

## 2. 代謝物の毒性

(1)

のマウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 31)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年月日：1997年8月18日

検体の純度 : %  
試験動物 : ICR系マウス, 1群雌雄各5匹  
試験開始時 ; 雄5週齢(24~27g)  
雌5週齢(18~22g)  
試験期間 : 14日間観察

### 【試験方法】

#### 検体調製

検体を所定量秤量し、クレモホア EL を加え摩砕後、蒸留水を加えて調製した (クレモホア EL 最終濃度 ; 2%)。

#### 投与方法

投与前日夕方から絶食させたマウスに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 10g あたり 0.2mL とした。

#### 一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 1、3、7、10 日及び 14 日に行った。

#### 剖検

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血致死させた後、剖検した。

## 【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、2500、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	約 5000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：4時間～2日 雌：2時間
症状発現時間及び 消失時間	雄：15分～6時間 雌：15分～6時間
最大無作用量 (mg/kg)	雄：－ 雌：－
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2500 雌：2500

### 一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状としては雄で鎮静や背弯姿勢で、雌でこれらの症状に加えてよろめき歩行、後肢麻痺様状態が観察された。症状は15分後から始まり6時間以内に消失した。

死亡例は雌雄共に5000mg/kg群でみられ、雄の2例が投与4時間と2日後、雌の2例が投与2時間後に死亡した。

体重増加は2500mg/kg群の雄で投与1日後に抑制傾向がみられたが、それ以降は順調な体重増加を示した。その他の群は順調な体重増加を示した。

### 剖検

剖検において、生存動物に検体に起因する所見は認められなかった。

死亡動物には小腸での粘膜赤色調と赤色内容物が観察され、1例に胃粘膜赤色調、2例に胃穿孔とこれに起因すると思われる腹水貯留も認められた。

(2) のラットを用いた亜急性経口毒性試験(4週  
混餌投与試験)

(毒性資料 No. 32)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 1997年7月21日

検体の純度 : %  
試験動物 : ウィスター系ラット、1群雌雄各10匹  
試験開始時 雄 4~5週齢, 体重 99~123g,  
雌 5~6週齢, 体重 86~116g  
試験期間 : 4週間(1996年7月~1996年8月)

【投与方法】

検体を0(対照群)、1000、3000及び10000ppmのとなるように粉末飼料(1%のピーナッツ油添加)に混入し、4週間ラットに投与した。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与用量設定の根拠:

【試験項目及び結果】

1) 臨床症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも1日2回(週末及び休日は1回)観察した。個体別の精査は週1回実施した。

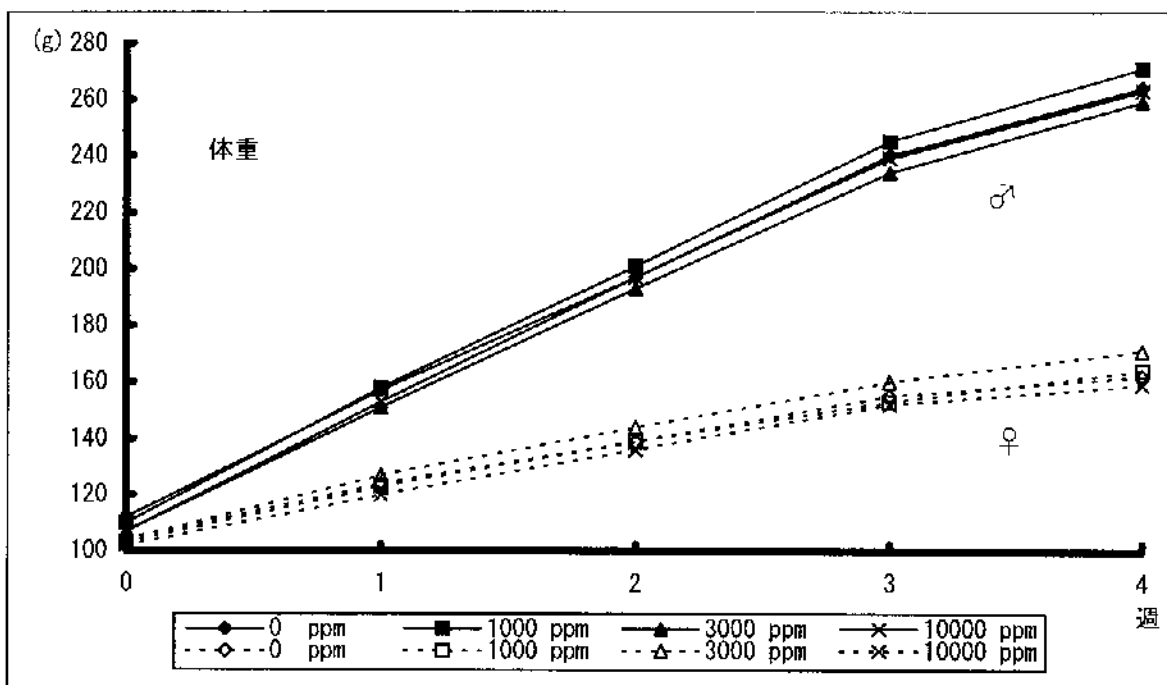
その結果、症状並びに行動に各投与群と対照群に差が認められなかった。

また、各群の雌雄に死亡例は認められなかった。

2) 体重

投与開始前とその後週1回、すべての生存動物の体重を測定した。

全投与群と対照群で体重増加に差は認められなかった。



### 3) 摂餌量及び検体摂取量

全動物の摂餌量を週1回個体毎に測定した。

摂餌量では、各投与群の雌雄共に対照群と同等であった。

検体摂取量を、次の表に示した。

投与用量 (ppm)		1000	3000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	90.6	267.4	932.2
	雌	107.7	303.6	1001.9

### 4) 飲水量

飲水量は、試験開始から観察終了時まで週1回個体毎に測定した。

各投与群の飲水量に、検体投与に起因した変化は認められなかった。

## 5) 臨床検査

血液学的及び血液生化学的検査と尿検査は、全例の動物について試験終了時に実施した。

### 5-1) 血液学的検査

エーテル麻酔下で、非絶食の動物の心臓穿刺により採取した血液を用い、以下の項目について測定又は算定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、トロンボプラスチン時間、網状赤血球数、白血球百分率、赤血球形態

中・低用量群で数項目に散発的な統計的有意差がみられたが、各変化の程度が小さかったことと用量相関性がなかったことから、これらの変動は検体の投与に起因したものとは考えられなかった。

#### 有意差の認められた所見

項目/用量(ppm)	性別			雌		
	1000	3000	10000	1000	3000	10000
ヘマトクリット値		↓92				
ヘモグロビン量					↑104	
MCV		↓93		↓95		
MCHC	↑104	↑105		↑104	↑103	
血小板				↓87		

↑↓: P<0.05    ↑↓: P<0.01 (U検定による)  
表中の数値は、対照群に対する変動率(%)

### 5-2) 生化学的検査

グルコースを除き、エーテル麻酔下で、非絶食の動物の心臓穿刺により採取した血漿を用い、以下の項目について測定又は算定した。グルコースについては、非麻酔、絶食下の動物の尾静脈から血液を採取し、除タンパク処理を行った。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アスパルギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(γ-GT)、アルブミン、蛋白質(総)、ビリルビン(総)、コレステロール、クレアチニン、グルコース、トリグリセリド、尿素、カルシウム、塩素、カリウム、ナトリウム、リン、トリヨードサイロニン(T3)、サイロキシン(T4)、サイロキシン結合能、

3000ppm と 10000ppm 群の雄でグルコース値が有意に増加した。しかし動物毎の個別の数値が 10000ppm 群の 1 例を除いて背景データの範囲内 (2.72 ~ 4.48mmol/L) にあったので、偶発的な変化と考えた。10000ppm 群の雄で ALAT が有意に低下したが、すべての個体値が背景データの範囲内 (26.5 ~ 56.4U/L) にあったので、生物学的な有意性はないと判断した。また、10000ppm 群の雄のナトリウムと雌の塩素がわずかに有意に増加したが、対照群との差が小さかったので、検体による影響とは考えられなかった。

甲状腺ホルモンの測定では T4 は全投与群の雌雄 (10000ppm 群の雌を除く) で、T3 は 1000ppm と 3000ppm 群の雌で有意に増加した。しかし、サイロキシン結合能のような生化学的な指標に影響は認められず、用量相関性もないこと、また病理組織学的な評価の結果からは甲状腺への影響や肝臓での酵素誘導の兆候もみられなかった。従って、この所見はおそらく偶発的なものと考えられた。

有意差の認められた所見

項目/用量 (ppm)	雄			雌		
	1000	3000	10000	1000	3000	10000
ASAT		↓85				
ALAT			↓89		↓82	
ALP					↓86	
トリグリセリド				↓58		
クレアチニン	↓76	↓78		↓87	↓87	
尿素	↓86	↓79				
蛋白質		↓96		↓97		
アルブミン	↓96	↓94				
ナトリウム	↓97		↑101			
塩素						↑101
グルコース		↑109	↑114			
T3				↑123	↑122	
T4	↑122	↑124	↑113	↑141	↑135	

↑ ↓ : P<0.05    ↑ ↓ : P<0.01 (U 検定による)  
 表中の数値は、対照群に対する変動率 (%)

5-3) コリンエステラーゼ (ChE) 活性

血漿、赤血球、脳の ChE 活性を試験終了時に測定した。

いずれの ChE 活性において全投与群の雌雄に阻害は認められなかった。

有意差の認められた項目

項目/用量(ppm)	雄			雌		
	1000	3000	10000	1000	3000	10000
赤血球 ChE		↑141				

↑ : P<0.01 (Welsh 検定)

5-4) 尿検査

尿検査は約 16 時間の蓄尿を用いて、半定量的に pH、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩、蛋白を試験紙を用いて測定し、尿沈渣についても顕微鏡下で調べた。

半定量的測定の結果、検体投与に関連のある変化は認められなかった。

尿沈渣においても、異常所見は認められなかった。

5-5) 眼科学的検査

試験終了時に対照群と 10000ppm 群の全動物について、両眼の瞳孔反射、反射部並びに虹彩と眼底を間接検眼鏡にて、また眼の透過媒体構造部を ZEISS フォトスリットランプで検査した。

全投与群共に、眼に異常所見は認められなかった。

7) 剖 検

投与終了時に全生存動物を剖検した。

検体に関連した異常所見は何ら認められなかった。

8) 臓器重量

検体投与終了時の剖検時、全生存動物の脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、胸腺の臓器重量を測定し、それらの対体重比を算出した。

10000ppm 群では実重量及びその対体重比とも有意な変化はみられなかった。中・低投与群の肝臓でみられた有意な変動は用量相関性がないことから、検体の投与に起因した変化とは考えられなかった。

有意差の認められた項目

項目/用量(ppm)	雄			雌		
	1000	3000	10000	1000	3000	10000
肝臓/対体重比		↓91		↓94	↓94	

↓ : P<0.05 (U 検定による)、表中の数値は、対照群に対する変動率(%)

### 9) 病理組織学的検査

0 及び 10000ppm 群の雌雄の全例について以下の組織の病理組織学的検査を行った。

舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、だ液腺、肝臓、脾臓、膀胱、腎臓、気管、肺、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、乳腺、皮膚、骨格筋、大腿骨、胸骨、脳（大脳、小脳、橋／延髄）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、視神経付き眼球、坐骨神経、下垂体、副腎、甲状腺、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、卵巣、子宮、膣、心臓、大動脈、ハーダー氏腺、眼瞼、腸管残余、尿道、尿管、卵管、喉頭、外耳道腺、外涙腺、耳介、頭及び肉眼的異常部位

また、1000 及び 3000ppm 群では、肝臓、心臓、肺、腎臓、膀胱、甲状腺、食道、気管、副腎及び肉眼的に異常のみられた臓器について調べた。

項目	用量(ppm)	雄				雌			
		0	1000	3000	10000	0	1000	3000	10000
【検査数】		10	10	10	10	10	10	10	10
副腎（皮質）									
空胞化		1	5	5	2	1	0	0	1
肝臓									
肝細胞脂肪化		0	0	0	0	0	2	1	5
クッパー細胞増生		3	2	1	1	2	0	1	2
肺									
炎症		0	0	1	3	0	1	0	1
出血		1	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺									
ろ胞上皮肥大		0	0	0	1	0	0	0	0
円形細胞浸潤		0	0	0	1	0	0	0	0
下垂体									
のう胞		0	-	-	1	0	-	-	0
直腸									
拡張		4	-	-	3	3	-	-	0
腎臓									
うっ血		0	0	1	0	1	0	0	1
炎症		1	1	0	0	0	1	0	0
好塩基性化／尿細管		4	0	4	6	2	1	2	2

\*:P<0.01( $\chi^2$ 検定)

- : 検査せず



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

10000ppm 群の雌で肝細胞の脂肪化が小葉辺縁性にみられたが、臓器重量に変化はなかった。この所見はおそらく検体の投与によるもので、肝臓機能へのわずかな影響と推察された。

以上のことから、本剤のラットに対する亜急性経口毒性試験において、10000ppm 群の雌で肝細胞の脂肪化が軽度のみられた。

従って本試験における無毒性量及び無影響量は、雄では 10000ppm (932mg/kg/日)、雌では 3000ppm (304mg/kg/日) であると判断される。

(3) **のウイスター系ラットを用いた催奇  
形性試験**

(毒性資料 No. 33)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年3月13日

検体の純度 : %  
試験動物 : ウイスター系ラット 1群交尾雌 30匹  
(試験開始時雌体重：185～243g)  
試験期間 : 1996年6月～7月  
投与期間；10日間(妊娠6～15日)

**【試験方法】**

検体を、0.5% Tylose 水溶液に懸濁し、動物に10mL/kgの容量で0(対照群)、1000mg/kgの投与量を、妊娠6日目から15日目までの10日間毎日1回経口投与した。無処理の雄1匹と雌2匹のラットを終夜同居させ、翌朝膣垢中の精子について検査し交尾を確認した。交尾雌を、無作為に対照群と投与群に配分した。交尾を確認した日を妊娠0日とし、妊娠20日目に動物を屠殺し、検査した。

投与用量設定の理由：

**【試験項目】**

妊娠動物について、交配後から屠殺までの間、一般症状を毎日観察した。体重を妊娠0日、6～15日までの毎日及び妊娠20日に測定し、摂餌量を妊娠0～6、6～11、11～16、16～20日に測定した。

屠殺時には、内臓の肉眼的検査、黄体数、着床数、吸収胚数・死亡胎児数、生存胎児数及び胎盤の外観と重量について検査した。

摘出時に、生存胎児については性別、体重、外表奇形を観察し、その後各腹あたり約半数の胎児をブアン液と70%エタノール液にそれぞれ固定した。前者はWILSON法により内臓検査を実施し、後者はアリザリンレッドSで染色後骨格検査に供した。

## 【試験結果】

妊娠動物に検体の投与に起因した臨床所見は、観察されなかった。

妊娠動物の体重増加についても対照群と投与群との間に有意な差は認められなかった。

摂餌量において、投与群で妊娠 6～11 日で対照群よりもわずかに増加がみられたが、既に投与前の妊娠 0～6 日でも増加がみられていたことから、投与による変化とは考えられなかった。

剖検において投与に関連した異常所見は認められなかった。

1000mg/kg 群の妊娠率が対照群よりわずかに低下したが、1 匹の母動物の総吸収胎によるものであった。この所見は本系統のラットに高頻度でみられる現象であることから、偶発的な所見と考えられた。

胎盤の外観で胎盤縁壊死が 1000mg/kg 群でわずかに増加したが、背景データと同等であったので、投与に起因した変化とは考えられなかった。また胎盤重量においても、1000mg/kg 群と対照群で差は認められなかった。

黄体数、着床数、着床前死胚率、吸収胚数、生存胎児数、性比、胎児体重には対照群と投与群の間に有意な差は認められなかった。

生存胎児の外表面検査では奇形は認められなかった。

内臓検査で観察された奇形は 1000mg/kg 群の 1 胎児の小眼球症であったが、低頻度であることと背景データでもみられる型であったことから、検体の投与に起因したものとは考えられなかった。また、腎盂の拡張と精巣未下垂が投与群で対照群よりもわずかに増加したが、背景データ範囲内であったことから、偶発的なものと考えられた(背景データ(平均%); 腎盂の拡張 胎児-16.2～23.2, 母動物-50.0～69.2, 精巣位置異常/未下垂 胎児-1.7～6.6, 母動物-19.2～56.5)。

骨格検査では、上腕骨、肩甲骨、鎖骨、橈骨の形成異常と脊椎奇形が認められたが、その発生頻度は、1000mg/kg 群と対照群で差は認められなかった。またこれらの所見は本系統のラットで通常みられる奇形の型と頻度であったことから、偶発的な変化と考えられた。骨化の程度及び骨格の変異についてのデータを個別の胎児単位で評価すると、尾椎骨、頭蓋骨の骨化不全例の減少(骨化の促進)と中手骨、胸骨、頸椎、上後頭骨の骨化不全の出現が有意であった。母動物単位で評価すると、骨化不全例の減少(骨化の促進)の 2 例(舌骨、側頭骨)が対照群との比較で統計的に有意であった。これらのいずれもが、胎児単位での 2 例を除いて背景データの範囲内にあったことから、毒性学的な

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。

意義がないと考えられた。背景データを越えて有意であった 2 つの所見は 1 つが骨化不全例の減少（骨化の促進）（第 2 中手骨）で、別の 1 つが骨化の不全（第 5 胸骨）であり、それらの頻度は現行の対照群や背景対照データの範囲をわずかに超えるものであったが、同一の化合物が同時期に異なる部位の骨の骨化の促進と遅延を示すことや、単一の骨格のみに影響することはないと考えられた。

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児における無毒性量及び無影響量は、1000mg/kg/日であった。また、本検体に催奇形性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は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		0	1000		
交尾動物数		30	30		
着床動物数		25	23		
生存胎児を有する動物数		25	22		
母動物	全吸収胚雌数		0	1	
	一般症状/死亡				
	体重 d				
	摂餌量(妊娠6~11日) d			↑106	
	剖検所見				
				(a) 22例	(b) 23例
	着床所見	黄体数 ★ d	13.6	14.2	13.6
		着床数 ★ d	11.2	11.3	10.9
		着床前死胚数★ k	2.3	2.9	2.7
		着床後死胚数★ k	0.6	0.6	0.7
		着床後死胚率 <sup>1)</sup> f	5.0	5.6	6.0
		着床後死胚率 <sup>2)</sup> k	4.7	5.2	9.3
		生存胎児数★ d	10.7	10.7	10.2
	雄の割合 k	47.1	45.0		
生存胎児体重(g) d	3.51	3.59			
胎児	胎盤重量(g)		0.58	0.59	
	胎盤縁壊死		14(5)	27(10)	
	骨格検査胎児数		142	122	
	奇形	肢骨の形成異常	2(1)	2(2)	
		脊椎奇形	1		
	変異	側頭骨の骨化遅延	10(6)	0**(0**)	
		舌骨の骨化遅延	23(15)	8*(5*)	
		第2中手骨の骨化不全	0	4*(3)	
		第5胸骨の骨化不全	79(22)	83*(22)	
		第4頸椎の骨化不全	19(10)	7*(6)	
		第2尾椎の骨化不全	114(25)	112**(22)	
		頭蓋骨の骨化不全	51(18)	20**(13)	
	上後頭骨の未骨化域	3(3)	11*(8)		
	内臓検査胎児数		125	113	
奇形	小眼球症		1		
変異	腎盂の軽度拡張	11(7)	17(12)		
	腎盂の拡張	1			
	精巣/位置異常	3(3)	7(6)		

(a) 生存胎児を有する動物数, (b) 生存胎児を有する動物数+全吸収胚動物数  
 1) 各群総数で算出, 2) 各妊娠動物で算出, ★: 1匹の母動物あたり, 空欄: 異常なし, ( ): 母動物数,  
 d: Dunnett(↑: P<0.05), k: Kruskal-Wallis, f: Fisher(\*: P<0.05, \*\*: P<0.01),

(4)

の細菌を用いた復帰突然変異性試験

(毒性資料No.34)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日 : 1997年5月2日

検体の純度 : %

試験系 : 細菌(サルモネラ菌 <TA98、TA100、TA1535、TA1537>  
大腸菌<WP2uvrA>)

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Ames 試験(ブレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌(Salmonella typhimurium)の4株およびトリプトファン要求性の大腸菌(Escherichia coli)の1株を用い、フェノバルビタールと5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9-Mix)の非存在下及び存在下でAmesらの方法により変異原性を検定した。

各濃度とも3プレートを用いた。試験は再現性をみるために2回行った。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の2倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた AF-2<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、9-AA<sup>3)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>4)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro 2-furyl)acrylamide
- 2) : Sodium azide
- 3) : 9-Aminoacridine
- 4) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第1回目)

被験物質: \_\_\_\_\_

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537		
S-9 Mix (-)	DMSO	137	142	14	14	11	13	21	22	6	6	
	溶媒対照	124	(134)	26	(18)	22	(15)	24	(22)	6	(6)	
	313	135	147	12	16	15	23	17	22	5	7	
		151	(144)	16	(15)	20	(19)	23	(21)	9	(6)	
	625	114	131	10	14	17	20	15	19	4	5	
		142	(129)	16	(13)	22	(20)	21	(18)	6	(5)	
	1250	132	135	7	13	8	11	16	20	4	5	
	157	(141)	21	(14)	23	(14)	22	(19)	5	(5)		
2500	120	130	15	17	11	22	18	22	3	4		
	133	(128)	17	(16)	24	(19)	24	(21)	6	(4)		
5000	97	91	7	16	12	15	6	9	2	4		
	104	(97)	21	(15)	16	(14)	11	(9)	5	(4)		
S-9 Mix (+)	DMSO	144	161	8	13	20	22	28	30	11	13	
	溶媒対照	175	(160)	21	(14)	28	(23)	47	(35)	18	(14)	
	313	133	147	11	11	13	20	37	39	11	13	
		164	(148)	15	(12)	23	(19)	44	(40)	12	(11)	
	625	152	165	8	13	19	20	30	32	8	9	
		172	(163)	15	(12)	22	(20)	37	(33)	10	(9)	
	1250	135	146	5	11	12	14	32	32	9	11	
	149	(143)	12	(9)	16	(14)	37	(34)	14	(11)		
2500	141	157	9	12	15	17	38	43	7	10		
	165	(154)	16	(12)	29	(20)	48	(43)	13	(10)		
5000	171	174	14	14	13	20	41	45	8	17		
	178	(174)	16	(15)	22	(18)	52	(46)	17	(14)		
陽 性 対 照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01		NaN <sub>3</sub> 0.5		AF-2 0.01		AF-2 0.1		9-AA 80	
		コロニー数 /プレート	1211	1278	285	309	102	110	349	376	553	570
			1431	(1307)	354	(316)	132	(115)	403	(376)	601	(575)
	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1		2-AA 2		2-AA 10		2-AA 0.5		2-AA 2	
	コロニー数 /プレート	722	726	202	203	928	1002	201	220	143	161	
		767	(738)	235	(213)	1036	(989)	227	(216)	180	(161)	

(数字) : 平均値



表 2. 復帰変異試験成績 (第2回目)

被験物質：\_\_\_\_\_

代謝活性化系の有無	被験物質濃度 (μg/プレート)	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO 溶媒対照	146	153	8	14	14	17	33	33	7	8
		157	(152)	17	(13)	19	(17)	40	(35)	8	(8)
	313	160	161	10	12	12	18	26	33	6	7
		168	(163)	15	(12)	22	(17)	44	(34)	11	(8)
	625	141	152	10	11	15	24	33	33	5	5
		152	(148)	12	(11)	25	(21)	44	(37)	6	(5)
S-9 Mix (+)	DMSO 溶媒対照	177	183	7	9	16	16	47	50	10	11
		190	(183)	17	(11)	17	(16)	56	(51)	11	(11)
	313	183	184	9	13	15	17	50	51	10	14
		209	(192)	18	(13)	17	(16)	59	(53)	16	(13)
	625	176	183	10	15	13	14	53	55	5	11
		187	(182)	21	(15)	16	(14)	71	(60)	14	(10)
S-9 Mix (+)	1250	168	190	9	15	14	19	43	56	8	14
		199	(186)	16	(13)	24	(19)	57	(52)	19	(14)
	2500	184	492	13	14	15	15	48	62	6	9
		208	(195)	14	(14)	18	(16)	68	(59)	14	(10)
	5000	179	196	9	10	11	14	42	53	7	11
		199	(191)	13	(11)	24	(17)	57	(51)	12	(10)
陽性対照	S-9Mixを必要としなもの	名称 (μg/プレート)	AF-2 0.01	NaN <sub>3</sub> 0.5	AF-2 0.01	AF-2 0.1	9-AA 80				
		コロニー数 /プレート	856 925 961 (914)	276 291 294 (287)	115 131 136 (127)	339 466 519 (441)	684 772 798 (751)				
対照	S-9Mixを必要とするもの	名称 (μg/プレート)	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 10	2-AA 0.5	2-AA 2				
		コロニー数 /プレート	787 855 873 (838)	201 209 217 (209)	881 892 944 (906)	206 207 232 (215)	112 112 108 (111)				

(数字) : 平均値

(5) のチャイニーズハムスター由来 V79 細胞  
を用いた in vitro 染色体異常試験

(毒性資料No.35)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日 : 1997 年 2 月 25 日

検体の純度 : %  
試験系 : チャイニーズハムスター由来 V79 細胞  
試験期間 : 4 時間処理後、18 時間(全濃度)及び 30 時間(溶媒対照, 2040, 3060, 4590 $\mu$ g/mL) 培養後観察

**【試験方法】**

継代培養したチャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用い、代謝活性化、非代謝活性化の条件下で染色体異常誘発性を検定した。

投与用量の決定

検体の調製

検体を所定量の DMSO に溶解し、2 種の陽性対照物質はハンクス液に溶解した。

標本の作成

フラスコに牛胎仔血清を含む培地 20ml を入れ、そこに  $1 \times 10^6$  個の V79 細胞を播種した。これを一定時間炭酸ガス恒温器内で培養した。その後培養液を捨て、S9-Mix 非存在下では 20ml の新鮮な培地と 0.2ml の検体液を、S9-Mix 存在下では 19ml の新鮮な培地、1ml の S9-Mix、0.2ml の検体液を加えて 4 時間炭酸ガス恒温器内で処理した。その後さらに新鮮な培地と交換し、18 時間と 30 時間培養した。各培養の終了 2 時間前に中期分裂細胞を集めるためにコルセミドを培養液中に添加した。なお、S9 分画は Aroclor 1254 を投与したラット肝臓から調製したものを用いた。各濃度とも

2連で培養した。

培養終了後、各染色体標本作製した。培養後の細胞を0.56% KCl液で低張処理をした後に、冷エタノール/酢酸混液(3:1)中で固定した。冷却した水に浸したスライドガラス上に固定細胞液を滴下して乾燥後、ギムザ液で染色した。1培養当たり2枚のスライド標本(1枚はバックアップ用で通常評価には使用せず)を作製した。陽性対照では培養18時間後にのみ標本を同様に作製した。陽性対照物質として、S9-Mix非存在下の場合にはマイトマイシンC(0.1 $\mu$ g/mL)、S9-Mix存在下の場合にはシクロホスファミド(2.0 $\mu$ g/mL)を用いた。

### 有糸分裂指数

1培養あたり、1000個の細胞を算定することにより有糸分裂指数を求めた。

### 中期分裂細胞の検査

2連の培養後、原則として1培養あたり2枚のスライド(1枚はバックアップ用で通常評価には使用せず)を作製し、光学顕微鏡を用いてスライドあたり100個の中期分裂細胞の染色体と染色分体についてギャップ、切断、断片、欠失、交換、重複異常などの構造異常を検査した。従って、2連で培養を行っているので各濃度当たり200個の中期分裂細胞の染色体を観察した。また、数的異常についても観察した。

## 【結果】

### 1) 有糸分裂指数

S9-Mix 非存在下では 18 時間の 4590 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (73%) で、S9-Mix 存在下では 30 時間の 3060 $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の濃度で溶媒対照に対して有糸分裂指数の抑制 (71~83%) がみられた。

### 2) 染色体異常

18 時間では検体 5 濃度で、30 時間では検体 3 濃度で標本を作製したが、染色体の観察は 18 時間標本では 2040、3060、4590 $\mu\text{g}/\text{mL}$  群で、30 時間標本では 4590 $\mu\text{g}/\text{mL}$  群で実施した。

検体は S9-Mix の存在下及び非存在下の両者において、すべての処理群でいずれの標本作製時間においても染色体異常を示す中期分裂細胞数の増加を示さなかった。

陽性対照として使用したマイトマイシン C、シクロホスファミドでは染色体異常を示す中期分裂細胞が明らかに増加した。

染色体の数的異常の観察結果から、倍数性の中期細胞数に有意な変化はみられなかった。

以上の結果より、CPT-AA は代謝活性化を含む本試験条件下でチャイニーズハムスター由来 V79 細胞系で染色体異常を誘発しないものと判断される。

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

実験群 濃度 µg/mL	S9- Mix	回収 時間	観察 細胞数	ギャップ		異常の分類										構造異常細胞 <sup>C</sup>		倍数性 細胞			
						染色分体型			染色体型			その他				ギャップ			交換		
				g	ig	b	f	d	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含む	除外				
溶媒対照	-	18	200	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0	11.5	
無処理			200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	11.0
2040			200	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	9.5	
3060			200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.05	0.5	0.0	8.0		
4590			200	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	7.0		
陽性対照 <sup>A</sup>			200	2	0	42	4	0	38	19	3	42	3	1	0	47.0**	46.5**	19.5*	8.5		
溶媒対照			200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0	7.5		
無処理	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	8.0				
2040	+	30	200	0	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1.0	1.0	0.5	6.5		
3060			200	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0	10.0			
4590			200	0	0	3	0	0	1	0	1	3	0	0	3.0	3.0	1.0	10.5			
陽性対照 <sup>B</sup>			200	2	1	9	1	0	32	8	3	12	0	0	0	28.5**	27.0**	6.0**	5.0		
溶媒対照			-	30	200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0	10.0	
4590	200	0			0	1	0	0	2	0	0	3	1	0	2.0	2.0	1.5	11.5			
溶媒対照	+	30	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	12.5			
4590			200	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1.0	1.0	0.5	10.5			

\* : P ≤ 0.01 (Fisher の直接確率法), A : マイトマイシン C (0.1 µg/ml), B : シクロホスファミド (2.0 µg/ml)

処理時間 : 4時間

C : 百分率

g : 染色分体型ギャップ

ig : 染色体型ギャップ

b : 染色分体型切断

ib : 染色体型切断

f : 染色分体型断片

if : 染色体型断片

d : 染色分体型欠失

id : 染色体型欠失

ex : 交換

maE : 交換を含む重複異常

ma : 重複異常

cd : 染色体破損

(6) の細菌を用いた DNA 修復試験  
(毒性資料No.36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 1997年5月13日

検体の純度 : %  
試験系 : 細菌 (枯草菌 (H17 株、M45 株))

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Rec-assay (孢子法)

DNA 損傷の誘起作用を調べるために、*B. subtilis* の野生株である組み換え修復機構保持株 (H17) とその変異株である欠損株 (M45) の孢子を用いた。

両菌株の孢子は、孢子浮遊液として 4℃ で保持しているものを使用した。約 45℃ に保った孢子法用のニュートリエントアガー 1L あたり 10mL の割合で孢子浮遊液を加え、攪拌後シャーレに 10mL ずつ分注し、室温で固化させた。代謝活性化させる場合は、S-9\*0.1mL をシャーレに分注してから孢子法用のニュートリエントアガーをシャーレに 10mL ずつ分注し、冷蔵庫で固化させた。

次に検体あるいは対照物質を含む試料 20μL をしみ込ませたディスク (直径 8mm の円形濾紙) を 1 プレートに 2 枚置き、37℃ の孵卵器で 24 時間培養した。代謝活性化させる場合は、ディスクに補酵素液 20μL、検体あるいは対照物質を含む試料 20μL をしみ込ませ同様な操作を行った。そして、両菌株の生育阻止円の直径を測定し、ディスクの直径を差し引いたものを生育阻止円 (mm) の直径とした。その結果、両菌株の生育阻止円の直径の差が 5mm 以上の場合を陽性と判定した。

---

S-9\*: 7 週齢雄の SD 系ラット肝ホモジネートから得た。誘導物質としてフェノバルビタール及び 5,6-ベンゾフラボンを使用

【結果】

物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	S-9(-)			S-9(+)		
		阻止円 (mm)		差 (mm)	阻止円 (mm)		差 (mm)
		H17	M45		H17	M45	
検体	63	0	0	0	0	0	0
	125	0	0	0	0	0	0
	250	0	0	0	0	0	0
	500	3	3	0	0	0	0
	1000	6	7	1	0	0	0
	2000	12	13	1	6	5	-1
マイトマイシン C (MMC)	0.005	0	14	14			
	0.01	1	18	17			
2-アミノアントラセン (2-AA)	5	0	0	0	0	13	13
	20	0	0	0	0	14	14
硫酸カマイシン (KM)	0.5	9	11	2			
	1.0	12	14	2			
ジメチルスルホキシド <sup>o</sup>	(20 $\mu\text{L}$ )	0	0	0	0	0	0

非代謝活性化試験において 500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ の濃度で、代謝活性化試験において 2000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ の濃度で、両菌株に対し生育阻害が認められたが、両菌株間に明らかな差は認められなかった。

一方、陽性対照物質である MMC(S-9 非存在下)及び 2-AA(S-9 存在下)では H17 株に比べ、M45 株で明らかな生育阻害が認められ、判定は陽性であった。陰性対照物質の KM(S-9 非存在下)では両菌株に対し生育阻害が認められたが、両菌株の差が 5mm 以内であり、陰性であった。

以上の結果より、検体は生育阻害を示すものの、代謝活性化を含む本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有さないものと判断される。

(7) のチャイニーズハムスター由来V79 培養細胞を用いた HPRT を指標にした前進突然変異性試験

(毒性資料No.37)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年6月12日

検体の純度： %

試験系：チャイニーズハムスター由来V79 培養細胞

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

コロニー形成率と突然変異試験

4×10<sup>6</sup>個のV79細胞を2個の培養液中に播種して培養した。接着後(16~24時間後)に、交換した培養液に各濃度の検体を添加して非代謝活性化及び代謝活性化条件で各々5時間暴露した。その後、単層細胞をPBSで洗浄し、トリプシン処理して、細胞浮遊液を作製した。250mLフラスコに1.5×10<sup>6</sup>個の細胞を、また3枚のペトリディッシュにそれぞれ200個の細胞を再播種した。

ペトリディッシュは7日間培養し、コロニー数を算定することにより細胞毒性を判定した。

一方、フラスコに再播種した細胞は細胞増殖と誘発変異株の発現のために、4日と7日に継代した。最初の継代のときに、各用量群および対照群当たり2個の250mLフラスコに1.5×10<sup>6</sup>個の細胞を再播種し、ほぼ7日間培養した。変異株細胞選抜のために100µg/mLの6-チオグアニン(6-TG)を添加したヒポキサンチン無含有培養液のディッシュ(合計8ディッシュ)に3×10<sup>5</sup>個の細胞を播種し、絶対コロニー形成率を求める



ためにディッシュ（3枚のディッシュ）に200個の細胞を培養液に播種した。さらに、37℃、約5%炭酸ガスの条件下、6～7日間培養した後、コロニーを固定し、ギムザ液で染色した。突然変異株選択用ディッシュでは6-TG耐性のコロニー数を、またコロニー形成率測定用ディッシュではコロニー数を計測した。ただし50個以下の細胞から形成されるコロニーは除外した。

## 【結果及び考察】

### 1. コロニー形成率

突然変異試験の溶媒対照群の絶対コロニー形成率は非代謝活性化条件で84.3～106.0%、代謝活性化条件で76.0～121.2%の範囲であった。従ってこの試験におけるコロニー形成状態は良好であった。

### 2. 非代謝活性化条件における突然変異

非代謝活性化条件下で2回の試験を行った。相対コロニー生存率と相対増殖率を指標としたときに、細胞毒性は認められなかった。4000 $\mu$ g/mlで2回の試験から得られた突然変異率は溶媒対照群と比較してわずかに増加した。しかし、この突然変異率は陰性対照群及び溶媒対照群の突然変異率の範囲内にあり、偶発的な変化と考えられた。陽性対照物質のEMSでは2回の試験で明らかな変異原性を誘発した。従って、検体は非代謝活性化条件下で変異原性はないと評価した。

### 3. 代謝活性化条件における突然変異

代謝活性化条件下で2回の試験を行った。その結果、細胞毒性は認められなかった。溶媒対照群と比較して生物学的に意味があり、再現性のある突然変異頻度の増加は認められなかった。2回の試験の結果、試験したいずれの濃度においても突然変異の頻度に統計的有意な増加は認められなかった。陽性対照物質であるDMBAは明らかな変異原性を示した。従って、検体は本試験系の代謝活性化の存在下で変異原性はないと評価した。

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。

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前進変異誘発性を有さないものと判断される。

群	µg/ mL	1回目試験					2回目試験					
		生存 細胞数	相対 増殖 <sup>A</sup>	総変異 株数 <sup>B</sup>	コロニー 形成率 <sup>C</sup>	変異率	生存 細胞数	相対 増殖 <sup>A</sup>	総変異 株数 <sup>B</sup>	コロニー 形成率 <sup>C</sup>	変異率	
非代謝活性化												
陰性対照		175.7 170.0	95.3 87.6	2 11	97.3 90.0	1.0 5.1	225.7 214.7	125.4 79.1	10 1	93.5 95.8	5.9 0.5	
溶媒対照		152.3 160.3	100 100	4 6	99.8 106.0	1.7 2.4	208.3 214.0	100 100	2 2	84.3 103.2	1.1 0.9	
陽性対照 EMS	900	37.0 45.0	20.5 11.6	1586 1417	83.3 91.0	793.0 648.8	49.0 63.0	27.4 33.7	1125 1134	78.8 78.3	793.7 689.4	
検体	125	170.7 146.0	79.6 101.2	5 10	98.3 104.3	2.1 4.0	215.0 205.3	121.9 98.3	2 15	97.8 100.3	1.1 6.2	
		172.0 164.7	97.3 81.8	3 2	93.0 93.0	1.3 0.9	216.3 187.7	94.6 103.9	4 6	121.5 99.3	1.4 2.5	
	500	171.3 155.7	120.2 95.0	4 10	93.2 105.3	1.8 4.0	206.7 215.7	146.2 83.7	5 4	112.3 100.8	1.8 1.9	
		155.3 166.0	88.5 72.3	1 2	87.8 87.5	0.5 1.0	171.0 189.3	118.4 79.1	1 9	97.5 94.5	0.4 4.5	
	2000	187.0 153.7	90.3 72.9	2 1	82.7 81.2	1.0 0.5	212.0 204.7	109.9 93.6	7 4	93.5 95.0	4.2 2.0	
		179.3 188.3	92.0 75.0	6 7	69.2 74.3	3.6 3.9	232.3 213.0	85.9 84.4	5 7	90.5 95.2	2.3 3.5	
	代謝活性化											
	陰性対照		137.7 149.3	72.9 109.7	5 2	114.5 121.5	1.8 0.7	152.0 135.0	62.0 85.5	1 1	87.5 80.3	0.5 0.5
	溶媒対照		172.7 159.0	100 100	5 14	100.8 121.2	2.1 4.8	148.0 139.3	100 100	6 4	91.3 76.0	2.7 2.5
	陽性対照 DMBA	20	116.7 121.7	67.4 98.8	285 371	99.8 110.7	118.9 139.7	101.3 98.7	67.9 67.4	160 129	81.5 70.8	81.8 75.9
	検体	125	153.3 151.3	107.8 144.4	5 15	104.8 111.0	2.0 5.6	157.3 144.7	91.9 78.4	1 2	86.7 68.2	0.5 1.2
			163.7 190.3	94.1 153.3	7 6	99.7 118.7	2.9 2.1	149.0 139.3	103.5 80.9	1 1	82.0 91.0	0.5 0.5
500		162.0 169.0	93.7 113.8	14 6	104.0 124.7	5.6 2.0	159.3 151.0	86.9 105.4	1 2	92.2 77.2	0.5 1.1	
		156.0 167.7	78.7 129.1	13 14	100.7 112.7	5.4 5.2	137.3 122.0	81.6 73.2	1 2	87.8 79.5	0.5 1.0	
2000		177.7 158.0	95.6 138.7	11 15	108.2 133.0	4.2 4.7	145.7 140.0	83.2 90.3	3 1	76.3 78.2	1.6 0.5	
		137.3 154.0	107.8 99.7	12 4	126.0 104.2	4.0 1.6	124.7 130.0	56.3 90.7	2 5	100.5 83.0	0.8 2.5	

A: 溶媒対照に対する百分率      B: 8ディッシュの合計      C: 細胞 200 個あたりのコロニー形成率  
 EMS : エチルメタンサルホネート      DMBA : ジメチルベンズアントラセン

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。

(8)

(毒性資料No.38)

試験機関：

報告書作成年月日：1997年8月6日

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。

(9) **のラットにおける急性経口毒性試験**  
(毒性資料 No. 39)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1996年11月12日

検体の純度 : %  
試験動物 : ウィスター系ラット, 1群雌雄各3匹  
試験開始時 ; 雄 6週齢(182~191g)  
雌 10週齢(166~178g)  
試験期間 : 14日間観察

**【試験方法】**

検体調製

検体を所定量秤量し、クレモホア EL を含む(2%)脱イオン水で調製した。

投与方法

投与前約 16~18 時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 1 mL とした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血致死させた後、剖検した。

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】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	>2500*
死亡開始時間及び 終了時間	雄：－ 雌：－
症状発現時間及び 消失時間	雄：－ 雌：－
最大無作用量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

\*: OECD ガイドラインの新草案(“急性経口毒性－急性毒性分類法” 1995年4月28日付)  
Annex 3

### 一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。  
順調な体重増加が雌雄共にみられた。

### 剖検

剖検において、雌雄共に検体に起因する所見は認められなかった。

(10) のラットを用いた亜急性経口毒性試験（4週強制経口投与試験）

（毒性資料 No. 40）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年3月26日

検体の純度 : %  
試験動物 : ウィスター系ラット、1群雌雄各5匹  
試験開始時平均体重 雄 96g, 雌 97g(4~5週齢)  
試験期間 : 4週間

【投与方法】

検体を0(対照群)、100、300及び1000mg/kgの投与量で4週間にわたって強制経口投与した。

投与用量設定の根拠：

【試験項目及び結果】

1) 臨床症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも1日2回（週末と休日は1回）観察した。

その結果、症状並びに行動に全投与群で対照群と差が認められなかった。

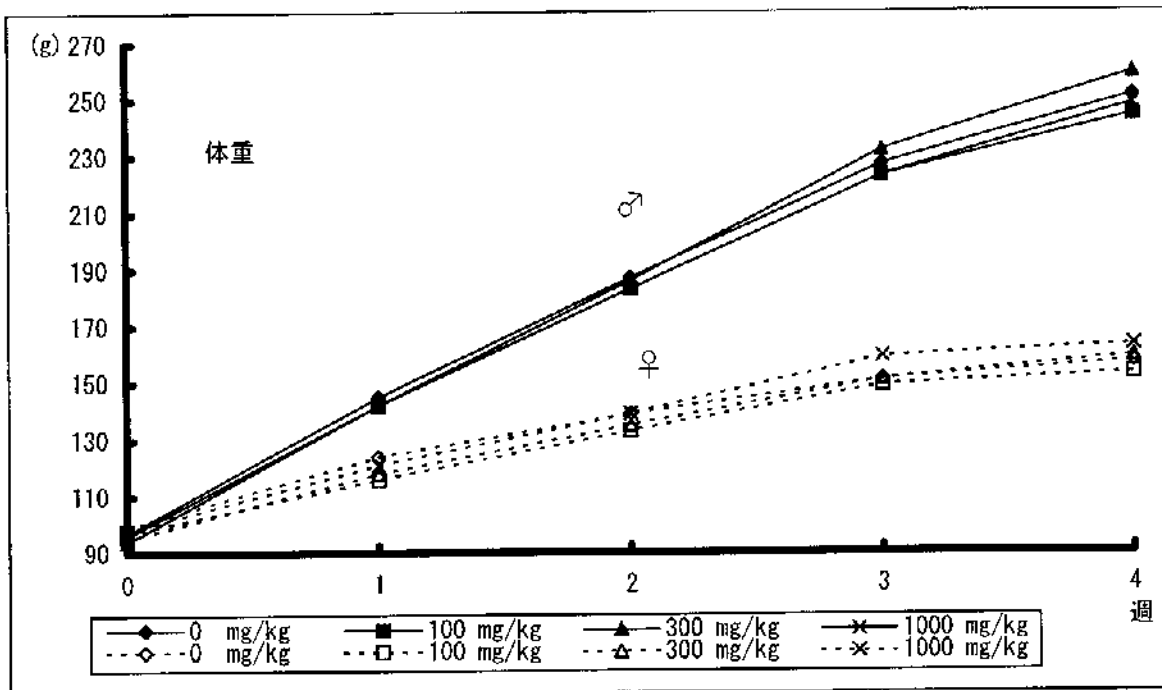
また、全群の雌雄に死亡例は認められなかった。

2) 体重

投与開始前とその後週1回すべての生存動物の体重を測定した。

全投与群と対照群で体重増加に差は認められなかった。





### 3) 摂餌量

全動物の摂餌量を週1回個体毎に測定した。

摂餌量では、全投与群の雌雄は対照群と同等であった。

### 4) 飲水量

飲水量は、試験開始から観察終了時まで週1回個体毎に測定した。

1000mg/kg 群の飲水量は対照群と比較して増加した。これは 1000mg/kg という大量投与のために動物が胃の内容物を希釈しようとしての行動であったと考えられ、毒性学的には重要な所見ではないと推察された。300mg/kg 以下の群の飲水量に変化は認められなかった。

## 5) 臨床検査

血液学的及び血液生化学的検査と尿検査は、全例の動物について試験終了時に実施した。

### 5-1) 血液学的検査

エーテル麻酔下で、非絶食の動物の心臓穿刺により採取した血液を用い、以下の項目について測定又は算定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、血小板数、網状赤血球数、白血球百分率、赤血球形態。

低用量群で2項目に散発的に統計的に有意な変化がみられたが、各変化の程度が小さかったことと用量相関性がなかったことから、検体の投与に起因した変化とは考えられなかった。

#### 有意差の認められた項目

項目/用量(mg/kg)	性別 雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
M C V				↓ 95		
M C H				↓ 95		

↓ : P<0.05 (ANOVA・Dunnet 検定)

表中の数値は、対照群に対する変動率 (%)

### 5-2) 生化学的検査

グルコースを除き、エーテル麻酔下で、非絶食の動物の心臓穿刺により採取した血漿を用い、以下の項目について測定又は算定した。グルコースについては、非麻酔、絶食下の動物の尾静脈から血液を採取し、除タンパク処理を行った

アルカリホスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アスパルギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH) (血清で測定)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(γ-GT)、アルブミン、蛋白質(総)、ビリルビン(総)、コレステロール、クレアチニン、グルコース、トリグリセリド、尿素、カルシウム、塩素、カリウム、ナトリウム、リン

1000mg/kg 群の雌雄で ALAT 活性の上昇が認められた。対照群との差は雄で統計的に有意であったが、すべての個体別値は背景データ範囲内(雄; 26.7~71.6U/L, 雌; 23.1~63.9U/L)にあった。雌では対照群との差が統計的に有意ではなかったが、1 例の個体別値は背景データの範囲よりわずかに高かった。これらの群の肝臓の対体重比が、わずかではあるが増加したことから、検体の影響と考えられた。その他のいくつかのパラメーターに統計的に有意変動が散見されたが、その差が軽微であるかあるいは用量相関性がないことから、毒性に関連した変化ではないと考えられた。

有意差の認められた項目

項目用量 (mg/kg)	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
ASAT	↓81					
ALAT	↓85		↑127			127*
GLDH	↓64					
尿素		↓85				
クレアチニン				↓85	↓82	
蛋白質	↓97					

↑ ↓ : P<0.05    ↑ ↓ : P<0.01 (ANOVA+Dunnet 検定による) , \* : 有意差なし  
 表中の数値は、対照群に対する変動率 (%)

### 5-3) 尿検査

約 16 時間の蓄尿を用いて、尿量、比重は定量的に、pH、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血は試験紙を用いて半定量的に求めた。さらに尿沈渣を顕微鏡的に検査した。

1000mg/kg 群について、雄では尿 pH 値が低下し(対照群;7.0, 1000mg/kg 群;6.1)、雌では尿量が軽度に増加(有意差なし)した。

尿沈渣に、異常所見は認められなかった。

### 5-4) 肝臓の検査

試験終了時に摘出した肝臓で N-デメチラーゼ(N-DEM)、O-デメチラーゼ(O-DEM)、チトクローム P-450(P-450)、トリグリセリドを測定した。

300mg/kg 以上の群の雄の N-DEM 活性の統計的に有意な低下と 1000mg/kg 群の雌の P-450 含量の統計的に有意な低下が示された。この両パラメーターのすべての個体別値は背景データ範囲内(N-DEM/雄; 71.5~211.2ml/g, P-450/雌 20.4~42.0)にあった。従って、これらの変化は検体の投与とは関連はないと考えられた。

有意差の認められた項目

項目/用量(mg/kg)	性別			性別		
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
N-DEM		↓68	↓67			
P-450						↓80

↑↓ : P<0.05    ↑↓ : P<0.01 (U検定による)  
 表中の数値は、対照群に対する変動率 (%)

7) 剖 検

投与終了時に全生存動物を剖検した。

異常所見は何ら認められなかった。

8) 臓器重量

検体投与終了時、全生存動物の脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、精巢の臓器重量を測定し、それらの対体重比についても算出した。

1000mg/kg 群では肝臓の実重量(雌)及び対体重比(雌雄)と雌で腎臓の実重量(雌)が増加した。また 300mg/kg 群の雄の胸腺実重量が増加した。肝重量の増加は、検体の投与に起因した変化と考えられた。

項目/用量(mg/kg)	性別			性別		
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
肝臓/実重量						↑134
対体重比			↑114			↑126
腎臓/実重量						↑115
胸腺/実重量		↑127				

↑↓ : P<0.05    ↑↓ : P<0.01 (Dunnett 検定による)  
 表中の数値は、対照群に対する変動率 (%)

9) 病理組織学的検査

0 及び 1000mg/kg 群の雌雄の全例について以下の組織の病理組織学的検査を行った。

舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、た液腺、肝臓、脾臓、膀胱、腎臓、気管、肺、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、乳腺、皮膚、骨格筋、大腿骨、胸骨、脳（大脳、小脳、橋/延髄）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、視神経、眼球、坐骨神経、下垂体、副腎、甲状腺、精巢、精巢上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮、膣、心臓、大動脈、ハーダー氏腺、頭及び肉眼的異常部位

また、100 及び 300 mg/kg 群では、肝臓、肺、腎臓及び肉眼的に異常のみられた臓器について調べた。

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。

項目	用量(mg/kg)	雄				雌			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
【検査数】		5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓									
壊死		2	0	1	0	1	1	0	1
クッパー細胞増生		3	4	5	1	2	3	1	1
肺									
炎症		0	1	1	1	1	1	0	0
鉄質沈着		0	0	1	0	1	0	1	2
甲状腺									
ろ胞上皮肥大		5	-	-	5	5	-	-	4
肉芽		0	-	-	1	0	-	-	0
ハート腺									
円形細胞浸潤		1	-	-	0	0	-	-	0
副腎									
円形細胞浸潤		0	-	-	0	1	-	-	0
腎臓									
円形細胞浸潤		1	0	0	0	2	3	1	3
好塩基性化/尿細管		1	3	2	3	1	1	1	0

\*:P<0.01( $\chi^2$ 検定;申請者)

:検査せず

投与に起因する病理組織学的な異常所見は何ら認められなかった。

以上のことから、本剤のラットに対する亜急性経口毒性試験において、1000mg/kg 群でアラニンアミノトランスフェラーゼの増加及び肝重量の増加が軽度に見られた。

従って、本試験における無毒性量及び無影響量は、雌雄共に 300mg/kg であると判断される。

(11)

の細菌を用いた復帰突然変異性試験

(毒性資料No.41)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年1月7日

検体の純度： %

試験系：細菌(サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102) )

【試験方法】

Ames 試験(プレート法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌(Salmonella typhimurium)の5株を用い、Aroclor 1254 を屠殺5日前に単回腹腔内投与して酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9-Mix)の非存在下及び存在下でAmesらの方法によるプレート法で変異原性を検定した。各濃度とも3プレートを用いた。

Ames 試験(ブレインキューベーション法)

0.5ml の S9-Mix 又は緩衝液と 0.1ml の菌培養液、0.1ml の検体液を加えて、20 分間 37°C でインキューベーションした後、2ml の軟寒天液を加えて混合し、プレート上に広げた。各濃度とも3プレートを用いた。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の2倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

## 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた NF<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、CUMENE<sup>3)</sup>、4-NPDA<sup>4)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>5)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : nitrofurantoin
- 2) : Sodium azide
- 3) : cumene hydroperoxide
- 4) : 4-nitro-1,2-phenylene diamine
- 5) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第1回目、プレート法)

代謝活性化系の有無	被験物質濃度 (µg/プレート)	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				
		TA 100		TA 13535		TA 102		TA 98		TA 1537		
S-9 MIX (-)	DMSO (溶媒対照)	71 67	66 (68)	8 11	9 (9)	146 167	146 (153)	23 18	18 (20)	7 6	8 (7)	
	75	91 105	90 (95)	10 10	8 (9)	165 189	180 (178)	24 19	29 (24)	8 9	6 (8)	
	150	124 106	119 (116)	8 10	10 (10)	154 162	177 (164)	15 15	25 (24)	6 5	4 (6)	
	300	85 88	68 (80)	17 10	15 (14)	148 153	177 (159)	19 23	23 (22)	5 4	8 (6)	
	600	81 82	81 (81)	7 10	5 (7)	152 161	139 (151)	20 24	22 (22)	4 6	3 (4)	
	1200	93 74	74 (80)	12 11	7 (10)	165 149	149 (154)	13 17	17 (16)	4 2	6 (4)	
	2400	86 78	99 (88)	10 12	11 (11)	105 132	120 (119)	22 22	29 (24)	3 3	6 (4)	
	4800	62 75	63 (67)	15 8	14 (12)	73 68	82 (74)	16 19	13 (16)	2 5	5 (4)	
	S-9 MIX (+)	DMSO (溶媒対照)	90 88	71 (83)	12 8	8 (9)	245 214	264 (241)	24 31	27 (27)	6 6	5 (6)
75		91 96	82 (90)	7 12	7 (9)	237 257	294 (263)	22 23	28 (24)	4 7	7 (6)	
150		91 91	79 (87)	10 6	8 (8)	257 283	228 (256)	20 29	23 (24)	5 8	5 (6)	
300		96 99	102 (99)	7 10	6 (10)	251 240	236 (242)	26 30	34 (30)	4 4	5 (4)	
600		89 94	72 (85)	13 10	12 (12)	218 242	225 (228)	20 20	28 (23)	6 6	2 (5)	
1200		78 88	82 (83)	6 12	8 (9)	212 210	250 (224)	30 27	27 (28)	3 4	9 (5)	
2400		73 74	78 (75)	6 6	7 (6)	180 237	213 (210)	14 15	17 (15)	4 6	3 (4)	
4800		74 62	69 (68)	9 5	10 (8)	136 54	66 (85)	20 16	17 (18)	1 5	1 (2)	
陽性対照		S-9 Mix を必要としたもの	名称	NF		NaN <sub>3</sub>		CUMENE		4-NPDA		4-NPDA
	(µg/プレート)		0.2		10		50		0.5		10	
	S-9 Mix を必要とするもの	コロニー数/プレート	271 242	274 (262)	921 833	817 (857)	379 308	340 (342)	166 173	157 (165)	97 112	86 (98)
		名称	2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		2-AA	
(µg/プレート)	3		3		10		3		3			
コロニー数/プレート	1306 1180	1372 (1306)	126 130	132 (129)	318 310	289 (306)	2045 1997	1861 (1968)	212 151	188 (184)		

(数値) : 平均値



表 2. 復帰変異試験成績 (第2回目、プレインキュベーション法)

代謝活性化系の有無	被験物質濃度 (µg/プレート)	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				
		TA 100		TA 13535		TA 102		TA 98		TA 1537		
S-9 MIX (-)	DMSO (溶媒対照)	84	79	8	7	299	307	20	16	5	5	
		81	(81)	10	(8)	306	(304)	15	(17)	6	(5)	
	75	86	83	9	6	285	307	14	20	3	5	
		70	(80)	6	(7)	253	(282)	20	(18)	5	(4)	
	150	77	80	6	4	272	303	15	13	4	5	
		84	(80)	9	(6)	316	(297)	18	(15)	5	(5)	
	300	86	80	10	9	286	278	15	15	7	5	
		78	(81)	5	(8)	255	(273)	11	(14)	5	(6)	
600	78	87	9	10	227	272	22	9	8	5		
	78	(81)	7	(9)	267	(255)	12	(14)	8	(7)		
1200	71	73	7	10	230	205	14	17	4	4		
	79	(74)	8	(8)	239	(225)	22	(18)	5	(4)		
2400	78	86	10	8	180	186	18	14	3	4		
	93	(86)	8	(9)	180	(182)	13	(15)	4	(4)		
4800	79	73	12	9	73	91	13	11	3	2		
	77	(76)	8	(10)	121	(95)	9	(11)	2	(2)		
S-9 MIX (+)	DMSO (溶媒対照)	93	94	8	9	363	383	25	24	4	5	
		96	(94)	9	(9)	376	(374)	33	(27)	6	(5)	
	75	81	94	11	13	373	400	35	27	4	7	
		89	(88)	11	(12)	437	(403)	23	(28)	5	(5)	
	150	91	80	9	12	390	358	22	26	6	6	
		88	(86)	7	(9)	330	(359)	23	(24)	6	(6)	
	300	94	78	13	16	303	271	19	25	2	5	
		88	(87)	11	(13)	272	(282)	17	(20)	5	(4)	
600	91	112	9	11	336	282	17	26	4	5		
	113	(105)	14	(11)	281	(300)	25	(23)	3	(4)		
1200	90	100	10	16	245	268	28	24	3	5		
	100	(97)	11	(12)	290	(268)	19	(24)	7	(5)		
2400	87	108	6	6	210	217	27	15	2	5		
	89	(95)	8	(7)	249	225	15	(19)	4	(4)		
4800	67	85	9	9	141	(148)	15	18	3	2		
	82	(78)	5	(8)	126	(138)	22	(18)	2	(2)		
陽性対照	S-9 Mix を必要としなもの	名称	NF		NaN <sub>3</sub>		CUMENE		4-NPDA		4-NPDA	
		(µg/プレート)	0.2		10		50		0.5		10	
	コロニー数/プレート	294	297	821	763	760	725	206	220	96	123	
		261	(284)	849	(811)	675	(717)	212	(213)	100	(106)	
S-9 Mix を必要とするもの	名称	2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		
	(µg/プレート)	3		3		10		3		3		
コロニー数/プレート	1128	1056	140	131	588	520	1446	1451	36	26		
	1159	(1114)	129	(133)	546	(551)	1428	(1442)	25	(29)		

(数値) : 平均値

(12)

のマウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 42)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年10月20日

検体の純度 : %  
試験動物 : ICR系雌雄マウス, 1群雌雄各5匹  
試験開始時; 雄5週齢(23~27g)  
雌5週齢(18~22g)  
試験期間 : 14日間観察

【試験方法】

検体調製

検体を所定量秤量し、クレモホア EL を加え摩砕後、蒸留水を加えて調製した (クレモホア EL 最終濃度; 2%)。

投与方法

投与前日夕方から絶食させたマウスに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 10g あたり 0.2ml とした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 1、3、7、10 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血致死させた後、剖検した。

## 【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：0, 1000, 1400, 2000, 2800, 4000 雌：0, 500, 700, 1000, 1400, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄：1570      雌：1460
死亡開始時間及び 終了時間	雄：15分～1日 雌：30分～4日
症状発現時間及び 消失時間	雄：1分～1日 雌：1分～3日
最大無作用量 (mg/kg)	雄：－ 雌：－
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：1000 雌：1000

### 屠

#### 一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状としては雌雄で鎮静や麻酔様症状、呼吸異常がみられ、これらの症状に加えてよろめき歩行が観察された。症状は投与1～2分後から始まり雄では1日後に、雌では1～3日後に消失した。

死亡例は雌雄とも1400mg/kg以上の群にみられ、早い個体では投与後15分にみられ、大多数の死亡は投与後30分から5時間以内にみられた。また1400mg/kg群の雄1例が投与翌日、雌1例が4日後にみられた。

体重は1000、1400mg/kg群の雄で投与1日後に増加抑制がみられた。一方雌では500mg/kgを除く全ての群で投与1日後に体重減少がみられ、1400mg/kg群では3日後でも減少傾向であったが、それ以降は順調な体重増加を示した。

### 剖検

剖検において、生存動物に検体に起因する所見は認められなかった。

死亡動物の剖検では、雄の数例と雌の1例に肺の点状出血痕や赤褐色域を散見し、2800 mg/kgの雄に1例の肝臓の白色線を観察した。これらの所見は低頻度であり、出現頻度に用量相関性がなかったことから、非特異的な変化と考えられた。

(13)

の細菌を用いた復帰突然変異性試験

(毒性資料No.43)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年8月18日

検体の純度 : %

試験系 : 細菌(サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537)  
大腸菌 (WP2uvrA)

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Ames 試験(プレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (Salmonella typhimurium) の 4 株およびトリプトファン要求性の大腸菌 (Escherichia coli) の 1 株を用い、フェノバルビタールと 5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-Mix) の非存在下及び存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

各濃度とも 3 プレートを用いた。試験は再現性をみるために 2 回行った。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の 2 倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。5000 $\mu$ g/プレートですべての菌株で生育阻害がみられた。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた AF-2<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、9-AA<sup>3)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>4)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
- 2) : Sodium azide
- 3) : 9-Aminoacridine
- 4) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第 1 回目)

被験物質:

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537		
S-9 Mix (-)	DMSO 溶媒対照	96	103	7	8	12	14	21	27	6	9	
		118	(106)	12	(9)	23	(16)	27	(25)	15	(10)	
	156	88	94	10	11	14	14	17	19	5	8	
		112	(98)	13	(11)	16	(15)	27	(21)	10	(8)	
	313	98	104	4	6	8	15	19	21	7	10	
		104	(102)	8	(6)	19	(14)	22	(21)	10	(9)	
	625	93	101	6	7	10	15	23	26	5	9	
		105	(100)	8	(7)	22	(16)	31	(27)	12	(9)	
1250	86	90	8	11	12	16	21	24	5	8		
	94	(90)	15	(11)	20	(16)	31	(25)	9	(7)		
2500	95	99	6	7	6	11	19	21	7	9		
	113	(102)	12	(8)	14	(10)	24	(21)	10	(9)		
5000	K0	K0	K0	K0	K1	K5	K0	K0	K0	K0		
	K0	(K0)	K0	(K0)	K13	(K6)	K0	(K0)	K3	(K1)		
S-9 Mix (+)	DMSO 溶媒対照	92	105	8	9	15	19	31	36	6	10	
		111	(103)	11	(9)	21	(18)	36	(34)	12	(9)	
	156	101	107	12	12	15	16	32	34	9	9	
		121	(110)	13	(12)	18	(16)	36	(34)	13	(10)	
	313	86	107	10	11	13	14	35	42	5	7	
		119	(104)	14	(12)	18	(15)	46	(41)	10	(7)	
	625	83	98	11	12	15	16	34	39	6	8	
		108	(96)	13	(12)	20	(17)	41	(38)	9	(8)	
1250	89	98	8	8	12	14	34	34	8	11		
	117	(101)	15	(10)	16	(14)	38	(35)	12	(10)		
2500	99	116	4	8	11	16	31	34	8	8		
	121	(112)	12	(8)	19	(15)	35	(33)	6	(7)		
5000	K15	K74	K2	K3	K5	K9	K4	K7	K0	K0		
	K80	(K56)	K5	(K3)	K10	(K8)	K9	(K7)	K0	(K0)		
陽 性 対 照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01		NaN <sub>3</sub> 0.5		AF-2 0.01		AF-2 0.1		9-AA 80	
		コロニー数 /プレート	628	669	161	163	177	183	352	357	407	552
			719	(672)	168	(164)	193	(184)	366	(358)	552	(504)
対 照	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1		2-AA 2		2-AA 10		2-AA 0.5		2-AA 2	
		コロニー数 /プレート	485	555	123	153	266	291	130	151	98	114
			611	(550)	181	(152)	375	(311)	172	(151)	139	(117)

(数字) : 平均値, K : 生育阻害

表 2. 復帰変異試験成績 (第 2 回目)

被験物質:

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537		
S-9 Mix (-)	DMSO	106	116	12	16	15	22	23	23	6	10	
	溶媒対照	118	(113)	16	(15)	28	(22)	26	(24)	15	(10)	
	156	121	123	7	16	15	15	24	24	5	7	
		133	(126)	19	(14)	19	(16)	31	(26)	10	(7)	
	313	120	130	7	11	18	18	26	27	5	8	
		145	(132)	14	(11)	24	(20)	28	(27)	10	(8)	
	625	132	136	8	11	9	21	19	23	3	7	
		136	(135)	13	(11)	28	(19)	23	(22)	11	(7)	
1250	124	125	5	11	12	13	20	26	5	7		
	127	(125)	12	(9)	19	(15)	28	(25)	8	(7)		
2500	130	133	4	9	10	14	26	26	4	6		
	138	(134)	10	(8)	20	(15)	29	(27)	12	(7)		
5000	K0	K0	K0	K0	K3	K4	K0	K0	K0	K0		
	K0	(K0)	K0	(K0)	K4	(K4)	K0	(K0)	K0	(K0)		
S-9 Mix (+)	DMSO	123	128	4	6	14	18	24	38	3	5	
	溶媒対照	128	(126)	9	(6)	24	(19)	38	(33)	10	(6)	
	156	114	121	9	10	16	19	22	36	6	6	
		125	(120)	11	(10)	24	(20)	48	(35)	12	(8)	
	313	113	133	6	10	16	17	28	41	7	10	
		133	(126)	10	(9)	20	(18)	45	(38)	10	(9)	
	625	82	121	6	7	12	9	26	27	8	10	
		136	(113)	10	(8)	21	(17)	54	(36)	11	(10)	
1250	131	137	8	9	12	14	33	36	3	4		
	153	(140)	9	(9)	23	(16)	41	(37)	9	(5)		
2500	124	140	4	6	12	17	27	33	4	4		
	146	(137)	13	(8)	24	(18)	43	(34)	6	(5)		
5000	K18	K58	K0	K2	K9	K11	K3	K9	K0	K1		
	K61	(K46)	K3	(K2)	K11	(K10)	K19	(K10)	K4	(K2)		
陽 性 対 照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AP-2 0.01		NaN <sub>3</sub> 0.5		AP-2 0.01		AF-2 0.1		9-AA 80	
		コロニー数 /プレート	925	943	233	249	164	166	378	401	576	615
		981	(950)	267	(250)	170	(167)	415	(398)	698	(630)	
	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1		2-AA 2		2-AA 10		2-AA 0.5		2-AA 2	
コロニー数 /プレート		536	644	205	227	343	375	215	225	116	134	
	648	(609)	229	(220)	404	(374)	266	(235)	154	(135)		

(数字) : 平均値, K : 生育阻害

(14) のマウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 44)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年10月20日

検体の純度 : %  
試験動物 : ICR系雌雄マウス, 1群雌雄各5匹  
試験開始時; 雄5週齢(21~28g)  
雌5週齢(19~22g)  
試験期間 : 14日間観察

【試験方法】

検体調製

検体を所定量秤量し、クレモホア EL を加え摩砕後、蒸留水を加えて調製した (クレモホア EL 最終濃度; 2%)。

投与方法

投与前日夕方から絶食させたマウスに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 10g あたり 0.2mL とした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 1、3、7、10 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血致死させた後、剖検した。



## 【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：0, 2500, 5000 雌：0, 2500, 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄：>5000 雌：約 5000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：3時間 雌：4時間～3日
症状発現時間及び 消失時間	雄：20分 雌：20分～1日
最大無作用量 (mg/kg)	雄：2500 雌：—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2500 雌：2500

### 一般症状の観察及び体重の測定

雄では 5000mg/kg 群の 1 例の死亡個体に、また雌では 5000mg/kg の 2 例と、2500mg/kg 群の 1 例に中毒症状が認められた。中毒症状は、20 分後から始まり、雄では鎮静と呼吸異常、雌ではこれらの症状に加えて閉眼とチアノーゼが観察された。症状は生存した例では 1 日後に消失した。

死亡例は雌雄とも 5000mg/kg 群でみられ、雄の 1 例が投与後 3 時間、雌の 2 例が投与後 4 時間と 3 日にそれぞれみられた。このうち 5000mg/kg 群の雌 1 匹は投与 3 日後に中毒症状を呈することなく死亡した。

平均体重は順調な増加を示した。5000 mg/kg 群で 3 日後に死亡した雌 1 例の 3 日後の体重は同群の生存動物よりも低値であった。

### 剖検

剖検において、生存動物に検体に起因する所見は認められなかった。

死亡動物には胃粘膜及び小腸の粘膜灰白色化が観察され、雌において胃粘膜びらんも観察された。これらの所見から検体の粘膜刺激性が示唆された。

投与 3 日後に死亡した 5000mg/kg 群の雌の 1 匹は胃粘膜びらんに加え肺の暗赤色域、胆のうの膨満がみられたが、死因との関連は明らかではなかった。

(15) の細菌を用いた復帰突然変異性試験

(毒性資料No.45)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年10月20日

検体の純度 : %  
試験系 : 細菌(サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537)  
大腸菌 (WP2uvrA) )

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Ames 試験(プレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の4株及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) の1株を用い、フェノバルビタールと5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9-Mix)の非存在下及び存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

各濃度とも3プレートを用いた。試験は再現性をみるために2回行った。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の2倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた AF-2<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、9-AA<sup>3)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>4)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
- 2) : Sodium azide
- 3) : 9-Aminoacridine
- 4) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第1回目)

被験物質:

代謝活性化系の有無	被験物質濃度 (μg/プレート)	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537		
S-9 Mix (-)	DMSO	126	135	11	12	13	21	15	26	4	5	
	溶媒対照	149	(137)	15	(13)	22	(19)	29	(23)	8	(6)	
	313	114	130	9	10	14	16	16	24	3	6	
		135	(126)	11	(10)	17	(16)	32	(24)	9	(6)	
	625	126	140	9	9	16	17	24	24	4	7	
		157	(141)	11	(10)	23	(19)	28	(25)	7	(6)	
	1250	141	146	8	9	14	17	22	22	7	9	
	148	(145)	13	(10)	17	(16)	26	(23)	9	(8)		
2500	139	145	8	12	14	18	21	25	5	5		
	150	(145)	14	(11)	19	(17)	28	(25)	14	(8)		
5000	137	142	9	15	10	11	20	24	5	5		
	167	(149)	17	(14)	16	(12)	27	(24)	7	(6)		
S-9 Mix (+)	DMSO	145	150	9	10	19	23	38	39	8	11	
	溶媒対照	166	(154)	11	(10)	24	(22)	43	(40)	16	(12)	
	313	126	131	7	10	16	18	43	44	8	9	
		146	(134)	10	(9)	18	(17)	52	(46)	15	(11)	
	625	140	163	12	13	13	13	39	42	5	13	
		166	(156)	13	(13)	24	(17)	54	(45)	13	(10)	
	1250	143	163	12	12	19	25	42	53	9	12	
	179	(162)	12	(12)	26	(23)	55	(50)	14	(12)		
2500	168	179	9	10	18	21	42	44	13	14		
	180	(176)	10	(10)	22	(20)	53	(46)	16	(14)		
5000	152	164	10	11	20	20	47	48	7	8		
	165	(160)	13	(11)	22	(21)	49	(48)	16	(10)		
陽性対照	S-9Mixを必要とするもの	名称 (μg/プレート)	AF-2 0.01		NaN <sub>3</sub> 0.5		AF-2 0.01		AF-2 0.1		9-AA 80	
		コロニー数/プレート	1232	1325	262	270	178	187	441	454	629	653
			1373	(1310)	283	(272)	191	(185)	475	(457)	730	(671)
対照	S-9Mixを必要とするもの	名称 (μg/プレート)	2-AA 1		2-AA 2		2-AA 10		2-AA 0.5		2-AA 2	
		コロニー数/プレート	833	836	252	272	516	565	227	227	151	193
			861	(843)	350	(291)	574	(552)	245	(233)	203	(182)

(数字) : 平均値

表 2. 復帰変異試験成績 (第 2 回目)

被験物質:

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO	126	136	8	9	11	16	14	16	6	6
	溶媒対照	146	(136)	11	(9)	19	(15)	19	(16)	8	(7)
	313	135	136	11	11	11	18	17	19	7	7
		136	(136)	14	(12)	18	(16)	24	(20)	9	(8)
	625	128	136	8	8	16	17	18	19	6	8
		148	(137)	10	(9)	20	(18)	22	(20)	9	(8)
	1250	129	129	10	11	8	14	12	20	4	4
		138	(132)	16	(12)	21	(14)	27	(20)	6	(5)
	2500	127	141	8	12	11	11	18	22	4	5
		159	(142)	15	(12)	12	(11)	23	(21)	7	(5)
	5000	133	144	15	17	7	13	23	23	5	6
		147	(141)	19	(17)	14	(11)	25	(24)	8	(6)
S-9 Mix (+)	DMSO	118	140	9	12	16	18	26	32	6	9
	溶媒対照	155	(138)	14	(12)	25	(20)	36	(31)	12	(9)
	313	120	140	10	13	14	17	36	41	6	7
		157	(135)	14	(12)	19	(17)	46	(41)	9	(7)
	625	143	144	6	10	15	17	34	41	4	6
		151	(146)	19	(12)	20	(17)	44	(40)	12	(7)
	1250	148	152	11	11	11	16	31	39	5	8
		152	(151)	15	(12)	22	(16)	48	(39)	11	(8)
	2500	149	159	8	10	11	18	30	46	8	11
		165	(158)	11	(10)	19	(16)	50	(42)	17	(12)
	5000	131	155	8	10	15	18	48	48	7	7
		160	(149)	16	(11)	28	(20)	50	(49)	7	(7)
陽性 対照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01	NaN <sub>3</sub> 0.5	AF-2 0.01	AF-2 0.1	9-AA 80				
	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 10	2-AA 0.5	2-AA 2				
		コロニー数 /プレート	1111 1167 1187 (1155)	234 261 303 (266)	192 204 206 (201)	382 474 492 (449)	408 410 416 (411)				
		コロニー数 /プレート	579 789 847 (738)	207 237 247 (230)	576 659 716 (650)	224 226 226 (225)	131 156 167 (151)				

(数字) : 平均値

(16) の細菌を用いた復帰突然変異性試験  
(毒性資料No.46)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日 : 1997年10月20日

検体の純度 : %  
試験系 : 細菌(サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537)  
大腸菌 (WP2uvrA) )

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Ames 試験(ブレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*)の4株およびトリプトファン要求性の*Escherichia coli*の1株を用い、フェノバルビタールと5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9-Mix)の非存在下及び存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

各濃度とも3プレートを用いた。試験は再現性をみるために2回行った。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の2倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。非代謝活性化で 2500 $\mu$ g/プレート以上で、代謝活性化で 1250  $\mu$ g/プレートですべての菌株で生育阻害がみられた。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた AF-2<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、9-AA<sup>3)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>4)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
- 2) : Sodium azide
- 3) : 9-Aminoacridine
- 4) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第1回目)

被験物質:

代謝活性化系の有無	被験物質濃度 (µg/プレート)	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537		
S-9 Mix (-)	DMSO	122	123	8	9	35	37	19	20	4	8	
	溶媒対照	146	(130)	11	(9)	38	(37)	38	(26)	9	(7)	
	313	142	142	11	11	35	46	20	21	6	7	
		158	(147)	14	(12)	47	(43)	23	(21)	9	(7)	
	625	124	135	8	10	43	50	23	24	5	6	
		140	(133)	11	(10)	51	(48)	26	(24)	7	(6)	
	1250	108	136	7	13	17	24	17	22	6	7	
154		(133)	14	(11)	29	(23)	23	(21)	7	(7)		
2500	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0		
	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)		
5000	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0		
	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)		
S-9 Mix (+)	DMSO	116	141	11	11	50	64	34	38	4	9	
	溶媒対照	159	(139)	12	(11)	80	(65)	49	(40)	19	(11)	
	156	123	137	9	13	90	98	37	42	9	9	
		139	(133)	16	(13)	115	(101)	44	(41)	13	(10)	
	313	116	135	11	12	84	86	32	34	8	11	
		147	(133)	15	(13)	91	(87)	41	(36)	13	(11)	
	625	134	141	9	10	81	103	23	26	6	7	
147		(141)	10	(10)	113	(99)	34	(28)	11	(8)		
1250	K0	K0	K8	K4	K37	K42	K25	K26	K7	K10		
	K0	(K0)	K11	(K8)	K76	(K52)	K33	(K28)	K12	(K10)		
2500	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0		
	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)		
陽性対照	S-9Mixを必要とするもの	名称 (µg/プレート)	AF-2 0.01		NaN <sub>3</sub> 0.5		AF-2 0.01		AF-2 0.1		9-AA 80	
		コロニー数/プレート	1198	1214	298	361	98	99	415	439	465	490
	S-9Mixを必要とするもの	名称 (µg/プレート)	2-AA 1		2-AA 2		2-AA 10		2-AA 0.5		2-AA 2	
		コロニー数/プレート	921	1027	225	244	660	698	229	248	148	150
			1329	(1092)	259	(243)	765	(708)	256	(244)	198	(165)

(数字) : 平均値, K : 生育阻害



表 2. 復帰変異試験成績 (第 2 回目)

被験物質:

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO	125	141	11	11	14	17	21	26	8	9
	溶媒対照	150	(139)	14	(12)	21	(17)	28	(25)	15	(11)
	156	118	119	8	8	17	19	20	23	6	11
		123	(120)	9	(8)	19	(18)	28	(24)	12	(10)
	313	122	126	9	9	12	18	17	33	6	7
		131	(126)	13	(10)	18	(16)	34	(28)	12	(8)
	625	106	126	12	14	14	16	22	25	5	8
133		(122)	18	(15)	19	(16)	27	(25)	12	(8)	
1250	105	112	9	10	12	15	20	25	5	10	
	135	(117)	12	(10)	16	(14)	26	(24)	12	(9)	
2500	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	K0	
	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	K0	(K0)	
S-9 Mix (+)	DMSO	111	118	9	12	17	21	36	38	8	12
	溶媒対照	125	(118)	16	(12)	23	(20)	40	(38)	13	(11)
	78	126	129	9	10	18	19	30	38	10	10
		137	(131)	10	(10)	20	(19)	40	(36)	14	(11)
	156	117	138	7	9	17	19	31	35	8	9
		139	(131)	15	(10)	22	(19)	45	(37)	15	(11)
	313	113	116	10	11	18	20	31	33	10	11
124		(118)	13	(11)	25	(21)	47	(37)	11	(11)	
625	123	126	10	11	15	19	36	39	8	9	
	133	(127)	13	(11)	20	(18)	47	(41)	12	(10)	
1250	K100	K108	K5	K5	K14	K14	K17	K27	K4	K6	
	K133	(K114)	K8	(K6)	K16	(K15)	K33	(K26)	K10	(K7)	
陽 性 対 照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01	NaN <sub>3</sub> 0.5	AF-2 0.01	AF-2 0.1	9-AA 80				
		コロニー数 /プレート	795 851	802 (861)	161 199	174 (178)	158 171	169 (166)	398 459	421 (426)	622 634
対 照	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 10	2-AA 0.5	2-AA 2				
		コロニー数 /プレート	657 855	756 (756)	215 337	228 (260)	579 601	589 (590)	177 215	204 (199)	118 144

(数字) : 平均値, K : 生育阻害

(17)

の細菌を用いた復帰突然変異性試験

(毒性資料No.47)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997年11月18日

検体の純度 : %  
試験系 : 細菌(サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537)  
大腸菌 (WP2uvrA) )

### 【試験方法】

#### 試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

#### Ames 試験(プレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の 4 株およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) の 1 株を用い、フェノバルビタールと 5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-Mix) の非存在下及び存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

各濃度とも 3 プレートを用いた。試験は再現性をみるために 2 回行った。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の 2 倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。非代謝活性化条件下 TA98、TA1537 の 2 菌株においてのみ 5000 $\mu$ g/プレートで生育阻害がみられた。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた AF-2<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、9-AA<sup>3)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>4)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
- 2) : Sodium azide
- 3) : 9-Aminoacridine
- 4) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第1回目)

被験物質:

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO 溶媒対照	125	129	10	13	16	24	22	22	6	7
		162	(139)	15	(13)	29	(23)	24	(23)	7	(7)
	313	114	119	7	11	16	18	18	21	4	5
		121	(118)	15	(11)	20	(18)	24	(21)	8	(6)
	625	67	77	6	10	20	22	17	20	5	7
		97	(80)	12	(9)	24	(22)	21	(19)	7	(6)
	1250	79	101	6	11	20	22	21	22	5	9
	105	(95)	12	(10)	23	(22)	29	(24)	12	(9)	
2500	88	98	7	9	19	23	22	23	6	6	
	98	(95)	9	(8)	23	(22)	24	(23)	9	(7)	
5000	60	76	2	5	15	16	K2	K3	K0	K0	
	92	(76)	10	(6)	18	(16)	K22	(K9)	K4	(K1)	
S-9 Mix (+)	DMSO 溶媒対照	107	128	7	11	21	23	25	25	4	5
		130	(122)	15	(11)	25	(23)	28	(26)	11	(7)
	313	77	107	5	9	21	22	21	23	5	8
		110	(98)	11	(8)	24	(22)	24	(23)	12	(8)
	625	72	74	5	6	20	20	24	27	6	9
		91	(79)	9	(7)	26	(22)	31	(27)	14	(10)
	1250	78	84	4	9	20	21	22	22	4	5
	86	(83)	15	(9)	26	(22)	27	(24)	7	(5)	
2500	91	110	10	15	18	20	21	24	8	8	
	124	(108)	16	(14)	25	(21)	27	(24)	10	(9)	
5000	86	87	7	8	18	20	13	14	4	6	
	96	(90)	11	(9)	23	(20)	20	(16)	7	(6)	
陽 性 対 照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01	$\text{NaN}_3$ 0.5	AF-2 0.01	AF-2 0.1	9-AA 80				
		コロニー数 /プレート	1052 1055 1087 (1065)	103 107 137 (116)	180 185 189 (185)	336 408 418 (387)	229 291 392 (304)				
対 照	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 10	2-AA 0.5	2-AA 2				
		コロニー数 /プレート	929 983 1021 (978)	206 228 218 (217)	150 159 155 (155)	224 243 249 (239)	112 115 116 (114)				

(数字) : 平均値, K : 生育阻害

表 2. 復帰変異試験成績 (第2回目)

被験物質:

代謝活性化の有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO	141	160	11	14	14	17	20	22	4	7
	溶媒対照	170	(157)	15	(13)	21	(17)	27	(23)	8	(6)
	313	129	137	9	12	12	19	20	23	5	5
		143	(136)	16	(12)	22	(18)	26	(23)	6	(5)
	625	68	109	7	10	10	12	16	17	6	8
		118	(98)	12	(10)	15	(12)	24	(19)	8	(7)
	1250	105	118	11	12	16	21	25	29	8	8
119		(114)	16	(13)	25	(22)	30	(28)	10	(9)	
2500	117	120	7	7	10	15	17	20	4	6	
	135	(124)	8	(7)	19	(15)	30	(22)	14	(8)	
5000	72	86	6	8	9	15	K0	K10	K4	K4	
	110	(89)	8	(7)	19	(14)	K25	(K12)	K6	(K5)	
S-9 Mix (+)	DMSO	131	131	15	17	19	21	42	42	9	14
	溶媒対照	152	(138)	17	(16)	31	(24)	45	(43)	15	(13)
	313	121	125	12	14	17	19	37	46	10	12
		126	(124)	18	(15)	25	(20)	49	(44)	16	(13)
	625	110	116	14	14	24	24	39	44	5	12
		125	(117)	17	(15)	33	(27)	45	(43)	16	(11)
	1250	96	123	12	15	20	23	34	39	13	13
124		(114)	19	(15)	30	(24)	40	(38)	13	(13)	
2500	90	100	10	13	23	25	37	37	13	14	
	111	(100)	16	(13)	26	(25)	40	(38)	17	(15)	
5000	85	92	7	12	14	16	10	17	7	8	
	95	(91)	13	(11)	23	(18)	21	(16)	17	(11)	
陽性対照	S-9Mixを必要とするもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01	NaN <sub>3</sub> 0.5	AF-2 0.01	AF-2 0.1	9-AA 80				
	コロニー数/プレート	1137	1226	239	261	172	191	321	326	197	274
		1254	(1206)	264	(255)	198	(187)	329	(325)	279	(250)
対照	S-9Mixを必要とするもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 10	2-AA 0.5	2-AA 2				
	コロニー数/プレート	859	896	266	302	113	159	209	237	125	130
		897	(884)	383	(317)	168	(147)	241	(229)	178	(144)

(数字) : 平均値, K : 生育阻害

(18)

の細菌を用いた DNA 修復試験

(毒性資料No.48)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997 年 11 月 27 日

検体の純度 : %

試験系 : 細菌 (枯草菌 (H17 株、M45 株))

【試験方法】

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Rec-assay (孢子法)

DNA 損傷の誘起作用を調べるために、*B. subtilis* の野生株である組み換え修復機構保持株 (H17) とその変異株である欠損株 (M45) の孢子を用いた。

両菌株の孢子は、孢子浮遊液として 4℃ で保持しているものを使用した。約 45℃ に保った孢子法用のニュートリエントアガー 1L あたり 10mL の割合で孢子浮遊液を加え、攪拌後シャーレに 10mL ずつ分注し、室温で固化させた。代謝活性化させる場合は、S-9\*0.1mL をシャーレに分注してから孢子法用のニュートリエントアガーをシャーレに 10mL ずつ分注し、冷蔵庫で固化させた。

次に検体あるいは対照物質を含む試料 20μL をしみ込ませたディスク (直径 8mm の円形濾紙) を 1 プレートに 2 枚置き、37℃ の孵卵器で 24 時間培養した。代謝活性化させる場合は、ディスクに補酵素液 20μL、検体あるいは対照物質を含む試料 20μL をしみ込ませ同様な操作を行った。そして、両菌株の生育阻止円の直径を測定し、ディスクの直径を差し引いたものを生育阻止円 (mm) の直径とした。その結果、両菌株の生育阻止円の直径の差が 5mm 以上の場合を陽性と判定した。

---

S-9\* : 7 週齢雄の SD 系ラット肝ホモジネートから得た。誘導物質としてフェノバルビタール及び 5, 6-ベンゾフラボンを使用

【結果】

物質	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	S-9(-)			S-9(+)		
		阻止円 (mm)		差 (mm)	阻止円 (mm)		差 (mm)
		H17	M45		H17	M45	
検体	63	0	0	0	0	0	0
	125	0	0	0	0	0	0
	250	0	0	0	0	0	0
	500	7	9	2	5	7	2
	1000	14	16	2	11	12	1
マイトマイシン C (MMC)	0.005	0	11	11			
	0.01	1	17	17			
2-アミノアントラセン (2-AA)	5	0	0	0	0	11	11
	20	0	0	0	0	12	12
硫酸カナマイシン (KM)	0.5	9	12	3			
	1.0	11	13	2			
ジメチルスルホキシド*	(20 $\mu\text{L}$ )	0	0	0	0	0	0

代謝活性化の有無にかかわらず、500、1000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ の濃度で、両菌株に対し生育阻害が認められたが、両菌株間に明らかな差は認められなかった。

一方、陽性対照物質である MMC(S 9 非存在下) 及び 2 AA(S 9 存在下) では H17 株に比べ、M45 株で明らかな生育阻害が認められ、判定は陽性であった。陰性対照物質の KM(S-9 非存在下) では両菌株に対し生育阻害が認められたが、両菌株の差が 5mm 以内であり、陰性であった。

以上の結果より、検体は抗菌作用を示すものの、代謝活性化を含む本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有さないものと判断される。

(19) のマウスにおける急性経口毒性試験  
(毒性資料 No. 49)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年月日：1998年3月20日

検体の純度 : %  
試験動物 : ICR系雌雄マウス, 1群雌雄各5匹  
試験開始時; 雄5週齢(23~27g)  
雌5週齢(18~22g)  
試験期間 : 14日間観察

**【試験方法】**

検体調製

検体を所定量秤量し、クレモホア EL を加え摩砕後、蒸留水を加えて調製した（クレモホア EL 最終濃度；2%）。

投与方法

投与前日夕方から絶食させたマウスに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 10g あたり 0.1mL とした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 1、3、7、10 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物をエーテル麻酔下で放血致死させた後、剖検した。



## 【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0, 100, 140, 200, 280, 400
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	220
死亡開始時間及び 終了時間	雄：2分～3時間 雌：2分～2日
症状発現時間及び 消失時間	雄：1分～4日 雌：1分～4日
最大無作用量 (mg/kg)	雄：— 雌：—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：100 雌：100

### 一般症状の観察及び体重の測定

投与後の観察においては四肢の緊張、痙攣様苦悶、呼吸異常などの中毒症状が全投与群に認められた。発症は早く、1分～数分後にはじまり、約1時間にわたって症状が強くみられた。生存動物の症状回復は雌雄共比較的早く、数例を除いて投与数時間後には殆んど消失した。

また死亡は、雌雄共 140mg/kg 以上の投与でみられ、早い個体で2分で生じ大多数は投与後、数分から4時間までに認められた。

生存例での平均体重の推移においては雌雄各投与群共、順調な体重増加を示し、症状の早い回復を反映していた。

### 剖検

生存例における14日間の観察終了後の剖検において雌雄共に被験物質投与に起因したと考えられる肉眼的異常所見はみられなかった。

しかし、死亡例においては胃の出血斑、灰白色変化および充血などが認められ、消化管粘膜に対する刺激性が示唆された。

(20) の細菌を用いた復帰突然変異性試験  
(毒性資料No.50)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1998年3月20日

検体の純度 : %  
試験系 : 細菌(サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537)  
大腸菌 (WP2uvrA) )

**【試験方法】**

試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

Ames 試験(プレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の 4 株およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) の 1 株を用い、フェノバルビタールと 5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導したラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9-Mix) の非存在下及び存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

各濃度とも 3 プレートを用いた。試験は再現性をみるために 2 回行った。

各菌株及び各濃度毎の平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の平均復帰コロニー数の 2 倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を変異原性陽性と判定した。

### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験とも代謝活性化の有無にかかわらず、どの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性のある増加は認められなかった。5000 $\mu$ g/プレートで生育阻害は認められなかったが、復帰変異コロニー数の減少傾向がみられた。

一方、2 回の試験とも、陽性対照として用いた AF-2<sup>1)</sup>、NaN<sub>3</sub><sup>2)</sup>、9-AA<sup>3)</sup>では溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められ、また、2-AA<sup>4)</sup>は S-9 Mix を加えることにより代謝活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

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を有さないものと判断される。

- 1) : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
- 2) : Sodium azide
- 3) : 9-Aminoacridine
- 4) : 2-Aminoanthracene

表 1. 復帰変異試験成績 (第 1 回目)

被験物質:

代謝活性化系の有無	被験物質濃度 (µg/プレート)	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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO (溶媒対照)	140	158	8	12	11	15	17	23	5	6
		163	(154)	13	(11)	15	(14)	24	(21)	11	(7)
	156	153	155	8	12	12	13	19	24	8	8
		165	(158)	13	(11)	19	(15)	28	(24)	11	(9)
	313	148	158	6	7	14	15	19	20	3	6
		170	(159)	9	(7)	19	(16)	25	(21)	10	(6)
	625	145	146	6	7	12	14	16	20	5	6
		162	(151)	14	(9)	14	(13)	27	(21)	8	(6)
1250	170	179	7	10	8	13	18	21	4	5	
	184	(178)	12	(10)	16	(12)	21	(20)	9	(6)	
2500	156	174	6	8	18	18	14	14	3	5	
	182	(171)	12	(9)	19	(18)	20	(16)	12	(7)	
5000	109	125	3	4	8	9	8	8	3	5	
	130	(121)	4	(4)	14	(10)	12	(9)	7	(5)	
S-9 Mix (+)	DMSO (溶媒対照)	158	166	14	15	14	15	37	40	6	12
		170	(165)	18	(16)	17	(15)	51	(43)	14	(11)
	156	171	173	9	12	18	19	35	43	5	10
		182	(175)	18	(13)	19	(19)	50	(43)	11	(9)
	313	165	173	12	13	14	15	31	37	5	6
		181	(173)	15	(13)	15	(15)	45	(38)	7	(6)
	625	164	173	9	9	12	17	40	41	2	5
		171	(170)	11	(10)	24	(18)	44	(42)	6	(4)
1250	157	170	11	14	9	19	40	45	6	9	
	175	(167)	14	(13)	21	(16)	54	(46)	14	(10)	
2500	153	174	7	12	12	17	28	32	4	6	
	182	(170)	15	(11)	17	(15)	45	(35)	8	(6)	
5000	140	140	4	6	9	10	28	28	6	6	
	143	(141)	9	(6)	11	(10)	31	(29)	14	(9)	
陽性対照	S-9 Mix を必要としないもの	名称	AF-2	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA				
	(µg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80					
陽性対照	S-9 Mix を必要とするもの	コロニー数/プレート	904 928	168 187	171 183	371 392	350 360				
			942 (925)	198 (184)	184 (179)	412 (392)	385 (365)				
陽性対照	S-9 Mix を必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA				
	(µg/プレート)	1	2	10	0.5	2					
陽性対照	S-9 Mix を必要とするもの	コロニー数/プレート	659 670	147 163	613 664	243 251	118 122				
			731 (687)	164 (158)	742 (673)	268 (254)	131 (124)				

(数値) : 平均値

表 2. 復帰変異試験成績 (第2回目)

被験物質:

代謝活性 化系の 有無	被験物質濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異数(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		WP2uvrA		TA98		TA1537	
S-9 Mix (-)	DMSO	142	147	9	11	8	15	16	23	7	8
	溶媒対照	152	(147)	14	(11)	22	(15)	25	(21)	10	(8)
	156	138	141	10	10	10	15	18	20	7	8
		170	(150)	12	(11)	17	(14)	27	(22)	14	(10)
	313	143	147	7	11	16	16	19	20	7	10
		151	(147)	11	(10)	16	(16)	26	(22)	10	(9)
	625	122	136	9	11	12	14	20	22	6	8
		174	(144)	13	(11)	17	(14)	24	(22)	8	(7)
1250	150	162	11	11	11	11	19	23	4	13	
	165	(159)	12	(11)	14	(12)	24	(22)	13	(10)	
2500	131	142	7	10	12	13	22	23	7	8	
	157	(143)	10	(9)	15	(13)	24	(23)	8	(8)	
5000	105	117	3	4	5	5	4	5	2	4	
	151	(124)	4	(4)	11	(7)	7	(5)	5	(4)	
S-9 Mix (+)	DMSO	168	178	9	14	14	15	35	37	9	9
	溶媒対照	182	(176)	15	(13)	19	(16)	39	(37)	12	(10)
	156	157	165	11	12	16	18	38	42	7	7
		185	(169)	14	(12)	20	(18)	44	(41)	11	(8)
	313	175	177	7	11	12	14	33	36	7	10
		189	(180)	14	(11)	17	(14)	38	(36)	11	(9)
	625	166	169	11	11	15	16	37	39	8	8
		181	(172)	16	(13)	17	(16)	39	(38)	14	(10)
1250	166	174	9	14	16	18	32	35	6	8	
	185	(175)	15	(13)	22	(19)	37	(35)	12	(9)	
2500	140	149	9	12	10	18	36	37	7	10	
	154	(148)	13	(11)	25	(18)	40	(38)	14	(10)	
5000	99	104	6	6	10	13	21	25	3	6	
	114	(106)	8	(7)	16	(13)	29	(25)	8	(6)	
陽 性 対 照	S-9Mix を必要 としな いもの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	AF-2 0.01	NaN <sub>3</sub> 0.5	AF 2 0.01	AF-2 0.1	9-AA 80				
		コロニー数 /プレート	754 822 831 (802)	174 177 194 (182)	153 162 174 (163)	394 403 433 (410)	335 350 382 (356)				
	S-9Mix を必要 とする もの	名称 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 10	2-AA 0.5	2-AA 2				
		コロニー数 /プレート	708 709 723 (713)	151 174 185 (170)	864 903 957 (911)	251 253 285 (263)	117 121 134 (124)				

(数値) : 平均値

### 3. 製剤の毒性

#### (1) ダブルスター 1 キロ粒剤

##### ダブルスター 1 キロ粒剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1997 年

有効成分の含有量 : ピラゾスルフロンエチル 0.30%  
フェントラザミド 3.0%

試験動物 : Crj:CD(SD)系 SPF ラット、1 群雌雄各 5 匹  
試験開始時： 7 週齢 (雄 217~236g、雌 165~175g)

試験期間 : 14 日間観察

試験方法：

##### 検体調製

検体を所定量秤量、乳鉢で摩砕しつつ蒸留水を加えて混和させた。

##### 投与方法

投与前日の夕方より絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 2mL とした。

##### 一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 1、2、3、7、10 日及び 14 日に行った。

##### 剖検

観察終了時に全生存動物をエーテル麻酔下で放血致死させた後剖検した。

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：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄：0、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄：>2000mg/kg
死亡開始時間及び終了時間	雌雄：－
症状発現時間及び消失時間	雌雄：－
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄：5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄：5000

#### 一般症状の観察及び体重の測定

本検体による中毒症状はいずれの投与群においても認められなかった。死亡例も認められなかった。

検体に起因すると考えられる体重増加抑制は認められなかった。

#### 剖検

試験終了時に剖検した結果、肉眼的異常所見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。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雌雄： —
症状発現時間及び 消失時間	雌雄： —
最大無作用量 (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

#### 一般症状の観察及び体重の測定

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

#### 剖検

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

## ダブルスター 1 キロ粒剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1997 年

有効成分の含有量 : ピラゾスルフロンエチル 0.30%  
フェントラザミド 3.0%

試験動物 : 日本白色種雌ウサギ, 1 群 6 匹, 試験開始時; 15 週齢 (2.45~2.73kg)

試験期間 : 3 日間観察

試験方法 : 粉碎した検体 0.5g を 0.5ml の注射用水で湿らせ、刈毛した動物の背部左側の皮膚 (2.5cm×2.5cm) に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は注射用水で湿らせた脱脂綿を用いて清拭した。なお、背部左側には注射用水のみを適用し対照とした。

観察項目 : 皮膚刺激性の観察は、検体除去後 1、24、48 及び 72 時間に紅斑、痂皮および浮腫について行い、皮膚の反応の評価法 (Draize 法) に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用終了直後ならびに 1、4、5 時間後、その後は 1 日 1 回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

評価 : 刺激性の評価は皮膚一次刺激指数 (P. I. I.) を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後 1、24、48 及び 72 時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を 4 で割り、個体別の値を求め、更に供試したウサギの 3 匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0 より大きく 2 未満	軽度刺激物
2 以上 5 未満	中等度刺激物
5 以上	強度刺激物

結果 :

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

表 1 に示す様に、検体除去 1、24、48 および 72 時間後の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。従って皮膚一次刺激性指数は 0 であった。なお、無処置部位には皮膚反

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。

応はみられなかった。

表 1：刺激性変化の採点

動物 番号	項目	最高 採点	Draize による評価点 (平均値)				P. I. I. #
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
1101	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	
1102	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	
1103	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	
1104	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	
1105	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	
1106	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	
合計	紅斑/痂皮	24	0	0	0	0	0
	浮腫形成	24	0	0	0	0	
平均	紅斑/痂皮	4	0	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0	

# P. I. I. : 皮膚一次刺激性指数=全評価時点の紅斑/痂皮+浮腫スコアの平均

以上のことから、検体はウサギの皮膚に対し「無刺激物」と評価された。



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

洗眼群では、適用後 1 時間の観察において全例の結膜に発赤、浮腫および分泌物、1/3 例に角膜混濁が認められ、MTS は 9.67 であった。適用後 24 時間では全例で角膜混濁が認められ、結膜発赤も認められた。また、1/3 例に虹彩の異常も観察され MTS は 14.67 であった。反応は適用後 4 日には全て消失し、MMTS は適用後 24 時間の 14.67 であった。眼のその他の変化として適用直後（洗眼直後）から 1 時間の間に閉眼が観察された。

以上のことから、検体はウサギの眼に対し「中等度の刺激性」があるものと評価された。

また、洗眼の効果が認められた。

表 1. 眼一次刺激性試験成績

項 目			最高 評点	投 与 後 時 間							
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	6日	
非 洗 眼 群	動物 番号 1101	角膜混濁	程 度	4	1	1	1	1	1	0	0
			面 積	4	1	2	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	1	0	0	0	0	0
		結 膜	発 赤	3	1	2	1	0	0	0	0
			浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0
	分泌物		3	2	2	0	0	0	0	0	
	ITS <sup>#</sup>			110	13	25	7	5	5	0	0
	動物番 号 1102	角膜混濁	程 度	4	1	1	1	1	1	0	0
			面 積	4	1	1	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	1	1	0	0	0	0
結 膜		発 赤	3	1	2	2	1	1	0	0	
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
	分泌物	3	2	1	1	0	0	0	0		
ITS <sup>#</sup>			110	13	18	16	7	7	0	0	
動物番 号 1103	角膜混濁	程 度	4	1	1	1	1	0	0	0	
		面 積	4	1	2	1	1	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	1	0	0	0	
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
分泌物		3	2	0	0	0	0	0	0		
ITS <sup>#</sup>			110	13	14	9	5	0	0	0	
動物 番号 1104	角膜混濁	程 度	4	1	1	1	1	0	0	0	
		面 積	4	2	2	1	1	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	0	0	0	0	
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
分泌物		3	2	2	1	0	0	0	0		
ITS <sup>#</sup>			110	18	18	9	5	0	0	0	
動物番 号 1105	角膜混濁	程 度	4	0	1	1	1	1	0	0	
		面 積	4	0	2	1	1	1	0	0	
	虹 彩		2	0	1	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	1	2	1	1	1	1	0	
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
分泌物		3	2	1	1	0	0	0	0		
ITS <sup>#</sup>			110	8	23	9	7	7	2	0	
動物番 号 1106	角膜混濁	程 度	4	1	1	1	0	0	0	0	
		面 積	4	1	2	1	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	0	0	0	0	
		浮 腫	4	1	0	0	0	0	0	0	
分泌物		3	2	0	0	0	0	0	0		
ITS <sup>#</sup>			110	13	12	7	0	0	0	0	
平均	MTS <sup>##</sup>		110	13.00	18.33	9.17	4.83	3.17	0.33	0	
洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程 度	4	0.33	1	0.33	0.33	0	0	0	
		面 積	4	0.33	1.67	0.33	0.33	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0.33	0	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	1	1.33	0.67	0	0	0	0	
		浮 腫	4	1	0.67	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	0.33	0	0	0	0	0	
	MTS <sup>##</sup>			110	9.67	14.67	3.00	1.67	0	0	0

# : ITS : Individual total score = 角膜混濁程度×面積×5+虹彩×5+(発赤+浮腫+分泌物)×2 (個体毎)

## : MTS : Mean total score = ITSの群平均

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。

ダブルスター1キログラム剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)  
(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1997 年

有効成分の含有量 : ピラゾスルフロンエチル 0.30%  
フェントラザミド 3.0%

試験動物 : ハートレー系雌モルモット、1群 20 匹 (非感作群は 1 群 10 匹)、  
試験開始時 ; 6 週齢 (300~380g)

試験期間 : 30 日間

試験方法 : [Buehler 法]

試験濃度設定の理由 ; 予備試験において、検体を微粉碎後注射用水に 5, 10, 25 および 50% (w/v) の濃度で懸濁し、3 匹の動物に 6 時間暴露させた。何れの濃度においても刺激反応は認められなかったため、調製可能な最大濃度である、50% (w/v) を感作および惹起濃度とした。

感作及び惹起処置 ; 感作開始前日左側胴部を刈毛し、翌日に、微粉碎後注射用水で 50% (w/v) に懸濁した感作試料 0.2mL を 6 時間ずつ 7 日間隔で 3 回閉塞貼付した。非感作群には注射用水 0.2ml を適用した。最終感作の 13 日後に全動物の右側胴部を毛刈りし、その翌日 (最終感作 14 日後)、微粉碎後注射用水で 50% (w/v) に懸濁した惹起試料 0.2mL を 6 時間貼付した。各貼付処理終了時には注射用水で投与部位を清拭した。

観察項目 : 紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後 24 及び 48 時間に紅斑および浮腫について行い、以下の評価表 (Magnusson & Kiligman の基準) に従って判定した。

皮膚反応の評価法

肉眼的変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日 (0 日)、感作終了日 (14 日)、惹起日 (28 日) 及び観察終了日 (30 日) に全動物について行った。

評価 : 皮膚反応の程度を個体別に点数化し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と無感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

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

結果 :

[一般観察] 一般状態および体重に関して、検体の影響と思われる異常は認められなかった。

[感作性] 各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率 (%)
				貼付除去後 24時間				貼付除去後 48時間				24時間	48時間		
				皮膚反応評点											
				0	1	2	3	0	1	2	3				
感作	25	25	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
非感作	0	25	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。



## IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

### <代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
1	動物における 動態と代謝	ラット 48~72時間	①経口投与  ・ 1.5mg/kg ②経口投与  ・ 1.5mg/kg ・ 非標識 1.5mg/kg 14日間+ 標識 1.5mg/kg ・ 75mg/kg ③十二指腸内投与  ・ 1.5mg/kg	呼吸 排泄	呼吸 ( <sup>14</sup> C O <sub>2</sub> 、揮発性物質) への排泄率: 0.003%		代 -17
				吸収 分布 排泄 ②、③	・ 吸収率: >97% 胆汁: 41.3% 尿: 62.1% 動物残体: 0.007% ・ 薬物動態パラメーター P <sub>max</sub> =0.109~0.713 T <sub>max</sub> =30~70分 T <sub>1/2</sub> =10~41時間 ・ 排泄 -経口投与 糞: 雄 11~55% 雌 12~49% 尿: 雄 41~84% 雌 49~94% -十二指腸内投与(雄) 胆汁: 41.3% 糞: 2.2% 尿: 62.1%		
				組織 残留 ②	臓器・組織中(15種類)の消長 及び残留量(胃腸管を除く) 48時間後: (µg/g) 雄: 0.0002~0.9848 雌: 0.0001~1.099 肝臓で高い濃度を示した。		
				代謝 ②	主成分 糞: 親化合物(約1%) 尿: [II]: 13~45% [X]: 23~64% 少量成分 III ( [I] ) < 1% IX ( ) < 1%		
		ラット 1、4、8、24、 72時間	④経口投与  ・ 1.5mg/kg	全身オ ートラ ジオグ ラフィ ー	ほとんどの臓器・組織で放射 能を検出、胃腸管で特に高濃 度に分布。臓器・組織の中で 肝臓、腎臓で高い濃度を検出。 放射能は速やかに消失。蓄積性 を示す標的臓器はなかった。		

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。

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
2	動物における 動態と代謝	ラット 48~72 時間	<p style="text-align: center;"><u>標識</u></p> <p>①経口投与</p> <p style="text-align: center;">・ 1.5mg/kg</p> <hr/> <p>②経口投与</p> <p style="text-align: center;">・ 1.5mg/kg</p> <p style="text-align: center;">・ 75mg/kg</p>	<p>呼気 排泄</p> <hr/> <p>吸収 分布 排泄 ②</p> <hr/> <p>組織 残留 ②</p> <hr/> <p>代謝 ②</p>	<p>呼気 (<sup>14</sup>C O<sub>2</sub>、揮発性物質) への排泄率：0.034%</p> <hr/> <p>・ <u>薬物動態パラメーター</u>                      Pmax=0.14~0.78                      Tmax=70~180 分                      T1/2=16~37 時間</p> <p>・ <u>排泄</u>                      -経口投与                      糞：雄 18~55%雌 13%                      尿：雄 41~71%雌 76%</p> <hr/> <p>臓器・組織中(15 種類)の消長 及び残留量(胃腸管を除く) 48~72 時間後：(µg/g)                      雄：0.0091~7.1975                      雌：0.0124~1.1628                      肝臓で高い濃度を示した。</p> <hr/> <p><u>主成分</u>                      糞：親化合物 &lt; 1% (低投与量群)                      尿：[XII]：30~44%                      [XI]：8~18%                      [XIV]：4~13%</p> <p><u>少量成分</u> &lt; 3%                      [XV]                      [XVI]                      [XVIII]                      [XIX]                      [XXI]                      [XXII]</p>	(1997 年)	代 -37

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 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処用量	試 験 項 目	試験結果の概要 (投与量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
3	動物における 動態と代謝	ラット 標識 30、60、180分 標 識 60、120、 360分	① _____ 標識 ② _____ 標識  ①経口投与 ・ 1.5mg/kg  ②経口投与 ・ 1.5mg/kg	臓器中 残留         代謝	臓器中残留濃度 ①最高濃度 (μg/g) : 60分 血漿 : 0.99 肝臓 : 0.96 腎臓 : 4.30 ②最高濃度 (μg/g) : 120分 血漿 : 0.80 肝臓 : 3.43 最高濃度 (μg/g) : 60分 腎臓 : 2.43  ①代謝物 (30、60、180分) 血漿 [II] : 47、30、28 [X] : 47、54、52 肝臓 [II] : 5、5、4 [X] : 72、63、67 [VIII] : 4、5、4 腎臓 [II] : 54、36、36 [X] : 43、57、56 ②代謝物 (60、120、360分) 血漿 [XI] : 1、1、3 [XII] : 4、5、4 [XIV] : 21、10、3 肝臓 [XI] : 4、3、5 [XII] : 18、11、5 [XIV] : 6、5、2 腎臓 [XI] : 15、14、28 [XII] : 23、17、9 [XIV] : 14、13、4	(1997年)	代 -51
3-1	動物における 動態と代謝	ラット 1時間	経口投与	赤血球 中残留	残留濃度 [I] 0.026ppm [II] 3.37ppm [XI] 0.032ppm [XIV] 0.83ppm [XII] 0.14ppm	(2000年)	代 -57

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	供試動物 期間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (回収量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
4	亜急性代謝	ラット 72時間	標識 標識 非標識体 [ I ] 50ppm/13週間 6400ppm/13週間 50ppm/3日間 6400ppm/3日間 次いで標識体を 1.5mg/kgで1回投 与	吸収 分布 代謝 排泄	吸収・血中動態 標識 T <sub>max</sub> : 20~60分 P <sub>max</sub> : 0.276~0.754 標識 T <sub>max</sub> : 40~90分 P <sub>max</sub> : 0.138~0.353 消長長い 排泄 50ppm群 糞: 77~86% 尿: 14~22% 6400ppm群 糞: 60~72% 尿: 28~38% 放射能残留 屠殺時の動物残体中の放射能 標識 ; 0.1~0.2% 標識 ; 0.8~ 1.8%	(1998年)	代 -60
					尿中の生成量 (mg/動物/日)		
					化合物	試験群 3 50ppm/13週	試験群 4 6400ppm/13週
					[I]	- <sup>1)</sup>	-
					[XIV]	0.104	6.773
					[XI]	0.084	4.303
					[XII]	0.191	18.247
					[XXII]	0.030	3.426
					[XIX]	0.014	0.398
1) [I]の生成量が検出限界以下のため算出せず。							

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は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 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (植物試験は回収量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
5	植物における移行性、分布、代謝	稲 ①59日 ②132日	標識 0.266kg a. i. /ha 水面施用	吸収 移行          分布 代謝	吸収移行量(処理量に対する割合%)： ①青刈り(59日) 17.33%(0.937ppm) ②稲わら(132日) 21.66%(2.380ppm) ②玄米(132日) 0.03%(0.048ppm)  親化合物[I]は青刈り、稲わら、玄米において検出されなかった。 主成分： ①青刈り ; 3.16% [V]; 6.16% [VI]; 50.28% [VII]; 14.05% ②稲わら [VI]; 43.02% [VII]; 14.92% ②玄米 [II]/[IV]; 3.62% [VI]; 48.42% アミノ酸; 16.52% デンプン; 11.64% タンパク質; 4.88%	(1997年)	代 -75
6	植物における移行性、分布、代謝	稲 ①59日 ②131日	標識 0.266kg a. i. /ha 水面施用	吸収 移行	吸収移行量(処理量に対する割合%)： ①青刈り(59日) 4.54%(0.164ppm) ②稲わら(131日) 4.72%(0.624ppm) ②玄米(131日) 0.06%(0.040ppm)	(1997年)	代 -84
続く							

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 期	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (植物試験は回収量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
6 継続	植物における移行性、分布、代謝	稲 ①59日 ②131日	標識 0.266kg a. i. /ha 水面施用	分布 代謝	親化合物[I]は青刈り、稲わら、玄米において検出されなかった。 主成分： ①青刈り [XI]; 10.4% [XII] (異性体3種); 25.6% [XIV]; 3.0% [XXIV]; 10.1% ②稲わら [XI]; 17.0% [XII] (異性体3種); 26.5% [XIV]; 3.6% [XXIV]; 7.5% ③玄米 [XI]; 1.7% [XII] (異性体2種); 2.4% [XIV]; 0.5% [XXIV]; 1.4% ; 42.8%		代 -84

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 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (処理量に対する割合%)	試験機関 (報告年)	記載 頁
7	土壌代謝 (水田条件 下)	水田土壌 2種類  火山灰土壌 (日植防協 会、茨城県 牛久)  沖積土壌 (日植防協 会、茨城県 竜ヶ崎)	標識 標識 添加濃度： a) 15 µg ai/50g 乾上 (0.3 kg ai/ha 相当) b) 150 µg ai/50g 乾上 (3 kg ai/ha 相当)  (推奨施用量は 0.3 kg ai/ha)	代謝	①バイオマス：試験期間中の低 下はなし ②半減期：10～19 日 ③総放射能分布割合(%)：  CO <sub>2</sub> ： 0日後 ND ND 16日後 1-2 4-5 105日後 12-16 33-43  表層水： 0日後 3-4 3 16日後 12-24 2-5 105日後 12-27 <1  上層抽出物： 0日後 84-85 83-87 16日後 61-71 57-68 105日後 36-53 18-30  未抽出物： 0日後 9-11 7-13 16日後 10-13 21-29 105日後 18-21 29-35	(1997 年)	代 -94

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 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (処理量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載 頁
7 継続	土壌代謝 (水田条件下)	水田土壌 2種類 火山灰土壌 (日植防協会、茨城県牛久) 沖積土壌 (日植防協会、茨城県竜ヶ崎)	標識 標識 添加濃度： a) 15 µg ai/50g 乾土 (0.3 kg ai/ha 相当) b) 150 µg ai/50g 乾土 (3 kg ai/ha 相当) (推奨施用量は 0.3 kg ai/ha)	代謝	④代謝(%)： 表層水： [I] 0日後 2.1-2.7 0.4-0.5 ND 16日後 0.2-0.7 10.9-20.0 ND 105日後 ND 10.2-23.5 0.8-1.7  [I] 0日後 3.1-3.3 <0.1 16日後 0.4-0.5 0.3-1.0 105日後 ND 0.1  土壌抽出物： [I] 0日後 76.4-79.8 ND-1.4 ND 16日後 42.3-51.1 10.3-16.2 ND 105日後 10.7-16.9 8.0-15.4 8.9-12.2  [I] 0日後 80.4-84.3 ND 16日後 39.6-48.0 5.8-9.2 105日後 19.3-12.0 2.3-5.0  結合性残留物： 抽出効率(105日後)：  火山灰：9% 沖積：10% 主成分：  水田土壌系全体： [I] 0日後 78.5-82.5 0.5-1.7 ND 16日後 43.0-51.3 27.1-30.3 ND 105日後 10.7-16.9 25.6-31.5 10.6-13.1  [I] 0日後 83.7-87.4 0.1 16日後 39.9-48.5 6.8-9.5 105日後 19.3-12.1 2.3-5.4		代 -94
8	土壌吸着	水田土壌 4種類 24時間	標識 添加濃度： 0.009、0.041、 0.185、0.91mg/L	吸着 係数 Kd、Koc	OECDガイドライン OC% = 1.22 ~ 3.18 Kd = 12.2 ~ 40.8 Koc = 500 ~ 3344 Koc = 相関がとれず	(1997年)	代 -108



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 期 間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (処理量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載 頁
9	水中光分解 (純水)	①暗条件 ②光照射 人工光源 (キルファ) 22日間連続 照射	標識 標識 添加濃度 0.6mg/L	光分解	半減期： ①暗条件 標識；46日 標識；46日 ②連続光照射条件： 標識；14日 標識；17日 野外環境下外挿： 標識；62日 標識；75日 分解物(22日)： 標識 [I] ; 37.4% [II] ; 11.3% CO <sub>2</sub> ; 13.4% 標識 [I] ; 42.0% [XI] ; 12.1% [XXIII] ; 7.5% [XXV] ; 5.0% [XXVI] ; 4.3% CO <sub>2</sub> ; 1.8%	(1997年)	代 -110
	水中光分解 (河川水)	①暗条件 ②光照射 人工光源 (キルファ) 22日間連続 照射	標識 標識 添加濃度 0.6mg/L	光分解	半減期： ①暗条件： 標識；64日 標識；49日 ②連続光照射条件： 標識；13日 標識；11日 野外環境下： 標識；55日 標識；46日 分解物： 標識、22日後 [I] ; 28.2% [II] ; 18.0% CO <sub>2</sub> ; 9.5% 標識、22日後 [I] ; 25.9% [XI] ; 12.4% [XXIII] ; 9.7% [XXV] ; 5.8% [XXVI] ; 4.7% CO <sub>2</sub> ; 1.7%		

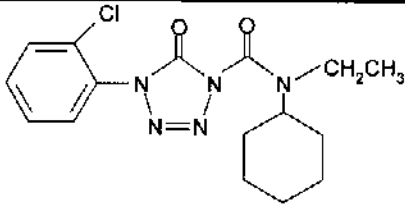
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 <sup>14</sup> C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (処理量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁												
10	加水分解	pH4、7、9 (緩衝液) 25°C、40°C 35日	標識 標識 0.6mg/L	加水分解	OECDガイドライン 物質収支： (25°C) pH4；97-101%、pH7；94-104%、pH9；92-99% (40°C) pH4；96-101%、pH7；95-108%、pH9；81-99% 半減期 (日)： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <tr> <td></td> <td>25°C</td> <td>40°C</td> </tr> <tr> <td>pH4</td> <td>319</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>pH7</td> <td>501</td> <td>36</td> </tr> <tr> <td>pH9</td> <td>69</td> <td>9</td> </tr> </table> 分解物： [II]と[XI]が主分解物 25°C、pH9、35日間、標識の場合 [I]；62.6% [II]；29.9% 25°C、pH9、35日間、標識の場合 [I]；72.0% [XI]；23.5%		25°C	40°C	pH4	319	35	pH7	501	36	pH9	69	9	(1997年)	代-119
	25°C	40°C																	
pH4	319	35																	
pH7	501	36																	
pH9	69	9																	
11	次作物 残留	小麦、ほうれんそう、にんじんを栽培  最終処理後 317～384日	稲 (水田) への処理 2%粒剤 [I] 及び3% 粒剤 [I] (各1回の体系 処理) 水面施用  稲収穫後に次作物播種	次作物 への残 留	全ての次作物： [I]；<0.005ppm [II]；<0.01ppm [IV]；<0.01ppm [VI]；<0.01ppm [XI]；<0.01ppm 土壌残留： [I]；<0.01ppm(142日) [II]；<0.02ppm(142日) [IV]；0.02- <0.02ppm(142-224日) [XI]；0.03- <0.02ppm(142-224日)	(1997年)	代-129												
12	生物濃 縮性	ブルーギル 取込期間28日 排泄期間14日	標識、 水中濃度 0.05mg/L、 0.005mg/L  (代謝は0.05mg/L)	生物濃 縮性   代謝	BCF <sub>ss</sub> (TRRに基づく)： 291.6 (0.05mg/L) 326.8 (0.005mg/L) BCF <sub>k</sub> (TRRに基づく)： 275.5 (0.05mg/L) 289.8 (0.005mg/L) BCF(親化合物)：71  7-15日目の魚体中における主成分は親化合物(食用部：29.8～33.5%、非食用部 11.0～16.3%)および (食用部 55.9～60.6%、非食用部 20.7～25.3%)であった。	(2007年)	代-131												

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。

<代謝物一覧表>

(代謝)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
I	親化合物	フェントラザミド  YRC2388	4-(2-chlorophenyl)-N-cyclohexyl-N-ethyl-4,5-dihydro-5-oxo-1H-tetrazole-1-carboxamide 4-(2-クロロフェニル)-N-シクロヘキシル-N-エチル-4,5-ジヒドロ-5-オキソ-1H-テトラゾール-1-カルボキサミド	
II				
III				
IV				
V				
VI				

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。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
VII				
VIII				
IX				
X				
XI				
XII				

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。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
XIII				
XIV				
XV				
XVI				
XVII				
XVIII				

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。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
XIX				
XX				
XXI				
XXII				
XXIII				
XXIV				

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。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
XXV				
XXVI				

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。

## 供試化合物

一般名：フェントラザミド (fentrazamide)

試験番号：NBA061、YRC2388

商品名：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ-5-オキ  
ソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

分子式： $C_{16}H_{20}ClN_5O_2$

分子量：349.8g/mol

代謝経路図での記号：[I]

化学構造式及び $^{14}C$ の標識位置：

\*  $^{14}C$  標識位置



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。

## 1. 動物における動態と代謝試験

(1)  $^{14}\text{C}$ -フェントラザミドを用いた  
ラット体内における代謝試験

(代謝資料 No. 1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年7月29日

### 供試標識化合物

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ  
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

\*：標識部位：

標識：(比放射能： MBq/mg、放射化学的純度 )

### 【方法】

#### 1. 投与量、投与群 (表1)

[I] は低毒性であり、水溶解度が低い (0.0023g/L) ことから、低投与量として 1.5mg/kg、また、高投与量は 75mg/kg を設定した。

試験の概要を表1に示した。尚、[I] は水溶解度が低く、静脈内投与ができなかったため、[I] の吸収率を測定するため総胆管結紮によりカニューレーションを施し十二指腸投与を行って、胆汁、尿、糞、体内中の放射能残留量を測定した。また、薬物の経口投与後の経時的な体内分布を定性的、定量的に測定するためオートラジオグラムを測定した。

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エルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1. 試験群の概要

投与経路	投与量 (mg/kg)	投与 回数	性 (試験群)	動物数 (匹)	生物 試料	採取時間 (投与後時間) (時間)
①呼気への排泄						
経口	1.5	1	雄 (1)	5	呼気	8, 24, 48, 72
					尿	4, 8, 24, 48, 72
					糞	24, 48, 72
					皮膚、胃腸管、 動物残体	72
②経口投与による吸収、分布、代謝、排泄						
経口	1.5	1	雄(2)雌(4)	各 5	血漿	5, 10, 20, 40 (分)
	75	1	雄(5)雌(6)	各 5		1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48
	1.5	14 + 1 <sup>1)</sup>	雄(7)雌(8)	各 5	尿	4, 8, 24, 48
					糞	24, 48
					臓器	48
③十二指腸内投与による代謝、排泄						
十二指腸	1.5	1	雄 (9)	6	胆汁、	1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24
					尿	30, 36, 42, 48
					糞	24, 48
					皮膚、胃腸管、 動物残体	48
④全身オートラジオグラフィ (ARG)						
経口	1.5	1	雄(3)	6	—	1, 4, 8, 24, 48

1) 14日間非標識[I]を連続投与した後、<sup>14</sup>C-標識[I]を1回投与した。

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

## 2. 呼気への排泄（試験群1）

呼気への排泄を調べるため、雄に 1.5mg/kg で経口投与し 72 時間以後まで経時的に呼気、糞、尿を採取した。

## 3. 経口投与後の吸収、分布、代謝、排泄

(1.5mg/kg の 1 回及び 15 日間の反復投与群、75mg/kg の投与群)  
投与した<sup>14</sup>C が呼気へ排泄されないことを確認した後、通常の試験群では [I] を経口投与した後に雌雄ラットより尾静脈血液を経時的に（48 時間後まで）採取して薬物動態パラメーターを解析した。また、糞、尿は経時的に、また屠殺時には 15 種類の臓器、組織を採取した。採取した各試料毎に放射能を測定し、さらに、代謝物の同定、定量には尿及び糞をそれぞれ混合して分析した。

## 4. 全身オートラジオグラフィ（試験群3）（ARG）

1.5mg/kg の用量で雄ラットに経口投与した後、1、4、8、24、48 時間後に各 1 匹を屠殺し、切片を調製してオートラジオグラムを作成した。切片は X 線フィルム及びフジフィルム社イメージングプレートで露光し、<sup>14</sup>C の分布を視覚的に測定した。また、既知<sup>14</sup>C 濃度の標準線源と切片をイメージングプレートに同時に露光し、コンピューターソフトウェアによる解析を実施し、臓器、組織中の<sup>14</sup>C 量を定量した（文献 1、2、3、4）。

## 5. 十二指腸内投与における胆汁中への排泄及び代謝

<sup>14</sup>C の吸収率と胆汁排泄の速度、排泄割合を調べるため、総胆管カニューレション処置を施したラットに<sup>14</sup>C-[I] を 1.5mg/kg で十二指腸内投与し、胆汁と排泄物中の<sup>14</sup>C を経時的に測定した。また、胆汁中の代謝物の分布割合を調べた。

## 【結果】

### 1. 投与した放射能の回収

<sup>14</sup>C-[I] を経口した後の試験系[試験群により排泄物、臓器、組織、動物残体（選抜した臓器、組織を採取した残りの動物体）、胆汁、呼気を含む]からの回収率は 90-105% であり、ほぼ定量的に回収された。従って、以下に示す結果では原則的に投与した放射能に対する割合 (%) で示した。

### 2. 呼気への排泄

雄ラットへ<sup>14</sup>C-[I] を 1.5mg/kg で経口した後、72 時間にわたり呼気を捕集したが、<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 及びその他の揮発性化合物の量は投与量の平均 0.003% であった。従って、前述の回収率の知見と合わせると、[I] は動物体内では代謝されるものの、二酸化炭素やその他の揮発性物質には代謝されないと考えられた。以上から、

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

他の通常の試験群では呼気の捕集を行わなかった。

### 3. 放射能の吸収、薬物動態パラメーター、糞、尿、胆汁への排泄

#### 1) 吸収率

血漿中の $^{14}\text{C}$ -[I]の濃度は、投与した直後から増加が始まり、血漿濃度は投与後約30~70分に最高に達した。

$^{14}\text{C}$ -[I]を十二指腸投与した後、48時間にわたり経時的に糞、尿、胆汁を採取し、放射エネルギーを測定、また、屠殺時には胃腸管及び動物体内に残存している放射エネルギーを測定した。48時間後の排泄率は、胆汁に投与量の41.3%、尿に62.1%であり、また、胃腸管を除く動物残体中の放射能は0.007%であった(表5)。従って、[I]を経口投与した後の吸収率は投与量の約103.4%(41.3 + 62.1 + 0.007 = 103.4)であった。胆汁排泄試験の回収量(105.8%)に対する吸収量は97.7%となることから、投与された $^{14}\text{C}$ -[I]はほぼ完全に吸収されたものと考えられる。

#### 2) 薬物動態パラメーター(表2~表4、図1~図2)

各経口投与群の尾静脈血漿中の $^{14}\text{C}$ の濃度から薬物動態パラメーターを解析した。[I]は経口投与後直ちに吸収が始まり、血漿中の相対濃度P(説明後述\*)は短時間で最大となり(T-max:約30~70分)、その濃度は等量分布(P=1)より低かった(P-max:0.11~0.74)。相対濃度によるAUC[P]は0.79~2.72の範囲で、投与量や性による差は認められなかった。腎クリアランスが比較的高く5.3~10.4mL/min/kgであり、これらの値は腎糸球体ろ過能の最大に近く、 $^{14}\text{C}$ は再吸収なく速やかに排泄されているものと考えられた。さらに、平均滞留時間は比較的短かく(MRT:6~14時間)、また、消失半減期( $T_{1/2}$ )が比較的短かったことから(約10~41時間)、投与した $^{14}\text{C}$ は体内から速やかに消失することが示唆された。また、定常状態の分布容積 $V_{ss}$ は2440~10400mL/kg(244%~1040%)であり、高投与量群と反復投与量群では雌雄の間でやや差が認められたものの大きな差ではなかった。また、 $V_{ss}$ の値から、中枢コンパートメントにおける $^{14}\text{C}$ 濃度を末梢コンパートメントと比較すると中枢コンパートメントが相対的に低いことが示唆された。

投与量が異なる群を比較するため相対濃度によるパラメータ値を比較すると、吸収量、血漿中の挙動(濃度分布、最高濃度到達時間、消失半減期)について投与量、性間に大きな差は認められなかった。薬物動態パラメータを全体的に考察すると、パラメータ値の一部には雌雄間並びに投与量の違いにより若干の変動が認められたが、これは[I]の吸収後、排泄へ至る基本的な動態に顕著な違いを呈するものではなかった。

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。

\* : 相対濃度  $P = \text{組織中の}^{14}\text{C (mg/kg 組織)} / \text{投与した}^{14}\text{C (mg/kg 体重)}$

相対濃度が  $P = 1$  のときは等量分布濃度となる。

相対濃度  $P$  を用いると、投与量が異なる群の吸収・分布等に関するパラメータを直接比較することが可能である。

また、血漿や臓器中の $^{14}\text{C}$ の濃度は次式で換算され、“換算濃度”と表現する。

血漿や臓器中の $^{14}\text{C}$ の換算濃度 ( $\mu\text{g/mL}$  または  $\mu\text{g/g}$ ) = 相対濃度  $P \times$   
投与量 ( $\text{mg/kg}$  体重)

表 2.  $^{14}\text{C}$ -[I]の経口投与群における薬物動態学的パラメーター

薬物動態パラメーター	経口投与					
	1.5mg/kg		75mg/kg		1.5mg/kg (連投)	
	雄(2) <sup>1)</sup>	雌(4)	雄(5)	雌(6)	雄(7)	雌(8)
AUC [P]	2.72	1.92	0.79	1.28	1.78	2.56
AUC [ $\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$ ]	2.75	2.26	58.8	95.5	2.58	3.73
$T_{1/2}$ [h]	35.3	40.6	14.8	9.67	37	10
CL [mL/min/kg]	9.08	11.1	21.2	13.1	9.7	6.7
$CL_R$ [mL/min/kg]	7.63	10.41	8.67	6.48	8.11	5.26
MRT [h]	13.6	14.2	8.5	10.0	10.7	6.44
$V_{ss}$ [mL/kg]	7270	9070	10400	4770	5850	2440
$P_{max}$	0.66	0.56	0.11	0.12	0.74	0.71
$C_{max}$ [ $\mu\text{g/g}$ ]	0.856	0.661	8.16	8.94	1.07	1.04
$T_{max}$ [h]	0.679	0.491	1.06	1.20	0.569	0.503

1) 試験群

AUC	: 血中薬物濃度曲線下面積
$T_{1/2}$ [h]	: 消失半減期
CL [mL/min]	: 全身クリアランス
$CL_R$ [mL/min/rat]	: 腎クリアランス
MRT [h]	: 平均滞留時間
$V_{ss}$ [mL/kg]	: 定常状態における分布容積
$P_{max}$	: 最高血中薬物濃度 (相対濃度) (申請者計算)
$C_{max}$	: 最高血中薬物濃度 (親化合物換算濃度)
$T_{max}$ [h]	: 最高血中薬物濃度到達時間

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 3.  $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$  の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化  
(相対濃度 P)

(a) 雄

投与後時間 (時：分)	投与量 (mg/kg) (試験群)	血漿中の相対濃度 [P]		
		1.5 (2)	75 (5)	1.5 (連投群) (7)
0:05		0.091	0.021	0.127
0:10		0.303	0.041	0.358
0:20		0.521	0.074	0.611
0:40		0.661	0.096	0.743
1		0.618	0.110	0.685
1:30		0.524	0.104	0.443
2		0.308	0.093	0.256
3		0.140	0.074	0.093
4		0.110	0.069	0.065
6		0.083	0.062	0.046
8		0.050	0.044	0.032
24		0.007	0.003	0.005
32		0.005	0.002	0.003
48		0.004	0.001	0.003

(b) 雌

投与後時間 (時：分)	投与量 (mg/kg) (試験群)	血漿中の相対濃度 [P]		
		1.5 (4)	75 (6)	1.5 (連投群) (8)
0:05		0.120	0.019	0.095
0:10		0.276	0.052	0.422
0:20		0.476	0.086	0.655
0:40		0.559	0.111	0.713
1		0.432	0.119	0.581
1:30		0.310	0.119	0.399
2		0.212	0.114	0.359
3		0.126	0.104	0.203
4		0.117	0.102	0.152
6		0.103	0.089	0.128
8		0.092	0.067	0.100
24		0.006	0.009	0.011
32		0.003	0.005	0.006
48		0.003	0.001	0.002

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 4.  $^{-14}\text{C}$  - [I] の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化  
(換算濃度、C [ $\mu\text{g/g}$ ])

(a) 雄

投与後時間 (時：分)	投与量 (mg/kg) (試験群)	血漿中の換算濃度 C [ $\mu\text{g/g}$ ]		
		1.5 (2)	75 (5)	1.5 (連投群) (7)
0:05		0.1189	1.5756	0.1804
0:10		0.3958	3.1264	0.5094
0:20		0.6808	5.5813	0.8694
0:40		0.8626	7.2427	1.0576
1		0.8070	8.2672	0.9745
1:30		0.6831	7.8102	0.6303
2		0.4013	6.9477	0.3648
3		0.1826	5.5092	0.1327
4		0.1433	5.1494	0.0929
6		0.1081	4.5936	0.0649
8		0.0652	3.2548	0.0452
24		0.0095	0.2391	0.0069
32		0.0062	0.1222	0.0042
48		0.0052	0.0564	0.0036

(b) 雌

投与後時間 (時：分)	投与量 (mg/kg) (試験群)	血漿中の換算濃度 C [ $\mu\text{g/g}$ ]		
		1.5 (4)	75 (6)	1.5 (連投群) (8)
0:05		0.1416	1.4243	0.1391
0:10		0.3273	3.9124	0.6167
0:20		0.5638	6.4757	0.9564
0:40		0.6615	8.3730	1.0408
1		0.5118	8.9443	0.8488
1:30		0.3682	8.8948	0.5805
2		0.2524	8.5134	0.5251
3		0.1498	7.7740	0.2965
4		0.1393	7.6461	0.2221
6		0.1220	6.7178	0.1868
8		0.1098	5.0502	0.1467
24		0.0068	0.6806	0.0156
32		0.0041	0.3688	0.0094
48		0.0031	0.1045	0.0032

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。

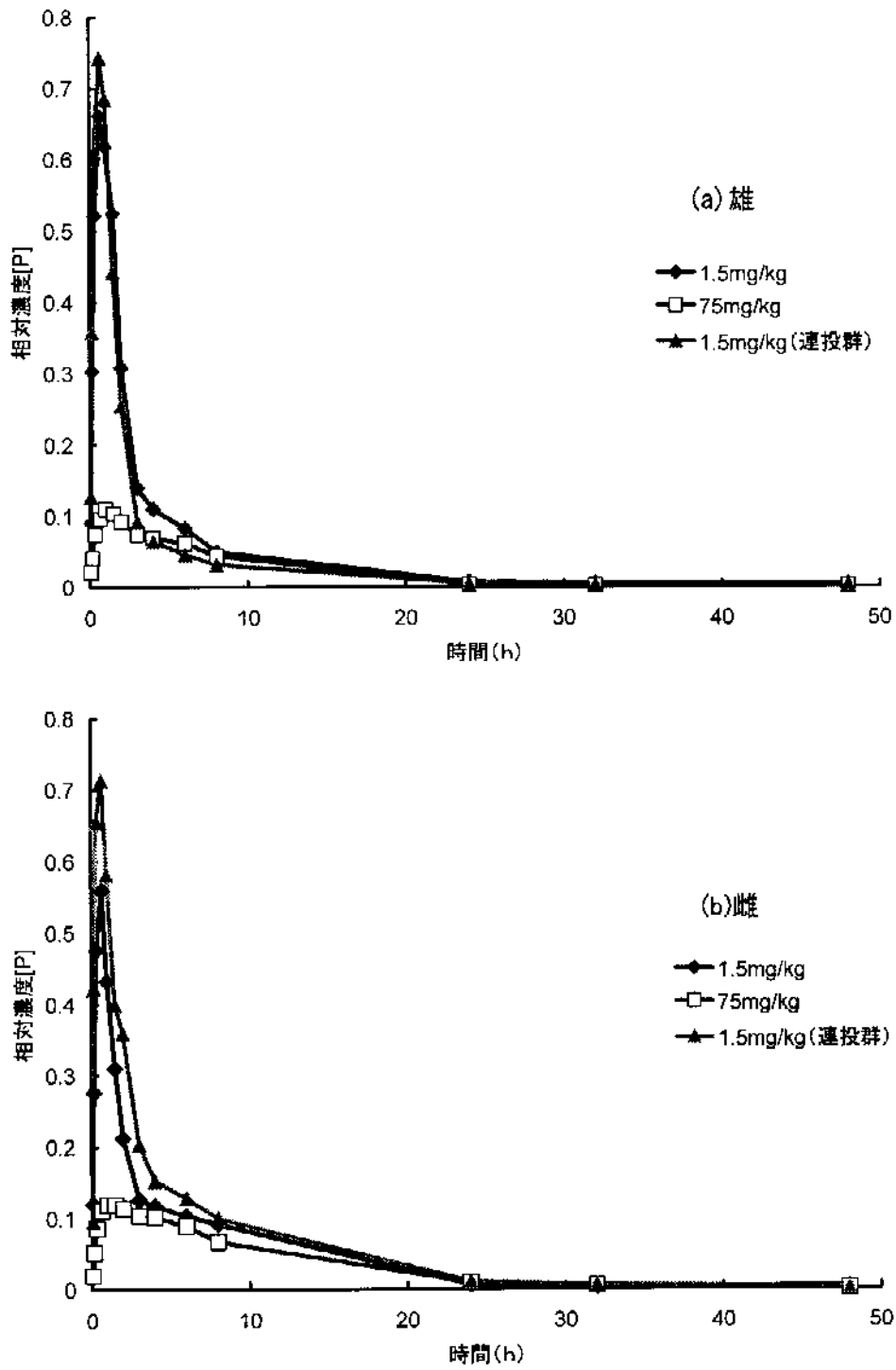


図1.  $^{14}\text{C}$ -[I]の経口投与群における血漿中の放射能の経時変化 (相対濃度P)



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

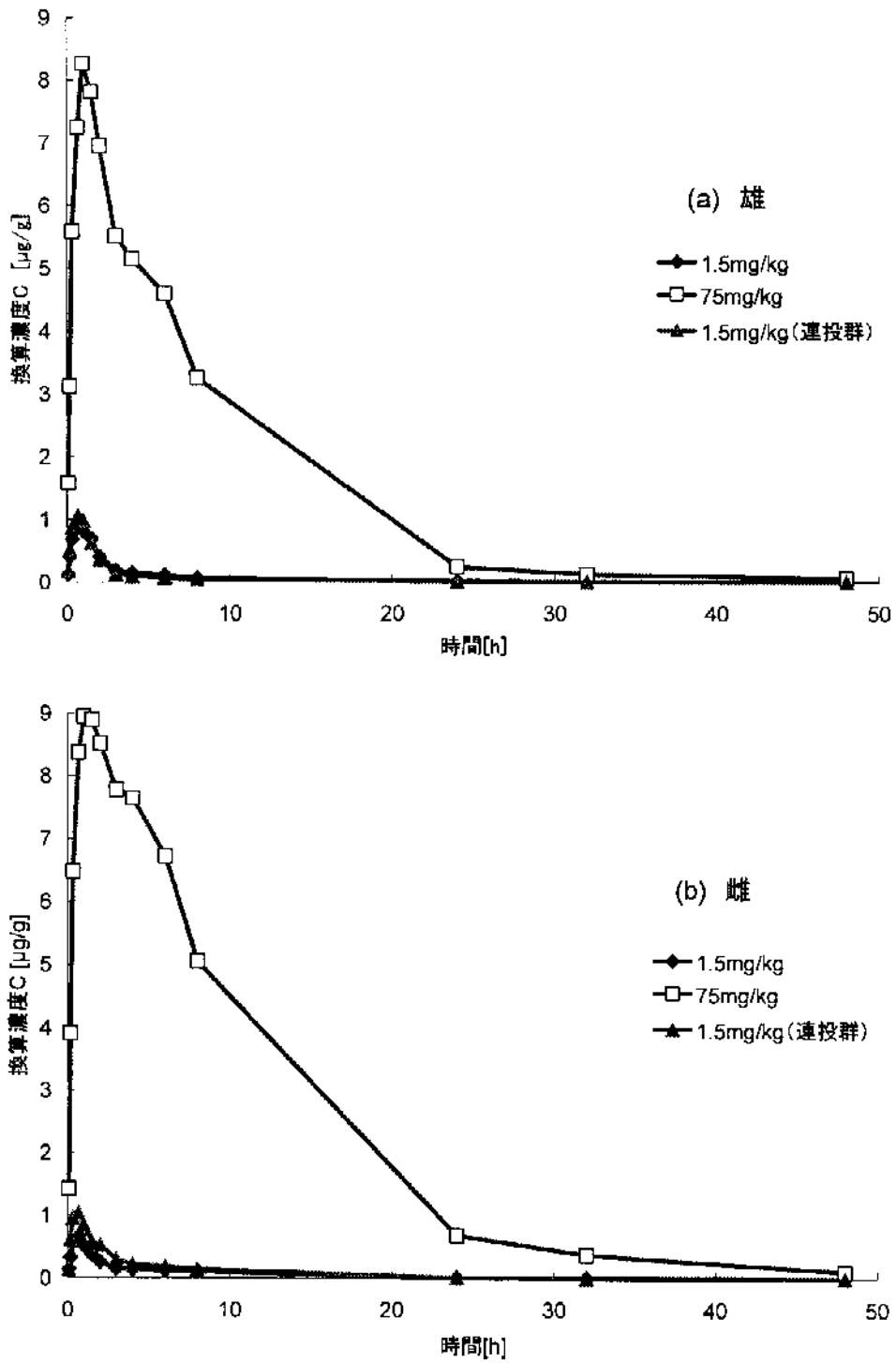


図2.  $^{14}\text{C}$ -[I]の経口投与群における血漿中の放射能の経時変化 (換算濃度C [ $\mu\text{g/g}$ ])

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5. ラットに  $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$  を投与した後 24、48 時間の糞、尿、胆汁への排泄及び動物残体への残留

投与経路	投与量 mg / kg	性 試験群	投与後時間 hr	投与放射エネルギーに対する割合 (%)									
				排泄率				残留量				総回収率	
				胆汁	糞	尿	計	胃・腸管	皮膚	動物残体 <sup>1)</sup>	計		
経口	1.5	雄	24	— <sup>2)</sup>	11.2	83.3	94.5						
		(2)	48	—	11.3	84.1	95.4	0.032	0.014	0.049	0.096	95.5	
	(4)	雌	24	—	11.0	93.0	104.0						
		48	—	11.9	93.8	105.7	0.021	0.010	0.067	0.098	106.0		
経口	75	雄	24	—	54.5	40.5	95.0						
		(5)	48	—	55.4	40.9	96.3	0.016	0.012	0.105	0.134	96.5	
	(6)	雌	24	—	42.8	46.6	89.4						
		48	—	48.8	49.4	98.3	0.092	0.015	0.127	0.235	98.5		
経口連投	1.5	雄	24	—	15.3	83.3	98.6						
		(7)	48	—	15.6	83.6	99.3	0.014	0.008	0.058	0.080	99.4	
	(8)	雌	24	—	13.1	77.0	90.						
		48	—	15.8	78.6	94.4	0.085	0.024	0.074	0.183	94.6		
十二指腸	1.5	雄	(9)	24	41.2	2.2	61.1	104.5					
			(9)	48	41.3	2.2	62.1	105.6	0.007	0.041	0.094	0.134	105.8

1) 胃・腸管及び皮膚を除く臓器・組織等の動物体内の合計

2) 採取せず

呼吸を捕集した実験は別に実施し（経口、雄、1.5mg/kg、72時間）、呼吸への排泄率は0.003%、総回収率は94.5%であった。

### 3) 排泄（表5、表6、図3、図4）

〔I〕を1.5mg/kg及び75mg/kgの割合で経口投与とすると、48時間以内に投与量の99.8%以上が排泄物中に排泄された。主たる排泄経路は尿で、尿中の排泄率は低投与量群で約79~94%、高投与量で41~49%、一方、糞中には低投与量群で11~16%、高投与量群で49~55%であった。雌雄の間の差は大きくはなかったが、投与量による差が認められ尿：糞の比は低投与量群で（7~8）：1、高投与量群

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。

で (0.7~1.0) :1 であった。これは、薬物動態パラメータと合わせて考察すると高投与量の場合は投与した [I] の多くが吸収されず排泄されたものと推察された (申請者考察)。

排泄速度は速く、経時的には糞、尿ともに投与後 24 時間までに投与量の 89%以上が排泄された (表 5、表 6、図 3)。

胆汁排泄試験では、十二指腸内投与後 48 時間以内に胆汁中へ投与量の 41.3%、糞へ 2.2%、尿へ 62.1%、この合計で 105.6%が排泄され、その排泄速度は速やかで、投与後 24 時間以内に胆汁、糞、尿へ大部分の放射能 (それぞれの分画へ排泄された総量に対して約 100%、100%、98%) が排泄された (表 7、図 4)。

胆汁排泄試験群を経口低投与量群と比較すると尿の排泄率が低い (胆汁排泄試験 : 62%、経口低投与量群雄 : 84%)、これは経口投与群では [I] が腸肝循環を受け尿中への排泄が上昇しているものと考えられた。

以上のように [I] の主排泄経路は尿であった。投与後放射能は胆汁とともに十二指腸に分泌された後、腸肝循環、代謝を受けて最終的に大部分が尿中から体外へ排泄された。

表 6.  $-^{14}\text{C}$  - [I] の経口投与後の糞・尿中への放射能の排泄

(a) 雄

投与後 時間 (h)	投与量 (mg/kg)	糞・尿中への積算排泄率 [投与放射能に対する割合 (%) ]					
		1.5 (2) <sup>1)</sup>		75 (5)		1.5 (連投群) (7)	
		糞	尿	糞	尿	糞	尿
4		- <sup>2)</sup>	51.3	-	7.2	-	41.3
8		-	72.0	-	25.1	-	73.3
24		11.2	83.3	54.5	40.5	15.3	83.3
48		11.3	84.1	55.4	40.9	15.6	83.6

1) 試験群

2) 採取せず

(a) 雌

投与後 時間 (h)	投与量 (mg/kg)	糞・尿中への積算排泄率 [投与放射能に対する割合 (%) ]					
		1.5 (4) <sup>1)</sup>		75 (6)		1.5 (連投群) (8)	
		糞	尿	糞	尿	糞	尿
4		- <sup>2)</sup>	38.8	-	7.5	-	34.4
8		-	74.2	-	9.1	-	48.3
24		11.0	93.0	42.8	46.6	13.1	77.0
48		11.9	93.8	48.8	49.4	15.8	78.6

1) 試験群

2) 採取せず

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

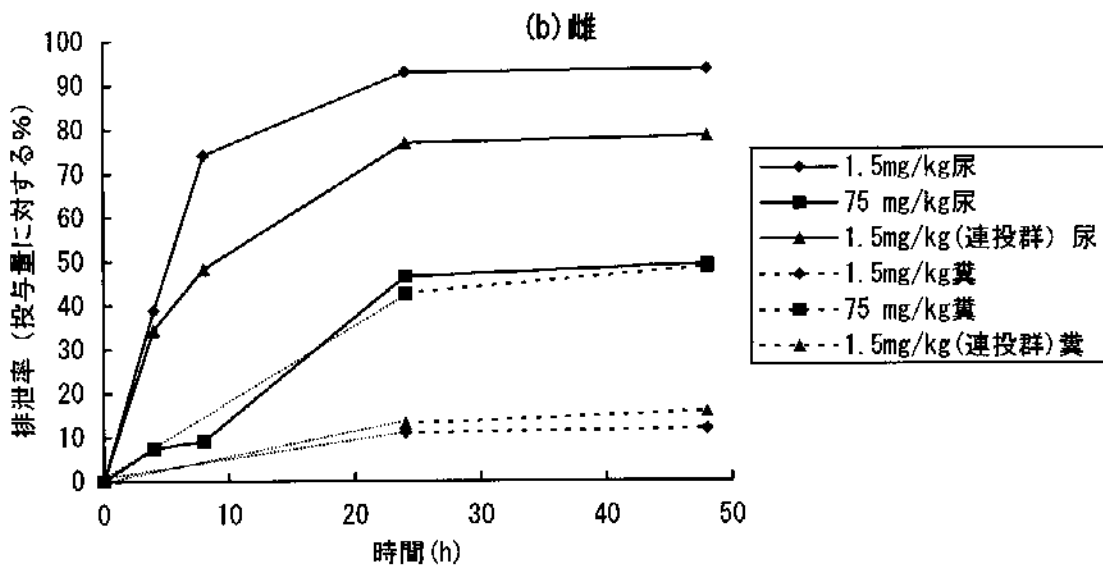
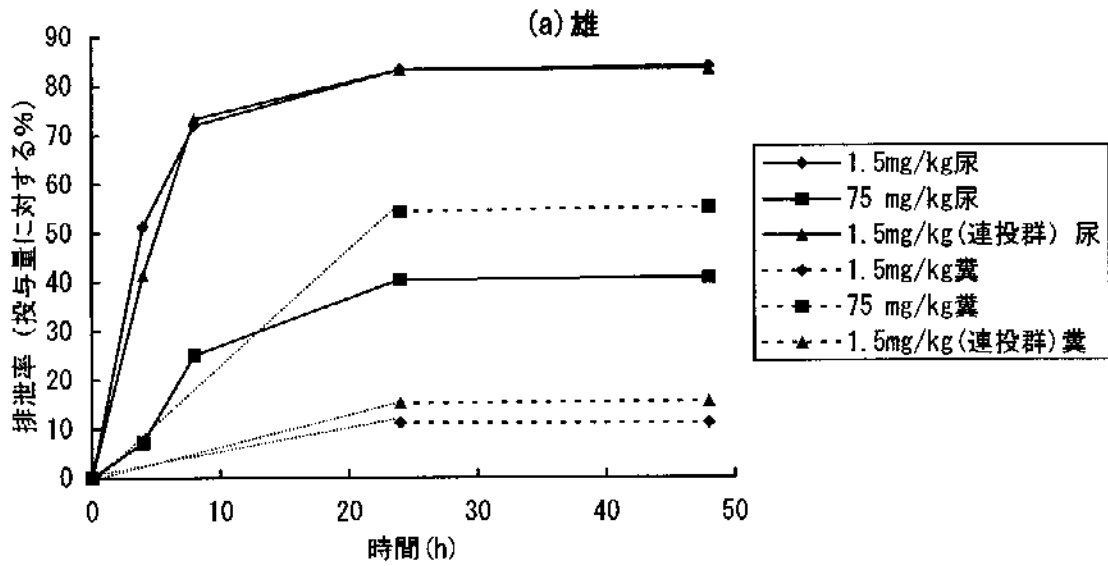


図3.  $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ の経口投与後の糞、尿中への放射能の排泄

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。

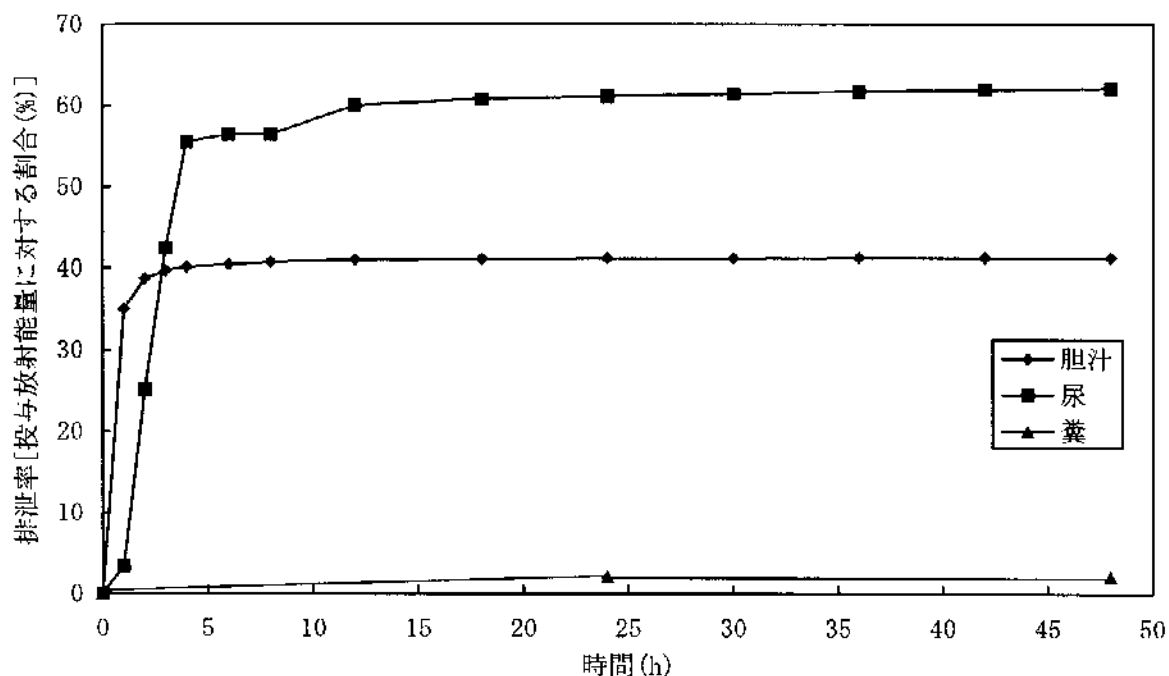


図4. 十二指腸内投与後の胆汁、糞、尿中への放射能の排泄

表7.  $^{-14}\text{C}$ -[I]の十二指腸内投与における胆汁、糞、尿中への排泄  
(雄、1.5mg/kg)

投与後 時間(h)	排泄率[投与放射能に対する割合 (%) ]		
	胆汁	尿	糞
1	35.0	3.4	- <sup>1)</sup>
2	38.7	25.2	-
3	39.7	42.4	-
4	40.1	55.5	-
6	40.4	56.4	-
8	40.7	56.4	-
12	41.0	60.0	-
18	41.1	60.8	-
24	41.2	61.1	2.2
30	41.2	61.4	-
36	41.3	61.7	-
42	41.3	61.9	-
48	41.3	62.1	2.2

1)採取せず

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

#### 4. 放射能の臓器、組織への分布、残留 (表 8、表 9、表 10)

定常状態における分布容積 (V<sub>ss</sub>:2440~10400mL/kg) がやや的高い値を示し、放射能は体内の広い範囲に分布し、血漿以外の臓器、組織への分布が示唆された (表 2)。しかし、経口投与後の屠殺時 (48 時間後) のラット体内の放射能の残留量は投与量に対して、胃、腸管を除く動物体合計で約 0.06~0.18%とわずかであった (表 5)。

臓器・組織中の相対濃度 P はいずれも低く <0.01 であり、高投与量群の肝臓においてのみ P=0.01 を超える値が認められ 0.014~0.015 であった (表 8)。臓器・組織間で相対的に高い濃度を示したのは肝臓で 0.005~0.009 であった。肝臓の換算濃度 C は低投与量群で 0.0061~0.0127µg/g、高投与量群で 0.9848~1.0990µg/g であった (表 9)。一方、[I] の主排泄経路は尿であるが、腎臓の相対濃度は低投与量群で 0.003~0.005、高投与量群で 0.183~0.315 と低かった。

肝臓中の濃度がやや高かったのは、肝臓が有効成分、代謝物の主代謝経路であること、腸肝循環による代謝排泄が行われていることと合致していた。

表 8.  $^{14}\text{C}$ -[I] を経口投与した後の屠殺時の臓器・組織中における放射能の相対濃度 P

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の相対濃度 P					
	1.5mg/kg		75mg/kg		1.5mg/kg (連投)	
	雄(2) <sup>1)</sup>	雌(4)	雄(5)	雌(6)	雄(7)	雌(8)
赤血球	0.00100	0.00100	0.00200	0.0090	0.00100	0.00300
血漿	0.00019	0.00023	0.00100	0.0010	0.00020	0.00048
肝臓	0.00600	0.00500	0.01400	0.0150	0.00900	0.00900
腎臓	0.00200	0.00200	0.00300	0.0040	0.00200	0.00400
脾臓	0.00100	0.00100	0.00300	0.0030	0.00046	0.00100
精巣	0.00015	—	0.00023	—	0.00012	—
卵巣	—	ND	—	ND	—	ND
子宮	—	ND	—	ND	—	ND
筋肉	0.00027	0.00022	0.00048	0.0005	0.00021	0.00025
骨	0.00100	0.00100	0.00100	0.0010	0.00047	0.00100
心臓	0.00030	0.00039	0.00100	0.0020	0.00031	0.00100
肺	0.00035	0.00100	0.00100	0.0020	0.00034	0.00100
脳	0.00015	0.00012	0.00014	0.0002	0.00020	0.00018
皮膚	0.00100	0.00047	0.0010	0.0010	0.00038	0.00100
カーカス	0.00031	0.00100	0.00048	0.0010	0.00025	0.00100
胃・腸管	0.00100	0.00200	0.00100	0.00100	0.00100	0.00800

1) 試験群

2) 検出限界以下

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 9.  $^{14}\text{C}$ -[I] を経口投与した後の臓器・組織中における放射能の換算濃度 C

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の換算濃度 C ( $\mu\text{g/g}$ )					
	1.5mg/kg		75mg/kg		1.5mg/kg (連投)	
	雄(2) <sup>1)</sup>	雌(4)	雄(5)	雌(6)	雄(7)	雌(8)
赤血球	0.0011	0.0018	0.1584	0.6511	0.0013	0.0048
血漿	0.0002	0.0003	0.0447	0.0527	0.0003	0.0007
肝臓	0.0069	0.0061	0.9848	1.0990	0.0122	0.0127
腎臓	0.0027	0.0025	0.1825	0.3149	0.0035	0.0053
脾臓	0.0006	0.0006	0.0420	0.1889	0.0006	0.0013
精巣	0.0002	—	0.0164	—	0.0002	—
卵巢	—	ND <sup>2)</sup>	—	ND	—	ND
子宮	—	ND	—	ND	—	ND
筋肉	0.0003	0.0003	0.0340	0.0367	0.0003	0.0004
骨	0.0007	0.0007	0.0638	0.0706	0.0006	0.0010
心臓	0.0004	0.0005	0.0701	0.1259	0.0004	0.0010
肺	0.0004	0.0007	0.0563	0.1815	0.0005	0.0014
脳	0.0002	0.0001	0.0096	0.0151	0.0003	0.0003
皮膚	0.0008	0.0006	0.0409	0.0555	0.0005	0.0016
カーカス	0.0004	0.0008	0.0337	0.0570	0.0003	0.0008
胃・腸管	0.0033	0.0028	0.0969	0.7776	0.0018	0.0120

1) 試験群

2) 検出限界以下

注) [I] の換算濃度 C ( $\mu\text{g/g}$ ) = P (相対濃度) × D (投与量  $\mu\text{g/g}$ )

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。

## 6. 全身オートラジオグラフィ（ARG）

$^{14}\text{C}$ -[I] を 4.5mg/kg で雄ラットに経口投与した後、1 時間後で最高濃度の放射能が胃や小腸に認められた。臓器・組織の中では、血液の含量が多い肺、心臓心房内、腎臓、肝臓には全身よりも高い濃度が観察され、速い吸収と投与直後からの腎排泄が示唆された。脂肪、精巣、筋肉は低い放射能濃度であり、中枢神経系、眼球、大腸下部は非常に低い濃度であった。これらの現象は初回通過効果により [I] が極性代謝物に代謝され、血液脳関門を通過しないと考えられた。

投与 4 時間後には、肝臓、腎臓で高い濃度を示し、一方、脊髄、脳、大腸下部の濃度は低かった。心臓や肺など血液含量の多い臓器の濃度は体内濃度と比較して高く、従って、 $^{14}\text{C}$  は血液循環性が高く、また、肝臓の濃度が高いことから腸肝循環が示唆された。

投与 8 時間後には、胃や腸を除く臓器・組織は肝臓、腎臓、血液、肺も共に非常に低い濃度であった。これらから、 $^{14}\text{C}$  の大部分が大腸へ排泄される過程であることが示された。

投与 24 時間後では、腸、肝臓、腎臓を除き、体内には放射能の残留は認められなかった。最高濃度は腸で認められ、肝臓の黒化度は弱く、腎皮質はバックグランドよりわずかに黒化度が強い程度であった。胃腸管の黒化度に連動して肝臓で黒化度が強く認められたことからやはり腸肝循環の存在が示唆された。

投与 48 時間後も 24 時間後と同じオートラジオグラムが得られ、肝臓、腎臓を除く他の臓器、組織では残留が認められず、速い体内消失が示された。

## 7. 吸収、排泄に関する性、投与量による差

吸収、排泄、体内残留量については性差は認められなかった。投与量による差は尿、糞の排泄比率について認められ、尿：糞の排泄比率が低投与量で（7～8）：1、一方、高投与量群で（0.7～1.0）：1 であった。このことは、薬物動態パラメータから得られた知見と合わせて考察すると、高投与量群の場合は投与した [I] の多くが吸収されず排泄されたものと推察された（申請者考察）。反復投与の排泄率、体内挙動の結果は 1 回投与の結果と同様で、[I] の挙動に関して反復投与の影響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。

## 8. 代謝

[I] の経口投与後、[I] は大部分が代謝され、主代謝物として [II] 及びその抱合体 [X] が検出された。尿、胆汁中には [I] は検出されなかった。

### 1) 尿

尿は0-24 時間あるいは0-48 時間の分画を投与群、性毎に混合し、濃縮後直接分析した。これらの混合尿分画は全尿中排泄率中の約 98-99%に相当した。

尿からは2種類の主要な代謝物、 [II] と [X] が検出された。これら2種の代謝物の割合は全尿中排泄率中の>91% (低投与量群)、>74% (高投与量群)、>82% (反復投与量群) を含め、投与量に対する割合は [II] [X] の合計で約 77-85% (低投与量群)、32-37% (高投与量群)、65-69% (反復投与量群) であった。また、[II] と [X] では全般的に [X] の方が多く認められた。( [II] と [X] の生成量についてのみ下表にまとめる。) また、未同定代謝物のうち単一の成分として投与量の4%を超えるものはなかった。

試験群	尿中 排泄率(%)	投与量に対する割合(%)		
		[II]	[X]	合計
経口 1.5mg/kg 雄(2) <sup>1)</sup>		13.1	63.5	76.6
	雌(4)	45.4	39.4	84.8
経口 75 mg/kg 雄(5)		6.2	25.7	31.9
	雌(6)	13.4	23.3	36.7
経口反復 1.5 mg/kg 雄(7)		12.6	56.0	68.6
	雌(8)	25.6	39.2	64.8

1) 試験群

### 2) 糞

代謝物の同定、定量のため低投与量群2、4及び高投与量群5、6の0-24時間の糞を抽出した。

糞抽出物中では [I] が主成分で、低投与量群で投与量の約1-2%、高投与量群で約9-29%が検出された。代謝物として尿と同様に [II] と [X] が少量 (低投与量群: <1%、高投与量群: 2-3%) 見いだされた他に、 [IX] と [I] がやはり少量 (約<1%) 検出された。

糞中の未同定代謝量のうちで単一の成分で投与量の1-3%を超えるもの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。

表 10. ラットにおける  $-^{14}\text{C}-[1]$  の経口投与後の糞・尿・胆汁  
における代謝物

試験群	性別	試料 (試料毎の総 回収量%)	投与放射能に対する割合 (%)						
			I	II	III	VIII	IX	X	合計
経口 1.5mg/kg	雄 (2)	糞(11.3)	1.6	0.4	0.2		0.2	0.2	2.6
		尿(94.1)		13.1				63.5	76.6
		合計	1.6	13.5	0.2			63.7	79.2
	雌 (4)	糞(11.9)	0.6	0.6	0.2		0.2	0.1	1.7
		尿(93.8)		45.4				39.4	84.8
		合計	0.6	46.0	0.2		0.2	39.5	86.6
経口 75mg/kg	雄 (5)	糞(55.4)	28.5	2.9			0.8	0.6	32.8
		尿(40.9)		6.2				25.7	31.9
		合計	28.5	9.1			0.8	26.3	64.7
	雌 (6)	糞(48.8)	8.9	2.6	1.3		0.8	1.1	14.7
		尿(49.4)		13.4				23.3	36.7
		合計	8.9	16.0	1.3		0.8	24.4	51.5
経口 反復 1.5mg/kg	雄 (7)	尿(83.6)		12.6				56.0	68.6
	雌 (8)	尿(78.6)		25.6				39.2	64.6
十二指腸 投与 1.5mg/kg	雄 (9)	胆汁(41.3)		4.3		3.7		1.5	

II : 、 III : 、

VIII : 、 IX : 、

X :

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) 胆汁

胆汁は代謝物の同定、定量のため0-1時間の胆汁分画を直接分析した。この分画は全胆汁排泄物中の>88%に相当した。また、HPLCクロマトグラフィーの比較として0-1、1-2、2-3、3-4時間の分画を個別に分析した。

胆汁中には [I] は検出されず、主成分として尿代謝物と同様の [II] 及び [X] がそれぞれ投与量の 4.3%、1.5% 検出された。その他に、 [VIII] が 3.7% 検出された。HPLCクロマトグラムには多くのピークが観察されたが、未同定代謝物のうち単一の成分で投与量の3%を超えるものはなかった。

## 9. 同定率

糞及び尿を分析した低投与量群及び高投与量群より算出すると総同定率は低投与量群で投与量の79-87%、また、高投与量群で52-65%であった。反復投与量群は尿のみの分析を行い、65-69%が同定されたが、これらは尿中排泄率の約82%に相当した。高投与量群では [I] が糞中に多く検出された一方、代謝の割合が高く、多くの少量代謝物(投与量の<3%)が生成したことが、同定率が低いことに起因した。反復投与量群では尿のみを分析したが、尿中の代謝物及びその生成割合が低投与量群1回の投与の結果と同等であること、また、薬物動態パラメータの結果も同様であったことから、 [I] の体内挙動について反復投与の影響はないものと考えられる。

## 10. 推定代謝経路 (図5)

[I] はラット体内で腸肝循環を受けて代謝されるが、主代謝経路はテトラゾリノン環 (Tz) 窒素とカルボニル (C=O) のCN結合の開裂による [II] の生成であった。 [II] は [X] を受け、両者共に主として尿中に排泄された。また、糞中にもこれら代謝物 [II] 及び [X] が検出された他、 [IX] や [I] が少量検出された。シクロヘキシル側の代謝経路は別報で報告する (代謝資料 No. 2)。推定代謝経路図を図5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。

図5. フェントラザミドの動物中の推定代謝経路