

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

マウスを用いた腹腔内投与後の小核試験

(資料No. 13-4)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、5～6週齢、1群雌雄各10匹

体重(投与1日目) 雄26～32g、雌21～28g

試験方法：

従って、本試験では500、1000及び2000mg/kgの用量を、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回の投与後24及び48時間に群当たり雌雄5匹ずつ屠殺し、大腿骨から骨髓の塗抹標本を作製した。

溶媒対照として0.5%カルボキシメチルセルロースを、マウス雌雄各10匹に毎日1回の割合で2日間腹腔内投与した。第2回の投与後24及び48時間目に、検体投与群と同様に標本を作製した。

陽性対照としてシクロホスファミドを40mg/kgの用量で、マウス雌雄各5匹に単回腹腔内投与し、投与後24時間で屠殺して検体投与群と同様に標本を作製した。

塗抹標本は、無水メタノール固定後にギムザ染色し、次のとおり検査した。

- 1) 各動物につき、1000個の総細胞数(多染性赤血球：PCE+正染性赤血球：NCE)を計測し、多染性赤血球(PCE)と正染性赤血球(NCE)の相対比(多染性赤血球/正染性赤血球比：PCE/NCE比)を求める。
- 2) 2000個の多染性赤血球のうち、小核を有する多染性赤血球の数
- 3) 多染性赤血球1000個当たりのうち、小核を有する多染性赤血球数の頻度(MNPCE頻度)

結果の判定に際して、次の項目に該当する場合は陽性とした。

- ① 標本作製時点において、少なくとも1用量で、MNPCE頻度に統計学的に有意な増加が認められる場合。
- ② 上記①の場合、MNPCE頻度が、溶媒対照の歴史的背景データを越える場合。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

検体投与群に、死亡は認められなかった。

2000mg/kg投与群では、毒性徴候として嗜眠、円背位、閉眼及び腹部膨満が認

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

められた。

検体投与群におけるMNPCE頻度の群平均は、溶媒対照群と同様であり、有意差は認められなかった。一方、陽性対照群では、小核を有する多染性赤血球の頻度が増加した。

PCE/NCE比は、第2回投与後24時間日において、用量に相関して減少した。さらに最高用量（2000mg/kg）群の雄では、第2回投与後48時間日において、PCE/NCE比が減少した。

以上の結果から、マウスに明確な骨髄毒性が認められる2000mg/kgの用量まで検体を投与しても、骨髄における多染性赤血球に小核を誘発しないと考えられ、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

マウスを用いた小核試験の結果

薬物	投与後経過時間	投与量 mg/kg	性別	観察動物数	PCE/NCE比	MNPCE頻度	
						性別	群
陰性対照	24	0	雄	5	1.22	0.40	0.65
			雌	5	1.26	0.90	
500		雄	5	0.80	0.30	0.55	
		雌	5	1.25	0.80		
1000		雄	5	0.80	0.80	0.60	
		雌	5	1.10	0.40		
2000		雄	5	0.68	0.20	0.70	
		雌	5	0.47	1.20		
陰性対照	48	0	雄	5	0.99	1.00	0.80
			雌	5	1.29	0.60	
500		雄	5	0.95	0.30	0.40	
		雌	5	1.08	0.50		
1000		雄	5	0.85	0.20	0.35	
		雌	5	1.28	0.50		
2000		雄	5	0.62	0.10	0.20 ↓	
		雌	5	0.90	0.30		
陽性対照	24	40	雄	5	1.06	14.10	14.75 ↑ ↑
			雌	5	1.06	15.40	

↑↑ :  $P \leq 0.001$  (2×2分割  $\chi^2$ 検定)

↓ :  $P \leq 0.05$  (2×2分割  $\chi^2$ 検定), 統計学的に有意差が認められたに過ぎず、生物学的有意差は無いものと考えられる。

陽性対照 : シクロホスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

### 3) DNA損傷誘発性

細菌を用いたDNA修復試験

(資料No. 13-5)

試験機関：(財)食品農医薬品安全性評価センター  
報告書作成年：2000年[GLP]

検体の純度：

試験方法：枯草菌*Bacillus subtilis*の組換え修復機構保有の野生株(H17, Rec+)と欠損株(M45, Rec-)を用い、代謝活性化系の存在下(S9mix+)及び非存在下(S9mix-)でDNA損傷の誘発性を検討した。検体を溶解させるため、アセトニトリルを用いた。

用量設定試験として、代謝活性化系非存在下の溶解限界濃度である4305 $\mu$ g/ディスク及び代謝活性化系存在下の溶解限度濃度である2153 $\mu$ g/ディスクにおいても、被験物質処理による試験菌株の生育阻止円が観察されなかった。

従って、代謝活性化系の非存在下では4305 $\mu$ g/ディスクを最高用量とし、代謝活性化系の存在下では2153 $\mu$ g/ディスクを最高用量として、それぞれ各6用量(公比2)を設定した。

陰性対照としてカナマイシンを用いた。陽性対照として、代謝活性化系の非存在下ではマイトマイシンCを、代謝活性化系の存在下ではTrp-P-1を用いた。

各用量及び各対照群は3ディスクで実施した。

結果の解析：M45株のH17株に対する生育阻止円直径の比が1.2以上、かつ生育阻止円直径の差が2mm以上4mm未満を擬陽性、4mm以上を陽性と判定した。

試験結果：結果を次表に示した。

溶解限度濃度まで検討した結果、代謝活性化系の非存在下及び存在下において、検体処理による試験菌株に対する生育阻害作用が認められなかった。一方、陽性対照群における生育阻止円直径の差は、マイトマイシンCで10.8mm、Trp-P-1で12.9mmであり、生育阻止円直径の比はそれぞれ1.2以上であった。

なお代謝活性化系の有無に係わらず、538 $\mu$ g/ディスク以上の用量でディスク上に析出物が観察されたが、培地中への検体の拡散量は十分であると考えられた。

以上の結果から、検体は、本試験条件下において枯草菌に対しDNA損傷の誘発性を示さないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(n=3の平均値)

化合物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	S9の	阻止帯の径 (mm)		差 # (mm)
		有無	M-45(Rec -)	H17(Rec +)	
溶媒対照 アセトニトリル	0	-	0.0	0.0	0.0
検 体	135	-	0.0	0.0	0.0
	269	-	0.0	0.0	0.0
	538 *	-	0.0	0.0	0.0
	1076 *	-	0.0	0.0	0.0
	2153 *	-	0.0	0.0	0.0
	4305 *	-	0.0	0.0	0.0
陰性対照 カナマイシン	0.3	-	6.4	4.9	1.6
陽性対照 マイトマイシンC	0.02	-	10.8	0.0	10.8
溶媒対照 アセトニトリル	0	+	0.0	0.0	0.0
検 体	67.3	+	0.0	0.0	0.0
	135	+	0.0	0.0	0.0
	269	+	0.0	0.0	0.0
	538 *	+	0.0	0.0	0.0
	1076 *	+	0.0	0.0	0.0
	2153 *	+	0.0	0.0	0.0
陽性対照 Trp-P-1	20	+	12.9	0.0	12.9

\* : 析出物が確認された。

# : 「M-45(Rec-)の阻止帯の径」 - 「H17(Rec+)の阻止帯の径」

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

分離ラット肝培養細胞を用いた *in vitro* 不定期DNA合成試験

(資料No. 13-6)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験方法：Wister系ラット雄3匹を屠殺し、その肝臓をコラゲナーゼで灌流し、肝細胞懸濁液を得た。平均生存率が70%以上で1ml当たりの生存細胞数が最も高い懸濁液を用いて初代培養細胞を調製した。

溶媒 (DMSO)、陽性対照化合物2-アセトアミドフルオレン (2-AAF) 又は検体溶液を及び<sup>3</sup>Hチミジンを培養細胞に処理した。一夜培養した後、肝細胞を固定してスライドを作成し、写真用乳化剤に浸漬してオートラジオグラムを作成した。現像及び染色した後に、鏡検下で各濃度群のスライド別に核上の正味銀粒子数 (NNG)、即ち「核上の銀粒子数」から「細胞質上における3領域の平均銀粒子数」を減じた値を鏡検下で測定/算出した。また修復細胞率、即ち正味銀粒子数 (NNG) が5以上である細胞の百分率を算出した。

なお、検体処理群及び陽性対照群のスライドは3枚、溶媒対照群のスライドは5枚を用い、スライド当たり細胞50個について調査した。

試験は2試験 (試験 I 及び II) を行った。

試験 I では、最終濃度0.064、0.32、1.6、8.0、40、200、1000及び5000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の8濃度群で試験した。

高濃度の4群 (40~5000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) で極めて強い細胞毒性が認められたことから、不定期DNA合成の評価は低濃度の5群 (最終濃度：0.064、0.32、1.6、8.0及び40  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) について行った。

試験 II では、最終濃度1.25、2.5、5、10、20及び30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の6濃度群で試験した。

高濃度群の3群 (10~30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) で細胞毒性が認められたことから、不定期DNA合成の評価は低濃度の4群 (最終濃度：1.25、2.5、5及び10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) について行った。

試験の判定として、次 II 該当する場合は陽性と判断した。

- 1) 検体投与群で、群平均の正味銀粒子数が0以上を示し、かつ修復細胞率が20%以上である場合。
- 2) 正味銀粒子数及び修復細胞率に、濃度に関連した増加が認められる場合。
- 3) 別個に独立した試験で、不定期DNA合成の誘導に再現性が認められる場合。

試験結果：結果を次表に示した。

試験 I において、検体を40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  までの濃度で処理しても、群平均の正味銀粒子数は陽性反応の閾値である0を下回り、-8.0~-5.7であった。各検体処理群の修復細胞率は1.3%以下であった。

試験 II において、検体を10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  までの濃度で処理しても、群平均の正味銀粒子数は陽性反応の閾値である0を下回り、-6.9~-2.0であった。各検体処理群の修復細胞率は4.7%以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

溶媒対照群では、群平均の正味核上銀粒子数が試験Ⅰで-8.6、試験Ⅱで-7.3と両方とも0以下であった。

陽性対照群では、群平均の正味核上銀粒子数が試験Ⅰで17.1、試験Ⅱで16.6であり、また修復細胞率は試験Ⅰで93.3%、試験Ⅱで96.7%であった。

以上の結果から、検体は本試験条件下の不定期DNA合成試験において陰性であると判断される。

(n=5の平均値)

	用量 ( $\mu$ g/ml)	核上銀粒子数	細胞質上銀粒子数	核上正味銀粒子数	細胞修復率	
試験Ⅰ	溶媒対照 (DMSO)	13.74	22.34	-8.6	1.6	
	検体	0.064	9.91	17.91	-8.0	-
		0.32	6.24	12.29	-6.1	1.3
		1.6	8.47	16.10	-7.6	0.7
		8	8.32	16.04	-7.7	-
		40	10.27	15.97	-5.7	-
	陽性対照 (2-AAF)	31.89	14.78	17.1	93.3	
試験Ⅱ	溶媒対照 (DMSO)	7.28	14.59	-7.3	1.2	
	検体	1.25	8.63	15.53	-6.9	0.7
		2.5	8.38	14.06	-5.7	2.0
		5	8.89	13.72	-4.8	4.7
		10	3.38	5.41	-2.0	2.7
陽性対照 (2-AAF)	31.01	14.38	16.6	96.7		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

*in vivo / in vitro* 法を用いた分離ラット肝細胞における不定期DNA合成試験

(資料No. 13-7)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)  
[GLP]

報告書作成年：1999年

検体の純度：

試験動物：Wister系雄ラット、6～7週齢、体重：190～263 g、1群5匹

試験方法：

溶媒として0.5%カルボキシメチルセルロースを用いた。

本試験は2試験（試験Ⅰ及び試験Ⅱ）実施した。

試験Ⅰでは、単回経口投与後12～14時間でラットを屠殺し、各群5匹中3匹から肝臓を採取した。肝臓をコラゲナーゼで灌流して初代肝細胞を得た。また試験Ⅰにおける陽性対照として、コーン油で懸濁させた2-アセトアミドフルオレン（2-AFF）を75mg/kgの用量でラットに経口投与した。

試験Ⅱでは、投与後2～4時間でラットを屠殺し、試験Ⅰと同様に初代肝細胞を得た。また試験Ⅱにおける陽性対照として、純水に溶解したジメチルニトロソアミン（DMN）を10mg/kgの用量でラットに経口投与した。

肝初代細胞は、約4時間培養した後に $[^3\text{H}]$ チミジン0.25mMで3回洗浄した。固定された細胞を用いて、各動物につき6枚のスライドを作成し、このうち3枚についてオートラジオグラムを作成した。現像及びヘマラム/エオジンYで染色した後、鏡検下で正味銀粒子数（NNG）を及び修復細胞率を求めた。

正味銀粒子数 = “核上の銀粒子数” - “細胞質上における3領域の平均銀粒子数”

修復細胞率 = 正味銀粒子数（NNG）が5以上である細胞の百分率

試験の判定として、次に該当する場合は陽性と判断した。

- 1) 検体投与群で、正味銀粒子数が0以上を示し、かつ修復細胞率が20%以上である場合。
- 2) 正味銀粒子数及び修復細胞率に、濃度に関連した増加が認められる場合。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：結果を次表に示した。

試験Ⅰ及び試験Ⅱにおいて、検体を800及び2000mg/kgの用量で投与した場合、検体投与群の正味銀粒子数は0以下であり、その範囲は-6.4~-2.4であった。また修復細胞率は、1.0%以下であった。

陽性対照群の正味銀粒子数は、試験Ⅰで18.5(2-AAF)、試験Ⅱで15.0(DMN)であった。また修復細胞率は、試験Ⅰで97.7%(2-AAF)、試験Ⅱで94.3%(DMN)であった。

以上の結果から、検体は本試験条件下の不定期DNA合成試験において陰性であると判断される。

(n=3の平均値)

	用量 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	屠殺時間 (hr)	核上銀 粒子数	細胞質上 銀粒子数	核上正味 銀粒子数	細胞修復率	
試験Ⅰ	溶媒対照 (0.5%CMC)	12 ~ 14	3.82	7.19	-3.4	0.3	
	検体		800	5.88	10.71	-4.8	1.0
			2000	6.48	12.87	-6.4	0.7
	陽性対照 (2-AAF)		27.51	9.05	18.5	97.7	
試験Ⅱ	溶媒対照 (0.5%CMC)	2 ~ 4	2.53	5.36	-2.8	-	
	検体		800	3.17	5.61	-2.4	0.7
			2000	2.64	6.27	-3.6	0.3
	陽性対照 (DMN)		20.27	5.28	15.0	94.3	

CMC : カルボキシメチルセルロース

2-AAF : 2-アセトアミドフルオレン

DMN : ジメチルニトロソアミン



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

#### 14. 生体の機能への影響に関する試験

フェンアミドンの一般薬理試験

(資料No. 14)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター  
報告書作成年：2000年

検体の純度：

用量設定根拠：

マウスを用いる試験：予備試験（用量設定試験）として、検体を125、500、2000及び5000mg/kgの用量でマウス（1群雌雄各3匹）に経口投与した。この結果、2000及び5000mg/kg投与群の雌雄において、投与後30分から1時間にかけて自発運動の低下が認められたが、投与後24時間の観察において死亡は認められなかった。従って、本試験では最高用量を2000mg/kgとし、以下600及び200mg/kg（公比約3）を中及び低用量とした。

ラットを用いる試験：ラット急性経口毒性試験（資料No. 1-2）において、雄では5000mg/kgの用量で死亡は認められなかった。一方、雌では2000mg/kgの用量で5匹中2匹の死亡が認められた。従って本試験では最高用量を2000mg/kgとし、以下600及び200mg/kg（公比約3）を中及び低用量とした。

摘出腸管を用いる試験：マグス槽中での検体濃度 $1 \times 10^{-4}$  g/mlの処理により、回腸のアセチルコリン（ACh）、ヒスタミン（His）及び塩化バリウム（BaCl<sub>2</sub>）惹起収縮に対する抑制が認められた。従って、最高検体濃度を $1 \times 10^{-4}$  g/mlとし、以下公比10で $1 \times 10^{-5}$ 及び $1 \times 10^{-6}$  g/mlを設定した。

#### 1. 中枢神経系に及ぼす影響

##### 1) マウスの一般症状（Irwin）

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重26.6～33.1g、1群雄5匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルローズに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与前及び投与後15、30、60、120、180分及び24時間に、Irwinの多元観察法を参考にして一般症状を観察した。観察項目は次のとおりである。

自発運動（抑制、亢進）、運動機能（異常歩行、伏臥位、筋弛緩、受動性、カタプレシー）、中枢興奮（振戦、痙攣、攣縮）、自律神経系（眼瞼下垂、眼球突出、縮瞳、散瞳、流涙、立毛、流涎、下痢）及び反射（耳介、正向）

結果：検体2000mg/kg投与群においてのみ所見が観察された。投与後30分に自発運動の低下（4匹）、受動性（1匹）が認められた。投与後1時間では、全匹に自発運動の低下が認められ、受動性が4匹、立毛が3匹、眼瞼下垂が2匹に認められた。いずれの所見も投与後2時間には消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 2) マウスの自発運動量の測定

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重28.0～33.7g、1群雄8匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与直後から180分まで継続して自発運動量を測定し、30分毎に自発運動量を集計した。

結 果：全ての検体投与群において、溶媒対照群に比べ、投与後30分までの運動量が低値傾向を示した。しかしながらこれらの低値傾向は統計学的に有意でなかった。検体2000mg/kg投与群では、投与後180分まで継続して低値傾向を示した。

(数値は平均値±標準誤差)

投与後時間 (分)	溶媒対照 [n=8]	フェンアミドン (mg/kg) [各群 n=8]		
		200	600	2000
投 与 前	7449.0± 477.87	7240.5±219.42	7438.6± 491.46	7434.5±444.42
0 ～ 30	3641.0± 828.03	2016.0±528.74	1932.3± 722.86	1469.4±336.24
30 ～ 60	1882.1±1090.08	1543.8±854.74	1457.8±1030.81	342.4±131.55
60 ～ 90	1587.8± 923.95	1019.6±551.33	1595.1±1039.70	628.5±373.73
90 ～ 120	2868.8± 962.94	1081.9±624.54	1853.5± 907.57	184.5± 62.76
120 ～ 150	1962.4± 619.15	1400.6±724.14	1497.9± 957.00	537.8±235.47
150 ～ 180	1768.4± 999.26	737.6±673.27	728.5± 472.82	939.8±426.73

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

## 3) マウスの痙攣誘発作用

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重27.9～33.2g、1群雄6匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。投与後60分に、マウスの両耳介より10mAで0.8秒間の電撃刺激を行い、電撃刺激後に発現する後肢の痙攣及び死亡の有無を観察した。溶媒対照群及び陽性対照群を設けた。陽性対照としてカフェイン150mg/kgを投与した。

結 果：溶媒対照群と検体投与群との間に、電撃刺激後の痙攣誘発作用に差は認められなかった。

一方、陽性対照であるカフェイン投与群では、強直性屈曲痙攣の発現が統計学的に有意な高値を示し、死亡例も認められた。

投与量 (mg/kg)	匹 数	発 現 所 見				
		間代性痙攣	緊張性痙攣	緊張性伸展	死 亡	
溶媒対照	—	8	8	4	3	0
フェンアミドン	200	8	8	5	2	0
	600	8	8	6	2	0
	2000	8	8	4	0	0
陽性対照(カフェイン)	300	8	6	8 *	5	3

\*:  $p \leq 0.05$  (Fisherの直接確率検定)

## 4) ラット体温への影響

供試動物：SDラット、7週齢、体重138～155g、1群雌6匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与前及び投与後30、60、120、180分及び24時間にラット直腸温を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイオクロップサイエンス株式会社にある。

結果：検体2000mg/kg群において、溶媒対照群と比較して、投与後1時間から3時間まで継続して統計学的に有意な低値が認められた。

(数値は平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	匹 数	投与前	投与後時間				
			30分	1時間	2時間	3時間	
溶媒対照	—	6	36.45±0.30	37.57±0.66	37.65±0.49	37.82±0.37	37.22±0.42
フェンアミドン	200	6	36.82±0.48	37.83±0.25	37.67±0.39	37.85±0.52	37.77±0.50
	600	6	36.92±0.93	37.55±0.69	37.45±0.55	37.18±0.66	36.67±0.58
	2000	6	37.05±0.55	37.58±0.34	36.95±0.40*	35.22±0.32**	34.30±0.62**

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

## 2. 循環器系に及ぼす影響

供試動物：SDラット（無麻酔）、7週齢、体重131~160g、1群雌6匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルローズに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与前及び投与後60、120及び180分に、収縮期血圧及び心拍数をそれぞれ3回測定し、平均値を算出した。

結果：心拍数について、検体2000mg/kg群の投与後3時間の値が統計学的に有意な低値を示した。血圧については、溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。

(数値は平均値±標準誤差)

	投与後 時間	溶媒対照 [n=6]	フェンアミドン (mg/kg) [各群 n=6]		
			200	600	2000
収縮期 血圧 (mmHg)	投与前	118.7±48.5	121.9±49.8	112.8±46.1	122.0±49.8
	1時間	114.2±46.6	123.9±50.6	125.4±51.2	122.2±49.9
	2時間	114.1±46.6	121.6±49.6	122.6±50.0	122.5±50.0
	3時間	116.5±47.6	122.7±50.1	119.6±48.8	116.8±47.7
心拍数 (拍動数 /分)	投与前	383.8±156.7	383.1±156.4	374.2±152.8	400.7±163.6
	1時間	375.2±153.2	406.2±165.8	418.0±170.6	403.4±164.7
	2時間	376.3±153.6	397.9±162.5	389.8±159.1	365.1±149.0
	3時間	376.6±153.7	391.0±159.6	382.5±166.2	343.7±140.3*

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

## 4. 自律神経系（摘出平滑筋）に及ぼす影響

供試組織：モルモット摘出回腸標本、全長15~20mm、1群雄5匹からそれぞれ摘出

方法：モルモット摘出回腸標本を、10ml容マグヌス槽中で0.5gの負荷で懸垂させた。マグヌス槽中は、30°CのTyrode液（95%酸素+5%二酸化炭素 混合ガスを通気）で満たした。検体を $1 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-5}$ 及び $1 \times 10^{-4}$  g/ml（栄養液中）の濃度となるよう添加した。添加5分後にアセチルコリン (ACh) ( $3 \times 10^{-6}$  M)、ヒスタミン (His) ( $3 \times 10^{-5}$  M) 及び塩化バリウム ( $\text{BaCl}_2$ ) ( $3 \times 10^{-3}$  M) を加え、収縮を記録した。収縮は、検体及び溶媒対照無添加時の、各薬物 (ACh, His,  $\text{BaCl}_2$ ) によって惹起された収縮に対する割合（収縮%）として表した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：ACh、His及びBaCl<sub>2</sub>収縮に対しては、 $1 \times 10^{-5}$  g/ml異常の濃度で、統計学的に有意な抑制が認められた。  
 検体の、モルモット摘出回腸標本に対する直接作用は認められなかった。

(数値はn=5の平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	濃度 (g/ml)	収縮 %		
		ACh惹起収縮	His惹起収縮	BaCl <sub>2</sub> 惹起収縮
溶媒対照	—	101.6 ± 2.8	100.6 ± 2.1	101.1 ± 2.1
フェンアミドン	$1 \times 10^{-6}$	100.7 ± 1.1	97.5 ± 1.3	101.9 ± 2.8
	$1 \times 10^{-5}$	82.8 ± 3.0 **	74.6 ± 4.2 **	38.6 ± 4.0 **
	$1 \times 10^{-4}$	68.5 ± 2.2 **	61.2 ± 1.9 **	26.9 ± 4.9 **

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

#### 5. 消化器系に及ぼす影響 (消長輸送能)

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重28.2~31.1g、1群雄8匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。投与後30分に、活性炭素末懸濁液 (5%活性炭素末+10%アラビアゴム) 0.1ml/匹を経口投与した。活性炭素末懸濁液投与後30分にマウスを屠殺して幽門から回腸末端部までを摘出し、活性炭素末移行率 (移動距離/腸管全長×100) を算出した。溶媒対照群及び陽性対照群を設けた。陽性対照としてアトロピン300mg/kgを投与した。

結果：活性炭素末移行率について、溶媒対照群と検体投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。しかしながら、検体2000mg/kg投与群では活性炭素末移行率の高値傾向が認められた。  
 陽性対照であるアトロピン投与群では、統計学的に有意な活性炭素末移行率の抑制が認められた。

(数値は平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	匹数	活性炭素末移行率 (%)
溶媒対照	8	75.98 ± 5.22
フェンアミドン	200	65.38 ± 2.84
	600	63.38 ± 3.23
	2000	89.75 ± 4.02
陽性対照 (アトロピン)	8	38.70 ± 7.65 **

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

#### 6. 骨格筋に及ぼす影響 (懸垂動作試験)

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重26.6~33.1g、1群雄8匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与後30、60、120及び180分に、高さ25cmの位置に張った針金 (直径2mm) にマウスを両前肢で懸垂させた。懸垂後、10秒以内に後肢を針金にかけられない場合を陽性とした。

結果：検体投与群と溶媒対照群の間では、いずれの検査時間においても陽性例の発現頻度に統計学的な有意差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与量 (mg/kg)	匹 数	投与後の各時間における陽性例数				
		30分	60分	120分	180分	
溶媒対照	—	8	0	0	0	0
フェンアミドン	200	8	0	0	0	0
	600	8	1	0	0	0
	2000	8	1	0	0	1

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Fisherの直接確率検定)

#### 7. 血液系に及ぼす影響

供試動物：SDラット、7週齢、体重130～156 g、1群雌6匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与後60分にエーテル麻酔して腹部大動脈より採血した。採血後、血液を遠心分離して血漿を採取した。この血漿についてプロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 及びフィブリノーゲン量を測定した。

結果：いずれの測定項目について、溶媒対照群と検体投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。

(数値は平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	匹 数	凝固時間 (秒)		フィブリノーゲン量 (mg/dl)	
		PT	APTT		
溶媒対照	—	6	13.88 ± 5.67	20.73 ± 8.46	228.2 ± 93.1
フェンアミドン	200	6	14.08 ± 5.75	20.65 ± 8.43	208.7 ± 85.2
	600	6	14.02 ± 5.72	20.68 ± 8.44	234.8 ± 95.9
	2000	6	13.95 ± 5.70	20.35 ± 8.31	242.0 ± 98.8

\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$  (Dunnnettの多重比較検定又はSteelの検定)

以上の結果から、フェンアミドンは2000mg/kgの投与量で中枢神経系に対する抑制及び消化器系の運動亢進作用を持ち、 $1 \times 10^{-5}$  g/ml以上の濃度で摘出回腸に対する収縮薬の作用を抑制することが示唆された。

骨格筋及び血液凝固能に対しては、影響を及ぼさないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

「フェンアミドン：生体機能に及ぼす影響に関する試験」総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000	マウス 雄 5	600	2000	2000mg/kg群で、自発運動の低下、受動性、立毛、眼瞼下垂が認められた。いずれの所見も投与後2時間には消失した。
		溶媒対照, 200, 600, 2000	マウス 雄 8	600	2000	2000mg/kg群で、投与後30分から自発運動量の低値傾向が認められた。なおこの低値傾向について、統計学的な有意差は認められなかった。
		溶媒対照, 200, 600, 2000 陽性対照 (カフェイン) : 300	マウス 雄 6	2000	>2000	溶媒対照群と各検体投与群との間に、電撃刺激後の痙攣誘発作用に統計学的有意差は認められなかった。陽性対照群では、強直性屈曲痙攣の発現が統計学的に有意な高値を示し、また死亡を認められた。
		溶媒対照, 200, 600, 2000	ラット 雌 6	600	2000	2000mg/kg群において、統計学的に有意な直腸温の低値が、投与後1時間から3時間まで継続して認められた。
循環器系 - 収縮期血圧 心拍数	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000	ラット 雌 6	600	2000	心拍数に関し、2000mg/kg群の投与後3時間の値が、統計学的に有意な低値を示した。収縮期血圧に関し、差は認められなかった。
自律神経系 - アセチルコリン(ACh) 惹起収縮 - ヒスタミン(His) 惹起収縮 - 塩化バリウム (BaCl <sub>2</sub> ) 惹起収縮	In vitro (マグナス槽)  (Tyrode 液)	溶媒対照,  $1 \times 10^{-6}$ , $1 \times 10^{-5}$ , $1 \times 10^{-4}$ g/ml	モルモット 摘出回腸 標本  1濃度群 : 5標本	$1 \times 10^{-6}$ g/ml	$1 \times 10^{-5}$ g/ml	$1 \times 10^{-5}$ g/ml以上で、ACh, His及びBaCl <sub>2</sub> による惹起収縮を統計学的に有意に抑制した。  なお、検体による摘出回腸標本への直接作用は認められなかった。
消化器系 (小腸輸送能; 活性炭炭末 移行率)	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000 陽性対照 (アトロピン) : 300	マウス 雄 8	600	2000	2000mg/kg投与群において、統計学的有意差は認められなかったが、小腸輸送能の高値傾向が認められた。  陽性対照群では、小腸輸送能の統計学的に有意な抑制が認められた。
骨格筋 (懸垂動作試験)	経口 (0.5%MC)	溶媒対照 200, 600, 2000	マウス 雄 8	2000	>2000	各検体投与群において、懸垂動作に影響は認められなかった。
血液系 - プロトロンビン 時間 (PT) - 活性化部分 トロンボプラスチン 時間 (APTT) - フィブリンゲン 量	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000	ラット 雌 6	2000	>2000	各検体投与群において、PT, APTT及びフィブリンゲン量に影響は認められなかった。

0.5%MC : 0.5%メチルセルロース

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

15. その他

(資料No. 15)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 2. 代謝物の毒性

### (1)

ラットを用いた急性経口毒性

の

(資料No. 16-1)

試験機関：C.I.T (仏)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley[IC0:0FA-SD (IOP Caw)]ラット、投与時約6週齢  
体重 雄198±9 g、雌181±10 g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロースに懸濁して経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を投与日及び投与後14日間にわたって観察し、体重を投与日及びその後は週1回測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主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)	25, 100, 150, 200
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも 176
死亡開始時間及び終了時間	死亡開始時間：投与当日 死亡終了時間：投与1日後
症状発現時間及び消失時間	症状発現時間：投与30分後 消失時間：投与10日後
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 25
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 100

死亡例は150mg/kg以上の群でみられ、150mg/kg群は雄3/5例、雌1/5例、200mg/kg投与群では雄4/5例、雌2/5例が死亡した。

毒性症状は100mg/kg以上の投与群で自発運動の低下および立毛、150mg/kg投与群ではこれらに加え鎮静、呼吸困難、昏睡等が認められた。150mg/kg以上の群で僅かな体重増加抑制もみられた。肉眼的病理検査では、異常は認められなかった。

以上の結果、RPA 412708 (代謝物RPA 408056 [代謝物記号C]のS-鏡像体)のラットにおける経口LD<sub>50</sub>は、雌雄併合で176mg/kgと考えられた。

の

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 16-2)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株(TA100, TA1535株[以上、塩基対置換型]、TA98及びTA1537株[以上、フレームシフト型])及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* 1株(WP2 uvrA株[塩基対置換型])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, Aroclor 1254誘導ラット肝ホモジネート)の存在下(S9 mix+)及び非存在下(S9 mix-)で、変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解した。

投与量設定のために、TA100株を用いて検体最終濃度 8, 40, 200, 1000 及び 5000  $\mu$  g/プレートの用量で用量設定試験を行った。この結果、明白な毒性症状(背景細菌叢の生育不良及び/または復帰変異原性対数の顕著な減少)が確認されたことから、試験Ⅰにおける用量は同じ用量を設定した。

この用量設定試験の結果は、試験Ⅰのデータとして使用した。試験Ⅱでは同じく最高濃度を5000  $\mu$  g/プレートとし、より厳密な評価のため用量段階を狭くした。

#### 用 量

試験Ⅰ(S9 mix+/-): 溶媒対照, 8, 40, 200, 1000及び5000  $\mu$  g/プレート

試験Ⅱ(S9 mix+/-): 溶媒対照, 51. 2, 128, 320, 800, 2000及び5000  $\mu$  g/プレート

試験Ⅰに関しては、直接プレート混和を行い、試験Ⅱに関してはプレインキュベーションを行った。

変異原性の陽性判定基準は、次のとおりである。

- 1) 1%水準のDunnett検定で有意 ( $p \leq 0.01$ )であり、かつ用量相関性を示す場合
- 2) 試験Ⅰ及びⅡで再現性が認められる場合

試験結果：結果を表1(試験Ⅰ)及び表2(試験Ⅱ)に示した。

いずれの試験結果でも、Dunnett検定(1%水準)で検定した場合、S9 mixの有無にかかわらず、試験菌株の復帰変異コロニーの増加はみられなかった。

5000  $\mu$  g/プレートではサルモネラ菌株で毒性症状が認められたが、大腸菌では認められなかった。

一方、陽性対照として用いたsodium-azide, 9-aminoacridine, 2-nitro-fluorene, 4-nitroquinoline 1-oxide(以上、S9 mix-)及び 2-aminoanthracene(S9 mix+)は、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、RPA 412708(代謝物RPA 408056 [代謝物記号C]のS-鏡像体)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1 (試験 I)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}$ / プレート)	S 9 mix	復帰変異コロニー数/プレート [plate] (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 $\pm$ SD)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$		126 $\pm$ 11	15 $\pm$ 3	37 $\pm$ 2	28 $\pm$ 4	10 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	8		113 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	16 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	32 $\pm$ 8 (NS)及び[NS]	36 $\pm$ 4 (*)及び[*]	7 $\pm$ 3 (M) (NS)及び[NS]
	40		106 $\pm$ 7 (NS)及び[NS]	16 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	42 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	32 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	9 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]
	200		107 $\pm$ 17 (NS)及び[NS]	18 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	32 $\pm$ 10 (NS)及び[NS]	32 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]	8 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]
	1000		104 $\pm$ 18 (NS)及び[NS]	14 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	37 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	32 $\pm$ 7 (NS)及び[NS]	13 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]
	5000		0 $\pm$ 0 (NS)及び[NS]	0 $\pm$ 0 (M) (NS)及び[NS]	38 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	3 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	0 $\pm$ 1 (M) (NS)及び[NS]
陽性対照			sodium azide (2 $\mu\text{g}$ /plate) 626 $\pm$ 32	sodium azide (2 $\mu\text{g}$ /plate) 394 $\pm$ 32	4-nitro- quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}$ /plate) 1052 $\pm$ 184	2-nitro- fluorine (5 $\mu\text{g}$ /plate) 1031 $\pm$ 63	9-amino- acridine (50 $\mu\text{g}$ /plate) 689 $\pm$ 62
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$		137 $\pm$ 17	21 $\pm$ 6	29 $\pm$ 2	35 $\pm$ 7	9 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	8		132 $\pm$ 9 (NS)及び[NS]	16 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	35 $\pm$ 4 (NS)及び[*]	36 $\pm$ 12 (NS)及び[NS]	15 $\pm$ 1 (*)及び[*]
	40		137 $\pm$ 17 (NS)及び[NS]	21 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	29 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	35 $\pm$ 7 (NS)及び[NS]	9 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]
	200		132 $\pm$ 14 (NS)及び[NS]	18 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	37 $\pm$ 8 (*)及び[*]	36 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	12 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]
	1000		135 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	13 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]	37 $\pm$ 4 (*)及び[*]	37 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]	5 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]
	5000		16 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	1 $\pm$ 1 (M) (NS)及び[NS]	33 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	7 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	2 $\pm$ 2 (M) (NS)及び[NS]
陽性対照			2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}$ /plate) 2296 $\pm$ 104	/	2-amino- anthracene (10 $\mu\text{g}$ /plate) 139 $\pm$ 22	2 amino- anthracene (5 $\mu\text{g}$ /plate) 1738 $\pm$ 116	/

統計学的検定法:

Dunnnett検定: (\*)  $p \leq 0.05$ , (\*\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.005$ , (NS)有意差無し  
線形回帰分析: [\*]  $p \leq 0.05$ , [\*\*]  $p \leq 0.01$ , [\*\*\*]  $p \leq 0.005$ , [NS]有意差無し

注) M : 手動でプレートを計測

表2 (試験II)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S 9 mix	復帰変異コロニー数/プレート [plate] (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 $\pm$ SD)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$	-	112 $\pm$ 7	13 $\pm$ 3	48 $\pm$ 11	26 $\pm$ 3	7 $\pm$ 4	
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	51.2		127 $\pm$ 12 (NS)及び[*]	16 $\pm$ 8 (NS)及び[NS]	52 $\pm$ 16 (NS)及び[NS]	32 $\pm$ 8 (NS)及び[NS]	10 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	
	128		130 $\pm$ 4 (NS)及び[**]	21 $\pm$ 5 (NS)及び[*]	45 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	30 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	9 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	
	320		124 $\pm$ 12 (NS)及び[NS]	12 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	48 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	29 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	12 $\pm$ 5 (NS)及び[*]	
	800		107 $\pm$ 15 (NS)及び[NS]	16 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	54 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	25 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	8 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	
	2000		100 $\pm$ 14 (NS)及び[NS]	11 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	54 $\pm$ 7 (NS)及び[NS]	21 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	10 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	
	5000		3 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	2 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	44 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	2 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	3 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	
陽性対照			sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 673 $\pm$ 19	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 528 $\pm$ 10	4-nitro- quinoline 1-oxide (2 $\mu$ g/plate) 1050 $\pm$ 114	2-nitro- fluorene (5 $\mu$ g/plate) 960 $\pm$ 18	9-amino- acridine (50 $\mu$ g/plate) 608 $\pm$ 124	
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$		-	106 $\pm$ 10	22 $\pm$ 5	53 $\pm$ 5	30 $\pm$ 4	9 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	51.2			126 $\pm$ 13 (NS)及び[*]	16 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	60 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	34 $\pm$ 9 (NS)及び[NS]	12 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]
	128	126 $\pm$ 3 (NS)及び[*]		20 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]	50 $\pm$ 8 (NS)及び[NS]	39 $\pm$ 1 (NS)及び[*]	8 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	
	320	135 $\pm$ 23 (NS)及び[*]		15 $\pm$ 6 (NS)及び[NS]	41 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	26 $\pm$ 9 (NS)及び[NS]	9 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]	
	800	128 $\pm$ 18 (NS)及び[NS]		18 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	48 $\pm$ 7 (NS)及び[NS]	30 $\pm$ 8 (NS)及び[NS]	8 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	
	2000	110 $\pm$ 21 (NS)及び[NS]		15 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]	59 $\pm$ 11 (NS)及び[NS]	27 $\pm$ 5 (NS)及び[NS]	8 $\pm$ 4 (NS)及び[NS]	
	5000	4 $\pm$ 3 (NS)及び[NS]		1 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	43 $\pm$ 8 (NS)及び[NS]	5 $\pm$ 2 (NS)及び[NS]	0 $\pm$ 1 (NS)及び[NS]	
陽性対照					2-amino- anthracene (10 $\mu\text{g}/$ plate) 85 $\pm$ 9	2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2067 $\pm$ 195		

統計学的検定法:

Dunnell検定: (\*)  $p \leq 0.05$ , (\*\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.005$ , (NS)有意差無し  
線形回帰分析: [\*]  $p \leq 0.05$ , [\*\*]  $p \leq 0.01$ , [\*\*\*]  $p \leq 0.005$ , [NS]有意差無し



の

マウス骨髄細胞を用いた小核試験

(資料No. 16-3)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、1群雄 8匹、体重 24～31 g

試験方法：検体を溶媒（0.5%カルボキシメチルセルロース）に懸濁させ、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に屠殺し、大腿骨から骨髄の塗沫標本を作製した。

溶媒対照として0.5%カルボキシメチルセルロースを、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に、検体投与群と同様に標本を作製した。

陽性対照としてシクロホスファミドを40mg/kgの用量で、マウスに単回腹腔内投与し、投与後24時間で屠殺して検体投与群と同様に標本を作製した。

塗沫標本は、無水メタノール固定後にギムザ染色し、次のとおり項目を検査した。

- 1) 各標本につき、1000個の赤血球(多染性赤血球：PCE+正染性赤血球：NCE)を計測し、多染性赤血球(PCE)と正染性赤血球(NCE)の相対比(多染性赤血球/正染性赤血球比：PCE/NCE比)
- 3) 多染性赤血球(PCE) 1000個当たりの小核を有するPCE頻度(MNPCE頻度)

結果の判定に際して、次の項目に該当する場合は陽性とした。

- ① 少なくとも1用量で、MNPCE頻度に統計学的に有意な増加が認められる場合。
- ② 上記①の場合、MNPCE頻度が、溶媒対照の歴史的背景データを越える場合。

用量設定根拠：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

衰弱、振せん、眼瞼閉鎖、呼吸異常、嗜眠、立毛などの毒性徴候は150mg/kg群のみで認められた。

150mg/kg投与群では、PCE/NCE比の軽度の減少(0.61)が認められ、正常値の範囲(0.65-1.78)を下回っていた。しかし対照群と比べ、統計学的有意差は認められなかった。投与群のMNPCE頻度は、溶媒対照群と同様であった。

マウス(雄)を用いた小核試験の結果

薬物	最終投与後 経過時間	投与量 (mg/kg)	観 察 動物数	PCE/NCE比 <sup>a</sup>	MNPCE頻度 <sup>b</sup>
溶媒対照	24	0	8	0.85	0.25
検 体	24	37.5	8	0.88	0.31
		75	8	0.85	0.00
		150	8	0.61	0.12
陽性対照	24	40	8	1.04	5.90

<sup>a</sup> Wilcoxon 検定 <sup>b</sup> (2×2分割  $\chi^2$  検定)

陽性対照：シクロホスファミド

以上の結果から、本試験条件下において検体は骨髄多染性赤血球(PCE)に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2)

ラットを用いた急性経口毒性

の

(資料No. 16-4)

試験機関：C. I. T (仏)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley[IC0:0FA-SD(IOP Caw)]ラット、投与時約6週齢  
体重 雄197±12g、雌178±6g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を0.5%メチルセルロースに懸濁して経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を投与日及び投与後14日間にわたって観察し、体重を投与日及びその後は週1回測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主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)	500, 1000, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄:1520(1154-2043)
死亡開始時間及び終了時間	死亡開始時間：投与4時間後 死亡終了時間：投与6日後
症状発現時間及び消失時間	症状発現時間：投与30分後 消失時間：投与5日後
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄 1000 雌 500

死亡例は1000mg/kg群の雌1/5例、2000mg/kg群の雄5/5例、雌3/5例でみられた。全投与群で鎮静または自発運動の低下、立毛、歩行失調及び横臥が、1000mg/kg群ではさらに呼吸困難、昏睡が、2000mg/kg群では振せんが認められた。体重減少が500mg/kg群の雄1例、1000mg/kg群の雌雄各1例、2000mg/kg群の雌1例でいずれも一時的にみられた。肉眼的病理検査では、異常は認められなかった。

以上の結果、のラットにおける経口LD<sub>50</sub>は、雌雄併合で1520mg/kgと考えられた。



の

ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験 (資料No. 16-5)

試験機関：Rhone Poulenc Sophia Antipolis (仏)  
報告書作成年：1999年 [GLP]

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley [ICO:OFA-SD (IOP Caw)] ラット、  
開始時 7週齢、体重 雄214~241 g、雌153~182 g、1群雌雄各10匹

試験期間：投与期間 90日間 (1999年1月20日 ~ 1999年 4月21日)

投与方法：検体を 0、100、500及び2500 ppmの濃度で飼料に混入し、少なくとも90日間にわたって随時摂食させた。試験期間中、検体を混入した試料を3週間毎に調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に起因する一般状態の変化及び死亡例はみられなかった。

体重変化；全動物の体重を、馴化期間中に 1回、投与開始日、投与期間中は1週間毎、そして剖検前に測定した。

体重に影響は認められなかった。

摂餌量；投与期間中、摂餌量を週 1回測定した。100及び500ppm群では摂餌量に投与による影響は認められなかった。2500ppm群は対照群に比べ僅かに低下し、雄で1週(91%)、6週(88%)、雌で1週(91%)、11週(89%)に統計学的有意差が認められた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		100	500	2500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	6.4	32.9	162.2
	雌	7.7	39.1	196.1

血液学的検査：第13週に、各群の全生存動物から眼窩後静脈叢穿刺によって採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、白血球数及び白血球百分率、血小板数、プロトロンビン時間

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	100	500	2500	100	500	2500
投与量 (ppm)						
平均赤血球容積			-6 ↓			-4 ↓
ヘマトクリット値		-5 ↓	-5 ↓			
平均赤血球血色素量			-5 ↓			-3 ↓
プロトロンビン時間			+18 ↑			

Dunnnett's test又はMann-Whitney's test, ↑↓: p ≤ 0.05, ↑↓: p ≤ 0.01

表中の数値は、変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

プロトロンビン時間の延長は1例によるものであり、その他の変化も軽度で低頻度であったことから、いずれも毒性学的に意義はないと考えられた。

血液生化学的検査：以下の項目について測定を行った。

総ビリルビン、グルコース、尿素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、トリグリセリド、塩素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ (ALP)

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	100	500	2500	100	500	2500
総コレステロール			+31↑			+29↑
トリグリセリド						+67↑
ALAT			+34↑			
クレアチニン			+31↑			
無機リン			+12↑			
ALP					-20↓	+28↓
アルブミン						+7↑
カリウム						+7↑
カルシウム						+5↑

Dunnell's test又はMann-Whitney's test, ↑↓:  $\alpha=0.05$ , ↑↓:  $\alpha=0.01$

表中の数値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

総コレステロールの増加が2500ppm投与群の雌雄に認められ、トリグリセリドの増加が雌に認められ、これらは用量に関連して認められた。その他の変化は少数例に散発的にみられた変化によることから、毒性学的に意義がないものと考えられた。

尿検査：剖検前に採取した一夜尿について、以下の項目を検査した。

定量的項目：尿量、尿pH、尿屈折率

半定量的項目：グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血及びウロビリノーゲン

沈渣：赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱及び結晶（顕微鏡検査）

2500ppm投与群雌雄で時に星状のものを含む沈渣が認められ、雌でより顕著であった。

眼科的検査：全動物について馴化期間中に一回、また投与12週目に再度検査した。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

神経毒性学的評価：馴化期間中及び第12週に、次の項目について検査した。

握力、立ち直り反射、角膜反射、瞳孔反射、聴覚性驚愕反射、頭部反転動作反射

異常は認められなかった。

臓器重量：全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）及び子宮

統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 別		雄			雌		
投 与 量 (ppm)		100	500	2500	100	500	2500
脳	絶対重量			-4↓			
	肝 臓	絶対重量	+25↑	+52↑			+25↑
		対体重比	+16↑	+51↑			+28↑
対脳重比		+24↑	+59↑			+31↑	
副 腎	絶対重量			+34↑			
	対体重比			+27↑			
	対脳重比			+40↑			+24↑
胸 腺	絶対重量			-43↓			-35↓
	対体重比			-44↓			-32↓
	対脳重比			-41↓			-32↓
脾 臓	絶対重量				-13↓	-14↓	-27↓
	対体重比		-13↓	-16↓	-17↓	-14↓	-24↓
	対脳重比				16↓		-24↓
子 宮	対体重比						+58↑
	対脳重比						+62↑

表中の数値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。  
Dunnett's test又はMann-Whitney's test, ↑↓: P≤0.05, ↑↓: P≤0.01

肝臓の絶対及び相対重量の増加が、2500ppm投与群の雌雄、500ppm投与群雄に認められた。副腎の絶対及び相対重量の増加が2500ppm投与群の雄で認められた。胸腺の2500ppm投与群の雌雄で絶対及び相対重量とも低かった。脾臓の絶対及び相対重量が、投与群で僅かに低下した。統計学的有意差が認められたその他の臓器重量は、少数例に散発的にみられた変化によることから、毒性学的に意義がないものと考えられた。

肉眼的病理検査：全生存動物について剖検を行った。認められた主な病変を記す。

性 別		雄				雌			
臓 器	投 与 群 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
		病変\検査動物数	10	10	10	10	10	10	9
肝 臓	肥 大			2	9**				1
	小葉構造明瞭化		1	2	5*				4*

空欄は「0」を示す。

Fisherの直接確立検定 又は  $\chi^2$ 検定(申請者が実施) \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

病理組織学的検査：以下の組織について病理標本を作製し、病理組織学的検査を行った。(下線の臓器は全群について検査し、その他は対照群と最高用量群のみ検査した。)

副腎、大動脈、関節面(大腿骨-脛骨関節)、胸骨及び骨髄、脳、精巣上体、食道、眼球及び視神経、ハーパー腺、涙腺、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(下顎、腸管膜)、乳腺、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄(頸椎、胸椎、腰椎)、脾臓、胃、精巣、下顎唾液腺、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮、膣及び肉眼

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

的異常が認められた組織。

認められた主な病変を下表に記す。

性 別		雄				雌			
臓 器	投 与 群 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
	病変\検査動物数	10	10	10	10	10	10	9	10
肝 臓	小葉中心性肝細胞肥大			10**	10**			3	10**
	小葉中心性肝細胞空胞化			5*	8**				1
副 腎	びまん性束状帯肥厚、軽度				3				
腎 臓	近位尿細管に好酸性液滴:軽微	8	7	6	4				
	近位尿細管に好酸性液滴:軽度	1	0	2	6				
甲 状 腺	濾胞上皮細胞:扁平					4	2	4	2
	濾胞上皮細胞:扁平な立方形					6	8	5	6
	濾胞上皮細胞:低い立方形	8	8	3					1
	濾胞上皮細胞:高い立方形	2	1	6	5				1
	濾胞上皮細胞:低い柱状		1	1	5				

空欄は「0」を示す。

Fisherの直接確立検定(申請者が実施、腎臓と甲状腺は実施せず。) \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$

2500ppm及び500ppm投与群の雌雄に、用量に関連した小葉中心性肝細胞肥大が認められ肝臓重量の増加と対応していた。小葉中心性肝細胞空胞化も認められた。副腎の所見は副腎重量の軽度な増加と対応したものと考えられた。腎臓では近位尿細管に軽度の好酸性液滴が雄の2500ppm群でやや増加していた。また、甲状腺濾胞上皮細胞の高さが雄の2500及び500ppm投与群で高い例がやや増加した。

以上の結果、肝臓重量の増加及び肝肥大が2500ppm投与群及び500ppm投与群の雌雄に、病理組織学的検査では、500ppm及び2500ppm投与群の雌雄に、小葉中心性肝細胞肥大が認められた。従って、本試験の無毒性量は雌雄とも100ppm(雄: 6.4mg/kg/day、雌: 7.7mg/kg/day)と考えられた。



の

## 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 16-6)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株(TA100、TA1535株[以上、塩基対置換型]、TA98及びTA1537株[以上、フレームシフト型])及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* 1株(WP2 uvrA株[塩基対置換型])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, Aroclor 1254誘導ラット肝ホモジネート)の存在下(S9 mix+)及び非存在下(S9 mix-)で、変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解した。

投与量設定のために、TA100株を用いて検体最終濃度 8, 40, 200, 1000 及び 5000  $\mu$ g/プレート の用量で用量設定試験を行った。この結果、明白な毒性症状(背景細菌叢の生育不良及び/または復帰変異原性対数の顕著な減少)が確認されなかったことから、試験 I における用量は同じ用量を設定した。

この用量設定試験の結果は、試験 I のデータとして使用した。試験 II では同じく最高濃度を5000  $\mu$ g/プレートとし、より厳密な評価のため用量段階を狭くした。

### 用 量

試験 I (S9 mix+/-)：溶媒対照, 8, 40, 200, 1000及び5000  $\mu$ g/プレート

試験 II (S9 mix+/-)：溶媒対照, 312.5, 625, 1250, 2500及び5000  $\mu$ g/プレート

試験 I に関しては、直接プレート混和を行い、試験 II に関してはプレインキュベーションを行った。

変異原性の陽性判定基準は、次のとおりである。

- 1) 1%水準のDunnett検定で有意 ( $p \leq 0.01$ )であり、かつ用量相関性を示す場合
- 2) 試験 I 及び II で再現性が認められる場合

試験結果：結果を表1(試験 I)及び表2(試験 II)に示した。

いずれの試験結果でも、Dunnett検定(1%水準)で検定した場合、S9 mixの有無にかかわらず試験菌株の復帰変異コロニーが増加することはなかった。

5000  $\mu$ g/プレートではいずれの菌株でも毒性症状が認められなかった。

一方、陽性対照として用いたsodium azide, 9-aminoacridine, 2-nitro-fluorene, 4-nitroquinoline 1-oxide(以上、S9 mix-)及び 2-aminoanthracene(S9 mix+)は、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、RPA 412636(代謝物RPA 717879 [代謝物記号D]のS-鏡像体)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1 (試験 I)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S 9 mix	復帰変異コロニー数/プレート [plate] (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 $\pm$ SD)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$		126 $\pm$ 11	15 $\pm$ 3	37 $\pm$ 2	28 $\pm$ 4	10 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	8	-	120 $\pm$ 6	14 $\pm$ 2	32 $\pm$ 5	28 $\pm$ 4	9 $\pm$ 1
			(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]
	40		105 $\pm$ 13	15 $\pm$ 2	29 $\pm$ 1	27 $\pm$ 6	7 $\pm$ 1
			(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]
	200		117 $\pm$ 4	15 $\pm$ 5	28 $\pm$ 2	30 $\pm$ 7	8 $\pm$ 2
	(NS)及び[NS]		(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	
1000	108 $\pm$ 27	15 $\pm$ 4(M)	35 $\pm$ 5	35 $\pm$ 6	10 $\pm$ 4		
	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[*]	(NS)及び[NS]		
5000	109 $\pm$ 4	19 $\pm$ 5	29 $\pm$ 6	27 $\pm$ 3	9 $\pm$ 1		
	(NS)及び[NS]	(NS)及び[*]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]		
陽性対照			sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 626 $\pm$ 32	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 394 $\pm$ 32	4-nitro quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 1052 $\pm$ 184	2-nitro- fluorene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 1031 $\pm$ 63	9-amino- acridine (50 $\mu\text{g}/$ plate) 689 $\pm$ 62
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$		137 $\pm$ 17	21 $\pm$ 6	29 $\pm$ 2	35 $\pm$ 7	9 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	8	+	135 $\pm$ 17	19 $\pm$ 5	33 $\pm$ 12	26 $\pm$ 7	12 $\pm$ 3
			(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]
	40		124 $\pm$ 12	18 $\pm$ 5	35 $\pm$ 8	35 $\pm$ 8	10 $\pm$ 1
			(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]
	200		135 $\pm$ 10	22 $\pm$ 3	40 $\pm$ 2	30 $\pm$ 4	13 $\pm$ 3
	(NS)及び[NS]		(NS)及び[NS]	(NS)及び[*]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	
1000	131 $\pm$ 14	19 $\pm$ 5	29 $\pm$ 3	32 $\pm$ 2	9 $\pm$ 2		
	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]		
5000	111 $\pm$ 26	11 $\pm$ 2	36 $\pm$ 5	30 $\pm$ 3	8 $\pm$ 1		
	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]	(NS)及び[NS]		
陽性対照			2-amino anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2298 $\pm$ 104	/	2-amino- anthracene (10 $\mu\text{g}/$ plate) 139 $\pm$ 22	2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 1738 $\pm$ 116	/

統計学的検定法:

Dunnett検定: (\*)  $p \leq 0.05$ , (\*\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.005$ , (NS)有意差無し

線形回帰分析: [\*]  $p \leq 0.05$ , [\*\*]  $p \leq 0.01$ , [\*\*\*]  $p \leq 0.005$ , [NS]有意差無し

注) M : 手動でプレートを計測

表2 (試験II)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S 9 mix	復帰変異コロニー数/プレート [plate] (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 $\pm$ SD)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$	-	112 $\pm$ 7	13 $\pm$ 3	48 $\pm$ 11	26 $\pm$ 3	7 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	312.5		106 $\pm$ 3	16 $\pm$ 3	45 $\pm$ 3	31 $\pm$ 9	7 $\pm$ 2
			(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]
	625		111 $\pm$ 8	18 $\pm$ 3	45 $\pm$ 9	26 $\pm$ 8	8 $\pm$ 3
			(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]
	1250		119 $\pm$ 9	17 $\pm$ 1	39 $\pm$ 9	25 $\pm$ 4	9 $\pm$ 2
			(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]
2500	117 $\pm$ 9		13 $\pm$ 3	53 $\pm$ 9	30 $\pm$ 3	8 $\pm$ 2	
	(NS) 及び (*) [NS]		(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	
5000	120 $\pm$ 14		14 $\pm$ 6	52 $\pm$ 4	29 $\pm$ 11	9 $\pm$ 2	
	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]		
陽性対照			sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 673 $\pm$ 19	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 528 $\pm$ 10	4-nitro- quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 1050 $\pm$ 114	2-nitro- fluorine (5 $\mu\text{g}/$ plate) 960 $\pm$ 18	9-amino- acridine (50 $\mu\text{g}/$ plate) 608 $\pm$ 124
溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$	+	106 $\pm$ 10	22 $\pm$ 5	53 $\pm$ 5	30 $\pm$ 4	9 $\pm$ 4
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	312.5		127 $\pm$ 18	15 $\pm$ 3	52 $\pm$ 11	31 $\pm$ 2	10 $\pm$ 2 (M)
			(*) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]
	625		129 $\pm$ 14	18 $\pm$ 2	53 $\pm$ 4	24 $\pm$ 2	10 $\pm$ 3
			(*) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]
	1250		130 $\pm$ 15	18 $\pm$ 5	51 $\pm$ 8	35 $\pm$ 5	6 $\pm$ 3
			(*) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]
2500	132 $\pm$ 6		15 $\pm$ 2	49 $\pm$ 6	30 $\pm$ 10	7 $\pm$ 5	
	(*) 及び (*) [NS]		(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	
5000	116 $\pm$ 6		16 $\pm$ 2	47 $\pm$ 5	33 $\pm$ 3	6 $\pm$ 3	
	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]	(NS) 及び (*) [NS]		
陽性対照				2-amino- anthracene (10 $\mu\text{g}/$ plate) 85 $\pm$ 9	2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2067 $\pm$ 195		

統計学的検定法:

Dunnnett検定: (\*)  $p \leq 0.05$ , (\*\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.005$ , (NS) 有意差無し  
線形回帰分析: [\*]  $p \leq 0.05$ , [\*\*]  $p \leq 0.01$ , [\*\*\*]  $p \leq 0.005$ , [NS] 有意差無し

注) M : 手動でプレートを計測

の

マウスリンパ腫L5178Y細胞を用いた突然変異誘発性試験

(資料No. 16-7)

試験機関：Covance Laboratories Limited (英)

報告書作成年：1999年 [GLP]

検体の純度：

試験方法：ウェル数が96のマイクロプレートを用いて、Aroclor1254誘導ラット肝臓ポストミトコンドリア画分 (S9) の存在下 (S9mix+) 及び非存在下 (S9mix-) において、マウスリンパ腫 L5178Y細胞の *hprt* (6-チオグアニン耐性) 遺伝子座における検体の突然変異誘発性を評価した。

本試験に先立ち、細胞毒性・用量設定試験を実施した。

細胞毒性・用量設定根拠

本試験の用量は、用量設定試験 (細胞毒性試験) に基づいて設定した。

濃度範囲25~800  $\mu$ g/mL (公比2) で代謝活性化系非存在下 (S9mix-) 及び存在下 (S9mix+) の濃度設定試験を実施した。細胞を培地で希釈し、それぞれの検体濃度で3時間処理した。処理後、細胞を培地で洗浄し、1ウェル当たり1.6細胞/mLの濃度でプレートに播種した。プレートを7日間培養した後、細胞毒性を調査した。

用量設定試験の結果、S9mixの有無に関わらず明白な細胞毒性は殆ど認められなかった。

本試験は試験 I と試験 II から構成され、用いた用量は細胞毒性・用量設定試験に基づき次のとおり設定した。

試験 I ; S9mix-/+ : 5濃度 (100, 200, 400, 800及び1600  $\mu$ g/mL)

試験 II ; S9mix-/+ : 4濃度 (400, 800, 1200及び1600  $\mu$ g/mL)

また、溶媒対照及び陽性対照群を設けた。

上記の用量で3時間処理した後、細胞を培地で洗浄した。

検体処理細胞の一部 (8細胞/mL) をマイクロプレートに播種し、10-12日間培養して生育コロニーを含むウェルを計数し、相対生存率 (溶媒対照群に対する%) を算出した。

残りの細胞は、7日間の突然変異発現期間中に継代培養して細胞濃度を  $1 \times 10^5$  細胞/mL に保った。突然変異発現期間後に6-チオグアニン (6-TG) 存在下及び非存在下でマイクロプレートに播種して培養 (12日) した。培養後、6-TG耐性変異体コロニー (突然変異体) 及び生育コロニーを含むウェルを計数し、相対生存率 (%RS) 及び突然変異頻度 (MF/細胞  $10^6$  個当たりの変異細胞数) を算出した。

試験結果：結果を表 1 (試験 I) 及び表 2 (試験 II) に示した。

細胞毒性：いずれの試験でも、明白な細胞毒性は殆ど認められなかった。

突然変異：試験 I 及び試験 II において、S9mixの有無に関わらず突然変異頻度に有意差は認められなかった。従って検体は、突然変異誘発性を有さないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 (試験 I)

処理用量 ( $\mu$ g/ml.)	S9mix-		処理用量 ( $\mu$ g/mL)	S9mix+	
	相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )		相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )
溶媒対照 0	100	17.58	溶媒対照 0	100	16.64
検体	100	92.17	検体	100	108.26
	200	86.60		200	105.61
	400	86.55		400	104.11
	800	83.19		800	93.12
	1600	69.00		1600	72.69
傾向検定 有意差なし			傾向検定 有意差なし		
陽性 対照	NOQ 0.1	56.03	陽性 対照	BP 2	63.96
	NOQ 0.15	34.43		BP 3	42.88

統計学的検定 (Robinson et al 1990) : 突然変異発現頻度,  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.05$ ,  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.01$ ,  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.001$

傾向検定 (正) \* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$

陽性対照 ; BP : ベンゾ(a)ピレン、NOQ : 4-ニトロキノリン 1-オキシド

表2 (試験 II)

処理用量 ( $\mu$ g/ml.)	S9mix		処理用量 ( $\mu$ g/mL)	S9mix+	
	相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )		相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )
溶媒対照 0	100	18.52	溶媒対照 0	100	17.85
検体	400	90.75	検体	400	96.75
	800	86.94		800	78.09
	1200	76.73		1200	93.26
	1600	62.96		1600	57.54
傾向検定 有意差なし			傾向検定 有意差なし		
陽性 対照	NOQ 0.1	56.56	陽性 対照	BP 2	51.52
	NOQ 0.15	34.77		BP 3	25.38

統計学的検定 (Robinson et al 1990) : 突然変異発現頻度,  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.05$ ,  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.01$ ,  $\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.001$

傾向検定 (正) \* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$

陽性対照 ; BP : ベンゾ(a)ピレン、NOQ : 4-ニトロキノリン 1-オキシド

の

マウス骨髓細胞を用いた小核試験

(資料No. 16-8)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、1群雄 8匹、体重 25～33 g 42日齢

試験方法：検体を溶媒（0.5%カルボキシメチルセルロース）に懸濁させ、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に屠殺し、大腿骨から骨髓の塗抹標本を作製した。

溶媒対照として0.5%カルボキシメチルセルロースを、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に、検体投与群と同様に標本を作製した。

陽性対照としてシクロホスファミドを40mg/kgの用量で、マウスに単回腹腔内投与し、投与後24時間で屠殺して検体投与群と同様に標本を作製した。

塗抹標本は、無水メタノール固定後にギムザ染色し、次のとおり項目を検査した。

- 1) 各標本につき、1000個の赤血球（多染性赤血球：PCE+正染性赤血球：NCE）を計測し、多染性赤血球（PCE）と正染性赤血球（NCE）の相対比（多染性赤血球/正染性赤血球比：PCE/NCE比）
- 2) 2000個の多染性赤血球のうち、小核を有する多染性赤血球の数
- 3) 多染性赤血球（PCE）1000個当たりの小核を有するPCE頻度（MNPCE頻度）

結果の判定に際して、次の項目に該当する場合は陽性とした。

- ① 少なくとも1用量で、MNPCE頻度に統計学的に有意な増加が認められる場合。
- ② 上記①の場合、MNPCE頻度が、溶媒対照の歴史的背景データを越える場合。

用量設定根拠：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

300mg/kg群のみで嗜眠、歩行異常、虚脱及び不規則呼吸等の毒性徴候が認められた。

300及び150mg/kg投与群では、統計学的有意差を伴ったPCE/NCE比の軽度の低下が認められ、骨髄が検体に暴露されたことが示された。いずれの投与群でもMNPCE頻度は、溶媒対照群と同様であり、統計学的有意差は認められなかった。陽性対照群ではMNPCE頻度が有意に上昇した。

マウス（雄）を用いた小核試験の結果

薬物	最終投与後 経過時間	投与量 (mg/kg)	観 察 動物数	PCE/NCE比	MNPCE頻度 <sup>b</sup>
溶媒対照	24	0	8	0.96	0.19
検 体	24	75	8	1.16	0.31
		150	8	0.68*	0.06
		300	8	0.76*	0.12
陽性対照	24	40	8	0.69	6.21 <sup>↑</sup>

<sup>a</sup> Wilcoxon 検定 \* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001

<sup>b</sup> 2×2分割  $\chi^2$ 検定 <sup>↑</sup><sub>↓</sub> : p<0.05, <sup>↑</sup><sub>↓</sub> : p<0.01, <sup>↑</sup><sub>↓</sub> : p<0.001

陽性対照：シクロホスファミド

以上の結果から、本試験条件下において検体は骨髄多染性赤血球（PCE）に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。





(3)

のラットを用いた急性経口毒性

(資料No. 16 9)

試験機関：C.I.T (仏)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：Sprague Dawleyラット、体重 雄 $196 \pm 5$  g、雌 $176 \pm 6$  g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロースに懸濁して経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を投与日及び投与後14日間にわたって観察し、体重を投与日及びその後は週1回測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主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 <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
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

死亡例及び症状は認められなかった。  
体重についても投与に関連した影響は認められなかった。  
剖検所見では投与に関連した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及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

の

ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験

(資料No. 16-10)

試験機関：Rhône-Poulenc Sophia Antipolis (仏)

報告書作成年：1999年 [GLP]

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley系ラット、開始時6～7週齢、体重 雄227～245 g、雌152～185 g、  
1群雌雄各10匹

試験期間：投与期間 90日間 (1998年12月30日 ～ 1999年 3月31日)

投与方法：検体を 0、150、150、1500及び15000 ppmの濃度で飼料に混入し、少なくとも90日間にわたって随時摂食させた。試験期間中、検体を混入した試料を3週間毎に調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に起因する一般状態の変化は認められず、また死亡例もみられなかった。

体重変化；全動物の体重を、馴化期間中に 1回、投与開始日、投与期間中は1週間毎、そして剖検前に測定した。

雌の体重増加量に影響は認められなかった。雄では、統計学的有意差は認められなかったが、対照群と比して15000ppm投与群の体重が低かった。

摂餌量；投与期間中、摂餌量を週 1回測定した。摂餌量に投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		150	1500	15000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	9.4	93.3	977.9
	雌	11.4	114.9	1089.7

血液学的検査；第13週に、各群の全生存動物から眼窩後静脈叢穿刺によって採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、白血球数及び白血球百分率、血小板数、網状赤血球数 (有意な赤血球の変化が認められた場合)、プロトロンビン時間

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性 別	雄			雌		
	150	1500	15000	150	1500	15000
投与量 (ppm)						
赤血球数			↓ 93			↓ 90
ヘモグロビン			↓ 93			↓ 92
平均赤血球容積						↑ 104
ヘマトクリット値			↓ 93			↓ 94
平均赤血球血色素量			↓ 97			↓ 98
白血球百分率(好中球)			↑ 146			
白血球百分率(リンパ球)			↓ 89			

Dunnett's test又はMann-Whitney's test, ↑ ↓ :  $p \leq 0.05$ , ↑ ↓ :  $p \leq 0.01$

表中の数値は、変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

15000ppm投与群の雌雄に、赤血球パラメータの変化が認められた。同群の雌雄で認められた変化は、赤血球数及びヘモグロビンの軽度の低下であり、また雌のみで平均赤血球容積が軽度が高かった。結果的に15000ppm投与群の雌雄でヘマトクリット値及び平均赤血球血色素量の低下が認められた。

15000ppm投与群の雄に、白血球百分率(好中球及びリンパ球)の変化が認められた。しかしながら、好中球及びリンパ球の測定値(群平均値)に対照群との有意差が認められないことから、偶発的な変化であると考えられた。

血液生化学的検査：以下の項目について測定を行った。

総ビリルビン、グルコース、尿素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、トリグリセリド、塩素、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ (ALP)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄			雌		
	150	1500	15000	150	1500	15000
投与量 (ppm)						
総コレステロール		↑ 138	↑ 202			↑ 162
トリグリセリド			↑ 183			
ALP			↓ 80			↓ 67
総蛋白			↑ 105			↑ 110
アルブミン		↑ 107	↑ 105	↑ 106		↑ 107
カルシウム						↑ 105

Dunnett's test又はMann-Whitney's test, ↑ ↓ :  $\alpha = 0.05$ , ↑ ↓ :  $\alpha = 0.01$

表中の数値は、変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

総コレステロールの増加が1500ppm投与群の雄及び15000ppm投与群の雌雄に認められ、トリグリセリドの増加が15000ppm投与群の雄に認められた。アルカリホスファターゼ (ALP) の低下が、15000ppm投与群の雌雄に認められた。

総蛋白の増加が15000ppm投与群の雌雄に、アルブミンの増加が1500ppm及び15000ppm投与群の雌雄に認められた。しかしながら、これらの変化は何れも軽度であり、生物学的意義を有さないものと考えられた。また、カルシウムの軽度の増加が15000ppm投与群の雌に認められたが、検体投与に関連するものではないと考えられた。

尿検査：剖検前に、採取した一夜尿について、以下の項目を検査した。

定量的項目：尿量、尿pH、尿屈折率

半定量的項目：グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血及びウロビリノーゲン  
沈 渣：赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱及び結晶（顕微鏡検査）

対照群と比較して、統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性 別	雄			雌		
	150	1500	15000	150	1500	15000
投与量 (ppm)						
尿 量						↑285

Dunnett's test又はMann-Whitney's test, ↑↓:  $\alpha=0.05$ , ↑↓:  $\alpha=0.01$   
表中の数値は、変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

15000ppm投与群の雌に、尿量の高値が認められた。

眼科的検査：馴化期間中に、全動物について検査した。投与12週目に、対照群及び最高用量群の全動物について再度検査した。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

神経毒性的評価：馴化期間中及び第12週に、次の項目について検査した。

検査項目

握力、立ち直り反射、角膜反射、瞳孔反射、聴覚性驚愕反射、頭部反転動作反射

検査の結果、異常は認められなかった。

ホルモン分析：第2週及び第13週に採血した試料を用いて、T3、T4及びTSHをラジオイムノアッセイにより測定した。

統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性 別	雄						雌					
	150		1500		15000		150		1500		15000	
検査時期	第2週	第13週	第2週	第13週	第2週	第13週	第2週	第13週	第2週	第13週	第2週	第13週
T4					↓ 83							
TSH					↑ 151							

Dunnett's test又はMann-Whitney's test, ↑↓:  $\alpha=0.05$ , ↑↓:  $\alpha=0.01$   
表中の数値は、変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

第2週のみ、T4の減少及びTSHの増加が15000ppm投与群の雄に認められたが、第13週時に変化は認められなかった。T3については、何れの投与群及び検査時期において変化は認められなかった。

15000ppm投与群の雄で第2週に認められたT4及びTSHの変化は、病理組織学的検査で関連する所見が甲状腺に認められなかったことから、その毒性学的意義は無いものと考えられた。

臓器重量：全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比、対脳重量比も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、甲状腺（上皮小体を含む）及び子宮

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		150	1500	15000	150	1500	15000
肝臓	絶対重量		↑ 115	↑ 143			↑ 142
	対体重比		↑ 114	↑ 151			↑ 143
	対脳重比		↑ 115	↑ 147			↑ 142
脾臓	絶対重量			↓ 80			
	対体重比			↓ 85			↑ 121
	対脳重比			↓ 82			↑ 119
心臓	絶対重量						↑ 116
	対体重比						↑ 117
	対脳重比						↑ 116
腎臓	絶対重量						
	対体重比			↑ 116			
	対脳重比			↑ 113			
精巣	絶対重量						
	対体重比			↑ 111			
	対脳重比			↑ 108			

Dunnett's test又はMann-Whitney's test, ↑ ↓ : P ≤ 0.05, ↑ ↓ : P ≤ 0.01  
 表中の数値は、変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

肝臓の絶対重量及び相対重量の増加が、1500ppm投与群の雄及び15000ppm投与群の雌雄に認められ、検体投与による影響と考えられた。

脾臓重量は、15000ppm投与群の雄で絶対重量及び相対重量とも低かったが、同投与群の雌では絶対重量（対照群の平均値0.603 g に対して15000ppm投与群0.720 g、統計学的有意差無し）及び統計学的に有意な相対重量の増加が認められた。

15000ppm投与群の雌雄に認められた脾臓重量の変化は、雌雄間で相反すること及び関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的意義は無いものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

心臓の絶対重量及び相対重量の増加が、15000ppm投与群の雌に認められた。しかしながら、関連する病理組織学的変化が認められなかったことから、15000ppm投与群の雌で認められた心臓重量の変化に、毒性学的意義は無いものとかんがえられた。

統計学的有意差が認められたその他の臓器重量は、何れも投与による影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査：全生存動物について剖検を行った。認められた主な病変を下表に記す。

性 別		雄				雌			
臓 器	投 与 群 (ppm)	0	150	1500	15000	0	150	1500	15000
		病変\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10
肝 臓	肥 大		1	5(*)	9(**)				9(**)

空欄は「0」を示す。

Fisherの直接確立検定 又は  $\chi^2$ 検定 (申請者が実施) \* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$

1500ppm投与群の雄及び15000ppm投与群の雌雄に、検体投与に関連した肝肥大が認められた。

病理組織学的検査：以下の組織について病理標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

副腎、大動脈、関節面 (大腿骨-脛骨関節)、胸骨及び骨髄、脳、精巣上体、食道、眼球及び視神経、ハーダー腺、涙腺、心臓、腸 (十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節 (下顎、腸管膜)、乳腺、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄 (頸椎、胸椎、腰椎)、脾臓、胃、精巣、下顎唾液腺、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮、膣 及び (中間用量群の) 肉眼的異常が認められた組織。

認められた主な病変を下表に記す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	150	1500	15000	0	150	1500	15000
臓器	病変 \ 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大			10(**)	10(**)			10(**)	10(**)

空欄は「0」を示す。

Fisherの直接確立検定 (申請者が実施) \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$

1500ppm及び15000ppm投与群の雌雄に、小葉中心性肝細胞肥大が認められ、検体投与によるものと考えられた。

以上の結果、血液学的検査において15000ppm投与群の雌雄に赤血球パラメータ (赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量) の軽度の低下が認められ、同投与群の雌には平均赤血球容積の軽微な増加が認められた。血液生化学的検査では、1500ppm投与群の雄及び15000ppm投与群の雌雄に総コレステロールの増加が認められ、また15000ppm投与群の雌雄ではトリグリセリドの増加が認められた。15000ppm投与群の雌では平均量尿の増加が認められた。

肝臓重量の増加及び肝肥大が1500ppm投与群の雄及び15000ppm投与群の雌雄に認められた。病理組織学的検査では、1500ppm及び15000ppm投与群の雌雄に、小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

従って、本試験の無毒性量は雌雄とも150ppm (雄: 9.4mg/kg/day、雌: 11.4mg/kg/day) と考えられた。



の細菌を用いた復帰変異性試験  
(資料No. 16-11)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株(TA100、TA1535株 [以上、塩基対置換型]、TA98及びTA1537株[以上、フレームシフト型])及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* 1株(WP2 uvrA株[塩基対置換型])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, Aroclor 1254誘導ラット肝ホモジネート)の存在下(S9 mix+)及び非存在下(S9 mix-)で、変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解した。

投与量設定のために、TA100株を用いて検体最終濃度 8, 40, 200, 1000 及び5000  $\mu$ g/プレート の用量で用量設定試験を行った。この結果、明白な毒性症状が確認されなかったことから、試験Ⅰ及び試験Ⅱにおける用量を次のように設定した。なお、この用量設定試験の結果は、試験Ⅰのデータとして使用した。

用 量

試験Ⅰ(S9 mix +/-)：溶媒対照, 8, 40, 200, 1000及び5000  $\mu$ g/プレート

試験Ⅱ(S9 mix +/-)：溶媒対照, 312.5, 625, 1250, 2500及び5000  $\mu$ g/プレート

試験Ⅰに関しては、直接プレート混和を行い、試験Ⅱに関してはプレインキュベーションを行った。

なお試験ⅡのS9 mix+の全菌株において、高濃度側の2~3用量で著しい毒性影響が認められた。従って、S9 mix+において次の用量で再試験を行った。

試験Ⅱ : S9 mix+ : 再試験の用量

TA98, TA100及びTA1535株 : 0, 62.5, 125, 250, 500及び1000  $\mu$ g/プレート

TA1535株及びWP2 uvrA株 : 0, 125, 250, 500, 1000及び2000  $\mu$ g/プレート

変異原性の陽性判定基準は、次のとおりである。

- 1) 1%水準のDunnett検定で有意であり ( $p \leq 0.01$ ) であり、かつ用量相関性を示す場合
- 2) 試験Ⅰ及びⅡで再現性が認められる場合

試験結果：結果を表1(試験Ⅰ)及び表2(試験Ⅱ：S9 mix+条件については再試験の結果)に示した。

Dunnett検定(1%水準)で検定した場合、S9 mixの有無にかかわらず試験菌株の復帰変異コロニーが増加することはなかった。

一方、陽性対照として用いたsodium-azide, 9-aminoacridine, 2-nitro-fluorene, cumenc hydro-peroxyde(以上、S9 mix-)及び2-aminoanthracene(S9 mix+)は、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1 (試験 I)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S 9 mix	復帰変異コロニー数/プレート[plate] (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 $\pm$ SD)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
試験 I	溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$	126 $\pm$ 11	13 $\pm$ 5	32 $\pm$ 6	34 $\pm$ 5	14 $\pm$ 4
	検体 (下段は 統計学的 検定結果)	8	117 $\pm$ 12 (NS) 及び [NS]	17 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	30 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	32 $\pm$ 7 (NS) 及び [NS]	12 $\pm$ 1 (NS) 及び [NS]
		40	119 $\pm$ 2 (NS) 及び [NS]	16 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	29 $\pm$ 11 (NS) 及び [NS]	34 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	11 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]
		200	99 $\pm$ 11 (NS) 及び [NS]	16 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	30 $\pm$ 9 (NS) 及び [NS]	33 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	14 $\pm$ 1 (NS) 及び [NS]
		1000	111 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	16 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	30 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	30 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	9 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]
		5000	96 $\pm$ 17 (NS) 及び [NS]	11 $\pm$ 5 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	25 $\pm$ 3 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	19 $\pm$ 3 (S, Ppn, M) (NS) 及び [NS]	7 $\pm$ 1 (S, Ppn, M) (NS) 及び [NS]
	陽性対照		sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 626 $\pm$ 32	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 386 $\pm$ 115	4-nitro- quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 783 $\pm$ 50	2-nitro- fluorene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 1013 $\pm$ 69	9-amino- acridine (50 $\mu\text{g}/$ plate) 504 $\pm$ 147
	溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{L}$	137 $\pm$ 17	19 $\pm$ 4	40 $\pm$ 3	31 $\pm$ 6	15 $\pm$ 3
	検体 (下段は 統計学的 検定結果)	8	134 $\pm$ 11 (NS) 及び [NS]	18 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	38 $\pm$ 9 (NS) 及び [NS]	36 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	13 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]
		40	142 $\pm$ 11 (NS) 及び [NS]	15 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	40 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	35 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	11 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]
200		149 $\pm$ 16 (NS) 及び [NS]	12 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	41 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	38 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	13 $\pm$ 8 (NS) 及び [NS]	
1000		136 $\pm$ 7 (NS) 及び [NS]	18 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	45 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	32 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	16 $\pm$ 2 (NS) 及び [NS]	
5000		137 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	15 $\pm$ 10 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	32 $\pm$ 4 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	33 $\pm$ 3 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	10 $\pm$ 3 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	
陽性対照		2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2298 $\pm$ 104	/	2-amino- anthracene (10 $\mu\text{g}/$ plate) 196 $\pm$ 21	2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 1366 $\pm$ 13	/	

統計学的検定法:

Dunnett検定: (\*)  $p \leq 0.05$ , (\*\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.005$ , (NS)有意差無し

線形回帰分析: [\*]  $p \leq 0.05$ , [\*\*]  $p \leq 0.01$ , [\*\*\*]  $p \leq 0.005$ , [NS]有意差無し

注) S : 背景細菌叢の僅かな減少が認められた。

Ppn : 検体の析出が認められた。

M : 手でプレートを計測

表2 (試験II : S9 mix+条件については再試験の結果)

試験	薬物	用量 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 $\pm$ SD)						
				塩基対置換型			フレームシフト型			
				TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537		
試	溶媒対照 (DMSO)	100 $\mu\text{l}$	-	103 $\pm$ 13	13 $\pm$ 5	44 $\pm$ 6	27 $\pm$ 4	10 $\pm$ 4		
	検体 (下段は 統計学的 検定結果)	312.5		95 $\pm$ 8 (NS) 及び [NS]	15 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	40 $\pm$ 7 (NS) 及び [NS]	28 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	6 $\pm$ 1 (NS) 及び [NS]		
		625		105 $\pm$ 8 (NS) 及び [NS]	15 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	36 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	27 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	5 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]		
		1250		105 $\pm$ 14 (NS) 及び [NS]	15 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	38 $\pm$ 2 (NS) 及び [NS]	28 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	8 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]		
		2500		103 $\pm$ 24 (NS) 及び [NS]	12 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	34 $\pm$ 7 (NS) 及び [NS]	29 $\pm$ 9 (NS) 及び [NS]	6 $\pm$ 1 (NS) 及び [NS]		
		5000		69 $\pm$ 15 (NS) 及び [NS]	17 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]	27 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	20 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	9 $\pm$ 1 (NS) 及び [NS]		
		陽性対照			sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 453 $\pm$ 11	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 333 $\pm$ 35	4-nitro-quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 899 $\pm$ 3	2-nitro-fluorene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 698 $\pm$ 95	9-amino-acridine (50 $\mu\text{g}/$ plate) 415 $\pm$ 48	
	験	溶媒対照 (DMSO)		100 $\mu\text{l}$	+	103 $\pm$ 10	16 $\pm$ 2	42 $\pm$ 4	31 $\pm$ 5	6 $\pm$ 2
		検体 (下段は 統計学的 検定結果)		62.5		109 $\pm$ 11 (NS) 及び [NS]	/	/	34 $\pm$ 1 (NS) 及び [NS]	8 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]
				125		108 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	17 $\pm$ 5 (M) (NS) 及び [NS]	42 $\pm$ 6 (NS) 及び [NS]	29 $\pm$ 8 (NS) 及び [NS]	9 $\pm$ 2 (NS) 及び [NS]
250			119 $\pm$ 12 (NS) 及び [*]	21 $\pm$ 3 (NS) 及び [*]		37 $\pm$ 5 (NS) 及び [NS]	27 $\pm$ 7 (NS) 及び [NS]	10 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]		
500			117 $\pm$ 6 (NS) 及び [*]	22 $\pm$ 4 (NS) 及び [*]		42 $\pm$ 8 (NS) 及び [NS]	29 $\pm$ 3 (NS) 及び [NS]	9 $\pm$ 2 (M) (NS) 及び [NS]		
1000			99 $\pm$ 12 (S) (NS) 及び [NS]	18 $\pm$ 4 (NS) 及び [NS]		40 $\pm$ 2 (NS) 及び [NS]	21 $\pm$ 6 (S) (NS) 及び [NS]	9 $\pm$ 3 (S) (NS) 及び [NS]		
2000			/	- (T)		13 $\pm$ 2 (S) (NS) 及び [NS]	/	/		
陽性対照			/	/		2-amino-anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 114 $\pm$ 7	2-amino-anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2041 $\pm$ 307	/		

統計学的検定法:

Dunnett検定: (\*)  $p \leq 0.05$ , (\*\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.005$ , (NS)有意差無し

線形回帰分析: [\*]  $p \leq 0.05$ , [\*\*]  $p \leq 0.01$ , [\*\*\*]  $p \leq 0.005$ , [NS]有意差無し

注) S : 背景細菌叢の僅かな減少が認められた。

T : 毒性のため、復帰突然変異コロニーが認められなかった。

M : 手動でプレートを計測



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

の  
マウスリンパ腫L5178Y細胞を用いた突然変異誘発性試験

(資料No. 16 -12)

試験機関：Covance Laboratories Limited (英)

報告書作成年：1999年 [GLP]

検体の純度：

試験方法：ウェル数が96のマイクロプレートを用いて、Aroclor1254誘導ラット肝臓ポストミトコンドリア画分(S9)の存在下(S9mix+)及び非存在下(S9mix-)において、マウスリンパ腫 L5178Y細胞の*hprt* (6-チオグアニン耐性) 遺伝子座における検体の突然変異誘発性を評価した。

本試験に先立ち、細胞毒性-用量設定試験を実施した。

細胞毒性-用量設定根拠

本試験の用量は、用量設定試験(細胞毒性試験)に基づいて設定した。

濃度範囲25~800  $\mu$ g/mL(公比2)で代謝活性化系非存在下(S9mix-)及び存在下(S9mix+)の濃度設定試験を実施した。細胞を培地で希釈し、それぞれの検体濃度で3時間処理した。処理後、細胞を培地で洗浄し、1ウェル当たり1.6細胞/mLの濃度でプレートに播種した。プレートを7日間培養した後、細胞毒性を調査した。

用量設定試験の結果、S9mix +/-でのいずれも800  $\mu$ g/mLにおいて強い細胞毒性が認められ相対生存率は、S9mix+では 23.21%、S9mix-では 31.32%であった。

本試験は試験 I と試験 II から構成され、用いた用量は細胞毒性-用量設定試験に基づき次のとおり設定した。

試験 I ; S9mix-/+ : 5濃度 (50, 100, 200, 400及び800  $\mu$ g/mL)

試験 II ; S9mix-/+ : 4濃度 (100, 200, 400及び800  $\mu$ g/mL)

また、溶媒対照及び陽性対照群を設けた。

上記の用量で3時間処理した後、細胞を培地で洗浄した。

検体処理細胞の一部(8細胞/mL)をマイクロプレートに播種し、10-12日間培養して生育コロニーを含むウェルを計数し、相対生存率(溶媒対照群に対する%)を算出した。

残りの細胞は、7日間の突然変異発現期間中に継代培養して細胞濃度を $1 \times 10^5$ 細胞/mLに保った。突然変異発現期間後に6-チオグアニン(6-TG)存在下及び非存在下でマイクロプレートに播種して培養(12日)した。培養後、6-TG耐性変異体コロニー(突然変異体)及び生育コロニーを含むウェルを計数し、相対生存率(%RS)及び突然変異頻度(%MF)を算出した。

試験結果：結果を表 1 (試験 I) 及び表 2 (試験 II) に示した。

細胞毒性：

試験 I では、最高用量(800  $\mu$ g/mL)において強い細胞毒性が認められ、S9mix +/-の相対生存率はそれぞれ23.41%及び25.21%となった。

試験 II では、最高用量(800  $\mu$ g/mL)において強い細胞毒性が認められ、相対生存率は、S9mix+では18.48%、S9mix-では38.31%であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

突然変異：試験Ⅰ及び試験Ⅱにおいて、S9mixの有無に関わらず突然変異頻度に有意差は認められなかった。従って検体は、突然変異誘発性を有さないと考えられた。

表 1 (試験Ⅰ)

処理用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9mix-		処理用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9mix+	
	相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )		相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )
溶媒対照 0	100	14.43	溶媒対照 0	100	14.77
検体	50	102.63	検体	50	100.54
	100	87.80		100	101.60
	200	87.15		200	93.78
	400	30.40		400	82.76
	800	23.41		800	25.21
傾向検定 有意差なし			傾向検定 有意差なし		
陽性 対照	NQO 0.1	62.87	陽性 対照	BP 2	72.54
	NQO 0.15	40.92		BP 3	34.03
		50.79			77.90

統計学的検定(Robinson et al 1990)：突然変異発現頻度， $\uparrow\downarrow$ ： $p<0.05$ ， $\uparrow\downarrow$ ： $p<0.01$ ， $\uparrow\downarrow$ ： $p<0.001$   
傾向検定(正) \*： $p<0.05$ ，\*\*： $p<0.01$ ，\*\*\*： $p<0.001$

陽性対照；BP：ベンゾ(a)ピレン、NQO：4-ニトロキノリン 1-オキシド

表2 (試験Ⅱ)

処理用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9mix-		処理用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9mix+	
	相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )		相対生存率 (RS) %	突然変異頻度 (MF) ( $\times 10^6$ )
溶媒対照 0	100	17.68	溶媒対照 0	100	18.76
検体	100	98.22	検体	100	95.66
	200	94.42		200	97.06
	400	51.40		400	58.67
	800	18.48		800	38.31
傾向検定 有意差なし			傾向検定 有意差なし		
陽性 対照	NQO 0.1	62.21	陽性 対照	BP 2	64.47
	NQO 0.15	41.44		BP 3	44.24
		50.13			117.97

統計学的検定(Robinson et al 1990)：突然変異発現頻度， $\uparrow\downarrow$ ： $p<0.05$ ， $\uparrow\downarrow$ ： $p<0.01$ ， $\uparrow\downarrow$ ： $p<0.001$   
傾向検定(正) \*： $p<0.05$ ，\*\*： $p<0.01$ ，\*\*\*： $p<0.001$

陽性対照；BP：ベンゾ(a)ピレン、NQO：4-ニトロキノリン 1-オキシド

の

マウス骨髄細胞を用いた小核試験

(資料No. 16-13)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、41日齢（5週齢）、1群雄 8匹、体重 22～31 g

試験方法：検体を溶媒（0.5%カルボキシメチルセルロース）に懸濁させ、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に屠殺し、大腿骨から骨髄の塗抹標本を作製した。

溶媒対照として0.5%カルボキシメチルセルロースを、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に、検体投与群と同様に標本を作製した。陽性対照としてシクロホスファミドを40mg/kgの用量で、マウスに単回腹腔内投与し、投与後24時間で屠殺して検体投与群と同様に標本を作製した。

塗抹標本は、無水メタノール固定後にギムザ染色し、次のとおり項目を検査した。

- 1) 各標本につき、1000個の赤血球（多染性赤血球：PCE+正染性赤血球：NCE）を計測し、多染性赤血球（PCE）と正染性赤血球（NCE）の相対比（多染性赤血球/正染性赤血球比：PCE/NCE比）
- 2) 2000個の多染性赤血球のうち、小核を有する多染性赤血球の数
- 3) 多染性赤血球（PCE）1000個当たりの小核を有するPCE頻度（MNPCE頻度）

結果の判定に際して、次の項目に該当する場合は陽性とした。

- ① 少なくとも1用量で、MNPCE頻度に統計学的に有意な増加が認められる場合。
- ② 上記①の場合、MNPCE頻度が、溶媒対照の歴史的背景データを越える場合。

用量設定根拠：

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

各検体投与群において、大部分の動物で体重の減少が認められたが、死亡及び毒性徴候は認められなかった。

各検体投与群のPCE/NCE比は、溶媒対照群と同様であったが、2000mg/kg投与群では、PCE/NCE比の軽度の低下が認められた。

各検体投与群のMNPCE頻度は、溶媒対照群と同様であり、統計学的有意差は認められなかった。

マウス（雄）を用いた小核試験の結果

薬物	最終投与後経過時間	投与量 (mg/kg)	観察動物数	PCE/NCE比	MNPCE頻度
溶媒対照	24	0	8	0.84	0.31
検体	24	500	8	0.93	0.19
		1000	8	0.73	0.06
		2000	8	0.73	0.25
陽性対照	24	40	8	0.53	3.49 ↑↑

↑↑ :  $P \leq 0.001$  ( $2 \times 2$ 分割  $\chi^2$ 検定)

陽性対照 : シクロホスファミド

以上の結果から、本試験条件下において検体は骨髄多染性赤血球(PCE)に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

### 3. 製剤毒性

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤SC-1)

試験機関：実医研

報告書作成年：2000年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

供試動物：ICR系マウス、5週齢、体重 雄30.1～32.6g、雌21.9～26.6g、一群雌雄各5匹

観察期間：15日間観察(投与日を含む)

投与方法：検体を注射用水に加えて懸濁させ、5000mg/kgの用量で強制経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡を投与日を含めて15日間観察し、体重を投与日および投与後2、3、4、8及び15日に測定した。試験終了時の全生存動物を屠殺し、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	0 (溶媒対照), 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

体重および剖検所見に、検体投与に起因する変化は認められなかった。

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤SC-2)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

供試動物：Sprague Dawley系ラット、雄 8~12週齢、雌 8~11週齢、  
体重 雄 213~242 g 雌 158~187 g、一群雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を 5000mg/kgの用量で単回経口投与した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡を投与日に2回、及び投与後14日間にわたって毎日1回観察した。各動物について体重を、投与前日、投与日、投与後7日、投与後14日に測定した。  
試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	投与当日から発現し、投与後13日目まで認められた。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

症状として、呼吸異常、軟便/粘液便、尿/糞の着色、顔面の暗調物質及び自発運動の減少が観察された。

試験期間中、全動物に体重の増加が認められた。  
剖検所見では、有意な肉眼的病理変化は認められなかった。

ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 製剤SC-3)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドN40%水和剤(フロアブル)

供試動物：ニュージーランド白色種ウサギ、13～18週齢、  
体重 雄2965～3900 g 雌2950～4026 g、雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を、刈毛した背部・腹側部に24時間塗布した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡を投与日には2回、その後は14日間にわたって毎日1回観察した。体重を投与日の投与前、投与後 7日および14日に測定した。また、投与後14日間にわたって、検体を塗布した部位の刺激性変化を毎日確認した。試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >5000
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	投与日から投与後14日目まで認められた。
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

症状として、一部の雄に一過性の軟便及び糞量の減少が認められた。検体塗布部位では、刺激性変化(紅斑・浮腫)が認められた。

全動物で、試験期間中に体重の増加が認められた。

剖検所見では、卵管嚢胞が2例認められた。しかしながら、これはこの系統のウサギに一般的に認められる変化であり、投与に関連した変化とは考えられなかった。

#### 40%フロアブルのラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-SC-4)

##### 試験成績の提出除外

本薬についての吸入毒性試験成績は、「「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について」の「第4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

##### [除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 製剤SC-5)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)

報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

・組成 フェンアミドン原体 40%  
水、界面活性剤等 60%

供試動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雄4匹、雌2匹

観察期間：7日間観察

投与方法：検体0.5mlを、刈毛したウサギ背側腹部の皮膚(約6.45cm<sup>2</sup>、1インチ[2.54cm]×1インチ[2.54cm])に半閉塞貼付した。

暴露時間は4時間とし、皮膚に残った検体を脱イオン水で湿らせたガーゼで拭き、次いで乾燥したガーゼで拭いて除去した。

観察項目：暴露終了後 1, 24, 48, 72時間及び7日の時点で適用部位の刺激性変化(紅斑及び浮腫)を検査した。Draize法に基づく判定基準に従って採点し、一次刺激指数を算出した。

結 果：

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	7日後
雄1	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0	0
雄2	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
雄3	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0	0
雄4	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0	0
雌1	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
雌2	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	4	0	0	0
	浮腫	24	3	0	0	0	0
紅斑及び浮腫評点の合計(A)		48	9	4	0	0	0
1~72時間の(A)の合計:(B)			13				
一次刺激指数 (B)÷「(検体適用部位数:6)×4」			0.54				

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有すると考えられた。

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 製剤SC-6)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

・組成 フェンアミドン原体 40%、水、界面活性剤等 60%

供試動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雌雄各3匹

観察期間：3日間観察

方法及び観察項目：検体0.1mlを右眼結膜嚢に投与した。

投与後1、24、48及び72時間に結膜、虹彩及び角膜の変化を観察した。

判定は、Drizeの方法に従って実施した。投与後24時間に、フルオレセイン検査を行った。

この時点で、生理食塩水で眼に残存している検体を軽く洗い流した。

フルオレセイン検査で変化が認められた場合、影響が認められた眼について、その後も陰性反応が認められるか及び/又は全ての角膜で混濁が消失するまで、フルオレセイン検査を行った。

結果：

		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 1	角膜 混濁	程度(A)	4	1	1	0	0
		面積(B)	4	4	3	0	0
	虹彩(C)	2	1	0	0	0	
	結膜	発赤(D)	3	2	1	0	0
		浮腫(E)	4	1	1	0	0
		分泌物(F)	3	2	0	0	0
動物 番号 2	角膜 混濁	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	虹彩(C)	2	1	0	0	0	
	結膜	発赤(D)	3	2	1	0	0
		浮腫(E)	4	1	1	0	0
		分泌物(F)	3	1	0	0	0
動物 番号 3	角膜 混濁	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	虹彩(C)	2	1	0	0	0	
	結膜	発赤(D)	3	1	1	0	0
		浮腫(E)	4	1	1	0	0
		分泌物(F)	3	1	0	0	0
動物 番号 4	角膜 混濁	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	虹彩(C)	2	1	0	0	0	
	結膜	発赤(D)	3	2	1	0	0
		浮腫(E)	4	1	1	1	0
		分泌物(F)	3	1	0	0	0
動物 番号 5	角膜 混濁	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	虹彩(C)	2	1	0	0	0	
	結膜	発赤(D)	3	2	1	0	0
		浮腫(E)	4	1	0	0	0
		分泌物(F)	3	1	0	0	0
動物 番号 6	角膜 混濁	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	虹彩(C)	2	1	0	0	0	
	結膜	発赤(D)	3	2	1	0	0
		浮腫(E)	4	2	1	0	0
		分泌物(F)	3	2	0	0	0
合計*		660	102	37	2	0	
72時間を通じた平均*		110	5.88				

\*表の合計および平均は眼刺激指数 (IOI) =  $A \times B \times 5 + C \times 6 + (D+E+F) \times 2$  の値である。

投与後1時間で、1匹において角膜の混濁が認められた。投与後24時間のフルオレセイン検査で陽性であったことから、角膜の損傷が確認された。この角膜の混濁は、点眼後48時間には消失した。投与後1時間で、全ウサギ(6匹)に虹彩の病変が認められたが、投与後24時間では全て消失した。また結膜に関して、投与後1時間で全匹に浮腫/発赤/分泌物が認められたが、投与後72時間には全て消失した。その他の眼の変化として、2匹の角膜に、通常の光沢を持った軽微な曇りが認められた。

以上の結果から、検体はウサギの眼組織に対して軽度の刺激性を有すると考えられた。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 製剤SC-7)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米国)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

- ・組成 フェンアミドン原体 40%
- 水、界面活性剤等 60%

供試動物：Hartley系アルビノモルモット、

検体処置群20匹(雌雄各10匹)、検体惹起対照群10匹(雌雄各5匹)

陽性対照処置群10匹(雌雄各5匹)、陽性対照惹起対照群10匹(雌雄各5匹)

観察期間：48時間観察

試験操作：Buehler法

投与量設定根拠(予備試験)：検体濃度が25, 50, 75及び100%となるよう4種の検体溶液(溶媒：脱イオン水)を調製した。各濃度につき0.3mlを各濃度につき雌雄各2匹の刈毛した皮膚部位に6時間閉塞貼付した。適用後24時間及び48時間目に、処置部位の刺激性反応を採点した結果、各濃度において「評点 0～±(評点0.5、軽度で斑状の紅斑)」が認められた。従って、感作及び惹起処置に適当な検体濃度は100%と考えられた。

感作：左腹側部を刈毛し、検体溶液(検体濃度100%) 0.3mlを7日おきに計3回、それぞれ6時間閉塞貼付した。陽性対照群にはDNFB(2,4-ジニトロクロロベンゼン)の0.1%アセトン/無水エタノール混合溶液0.3mlを7日おきに計3回、それぞれ6時間閉塞貼付した。

惹起：最終感作後14日目に、検体処置群、惹起対照群については検体溶液0.3mlを右腹側部に6時間閉塞貼付した。陽性対照処置群及び陽性対照惹起対照群については、DNFBの0.1%及び0.05%アセトン/無水エタノール混合溶液各0.3mlを右腹側部に6時間閉塞貼付した。

惹起後24時間及び48時間目に、処理部位の刺激反応を採点した。用いた評点は次のとおりである。

紅斑：0, ±(0.5), 1, 2, 3 及び M-3

浮腫：1, 2, 3 及び 4

検体または陽性対照処置動物の評点が「1以上(≧1)」で、かつ惹起対照動物の評点が「0～±(0.5)」の場合を陽性とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：検体溶液（100％）を惹起処置しても、検体処置群及び惹起対照群の動物の皮膚反応評点は0～±（0.5）にすぎなかった。検体処置群の群平均皮膚反応評点は、惹起対照群と同等であった。  
陽性対照であるDNCBを0.05％及び0.1％の濃度で処置した動物群では、それらの群平均皮膚反応評点が多DNCB惹起対照群の群平均皮膚反応評点と比較して高かった。

		動物数	惹起後時間 — 評点		陽性動物数		
			24時間	48時間	24時間	48時間	
検 体 (100%)	処 置 群	雌雄各10匹	0.0	0.0	0/20	0/20	
	惹起対照群	雌雄各 5匹	0.1	0.0	—		
陽性 対照 (DNCB)	0.05%	処 置 群	雌雄各 5匹	1.0	0.6	7/10	3/10
	惹起対照群	雌雄各 5匹	0.0	0.0	—		
0.1%	処 置 群	雌雄各 5匹	1.5	1.0	9/10	8/10	
	惹起対照群	雌雄各 5匹	0.1	0.1	—		

点数は、各供試動物の平均値である。

以上の結果、検体の感作性はないと考えられた。



マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤WG-1)

試験機関：実医研  
報告書作成年：2000年[GLP]

検 体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤

供試動物：ICR系マウス、5週齢、体重 雄28.5～31.6 g、雌22.1～25.4 g、一群雌雄各5匹

観察期間：15日間観察（投与日を含む）

投与方法：検体を注射用水に加えて懸濁させ、5000mg/kgの用量で強制経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡を投与日を含めて15日間観察し、体重を投与日および投与後 2, 3, 4, 8及び15日に測定した。試験終了時の全生存動物を屠殺し、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	0 (溶媒対照), 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

体重および剖検所見に、検体投与に起因する変化は認められなかった。

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤WG-2)

試験機関: Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)  
報告書作成年: 1999年[GLP]

検 体: フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤

供試動物: Sprague Dawley系ラット、  
体重: 雄 144~164 g 雌 117~141 g、雌雄各5匹

観察期間: 14日間観察

投与方法: 検体を注射用水に懸濁し、2000mg/kgの用量で単回経口投与した。

観察・検査項目: 一般状態及び死亡を投与日には4回、その後は14日間にわたって毎日1回観察した。体重を投与日、投与後7日および14日に測定した。  
試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果:

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

体重に投与に関連した影響は認められなかった。

剖検所見では、肉眼的病理変化は認められなかった。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 製剤WG-3)

試験機関：Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)

報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤

供試動物：Sprague Dawley系ラット、  
体重：雄 261~293 g 雌 228~244 g、雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を注射用水を用いてペースト状とし、半閉塞包帯を用いて体表面積の約 10 %相当の部位（刈毛した背部及び腹側部）に24時間適用した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡を投与日には4回、その後は14日間にわたって毎日1回観察した。また、皮膚の検査（紅斑または浮腫）を投与後14日間にわたって行った。体重を投与日、投与後 7日および14日に測定した。  
試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投 与 量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
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

検体適用部位の皮膚に、紅斑及び浮腫は認められなかった。  
体重については、雌雄各1匹で体重増加の抑制が認められた。  
剖検所見では、肉眼的病理変化は認められなかった。

## フェンアミドン 3.9%・ホセチル 64%水和剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-WG-4)

### 試験成績の提出除外

本薬についての吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について」の「第 4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

### [除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 製剤WG-5)

試験機関：Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64%水和剤  
・組成 フェンアミドン原体 3.9 %  
ホセチル原体 64.0 %  
鉱物質微粉、界面活性剤等 32.1 %

供試動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雄3匹

観察期間：72時間観察

方 法：検体を粉砕し、注射用水でペースト状にして0.5g/匹の用量で、ウサギの非擦過皮膚に4時間にわたって半閉塞適用した。  
包帯除去後1、24、48及び72時間日に、皮膚の紅斑及び浮腫を評価した。

判定は、Directive 78/631/EEC Commission Directive (1978年) に従って実施した。最高評点は、次のとおりである。

紅 斑：4  
浮 腫：4

試験結果：

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	7日後
雄1	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
雄2	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
雄3	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	3	0	0	0	0
	浮 腫	24	0	0	0	0	0
24~72時間の平均					0		

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を示さないと考えられた。

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 製剤WG-6)

試験機関: Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)

報告書作成年: 1999年 [GLP]

検 体: フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤  
 ・組成 フェンアミドン原体 3.9%  
 ホセチル原体 64.0%  
 鋳物質微粉、界面活性剤等 32.1%

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、雄3匹、約3ヶ月齢、体重 2.44~2.48kg

観察期間: 72時間観察

方法及び観察項目: 検体を粉砕し注射用水に懸濁させ、0.1ml (検体93mg) を右眼下結膜嚢に適用した。洗眼は実施しなかった。適用後1、24、48及び72時間目に結膜、虹彩及び角膜を検査した。

また投与後72時間で変化が認められた場合、回復性を確認するため、投与後7日及び14日にも結膜、虹彩及び角膜を検査した。

判定は、Directive 78/631/EEC Commission Directive (1978年) に従って実施した。

結 果:

			最高 評点	適用後時間					
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日*	14日
動物 番号 1	角 膜 混 濁	程度 (A)	4	2	0	0	0	0	0
		面積 (B)	4	1	0	0	0	0	0
	虹 彩 (C)		2	1	1	1	1	0	0
	結 膜	発 赤 (D)	3	2	1	1	1	0	0
		浮 腫 (E)	4	1	2	1	1	0	0
動物 番号 2	角 膜 混 濁	程度 (A)	4	2	2	2	2	2	0
		面積 (B)	4	1	2	2	2	1	0
	虹 彩 (C)		2	1	1	1	1	1	0
	結 膜	発 赤 (D)	3	2	2	3	3	1	0
		浮 腫 (E)	4	1	2	2	2	1	0
動物 番号 3	角 膜 混 濁	程度 (A)	4	2	1	0	0	0	0
		面積 (B)	4	2	1	0	0	0	0
	虹 彩 (C)		2	1	1	1	1	0	0
	結 膜	発 赤 (D)	3	3	2	1	0	0	0
		浮 腫 (E)	4	1	2	1	1	0	0
合 計*			312	75	62	53	51	19	0
平 均*			104	25	20.6	17.7	17	6.3	0

\* : 脊柱脱臼により、7日目の観察終了後にウサギ一匹を屠殺した。

\*\* : Brize法による評価点 (A×B×5+C×5+(D+E)×2; 最高: 104)

以上の結果から、本試験条件下で検体は眼刺激性を有すると考えられた。  
 なお、72時間目で認められた変化は、14日目の観察時には完全に消失した。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 製剤WG-7)

試験機関：Chrysalis Preclinical Services Europe. (仏)  
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤  
・組成 フェンアミドン原体 3.9%  
ホセチル原体 64.0%  
鉱物質微粉、界面活性剤等 32.1%

供試動物：Hartley系アルビノモルモット、  
検体処置群20匹（雌雄各10匹）、対照群10匹（雌雄各5匹）  
陽性対照処置群10匹（雌雄各5匹）

観察期間：48時間観察

方 法：改良Buehler法（9回感作処置）

投与量設定根拠（予備試験）：検体濃度が40及び85%となるよう2種のペースト（溶媒：注射用水）を調製した。各濃度につき0.5mlを各濃度につき雄各4匹の皮膚部位に6時間閉塞貼付した。処理後24時間及び48時間後に、処置部位の刺激性反応を採点した結果、各濃度において刺激性反応は認められなかった。従って、感作処置及び惹起処置に適切な検体濃度は85%と考えられた。なお、検体濃度85%は、経皮処置に適したペーストとして調製可能な最高濃度である。

感 作：刈毛した左側背部に、検体ペースト（検体濃度85%）0.5mlを計9回にわたりそれぞれ6時間閉塞貼付した。検体感作処置は試験1, 3, 5, 8, 10, 12, 15, 17及び19日目に実施した。

陽性対照の試験は本試験とは同時に行っていないが、本試験機関では定期的にDNCB（2,4-ジニトロクロロベンゼン）を用いて陽性対照試験を行っている。

惹 起：最終感作10日後（試験29日目）に、検体処置群及び対照群に対し検体ペースト0.5mlを右側背部に6時間閉塞貼付した。惹起後24時間及び48時間目に、処置部位の刺激反応をDraizeの採点基準に従って採点した。最高評点は次のとおりである。

紅斑・痂皮：4  
浮腫：4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果：検体処置群の雌1匹及び対照群の雄1匹の死亡が、試験30日目に発見された。死亡動物の剖検の結果、検体処置群の雌では腸管の強い鬱血が認められ、対照群の雄では異常は認められなかった。

惹起処置後の検査では、検体感作処置群の19匹に変化は認められなかった。対照群の動物9匹でも、顕著な皮膚の異常は認められなかった。

	動物数	病 変	惹起後 — 評点		陽性動物数	
			24時間	48時間		
検 体 (85%)	処置群	雄10匹	紅斑	0	0	0/20
		雌 9匹	浮腫	0	0	
	対照群	雄 4匹	紅斑	0	0	—
		雌 5匹	浮腫	0	0	

点数は、各供試動物の平均値である。

陽性対照として用いたDNCBの感作性試験の結果を下表に示す。

	動物数	病 変	惹起後 — 評点		陽性動物数	
			24時間	48時間		
DNCB溶液* (0.5%)	処置群	雄 5匹	紅斑	1.8	2.0	20/20
		雌 5匹	浮腫	1.3	1.0	

\*：溶媒 1,2-プロピレングリコール 点数は、各供試動物の平均値である。

以上の結果から、検体の皮膚感作性はないと考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

IX. 動植物及び土壌における代謝分解  
代謝分解試験一覧表

資料 No.	試験の種類	供試 動植物	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
運命-1	動物体内運命  -ADME 試験   -血中動態 試験   -組織内 分布・消長 試験   -胆汁排泄 試験	ラット   1群雌雄 各5匹	高用量：300mg/kg， 低用量： 3mg/kg  <u>ADME</u> CP標識体 ・高用量単回経口投与群 ・低用量単回経口投与群 ・低用量反復経口投与群 NP標識体 ・低用量単回経口投与群 ・低用量反復経口投与群  <u>血中動態試験</u> CP標識体 ・高用量単回経口投与群 ・低用量単回経口投与群 NP標識体 ・低用量単回経口投与群  <u>組織内分布・消長試験</u> CP標識体 ・高用量単回経口投与群 ・低用量単回経口投与群  <u>胆汁排泄試験</u> CP標識体 ・低用量単回経口投与群 NP標識体 ・低用量単回経口投与群	低用量で経口投与した <sup>[14C]</sup> 標識フェンアミドンはよく吸収(吸収率89.67～94.35%)され、第一相(酸化/還元/加水分解)の反応及び第二相(抱合化)の反応を受け、広範に代謝される。  ラット体外への放射能の排泄は速やかであり、低用量投与自では、投与量の大部分が胆汁排出された。  胆汁排泄された放射能の一部は再吸収され、その後尿中に再排泄されると考えられた。  高用量で経口投与した <sup>[14C]</sup> 標識フェンアミドン(CP標識体)の場合、その血中濃度曲線下面積(AUC <sub>0-∞</sub> )は、低用量(CP標識体)経口投与時のAUC <sub>0-∞</sub> と用量相関的に比例しなかった。従って、高用量投与時のフェンアミドンの吸収は、飽和するものと考えられた。  フェンアミドンの組織内分布は、甲状腺、血液、肝臓、腎臓、脂肪及び脾臓で顕著であった。  フェンアミドンの主要動物代謝物として - - - が認められた。	Rhone-Poulenc Agro(仏)  Sophia Antipolis 研究所             (1999年)	運命-10
運命-1-2	動物体内運命 -経皮吸収	雄ラット	高用量：268.8 µg/cm <sup>2</sup> 中用量： 29.3 µg/cm <sup>2</sup> 低用量： 2.688 µg/cm <sup>2</sup>  曝露期間 EPA：0.5、1、2、4、10及び24時間。 (曝露終了時に、皮膚を洗浄して屠殺。) EU：8時間 (曝露終了時、曝露終了後16及び40時間で屠殺。)	皮膚を介して直接吸収された放射能(全身的吸収放射能)は、曝露期間の長さ及び用量の増加とともに増加した。	Covance Lab. Inc. (米) (1999年)	運命-34

試験結果の概要の内、[ ]内のアルファベットは代謝物記号を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試 動植物	投与方法 ・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
運命-2	植物体内運命	野外栽培 ぶどう  15~20 年生  2本/区	CP標識体及び [ <sup>14</sup> C]標識体  400 g (a. i.)/ha の薬量で計4回 散布処理した。	成熟期ぶどう果房における全放射性残留量(TRR) は、1.190ppmの濃度であり、その約90%が抽出さ れた。抽出残渣は、TRRに対して10.9%(0.130ppm) を占めた。  成熟期ぶどう果房における主要放射性成分は、  及び  であった。	RCC (スイス)   (1999年)	運命- 40
運命-3	植物体内運命	ガラス温室 栽培トマト	CP標識体及び NP標識体  CP標識体 処理溶液 及び NP標識体 処理溶液  500 g (a. i.)/ha の薬量で、別個 のトマト植物体 に計3回散布処 理した。	最終収穫時のトマト果実における全放射性残留量 (TRR)は、CP標識体処理で0.186mg/kg、NP標識体処 理で0.207mg/kgの濃度であった。両TRRのそれぞ れ約90%が抽出された。抽出残渣は、CP標識体処 理で「TRRに対して12.9%(0.024mg/kg)」、NP標識 体処理で「TRRに対して8.2%(0.017mg/kg)」を占め た。  最終収穫時のトマト果実において、最も多く認め られた放射性成分は、  であった。  CP標識体処理でTRRに対して NP標識体処理でTRRに対して を占めた。  その他の主要放射性成分として 認められた。  は、CP標識体 処理でTRRに対して 処理ではTRRに対して を占めた。	Rhone- Poulenc Agri. (英)   (1999年)	運命- 51
運命-4	植物体内運命	屋外栽培 レタス	CP標識体/NP標 識体及び [ <sup>14</sup> C]標識体  CP標識体 処理溶液 及び NP標識体 処理溶液  約360 g (a. i.)/ haの薬量で計4 回、別個の処理 区に散布処理し た。  CP標識体: [ <sup>14</sup> C] 標識体処理溶液  400 g (a. i.)/ha の薬量で対応す る処理区に散布 処理した。	最終収穫時のレタス全体における全放射性残留量 (TRR)は、CP標識体処理で9.338mg/kg、NP標識体 処理で9.023mg/kgの濃度であった。両TRRのそれぞ れ約95%が抽出された。抽出残渣は、CP標識体処 理で「TRRに対して4.51% (0.421mg/kg)」、NP標識 体処理で「TRRに対して5.96% (0.538mg/kg)」を占 めた。  最終収穫時のレタス全体において、最も多く認め られた放射性成分は、  であった。  は、CP標識体処理で TRRに対して NP標識体処 理でTRRに対して を占めた。  フェンアミドンのレタスにおける代謝物として、  が同定され、また 及び が推定され た。	Rhone- Poulenc Agri. (英)   (1999年)	運命- 59

試験結果の概要の内、[ ]内のアルファベットは代謝物記号を示す



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物	投与方法 ・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																				
運命-7	水中運命 (加水分解)	pH 4, 5, 7及び0.9 の各緩衝液	CP標識体 設定濃度： 0.389mg/ 緩衝液 1  温度： 24.8～ 25.0℃	各pHにおけるフェンアミドン半減期は、次の とおりであった。 <table border="1"> <thead> <tr> <th>pH</th> <th>半減期 (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4</td> <td>41.7</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>221.8</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>411.0</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>27.6</td> </tr> </tbody> </table> 各pHにおいて、処理放射能に対して10%以上 の割合で生成した加水分解物は次のとおりで あった。 <table border="1"> <thead> <tr> <th>pH</th> <th>加水分解物</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4</td> <td></td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	pH	半減期 (日)	4	41.7	5	221.8	7	411.0	9	27.6	pH	加水分解物	4		5	—	7	—	9		Rhone- Poulenc Agro (仏)  Dargoire 研究所  (1998年)	運命-98
pH	半減期 (日)																									
4	41.7																									
5	221.8																									
7	411.0																									
9	27.6																									
pH	加水分解物																									
4																										
5	—																									
7	—																									
9																										
運命-8	水中運命 (水中光分解)	滅菌リン酸 二水素緩衝液  (pH 7, CH <sub>3</sub> CN1%含有)	CP標識体 設定濃度： 3.9 μg/l  290～800nm : 720W/m <sup>2</sup> キセノン ランプ、 25±1℃	フェンアミドン半減期 <table border="1"> <thead> <tr> <th>一次速度式</th> <th>北緯35度(4～6月)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>25.7時間</td> <td>7.79日</td> </tr> </tbody> </table> 照射区において、処理放射能に対して10% 以上生成した分解物は、次のとおりであった。	一次速度式	北緯35度(4～6月)	25.7時間	7.79日	Rhone- Poulenc Agro (仏)  Dargoire 研究所  (1998年)	運命-104																
一次速度式	北緯35度(4～6月)																									
25.7時間	7.79日																									
運命-9	水中運命 (水中光分解)  (GLP)	滅菌リン酸 二水素緩衝液  (pH 7, CH <sub>3</sub> CNO.9%含有)	NP標識体 設定濃度： 3.8 μg/l  290～800nm : 720W/m <sup>2</sup> キセノン ランプ、 25±1℃	フェンアミドンの半減期 <table border="1"> <thead> <tr> <th>一次速度式</th> <th>北緯35度(1～6月)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>29.5時間</td> <td>8.96日</td> </tr> </tbody> </table> 照射区において、 が認めら れたが、その生成量は処理放射能に対して10% 以下であった。	一次速度式	北緯35度(1～6月)	29.5時間	8.96日	Rhone- Poulenc Agro (仏)  Dargoire 研究所  (1999年)	運命-110																
一次速度式	北緯35度(1～6月)																									
29.5時間	8.96日																									

試験結果の概要の内、[ ]内のアルファベットは代謝物記号を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物	投与方法 ・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																									
運命-10	水中光分解 運命  (GLP)	自然(河川)水  (pH 8.5, CH <sub>3</sub> CNO. 9%含有)	CP標識体  設定濃度: 3.6 μg/l	フェンアミドンのDT50  <table border="1"> <tr> <td>一次速度式</td> <td>北緯35度(4~6月)</td> </tr> <tr> <td>3.71 日</td> <td>18.8 日</td> </tr> </table> 照射区において、処理放射能に対して10%以上生成した分解物は、次のとおりであった。	一次速度式	北緯35度(4~6月)	3.71 日	18.8 日	Battele AgriFood Ltd. (英)  (2002年)	運命-115																					
一次速度式	北緯35度(4~6月)																														
3.71 日	18.8 日																														
環 - 1	土壌吸着性  (GLP)	4種土壌  ・軽植土  ・壇壤土  ・シルト質壇壤土  ・砂土	非標識 フェンアミ ドン  温度: 25℃  24時間 振とう	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>軽植土</td> <td>壇壤土</td> <td>シルト質 壇壤土</td> <td>砂土</td> </tr> <tr> <td>有機炭素含有率 (OC %)</td> <td>2.97</td> <td>2.13</td> <td>2.25</td> <td>0.96</td> </tr> <tr> <td>吸着指数(1/n)</td> <td>0.984</td> <td>0.971</td> <td>0.924</td> <td>0.990</td> </tr> <tr> <td>土壌吸着係数 (K)</td> <td>24.0</td> <td>6.25</td> <td>6.27</td> <td>2.73</td> </tr> <tr> <td>有機炭素吸着 係数 (Koc')</td> <td>808</td> <td>294</td> <td>279</td> <td>284</td> </tr> </table>		軽植土	壇壤土	シルト質 壇壤土	砂土	有機炭素含有率 (OC %)	2.97	2.13	2.25	0.96	吸着指数(1/n)	0.984	0.971	0.924	0.990	土壌吸着係数 (K)	24.0	6.25	6.27	2.73	有機炭素吸着 係数 (Koc')	808	294	279	284	化学分析 コンサル タント  (2000年)	運命-122
	軽植土	壇壤土	シルト質 壇壤土	砂土																											
有機炭素含有率 (OC %)	2.97	2.13	2.25	0.96																											
吸着指数(1/n)	0.984	0.971	0.924	0.990																											
土壌吸着係数 (K)	24.0	6.25	6.27	2.73																											
有機炭素吸着 係数 (Koc')	808	294	279	284																											
環 - 2	代謝分解物 のキラリテ ィーの検討	生体内運命試験(資料No. 運命-1~ 2, 運命-4~6)、加水分解運命(資料 No. 運命-7)及び水中光分解運命試験 (資料No. 運命-8) から得られた代謝 分解物について、そのキラリティーを 検討した。		検討した代謝分解物は全てS-鏡像体 であった。	Rhone- Poulenc Agri. (英)  (1999年)	運命-125																									
環 - 3	RPA 412636  (RPA 717879 [D]のS鏡像 体)のエー ジ ング土壌に おける  脱着性	国外の土壌 4種類  米国土壌 (シルト質壇土 及び砂土)  英国土壌 (壇壤土及び 壇土)	14C-標識 RPA 412636	有機炭素脱着係数 (Koc des, 各土壌の平均値)  <table border="1"> <tr> <td></td> <td>0 日間</td> <td>3 日間</td> <td>10日間</td> </tr> <tr> <td></td> <td>エージング</td> <td>エージング</td> <td>エージング</td> </tr> <tr> <td>米 国 シルト質壇土 砂土</td> <td rowspan="2">21</td> <td rowspan="2">47</td> <td rowspan="2">73</td> </tr> <tr> <td>英 国 壇土 壇壤土</td> </tr> </table>		0 日間	3 日間	10日間		エージング	エージング	エージング	米 国 シルト質壇土 砂土	21	47	73	英 国 壇土 壇壤土	Rhone- Poulenc Agri. (英)  (1999年)	運命-128												
	0 日間	3 日間	10日間																												
	エージング	エージング	エージング																												
米 国 シルト質壇土 砂土	21	47	73																												
英 国 壇土 壇壤土																															

試験結果の概要の内、[ ]内のアルファベットは代謝物記号を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

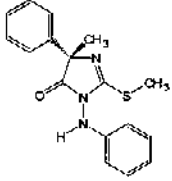
資料 No.	試験の種類	供試動植物	投与方法 ・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
環 - 4	親化合物フェンアミドン及びその分解物の土壌中消失試験	イタリア圃場 フランス圃場 ドイツ圃場 英国圃場	製剤 489 g/ℓ  [1600 g (a. i.)/ha]	作土層以下 (30cm以下) に、フェンアミドン及びその代謝分解物 ( を含む) の鉛直浸透は認められなかった。	Rhone-Poulenc Agro (仏) Dargoire 研究所 (1999年)	運命-133
環 - 5	土壌表面上の光分解	砂壤土	CP標識体  1500 g (a. i.)/ha	光照射区において、処理放射能の10%以上生成した分解物は、  であった。	Rhone-Poulenc Agri. (英) (1999年)	運命-140

#### 試験実施機関

- Rhone-Poulenc Agro Sophia Antipolis 研究所 :  
Rhone-Poulenc Agro Sophia Antipolis 研究所  
355, rue Dostoievski, BP153F-06903 Sophia Antipolis Cedex  
フランス
- Covance Lab. Inc. : Covance Laboratories Inc.  
3301 Kinsman Boulevard  
Madison, Wisconsin  
米国
- RCC : RCC Ltd  
Environmental Chemistry & Pharamanalytics Division  
CH-4452 Itingen  
スイス
- Rhone-Poulenc Agri. (Battele AgriFood Ltd.) : Rhone-Poulenc Agriculture Ongar 研究所  
Fyfield Road, Ongar, Essex, CM5 0HW  
英 国  
(現在の名称は、Battele AgriFood Ltd.)
- Rhone-Poulenc Agro Dargoire 研究所 : Rhone-Poulenc Agro Dargoire 研究所  
14/20, rue Pierre baizet, 69009 Lyon  
フランス

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物一覧表

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	フェンア ミドン (RPA 407213)	(S)-1-アミノ-4-メチル-2-メチルチ オ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物一覧表 (続き)

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及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物一覧表 (続き)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

