び全投与群の雌に観察された飲水量の増加によって裏付けられた。この結果、投与 2 及び 3 週目に排尿頻度が増加したが、その頻度は試験中に観察された対照群の最大値を上回らなかった（対照群の平均排尿頻度の最大値（スコア）は、雄で 0.4、雌で 0.6（いずれも投与 4 日目）であった）。600 mg/kg 体重/day 投与群では、体重増加量及び摂餌量の低下も観察された。このような影響は、  
から誘導された化合物でよくみられる（BNF,2012 年）。

は、血漿中のタンパク質、特にアルブミンと結合して吸収される（Mandell 及び Petri, 1996 年）。血液生化学的検査では、総タンパク及びアルブミンの低下に伴い A/G 比が低下し、さらに血糖の軽度増加が認められた。このことは、血漿から細胞へのグルコースの輸送阻害によるタンパク質の分解に起因している可能性がある。身体が絶食状態であるかのように反応して、グリコーゲン分解、糖新生、タンパク質分解及び脂肪分解を促進し、ケトン体を生成し、最終的には代謝性アシドーシスをもたらす。グルコースが増加すると、尿素生成の増加を導く浸透圧利尿を引き起こす。体液の消失及び高血糖症は血漿の浸透圧を上昇させ、渴中枢を刺激する。糖新生によるタンパク質のアミノ酸への分解が刺激となり、筋肉の消耗及び体重減少を引き起こす（Chandrasoma 及び Taylor, 1995 年）。血液学的検査の結果、総白血球数の軽度減少（特にリンパ球減少）が明らかになった。この影響はあいまいではあるが、免疫性反応の軽度低下の結果かもしれない。膀胱の病理組織学的検査の結果、600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄の粘膜下固有層に単核細胞巣が認められた。この所見は、被験物質または尿中代謝物による炎症性反応である。600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄では、移行上皮の軽度な瀰漫性肥大が認められたが、他に変性が認められなかったことから、この所見は単核細胞巣の二次的な反応であると考えられた。

血液学的検査の結果、高用量群で溶血性貧血反応が認められた。600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雌雄で、MCH、MCV 及び網状赤血球の増加を伴ったヘモグロビン、赤血球数及びヘマトクリット値の減少が認められた。さらに、600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄には血中尿素の軽度増加がみられ、ヘモグロビンのアミノ酸及び尿素への分解に起因すると考えられた。肉眼的病理検査では、600 mg/kg 体重/day 投与群の雌雄及び 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄 2 例、雌 1 例で脾臓の暗色化及び/または肥大が認められた。さらに、600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雌雄で、脾臓の絶対及び対体重比重量増加が認められた。脾臓の病理組織学的検査では、これらの用量で鬱血、ヘモシデリン沈着及び髓外造血の発

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

現頻度及び程度の悪化が認められた。600 mg/kg 体重/day 投与群の雄 1 例では脾臓の皮膜炎がみられた。また、600 および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雌雄で胸骨及び大腿骨骨髓の赤血球生成の亢進がみられた。これらの影響は、脾臓における赤血球の破壊が増加した結果の代償的反応を示していると考えられた。肝臓では 600 mg/kg 体重/day 投与群の雌雄および 300 mg/kg 体重/day 投与群の雄で随外造血が認められ、これは溶血性貧血に関連したと考えられた。これらは、高用量のを投与した場合に臨床的に報告されている (BNF,2012 年 ; Mandell 及び Petri,1996 年)。

600 mg/kg 体重/day 投与群の雄で、腎臓の対体重比重量の増加が認められた。この用量では、前立腺の絶対及び対体重比重量の減少がみられた。

30 mg/kg 体重/day で認められた所見は、雌の飲水量の増加及び雄のオープンフィールドにおける観察の 2 週目の排尿頻度の増加であった。

30 mg/kg 体重/day における影響は健康に対する悪影響を示しているとは考えられなかった。従って、“無毒性量 (NOAEL)” は 30 mg/kg 体重/day と判断した。

参考文献 :

BNF (March, 2012). Birth National formulary (BNF). Pharmaceutical Press, 62<sup>nd</sup> Edition. (Available online: [www.bnf.org](http://www.bnf.org)).

Chandrasoma, P. and Taylor, C.R. (1995). Concise Pathology, 2<sup>nd</sup> Edition: Chapter 46, The Endocrine Pancreas (Islets of Langerhans). Pp 669-679. Appleton and Lange, Connecticut, USA.

Irwin, S. (1968). Comprehensive Observational Assessment: Ia. A Systematic Quantitative Procedure for Assessing the Behavioral and Physiologic State of the Mouse. *Psychopharmacologia* 13, 222-257.

Mandell, G.L & Petri, W.A. (1996). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9<sup>th</sup> Edition: Section IX, Chapter 44, Antimicrobial Agents. pp 1057-1072. Ed J.G. Hardman, L.E. Limbird, P.B. Molinoff, R.W. Ruddon And A.G Gilman. McGrawHill, USA.

Mayer, O.A., et al.(1979). A Method for the Routine Assessment for Fore- and Hindlimb Grip Strength of Rats and Mice. *Neurobehavioral Toxicology* 1, 233-236.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

Moser, V.C., et al(1988). Comparison of Chlordimeform and Carbaryl using a Functional Observational Battery. *Fundamental and Applied Toxicology* 11,189-206.

Reiter, L.W., and MAcPhail, R.C. (1979). Motor Activity: A Survey of Methods with Potential Use in Toxicology Testing. *Neurobehavioral Toxicology* 1(1), 53-66.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(3

細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.S3)

検体の純度：

試験方法：*Salmonella typhimurium* のヒスチジン要求性の栄養要求性変異株 TA1535、TA1537、TA98 及び TA100 並びに *Escherichia coli* のトリプトファン要求性変異株 WP2 *uvrA* (pKM101) を用い、フェノバルビタール及びラット肝由来の代謝活性化系 (S9mix) の非存在下及び存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

検体は水に溶解し、最高濃度を標準的なガイドラインの限界濃度である 5000  $\mu\text{g}$ /プレートに設定した。用いた他の濃度は、最高濃度から  $\log_{10}$  のほぼ半分の間隔をあけて調製した希釈液とした。

結果の判定は被験物質への暴露により、並行実施した溶媒対照の少なくとも 2 倍 (TA1535 及び TA1537 の場合には 3 倍) の再現性のある復帰変異コロニー数の増加がみられ、明白な用量反応関係の徴候が幾つか認められる場合は、この試験系において復帰突然変異性を示しているものとみなした。

用量設定根拠： 0.005～500  $\mu\text{g}$ /プレートの 11 用量で予備試験を実施したところ、生育阻害は認められなかったため、5000  $\mu\text{g}$ /プレートを最高用量とし、以下 1500、500、150、50、15、及び 5  $\mu\text{g}$ /プレートの 7 用量を設定した。

試験結果：本試験の結果を表 1 及び表 2 に示した。

1 回目の本試験において S9mix の有無に関わらず、全ての菌株において復帰突然変異コロニーに増加は認められなかった。2 回目の試験での同様の結果が得られ、試験結果の再現性が確認された。

結論： 以上の結果から は代謝活性化系を含む本試験条件下で、細菌に対して復帰突然変異性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 本試験結果 (1回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰突然変異コロニー数/プレート (3プレートの平均値 $\pm$ 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照	水	-					
検体	5	-					
	15	-					
	50	-					
	150	-					
	500	-					
	1000	-					
	5000	-					
対照	水	+					
検体	5	+					
	15	+					
	50	+					
	150	+					
	500	+					
	1000	+					
	5000	+					
陽性 対照	2NF	2	-				
	NaN <sub>3</sub>	2	-				
	ACC	50	-				
	NQO	2	-				
	B[a]P	5	+				
	AAN	5	+				
		10	+				

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

AAN : 2-アミノアントラセン

2NF : 2-ニトロフルオレン

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

ACC : 9-アミノアクリジン

NQO : 4-ニトロキノリン 1-オキシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 本試験結果 (2 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の有無	復帰突然変異コロニー数/プレート (3 プレートの平均値 $\pm$ 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i> (pKM101)	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照	水	—					
検体	50	—					
	150	—					
	500	—					
	1500	—					
	5000	—					
対照	水	+					
検体	50	+					
	150	+					
	500	+					
	1500	+					
	5000	+					
陽性 対照	2NF	2	—				
	NaN <sub>3</sub>	2	—				
	ACC	50	—				
	NQO	2	—				
	B[a]P	5	+				
	AAN	5	+				
10		+					

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

AAN : 2-アミノアントラセン

2NF : 2-ニトロフルオレン

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

ACC : 9-アミノアクリジン

NQO : 4-ニトロキノリン 1-オキシド



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(5) 染色体異常

ヒトのリンパ細胞を用いた

(資料 No.S4)

in vitro 染色体異常試験

検体の純度：

試験方法：健康なボランティア 1 名の末梢血から得られたリンパ球の培養細胞を用い、代謝活性化及び非活性化における染色体異常誘発性を検討した。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して、1720  $\mu$ g/mL を最高用量とした。

1 回目の実験では、直接法および代謝活性化法 (4 時間処理後、20 時間の回復時間) に、107.5、215、430、860、1290、1720  $\mu$ g/mL (分裂中期細胞の分析は 430  $\mu$ g/mL 以上について行った) の 6 用量を用いた。2 回目の試験では、直接法 (24 時間処理) 及び代謝活性化法 (4 時間処理後、20 時間の回復時間) に、同じ 6 用量を用いた。全ての陰性対照には、DMSO を用いた。

染色体異常の観察は 100 個の分裂中期細胞を連続的に計数して、異常を有する細胞が約 30~50% になった場合に、スライドの評価を細胞 50 個で終了した (結果的には、陽性対照のみ)。もし細胞が 44~48 本の染色体を有していれば、ギャップ、切断または再配列に注目した。さらに、69 本またはそれを上回る染色体を有している細胞は倍数体として採点し、倍数体の出現頻度 (%) を報告した。

陽性対照は、直接法ではマイトマイシン C (MMC) を、代謝活性化法ではシクロフォスファミド (CP) を用いた。

試験結果：ギャップを含め異常を有する細胞数に基づいて評価した結果を、表 1~4 に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず染色体異常を有する細胞の出現率増加はなかった。陽性対照物質は、異常を有する細胞の出現頻度に統計学的有意な増加を示した。

結論：この試験条件下において、代謝活性化の非存在下および存在下でヒトのリンパ球に対して、検体は染色体異常誘発性を示さないと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 実験 1 (直接法-4 時間暴露)

濃度 ( $\mu$ g/mL)	培養系 および 合計	観察 細胞 数	染色体または染色分体異常を有する細胞数					合計	倍数 体数	分裂 指数
			ギャ ップ	染色 分体 切断	染色 分体 交換	染色 体 切断	染色 体 交換			
陰性対照 (DMSO) 0	A	100								
	B	100								
	合計	200								
430	A	100								
	B	100								
	合計	200								
860	A	100								
	B	100								
	合計	200								
1290	A	100								
	B	100								
	合計	200								
1720	A	100								
	B	100								
	合計	200								
陽性対照 (MMC) 0.4	A	50 <sup>a</sup>								
	B	50 <sup>a</sup>								
	合計	100								

MMC : マイトマイシン C

a : 少なくとも 30% の細胞で異常が観察されたため、スライドの評価は 50 細胞で終了した。

\*\*\* : Fisher の正確検定 P<0.001

DMSO: ジメチルスルホキシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 実験 1 (代謝活性化-4 時間暴露)

濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	培養系 および 合計	観察 細胞 数	染色体または染色分体異常を有する細胞数					合計	倍 数 体 数	分裂 指 数
			ギャ ップ	染色 分体 切断	染色 分体 交換	染色 体 切断	染色 体 交換			
陰性対照 (DMSO) 0	A	100								
	B	100								
	合計	200								
430	A	100								
	B	100								
	合計	200								
860	A	100								
	B	100								
	合計	200								
1290	A	100								
	B	100								
	合計	200								
1720	A	100								
	B	100								
	合計	200								
陽性対照 (CP) 5	A	100								
	B	50 <sup>a</sup>								
	合計	150								

CP : シクロfosファミド

a : 少なくとも 30% の細胞で異常が観察されたため、スライドの評価は 50 細胞で終了した。

\*\*\* : Fisher の正確検定  $P < 0.001$

DMSO: ジメチルスルホキシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 3 実験 2 (直接法-24 時間暴露)

濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	培養系 および 合計	観察 細胞 数	染色体または染色分体異常を有する細胞数						合計	倍数 体数	分裂 指数
			ギャ ップ	染色 分体 切断	染色 分体 交換	染色 体 切断	染色 体 交換	その 他			
陰性対照 (DMSO) 0	A	100									
	B	100									
	合計	200									
430	A	100									
	B	100									
	合計	200									
860	A	100									
	B	100									
	合計	200									
1290	A	100									
	B	100									
	合計	200									
1720	A	100									
	B	100									
	合計	200									
陽性対照 (MMC) 0.2	A	50 <sup>a</sup>									
	B	50 <sup>a</sup>									
	合計	100									

MMC : マイトマイシンC

a : 少なくとも 30% の細胞で異常が観察されたため、スライドの評価は 50 細胞で終了した。

\*\*\* : Fisher の正確検定  $P < 0.001$

DMSO: ジメチルスルホキシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

表 4 実験 2 (代謝活性化-4 時間暴露)

濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	培養系 および 合計	観察 細胞 数	染色体または染色体異常を有する細胞数						合計	倍 数 体 数	分 裂 指 数
			ギャ ップ	染色 分 体 切 断	染色 分 体 交 換	染色 体 切 断	染色 体 交 換	その 他			
陰性対照 (DMSO) 0	A	100									
	B	100									
	合計	200									
430	A	100									
	B	100									
	合計	200									
860	A	100									
	B	100									
	合計	200									
1720	A	100									
	B	100									
	合計	200									
陽性対照 (CP) 5	A	50 <sup>a</sup>									
	B	50 <sup>a</sup>									
	合計	100									

CP : シクロfosファミド

a : 少なくとも 30% の細胞で異常が観察されたため、スライドの評価は 50 細胞で終了した。

\*\*\* : Fisher の正確検定  $P < 0.001$

DMSO: ジメチルスルホキシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(4) マウスリンパ腫細胞を用いた (資料 No.S5)  
in vitro 遺伝子突然変異試験

検体の純度：

試験方法：マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK<sup>+/+</sup>) を用い、代謝活性化系 (S9-mix) の非存在下および存在下で、トリフルオロチミジン耐性の TK<sup>-/-</sup> 遺伝子型細胞 (突然変異体) の出現頻度を指標として突然変異誘発性を試験した。暴露時間は 4 または 24 時間とし、発現期間は 48 時間とした。

検体は、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して処理した。細胞毒性試験の結果に基づいて、最高用量を 1720  $\mu$ g/mL (S9-mix の非存在下および存在下で、共に推奨最高用量に相当する 10 mM) に決定し、マイクロプレート法を用いて 2 連で 2 回の実験を実施した。

1 回目の実験では、直接法および代謝活性化法 (共に 4 時間暴露) 並びに濃度範囲 107.5、215、430、860、1290、1720  $\mu$ g/mL で 6 用量を用いた。2 回目の実験では、直接法および代謝活性化法 (共に 24 時間暴露) で同じ濃度範囲の 6 用量を用いた。

用量群の突然変異体の出現頻度が、溶媒対照 (DMSO) 群と比較して統計学的有意に増大し、再現性があり用量相関性がみられる場合を陽性と判定した。陽性対照は、直接法ではメタンスルホン酸エチル (EMS) を、代謝活性化法ではシクロフォスファミド (CP) を用いた。

試験結果：表に結果を示した (2 連の実験をまとめて)。

実験 1：代謝活性化の非存在下および存在下の両方において、暴露後に検体に誘発された極めて軽度の細胞毒性がみられた。陽性対照は生存細胞当りの突然変異体出現頻度に顕著な増大を生じ、この試験系に問題が無いこと及び代謝活性化系が有効であることを示した。溶媒対照群を上回る突然変異誘発性については、検体のいずれの濃度においてもみられず、両 4 時間処理後の毒性は受け入れ可能なレベルにあった。

実験 2：代謝活性化の非存在下における 24 時間暴露においては、検体への暴露後に 1290 および 1720  $\mu$ g/mL において中等度の細胞毒性を示す徴候がみられた。代謝活性化の存在下の 4 時間暴露では、実験 1 と同様に極めて軽度の細胞毒性徴候がみられた。両陽性対照物質については、受け入れ可能なレベルの毒性がみられた。溶媒対照群を上回る突然変異体出現頻度の増大は、検体について評価した試験濃度のいずれにおいてもみられず、それぞれ S9 mix の非存在下および存

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

在下において、24 および 4 時間処理後の毒性は共に受け入れ可能なレベルにあった。

上記の通り、S9-mix の有無にかかわらず、2 試験のいずれの用量でも、統計学的に有意なまたは用量相関性のある増大を誘発しなかった。検体の沈殿生成は、いずれの用量レベルにおいても観察されなかった。

結論： 検体は、L5178Y 細胞の TK<sup>+</sup>/<sup>-</sup> 遺伝子座に対する遺伝子突然変異誘発性はないものと判断される。

結果の要約表

実験 1

処理濃度 ( $\mu$ g/mL)	4 時間暴露/ S9-mix の非存在下			4 時間暴露/ S9-mix の存在下		
	浮遊細胞 増殖	相対 総増殖率	突然変異体 出現頻度	浮遊細胞 増殖	相対 総増殖率	突然変異体 出現頻度
0						
107.5						
215						
430						
860						
1290						
1720						
EMS 400						
CP 2						

実験 2

処理濃度 ( $\mu$ g/mL)	24 時間暴露/ S9-mix の非存在下			4 時間暴露/ S9-mix の存在下		
	浮遊細胞 増殖	相対 総増殖率	突然変異体 出現頻度	浮遊細胞 増殖	相対 総増殖率	突然変異体 出現頻度
0						
107.5						
215						
430						
860						
1290						
1720						
EMS 150						
CP 2						

EMS : メタンスルホン酸エチル、CP : シクロフォスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

### 3. 製剤

#### (1) 急性毒性

##### 1) 40%液剤のラット及びウサギにおける急性経口毒性試験 (資料 No. 1)

検体の純度：40%液剤

アシユラム (ナトリウム塩) 原体：39% (w/v)

水：61% (w/v)

#### <ラットの急性経口毒性試験>

供試動物：Wistar系ラット (離乳した若齢ラット)、体重平均値 雄：60-62 g 雌：56-62 g、1群雌雄各5匹

観察期間：21日間

投与方法：検体をそのまま投与した。金属製カテーテルを用いて10.0 mL/kg (40%液剤で10000 mg/kg) 及び20.0 mL/kg (40%液剤で20000 mg/kg) の用量を動物の1回強制経口投与した。対照として20.0 mL/kgの蒸留水を同様に投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を21日間毎日観察した。投与当日及びその後1週間ごとに体重を測定し、記録した。観察期間終了後に20000 mg/kg群の全動物について剖検を実施し、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂：0、10000、20000 ♀：0、10000、20000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂：>20000 ♀：>20000
死亡開始時間 及び終了時間	♂：死亡例なし ♀：死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	♂：症状発現なし ♀：症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂：20000 ♀：20000

雌雄各投与群とも異常症状はなく、死亡例も認められなかった。体重も順調な増加を示した。剖検で病変は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

### <ウサギの急性経口毒性試験>

供試動物： New Zealand 白色ウサギ（週齢不明）、体重平均値 雄：1686-1832 g 雌：1690-1798 g、1群雌雄各5匹

観察期間：21日間

投与方法：検体をそのまま投与した。食道に挿入したポリエチレンカテーテルを通じて、5.0 mL/kg (40%液剤で 5000 mg/kg) 及び 10.0 mL/kg (40%液剤で 10000 mg/kg) 用量を動物の胃内に1回強制経口投与した。対照として 10.0 mL/kg の水道水様に投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を21日間毎日観察した。投与当日及びその後1週間ごとに体重を測定し、記録した。試験期間を通して摂餌量を測定した。観察期間終了後に全動物について剖検を実施し、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂：0、5000、10000 ♀：0、5000、10000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂：>10000 ♀：>10000
死亡開始時間 及び終了時間	♂：死亡例なし ♀：死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	♂：症状発現なし ♀：症状発現なし
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	♂：10000 ♀：10000

雌雄各投与群とも異常症状はなく、死亡例も認められなかった。体重も順調な増加を示したが、10000 mg/kg 群雄の試験 1-22 日の群平均体重増加量 (393 g) が対照群 (625 g) と比較して有意に少なかった (p<0.05、Student の t 検定法)。また、10000 mg/kg 群の摂餌量では、雌雄の第1週及び雄の第3週で軽度の低下が認められた。剖検ではすべての動物で病変は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

2) 40%液剤のラット及びモルモットにおける急性毒性試験

(資料 No. 2)

検体の純度：40%液剤

アシュラム（ナトリウム塩）原体：39%（w/v）

水：61%（w/v）

＜ラットの急性経口毒性試験＞

供試動物：CD系ラット、体重約150g、1群雌雄各5匹

観察期間：7日間

投与方法：検体をそのまま投与した。金属製胃ゾンデを用いて10.0 mL/kg（40%液剤で10000 mg/kg）の用量を動物に1回強制経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間毎日観察した。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂：10000 ♀：10000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂：>10000 ♀：>10000
死亡開始時間 及び終了時間	♂：死亡例なし ♀：死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	♂：症状発現なし ♀：症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂：10000 ♀：10000

雌雄とも異常症状はなく、死亡例も認められなかった。

＜モルモットの急性経口毒性試験＞

供試動物：モルモット（系統・週齢・性別不明）、体重約200g、1群5匹

観察期間：7日間

投与方法：検体をそのまま投与した。ゴム製カテーテルを用いて10.0 mL/kg（40%液剤で10000 mg/kg）の用量を動物の胃内に1回強制経口投与した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を7日間毎日観察した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量(mg/kg)	10000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	>10000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	10000

異常症状はなく、死亡例も認められなかった。

#### <ラットの急性経皮毒性試験>

供 試 動 物：CD系ラット、体重約200g、1群雌雄各5匹

観 察 期 間：7日間

投 与 方 法：前日に電気バリカンで刈毛した約2×2インチの皮膚に、注射器を用いて検体を2.5 mL/kg (40%液剤で2500 mg/kg)の用量で塗布した。塗布面積は約1.5×1.5インチとした。その上をアルミ箔で覆い、防水性絆創膏を用いて24時間暴露を行った。暴露時間経過後塗布部位をソープレス洗剤で洗浄し、すすぎと乾燥を行った。

観察・検査項目：中毒症状及び生死ならびに塗布部位を7日間毎日観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投与量(mg/kg)	♂：2500 ♀：2500
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	♂：>2500 ♀：>2500
死亡開始時間 及び終了時間	♂：死亡例なし ♀：死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	♂：症状発現なし ♀：症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂：2500 ♀：2500

雌雄とも塗布部位の皮膚に刺激性反応などは観察されず、全身性の毒性症状もみられなかった。また、死亡例も認められなかった。

#### <モルモットの急性経皮毒性試験>

供 試 動 物：モルモット（系統・週齢・性別不明）、体重約 200 g、1 群 5 匹

観 察 期 間：7 日間

投 与 方 法：前日に電気バリカンで刈毛した約 2×2 インチの皮膚に、検体を 2.5 mL/kg (40% 液剤で 2500 mg/kg) の用量で塗布した。塗布面積は約 1.5×1.5 インチとした。その上をアルミ箔で覆い、防水性絆創膏を用いて 24 時間暴露を行った。暴露時間経過後塗布部位をソープレス洗剤で洗浄し、すすぎと乾燥を行った。

観 察 ・ 検 査 項 目：中毒症状及び生死ならびに塗布部位を 7 日間毎日観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

結 果：

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	2500
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	>2500
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2500

塗布部位の皮膚に刺激性反応などは観察されず、全身性の毒性症状もみられなかった。また、死亡例も認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 40%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 3)

検体の純度： 40%液剤

アシュラム (ナトリウム塩) 原体： 39.2% (w/v)

水： 60.8% (w/v)

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、2-4 ヶ月齢、体重  $2.9 \pm 0.2$  kg、1 群雄 3 匹

観察期間： 貼付除去後 72 時間まで

投与方法： 投与前日に動物の両腹側部を電気バリカンで剃毛した。1 匹の動物に 0.5 mL の検体を乾いたガーゼパッチに添加し、これを左右の腹側部に貼付した。左側腹側部は 3 分間、右側は 4 時間暴露とした。ガーゼパッチを通気性半閉塞布で覆い、絆創膏で固定した。この動物に皮膚刺激性がみられなかったので他の 2 動物にも同様に 4 時間暴露を行った。

観察・検査項目： 暴露時間経過後すべての覆いを除去した。投与部位には残存検体はみられなかった。貼付除去後、1、24、48 及び 72 時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑・痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果： 認められた刺激性変化の採点結果を次頁の表に示す。

3 分間暴露を行った 1 匹にはいずれの観察時間においても皮膚反応は認められなかった。

4 時間暴露を行った 3 匹ともいずれの観察時間においても皮膚反応は認められず、評点の平均は紅斑及び浮腫についてすべて 0.0 であった。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して「刺激性を有さない」と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 皮膚刺激性変化の採点結果—3 分間暴露

最高評点は 4

動物番号	項目	貼付除去後時間				平均 評点 a
		1	24	48	72	
222	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0.0
	浮腫	0	0	0	0	0.0
	その他	*	*	*	*	

a : 貼付除去後 24、48、72 時間の評点から計算

\* : 所見なし

表 2 皮膚刺激性変化の採点結果—4 時間暴露

最高評点は 4

動物番号	項目	貼付除去後時間				平均 評点 a	判定 b
		1	24	48	72		
222	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0.0	(-)
	浮腫	0	0	0	0	0.0	(-)
	その他	*	*	*	*		
278	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0.0	(-)
	浮腫	0	0	0	0	0.0	(-)
	その他	*	*	*	*		
279	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0.0	(-)
	浮腫	0	0	0	0	0.0	(-)
	その他	*	*	*	*		

a : 貼付除去後 24、48、72 時間の評点から計算

b : EEC 基準に従って判定、(+)は刺激性あり、(-)は刺激性なし

\* : 所見なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

2) 60%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 4)

検体の純度： 60%液剤

アシュラム (ナトリウム塩) 原体： 57.6% (w/v)

水： 42.4% (w/v)

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、体重約 2 kg、1 群雄 3 匹

観察期間： 貼付除去から 48 時間

投与方法： 塗布開始前日に剪毛した動物を 3 匹ずつに分け、それぞれ擦傷皮膚部と健全皮膚部を設けた (ともに 2 インチ平方)。1 インチ平方のガーゼに検体 0.1 mL を滴下して皮膚に貼り付け、防水性絆創膏で固定し、体躯をゴム布でくるんだ。その後動物を木製の保定器で 24 時間固定した。

観察・検査項目： 暴露終了後、すべての覆いを除去して適用部位の刺激性変化 (紅斑・痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。貼付除去 48 時間後にも同様に観察・評価した。刺激性化合物の分類は以下の方法で実施した： 擦傷皮膚部と健全皮膚部それぞれについて貼付除去直後と 48 時間後の評点を合計して 1 匹当たりの平均評点を算出する。その和を一次刺激指数とし、指数が 2 以下を軽度刺激性、2 から 6 未満を中等度刺激性、6 以上を重度刺激性と分類する。

結果： 認められた刺激性変化を次表に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

皮膚刺激性変化の採点結果

動物 No.	観察項目	最高 評点	暴露部皮膚の状態			
			非擦過皮膚		擦過皮膚部	
			0 時間後	48 時間後	0 時間後	48 時間後
A	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
B	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
C	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
D	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
E	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
F	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
合計	紅斑・痂皮	24				
	浮腫	24				
平均	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				

空欄は試験未実施

健全皮膚群での両観察時点での合計評点は 0 で 1 匹当たりの平均点は 0、擦傷皮膚群の両観察時点での合計評点は 9 で 1 匹当たりの平均点は 1.5 点となり、一次刺激指数は 1.5 であった。これは「軽度刺激性」と分類された。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して「軽度刺激性」とであると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

3) 40%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. 5)

検体の純度： 40%液剤

アシュラム (ナトリウム塩) 原体： 39.2% (w/v)

水： 60.8% (w/v)

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、2-4ヵ月齢、体重  $2.9 \pm 0.2$  kg、1群雄3匹

観察期間： 点眼後 72 時間

投与方法： 3匹のウサギの左下眼瞼を眼球から穏やかに引き離し、結膜嚢内に 0.1 mL の検体を点眼した後、検体がこぼれないように眼瞼を約 1 秒間穏やかに閉じた。右眼は無処置対照眼とした。洗眼は行わなかった。

観察・検査項目： 角膜、虹彩、結膜に対する刺激反応の観察は点眼 1、24、48 及び 72 時間後に実施した。また、点眼 24 時間後には 0.5%フルオレッセイン液を 1-2 滴点眼した後 UV ランプと検眼鏡による角膜混濁 (有無及び領域) についての検査も実施した。

結果： 認められた刺激性変化の採点結果を次頁の表に示す。

<申請者記載>点眼後 24 時間以内に全動物の結膜に評点 1 から 2 の発赤及び浮腫がみられた。1 例では白色化膿性分泌物も認められた。点眼 48 時間後の観察時にも 1 例に評点 1 の結膜発赤及び浮腫が観察された。72 時間後では刺激性反応を示した動物は認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対して「軽度の刺激性を有する」と考えられる。

[申請者注]報告書では EEC 基準に従って陰性とされているが、結論を変更する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1 眼刺激反応

動物 番号	観察項目		評点 (点眼後時間)				平均 評点 a	判定 b
			1h	24h	48h	72h		
222	角膜混濁	程度						
		広さ						
	虹彩							
	結膜	発赤						
		浮腫						
		分泌物						
その他								
278	角膜混濁	程度						
		広さ						
	虹彩							
	結膜	発赤						
		浮腫						
		分泌物						
その他								
279	角膜混濁	程度						
		広さ						
	虹彩							
	結膜	発赤						
		浮腫						
		分泌物						
その他		*	*	*	*			

最高評点：角膜混濁程度 4、角膜混濁広さ 4、虹彩 2、結膜発赤 3、結膜浮腫 4、結膜分泌物 3

h : 時間

a : 点眼後 24、48、72 時間の評点から計算

b : EEC 基準に従って判定、(+)は刺激性あり、(-)は刺激性なし

S : 白色化膿性分泌物

\* : 所見なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

4) 60%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. 6)

検体の純度： 60%液剤

アシュラム (ナトリウム塩) 原体： 57.6% (w/v)

水： 42.4% (w/v)

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、体重約 2 kg、1 群雄 3 匹

観察期間： 点眼後 7 日間

投与方法： 検体の 0.1 mL を 9 匹のウサギの左眼に点眼し、3 匹はそのままにし、他の 6 匹は 20 mL の微温水 (約 37°C) で洗眼を行ったが、点眼 2 秒後 3 匹と 4 秒後に 3 匹の洗眼とした。全動物の右眼は無処置対照眼とした。

観察・検査項目： 角膜、虹彩、結膜に対する刺激反応の観察は点眼 24、48 及び 72 時間後ならびに 4 日後及び 7 日後に実施した。7 日後の検査では、2%フルオレッセイン液を添加して角膜損傷を調べた。

結果： 試験期間中のどの観察時点においても、すべての動物の角膜、虹彩、結膜に損傷または刺激性反応は全く認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対する刺激性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

### (3) 皮膚感作性

#### 1) 40%液剤のヒトにおけるパッチテスト (皮膚刺激性及び皮膚感性試験) (資料 No. 7)

検体の純度： 40%液剤 [申請者注] 有効成分の含有量等は報告書に未記載

目的： 40%液剤のヒトに対する皮膚刺激性及び接触感作性の有無を調べる。なお、この試験は他の製剤と同時に試験された。

試験方法： 40%液剤そのもの及びその液剤を水で希釈して 13.33%としたものについて試験を行った。具体的な試験構成は以下の通りである。

試験構成；

A: 試験計画は、非盲検のオープン法

B: 供試対象は、Bergen 地方出身の健康な志願者。女性 31 名・男性 29 名

C: Draize-Shelanski 反復投与法を用いた。被験者全員の前腕手掌面皮膚 1×1 インチの範囲に検体及びその希釈液を塗布した。1 日おきに 10 回非閉塞貼付を行った。

刺激性の程度は以下の 5 点法により毎回の塗布ごとに評価した。

反応なし	=	0
軽度の紅斑	=	1
著明な紅斑	=	2
浮腫又は落屑を伴う著明な紅斑	=	3
皮膚のびらん	=	4

接触感作の徴候についても以下のように採点した。

反応なし	=	0
軽度の紅斑	=	1
小水疱を伴う紅斑	=	2
滲出性水疱又は破れた水疱	=	3
接触面を超えて広がる偽足様水疱	=	4

評点 2 以上の反応がみられた場合、同じ部位へのそれ以上の塗布は行わないこととした。

塗布終了の 10 日後に、新たな皮膚部位に 24 時間の惹起塗布を行った。惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に同様に評価を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

結 果： 本検体及びその希釈液に対する被験者全員の皮膚刺激及び接触感作性は「反応なし」で陰性であった。惹起貼付除去 24 及び 48 時間後にも被験者全員が「反応なし」であり、皮膚感作性も陰性であった。

結 論： 本検体ではヒトに対する皮膚刺激性及び皮膚感作性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

## IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

### <代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-1	動物体内動態及び代謝	ラット 雌雄各 5匹	[ <sup>14</sup> C] アシ ユラム 30 及び 300 mg/kg 単回 経口投与 30 mg/kg 反復経口投 与及び単回 静脈内投与	1) 吸収・排泄 急速に吸収され、72 時間までに、尿 (投与 量の 80%以上) 及び糞 (約 17%以下) から排 泄された。 2) 組織内分布 投与 72 時間後の分布 は皮膚・被毛、胃腸管 及びその内容物を除 き 0.2 µg/g 以下。 3) 血中濃度 最高血中濃度はいず れも 30 分以内で用量 に相関。 4) 代謝物 投与量の約 91%が同 定され、大部分は親 化合物(約 77%)		IX- 12
代-2 GLP	動物組織内 分布と体内 動態	ラット 雌雄各 4匹	[ <sup>14</sup> C] アシ ユラム 30 及び 300 mg/kg 単回 経口投与	1) 動態パラメーター  2) 組織内分布 急速かつ大量に吸収 されるが、急速に排泄 され、6 時間後の組織 残留率は投与量の約 5%。		IX- 18

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

資料 No.	試験の 種類	供試動植 物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-3	植物代 謝試験	サトウキ ビ	[ <sup>14</sup> C] アシュ ラム 4 葉期の 植物に 672.5 g-ai/10a 相当 (80 ppm)散布。 14 日後に試料 採取。	処理 14 日後に処理放射能 の 57~81%を回収。親化合 物アシュラムが最も多く		IX- 23
代-4		ライグラ ス	[ <sup>14</sup> C] アシュラ ム 112 g-ai/10a 相当 (63ppm) 散布。28 日目 まで経時的に 試料採取。	14 日後で 85%(21.5ppm)、 28 日後で 67%(10ppm)残 留。		IX- 31
代-5		アルファ ルファ	[ <sup>14</sup> C] アシュラ ム 448 g-ai/10a 相当 (200ppm) 散布。28 日目 まで経時的に 試料採取。	28 日後で 113%(43ppm)残 留。		IX- 41



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

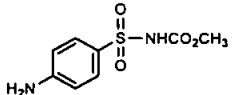
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-6 GLP	植物代謝試験	ほうれんそう	[ <sup>14</sup> C]アシュラム 4 葉期の植物に 2.4 kg a.i./ha 相当を散布。14 日後に試料採取	処理 14 日後の全残留放射能は 184.4mg/kg。全残留放射能 (TRR) の 99.5%はアセトニトリル/水抽出で可溶化した。		IX-51
代-7 GLP	好氣的土壌中動態試験	土壌 4 種類	[ <sup>14</sup> C]アシュラム 4.4 kg a.i./ha 20/10°C	半減期 1.49~3.45 日(20°C) 7.38 日(10°C)		IX-56
代-8 GLP	加水分解動態試験	pH 5、7、9 緩衝液	[ <sup>14</sup> C]アシュラム 4.9 µg/mL、25°C 31 日間	ほとんど分解しない		IX-70
代-9 GLP	水中光分解動態試験	pH4 及び 9 緩衝液	[ <sup>14</sup> C]アシュラム 0.6 mg/L、25°C	春期 (北緯 35° ) DT <sub>50</sub> pH 4 1.36 日 pH 9 2.72 日		IX-73

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代 - 10 GLP	水中光分解 動態試験	自然水	[ <sup>14</sup> C]アシュラム 1 mg/L、 25°C	春期 (北緯 35° ) DT <sub>50</sub> 4.2 日		IX - 82
代 - 11	土壌吸着	土壌 4 種類	OECD GL に準拠 25°C	$K_F^{ads_{oc}} = 11.4 \sim 73.0$		IX - 88
代 - 12 GLP	土壌吸着/脱着	土壌 5 種類、 底質 1 種類	OECD GL に準拠 20°C	$K_F^{ads_{oc}} = 15.4 \sim 149.7$		IX - 91
-	生物濃縮性 試験	logPow < 3.5 のため、試験を省略				IX - 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名 (IUPAC) (Cas Reg. No.)	構造式
アシュラム	親化合物		メチル スルファニルイルカー バメート  (3337-71-1)	 <p>The structure shows a benzene ring with an amino group (H<sub>2</sub>N) at the para position and a methanesulfonamide group (-SO<sub>2</sub>NHCO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) at the other para position.</p>









本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名 (IUPAC) (Cas Reg. No.)	構造式



