

(11) 生体機能への影響に関する試験

1) 原体における一般薬理試験

(資料A-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

ラットおよびマウスの中樞神経系に対する作用

ラットにおける一般状態

供試動物：Slc:SD 系雄性ラット、6 週齢、体重 202~217 g、1 群 5 匹

投与方法：検体に少量の Tween 80 を加え、0.5% w/v カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁して 200, 600 および 2000 mg/kg を経口投与し、Irwin の多次元観察法に基づいて投与前、投与後 15, 30, 60, 120, 180 分および 24 時間に一般状態を観察した。なお、対照群には 0.5% w/v CMC・Na 水溶液を経口投与した。

結果：いずれの投与群においても検体投与に起因する変化は認められなかった。

マウスにおける自発運動量の測定

供試動物：Slc:ICR 系雄性マウス、5 週齢、体重 25.6~30.2 g、1 群 8 匹

投与方法：検体に少量の Tween 80 を加えて混合し、0.5% w/v CMC・Na 水溶液に懸濁して 200, 600 および 2000 mg/kg を経口投与し、投与前 30 分および投与直後から 180 分まで継続して自発運動測定装置スーパーメックスを用いて 30 分毎に自発運動量を測定した。なお、対照群には 0.5% w/v CMC・Na 水溶液を経口投与した。

結果：いずれの投与群においても検体投与に起因する変化は認められなかった。

マウスにおける痙攣誘発作用

供試動物：Slc:ICR 系雄性マウス、5 週齢、体重 27.5~31.2 g、1 群 8 匹

投与方法：検体に少量の Tween 80 を加えて混合し、0.5% w/v CMC・Na 水溶液に懸濁して 200, 600 および 2000 mg/kg を単回経口投与した。投与後 30 分に両耳介より小型動物用電撃刺激装置 7801 を用いて 10mA, 0.8 秒間通電し、電撃刺激後に発現する後肢の痙攣および死亡の有無を観察した。なお、対照群には 0.5% w/v CMC・Na 水溶液を経口投与した。

結果：電撃刺激後、間代性痙攣が対照群を含む全ての投与群で発現したが、死亡例は認められなかった。強直性屈曲痙攣は対照群、200 および 600 mg/kg 群で発現したが、2000 mg/kg 群では認められなかったことから抗痙攣作用が示唆された。強直性伸展痙攣の発現には、対照群と投与群間に差は認められなかった。

ラットの呼吸・循環器系に対する作用

無麻酔ラットの血圧、心拍数に対する作用

供試動物：Slc:SD 系雄性ラット、6 週齢、体重 193~224 g、1 群 6 匹

投与方法：検体に少量の Tween 80 を加えて混合し、0.5% w/v CMC・Na 水溶液に懸濁して 200,

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

600 および 2000 mg/kg を経口投与した。投与前、投与後 60, 120 および 180 分に収縮期血圧および心拍数を非観血式自動血圧測定装置 BP-98A を用いて測定した。それぞれ 3 回測定し、平均値を用いた。

なお、対照群には 0.5% w/v CMC・Na 水溶液を経口投与した。

結果：いずれの投与群においても、収縮期血圧および心拍数に変化は認められなかった。

#### ラットの腎機能に対する作用

##### 尿量、尿中電解質および尿浸透圧の測定

供試動物：Slc:SD 系雄性ラット、6 週齢、体重 189~235 g、1 群 6 匹

投与方法：生理食塩液を 2.5 mL/100g の割合で経口投与した後に、0.5% w/v CMC・Na 水溶液に懸濁した 200, 600 および 2000 mg/kg の検体を経口投与し、直ちに 1 匹ずつを代謝ケージに入れた。投与後 6 時間の尿を採取し、尿量、尿浸透圧、ナトリウム、カリウムおよび塩素濃度を測定した。

なお、対照群には 0.5% w/v CMC・Na 水溶液を経口投与した。

結果：

投与薬物	投与量 (mg/kg)	動物数	尿量 (mL)	Na (mmol/L)	K (mmol/L)	Cl (mmol/L)	尿浸透圧 (mOsm/kg)
溶媒	—	6	8.1	0.51	0.19	0.60	344
ベンチアパリカルブ イソプロピル原体	200	6	7.3	0.45	0.16	0.53	335
	600	6	8.4	0.50	0.17	0.58	363
	2000	6	6.5	0.49	0.14	0.56	454**

\*:p≤0.05 \*\*:p≤0.01 (Dunnnett の多重比較検定)

対照群と比較して、2000 mg/kg 群で尿浸透圧の統計学的に有意な高値を示した。また、同群では尿量の減少が認められたことから、僅かながら尿が濃縮したものと考えられた。

#### ウサギの血液に対する作用

##### 溶血作用

供試動物：Kbl:JW 系ウサギ、20 週齢、体重 3.8~4.2 kg、雄 6 匹

投与方法：各ウサギの耳介静脈から 5 mL の血液を採取してウサギ脱線維血を調製し、 $1 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-5}$  および  $1 \times 10^{-4}$  g/mL 濃度の試験液、空試験液 (0.5% CMC・Na 生理食塩液) 並びに陽性対照 (蒸留水) のそれぞれ 10 mL にウサギ脱線維血を 0.2 mL 添加した後、37°C で 1, 2 および 4 時間インキュベーションした。その後、5 分間遠心分離し、上清の 576 nm における吸光度から溶血率を求めた。

結果：いずれの濃度においても、溶血作用は認められなかった。

以上の結果、本検体は 2000 mg/kg 群で抗痙攣作用が示唆されたが、明らかな中枢抑制作は認められなかった。腎機能に対しては 2000 mg/kg 群で尿に僅かながら濃縮が認められた。また、循環器系に対する作用および溶血作用は有さないことが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

ベンチアバリカルブイソプロピル原体の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	一般状態 [Irwin 法]	ラット	経口 (CMC-Na)	200, 600, 2000	雄 5	2000	影響なし
	自発運動量 [スーパーメックス]	マウス	経口 (CMC-Na)	200, 600, 2000	雄 8	2000	影響なし
	痙攣誘発 [電撃痙攣]	マウス	経口 (CMC-Na)	200, 600, 2000	雄 8	600	2000 mg/kg 群で強直性屈曲痙攣の抑制が認められた。
呼吸・循環器系	収縮期血圧 [Tail-cuff 法]	ラット	経口 (CMC-Na)	200, 600, 2000	雄 6	2000	影響なし
	心拍数 [Tail-cuff 法]	ラット	経口 (CMC-Na)	200, 600, 2000	雄 6	2000	影響なし
腎機能	尿量、尿中電解質、尿浸透圧	ラット	経口 (CMC-Na)	200, 600, 2000	雄 6	600	2000 mg/kg 群で尿浸透圧の上昇が認められた。
血液系	溶血作用	ウサギ	<i>in vitro</i>	$1 \times 10^{-6}$ g/mL $1 \times 10^{-5}$ g/mL $1 \times 10^{-4}$ g/mL	雄 6	$1 \times 10^{-4}$ g/mL	影響なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(12) 発癌メカニズム試験

1) BALB/c 3T3 細胞を用いる二段階トランスフォーメーション試験

(資料A-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) ラットを用いた肝二段階発癌試験ーイニシエーション試験ー (資料A-27)

試験機関：

報告書作成年：2000年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) ラットを用いた肝二段階発癌試験ープロモーション試験ー (資料A-28)

試験機関:

報告書作成年: 2000年



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) マウスを用いた薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験 (資料A-29)

試験機関：

報告書作成年：2001年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

5) ラットを用いた薬物代謝酵素誘導及び肝細胞増殖確認試験

(資料A-30)

試験機関：

報告書作成年：2001年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

6) マウスを用いた肝臓における酸化的 DNA 損傷試験

(資料A-31)

試験機関：

報告書作成年：2001年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

7) ラットを用いた肝臓における酸化的 DNA 損傷試験

(資料A-32)

試験機関：

報告書作成年：2001年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

8) マウスを用いた甲状腺腫瘍発生メカニズム試験

(資料A-33)

試験機関：

報告書作成年：2002年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

9) ラットを用いた甲状腺機能亢進メカニズム試験

(資料A-34)

試験機関：

報告書作成年：2002年



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

10) マウスを用いた甲状腺腫瘍発生メカニズム試験

(資料A-35)

—マウス血清中のTSH測定—

試験機関：

報告書作成年：2003年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 1) 卵巣摘出ラットを用いた子宮肥大及び子宮における細胞増殖確認試験 (資料A-36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 2) ラットを用いた子宮腺癌発生メカニズム試験

(資料A-37)

— 卵巣、子宮及び肝中アロマトラーゼ活性及び血清中性ホルモン—

試験機関：

報告書作成年：2002年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

13) ラットを用いた子宮腺癌発生メカニズム試験

(資料 A-38)

ー肝臓中エストラジオール ヒドロキシラーゼ活性測定ー

試験機関：

報告書作成年：2002年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 4) ラットを用いた子宮腺癌発生メカニズム試験

(資料 A-39)

—肝臓及び子宮中の 8-OHdG の測定及び免疫組織学的解析—

試験機関：

報告書作成年：2002 年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

15) 肝臓腫瘍発生メカニズム試験

(資料 A-39-1)

—マウスを用いた肝細胞増殖活性測定—

試験機関：

報告書作成年：2003年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

16) 肝臓腫瘍メカニズム試験

(資料A-39-2)

—マウス及びラット肝臓における肝細胞増殖活性測定—

試験機関：

報告書作成年：2005年



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

## 2. 原体混在物及び代謝物

### (1) 急性経口毒性

1) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-40)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度:

供試動物: F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重: 雄 92~101 g、雌 77~87 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC·Na) 水溶液に懸濁し、482, 579, 694, 833 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。検体投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	482, 579, 694, 833, 1000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 545 (484~603) 雌: 467 (289~578)
死亡開始時間および終了時間	投与後 1 日から開始 投与後 3 日に終了
症状発現時間および消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 11 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも <482

中毒症状としては、雌雄に関係なく歩行異常、自発運動低下、側臥位、腹臥位、流涎及び流涙が観察され、更に 694 mg/kg の雄 1 例では円背位及び被毛の汚れが観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、死亡例の雌雄に前胃の黒色斑点/区域、更に雌に脾臓の萎縮、胃の暗褐色内容物、胃の白色化、腺胃の出血、小腸の黒色内容物が認められた。生存例では主要な組織臓器に特記すべき変化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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-41)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

検体の純度：

供試動物：F344/DuCrj ラット、6週齢、体重：雄 116～127 g、雌 89～93 g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC·Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に16時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。投与直前、試験第7日および14日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	投与後1時間から発現 投与後3日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状としては、雌雄に関係なく歩行異常、自発運動低下及び腹臥位が観察され、更に雌では側臥位及び流涙が観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、観察終了時の雌雄各1例に肝臓の奇形結節が認められたが、いずれも自然発生性の変化と考えられた。それ以外に主要な組織臓器に特記すべき変化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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-42)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

供試動物：F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重：雄 90~107 g、雌 83~88 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	投与後 1 時間から発現 投与後 2 時間に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動低下が観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、主要な組織臓器に特記すべき変化は認められなかった。

4) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-43)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：

供試動物：F344/DuCrj ラット、6週齢、体重：雄 96～106 g、雌 77～83 g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、350, 455, 592, 769 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に16時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。投与直前、試験第7日および14日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	350, 455, 592, 769, 1000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：605 (504～726) 雌：545 (469～630)
死亡開始時間および終了時間	投与後1日から開始 投与後4日に終了
症状発現時間および消失時間	投与後1時間から発現 観察期間終了時まで継続
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 350

中毒症状としては、雌雄に関係なく歩行異常、自発運動低下、横転、側臥位、腹臥位、強直性痙攣、流涎、流涙及び被毛の汚れが観察され、更に雄3例では立毛、雌3例では円背位が観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、死亡例の雄に前胃の黒色斑点/区域、前胃の白色斑点/区域、脾臓の萎縮、胸腺の萎縮、副腎の肥大、胃の黒色内容物、腺胃の黒色斑点/区域、小腸の黒褐色内容物、精嚢の萎縮及び膀胱の内腔拡大が認められたが、生存例では主要な組織臓器に特記すべき変化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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

5) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-44)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度:

供試動物: F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重: 雄 101~107 g、雌 81~88 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC·Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状及び体重推移のいずれにおいても検体投与による影響は認められなかった。剖検所見では、観察終了時の雄 1 例及び雌 2 例に肝臓の奇形結節が認められたが、いずれも自然発生性の変化と考えられた。それ以外に特記すべき変化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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

6) 混在物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-45)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度:

供試動物: F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重: 雄 93~102 g、雌 78~82 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状及び体重推移のいずれにおいても検体投与による影響は認められなかった。剖検所見では、雌 1 例に肝臓の奇形結節が認められたが、自然発生性の変化と考えられた。それ以外に特記すべき変化は認められなかった。

7) 混在物      のラットにおける急性経口毒性試験      (資料A-46)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度:

供試動物: F344/DuCrlj ラット、6 週齢、体重: 雄 94~104 g、雌 79~83 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	投与後 2 時間から発現 投与後 5 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動低下、歩行異常、腹臥位及び被毛の汚れが観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、雄の 1 例で胸腺及び精巣の萎縮が認められたが、検体投与によるものではないと考えられた。それ以外に主要な組織臓器に特記すべき変化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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

8) 混在物      のラットにおける急性経口毒性試験      (資料A-47)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

供試動物：F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重：雄 90～102 g、雌 76～80 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	投与後 2 時間から発現 投与後 4 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動低下、腹臥位及び流涙が観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、主要な組織臓器に特記すべき変化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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

9) 混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-48)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

供試動物：F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重：雄 98～104 g、雌 77～81 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状及び体重推移のいずれにおいても検体投与による影響は認められなかった。また、剖検所見においても、主要な組織臓器に特記すべき変化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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

10) 混在物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-49)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度:

供試動物: F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重: 雄 91~99 g、雌 78~84 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC·Na) 水溶液に懸濁し、521, 729, 1020, 1429 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	521, 729, 1020, 1429, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 1198 (941~1551) 雌: 840 (574~1151)
死亡開始時間および終了時間	投与後 1 日から開始 投与後 3 日に終了
症状発現時間および消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 5 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄: 521 雌: <521

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動低下、被毛の汚れ、腹臥位、軟便及び歩行異常が観察された。

体重推移は 1429 mg/kg 群の雄 1 例に体重増加抑制が認められた。

剖検所見では、521, 729, 1020 及び 1429 mg/kg 群の雄 1 例に精囊の萎縮が認められたが、521, 729 および 1020 mg/kg 群は個体差と考えられ、1429mg/kg は高投与量による全身性侵襲による二次的な変化と考えられた。それ以外では主要な組織臓器に特記すべき変化は認められなかった。

[申請者註] 現在の原体の製造法では、混在物  
する精製工程が追加されている。

を低減

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 1) 混在物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-50)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

供試動物：F344/DuCrj ラット、6 週齢、体重：雄 91~98 g、雌 73~85 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 2.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC・Na) 水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に 16 時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与直前、試験第 7 日および 14 日に体重測定を行なった。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	投与後 4 時間から発現 投与後 24 時間に終了
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状としては、雌雄に関係なく軟便が観察された。

観察期間中の体重は順調に増加した。

剖検所見では、雌 1 例に肝臓の奇形結節が認められたが、自然発生性の変化と考えられた。

それ以外に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 変異原性

1) 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-51)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、TA1535 株を除くいずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示した。TA1535 株では S-9 Mix 非存在下で復帰突然変異コロニー数の増加傾向を認めなかったが、S-9 Mix 存在下では 51.2~800  $\mu$ g/plate で陰性対照の 1.36~1.82 倍の復帰突然変異コロニー数が観察され、増加傾向が認められた。

また、TA100, TA98 及び TA1537 株では S-9 Mix 存在の有無に関わらず、5000  $\mu$ g/plate で菌株の生育阻害作用を認め、TA1537 株では S-9 Mix 存在下 2000  $\mu$ g/plate でも生育阻害作用が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量 (S-9 Mix 存在下の TA1537 株のみ 7 用量) を設定した。

更に、本試験では TA1535 株の S-9 Mix 存在下 156 及び 313  $\mu$ g/plate で復帰突然変異コロニー数の増加傾向が認められたため、TA1535 株のみを用いて S-9 Mix 存在下で確認試験を実施した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は、TA1535 株を除く各菌株では S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

また、確認試験の結果、復帰突然変異コロニー数の増加傾向を認めなかったことから、用量設定試験及び本試験での復帰突然変異コロニー数の増加傾向は陽性反応によるものではないと判断された。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな突然変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (代謝物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

本試験

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト 型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	81	8	26	18	6
代謝物	156	—	96	8	23	19	6
	313	—	71	5	20	15	6
	625	—	61	10	14	21	7
	1250	—	47	6	12	12	4
	2500	—	26*	3	11	11	4
	5000**	—	5*	0	4	0*	1*
陽性 対照	陽性対照物質名		AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu$ g/plate)		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		462	315	167	611	276
溶媒対照 (DMSO)	0	+	96	7	19	21	9
代謝物	78.1	+	—	—	—	—	12
	156	+	98	11	22	22	9
	313	+	105	11	24	19	9
	625	+	114	9	20	17	9
	1250	+	84	7	15	9	8*
	2500**	+	48*	6	15	0*	1*
	5000**	+	1*	0	3	0*	1*
陽性 対照	陽性対照物質名		2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu$ g/plate)		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		930	237	756	422	192

\* : 菌株の生育阻害が認められた。

\*\* : 検体の析出が認められた。

— : 試験せず

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

確認試験

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	+	—	11	—	—	—
代謝物	32.8	+	—	10	—	—	—
	41.0	+	—	11	—	—	—
	51.2	+	—	11	—	—	—
	64.0	+	—	15	—	—	—
	80.0	+	—	12	—	—	—
	100	+	—	14	—	—	—
陽性 対照	2-AA	2	+	—	266	—	—
溶媒対照 (DMSO)	0	—	—	11	—	—	—
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	0.5	—	—	456	—	—

— : 試験せず    2-AA : 2-aminoanthracene    NaN<sub>3</sub> : sodium azide

確認試験

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	+	—	11	—	—	—
代謝物	32.8	+	—	10	—	—	—
	41.0	+	—	11	—	—	—
	51.2	+	—	11	—	—	—
	64.0	+	—	15	—	—	—
	80.0	+	—	12	—	—	—
	100	+	—	14	—	—	—
陽性 対照	2-AA	2	+	—	266	—	—
溶媒対照 (DMSO)	0	—	—	11	—	—	—
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	0.5	—	—	456	—	—

2-AA : 2-aminoanthracene    NaN<sub>3</sub> : sodium azide    — : 試験せず

2) 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-52)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、また、S-9 Mix 存在下及び非存在下 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の全ての菌株で生育阻害作用が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000 あるいは 2500  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められず、また、いずれの菌株においても最高用量群で生育阻害作用が認められた。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (代謝物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	97	13	22	21	8
代謝物	78.1	—	90	—	—	18	6
	156	—	99	12	19	16	7
	313	—	94	13	22	20	8
	625	—	106	14	19	15	6
	1250	—	71*	10	18	14	6
	2500	—	24*	4*	16*	12*	2*
	5000	—	—	0*	0*	—	—
陽性対照	陽性対照物質名		AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		483	433	165	554	246
溶媒対照 (DMSO)	0	+	107	11	26	29	14
代謝物	78.1	+	106	13	—	—	14
	156	+	118	13	30	27	12
	313	+	120	12	25	28	11
	625	+	125	9	23	32	15
	1250	+	118	12	23	35	10
	2500	+	98*	10*	22	28	7*
	5000	+	—	—	8*	5*	—
陽性対照	陽性対照物質名		2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		887	354	763	363	156

\* : 菌株の生育阻害が認められた。

— : 試験せず

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide    2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide    9-AA : 9-aminoacridine chloride

3) 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-53)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$  g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、TA98 株の S-9 Mix 非存在下で復帰突然変異コロニー数の増加を認めなかったが、S-9 Mix 存在下で 320~2000  $\mu$  g/plate で陰性対照の 2.47~3.83 倍の復帰突然変異コロニーが観察され、明らかな用量相関性の増加が認められた。その他の菌株ではいずれの用量においても陰性対照と同等の値を示した。

また、WP2 *uvrA* 以外の各菌株において S-9 Mix 非存在下 5000  $\mu$  g/plate で菌の生育阻害作用が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000 あるいは 2500 (S-9 Mix 存在下 TA98 株のみ)  $\mu$  g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

TA98 株では、S-9 Mix 存在下における検体処理群の比較的広範囲な用量域で復帰突然変異コロニー数に明確な増加が認められた。変異原性強度の相対的比較値である比活性の最大値は本試験における 313  $\mu$  g/plate の 110 (mg 当たり) となり、非常に弱い変異原性を認めた。

しかし、その他の各菌株では、S-9 Mix 存在の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide (NaN<sub>3</sub>) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰突然変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (代謝物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陽性と判断される。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	98	10	28	23	9
代謝物	156	—	100	9	29	23	5
	313	—	94	8	23	19	8
	625	—	90	9	28	23	8
	1250	—	84	8	22	18	9
	2500**	—	49	6	23	17	7
	5000**	—	9*	1*	16	3*	3*
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		603	439	163	713	314
溶媒対照 (DMSO)	0	+	103	9	28	23	12
代謝物	78.1	+	—	—	—	22	—
	156	+	113	7	30	42	16
	313	+	123	13	29	57	16
	625	+	117	11	26	72	16
	1250	+	111	9	25	139	14
	2500	+	69	7	26	91	17
	5000**	+	25	3	16	—	1*
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		878	269	883	409	182

\* : 菌株の生育阻害が認められた。

— : 試験せず

\*\* : WP2 *urvA* を除いたその他の菌株に検体の析出が認められた。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

4) 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-54)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、また、S-9 Mix 存在下及び非存在下の全ての菌株で試験菌株に対する生育阻害作用が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000 あるいは 2500  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められず、また、いずれの菌株においても最高用量群で生育阻害作用が認められた。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (代謝物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	91	13	23	19	7
代謝物	78.1	—	80	12	—	—	—
	156	—	81	10	25	19	7
	313	—	80	14	16	20	5
	625	—	89	12	25	21	7
	1250	—	75*	7	18	13	9
	2500	—	59*	5*	22	12	6
	5000	—	—	—	6*	2*	5*
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		452	344	152	585	346
溶媒対照 (DMSO)	0	+	97	13	26	26	14
代謝物	78.1	+	96	14	—	—	—
	156	+	109	14	21	32	10
	313	+	96	11	18	23	11
	625	+	100	7	16	38	9
	1250	+	111	14	16	36	16
	2500	+	83*	9*	26	37	12*
	5000	+	—	—	17*	25*	12*
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		711	326	777	385	155

\* : 菌株の生育阻害が認められた。 — : 試験せず

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide 2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide 9-AA : 9-aminoacridine chloride

5) 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-55)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、増加傾向は認められなかった。また、いずれの菌株においても最高用量群で検体の析出により菌の生育状況が観察不能であった。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。また、いずれの菌株においても最高用量群で検体の析出により菌の生育状況が観察不能であった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (代謝物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	83	8	24	12	8
代謝物	156**	—	90	10	20	14	9
	313**	—	77	11	18	19	6
	625**	—	99	8	25	8	8
	1250**	—	76	6	22	8	4
	2500**	—	65	4	23	9	3
	5000**	—	51*	2*	17*	9*	3*
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		558	358	173	502	306
溶媒対照 (DMSO)	0	+	91	8	19	26	13
代謝物	156	+	98	9	23	27	12
	313	+	104	7	24	23	14
	625**	+	112	11	24	28	12
	1250**	+	98	9	24	25	10
	2500**	+	103	7	23	22	9
	5000**	+	89*	8*	21*	14*	7*
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		793	273	842	343	147

\* : 検体の析出により菌の生育状況が観察不能。

\*\* : 検体の析出が認められた。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

6) 混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-56)

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2001年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

〔用量設定根拠〕

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、また、いずれの菌株においても 5000  $\mu$ g/plate で生育阻害作用が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められず、また、いずれの菌株においても最高用量群で生育阻害作用が認められた。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰突然変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (混在物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	15	31	21	8
混在物	156**	—	97	13	33	22	7
	313**	—	106	12	27	20	6
	625**	—	117	14	29	19	7
	1250**	—	87	8	32	16	2
	2500**	—	82	10	26	9	1*
	5000**	—	60*	7*	30*	5*	0*
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		604	523	171	620	289
溶媒対照 (DMSO)	0	+	110	12	29	25	16
混在物	156**	+	101	12	30	27	14
	313**	+	97	12	29	26	13
	625**	+	101	10	34	26	13
	1250**	+	103	10	29	27	12
	2500**	+	98	9	30	22	9*
	5000**	+	101*	10*	22*	21*	6*
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		874	284	768	347	144

\* : 菌株の生育阻害が認められた。 \*\* : 検体の析出が認められた。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide 2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide 9-AA : 9-aminoacridine chloride

7) 混在物                      の細菌を用いる復帰突然変異試験                      (資料A-57)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、増加傾向は認められなかった。TA1535 株の S-9 Mix 非存在下 2000  $\mu$ g/plate で生育阻害作用が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。また、TA1535 株においては高用量群で生育阻害作用が認められたが、他の菌株においては高用量群析出物により生育阻害作用の有無が判定できなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (混在物                      ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	110	12	35	27	10
混在物	156	—	115	13	34	30	11
	313	—	112	11	28	26	8
	625**	—	104	8	33	29	11
	1250**	—	118	11	30	26	10
	2500**	—	91	9*	19	20	10
	5000**	—	99***	8***	22***	22***	8***
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		558	549	168	585	293
溶媒対照 (DMSO)	0	+	112	13	31	33	18
混在物	156	+	108	12	34	23	15
	313	+	118	10	37	27	16
	625	+	112	10	31	31	15
	1250**	+	113	9	37	27	14
	2500**	+	111	10*	30	30	11
	5000**	+	103***	10***	22***	22***	11***
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		947	263	886	426	156

\* : 菌株の生育阻害が認められた。

\*\* : 検体の析出が認められた。

\*\*\* : 検体の析出により生育状況が観察不能。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide    2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide    9-AA : 9-aminoacridine chloride

8) 混在物                      の細菌を用いる復帰突然変異試験                      (資料A-58)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2001 年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、ブレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、増加傾向は認められなかった。また、S-9 Mix 非存在下において、TA1535 株の 5000  $\mu$ g/plate で復帰突然変異コロニー数の低下が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 7 用量を設定した。

試験結果 : 結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (混在物                      ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	91	9	30	25	8
混在物	78.1	—	89	10	29	26	8
	156	—	90	9	22	20	7
	313	—	90	9	24	24	7
	625*	—	82	13	28	24	8
	1250*	—	76	6	22	13	3
	2500*	—	68	2	20	13	4
	5000*	—	37	1	17	8	4
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		509	354	141	692	348
溶媒対照 (DMSO)	0	+	91	11	30	33	16
混在物	78.1	+	87	12	35	36	17
	156	+	87	9	32	34	18
	313	+	104	10	35	40	18
	625*	+	104	12	30	40	17
	1250*	+	98	4	28	28	9
	2500*	+	88	5	26	31	8
	5000*	+	88	3	25	34	8
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		848	279	790	448	135

\* : 検体の析出が認められた。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

9) 混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料A-59)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、増加傾向は認められなかった。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 5000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) 9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (混在物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト 型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	121	11	25	26	9
混在物	156*	—	111	11	27	20	8
	313*	—	115	11	23	17	8
	625*	—	104	7	23	15	5
	1250*	—	98	7	21	13	4
	2500*	—	76**	8**	21**	16**	4**
	5000*	—	70**	10**	22**	13**	4**
陽性 対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		604	526	170	661	423
溶媒対照 (DMSO)	0	+	102	13	24	29	17
混在物	156*	+	105	11	27	31	15
	313*	+	112	11	29	24	15
	625*	+	98	10	26	27	16
	1250*	+	116	8	26	29	12
	2500*	+	107**	11**	25**	30**	9**
	5000*	+	98**	9**	23**	34**	9**
陽性 対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		980	273	897	376	133

\* : 検体の析出が認められた。

\*\* : 検体の析出により生育状況が観察不能。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

10) 混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-60)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$  g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、検体投与群の復帰突然変異コロニー数には、TA98 株の S-9 Mix 存在下における 128~800  $\mu$  g/plate で 320  $\mu$  g/plate (陰性対照の 5.27 倍) をピークとする明確な増加が観察された。その他の各試験菌株では、S-9 Mix 存在の有無に関わらず、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数が陰性対照群と同等の値を示し、増加傾向は認められなかった。また、各菌株において S-9 Mix 存在の有無に関わらず、低用量あるいは中用量以上の群で菌株の生育阻害作用が認められた。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では以下に示した用量を最高用量として、それぞれ 6 用量 (公比 2) を設定した。

試験系	最高用量 ( $\mu$ g/plate)				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
S-9 Mix 非存在下	20.0	160	320	160	80.0
S-9 Mix 存在下	320	320	1280	1280	320

更に、用量設定試験の S-9 Mix 非存在下において、WP2 *uvrA* を除く各菌株に対する細胞毒性が強く、生育阻害作用の認められない用量が 4 用量未満であったため、本試験の結果を確認するために同一条件下で追加試験を実施し、以下に示した用量を最高用量としてそれぞれ 6 用量 (公比 2) を設定した。

試験系	最高用量 ( $\mu$ g/plate)			
	TA100	TA1535	TA98	TA1537
S-9 Mix 非存在下	20.0	160	160	80.0



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験結果：結果を次表に示した。

TA98 株では、S-9 Mix 存在下における検体処理群の比較的広範囲な用量域で復帰突然変異コロニー数に明確な増加が認められた。変異原性強度の相対的比較値である比活性の最大値は、本試験における  $160 \mu\text{g/plate}$  の 875 (mg 当たり) と計算され、既知変異原性物質と比較して非常に弱い変異原性を認めた。

その他の各菌株では S-9 Mix の有無に関わらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

また、追加試験の結果、各菌株のいずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は対照群と同等の値を示して増加傾向を認めず、高用量群で菌株の生育阻害作用が観察された。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ )、9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな突然変異誘発作用を示した。

以上の結果より、検体（混在物）は本試験条件下において、S-9 Mix 存在下におけるネズミチフス TA98 菌株に対して突然変異を誘発するものと判断される。

[申請者註] 現在の原体の製造法では、混在物  
する精製工程が追加されている。

を低減

本試験

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	112	11	31	24	8
混在物	0.625	—	101	—	—	—	—
	1.25	—	102	—	—	—	—
	2.50	—	100	—	—	—	9
	5.00	—	111	10	—	20	8
	10.0	—	119	12	24	21	8
	20.0	—	97*	14	30	23	6
	40.0	—	—	11	22	21	4*
	80.0	—	—	0*	25	12*	5*
	160	—	—	0*	28*	0*	—
320	—	—	—	3*	—	—	
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		436	483	165	513	288
溶媒対照 (DMSO)	0	+	102	13	30	31	12
混在物	10.0	+	121	12	—	—	12
	20.0	+	127	12	—	—	13
	40.0	+	122	12	32	47	15
	80.0	+	127	14	32	70	14
	160	+	127	15	33	171	13
	320	+	111*	10*	23	241	8*
	640	+	—	—	15*	60*	—
1280**	+	—	—	0*	0*	—	
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		694	287	774	338	152

\* : 菌株の生育阻害が認められた。 \*\* : 検体の析出が認められた。

— : 試験せず

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

追加試験

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>urvA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	102	13	—	24	7
混在物	0.625	—	108	—	—	—	—
	1.25	—	99	—	—	—	—
	2.50	—	115	—	—	—	9
	5.00	—	101	14	—	21	7
	10.0	—	105	13	—	18	7
	20.0	—	104*	13	—	20	7
	40.0	—	—	10	—	20	6*
	80.0	—	—	0*	—	7*	2*
160	—	—	0*	—	0*	—	
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	—	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	—	0.1	80
	コロニー数/plate		515	481	—	541	309

\* : 菌株の生育阻害が認められた。 — : 試験せず

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

1 1) 混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料A-61)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの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、プレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

[用量設定根拠]

8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000 及び 5000  $\mu$ g/plate の 8 用量で実施した用量設定試験では、いずれの用量においても復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同等の値を示し、また、S-9 Mix の有無に関わらず中用量あるいは高用量において菌株の生育阻害が観察され、S-9 Mix 非存在下において、TA98 及び TA1537 株の 2000  $\mu$ g/plate 以上あるいは 5000  $\mu$ g/plate で復帰突然変異コロニー数の減少が観察された。それに対して、陽性対照物質は各菌株において、陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数を誘発した。

以上により、本試験では 500、1000 あるいは 2000  $\mu$ g/plate を最高用量として、公比 2 でそれぞれ 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無に関わらず、陰性対照群と比較して復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)、sodium azide ( $\text{NaN}_3$ )、9-aminoacridine chloride (9-AA) 及び 2-aminoanthracene (2-AA) は、すべての試験菌株で明らかな復帰変異誘発作用を示した。

以上の結果より、本試験条件下において検体 (混在物 ) の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判断される。

表中の数値は3枚のプレートの平均値

供試物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	—	93	11	25	19	7
混在物	15.6	—	106	—	—	15	8
	31.3	—	96	9	—	19	8
	62.5	—	91	12	19	17	9
	125	—	88	11	22	14	8
	250**	—	79*	10	19	14*	7
	500**	—	56*	13	24	8*	3*
	1000**	—	—	13*	24		
2000**	—	—	—	17*	—	—	
陽性対照	陽性対照物質名	—	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		0.01	0.5	0.01	0.1	80
	コロニー数/plate		538	488	158	581	313
溶媒対照 (DMSO)	0	+	99	11	24	28	16
混在物	31.3	+	—	—	—	—	19
	62.5	+	108	10	23	30	13
	125	+	106	12	24	25	16
	250**	+	108	8	26	22	12
	500**	+	93	10	32	23	9
	1000**	+	84	10	26	21	9*
2000**	+	88*	8*	23*	20*	—	
陽性対照	陽性対照物質名	+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )		1	2	10	0.5	2
	コロニー数/plate		791	294	742	484	179

\* : 菌株の生育阻害が認められた。

\*\* : 検体の析出が認められた。

— : 試験せず

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide      2-AA : 2-aminoanthracene

NaN<sub>3</sub> : sodium azide      9-AA : 9-aminoacridine chloride

### 3. 製 剤

#### (1) 急性毒性

##### 1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-62)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：15.0%顆粒水和剤（試験名：KIF-230 15% WG）

〔組成〕 ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%  
鋳物質微粉、界面活性剤等 85.0%

供試動物：CrI:CD(SD)IGS BR 系ラット、8～11 週齢、体重：雄 221～238 g、雌 207～219 g、  
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を蒸留水に懸濁し、0.4 g/ml の濃度に調製し、絶食時の個体別体重に基づいて、5 ml/kg の容量を単回経口投与した。投与前に 17～20 時間絶食した。

観察・検査項目：投与後 1, 2.5 および 4 時間に死亡の有無および中毒症状の観察を行った。その後 14 日間の観察期間終了まで 1 日 2 回死亡の有無を確認すると共に、毎日臨床症状の観察を行った。投与前（試験第 1 日）、試験第 8 日および観察終了時（試験第 15 日）に体重測定を行った。観察期間終了時に全生存動物について炭酸ガス吸入により屠殺し、組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：概要を下表に示す。

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

投与による特記すべき症状は観察されなかった。観察期間終了時の肉眼的病理検査では、雄 1 匹に矮小精巢がみられたが、偶発的所見で投与に関連したとは考えられなかった。観察期間中の体重も順調に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料A-63)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：15.0%顆粒水和剤（試験名：KIF-230 15% WG）

〔組成〕 ベンチアパリカルブイソプロピル 15.0%  
鋳物質微粉、界面活性剤等 85.0%

供試動物：Crl:Han Wist(Glx:BRL)BR 系ラット、8～11 週齢、体重：雄 270～306 g、雌 192～208 g、  
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体（2000 mg）を 0.2 mL の水で湿らせ、刈毛した背部皮膚（5×5 cm）に 24 時間半閉塞塗布した。皮膚に残った検体は湿らせた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：概要を下表に示す。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >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	投与後 1 時間から開始 投与後 3 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

臨床症状としては、雌雄に関係なく鼻部の汚れおよび雌 4 例に肛門性器の汚れが認められたが、3 日目までには完全に回復した。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に、刺激性変化及びその他の異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料A-64)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：15.0%顆粒水和剤（試験名：KIF-230 15% WG）

〔組成〕 ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%  
鋳物質微粉、界面活性剤等 85.0%

供試動物：Cri:WI(Glx/BRL/Han)BR 系ラット、12 週齢、体重：雄 306～340 g、雌 199～232 g、  
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

暴露方法：暴露チャンバーの上部に取り付けた Auger 粉体供給機を用いて検体混合空気を生成し、4 時間鼻部暴露した。限度試験における最高暴露濃度である 5 mg/l を暴露濃度とした。試験空気生成装置による検体消費量と暴露チャンバー内空気流量から理論暴露濃度を算出すると共に、試験空气中検体の重量から実際の暴露濃度を測定した。

暴露条件：

設定有効成分濃度 (mg/L)	5.0
理論検体暴露濃度 (mg/L)	74.52
暴露有効成分濃度実測値 (mg/L)	5.53
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ )	3.6
呼吸可能な粒子 ( $<4\mu\text{m}$ ) の割合	52～62%
チャンバー容積 (L)	40
チャンバー内通気量 (L/分)	14
暴露条件	ダスト、4 時間、鼻部暴露

観察・検査項目：暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状及び生死を観察した。  
死亡動物及び観察期間終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：概要を下表に示す。

投与方法	吸 入
暴露有効成分濃度 (mg/L)	5.53
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雌雄とも >5.53
死亡開始時間および 終了時間	死亡例なし
症状開始時間および 終了時間	暴露中から発現 暴露後 3 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/l)	5.53



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

中毒症状としては、雌雄に関係なく頻回呼吸、不整呼吸及び頭部の褐色化が認められたが、3日後には消失した。肉眼的病理検査では、全ての動物に何ら特記すべき変化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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料A-65)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：15.0%顆粒水和剤（試験名：KIF-230 15% WG）

〔組成〕 ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%  
鋳物質微粉、界面活性剤等 85.0%

供試動物：New Zealand 白色雌ウサギ（Cri:NZW/Kbl.BR 系）、10～13 週齢  
体重 1.97～2.75 kg、1 群 3 匹

観察期間：3 日間

投与方法：検体（500 mg）を精製水（約 0.1 mL）で湿らせ、刈毛した動物の背部皮膚（6 cm<sup>2</sup>）に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は湿らせた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目：暴露終了直後、1 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間後に適用部位の刺激性（紅斑、痂皮、浮腫）の有無を観察し、Draize 法に従って採点した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の通りであった。

項目	最高 評点	暴露後時間毎における刺激性評点			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は申請者が計算した 3 例の平均値

検体投与による刺激性は認められなかった。

以上の結果から、ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%顆粒水和剤はウサギの皮膚に対して、刺激性がないと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料A-66)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：15.0%顆粒水和剤（試験名：KIF-230 15% WG）

〔組成〕 ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%  
 鋳物質微粉、界面活性剤等 85.0%

供試動物：New Zealand 白色雌ウサギ (Cri:NZW/Kbl.BR 系)、10~11 週齢  
 体重 2.14~2.54 kg、1 群 3 匹

観察期間：3 日間

投与方法：検体 82.8 mg を左眼に適用し、数秒間、両眼瞼を閉じて検体の流出を防止した。洗眼は行なわなかった。

観察項目：検体適用直後、30 分、1 時間、4 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の通りであった。

項 目		最高 評点	適用後時間毎における刺激性評点								
			直後	30 分	1 時間	4 時間	24 時間	48 時間	72 時間		
非 洗 眼 群	角膜 混濁	程 度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		面 積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹 彩		2	0.0	0.3	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	
	結 膜	発 赤		3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.3	0.0
		浮 腫		4	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.3	0.0
		分泌物		3	0.3	1.3	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0
	合 計			110	2.7	8.3	6.3	6.3	4.0	1.3	0.0

注) 表の点数は申請者が計算した 3 例の平均値

1 例において試験第 1 日に虹彩の炎症が認められ、全例に結膜刺激が認められた。結膜刺激は軽度の発赤、腫脹及び分泌物であった。

これらの変化は適用後 3 日以内に消失した。

以上の結果から、ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%顆粒水和剤はウサギの眼粘膜に対して、わずかな刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(3) 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(資料A-67)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体の純度: 15.0% 顆粒水和剤 (試験名: KIF-230 15% WG)

〔組成〕 ベンチアパリカルブイソプロピル	15.0%
鋳物質微粉、界面活性剤等	85.0%

供試動物: Dunkin-Hartley 系雌モルモット (未経産、非妊娠)、4~7 週齢、

        体重: 321~436 g、試験群 20 匹、対照群 10 匹

観察期間: 1 週間間隔で 3 回感作処理を行い、その 2 週間後の惹起処理後 48 時間観察

試験操作: [Buehler 法]

〔投与量設定根拠〕

5~50%の検体ワセリン溶液をモルモットに塗布し、最少刺激性濃度を求めた。30%溶液において軽度な刺激性が認められたので、その濃度を感作処理濃度とした。

同様の試験で刺激性の認められなかった最高濃度である 15%溶液を惹起処理濃度とした。

〔感作〕

対照群および試験群のモルモットの左脇腹を検体処理の前日に刈毛した。刈毛部位について傷や刺激性の観察を行い、異常の認められた動物は試験から除外した。検体の 30%ワセリン (試験群) あるいはワセリン (対照群) を 24 時間閉塞塗布した。この操作を 7 日間隔で 3 回行った。

〔惹起〕

最終感作の 2 週間後に刈毛した右脇腹に検体の 15%ワセリン溶液を 6 時間閉塞塗布し、その後 24 時間および 48 時間に処理部位の観察を行った。

観察項目: 惹起処理後 24 時間および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。判定基準を以下に示す。

所見	評点
紅斑なし	0
軽度の紅斑	1
はっきりした紅斑	2
中等度の紅斑	3
高度な紅斑 (赤)	4

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：各観察時間における感作性変化が認められた動物数を下表に示す。

試験群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数											陽性率		
				24時間後						48時間後					24時間	48時間	
				皮膚反応評点					計	皮膚反応評点							計
				0	1	2	3	4		0	1	2	3	4			
検体	30%	15%	20	20	0	0	0	0	20	20	0	0	0	0	20	0%	0%
	溶媒		10	10	0	0	0	0	10	10	0	0	0	0	10		
陽性対照	H	60%	45/	10	陽性動物数			擬陽性動物数			陰性動物数						
		溶媒	90%	5	6/10			1/10			3/10						
	A	100%	45/	10	4/10			2/10			4/10						
		溶媒	90%	5													
	MB	55%	25/	10	0/10			0/10			10/10						
		TZ	溶媒	55%	5												

HCA： $\alpha$ -hexylcinamaldehyde、MBTZ：2-mercapto-benzothiazole

陽性対照群は2000年7月25日～8月25日に実施

検体処理群では、惹起処理後の処理部位の皮膚に何ら変化は認められなかった。

一方、HCAを用いた陽性対照群においては、明らかな陽性反応が認められた。

以上の結果から、ベンチアバリカルブイソプロピル 15.0%顆粒水和剤の皮膚感作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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

#### 4. 参 考

##### (1) ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験

(資料A-9予備)

試験機関：

報告書作成年：1996年

検体の純度：

試験動物：F344系ラット、1群雌雄各5匹、投与開始時週齢5週齢

投与開始時平均体重：雄 約101g、雌 約82g

投与期間：4週間（平成8年3月27日～4月24日）

投与方法：検体を、0, 50, 500, 7000, 20000及び50000ppmの濃度となるよう飼料に混入し、4週間にわたって自由に摂取させた。投与量設定に当っては、急性経口毒性試験の結果を参考にした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡；毎日2回観察した。

投与後2日に50000ppm群雌雄で、抑うつ及び鎮静の症状がみられ、投与後6日に雄1例が死亡した。

症状はその後徐々に回復し、投与後2週には全例回復した。20000ppm以下の投与群では全投与期間を通して症状及び死亡とも認められなかった。

体重変化；毎週1回体重を測定した。

50000ppm群雄では全投与期間を通して、有意に体重が低下し、雌では投与後1週時の体重が有意に低下したが、その後回復し対照群とほぼ同等となった。20000ppm群雄では投与後1週時に有意に低下したが、その後回復した。これらを除きその他の投与群は対照群とほぼ同等であった。

摂餌量及び飼料効率；飼料を毎週1回測定し、飼料効率を算出した。

摂餌量は50000ppm群雌雄では投与後1週時に有意に低下したが、それ以降はその他の投与群と同様に対照群と同等であった。

飼料効率では、投与後1週時において7000ppm群以上の雄及び50000ppm群雌で有意な低下がみられた。その後雌では回復したが、20000ppm群以上の雄では有意ではないが、対照群に比べ低かった。

検体摂取量；体重及び摂餌量を基に各投与群の検体摂取量を算出した。

各投与群における平均検体摂取量を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

投与群 (ppm)	平均検体摂取量(mg/kg/日)	
	雄	雌
50	4.5	4.6
500	45.1	47.8
7000	621.3	656.4
20000	1865.6	1863.8
50000	4915.4	4887.8

血液学的検査；採血前 16 時間絶食後、抗凝固剤を処理した採血管で採血し、下記の項目を測定した。

ヘマトクリット値 (Ht)、ヘモグロビン量 (Hb)、赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、血小板 (PLT)

更に、赤血球恒数 (MCH、MCV、MCHC) を算出した。

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
Ht										92 <sup>\$\$</sup>
Hb				96 <sup>#</sup>	94 <sup>##</sup>					92 <sup>\$</sup>
MCV				97 <sup>##</sup>	94 <sup>##</sup>				96 <sup>**</sup>	93 <sup>**</sup>
MCH				95 <sup>##</sup>	91 <sup>##</sup>					
MCHC				98 <sup>##</sup>	96 <sup>##</sup>					
PLT			114 <sup>#</sup>	119 <sup>##</sup>	125 <sup>##</sup>			116 <sup>*</sup>	124 <sup>**</sup>	124 <sup>**</sup>
WBC				142 <sup>##</sup>					61 <sup>#</sup>	

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test) # : P<0.05, ## : P<0.01 (Scheffe's t-test)

\$ : P<0.05, \$\$ : P<0.01 (Dunnett-type test)

雄では、20000 及び 50000 ppm 群で Hb が有意に減少した。また、MCV、MCH 及び MCHC が有意に低下した。PLT が 7000 ppm 以上の群で有意に増加した。雌では、50000 ppm 群で Ht 及び Hb、20000 ppm 以上の群で MCV が有意に低下した。PLT は雄と同様、7000 ppm 以上で有意に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

血液生化学検査；採血前16時間絶食後、採血し血清を分離、調製した。下記の項目を測定した。

血糖 (Glc)、総コレステロール (T-Chol)、遊離コレステロール (F-Chol)、  
 トリグリセリド (TG)、リン脂質 (PL)、遊離脂肪酸 (NEFA)、尿素窒素 (BUN)、  
 クレアチニン (Crea)、総ビリルビン (T.Bil)、総蛋白 (T-P)、アルブミン (Alb)、  
 A/G 比、グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸  
 -ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチター  
 ゼ ( $\gamma$ -GTP)  
 及び T-Chol と F-Chol の差からコレステロールエステル (E-Chol) を算出した。

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
Alb		110 <sup>##</sup>	113 <sup>##</sup>	113 <sup>##</sup>	113 <sup>##</sup>				107 <sup>**</sup>	107 <sup>**</sup>
T-P			114 <sup>##</sup>	117 <sup>##</sup>	115 <sup>##</sup>				111 <sup>S</sup>	115 <sup>SS</sup>
GOT								87 <sup>**</sup>	79 <sup>**</sup>	74 <sup>**</sup>
$\gamma$ -GTP									800 <sup>S</sup>	2300 <sup>SS</sup>
T-Chol					236 <sup>&amp;&amp;</sup>				209 <sup>SS</sup>	289 <sup>SS</sup>
F-Chol				200 <sup>&amp;&amp;</sup>	300 <sup>&amp;&amp;</sup>				243 <sup>SS</sup>	414 <sup>SS</sup>
E-Chol					229 <sup>&amp;</sup>			156 <sup>**</sup>	202 <sup>**</sup>	272 <sup>**</sup>
NEFA								81 <sup>**</sup>	83 <sup>**</sup>	77 <sup>**</sup>
PL					180 <sup>&amp;</sup>				146 <sup>**</sup>	193 <sup>**</sup>

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test)

# : P<0.05, ## : P<0.01 (Scheffe's t-test)

\$ : P<0.05, \$\$ : P<0.01 (Dunnett-type test)

& : P<0.05, && : P<0.01 (Scheffe's t-test)

雄では500 ppm以上でAlb、7000 ppm以上でT-Pが有意に増加した。50000 ppm群ではT-Chol、E-Chol及びPL、20000及び50000 ppmでF-Cholの有意に増加した。雌では20000 ppm以上でAlb、T-P、 $\gamma$ -GTP、T-Chol、F-Chol及びPLが有意に増加した。E-Cholは7000 ppm以上で有意に増加した。7000 ppm以上で、GOT及びNEFAの有意な低下がみられた。

臓器重量；屠殺、採血後、下記の臓器を採取してその重量を測定した。なお、体重に対する相対重量を算出した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣及び卵巣



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

絶対重量

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
肝臓			120 <sup>##</sup>	146 <sup>##</sup>	164 <sup>##</sup>			138 <sup>**</sup>	162 <sup>**</sup>	212 <sup>**</sup>
腎臓								112 <sup>*</sup>		112 <sup>**</sup>

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test) # : P<0.05, ## : P<0.01 (Scheffe's t-test)

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

相対重量

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
肝臓			125 <sup>##</sup>	156 <sup>##</sup>	189 <sup>##</sup>				163 <sup>S</sup>	214 <sup>SS</sup>
腎臓				107 <sup>#</sup>	109 <sup>##</sup>				109 <sup>**</sup>	113 <sup>**</sup>
副腎						88 <sup>*</sup>	88 <sup>*</sup>		112 <sup>*</sup>	
精巣				109 <sup>##</sup>	115 <sup>##</sup>					

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test) # : P<0.05, ## : P<0.01 (Scheffe's t-test)  
 \$ : P<0.05, \$\$ : P<0.01 (Dunnett-type test) & : P<0.05, && : P<0.01 (Scheffe's t-test)

雄では 7000 ppm 以上で肝臓の絶対及び相対重量が有意に高く、20000 ppm 以上で腎臓及び精巣相対重量が有意に高かった。雌では 7000 ppm 以上で肝臓絶対重量が有意に高く、20000 ppm 以上で肝臓及び腎臓相対重量が高かった。

肉眼的病理学検査；屠殺、採血後、肉眼的に病理検査を実施した。

20000 ppm 以上の群雌雄で肝肥大が観察された。

病理組織学検査；屠殺、採血後、下記の臓器/組織を採取してヘマトキシリン・エオシン染色して病理組織学検査を実施した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、甲状腺、胸骨、唾液腺、気管、膀胱、前立腺、子宮/生殖器付属器、精巣、卵巣、食道、胃、小腸、膀胱及びリンパ節

肝臓における所見及びその頻度を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

性別 供試動物数 投与量 (ppm)	雄																	
	5			5			5			5			5			4*		
	0			50			500			7000			20000			50000		
肝臓 グレード	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
小葉中心性 肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	4	0
肝細胞単細胞壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	4	0	0
肝細胞分裂像増加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0
肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0
小肉芽腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
結節	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

\* : 1 例死亡

性別 供試動物数 投与量 (ppm)	雌																	
	5			5			5			5			5			5		
	0			50			500			7000			20000			50000		
肝臓 グレード	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
小葉中心性 肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	5	0
肝細胞単細胞壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0
肝細胞分裂像増加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0
肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
小肉芽腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
結節	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

肝臓において、雌雄とも 20000 ppm 以上で、小葉中心性肝細胞肥大、単細胞壊死、有糸分裂像の増加が認められた。加えて肝細胞空胞化が 20000 ppm 以上の雄でみられた。50000 ppm 雌雄で、甲状腺に濾胞細胞過形成が認められた。

以上の結果、本試験では高投与群において血液学的検査から軽度の小球性低色素性貧血症状が発現していると推定された。血清生化学的には蛋白及び脂質関連項目に投与の影響がみられ、病理組織学的には、肝細胞肥大、肝細胞壊死及び空胞化が認められた。本剤の主要標的臓器は肝臓と推定された。本試験における無影響量は、雄で 50 ppm (4.5 mg/kg/日) 及び雌で 500 ppm (47.8 mg/kg/日) と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) マウスを用いた4週間反復経口投与毒性試験

(資料A-13予備(1))

試験機関：

報告書作成年：1996年

検体の純度：

試験動物：B6C3F1 マウス、1群雌雄各5匹、投与開始時週齢 5週齢

投与開始時平均体重：雄 約21g、雌 約17g

投与期間：4週間（平成8年3月18日～4月20日）

投与方法：検体を、0, 50, 500, 7000, 20000 及び 50000 ppm の濃度となるよう飼料に混入し、4週間にわたって自由に摂取させた。投与量設定に当っては、急性経口毒性試験の結果を参考にした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡；毎日2回観察した。

投与後2日には50000 ppm 群雌雄で抑うつ、鎮静がみられたが、投与後2週には全例回復した。これを除いて他の投与群には症状は認められなかった。試験期間を通して死亡はなかった。

体重変化；毎週1回体重を測定した。

50000 ppm 群雄では対照群に比べ、試験期間を通して体重が低下し、体重増加抑制がみられた。同群雌では投与後1週で有意に低かったが、その後回復した。その他の投与群は対照群と同等であった。

摂餌量及び飼料効率；飼料を毎週1回測定し、飼料効率を算出した。

50000 ppm 群雌雄で試験期間を通して摂餌量は、対照群に比べ少なく、4週間における累積摂餌量は有意に低かった。その他の投与群では、同等であった。飼料効率では、50000 ppm 群雄で対照群に比べ、やや低い傾向であった。

検体摂取量；体重及び摂餌量を基に各投与群の検体摂取量を算出した。

各投与群における平均検体摂取量を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

投与群 (ppm)	平均検体摂取量(mg/kg/日)	
	雄	雌
50	10.7	12.7
500	105.1	120.0
7000	1412.6	1609.3
20000	3970.3	4378.6
50000	9468.7	10847.1

血液学的検査；採血前 16 時間絶食後、抗凝固剤を処理した採血管で採血し、下記の項目を測定した。

ヘマトクリット値 (Ht)、ヘモグロビン量 (Hb)、赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、血小板 (PLT)

更に、赤血球恒数 (MCH、MCV、MCHC) を算出した。

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
Ht									95*	87**
Hb										86**
RBC						95*				94**
MCV					95**					93**
MCH					90**					91**
MCHC	99*			97**	94**					98*
PLT			122**	146**	124**					136**

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test)

雄では、50000 ppm で Hb、Ht 及び RBC に対照群に比べやや低く (有意差なし)、MCH、MCV 及び MCHC は有意に低かった。MCHC は 20000 ppm でも有意に低かった。有意に高い PLT は、7000 ppm 以上でみられた。雌では、20000 ppm 以上で Ht、50000 ppm で Hb 及び RBC が有意に低く、50000 ppm で MCH 及び MCHC が有意に低かった。50000 ppm で PLT が、雄と同様、有意に高かった。

臓器重量；屠殺、採血後、下記の臓器を採取してその重量を測定した。なお、体重に対する相対重量を算出した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、精巣及び卵巣

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

絶対重量

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
心臓					77**					
肝臓				206 <sup>s</sup>	290 <sup>ss</sup>			170**	221**	301**
腎臓				86**	82**					
胸腺					57*					
副腎					175*					
精巣/ 卵巣					86**				62**	46**

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test)

\$ : P<0.05, \$\$ : P<0.01 (Dunnett's type test)

相対重量

単位：対照群に対する%

項目	投与群 (ppm) / 雄					投与群 (ppm) / 雌				
	50	500	7000	20000	50000	50	500	7000	20000	50000
肝臓				201 <sup>s</sup>	319 <sup>ss</sup>			161**	214**	312**
腎臓			89*	84**	88**					
胸腺					62*					
副腎					184*					
卵巣									63**	44**

\* : P<0.05, \*\* : P<0.01 (Dunnett's t test)

\$ : P<0.05, \$\$ : P<0.01 (Dunnett's type test)

雄では、20000 ppm 以上で肝臓絶対及び相対重量が対照群に比べ有意に高く、20000 ppm 以上の腎臓絶対重量及び7000 ppm 以上の腎臓相対重量は有意に低かった。50000 ppm では、副腎絶対及び相対重量が有意に高く、胸腺絶対及び相対重量が有意に低かった。雌では、肝臓絶対及び相対重量が有意に高く、20000 ppm 以上で卵巣絶対及び相対重量が有意に低かった。

肉眼的病理検査；屠殺、採血後、肉眼的に病理検査を実施した。

50000 ppm 群雌雄で肝臓肥大が観察された。

病理組織学検査；屠殺、採血後、下記の臓器/組織を採取してヘマトキシリン・エオシン染色して病理組織学検査を実施した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、甲状腺、胸骨、唾液腺、気管、膵臓、前立腺、子宮/生殖器付属器、精巣、卵巣、食道、胃、小腸、膀胱及びリンパ節

肝臓における所見及びその頻度を下表に示す。

性別 供試動物数 投与量 (ppm)	雄																	
	5			5			5			5			5			5		
	0			50			500			7000			20000			50000		
肝臓 グレード	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
小葉中心性 肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	5
肝細胞単細胞壊死	0	0	0	0	0	0	3	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
肝細胞巣状細胞壊死	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	5	0	0
肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	1	0	0	5	0	0	5	0	0	2	2	0
肝細胞分裂像増加	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	4	0	0	5	0	0
核異型化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	5	0	0	0	4	0

性別 供試動物数 投与量 (ppm)	雌																	
	5			5			5			5			5			5		
	0			50			500			7000			20000			50000		
肝臓 グレード	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
小葉中心性 肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	5	0	0	2	3
肝細胞単細胞壊死	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	5	0	0	5	0	0
肝細胞巣状細胞壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	5	0	0	5	0	0
肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	5	0	0	5	0	0
肝細胞分裂像増加	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	5	0	0
核異型化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	3	0	0

肝臓では 500 ppm 以上の雌雄で単細胞壊死及び肝細胞分裂像増加、500 ppm 以上の雄及び 7000 ppm 以上の雌で巣状細胞壊死及び空胞化、7000 ppm 以上の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大、7000 ppm 以上の雄及び 20000 ppm 以上の雌で核異型化が認められた。肝臓以外においては、胃で 7000 ppm 以上雌雄で前胃に角化亢進、副腎で 50000 ppm 雌雄に皮質/髄質細胞に肥大及び胸腺に 50000ppm 雄に萎縮が認められた。

以上の結果、本試験では高投与群において軽度な小球性低色素性貧血症状の発現が推定され、臓器重量、肉眼的病理及び病理組織学検査の結果から、本剤の主要標的臓器は肝臓であろうと考えられた。本試験における無影響量は、雌雄ともに 50 ppm (雄：10.7 mg/kg/日、雌：12.7 mg/kg/日) と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(3) マウスを用いた発癌性予備試験

(資料A-13予備(2))

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997年(1998年改訂)

検体の純度：

試験動物：B6C3F1 マウス、1群雌雄各10匹、投与開始時6週齢

投与開始時体重範囲 雄 19.6~22.8 g、雌 16.2~18.7 g

投与期間：13週間(1997年5月1日~7月31日)

投与方法：検体を0, 50, 200, 7000及び20000 ppmの濃度となるように飼料に混入し、13週間にわたって自由に摂取させた。

[投与量設定根拠]

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡；毎日2回観察した。

試験期間を通して、いずれの群においても中毒症状はみられず、死亡も認められなかった。

体重変化；毎週1回体重を測定した。

7000 ppm 群雄では、投与後6週以降、20000 ppm 雄では投与後3週以降の体重は、対照群に比べて有意に低く、両群とも有意な体重増加抑制がみられた。20000 ppm 群雌では、投与後4~10週に有意に低かったが、その期間を除いては有意差はみられず、全期間においては有意な体重増加抑制はみられなかった。

摂餌量及び飼料効率；毎週1回摂餌量を測定した。飼料効率は、摂餌量及び体重増加量から算出した。

20000 ppm 群雄では、投与後5~13週のほとんどの期間で、摂餌量が対照群に比べ有意に多く、全期間における総摂餌量も有意に多かった。7000 ppm 群雄では、対照群に比べ有意に多かった時期が散見されたが、総摂餌量は対照群とほぼ同等であった。雌では20000 ppm 群に対照群に比べ有意に多かった時期が散見されたが、総摂餌量は対照群とほぼ同等であった。

飼料効率は、雄では7000 ppm以上の群で対照群に比べ有意に低く、雌では20000 ppm群のみが有意に低かった。

検体摂取量：体重及び摂餌量を基に各投与群の検体摂取量を算出した。

各投与群における平均検体摂取量を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

投与群 (ppm)	平均検体摂取量(mg/kg/日)	
	雄	雌
50	8.4	11.3
200	33.0	45.2
7000	1293	1620
20000	4031	4946

血液学的検査；16時間絶食し、麻酔後開腹して腹部大動脈から採血した。抗凝固剤として EDTA-2K を用いた。

測定項目は次の通りであった。

ヘマトクリット値 (Ht)、ヘモグロビン量 (Hb)、赤血球数 (RBC)、網赤血球数、血小板数 (PLT)、白血球数 (WBC)、白血球百分率及び赤血球恒数 (MCV、MCH、MCHC)

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

単位：対照群に対する%

項目	投与群(ppm)/雄				投与群(ppm)/雌			
	50	200	7000	20000	50	200	7000	20000
Hb				98**				96**
RBC			97**	96**		97*	97**	95**
MCV			102**	102**			102**	103**
MCH			102**	102**				101*
PLT			118**	124**				

\* : P<0.05 \*\* : P<0.01 (Dunnette 多重比較検定)

7000 及び 20000 ppm 群雄では、対照群に比べ RBC 及び好酸球比が低く、MCV、MCH 及び PLT は高かった。20000 ppm 群雄では Hb が低かった。雌では 7000 及び 20000 ppm 群で MCV が高かった。20000 ppm 群で Hb が低く、MCH は高かった。RBC は 200 ppm 以上の群で低い値を示した。

臓器重量；各試験動物を屠殺後、下記の臓器を採取してその重量を測定し、体重に対する相対重量を算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、卵巣

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

臓器重量

単位：対照群に対する%

項目	投与群(ppm)/雄				投与群(ppm)/雌			
	50	200	7000	20000	50	200	7000	20000
脳				96**				94**
心臓				86**				
肝臓			163**	197**			153**	198
腎臓			90**	78**				91*
卵巣								71**

\* : P<0.05 \*\* : P<0.01 (Dunnett 多重比較検定)



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

雄では、7000 ppm 以上の群で肝臓は対照群に比べ有意に高く、腎臓は低かった。また、脳及び心臓は 20000 ppm で有意に低かった。雌の場合には、肝臓は 7000 ppm 以上の群で有意に高く、脳、腎臓及び卵巣は有意に低かった。

次に、各臓器の体重比における結果は以下の通りであった。

対照群に比べて有意差の認められた項目を下表に示す。

相対重量

単位：対照群に対する%

項目	投与群(ppm)/雄				投与群(ppm)/雌			
	50	200	7000	20000	50	200	7000	20000
脳			114**	115**				
心臓			109*					
肝臓			186**	236**			159**	210**
脾臓			126**	127**				
副腎			136*	155**				
精巣/卵巣			113**	114**				77**

\* : P<0.05    \*\* : P<0.01 (Dunnett t 検定)

相対重量では、7000 及び 20000 ppm 群雄で脳、肝臓、脾臓、副腎及び精巣が、いずれも対照群に比べ有意に高かった。雌では、肝臓の場合に 7000 ppm 以上の群で高く、卵巣は 20000 ppm で有意に低かった。

肉眼的病理検査；麻酔後屠殺して、肉眼的病理観察を行なった。

投与に関連があると考えられる変化を下表に示す。

臓器	所見	投与群(ppm)/雄 10 例					投与群(ppm)/雌 10 例				
		0	50	200	7000	20000	0	50	200	7000	20000
肝臓	肝臓黒色化	0	0	0	1	10**	0	0	0	7**	10**
	肝臓肥大	0	0	0	10**	10**	0	0	0	10**	10**
	白色斑	0	0	0	0	2	1	0	0	2	6*
甲状腺	褐色化	0	0	0	0	10**	0	0	0	0	2

\* : P<0.05    \*\* : P<0.01 (Dunnett 多重比較検定)

肝臓肥大が 7000 及び 20000 ppm 群雌雄の全例、肝臓の黒色化が 7000 ppm 群雄 1 例及び 20000 ppm 群雌雄の全例に観察された。甲状腺の褐色化が 20000 ppm 群の雄全例、雌の 2 例に観察された。

病理組織学検査；麻酔後屠殺して肉眼的病理観察終了後、下記の臓器/組織を採取してヘマトキシリン・エオシン染色を行い検査を行なった。

皮膚、脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、肺、気管、心臓、胸骨及び大腿骨、骨髄、唾液腺、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、睪外分泌部、ラ氏島、精巣、前立腺、精嚢、膣、子宮、乳腺（雌）、筋肉、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節、末梢神経、脊髄、眼球、大動脈及び肉眼で異常が認められた部位

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

投与に関連があると考えられる肝臓、卵巣、腎臓、盲腸及び副腎において観察され、その発生頻度が対照群に対し有意差の認められた所見及びその頻度を下表に示す。

臓器	所見	投与群(ppm)/雄 10例					投与群(ppm)/雌 10例				
		0	50	200	7000	20000	0	50	200	7000	20000
肝臓	核大小不同症	0	0	0	9**	10**	0	0	0	0	2
	肝細胞脂肪化	0	1	0	3	7**	0	0	0	0	2
	肝細胞肥大	0	0	0	10**	10**	0	0	0	10**	10**
	多核巨細胞	0	0	0	0	4*	0	0	0	0	1
	肝細胞壊死	0	0	0	8**	9**	0	0	0	5*	8**
	胆管増殖	0	0	0	3	10**	1	0	0	0	5*
腎臓	空胞変性	6	6	8	0**	0**	0	0	0	0	0
副腎	X 域退縮	0	0	0	0	0	5	7	9	1	0*
盲腸	増生 (リンパ組織)	0	1	3	4*	5*	5	0*	3	3	2
卵巣	黄体減少						0	0	0	2	10**

\* : P<0.05    \*\* : P<0.01    (Dunnett 多重比較検定)

肝臓において観察され、かつ発生頻度が対照群に比べ有意な病変は、上表にみる如く、核大小不同症、肝細胞脂肪化、肝細胞肥大、多核巨細胞、肝細胞壊死及び胆管増殖であり、これらの病変は雄の場合には 7000 ppm 以上の群で認められた。7000 ppm 以上の群雌で有意に発生頻度が増加した病変は、肝細胞肥大及び肝細胞壊死であった。肝臓以外の臓器/組織で発生頻度が有意に増加した臓器及び病変は、腎臓では空胞変性、副腎では X 域退縮、卵巣の黄体減少及び盲腸リンパ組織における増生であった。

その他対照群を含めて発生数の多かった所見は、雌雄の回腸及び雌の盲腸の増生、雌の肝臓の小肉芽腫が観察された。

電子顕微鏡による病理組織学検査；肝臓標本をオスミウムテトラオキサイドで前固定し、グルタルアルデヒド・パラアルデヒド・リン酸緩衝液で固定した。ウニル酢酸・ケエン酸鉛で染色後、電子顕微鏡で観察した。

肝細胞内の粗面小胞体の増加が 7000 ppm 群雌及び 20000 ppm 群雌雄で小葉全体に、7000 ppm 群雄では小葉辺縁性に観察された。また、7000 ppm 群雄では粗面小胞体の拡張が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(4) 混餌投与によるラット及びマウスにおける肝脂質過酸化

(資料A-39-3)

試験機関：

報告書作成年：2001年

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

参考資料

ラット慢性毒性／発がん性試験及びマウス発がん性試験における78週時の肝臓腫瘍発生頻度を下表に示す。

ラット慢性毒性／発がん性試験における肝臓腫瘍発生頻度

性別	肝細胞腺腫発生頻度 (10例中)				
	0 ppm	50 ppm	200 ppm	5000 ppm	10000 ppm
雄	0	0	0	0	1
雌	0	0	0	0	0

マウス発がん性試験における肝臓腫瘍発生頻度

性別	病 変	腫瘍発生頻度 (10例中)				
		0 ppm	20 ppm	100 ppm	2500 ppm	5000 ppm
雄	肝細胞腺腫	5	3	0*	8	10*
	肝細胞癌	0	0	1	1	0
	肝芽細胞種	0	0	0	0	2
雌	肝細胞腺腫	1	1	0	6*	5
	肝細胞癌	0	0	0	0	0
	肝芽細胞種	0	0	0	0	0

\* : P<0.05 (Fischer 直接確率検定法)

## IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

### <代謝分解一覧表>

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
B-1 GLP	動物代謝  吸収 分布 代謝 排泄	ラット	ベンゼン環及びパリン部 <sup>14</sup> C 標識体 単回強制経口投与 低薬量 5 mg/kg 高薬量 400 mg/kg 吸収：血液・血漿中濃度 推移を測定した。 (雌雄各 n=5)  分布：7 日間の組織分布 を調査した。 (雌雄各 n=4)  代謝：0-24 時間及び 24-120 時間の糞尿、Tmax 時点の血漿・肝臓・腎臓 の代謝物を HPLC で分析 した。(雌雄各 n=5)  排泄：7 日間の糞尿排泄 量を測定した。(雌雄各 n=5)  胆汁排泄：胆管カニューレ ーションしたラットで48 時間の胆汁及び糞尿への 排泄量を測定 (雌雄各 n =3)。代謝物を HPLC で 測定し、LC/MS で同定な らびに推定した。	血液・血漿中： Cmax (μg/g) Tmax (時間) 低用量 雄 0.32-0.68 2.0-6.0 雌 0.42-0.65 4.4-9.2 高用量 雄 6.55-34.67 9.5-13.6 雌 7.18-25.69 9.6-12.0 吸収は標識体、用量間に差はなく速やか。薬物動態パラメータは性間に顕著な差がないが、用量間及び標識体間に差が認められた。  臓器及び組織への分布は速やか。7 日後に投与量の 1%を超える組織はなく、蓄積性なし。  糞中主代謝物は低用量で、高用量で未変化の KIF-230 であった。糞・尿・血漿・肝臓・腎臓には共通に を同定。その他に を同定、及び の を LC/MS で検出。 胆汁には、KIF-230 の を複数検出した。  7 日後の総回収率は 89-100%。 低用量 糞 63-82%、尿 9-25% 高用量 糞 78-83%、尿 7-13% 糞が主排泄経路。呼吸排泄なし。屍体残留量は 2.9%以下。排泄経路及び速度に性及び標識体間で差はなく速やか。  胆汁排泄率： 5 mg/kg 400 mg/kg 胆汁 64-90% 27-40% 尿 4-19% 2-13% 糞 1-4% 32-61% 吸収率 89-97% 41-54% 胆汁排泄に性差・標識体間差なし。用量間差が認められた。	(2001)	IX-12

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
B-2	動物代謝 <i>in vitro</i> 代謝	ラット  肝 S-9	代謝速度：ベンゼン環及びパリン部 <sup>14</sup> C 標識体を S-9 溶液に処理し経時的に HPLC で分析した。  代謝物同定： <sup>13</sup> C 安定同位元素標識体及び非標識体を用い、機器分析により同定を行った。また、ベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体を用い、マイナー代謝物を co-TLC で検討した。	半減期はベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体が 1.8 分 (5.62 ppm, 7.1 μ mol/g protein)、パリン部 <sup>14</sup> C 標識体が 1.9 分 (6.06 ppm, 7.6 μ mol/g protein)。  主代謝物はマススペクトル及び <sup>1</sup> H-NMR 解析により、  (複数) であると同定。生成量は各々約 30%であった。マイナー代謝物として 及び を co-TLC で同定した。	(2001)	IX-41
B-15 GLP	動物代謝 分布 消長	ラット	パリン部 <sup>14</sup> C 標識体 反復経口投与 5 mg/kg/日×7 日 (最終投薬 1 日後に測定)  5 mg/kg/日×14 日 (最終投薬 1, 3, 7, 14 日後に測定)	投与 7 日間では体内全体に放射能が分布していることが確認された。その存在量は全投与放射能の 2~3% (雌~雄) であった。投与 14 日間で、雌雄共通で高い分布 (全投与放射能の 0.1%以上) を示した組織は皮膚、肝臓であった。投与終了後、組織内の放射能は徐々に減少し、肝臓、皮膚、血液以外の量は 0.1%未満となった。7 日間あるいは 14 日間連続投与した場合であっても、特定臓器/組織への蓄積は見られなかった。尚、尿糞中に排泄された代謝物を同定した結果については、単回投与した際に得られた代謝物と基本的に同様と考えられた。	(2003)	IX-48
B-3 GLP	植物代謝	ばれいしょ	ベンゼン環及びパリン部 <sup>14</sup> C 標識体をばれいしょに 100 g ai/ha 濃度 1 回土壌散布、ならびに 6 回茎葉散布し、成熟作物中の挙動を調査した。分析は HPLC 法及び TLC 法で行った。抱合体は β-グルコシダーゼ処理及び MS 解析により同定した。	土壌散布 90 日後の結果： 総 <sup>14</sup> C は塊茎 0.0010 μ g/g、葉部 0.0619 μ g/g。塊茎中代謝物は微量なため分析不能。葉中には約 10%の KIF-230 と 4 個以上の微量な未同定代謝物を検出した。 茎葉散布 14 日後の結果： 総 <sup>14</sup> C は塊茎 0.0145 μ g/g、葉部 5.8648 μ g/g。KIF-230 残留量は塊茎 0.0007 μ g/g (葉中総 <sup>14</sup> C の約 4.7%)、葉部 4.2592~5.1436 μ g/g (葉中総 <sup>14</sup> C の約 90%)。主残留物は未変化の KIF-230 であった。 塊茎中には複数の未同定代謝物を検出。葉部には KIF-230 の を 同定した。 及び 。代謝物合計量は葉中総 <sup>14</sup> C の %であった。	(2001)	IX-57



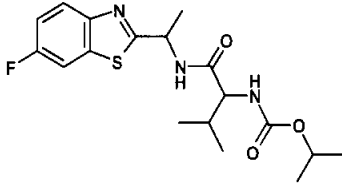
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
B-4 GLP	植物代謝	トマト	ベンゼン環 $^{14}\text{C}$ 標識体をトマトに 100 g ai/ha 濃度 6 回茎葉散布し、経時的に果実を採取、最終的に処理 56 日後に果実及び葉部を採取し、HPLC 法及び TLC 法で分析した。	トマト果実中の総 $^{14}\text{C}$ は散布 14 日後で 0.0181~0.0212 $\mu\text{g/g}$ 、56 日後で 0.0067~0.0072 $\mu\text{g/g}$ であった。 果実中 $^{14}\text{C}$ の 56 日後の分布は KIF-230 0.0037 $\mu\text{g/g}$ (54.7%)、未同定代謝物 0.0027 $\mu\text{g/g}$ (40.9%)、抽出残渣 0.0002 $\mu\text{g/g}$ (3.0%)。 葉部の総残留量は 2.2105~2.3306 $\mu\text{g/g}$ 、このうち未変化の KIF-230 が 95.1% を占めた。 代謝物は微量であり、主残留物は KIF-230 であった。	(2001)	IX-74
B-5 GLP	植物代謝	ぶどう	ベンゼン環及びバリオン部 $^{14}\text{C}$ 標識体をぶどう樹に 100 g ai/ha 濃度 6 回茎葉散布し、17 日後の成熟作物中の挙動を調査した。分析は HPLC 法及び TLC 法で行った。	ぶどう果実中の総 $^{14}\text{C}$ は散布 17 日後で 0.2408~0.3271 $\mu\text{g/g}$ であった。 果実中 $^{14}\text{C}$ の分布は KIF-230 0.2324~0.3132 $\mu\text{g/g}$ (96%)、未同定代謝物 $\mu\text{g/g}$ (2%)、抽出残渣 $\mu\text{g/g}$ (1%)。代謝物は最大で $\mu\text{g/g}$ 。 葉部の総 $^{14}\text{C}$ は 14.0101~23.0861 $\mu\text{g/g}$ 、このうち未変化の KIF-230 が 94% を占めた。 KIF-230 はぶどう樹では代謝されず、主残留物であった。	(2001)	IX-82
B-6	植物代謝	トマト幼苗	ベンゼン環及びバリオン部 $^{14}\text{C}$ 標識体を第 4 本葉期トマト幼苗に処理し吸収・分布・代謝を調べた。 水耕処理：0.4~0.5 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の水耕液に 7 日間栽培。 茎葉処理：[Bz- $^{14}\text{C}$ ] 1.6 $\mu\text{g/ml}$ メタノールを葉に塗布。[Val- $^{14}\text{C}$ ] 0.177 $\mu\text{g/ml}$ 水和剤を葉に塗布。 代謝物の検出及び同定は TLC で行った。抱合体は $\beta$ -グルコシダーゼ処理後分析した。	水耕処理： $^{14}\text{C}$ は植物に吸収され、主残留物は未変化の KIF-230 であった。主な代謝物は (根にとして %) であり、少量の が検出された。 茎葉処理：大部分の $^{14}\text{C}$ が処理葉に検出された。他部位への移行は極微量であった。主残留物は未変化の KIF-230 であり、極微量の が検出された。 移行性を植物のオートラジオグラフィで調べた結果、次の通りであった。 根部>茎葉基部>頂葉、第 3 葉	(2001)	IX-90

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
B-14 GLP	植物代謝	はくさい	ベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体をはくさい結球部または外葉に 225 g ai/ha 濃度 1 回茎葉散布し、21 日後または 56 日後に検出される化合物を調査した。分析は HPLC, LC/MS 及び TLC で行った。	はくさい中の総 <sup>14</sup> C は散布 21 日後で結球部処理区で 1.0423 mg/kg、外葉処理区で 1.1962mg/kg であった。散布 56 日後で 12.1543 mg/kg であった。非抽出性残渣はほとんどなかった。同定された化合物は親化合物 KIF-230 のみであり、 が痕跡量、 及び親化合物の が少量検出された。	(2002)	IX-96
B-7 GLP	土壌分解	英国土壌  砂壌土  埴壌土	ベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体 (2 ppm) を 4 種土壌に処理、畑条件下 (最大容水量の 45% 水分、20℃、暗下) で培養し、 <sup>14</sup> C 標識体の消長を調べた。また、一つの土壌でバリウム部 <sup>14</sup> C 標識体 (2 ppm) を同様に処理し消長を調べた。分解物は HPLC で検出・同定した。20 ppm のベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体を処理し、LC/MS 分析に用いた。	ベンチアバリカルブの推定半減期 :19.1 日 :16.4 日 :11.0 日 :10.6 日  KIF-230 及び抽出画分は速やかに減少し、土壌抽出残渣 (23-62%) 及び <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> が増加した。 バリウム部 <sup>14</sup> C 標識体からの <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> 発生量は 365 日間で 54% であった。 主代謝物として を LC/MS で同定した。 土壌抽出残渣中の <sup>14</sup> C は主にフルボ酸及びフミン質に検出された。	(2000)	IX-107
B-8	土壌分解	国内土壌 軽埴土 埴壌土	ベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体 (0.75 ppm) を 2 種土壌に処理、畑条件下 (最大容水量の 55% 水分、30℃、暗所下) で培養し、 <sup>14</sup> C 標識体の消長を調べた。また、オートクレーブ滅菌した土壌でも消長を調べた。分解物は TLC で検出・同定した。土壌抽出残渣はアルカリ抽出し分画した。	KIF-230 の推定半減期 : 7.2 日 : 3.1 日  KIF-230 及び抽出画分は速やかに減少し、土壌抽出残渣 (最大で 54.8%、: 58.1%) 及び <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> が増加。 <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> 発生量は 56 日間で 6.1%、 17.5% であった。オートクレーブ滅菌した土壌での分解は僅かであった。 主代謝物として を co-TLC で同定した。 土壌抽出残渣中の <sup>14</sup> C は主にフミン質に検出された。	(2001)	IX-117

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
B-9 GLP	の 土壌分解	英国土壌 : 砂壌土  : 埴壌土	代謝物 (1 ppm) の分解速度を、畑条件下 (最大容水量の 45%水分、20℃、暗所下) の 3 種土壌で調べた。 は土壌抽出物を固相抽出法で精製し、HPLC で定量した。	の推定半減期 : : : KIF-230 の主分解物の一つである は好氣的土壌中で速やかに分解した。	(2000)	IX-123
B-10 GLP	の 土壌分解	英国土壌 : 砂壌土  : 埴壌土	代謝物 (1 ppm) の分解速度を、畑条件下 (最大容水量の 45%水分、20℃、暗所下) の 3 種土壌で調べた。 は土壌抽出物を固相抽出法で精製し、HPLC で定量した。	の推定半減期 : 日 : 日 : 日 KIF-230 の主分解物の一つである は好氣的土壌中で速やかに分解した。	(2000)	IX-126
B-11 GLP	の 土壌分解	英国土壌 : 砂壌土  : 埴壌土	代謝物 (1 ppm) の分解速度を、畑条件下 (最大容水量の 45%水分、20℃、暗所下) の 3 種土壌で調べた。 は土壌抽出物を固相抽出法で精製し、LC/MS/MS で定量した。	の推定半減期 : 日 : 日 : 日 ベンチアバリカルブの主分解物の一つである は好氣的土壌中で極めて速やかに分解した。	(2000)	IX-129
C-1 GLP	加水分解 運命	緩衝液 pH4, 7.9	緩衝液に添加	加水分解は認められなかった。	(2000)	IX-132
C-2 GLP	水中光 分解性	蒸留水 河川水 (pH 7.3)	各試験液に添加 キセノン光 14 日間照射	蒸留水及び河川水中ともに分解が殆ど認められなかった。	(1999)	IX-134
C-3 GLP	土壌吸着性	火山灰畑土 (2 土壌) 非火山灰畑土、水田土壌 (各 1 土壌)	土壌/水層 (1:5) に 検体 ( <sup>14</sup> C-ベンゼン標識 体) を加え 25℃で 48 時 間振とう。遠心分離し た後上澄液を分析	物質収支 95.8%以上 Koc 値 219~470	(1999)	IX-137

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<抄録中で用いる代謝・分解物一覧>

記号	由来	名称 (略称)	化学名、構造式
KIF-230	親化合物	ベンチアバリカルブ イソプロピル  KIF-230	<p>isopropyl [(S)-1-((R)-1-(6-fluorobenzothiazol-2-yl)ethylcarbamoyl)-2-methylpropyl]carbamate</p> 

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名、構造式

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名、構造式

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名、構造式

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝・分解試験に用いた標識化合物>

ベンチアバリカルブイソプロピルの代謝・分解試験は、下記の方法で合成した標識化合物を用いて行った。

- (1) ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル

比放射能の一例：

放射化学的純度：



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル

比放射能の一例：

放射化学的純度：