

8. 繁殖毒性及び催奇形性

(1) プロモチド原体のラットにおける繁殖性試験

(資料8-1)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所

報告書作成年 : 1983年

検 体 : プロモチド原体

純 度 :

試験動物 : Jcl-Wistar ラット、1群雌雄各30匹

(投与開始時5週齢、体重 ; 雄112~128g、雌96~110g)

試験期間 : 1981年7月17日~1982年12月1日

投与期間 : F0世代 ; 交配の13週間前から F1児動物離乳後まで

F1世代 ; 離乳時から F2児動物離乳後まで

F2世代 ; 離乳時から13週齢まで

投与方法 : 検体を0、50、300および1800ppm の濃度で基礎飼料に混入し、自由に摂取させた。飼料は1週間に1度調製した。

[投与量設定根拠]

試験方法および検査項目 : 概要を表1にまとめた。

一般状態 ; すべての動物について、1日1回以上一般状態を観察した。

体重 ; 育成期間中は雌雄ともに1週間に1回測定した。繁殖期間中は、雄は4週ごとに、雌は妊娠0、7、14および20日と分娩後0、7、14および21日に測定した。

摂餌量 ; 育成期間中は雌雄ともに1週間に1回測定した。繁殖期間中は、雄については4週ごとに、雌は体重測定日に測定した。また、育成期間中の飼料効率(1匹あたりの1

週間の平均体重増加量 (g) / 1匹あたりの1週間の平均摂餌量 (g) × 100) および検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。

交配および妊娠の確認; 両世代とも18週間投与した後、同じ群の雌雄各1匹を一晚同居させた。膣スミア中の精子の有無または膣栓の有無を観察することにより交尾の確認を行い、交尾が確認された日を妊娠0日とした。

分娩および哺育; すべての児動物について分娩後直ちに児動物数を数え、性別判定、体重測定を行った。哺育期間中、一般状態を毎日観察した。生後0、4、7日および14日の哺育児の体重を腹ごとに雌雄別にまとめて測定し、生後21日においては、個々に体重を測定した。

繁殖性に関する指標; 次の指標について観察または算出した。

性周期: 交配開始前の少なくとも2周期について観察した。

雌雄の交尾率 = (交尾を認めた動物数 / 交配に使用した動物数) × 100

妊娠率 = (妊娠雌動物数 / 交尾を認めた雌動物数) × 100

出産率 = (正常出産雌動物数 / 妊娠雌動物数) × 100

妊娠期間: 交尾を認めた日から分娩完了日までの日数

出産時の平均産児数 = 総産児数 / 妊娠雌数

出産時性比 = 総雄産児数 / 総産児数

生存率

① 哺育0日の生存率 = (哺育0日の生存児数 / 産児数) × 100

② 哺育4日の生存率 = (哺育4日の生存児数 / 哺育0日の生存児数) × 100

③ 哺育21日の生存率 = (哺育21日の生存児数 / 哺育4日に選択した児数) × 100

病理検査; F0およびF1世代の親動物を95週齢で屠殺し、肉眼的病理検査を行った後、無作為抽出によって得た各群のF0およびF1世代の雌雄10匹ずつについて、脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓および生殖腺(精巣または卵巢)の重量を測定した。秤量した臓器については相対重量(絶対重量(mg) / 体重(g))を求めた。試験の途中で死亡または屠殺した動物(児が得られなかった動物も含む)についても肉眼的病理検査を行い、必要に応じて病理組織学的検査を行った。

また、第1産児(F1aとF2a)についてはすべての動物を、第2産児(F1bとF2b)については次世代の動物として選出されなかった動物を離乳後屠殺し肉眼的病理検査に供した。F2bのうちF2世代の動物として選出されたものについては14週齢で屠殺し、肉眼的病理検査を行った後、脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓および生殖腺(精

巢または卵巣)の重量を測定した。秤量した臓器については相対重量(絶対重量(mg)/体重(g))を求めた。秤量した主要臓器および肉眼的に異常を認めた臓器は病理組織学的検査を行った。

試験結果：概要を表2に示した。

親動物：F0世代の雄の1800 ppm群、ならびにF0およびF1世代の雌の300 ppm以上の群で、体重増加の抑制と摂餌量の減少が認められた。病理検査では、F0およびF1世代の雌雄の300 ppm以上の群で盲腸の膨満が認められ、F0世代の雄の1800 ppm群では、肝臓の相対重量の増加が認められた。繁殖性については、性周期、交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間のいずれにも影響はなかった。また、各世代における育成期間中の検体摂取量は次のとおりであった。

投与量 (ppm)		50	300	1800	
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	F0	3.8	22.4	134.6
		F1	4.7	27.3	163.8
		平均	4.3	24.9	149.2
	雌	F0	4.0	23.4	145.1
		F1	4.7	26.8	161.6
		平均	4.4	25.1	153.4

児動物：F1およびF2世代の雌雄の1800 ppm群で、哺育児の体重増加抑制が認められた。性比および生存率は対照と差はなかった。

F2b世代の離乳後も観察したが、体重および摂餌量は対照群と差はなかった。剖検では300 ppm以上の投与群で雌雄とも盲腸の膨満が認められた。1800 ppmで肝臓の絶対重量および相対重量の増加が認められたが、病理組織学的検査では、プロモプチドの投与によると考えられる病変は観察されなかった。

以上の結果から、親動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量ならびに児動物に対する無毒性量は各々50 ppm(雄(F0世代：3.8 mg/kg/日、F1世代：4.7 mg/kg/日、平均：4.3 mg/kg/日)、雌(F0世代：4.0 mg/kg/日、F1世代：4.7 mg/kg/日、平均：4.4 mg/kg/日))であり、繁殖能力に対する無毒性量は1800 ppm(雄(F0世代：134.6 mg/kg/日、F1世代：163.8 mg/kg/日、平均：149.2 mg/kg/日)、雌(F0世代：145.1 mg/kg/日、F1世代：161.6 mg/kg/日、平均：153.4 mg/kg/日))であった。

表1 試験の概要

世代	期間	作業手順	試験項目
F0	育成 (13週間)	各群雌雄各30匹5週齢より投与開始	症状観察(1日1回) 体重、摂餌量測定(週1回) 飼料効率を算出、検体摂取量を算出
	交配	雌雄1対1で交配。 交尾は膣スメア中の精子または膣栓の存在で確認(妊娠0日)	性周期(交配前2周期)、交尾率を算出 雄の体重、摂餌量測定(4週1回)
	妊娠 (3週間)		妊娠率を算出 妊娠動物の体重、摂餌量測定 (妊娠0,7,14,20日)
	分娩	分娩完了の確認(哺育0日)	妊娠期間、出産率、平均産児数、性比算出 母動物の体重、摂餌量測定 (哺育0,7,14,21日)
	哺育 (3週間)	哺育4日に各同腹児 F1a を8匹(可能ならば雄4匹、雌4匹)に無作為に淘汰選抜	児動物；一般状態を1日1回観察 体重測定(哺育0,4,7,14,21日) 生存率(哺育0,4,21日)
F0	離乳	哺育21日に F1a 児動物を屠殺 F1a が得られなかった F0世代親動物は25週齢で屠殺	F1a 離乳児の剖検 F1a が得られなかった F0世代親動物の剖検、病理組織学的検査
	交配	雌雄1対1で交配。 交尾は膣スメア中の精子または膣栓の存在で確認(妊娠0日)	性周期(交配前2周期)、交尾率を算出 雄の体重、摂餌量測定(4週1回)
	妊娠 (3週間)		妊娠率を算出 妊娠動物の体重、摂餌量測定 (妊娠0,7,14,20日)
	分娩	分娩完了の確認(哺育0日)	妊娠期間、出産率、平均産児数、性比算出 母動物の体重、摂餌量測定 (哺育0,7,14,21日)
	哺育 (3週間)		児動物；一般状態を1日1回観察 体重測定(哺育0,4,14,21日) 生存率(哺育0,4,14日)
	離乳	哺育21日に分娩日の近い(分娩日のずれとして4日以内)腹から F1親動物として各群雌雄各30匹を選抜 4週齢より投与開始 選抜されなかった F1b 離乳児の屠殺 35週齢で F0世代親動物の屠殺	選抜されなかった F1b 離乳児の剖検 F0世代親動物の剖検、各群雌雄10匹の臓器重量測定

表1 試験の概要 (つづき)

世代	期間	作業手順	試験項目
F1	育成 (13週間)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	交配		
	妊娠 (3週間)		
	分娩		
	哺育 (3週間)		
	離乳		
F1	交配	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	妊娠 (3週間)		
	分娩		
	哺育 (3週間)		
	離乳	哺育21日に F2世代動物として各群雌雄12匹ずつ選抜 離乳後、投与継続 選抜されなかった F2b 離乳児の屠殺 35週齢で F1世代親動物の屠殺 14週齢で F2児動物の屠殺	症状観察(1日1回) 体重、摂餌量測定(週1回) 飼料効率を算出、検体摂取量を算出 選抜されなかった F2b 離乳児の剖検 F1世代親動物の剖検、各群雌雄10匹の臓器重量測定 F2離乳児の剖検、臓器重量測定、 病理組織学的検査

表2 結果概要

世 代			親 : F0、 児 : F1				親 : F1b、 児 : F2			
投 与 量 (ppm)			0	50	300	1800	0	50	300	1800
動 物 数 (雄/雌)		a	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30
		b	29/30	30/28	26/26	29/29	26/29	29/29	28/30	26/28
死 亡	雄	a	0	0	0	0	1	0	0	0
		b	0	0	0	0	1	0	0	0
	雌	a	0	2	1	0	1	1	0	2
		b	0	0	0	0	0	0	0	1
一般状態										
体重 (雄)						低値				
体重 (雌)	交配前	a			低値	低値			低値	低値
		b								
	妊娠中	a			低値	低値			低値	低値
		b			低値	低値			低値	低値
	哺育期	a			低値	低値			低値	低値
		b			低値	低値			低値	低値
摂餌量 (雄)						低値				
摂餌量 (雌)	交配前	a			低値	低値			低値	低値
		b								
	妊娠中	a			低値	低値			低値	低値
		b			低値	低値				
	哺育期	a							低値	低値
		b							低値	低値
飼料効率										
検体採取量 mg/kg/日	雄		-	3.8	22.4	134.6	-	4.7	27.3	163.8
	雌		-	4.0	23.4	145.1	-	4.7	26.8	161.6
肉眼的病理所見 盲腸；内容物のうっ滞と膨満					雄：1 雌：1	雄：3 雌：10			雄：2	雄：9 雌：7
絶 对 重 量	脳	雄								
		雌							▽96	
	肝臓	雄						▽87		
		雌								
	腎臓	雄							▽87	
		雌								
精巣/卵巢	雄									
	雌						▽88			
相 对 重 量	脳	雄								
		雌				△107			▽96	
	肝臓	雄				▲112		▽89		
		雌								
	腎臓	雄							▽88	
		雌			△110					
精巣/卵巢	雄						△107			
	雌						▽86			
病理組織学的検査										

親動物

空欄は特記すべき変化のないことを示す。

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

臓器重量の数値は統計学的に有意差を示したものを対照群値に対する百分率(%)で示す。

体重、摂餌量、臓器重量： Student または Aspin-welch の t 検定 (Δ : $p < 0.05$, \blacktriangle : $p < 0.01, 0.001$)

飼料効率： Mann-Whitney の U 検定

表2 結果概要 (つづき)

世 代			親：F0、 児：F1				親：F1b、 児：F2				
投与量(ppm)			0	50	300	1800	0	50	300	1800	
性周期											
交尾率(%)	雄	a	96.7	100	96.7	100	96.7	100	100	100	
		b	100	100	96.2	100	100	100	100	100	
	雌	a	100	100	100	100	100	100	100	100	
		b	100	100	100	100	100	100	100	100	
妊娠率(%)			a	100	100	90.0	96.7	93.1	96.6	93.3	85.7
			b	93.3	89.3	96.2	93.1	96.3	89.3	92.9	91.3
出産率(%)			a	100	100	100	100	100	100	100	100
			b	100	100	100	100	100	100	100	
妊娠期間(日)			a	21.9	21.8	21.9	21.9	22.0	21.9	22.0	22.0
			b	22.1	21.8	22.0	21.9	21.9	21.9	21.9	21.9
平均産児数			a	13.6	14.2	13.2	13.7	14.7	14.0	14.6	14.4
			b	13.3	14.2	13.0	14.3	14.4	14.2	14.6	13.8
各哺育日の 生存率(%)	0日	a	98.6	99.2	93.9	99.5	96.5	98.2	99.0	99.4	
		b	98.6	97.7	98.7	98.3	97.1	98.7	95.9	99.1	
	4日	a	98.8	98.9	94.8	97.7	98.3	99.3	99.3	99.4	
		b	99.1	99.7	99.4	99.5	98.8	99.1	98.2	99.7	
	21日	a	99.6	99.6	100.0	99.6	99.5	100.0	98.7	99.5	
		b	97.6	98.0	98.0	99.1	100.0	98.0	98.6	95.8	
性比			a	0.521	0.519	0.531	0.513	0.518	0.472	0.490	0.530
			b	0.513	0.525	0.477	0.530	0.516	0.522	0.532	0.557
児動物 平均児動物体重(g)	哺育 0日	雄	a	6.0	6.0	6.1	6.0	6.0	6.0	5.9	6.1
		b	6.2	6.0	6.3	6.1	6.4	6.2	6.1	6.3	
	雌	a	5.7	5.6	5.7	5.7	5.8	5.8	5.6	5.7	
		b	6.0	5.8	5.9	5.8	6.1	6.0	5.8	5.9	
	哺育 4日	雄	a	10.1	9.9	10.2	9.9	10.4	10.5	10.0	10.3
		b	10.7	10.3	10.8	9.8***	11.0	10.7	10.5	10.5	
	雌	a	9.6	9.4	9.8	9.5	10.2	10.1	9.7	9.7	
		b	10.3	9.9	10.3	9.6*	10.6	10.3	10.0	10.1	
	哺育 7日	雄	a	16.5	16.0	16.6	16.0	17.0	16.9	16.4	16.7
		b	17.2	16.4	17.3	15.9**	17.7	17.2	17.3	16.7	
	雌	a	15.7	15.2	15.9	15.2	16.7	16.2	16.0	15.7**	
		b	16.7	15.9	16.5	15.7*	17.0	16.7	16.6	16.2	
	哺育 14日	雄	a	32.7	32.5	32.6	31.4*	35.2	34.9	34.2	33.0***
		b	35.3	33.7*	34.8	32.5***	36.4	35.7	35.3	34.4**	
	雌	a	31.2	31.2	31.3	30.1	34.4	33.9	33.0*	31.5***	
		b	34.4	32.9*	33.1	32.3**	35.2	35.3	34.5	33.0**	
	哺育 21日	雄	a	51.1	52.6	52.2	50.1	56.0	56.0	55.2	54.2*
		b	57.5	54.8*	56.0	52.6***	58.0	57.3	56.7	55.9	
	雌	a	48.7	50.4	49.7	47.7	54.6	54.1	53.0*	51.5***	
		b	55.4	53.1*	52.9*	51.1***	55.4	56.1	54.6	53.8	
	一般状態										
	肉眼的病理所見										

空欄は特記すべき変化のないことを示す。

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

臓器重量の数値は統計学的に有意差を示したものを対照群値に対する百分率(%)で示す。

体重、平均産児数：StudentまたはAspin-welchのt検定 (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$)

交尾率、妊娠率、出産率、性比：Fisherの直接確率計算

妊娠期間、哺育児の生存率：Man-WhitneyのU検定

表2 結果概要 (つづき)

世 代		F2b					
投 与 量 (ppm)		0	50	300	1800		
動 物 数 (雄/雌)		12/12	12/12	12/12	12/12		
児 動 物	死 亡	雄	0	0	0	0	
		雌	0	1	0	0	
	一般状態						
	体 重	雄					
		雌					
	摂 餌 量	雄					
		雌					
	飼 料 効 率	雄					
		雌					
	検体摂取量 mg/kg/日	雄	—	5.3	30.6	184.2	
		雌	—	5.2	29.9	182.5	
	肉眼的病理所見 盲腸；内容物のうっ滞と膨満				雄：7 雌：11	雄：10 雌：10	
	絶 対 重 量	心 臓	雄				
			雌			▼92	
		肝 臓	雄				△110
			雌				▲115
		脾 臓	雄			▼87	
			雌				
腎 臓	雄		▽92				
	雌						
相 対 重 量	心 臓	雄	▲107				
		雌					
	肝 臓	雄				▲109	
		雌			▲109	▲120	
	脾 臓	雄			▽90		
		雌					
病理組織学的検査							

空欄は特記すべき変化のないことを示す。

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

臓器重量の数値は統計学的に有意差を示したものを対照群値に対する百分率(%)で示す。

体重、摂餌量、臓器重量：Student または Aspin-welch の t 検定 (△▽：p<0.05、▲▼：p<0.01, 0.001)

飼料効率：Man-Whitney の U 検定

(2) プロモブチド原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 8-2)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1982年

検 体：プロモブチド原体

純 度：

試験動物：Jcl:Wistar雌ラット(入荷時12週齢)、1群24匹

試験期間：1982年4月30日開始、1982年6月4日終了

投与方法：検体を1%CMC水溶液に懸濁し、10、100および1000 mg/kg/日の用量で妊娠6日から15日まで、10 mL/kgの液量で1日1回強制経口投与した。なお、対照群には1%CMC水溶液を同様に投与した。

子宮中に精子を確認した日、あるいは腹腔を確認した日を妊娠0日として起算した。

[投与量設定根拠]

試験項目：

親動物；動物の状態を毎日観察した。体重は妊娠0日、6日から15日の毎日および20日に測定した。摂餌量は妊娠0から6日、6から9日、9から12日、12から15日、15から20日に測定した。母動物は、妊娠20日に屠殺し帝王切開した。各腹ごとに剖検し、着床数、生存胎児および死亡胚/胎児の数を観察した。

胎児；性別判定、外形検査および体重測定を行った。同腹胎児のうち約半数はブアン液で固定後内臓検査を行った。残りの胎児はアリザリン染色を施した後、骨格検査を行った。

結果；概要を次頁の表に示した。

親動物；100 mg/kg以上の投与群において、体重増加および摂餌の抑制が認められた。一般状態および子宮内検査において、検体投与に関連した変化は認められなかった。

胎児；生存胎児数、死亡胎児数および胎児体重のいずれの指標についても、対照群との間に差はみられなかった。胎児の外形、内臓および骨格検査では、数例の奇形がみられたが、奇形児をもつ腹の頻度や腹当たり奇形児数および検査胎児数当たりの奇形児の出現頻度のいずれの指標についても、各投与群と対照群との間に差は認められなかった。

以上の結果から、母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は10 mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は1000 mg/kg/日であった。また、胚・胎児致死作用および催奇形性作用は認められなかった。

結果：

投与群(mg/kg/日)		0(対照)	10	100	1000
1群当たりの母動物数		24	24	24	24
母動物	妊娠動物数	24	24	24	24
	死亡数	0	0	0	0
	一般症状				
	体重			増加抑制	増加抑制
	摂餌量			抑制	抑制
	剖検所見				
	所見	子宮内			
	平均着床数	16.0	15.7	15.5	15.8
	胚・胎児死亡率(%)	6.7	9.0	4.5	7.5
	平均生存胎児数	14.9	14.4	14.8	14.6
胎児	平均体重(mg)	(雄) 3869	3931	3916	3972
		(雌) 3657	3678	3740	3706
	胎児観察	観察腹数	24	24	24
		観察胎児数	358	345	354
		奇形児をもつ腹数(率、%)	2 (8.3)	4 (16.7)	4 (16.7)
		奇形児数(率、%)	2 (0.56)	4 (1.16)	6 (1.69)
		外形検査胎児数	358	345	354
		全身性水腫	0	0	0
		臍ヘルニア	0	0	1
		鎖肛	0	2	0
		短尾	0	0	0
		痕跡尾	0	1	0
		骨格検査胎児数	174	176	189
		椎体骨化核分離	0	0	3
		胸骨分節分離	0	1	0
		胸骨分節非対称	1	0	0
		肋骨癒合	1	0	1
		頸肋骨	4	1	4
		腰肋骨	16	15	16
		仙椎前椎骨数27	0	1	0
		内臓検査胎児数	184	169	165
		小眼球	0	0	1
		側脳室拡張	0	0	0
		側脳室および第3脳室拡張	0	1	0
		腎臓無発生	0	0	0
		水腎	0	1	1
		尿管拡張	0	0	1
		膀胱無発生	0	0	0
		内臓逆位	0	1	0

空欄は特記すべき変化がないことを示す。

太枠内は検体の影響であることを示す。

母動物の体重、体重増加量、摂餌量、着床数、生存胎児数、胎児体重：StudentまたはAspin-Welchのt検定

胎児死亡率：Mann-WhitneyのU検定

奇形児をもつ腹の頻度、奇形児の出現頻度：Chi-square検定あるいはFisherの直接確率計算法

(3)プロモブチド原体のウサギにおける催奇形試験

(資料8-3)

試験機関：残留農業研究所

報告書作成年：1983年

検 体：プロモブチド原体

検体の純度：

試験動物：日本白色種雌ウサギ(入荷時5ヶ月齢)、1群19~35匹

試験期間：1982年2月4日開始、1983年5月10日終了

投与方法：検体を1%CMC水溶液に懸濁し、10、100および1000 mg/kg/日の用量で妊娠^{*)}6日から18日までの間、10 mL/kgの液量で1日1回強制経口投与した。なお、対照群には1%CMC水溶液を同様に投与した。

^{*)}交尾を確認した日を妊娠0日として起算した。

[投与量設定根拠]

試験項目：

親動物；動物の一般状態を毎日観察した。体重は妊娠0日、6日から18日(投与期間中)の毎日、24日および28日に測定した。また、摂餌量は妊娠0日から28日まで、2日ごとに記録した。妊娠28日に屠殺し、帝王切開した。母動物は各腹ごとに剖検し、着床数、生存胎児および死亡胚/胎児の数および位置を観察した。

胎児；外表検査および体重測定を行った。各胎児について内臓検査および性別判定を行った後、アリザリン染色を施し、骨格検査を行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

親動物；母動物に対する被験物質の影響はいずれの投与群にも認められなかった。一般状態の観察や剖検では被験物質の投与によると思われる異常所見はみられなかった。また、体重や摂餌量は技術的に投与可能な最高濃度と思われる1000 mg/kg群においても対照群とほぼ同じであった。

胎児：胎児に対する被験物質の影響もまたいずれの投与群にも認められなかった。10 mg/kg群で着床数がやや多かったが、100 mg/kg群や1000 mg/kg群では対照群とほぼ同じであった。各投与群における生存胎児の体重および奇形の出現率は対照群とほぼ同じであった。

以上の結果から、母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量、ならびに次世代に対する無毒性量は1000 mg/kg/日であった。また、胚・胎児致死作用および催奇形性作用は認められなかった。

結果：

投与群 (mg/kg/日)		0 (対照)	10	100	1000 ^{b)}	
1群当たりの動物数		35	19	20	29	
母動物	妊娠動物数	15	14	13	15	
	流産数	3	0	0	1	
	死亡数	0	0	0	1	
	一般症状					
	体重					
	摂餌量					
	剖検所見					
	所見 子宮内	平均黄体数	8.7	9.5	9.3	9.1
		平均着床数	5.9	7.9△	5.6	5.6
		胚・胎児死亡率 (%)	19.4	17.6	3.0	11.5
平均生存胎児数		4.9	6.6	5.4	4.9	
胎児	平均体重 (g)	(雄) 35.5	33.8	34.5	34.9	
		(雌) 36.9	33.3	35.5	33.2	
胎児 観察	観察腹数	12	14	13	14	
	観察胎児数	59	93	70	69	
	奇形児をもつ腹数 (率, %)	7 (58.3)	8 (57.1)	7 (53.8)	7 (50.0)	
	奇形児数 (率, %)	11 (18.6)	14 (15.1)	13 (18.6)	12 (17.4)	
	外形検査胎児数	59	93	70	69	
	口蓋裂	0	1	0	0	
	浮腫 (下顎～頸部)	0	0	1	0	
	湾曲手	0	1	2	2	
	前肢第1指欠損	0	1	0	0	
	後肢指関節拘縮	0	1	0	0	
	骨格検査胎児数	59	93	70	69	
	頭頂骨分離	4	2	1	4	
	頭頂骨癒合	1	0	1	0	
	第7・8胸椎体分離	1	0	0	1	
	肋骨癒合	0	0	1	0	
	胸骨分節癒合	2	5	5	6	
	胸骨分節非対称	2	4	2	0	
	橈骨減形成	0	0	1	0	
	頭頂間骨分離	6	29▲	12	17△	
	胸骨分節骨化不全	10	21	14	8	
	腰肋骨	5	5	4	2	
	内臓検査胎児数	59	93	70	69	
	肺葉癒合	0	1	1	0	
	肺中間葉欠損	3	1	0	0	
	肺減形成	0	1	4	1	
	胸腺減形成	0	1	0	0	
	左心房減形成	0	0	1	1	
	横膈膜ヘルニア	0	0	2	1	
	大動脈弓遮断	0	0	1	0	
	腎臓逸所	0	1	0	0	

空欄は特記すべき変化がないことを示す。

母動物の体重、摂餌量、黄体数、着床数、生存胎児数および胎児体重：StudentまたはAspin-Welchのt検定（△：P<0.05）

胎児死亡率：Mann-WhitneyのU検定

胎児の性比、奇形胎児をもつ腹の頻度および奇形児の出現頻度；Fisherの直接確率計算法（△：P<0.05 ▲：P<0.01）

a)：技術的に投与可能な限界量（検体を均一な懸濁状態に保つことが可能な濃度）。

9. 変異原性

(I) プロモプチド原体の細菌を用いた変異原性試験

1) Rec-assay

(資料 9-1)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1982年

検 体：プロモプチド原体

純 度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構野生株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、Rec-assay法でDNAの損傷の誘起性を検索した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

検体は2000 μ g/ディスクの用量まで、両菌株に生育阻止帯を誘起しなかった。

一方、陰性対照のカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止が認められ、陽性対照のマイトマイシンでは両株の間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、検体はDNAに対する損傷の誘起性は有しないものと判断される。

薬物	濃度 (μ g/ディスク)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
プロモプチド原体	10	0	0	0
	20	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
カナマイシン	10	5	3.5	1.5
マイトマイシン	0.1	8	<1	

2) 復帰変異試験

検 体：プロモプチド原体

純 度：

試験方法：Salmonella typhimurium (ネズミチフス菌) のヒスチジン要求性指示菌 5 株および Escherichia coli (大腸菌) のトリプトファン要求性指示菌 1 株を用い、Ames らの方法を用いてラット肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下でプロモプチド原体の遺伝子突然変異性を検索した。

検体は DMSO に溶解し、10~2500 μg /プレートの範囲の 6 用量で実施した。試験は 2 連制とし、プレート法で 1 回行った。

用量設定根拠：

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、2500 μg /プレートの用量まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、*N*-エチル-*N*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、2-アミノアントラセン、9-アミノアクリジン及び 2-ニトロフルオレンでは全ての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される

復 帰 変 異 試 験 成 績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート							
			塩基対置換型			フレームシフト型				
			TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538		
溶媒対照 (DMSO)		-	143 133	13 9	16 8	26 18	6 11	14 11		
プロモプチド原 体	10	-	143	10	16	18	4	14		
			137	10	8	36	8	11		
	50	-	134	13	17	21	5	12		
			104	5	7	25	7	13		
	100	-	155	11	14	18	1010	14		
			127	4	9	18		14		
	500	-	138	12	18	24	5	3		
			138	6	12	30	7	6		
1000	-	142	7	11	20	4	7			
		149	6	6	16	5	7			
2500	-	109	6	5	15	2	3			
		105	4	9	9	3	2			
溶媒対照 (DMSO)		+	120 122	7 6	16 14	26 40	11 6	17 21		
プロモプチド原 体	10	+	147	12	16	33	13	22		
			117	11	14	41	14	31		
	50	+	123	13	14	44	11	22		
			123	6	8	52	8	24		
	100	+	125	12	13	44	12	30		
			140	8	15	46	6	25		
	500	+	117	19	9	28	11	26		
			119	8	9	35	7	42		
1000	+	118	4	12	29	7	26			
		120	7	14	34	7	26			
2500	+	113	7	8	22	6	20			
		125	4	9	24	2	24			
陽 性 対 照	S-9Mixを 必要としないもの		名称	AF-2	ENNG	AF-2	AF-2	9-AA	2-NF	
			$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.01	10	0.04	0.1	80	2	
			コロニー数/プレート	448	1136	387	590	>2000	285	
				478	1026	-	534	>2000	200	
	S-9Mix を必要と するもの		S-9Mixの有無	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
				$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.5	2	40	0.5	2	0.5
			+	コロニー数/プレート	626	263	>2000	208	142	181
					560	216	>2000	269	111	202
			-	コロニー数/プレート	128	20	15	36	16	12
					140	12	22	22	19	8

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
2-AA : 2-7ミアントレン AA-9 : 9-アミノアクリジン

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン
2-NF : 2-ニトロフォルン

3) 復帰変異試験

(資料9-2)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚総合研究所

報告書作成年：1984年

検体：プロモブチド原体

純度：

試験方法：Salmonella typhimurium(ネズミチフス菌)のヒスチジン要求性指示菌5株およびEscherichia coli(大腸菌)のトリプトファン要求性指示菌1株を用い、Amesらの方法を用いてラット肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下でプロモブチド原体の遺伝子突然変異性を検索した。

検体はDMSOに溶解し、10~1000 μg /プレートの範囲の5用量で実施した。試験は2連制とし、プレインキュベーション法で2回行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS-9Mixの有無にかかわらず、検体の析出が認められた1000 μg /プレートの用量まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたメチルメタンサルホネート、2-ニトロフルオレン、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン、ベンゾ(α)ピレン及び2-アミノアントラセンでは全ての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

試験結果：

表1-①

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート ¹⁾					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)		-	128	3	15	23	5	11
プロモプチド原体	10	-	105	4	10	21	4	10
	50	-	119	4	10	17	10	11
	100	-	102	4	12	17	5	8
	500	-	112	4	15	23	7	15
	1000	-	137	3	18	22	5	12
溶媒対照 (DMSO)		+	93	5	9	33	7	21
プロモプチド原体	10	+	107	6	9	25	11	24
	50	+	105	4	11	32	11	24
	100	+	103	4	10	25	9	29
	500	+	101	6	12	23	5	16
	1000	+	108	5	10	23	9	22
陽性 対照	S-9Mix無添加	名称	MMS	ENNG	ENNG	2-NF	9-AA	2-NF
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	200	5	2	1	80	2
		コロニ-数/プレート	377	1246	362	132	511	298
	S-9Mix添加	名称	B(α)P	2-AA	2-AA	B(α)P	B(α)P	B(α)P
		$\mu\text{g}/\text{プレート}$	5	2	80	5	5	5
		コロニ-数/プレート	889	14	155	219	36	222

1) 数値は2枚のプレートの平均値

MMS : メチルメタンサルホネート、
9-AA : 9-アミノアクリジン、

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソアジゲン、
2-AA : 2-アミアントラセン、

2-NF : 2-ニトロフルオレン、
B(α)P : ベンゾ(α)ピレン

表 1-②

薬 物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート ¹⁾					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照(DMSO)		-	127	5	16	27	8	11
プロモプチド原体	10	-	86	3	21	19	8	9
	50	-	104	4	15	29	7	14
	100	-	99	5	9	25	8	14
	500	-	101	8	17	32	9	15
	1000	-	127	4	15	23	10	13
溶媒対照(DMSO)		+	104	6	19	39	12	26
プロモプチド原体	10	+	125	7	12	41	10	33
	50	+	119	5	17	53	10	32
	100	+	106	6	14	38	15	36
	500	+	106	8	16	35	16	31
	1000	+	92	4	22	50	15	24
陽性 対照	S-9 Mix無添加	名称	MMS	ENNG	ENNG	2-NF	9-AA	2-NF
		mg/プレート	200	5	2	1	80	2
		コロニ-数/プレート	381	1253	260	104	442	262
	S-9 Mix添加	名称	B(α)P	2-AA	2-AA	B(α)P	B(α)P	B(α)P
		mg/プレート	5	2	80	5	5	5
		コロニ-数/プレート	859	30	144	214	40	213

1) 数値は2枚のプレートの平均値

MMS : メチルメタンサルホネート、
9-AA : 9-アミノアカリジン、

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、
2-AA : 2-アミノアントラセン、

2-NF2 : 2-ニトロフルオレン、
B(α)P : ベンゾ(α)ピレン

(2) マウス骨髄細胞を用いたプロモプチド原体の小核試験

(資料9-3)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚総合研究所

報告書作成年：1984年

検 体：プロモプチド原体

純 度：

試験方法：プロモプチド原体をコーンオイルに懸濁し、7～8週令のICR系雄マウス(1群6匹)に1250、2500、5000 mg/kgの割合で腹腔内に投与した。

投与24時間後(実験1)、また、最高投与量5000 mg/kgを同様に投与して24、48、72時間後(実験2)に屠殺し、大腿骨の骨髄細胞を採取してスライドグラス上にメタノールで固定後、5%ギムザ液で染色し骨髄標本を作製した。各個体あたり1000個の多染性赤血球を観察して小核を有する多染性赤血球の出現頻度を求めた。また、骨髄細胞に対する毒性を調べるため、各個体あたり1000個の赤血球を観察して全赤血球(多染性赤血球および正染性赤血球)中の多染性赤血球の割合を調べた。

用量設定根拠：

結 果：骨髄標本の観察結果を表に示した

いずれの検体投与群においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。骨髄細胞に対する毒性の指標となる全赤血球中の多染性赤血球の割合において、1250、2500 mg/kg投与群の24時間後で有意な低下が認められた。5000 mg/kg投与群の24時間後では有意な低下は認められなかったが、48、72時間後で有意な低下が認められた。陽性対照投与群では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な小核の増加が認められた。

観察結果

薬物	投与量 (mg/kg)	処理 時間 (hr)	動物数	細胞数	P/P+C (%) 平均±SD	MN/P+C (%) 平均±SD	MN/P (%) 平均±SD
実験 1							
コーンオイル	a)	24	6	6000	46.3±5.9	0.07±0.08	0.07±0.05
プロモプリド 原体	1250	24	6	6000	38.7±6.5*	0.07±0.12	0.10±0.09
	2500	24	6	6000	36.1±5.8**	0.10±0.06	0.12±0.10
	5000	24	6	6000	42.4±7.3	0.12±0.10	0.18±0.17
MMC	2	24	6	6000	35.6±14.4	2.28±1.34**	5.15±2.54**
実験 2							
コーンオイル	a)	24	6	6000	45.8±6.0	0.15±0.08	0.08±0.04
プロモプリド 原体	5000	24	6	6000	46.2±7.9	0.05±0.08	0.15±0.08
	5000	48	6	6000	32.2±6.4**	0.13±0.12	0.12±0.16
	5000	72	6	6000	28.5±8.0**	0.12±0.12	0.15±0.05
MMC	2	24	6	6000	33.1±7.6**	2.42±1.22**	7.52±2.96**

a) : 10 mL/kg.

統計学的解析：小核を有する多染性赤血球の出現頻度についてはKastenbaumとBowmanの方法で行い、多染性赤血球の割合についてはt検定を行った。

* : p<0.05, ** : p<0.01

P : 多染性赤血球、C : 正染性赤血球

MN : 小核を持つ細胞、MMC : マイトマイシンC

結 論：以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髄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と判断される。

(3) プロモプチド原体の培養細胞における in vitro 染色体異常試験

(資料 9-4)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1988年 (GLP対応)

検 体：プロモプチド原体

純 度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来のCHL細胞株の培養細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下および非存在下で検体を処理した後、染色体標本を作成し、顕微鏡下で観察することにより、染色体異常誘発性を検定した。検体はDMSOに溶解して用いた。観察は1濃度あたり200個の分裂中期像について行い、試験は1回行なった。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

検体はS9mixの有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を有する細胞の出現頻度は5%を超えず、染色体異常の誘発は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCおよびベンゾ(α)ピレンでは有意に高い染色体異常の誘発が認められた。

以上の結果から、in vitroでプロモプチド原体はチャイニーズハムスター肺由来の細胞株CHLに対して染色体異常を誘発しないものと判断される。

薬物	濃度 (M)	S9 mix	染色体異常をもつ細胞(%)			
			+GAP ^{a)}	-GAP ^{b)}	+GAP ^{a)}	-GAP ^{b)}
処理時間			24時間		48時間	
標本作製時間			24時間		48時間	
対照	0	—	0.5	0.5	0	0
溶媒対照(DMSO)	0.5%	—	0.5	0.5	0.5	0.5
プロモプチド原体	1.56×10^{-5}	—	0.5	0.5	0.5	0
	3.13×10^{-5}	—	0	0	0	0
	6.25×10^{-5}	—	0	0	0	0
	1.25×10^{-4}	—	0	0	0.5	0.5
	2.50×10^{-4}	—	0	0	0.5	0.5
マイトマイシンC	1.2×10^{-6}	—	80.0	79.0	94.0	90.0
処理時間			6時間		6時間	
標本作製時間			18時間		24時間	
対照	0	+	0	0	0	0
溶媒対照(DMSO)	0.5%	+	0.5	0	1.0	0.5
プロモプチド原体	1.56×10^{-5}	+	1.0	1.0	0	0
	3.13×10^{-5}	+	0	0	0.5	0.5
	6.25×10^{-5}	+	0.5	0.5	1.0	1.0
	1.25×10^{-4}	+	0.5	0.5	0.5	0
	2.50×10^{-4}	+	0.5	0	0.5	0.5
ベンゾ(α)ピレン	1.5×10^{-4}	+	45.0	44.0	71.0	70.0

a)ギャップを含む染色体異常

b)ギャップを除いた染色体異常

10. 生体の機能に及ぼす影響

プロモブチドの一般薬理試験

(資料 10)

試験機関：残留農業研究所

報告書作成年：1985年

検 体：プロモブチド原体

純 度：

1. 急性毒性

供試動物：ICR系マウス(体重：雄 30~40g、雌 23~30g)を1群雌雄10匹ずつおよび日本白色種雄ウサギ(体重 2.0~3.5kg)を1群2匹用いた。

方 法：ポリトロンホモジナイザーを用いて1% Tween80水溶液に懸濁したプロモブチドをマウス、ウサギとも20ml/kgの容量で腹腔内投与した。観察は14日間行った。

結 果：LD50は雄マウス5000mg/kg以上、雌マウス2500~5000mg/kgの間、雄ウサギ約5000mg/kgであった。

マウスでは投与後30分から軽微な鎮静、立毛、よろめき歩調が観察され、雄マウスより雌マウスに強く現われた。死亡は雌マウスの2500mg/kg以上の群においてのみ投与後3~5日に認められた。

雄ウサギではプロモブチドに起因すると思われる症状は認められなかったが、5000mg/kg群の1例に投与翌日から食慾の減退がみられ、18日目に死亡した。

2. 中枢神経系に対する作用

i) 一般症状

供試動物：ICR系マウス(体重：雄 30~40g、雌 23~30g)を1群雌雄3匹ずつ使用した。

方 法：1% Tween80水溶液に懸濁したプロモブチドをマウスに20mg/kgの容量で腹腔内投与し、全身症状を多元観察法によって観察した。観察は4時間行った。

結 果：78.1mg/kg投与で雄マウスにおいて30分後に躯体緊張の軽微な低下を認めたのみであった。313mg/kg以上の投与では雌雄ともに投与30分以降において自発運動減少、筋緊張の低下、眼瞼下垂、よろめき歩調、立毛、体温の低下が認められた。これらの症状は観察時間内に著明に増強されることはなかった。

ii)ヘキシバルビタール麻酔に対する作用

供試動物：ICR系雄マウス(体重 30~40g)を1群10匹使用した。

方 法：1%Tween80水溶液に懸濁したプロモブチドをマウスに腹腔内投与し、30分後にヘキシバルビタール100mg/kgを皮下投与した。睡眠時間は正向反射消失を指標として記録した。

結 果：睡眠時間は19.5mg/kgでは有意差はなかったが、78.1mg/kg以上で用量に依存して延長した。その程度は78.1、313、1250および5000mg/kgでそれぞれ138、171、229および324%であった。

iii)抗痙攣作用

供試動物：ICR系雄マウス(体重 30~40g)を1群10匹用いた。

方 法：1%Tween80水溶液に懸濁したプロモブチドをマウスに腹腔内投与し、30分後にベンチレンテトラゾール(100mg/kg)、硝酸ストリキニーネ(2mg/kg)又はピクロトキシン(5mg/kg)を皮下投与し、3種の痙攣薬によって誘発される痙攣に対するプロモブチドの影響を調べた。

結 果：3種の痙攣薬によって痙攣、間代性痙攣、強直性痙攣の発現が全動物に認められた。

プロモブチド5000mg/kgの投与はピクロトキシンの強直性痙攣発現数を半数に減少し、痙縮の発現時間を有意に延長した。しかし他の痙攣薬による痙攣の発現数、発現時間には影響を及ぼさなかった。

iv)脳波に対する作用

供試動物：ICR系マウス(体重：雄 30~40g、雌 23~30g)を雌雄3匹ずつおよび日本白色種雄ウサギ(体重 2.0~3.5kg)を3匹使用した。

方 法：マウスではヘキシバルビタール麻酔下に十字縫合を基準に前後2ヶ所に電極を装着し、麻酔の回復後(3~4時間)誘導した表面脳波を検査した。ウサギの場合には脳定位固定装置に保定し、前頭部、頭頂部、後頭部に電極を装着し、脳波検査を行った。

マウス、ウサギいずれの場合にも1%Tween80水溶液に懸濁したプロモブチド5000mg/kgを腹腔内投与した。脳波の測定は投与3時間後まで行った。

結 果：マウス、ウサギいずれの場合においてもプロモブチド投与によって表面脳波に影響は認められなかった。

v)体温に対する作用

供試動物：一晩絶食させた日本白色種雄ウサギ(体重 2.0~3.5kg)を4匹使用した。

方 法：頸部保定器に保定したウサギの肛門内7 cmに挿入したサーミスタ温度計を用いてプロモブチド投与3時間前から投与3時間後まで、1時間ごとに体温を測定した。

プロモブチドは1%Tween80水溶液に懸濁し、5000mg/kgを腹腔内投与した。

結 果：体温に有意な変化は認められなかった。

3. 呼吸、循環器系に対する作用

供試動物：日本白色種雄ウサギ(体重 2.0~3.5kg)を3匹使用した。

方 法：ウサギをウレタン麻酔下に背位に固定した。

呼吸は気管にカニューレを挿入し、サーミスタ型呼吸センサーを付け変化を調べた。血圧は左股動脈に動脈カニューレを挿入し、トランスジューサーを介して測定した。心電図は肢誘導法によって記録した。

これらの記録はポリグラフを用いて同時に行い、2~3時間測定した。

プロモブチドは1%Tween80水溶液に懸濁し、5000mg/kgを腹腔内投与した。

結 果：プロモブチド投与によると思われる変化は呼吸、血圧、心電図いずれにも認められなかった。

4. 自律神経系に対する作用

供試動物：Hartley系雄モルモット(体重 500~600g)を使用した。

方 法：モルモットから摘出し輸精管および回腸を用い、マグヌス法によって実験した。栄養液は、Krebs Ringerを用いた。プロモブチドはKrebs Ringerに懸濁して適用した。実験はいずれも2~3例行った。

自律神経系に対する作用の薬理的解析のために次のような薬物が使用された。

テトロドトキシン、硫酸アトロピン、メシル酸フェントラミン、硫酸グアネチジン、塩酸フェノキシベンザミン、High K⁺、アセチルコリン、ノルアドレナリン、塩化ヘキサメソニウム、セロトニン、ヒスタミン

結 果：

i) 摘出輸精管に対する作用

5×10⁻³g/ml以上の濃度で適用した時、筋に対する直接作用と思われる輸精管の収縮を引き起こした。また、収縮を生ずる濃度で、プロモブチドはHigh K⁺刺激による収縮を抑制し、アセチルコリンとノルアドレナリン刺激による収縮を増強した。

ii) 摘出回腸に対する作用

5×10^{-4} g/ml以上を適用した時、回腸の自発運動を亢進した。これは筋に対する直接作用と推察された。また、自発運動亢進作用を生ずる濃度でHigh K^+ 、アセチルコリン、セロトニン、ヒスタミン刺激による収縮を抑制した。

5. 末梢神経系に対する作用

i) 瞳孔径、角膜反射に及ぼす影響

供試動物：体温の測定(2-V項)と同じウサギを使用した。

方 法：体温測定と同時期に瞳孔径および角膜反射を調べた。瞳孔径はノギスを用い、角膜反射はマンドリン線を用いて検査した。

結 果：5000mg/kgのプロモブチドを腹腔内投与し、投与3時間後まで1時間ごとに瞳孔径および角膜反射の変化を観察したが、プロモブチドによる影響は認められなかった。

ii) 前脛骨筋収縮に対する作用

供試動物：呼吸、循環器系の検査(3項)と同じウサギを使用した。

方 法：ウサギの前脛骨筋を露出し、末端側を長趾骨筋から分離した。腱に糸をかけ15~20gの初負荷になるように等尺性トランスジューサーに結合し、直接又は間接刺激に対する筋収縮をポリグラフを用いて記録した。直接刺激は前脛骨筋に刺入した電極から、また間接刺激は中枢端を切断した右腓骨神経に電極をつけ、それぞれに超極大電圧の矩形波刺激を加えた。

結 果：5000mg/kgのプロモブチドを腹腔内投与し、2~3時間測定したが、直接刺激および間接刺激に対する前脛骨筋の収縮反応には変化は認められなかった。

6. 血液に対する作用

供試動物：日本白色種雄ウサギ(体重 2.0~3.5kg)を3匹使用した。

方 法：

i) 生体内試験

ウサギの血液を耳動脈から採取し、3.8%クエン酸ナトリウムで凝固を阻止し血漿を分取した。

溶血の指標として血漿ヘモグロビン濃度をCrippsの方法に従って分光光度計で測定した。また、凝固の指標として血漿プロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間をそれぞれ測定用キットを使用しコアグスタットで測定した。

プロモブチドは1%Tween80水溶液に懸濁してウサギに腹腔内投与した。
投与前および投与3時間後に血液を採取し、上記検査を行った。

ii) 試験管内試験

ヘパリン処理したウサギの血液から遠心分離により赤血球を得、10%赤血球浮遊液を作製した。この浮遊液にプロモブチドの懸濁生理食塩水を添加し、37°Cで2時間インキュベートした後、その上清を分光光度計を用い576nmで吸光度を測定して溶血作用の有無を調べた。比較対照には蒸留水および0.1%サポニン含有生理食塩水を用いた。

結果：生体内試験においては、プロモブチド5000mg/kgを腹腔内投与したが、投与前と投与3時間後の各パラメーターに有意な変化はなかった。

試験管内試験においては、終濃度 5×10^{-3} g/ml以上の高濃度において溶血作用が認められたが、これはサポニン、蒸留水の作用に比べて極めて軽微なものであった。

以上の結果から、プロモブチドの中毒症状として中枢神経に由来すると思われる軽微な鎮静作用を主徴とした神経症状が観察された。また、種々の末梢作用も認められたが、これらの作用は非常に高濃度の場合に限って発現したものであった。

従って、プロモブチドの急性中毒(死)は、薬理学的に非特異的な機序に由来していると考えられた。

プロモプチドの一般薬理試験の総括表

試験項目		動物種	投与経路 (溶媒)	適用量	例数	作用量	無作用量	結果の概要
急性毒性	症状観察(14日間) LD50 値算出	マウス	I.P. (1% Tween 80)	0、625、1250、 2500、5000 mg/kg	雄 雌 各 10 匹/群	(本報告書か らは不明)	(本報告書か らは不明)	投与後 30 分以降から軽微な 鎮静、立毛、よろめき歩調 (雌では 2500mg/kg 以上の投 与で 1~2 週間症状が持続) 雌のみ 2500mg/kg 以上で死 亡 LD50 (mg/kg): ♂ >5000、♀ 2500~5000
		ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	0、1250、 2500、5000 mg/kg	雄各 2 匹/群	5000mg/kg	2500mg/kg	投与に起因する症状を認め ず 5000mg/kg 投与の 1 例で翌 日から食欲の減退、18 日目 に死亡 LD50 (mg/kg): ≥5000
全身症状	多元観察法 (4 時間)	マウス	I.P. (1% Tween 80)	0、19.5、 78.1、313、 1250、5000 mg/kg	雄雌各 3 匹/群	♂:78.1 mg/kg ♀:313 mg/kg	♂:19.5 mg/kg ♀:78.1 mg/kg	78.1mg/kg 投与 30 分後に軀 体緊張の軽微な低下(雄) 313mg/kg 以上の投与 30 分 以降に自発運動減少、筋緊 張の低下、眼瞼下垂、よろ めき歩調、立毛、体温低下 (雄雌)
中 枢 神 経 系	麻酔に対 する作用	マウス	I.P. (麻 酔薬投与 30 分前) (1% Tween 80)	0、19.5、 78.1、313、 1250、5000 mg/kg	雄各 10 匹/群	78.1mg/kg	19.5mg/kg	78.1mg/kg 以上で睡眠時間 の有意な延長
	抗痙攣作 用	マウス	I.P. (痙攣薬 投与 30 分 前) (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄各 10 匹/群	5000mg/kg	—	ストリキニーネによる痙攣 発現時間の延長、ピクロト キシンによる強直性痙攣発 現時間の短縮および発現率 の減少
脳波	表面脳波を測定 (3 時間)	ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄 3 匹	—	5000mg/kg	影響なし
		マウス	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄雌各 3 匹	—	5000mg/kg	影響なし
体温	投与 3 時間前から 投与 3 時間後まで の体温を測定	ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄 4 匹	—	5000mg/kg	影響なし

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	適用量	例数	作用量	無作用量	結果の概要	
呼吸、血圧、心電図	ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄3匹	—	5000mg/kg	影響なし	
摘出輸精管	モルモット	in vitro (Krebs Ringer)	5×10^{-7} ~ 5×10^{-1} g/ml	—	5×10^{-3} g/ml	5×10^{-4} g/ml	5×10^{-3} g/ml で収縮 5×10^{-2} g/ml で規則性収縮 この収縮は TTX、アトロピン、フェントラミン、グアナチジン、フェノキシベンザミンで消失せず 5×10^{-3} g/ml 以上で High K^+ 収縮を抑制、ACh、NA 収縮に対しては弱い増強傾向	
摘出回腸	モルモット	in vitro (Krebs Ringer)	5×10^{-7} ~ 5×10^{-1} g/ml	—	5×10^{-4} g/ml	5×10^{-5} g/ml	5×10^{-4} g/ml 以上で自発運動の亢進 5×10^{-3} g/ml で亢進作用の減少 自発運動亢進作用はヘキサメトニウム、アトロピン、TTX に無影響 5×10^{-3} g/ml で High K^+ 収縮を抑制、ACh、セロトニン、ヒスタミン収縮に対し抑制傾向	
瞳孔、角膜反射に対する作用	ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄4匹	—	5000mg/kg	影響なし	
前脛骨筋収縮	ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	雄3匹	—	5000mg/kg	影響なし	
血液	ウサギ	I.P. (1% Tween 80)	5000mg/kg	3匹	—	5000mg/kg	有意な変化なし	
		試験管内溶血試験	in vitro (生理食塩水)	5×10^{-5} ~ 5×10^{-2} g/ml	—	5×10^{-3} g/ml	5×10^{-4} mg/kg	5×10^{-3} g/ml 以上で軽微な溶血作用

11. 補足試験

B. 原体混在物及び代謝物を用いた試験成績

1. deBr-プロモプチドのマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1982年

検 体：deBr-プロモプチド（原体混在物、代謝物；別称 脱ブロム体）

検体の純度：

供 試 動 物：ICR系マウス、6週齢、体重（5週齢において）：雄 26～31 g、雌：21～25 g、
一群雌雄各 10 匹

観 察 期 間：14 日間

試 験 方 法：溶媒対照群を含めて 3 段階の用量を設定した投与群を設け、それらの死亡率からLD50 値を求めた。

投 与 方 法：検体を 10% Tween80 に懸濁して 10 あるいは 20 mL/kg の割合で単回経口投与した。対照群には 10% Tween80 のみを同様に投与した。
投与前に約 20 時間絶食した。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般状態および生死を 14 日間観察した。観察期間終了時に 5000 mg/kg 群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。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、2500、5000
LD50 (mg/kg)	雌雄共 > 5000
死亡開始時間および消失時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	投与後 4 時間から発現 投与後 1 日までに消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

毒性症状としては、自発運動減少、歩行失調、四肢麻痺および正向反射消失が観察された。

剖検では特記すべき変化は認められなかった。

2. deBr-プロモプチドの細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 混2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1984年

検体：deBr-プロモプチド（原体混在物、代謝物；別称 脱プロム体）

検体純度：

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、TA1538 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 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、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は DMSO に溶解し、5~1000 µg/プレートの範囲の 6 用量で実施した。試験は 2 連制とし、プレインキュベーション法で 2 回行った。

用量設定根拠：最高用量を 5000 µg/プレートとして用量設定試験を実施した。5000 µg/プレートの用量まで抗菌性は認められなかったが、検体の著しい析出が 5000 µg/プレートの用量で認められ、コロニー数を測定することは不可能であった。以上により、コロニー数の測定可能な 1000 µg/プレートを最高用量とし、以下 500、100、50、10 及び 5 µg/プレートを設定した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

2 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、1000 µg/プレートの用量まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたメチルメタンサルホネート、2-ニトロフルオレン、*N*-エチル-*N*'-ニトロ-*N*'-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン、ベンゾ[a]ピレン及び 2-アミノアントラセンではすべての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

1回目試験

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
対照 (DMSO)		-	12	118	3	12	11	10
検体	5	-	15	99	5	12	7	6
	10	-	13	82	5	17	10	13
	50	-	17	82	2	14	9	14
	100	-	7	88	3	12	8	11
	500	-	11	82	3	16	8	9
	1000	-	15	108	6	11	5	15
対照 (DMSO)		+	11	101	5	22	16	16
検体	5	+	12	88	5	19	10	18
	10	+	15	90	4	19	9	13
	50	+	9	96	8	18	17	18
	100	+	10	103	4	16	15	13
	500	+	12	93	7	20	16	19
	1000	+	14	96	5	21	8	21
陽性 対照	ENNG	2	-	543				
	MMS	200	-		461			
	ENNG	5	-			1626		
	2-NF	1	-				161	
	9-AA	80	-					582
	2-NF	2	-					
	2-AA	80	+	184				
	B[a]P	5	+		801		240	34
	2-AA	2	+			31		

陽性対照物質

MMS: メチルメンスルホネート、 ENNG: *N*-エチル-*N*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、 2-NF: 2-ニトロフルオレン、
 9-AA: 9-アミノアクリジン、 2-AA: 2-アミノアントラセン、 B[a]P: ベンゾ[*a*]ピレン

2 回目試験

(表中の数値は 2 反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
対照 (DMSO)		—	16	118	4	19	9	10
検体	5	—	18	169	5	15	12	16
	10	—	17	133	6	14	12	13
	50	—	21	130	8	15	10	17
	100	—	10	137	3	16	11	11
	500	—	13	103	5	14	13	16
	1000	—	16	126	6	18	8	12
対照 (DMSO)		+	18	124	7	31	16	23
検体	5	+	11	120	4	38	16	21
	10	+	18	120	7	32	17	23
	50	+	20	126	7	35	17	24
	100	+	16	129	4	27	12	24
	500	+	12	109	8	29	14	25
	1000	+	16	114	7	27	12	17
陽性 対照	ENNG	2	—	815				
	MMS	200	—		427			
	ENNG	5	—		2071			
	2-NF	1	—			95		
	9-AA	80	—				968	
	2-NF	2	—					298
	2-AA	80	+	344				
	B[a]P	5	+		1042		259	49
	2-AA	2	+			30		

陽性対照物質

MMS : メチルメタンサルフェート、

ENNG : *N*-エチル-*N*'-ニトロ-*N*-ニトログアニジン、

2-NF : 2-ニトロフルオレン、

9-AA : 9-アミノアカリジン、

2-AA : 2-アミノアントラセン、

B[a]P : ベンゾ [a]ピレン

3. のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 混3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1985年

検 体： (原体混在物；別称)

検体の純度：

供 試 動 物：ICR系マウス、6週齢、体重：雄 24.0～30.9 g、雌：19.6～24.2 g、
一群雌雄各 10 匹

観 察 期 間：14 日間

試 験 方 法：溶媒対照群を含めて 7 段階の用量を設けた投与群を設定し、それらの死亡率から Litchfield and Wilcoxon の方法を用いて LD50 値を算出した。

投 与 方 法：検体を 10% Tween80 に懸濁して 20 mL/kg の割合で単回経口投与した。

投与前に 20 時間絶食した。対照群には 10% Tween80 のみを同様に投与した。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般状態および生死を 14 日間観察した。体重測定を投与直前、投与後 7 および 14 日目に行った。死亡動物および観察期間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。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、500、2000、2800、3900、 5500、7700
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：5400 雌：5170 (3600～8110) (3550～7530)
死亡開始時間および終了時間	投与後 1 日目から開始 投与後 3 日目に終了
症状発現および消失時間	投与後 10 分から発現 投与後 7 日目に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：3900 雌：2000

毒性症状としては、筋攣縮、振戦、自発運動減少、歩行失調、四肢麻痺、正向反射消失、呼吸不規則、呼吸深大・困難、水様物の排泄、軟便・下痢、体温降下、立毛および尾部先端の黒色化・脱落が観察された。

体重では、雄の 3900 mg/kg 以上、雌の 2800 mg/kg 以上の投与で軽度な増加抑制が認められた。剖検では途中死亡例で胃・盲腸粘膜面の充血および出血ならびに小腸粘膜のカタル様変化が、観察期間終了時生存例では前胃部の壁肥厚が認められた。

4. の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 混4)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1985年

検 体： (原体混在物；別称)

検体純度：

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、TA1538 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 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、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、10~5000 μg /プレートの範囲の 6 用量で実施した。試験は 2 連制とし、プレインキュベーション法により 1 回行った。

用量設定根拠：最高用量を 5000 μg /プレートとして 10~5000 μg /プレートの用量範囲で用量設定試験を実施した。5000 μg /プレートの用量まで抗菌性は認められなかった。検体の少量の析出が 5000 μg /プレートの用量において認められたが、復帰変異コロニー数の計数に影響はなかった。以上により、ガイドライン上定められた最高用量の 5000 μg /プレートを最高用量とし、以下 1000、500、100、50 及び 10 μg /プレートを設定した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

1 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、5000 μg /プレートの用量まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたメチルメタンサルホネート、2-ニトロフルオレン、アジ化ナトリウム、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン、ベンゾ[a]ピレン及び 2-アミノアントラセンではすべての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			WP2003	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538	
対照 (DMSO)		-	27	129	17	22	8	8	
検体	10	-	24	124	19	24	10	11	
	50	-	24	110	17	31	6	13	
	100	-	28	110	18	22	4	10	
	500	-	31	104	11	18	8	15	
	1000	-	32	109	9	20	7	9	
	5000	-	23	110	10	21	4	10	
対照 (DMSO)		+	32	90	15	37	22	22	
検体	10	+	25	104	14	51	17	31	
	50	+	28	109	12	49	19	28	
	100	+	32	96	15	46	22	25	
	500	+	31	87	11	36	19	24	
	1000	+	34	85	10	35	11	22	
	5000	+	42	72	12	36	7	17	
陽性 対照	ENNG	2	-	451					
	MMS	200	-		440				
	Na-azide	0.5	-			306			
	2-NF	1	-				391		
	9-AA	80	-					1121	
	2-NF	2	-					1096	
	2-AA	80	+	440					
	B[a]P	5	+		670		322	145	199
	2-AA	2	+			156			

陽性対照物質

MMS : メチルメタンサルフェート、 ENNG : *N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、 Na-azide : アジ化ナトリウム、
 2-NF : 2-ニトロフォルホルン、 9-AA : 9-アミノアクリジン、 2-AA : 2-アミノアントラセン、
 B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

代謝物

1. DMBz-Amine のマウスにおける急性毒性試験

(資料 代1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1981年

1) 急性経口

検体：DMBz-Amine (代謝物)

検体の純度：

供試動物：ICR系マウス、6週齢、体重(5週齢において)：雄26~31g、雌：21~25g
一群雌雄各10匹

観察期間：14日間

試験方法：溶媒対照群を含めて7段階の用量を設けた投与群を設定し、それらの死亡率からLitchfield and Wilcoxonの方法を用いてLD50値を算出した。

投与方法：検体をコーンオイルに溶解して10mL/kgの割合で単回経口投与した。

投与前に20時間絶食した。対照群にはコーンオイルのみを同様に投与した。

観察・検査項目：一般状態および生死を14日間観察した。体重測定を投与直前、投与後7および14日目に行った。死亡動物および観察期間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。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、10、200、300、450、 680、1000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：450 雌：635 (350~578) (529~764)
死亡開始時間および終了時間	投与後1日以内に発現および終了
症状発現および消失時間	投与後10分から発現 投与後24時間以内に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 10
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 300

毒性症状としては、興奮、歩行失調、四肢麻痺、流涎、体温降下、正向反射消失、呼吸深大および呼吸困難が観察された。

体重では検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、剖検では特記すべき変化は認められなかった。

2)急性経皮

検 体：DMBz-Amine (代謝物)

検体の純度：

供 試 動 物：ICR系マウス、6週齢、体重(5週齢において)：雄26~31g、雌：21~25g、
一群雌雄各10匹

観 察 期 間：14日間

投 与 方 法：検体をコーンオイルに溶解し、約4.5 cm²の範囲で刈毛した動物の後背部に5 mL/kgの割合で単回経皮投与した。検体の塗布は動物をアルミニウム製固定台にて保定して行い、塗布後4時間また保定を継続した。塗布後4時間に投与部位を閉塞し、動物をケージに收容した。塗布後24時間に検体を拭き取った。投与前に20時間絶食した。対照群にはコーンオイルのみを同様に投与した。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般状態および生死を14日間観察した。体重測定を投与直前、投与後7および14日目に行った。死亡動物および観察期間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。なお、LD50値はLitchfield and Wilcoxonの方法を用いて算出した。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、500、1000、1300、1700、2200
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：1390 雌：1310 (1300~1480) (1120~1530)
死亡開始時間および終了時間	投与後1日以内に開始および消失
症状発現および消失時間	投与後1時間から発現 投与後24時間以内に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：1000、雌：500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：1000、雌：500

毒性症状としては、呼吸不規則、歩行失調、呼吸困難および呼吸深大が観察された。

体重では検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、剖検では特記すべき変化は認められなかった。

2. DMBz-Amine の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 代2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1985年

検 体：DMBz-Amine (代謝物)

検体純度：

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、TA1538 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 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、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、50~5000 µg/プレート の範囲の 6 用量で実施した。試験は 2 連制とし、プレインキュベーション法により 1 回行った。

用量設定根拠：最高用量を 5000 µg/プレート として 10~5000 µg/プレート の用量範囲で用量設定試験を実施した。全菌株に対して S-9 Mix 存在下及び非存在下ともに 5000 µg/プレート の用量において抗菌性が認められた。以上により、試験菌株に対して抗菌性が認められた 5000 µg/プレート を最高用量とし、以下 2000、1000、500、100 及び 50 µg/プレート を設定した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

1 回の試験において検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、5000 µg/プレート の用量まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたメチルメタンスルホネート、2-ニトロフルオレン、アジ化ナトリウム、*N*-エチル-*N*'-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン、ベンゾ[a]ピレン及び 2-アミノアントラセンではすべての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
対照 (DMSO)		-	23	124	17	21	14	14
検体	50	-	23	110	15	31	7	15
	100	-	26	99	11	26	7	11
	500	-	15	103	17	25	8	13
	1000	-	19	115	11	23	11	12
	2000	-	21	108	13	21	8	12
	5000	-	0 T)	0 T)	0 T)	0 T)	0 T)	0 T)
対照 (DMSO)		+	21	112	18	48	22	25
検体	50	+	21	115	22	50	22	26
	100	+	17	110	15	50	22	23
	500	+	22	100	15	42	18	29
	1000	+	18	107	13	45	26	31
	2000	+	30 T)	87 T)	12 T)	51	24 T)	35 T)
	5000	+	19 T)	0 T)	0 T)	0 T)	0 T)	28 T)
陽性 対照	ENNG	2	-	292				
	MMS	200	-		397			
	Na-azide	0.5	-			283		
	2-NF	1	-				337	
	9-AA	80	-					848
	2-NF	2	-					1099
	2-AA	80	+	458				
	B[a]P	5	+		732		490	210
	2-AA	2	+			160		

陽性対照物質

MMS : メチルメタンサルフェート、 ENNG : *N*-エチル-*N*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、 Na-azide : ナジ化ナトリウム、
 2-NF : 2-ニトロフルオレン、 9-AA : 9-アミノアクリジン、 2-AA : 2-アミノアントラセン、
 B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

T) : 抗菌性が認められた。

C. 製剤を用いた試験成績

1. ドニチS1キログラム剤

(1) ドニチS1キログラム剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 製1-1)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター

報告書作成年：2004年 [GLP対応]

検体の組成：ドニチS1キログラム剤

<有効成分>

イマゾスルフロン 0.9%

フェントラザミド 3.0%

プロモブチド 9.0%

供試動物：Crj:CD(SD)IGS系ラット、8週齢、体重：170～180g、1群雌3匹

観察期間：14日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を蒸留水に懸濁して10mL/kgの割合で単回経口投与した。投与前に約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。体重は投与直前、投与後1、3、7及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000
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	発現例なし
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

中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(2) ドニチ S 1 キロ粒剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 製 1 - 2)

試験機関：(株) ポソリサーチセンター

報告書作成年：2004年 [GLP対応]

検体の組成：ドニチ S 1 キロ粒剤

<有効成分>

イマゾスルフロン 0.9%

フェントラザミド 3.0%

プロモプチド 9.0%

供試動物：Crj:CD(SD)IGS系ラット、8週齢、体重：雄 274~288g 雌 206~218g、
1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：蒸留水で湿らせた被験物質を2000mg/kgの割合でリント布(約20cm²:4×5cm)にのせ、約30cm²(5×6cm)の範囲で刈毛した背部皮膚に貼付し、粘着性伸縮テープを用いて閉塞した。塗布約24時間後にリント布及び粘着性伸縮テープを除去し、温水及びガーゼを用いて塗布部位を清拭した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与直前、投与後3、7及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄、雌：2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄、雌 >2000
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	発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

雄雌に関係なく中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに投与部位の皮膚を含めた剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(3) ドニチ S 1 キロ粒剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製 1 - 3)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター

報告書作成年：2004 年 [G L P 対応]

検体の組成：ドニチ S 1 キロ粒剤

<有効成分>

イマゾスルフロン 0.9%

フェントラザミド 3.0%

プロモブチド 9.0%

供試動物：日本白色種雌性ウサギ、18 週齢、体重：2.94~3.44kg、一群 3 匹

観察期間：検体除去後 3 日間観察

試験方法：乳鉢で粉碎した検体 0.5g を 2.5cm 四方のリント布にのせ、0.5mL の注射用水で湿らせて背部皮膚に貼付し適用した。適用時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は注射用水を用いて拭き取った。

観察項目：検体除去の 1、24、48 及び 72 時間後に皮膚の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）を観察し、Draize 法の基準に従って採点した。また、一般状態は適用直後、1、4 及び 5 時間後に、その後は適用 3 日後まで 1 日 1 回、観察した。体重は検体適用前及び適用 3 日後に測定した。

試験結果：刺激性変化の評点を以下の表に示した。

動物番号	項 目	最高 評点*	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮 腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0
皮膚一次刺激性指数：0						

※：判定基準の最高評点

ウサギの皮膚に対して検体適用後 1、24、48 及び 72 時間のいずれの観察時期にも皮膚反応は認められなかった。

一般状態及び体重の推移には検体適用による影響は認められなかった。

以上の結果より、ドニチ S 1 キロ粒剤はウサギの皮膚に対して、刺激性はないと判断される。

(4) ドニチ S 1 キロ粒剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製 1 - 4)

試験機関：(株)ポゾリサーチセンター

報告書作成年：2004 年 [G L P 対応]

検体の組成：ドニチ S 1 キロ粒剤

<有効成分>

イマゾスルフロン 0.9%

フェントラザミド 3.0%

プロモブチド 9.0%

供試動物：日本白色種雌性ウサギ、15 週齢、体重：2.56~2.82kg、一群 3 匹

観察期間：適用後 4 日間観察

試験方法：乳鉢で粉碎した検体 0.1g を、非洗眼群及び洗眼群の各 3 匹、計 6 匹の左眼に適用した。洗眼群については適用 30 秒後に 100mL の注射用水で 30 秒間洗眼した。各群の右眼は対照眼とした。

観察項目：検体適用前、適用 1、24、48、72 時間及び 4 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法の基準に従って採点した。また、一般状態は適用 6 時間後までは 1 時間ごとに、その後は毎日、適用 4 日後まで観察し、体重は検体適用前及び適用 4 日後に測定した。

試験結果：刺激性変化の評点を以下の表に示した。

項 目		最高 評点*	適用後時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 1101	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	0	0
			面積	4	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結 膜	発赤	3	1	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0
			眼脂分泌	3	1	1	1	0	0
	動物 番号 1102	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	0	0
			面積	4	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結 膜	発赤	3	1	1	1	1	0
			浮腫	4	2	0	0	0	0
			眼脂分泌	3	2	1	0	0	0

※：判定基準の最高評点

項 目			最高 評点*	適用後時間					
				1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 1103	角膜 混濁	程度	4	1	1	0	0	0
			面積	4	1	1	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	1	1	0	
		浮腫	4	2	1	0	0	0	
		眼脂分泌	3	2	1	0	0	0	
	合 計*			330	41	29	18	6	0
平 均			110	13.7	9.7	6.0	2.0	0	
洗 眼 群 (3匹 平均)	角膜混濁		程度	4	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	0.3	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	
		眼脂分泌	3	0	0	0	0	0	
合 計*			110	0.7	0	0	0	0	

※：判定基準の最高評点

*：Draize法による評価点（最高110点/匹）

非洗眼群では、角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫、分泌物が認められた。これらの反応は、適用4日後までに消失した。合計評点の平均値の最大値は適用1時間後の13.7であった。

洗眼群では、結膜発赤が認められたが、適用24時間後には消失した。合計評点の平均値の最大値は適用1時間後の0.7であった。非洗眼群と比べて刺激反応は著しく軽度であったことから、洗眼効果を認めた。

一般状態及び体重には検体適用による影響は認められなかった。

以上の結果より、ドニチS1キロ粒剤はウサギの眼に対して軽度の刺激性があると判断されたが、洗眼効果を認めた。

(5) ドニチ S 1 キロ粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製 1 - 5)

試験機関：(株)ポリサーチセンター

報告書作成年：2004 年 [GLP 対応]

検体の組成：ドニチ S 1 キロ粒剤

<有効成分>

イマゾスルフロン	0.9%
フェントラザミド	3.0%
プロモブチド	9.0%

供試動物：ハートレー系雌性モルモット、6 週齢、体重：316～360g、

検体感作群 20 匹、検体非感作群 10 匹

観察期間：感作開始後 30 日間観察

試験方法：Buehler Test 法により実施した。

投与量設定根拠：注射用水で 25 (調製限界濃度)、10、5 及び 1% に懸濁調製した検体を側胴部の皮膚に、6 時間閉塞貼付し、検体除去 24 及び 48 時間後に観察した結果、25% 以下全ての濃度で皮膚反応は認められなかった。この結果から、感作及び惹起濃度を 25% とした。

感 作：前日に 5×5cm の大きさに刈毛、剃毛した動物の左側胴部に検体の 25% 懸濁液 0.2mL を塗布した直径 2.5cm のパッチを 6 時間閉塞貼付した。初回感作より 7 日及び 14 日後に同様に処置し、計 3 回感作を行った。検体非感作群には注射用水のみを使用した。

惹 起：最終感作の 13 日後に 5×5cm の大きさに刈毛、剃毛し、その翌日動物の右側胴部に検体の 25% 懸濁液 0.2mL を塗布した直径 2.5cm のパッチを 6 時間閉塞貼付した。

陽性対照：試験実施機関で 6 箇月に 1 回実施している DNCB を用いた背景データ収集試験 (最近時：2004 年 7 月 1 日～2004 年 9 月 24 日) の結果を引用した。

試験項目：惹起の検体除去 24 及び 48 時間後に投与部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、Magnusson & Kligman 法の評価基準により採点した。また、一般状態は観察終了日まで 1 日 1 回観察し、体重は感作開始日、最終感作日、惹起日及び観察終了日に測定した。

試験結果：各観察時間における皮膚反応が認められた動物数及びその採点を次の表に示した。

群			供試動物数	感作反応動物数						陽性率					
	感作	惹起		24 時間				48 時間		24 時間	48 時間				
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点			計			
				0	1	2	3		0				1	2	3
検 体	25% 検体	25% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0%	0%
	注射 用水	25% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0%	0%
陽 性 対 照	1% DNCB	0.25% DNCB	10	0	0	1	9	10/10	0	0	4	6	10/10	100%	100%
	エタノール	0.25% DNCB	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0%	0%

検体感作群では、検体除去 24 及び 48 時間後の観察で 20 例のいずれにも皮膚反応は認められなかった。検体非感作群にも、皮膚反応は認められなかった。一般状態及び体重の推移には検体適用による影響は認められなかった。

以上の結果より、ドニチ S 1 キロ粒剤に皮膚感作性はないと判断される。

2. 草闘力ふろあぶる

(1) 草闘力ふろあぶるのラットにおける急性経口投与毒性試験

(資料 製2-1)

試験機関：Safeparm Lab. (UK)

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体：草闘力ふろあぶる

組 成：プロモブチド 14.2%
 ベンゾフェナップ 15.9%
 ペントキサゾン 5.3%
 界面活性剤、有機溶剤等 残量
 100%

供試動物：SD (CrI : CD® BR)系ラット(8~12週齢、体重：雄;219~236g、雌;210~232g)、
 1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

試験方法：5000mg/kgの1群を設定し、その死亡率からLD50を求めた。

投与方法：検体(比重 1.110)そのままを、一晩絶食したラットに4.51mL/kgの割合で1回強制
 経口投与した。

観察・検査：中毒症状および生死を投与後0.5、1、2および4時間、以後は1日1回14日間観察し、
 体重は投与直前、投与後7日および14日目に測定した。観察期間終了時に生存してい
 た全ての動物について肉眼的に観察した。

試験結果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >5000
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	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000
死亡例を認めなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

中毒症状および死亡は認められず、体重変化への影響もなかった。剖検において
 も検体投与に起因する変化は認められなかった。

(2) 草闘力ふろあぶるのマウスにおける急性経口投与毒性試験

(資料 製2-2)

試験機関：Safeparm Lab. (UK)

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体：	草闘力ふろあぶる		
組 成：	プロモブチド	14.2%	
	ベンゾフェナップ	15.9%	
	ペントキサゾン	5.3%	
	界面活性剤、有機溶剤等	残 量	
		100%	

供試動物：ICR(Crl: CD-1)系マウス(6~8週齢、体重：雄;22~26g、雌;20~22g)、
1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

試験方法：5000mg/kgの1群を設定し、その死亡率からLD50を求めた。

投与方法：検体を蒸留水で懸濁して、10mL/kgの割合で1回強制経口投与した。投与直前には3~4時間絶食した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を投与後0.5、1、2および4時間、以後は1日1回14日間観察し、体重は投与直前、投与後7日および14日目に測定した。観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的に観察した。

試験結果：

投与方法	経 口
投与量(mg/kg)	5000
LD50(mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >5000
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	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄共 5000
死亡例を認めなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄共 5000

中毒症状および死亡は認められず、体重変化への影響もなかった。剖検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。

(3) 草闘力ふろあぶるのラットにおける急性経皮投与毒性試験

(資料 製2-3)

試験機関：Safeparm Lab. (UK)

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体：草闘力ふろあぶる

組 成：	プロモブチド	14.2%
	ベンゾフェナップ	15.9%
	ペントキサゾン	5.3%
	界面活性剤、有機溶剤等	残 量
		100%

供試動物：SD (Cr1: CD®BR)系ラット(8~12週齢、体重：雄;209~222g、雌;203~220g)、
1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体(比重 1.110)そのままを、刈毛した背部および側腹部の皮膚(体表総面積の約10%に相当する)に1.81mL/kgの割合で均一に塗布した。塗布部位は外科用ガーゼで覆い、自己接着包帯(NICROPORE)で半閉塞状態にした。塗布後24時間に蒸留水で湿らせた脱脂綿で検体を拭き取った。

観察・検査項目：中毒症状、適用部位の一次刺激反応および生死を投与後、0.5、1、2および4時間、以後は1日1回14日間観察し、体重は投与直前、投与後7日および14日目に測定した。観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的に観察した。

試験結果：

投与方法	経 口
投与量(mg/kg)	2000
LD50(mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >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	症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例を認めなかった最高投与量(mg/kg)	雌雄共 2000

中毒症状、適用部位における皮膚刺激性の徴候および死亡は認められず、体重変化への影響もなかった。

剖検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。

(4) 草闘力ふろあぶるのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 製2-4)

試験機関：Safeparm Lab. (UK)

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体：草闘力ふろあぶる

組 成：プロモブチド 14.2%
 ベンゾフェナップ 15.9%
 ペントキサゾン 5.3%
 界面活性剤、有機溶剤等 残 量
 100%

試験動物：ニュージーランド白色種 雌雄ウサギ、12~16週令、体重；2.50~3.19kg、一群6匹

観察期間：検体除去後72時間観察

試験方法：剪毛したウサギの背面側腹部に、検体0.5mLを綿ガーゼパッチ(2.5×2.5cm)に塗布して貼付し、外科用粘着テープ(BLENDERM)で固定し、4時間適用した。4時間後綿ガーゼパッチを取り除き、皮膚に付着した検体を蒸留水を含ませた脱脂綿で拭き取った。

観 察：検体除去の1、24、48および72時間後に局所を観察し、局所反応はDraizeの判定基準に従って点数化し、一次刺激率を求めて評価した。

結 果：観察した刺激性変化の評点は以下の通りである。

項 目		最高評点※	暴露後時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
動物番号 13(♂)	紅斑・痂皮形成	4	1	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
動物番号 24(♂)	紅斑・痂皮形成	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
動物番号 32(♂)	紅斑・痂皮形成	4	1	1	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0
動物番号 33(♂)	紅斑・痂皮形成	4	1	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0
動物番号 49(♂)	紅斑・痂皮形成	4	1	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0
動物番号 210(♀)	紅斑・痂皮形成	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合 計	紅斑・痂皮形成	24	6	2	1	0
	浮腫	24	3	0	0	0
平 均	紅斑・痂皮形成	4	1	0.33	0.17	0
	浮腫	4	0.5	0	0	0

一次刺激率=0.2

※：判定基準の最高評点

検体除去1時間後の観察において全例、24時間後で2例、48時間後では1例に非常に軽度な紅斑（強さ1）が認められた。また、非常に軽度の浮腫（強さ1）が、検体除去1時間後で3例観察された。検体除去72時間後の観察においては、刺激性反応は認められなかった。一次刺激率は0.2であった。

以上の結果から、草闘力ふろあぶるはウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があると判定された。

(5) 草闘力ふろあぶるのウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 製2-5)

試験機関：Safeparm Lab. (UK)

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体：草闘力ふろあぶる

組 成：プロモプチド 14.2%
 ベンゾフェナップ 15.9%
 ペントキサゾン 5.3%
 界面活性剤、有機溶剤等 残量
 100%

供試動物：ニュージーランド白色種雄性ウサギ、12～16週齢、体重2.65～3.16kg、一群6匹
 観察期間：適用後72時間観察

投与方法：検体0.1 mLをウサギの右眼の結膜嚢内に適用した。検体の漏出を避けるため、適用後約1秒間両眼瞼を押さえた後、自由にした。左眼は無処置とし、対照とした。

観察項目：検体適用の1、24、48および72時間後に局所反応を観察し、Draizeの判定基準に従い局所反応を点数化して記録した。刺激性の評価はKay and Calandraの方法に従った。

結 果：Draizeの判定基準による局所反応の評点は以下のとおりであった。

項目			最高 評点※	適用後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
動物 番号 59	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	潮紅	3	1	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	0	0	0
動物 番号 50	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	潮紅	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	0	0	0	0
動物 番号 54	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	潮紅	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	0	0	0	0

※：判定基準の最高評点

項目			刺激性変化の評点				
			最高 評点※	投与後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
動物 番号 77	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	潮紅	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	0	0	0	0
動物 番号 109	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	潮紅	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	0	0	0	0
動物 番号 113	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	潮紅	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	0	0	0	0
合計*			660	14	0	0	0
平均			110	2.3	0	0	0

※：判定基準の最高評点

*：Draize 法による評価点（最高 110 点/匹）

試験期間を通じて、角膜または虹彩に影響は認められなかった。

検体適用 1 時間後、5 例の結膜に軽微な局所反応（いずれも強さ 1）が認められたが、適用 24 時間後には消失した。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対し実質的に刺激性なしと判定された。

(6) 草闘力ふろあぶるのモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 製2-6)

試験機関：Safepfarm Lab. (UK)

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体	草闘力ふろあぶる	
組 成	プロモブチド	14.2%
	ベンゾフェナップ	15.9%
	ペントキサゾン	5.3%
	界面活性剤、有機溶剤等	残 量
		100%

供試動物：ハートレー系雌性モルモット 8~12 週齢、体重 300~362g、

検体感作群：一群 20 匹、検体非感作群：一群 10 匹

観察期間：感作開始後 30 日間観察

試験操作：Buehler Test 法

投与量設定根拠：検体そのまま (100%)、検体の 75%、50% および 25% 蒸留水調製液を各々 2 匹の動物の皮膚に 6 時間閉塞曝露した結果、皮膚刺激性が認められなかった。従って、感作濃度は 100% を、誘発濃度については、刺激性を示さない 100% と 75% 蒸留水調製液を設定した。

感 作：左側腹部を刈毛し、検体感作群には検体そのまま 0.5 mL を含ませた 20mm x 20mm のリント布を、陽性対照感作群には DNCB の 0.5% 無水エタノール溶液 0.5 mL を含ませた 20mm x 20mm のリント布を 6 時間閉塞適用した。検体非感作群には蒸留水を、陽性対照非感作群には無水エタノールを用いて同様の処置を行った。感作処置は週 1 回の割合で合計 3 回実施した。

誘 発：最終感作の 2 週間後、右側腹部を刈毛し、検体感作群および検体非感作群には検体そのままおよび 75% 蒸留水調製液 0.5 mL を夫々含ませた 20mm x 20mm のリント布を、陽性対照感作群および陽性対照非感作群には DNCB の 0.05% 無水エタノール溶液 0.5 mL を含ませた 20mm x 20mm のリント布を 6 時間閉塞適用した。

観察項目：感作および誘発適用の貼付除去後 24 および 48 時間目に適用部位の紅斑、浮腫の程度を観察基準に従って観察した。誘発後の観察において、非感作群に認められない皮膚反応が感作群で認められた場合に陽性とした。

結果：誘発後の各観察時間において、皮膚反応が認められた動物数およびその評点を次表に示す。

群				感作反応動物数						陽性率						
	供試動物数	感作	惹起	皮膚反応	24時間				48時間				24時間	48時間		
					皮膚反応評点				計	皮膚反応評点					計	
					0	1	2	3		0	1	2				3
検体	20	検体100%	検体100%	紅斑	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0%	0%
				浮腫	20	0	0	0		20	0	0	0			
			検体75%	紅斑	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20		
				浮腫	20	0	0	0		20	0	0	0			
	10	蒸留水	検体100%	紅斑	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0%	0%
				浮腫	10	0	0	0		10	0	0	0			
			検体75%	紅斑	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10		
				浮腫	10	0	0	0		10	0	0	0			
陽性対照	10	DNCB 0.5%	DNCB 0.05%	紅斑	0	2	8	0	8/10*	1	6	3	0	3/10*	80%	30%
				浮腫	1	6	3	0		4	6	0	0			
	10	無水イソノール	DNCB 0.05%	紅斑	5	5	0	0	0/10*	10	0	0	0	0/10	0%	0%
				浮腫	10	0	0	0		10	0	0	0			

*：非感作群動物に観察された最も強い反応よりも強い皮膚反応を陽性反応と評価した。

検体感作群では、検体除去後の観察において、20例全例に何ら局所反応は認められなかった。また、検体非感作群でも、何ら局所反応は認められなかった。

以上の結果より、検体は皮膚感作性陰性と判定された。

IX. 動植物およ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 (動物) [吸収・排泄・胆汁排泄・組織残留]	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
I-1	代謝・分解 (動物) [吸収・排泄・胆汁排泄・組織残留]	ラット マウス	経口投与	加減ニル基 ¹⁴ C標識アピ ア升: 1回投与 低用量 5mg/kg 高用量 125mg/kg フェニル基 ¹⁴ C標識アピ ア升: 1回投与 低用量 5mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> いずれの場合も¹⁴Cは速やかにかつほぼ完全に糞および尿中に排泄された。 投与7日後の腸管・組織中¹⁴C残留量は1g組織当り0.2μgプロモプチド相当量以下であった。 主要な代謝反応はラット、マウス共に、脱プロム化、フェニル基の水酸化、1-プロピル基の酸化、及び、それらのグルクロン酸抱合化であった。 ラットでの胆汁排泄試験の結果、プロモプチドの水酸化物のグルクロン酸抱合体が胆汁中主要代謝物であることが判明した。 ラットでの腸管循環試験の結果、胆汁排泄された代謝物の多くは、再度、消化管にて吸収されることがわかった。 	住友化学 (1984)	*236* *
I-2	代謝・分解 (動物) [組織分布]	ラット	経口投与	加減ニル基 ¹⁴ C標識アピ ア升: 1回投与 5mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> 血漿の薬物動態学的パラメータ 雄: T_{max}: 8時間, C_{max}: 240ppb, T_{1/2}: 36時間 雌: T_{max}: 1時間, C_{max}: 310ppb, T_{1/2}: 18時間 右組織に分布する¹⁴C濃度は、投与1~8時間後に最高となり以後減少した。 雌雄とも、盲腸を除いて、肝および腎に比較的高濃度の¹⁴Cが分布した。それぞれ投与2~8時間後に最高値となり、以後、半減期14~29時間で減少した。各種器官組織に分布する¹⁴C濃度の減少は比較的遅徐であったが、これは一部の代謝物が腸肝循環するためと考えられた。 代謝物分析の結果、顕著な性差は認められず、肝臓では投与1~4時間後まで、プロモプチドが最も多量に分布したが、以後減少し24時間後には検出限界以下となった。肝臓中代謝物として、deBr-プロモプチド、4-OH-プロモプチド、p-OH-プロモプチド、deBr-3-OH-プロモプチド、deBr-4-OH-プロモプチド及びdeBr-p-OH-プロモプチドを検出した。腎、血液、盲腸内容物中代謝物は、肝臓中代謝物と同種であった。盲腸内容物中におけるプロモプチドおよび代謝物の濃度は雄の方が雌に比べて全般に低かった。 	住友化学 (1987)	251

資料No. 欄のアンダーラインは、残留農薬安全性評価委員会で評価済の試験成績を示す。

資料 No.	試験の種類 (動物) [吸入・排泄・ 組織残留]	供試動 植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
1-3		ラット マウス	経口投与	カボコ基 ¹⁴ C標識脱ア ラ体 ¹⁴ C ¹ (deBr- ア ¹⁴ C ¹) ; 1回投与 5mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> プロモプロチドの動物、水田条件下のイネ、土壌における主代謝物であり、水中での光分解生成物である脱プロム体プロモプロチド (deBr-プロモプロチド) のラットおよびマウスにおける代謝試験を実施した。 ラット及びマウスにおいて、deBr-プロモプロチドは速かにフェニル基と¹⁴C-プロチル基の酸化を受けた後、ほぼ定量的に排泄された。投与後の¹⁴C排泄速度はプロモプロチドより速く、糞への排泄¹⁴C量、組織残留¹⁴C量および腸内容物中¹⁴C量はプロモプロチドより少なかった。 deBr-プロモプロチドとプロモプロチドの主要代謝物はアルコールおよびフェノール誘導体のグルクロン酸抱合体で、胆汁排泄試験及び腸肝循環試験の結果、ラットにおいて、これらは腸肝循環することがわかった。 deBr-プロモプロチドはプロモプロチドとほぼ同様に代謝され、代謝経路は完全にプロモプロチドのものに包含されることが明らかにになった。 	住友化学 (1984)	262

資料 No. 欄のアンダーラインは、残留農業安全評価委員会で評価済の試験成績を示す。

資料 No.	試験の種類 (動物) [反復投与、吸収・排泄・組織残留]	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
I-4	代謝・分解 (動物) [反復投与、吸収・排泄・組織残留]	ラット	経口投与	<p>加標ニル基¹⁴C標識プロトチド: ・1日1回14日間投与連続投与 5mg/kg ・1日1回14日間非連続投与(5mg/kg)後、胆管導出手術を施し、加標ニル基標識プロトチドを1回投与(5mg/kg)</p> <p>加標ニル基¹⁴C標識脱プロトチド: ・1日1回14日間投与連続投与 5mg/kg</p> <p><i>in vitro</i>代謝試験: ・1日1回14日間非連続投与(5mg/kg)したラットから得られた肝臓切片による <i>in vitro</i> 代謝試験</p>	<p>・¹⁴C標識プロトチドあるいはdeBr-プロトチドを14日間連続して強制経口投与すると、いずれの場合も各種の組織に分布する¹⁴C濃度は一定となり定常状態に達し、最終投与終了後は速かに減少し残留しないこと、また、投与した¹⁴Cは糞および尿にほぼ完全に排泄されることが明らかとなった。</p> <p>・糞および尿中代謝物を同定・定量した結果、代謝物の種類および割合はそれぞれの1回投与時(資料I-1, 3)と同様であり、かつdeBr-プロトチドの代謝経路はプロトチドのそれに完全に包含されていることが判明した。</p> <p>・プロトチドを14日間連続投与したラットに¹⁴C標識プロトチドを1回経口投与した後、胆汁および尿中代謝物を分析した結果、連続投与でも代謝反応に差異は認められないこと、及び投与した¹⁴C量の18.3%が脱プロロム化された代謝物として排泄されることが明らかとなった。</p> <p>・ラット肝臓ミクロソームを用いた <i>in vitro</i> 代謝試験の結果、プロトチドと deBr-プロトチドの酸化活性およびプロトチドと 4-OH-プロトチドの脱プロロム化活性はそれぞれほぼ等しいことが証明された。</p>	住友化学 (1984)	271
II-1	代謝・分解 (植物)	水稻	田面水処理	<p>フェニル基標識プロトチド カルボニル基標識プロトチド 5 ppm 水溶液 計1回処理</p>	<p>・収穫時のイネ地上部および玄米中で認められた¹⁴Cはそれぞれ9.53 ppm および1.0~1.2 ppm であった。</p> <p>・プロトチドは水田水、水田土壌から直接あるいは脱プロロム化を受けた後、吸収されイネ全体に分布する。</p> <p>・イネでのプロトチドの主要な代謝経路は、1-アチル基、ベンズル位がイネ、フェニル基4位の水酸化、アミド結合の開裂による4-OH-プロトチド、p-OH-プロトチド、N-2-OH-プロトチド、DMB¹⁴-amine および de-Br-p-OH-プロトチドの生成であった。</p> <p>・白米および稲藁抽出残渣中¹⁴Cの大部分はそれぞれ澱粉およびリグニン画分に分布した。</p>	住友化学 (1982)	285

資料 No. 欄のアンダーラインは、残留農薬安全性評価委員会で評価済の試験成績を示す。

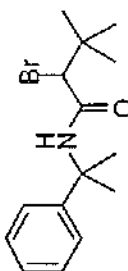
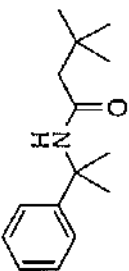
資料No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
II-1	代謝・分解 (土壌)	水田土壌 (岩手、茨城、安土)	土壌混和	フェニル基標識 ¹⁴ C デブ カルボニル基標識 ¹⁴ C デブ 処理濃度(乾土換算) 3.12 ppm(フェニル 標識体) 2.97 ppm(カルボニ ル標識体)	<ul style="list-style-type: none"> 消失半減期: 25-54日 処理210日後の土壌抽出物の割合は添加¹⁴C量の6.4-17.2%、¹⁴C₀は27.3-43.2%、土壌抽出残渣は36.6-46.5%であった。 処理210日後の土壌抽出物中の親化合物の割合は添加¹⁴C量の0.4-6.1%であり、主たる代謝分解物はdeBr-¹⁴Cデブ¹⁴でその割合は90日後に12.7-38.8%に達したが、210日後には1.3-8.6%まで減少した。 その他の代謝分解物: 3-COOH-¹⁴Cデブ¹⁴、deBr-3-COOH-¹⁴Cデブ¹⁴、<i>N</i>-2-OH-¹⁴Cデブ¹⁴、DMBz-Amine、Br-DMBz-Acid(いずれも添加¹⁴Cの1.2%以下) 	住友化学 (1982)	289
IV-1 IV-2	水中運命 (加水分解)	各種緩衝液: pH 5.0 pH 7.0 pH 9.0	水に添加	プロモプロチド標準品 (純度98.7%) DeBr-プロモプロチド標 準品(純度99.8%)	<ul style="list-style-type: none"> 消失半減期: 1年以上(全pH) 29日後の残存率は100~113% 消失半減期: 1年以上(全pH) 28日後の残存率は103~105% 	住友化学 センター (1992)	294
IV-3	水中運命 (水中光分解)	水田水 海水 2% ¹⁴ C水 蒸留水	水に添加	フェニル基標識 ¹⁴ C デブ カルボニル基標識 ¹⁴ C デブ 1 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 蒸留水、水田水、海水: 半減期 = 11-13週 2%アセトン水: 半減期 = 1.3週 プロモプロチドは太陽光により主に脱プロム化を受け、その他にフェニル基の水酸化、ベンジル位メチル基の酸化、トプチル基の酸化、ベンジル位α炭素-莖葉結合の開裂、酸アミド結合の開裂、末端メチル基の水素引き抜き、あるいはこれらの組合わせにより、20個以上の光分解物を生成した。これら分解物は更にC_{60}まで完全分解された。 処理量の10%を超える分解物は検出されなかった。 	住友化学 (1982)	299
V-1	土壌吸着性	高知、北海 道、和歌山、 宮崎	土壌/水 混和	プロモプロチド標準品 (純度100%)	<ul style="list-style-type: none"> 48時間振盪後の吸着率は高知土壌で添加量の30.5%、和歌山土壌で43.4%であった。 K_d値 = 1.6 - 4.7 K_{oc}値 = 163 - 306 	PTRI-West (2002)	304
V-2	土壌溶脱性 (土壌カラム リッチ)	茨城、岩手	土壌混和	カルボニル標識体 乾土あたり3 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 処理放射能は下層へ移行し溶出液中の割合は添加¹⁴C量の21.5-39.4%であった。 溶出液中の親化合物の割合は添加¹⁴C量の11.2(茨城)-0.5(岩手)%であり、主代謝分解物のdeBr-¹⁴Cデブ¹⁴は8.7(茨城)-35.9(岩手)%であった。 	住友化学 (1984)	308

資料No. 欄のアンダーラインは、残留農薬安全性評価委員会で評価済の試験成績を示す。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
V-3	土壌溶脱性 (土壌層層)	菜菔、安土	土壌添加	1mg をスポット塗布 (プロモブチド標準品、 DeBr-アデブチド標準 品)	・ 親化合物および deBr-アデブチドともに処理部に全量が残存した。親化合物および deBr-アデブチドはともに移動度が最小に分類された。	住友化学 (1984)	312

資料 No. 欄のアンダーラインは、残留農薬安全性評価委員会で評価済の試験成績を示す。

<代謝物一覧表>

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
親化合物	ブロモブチド (bromobutide) (Bromobutide)	(<i>RS</i>)-2-bromo- <i>N</i> -(α , α -dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide	
動物 植物 光分解 土壌	deBr-ブロモブチド (deBr-bromobutide)	<i>N</i> -(α , α -dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide	
	4-OH-ブロモブチド (4-OH-bromobutide)		
	p-OH-ブロモブチド (p-OH-bromobutide)		
	<i>N</i> 2-OH-ブロモブチド (<i>N</i> 2-OH-bromobutide)		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
	DMBz-Amine		
	deBrp-OH・プロモブチド (deBrp-OH-bromobutide)		
	3-COOH・プロモブチド (3-COOH-bromobutide)		
	deBr-3-COOH・プロモブチド Br-DMBu-Acid		
	N-1-COOH・プロモブチド (N-1-COOH-bromobutide)		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
	deBr-N ² -OH-プロモブチド		
	(deBr-N ² -OH-bromobutide)		
	deBr-N ¹ -COOH-プロモブチド		
	(deBr-N ¹ -COOH-bromobutide)		
	deBr-4-OH-プロモブチド		
	(deBr-4-OH-bromobutide)		
	2-OH-4-OH-プロモブチド		
	(2-OH-4-OH-bromobutide)		
	2-OH-3-COOH-プロモブチド		
	(2-OH-3-COOH-bromobutide)		
	deBr-Cyclo-プロモブチド		
	(deBr-Cyclo-bromobutide)		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
	COOH·DMBz·Amine		
	Br·DMBu·Amide		
	DMBu·Amide		
	DMBu·Acid		
	Ph·OH, OCH ₃ ·プロモブチ ド		
	deBr·Ph·OH, OCH ₃ ·プロ モブチド		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
	deBr- α -CH ₂ OH-プロモブチドイミド		
	Ph-OH, OCH ₃ -4-OH-プロモブチド		
	p-OH-4-OH-プロモブチド		
	deBr-Ph-OH, OCH ₃ -4-OH-プロモブチド		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
	deBr·p·OH·3·COOH·プロ モブチド		
	deBr·p·OH·4·OH·プロモ ブチド		
	p·OH·2·OH·3·COOH·ブ ロモブチド		
	deBr·Ac·bromobutide		
	deBr·AcMe·bromobutide		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
	deBr-deBu-Ac-bromobuti de		