

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.8 生体機能影響

### 8.8.1 生体の機能に及ぼす影響に関する試験 (資料 No. T-6.1)

試験機関

報告書作成年 1988年

検体純度：

試験期間： 1988年6月～1988年9月

#### 1. マウス及びウサギの中樞神経系に対する作用

##### 1) マウスの一般症状

供試動物： ICR系マウス、体重18～28g、1群雄雌各3匹

試験方法： 検体を0.5%CMCに懸濁し、0、10、20、40、80、160及び320mg/kgの用量で腹腔内投与した。投与後、15分、30分、1、2、4、6、24、48、72及び96時間にIrwinの方法に従ってマウスの一般症状を観察した。

試験結果： 雄は160mg/kg以下の投与群では変化は認められず、320mg/kg群で体温低下と遅延死が認められた。雌は80mg/kg以下の投与群では変化は認められず、160mg/kg群で体温低下が認められ、320mg/kgで体温低下と遅延死が認められた。

##### 2) ウサギの脳波に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重2～3kg、雄3匹

試験方法： 麻酔下のウサギを固定して脳波導出用の電極を頭蓋骨に装着した。検体のポリエチレングリコール(#400)溶液を0.1、0.5、1及び2mg/kgを約30分の間隔で、静脈内に漸増投与して脳波を測定した。

試験結果： 0.1及び0.5mg/kgの投与量で脳波の変化は認められなかった。1mg/kgの投与量で脳波の振幅の低下が認められたが、30分後には回復した。2mg/kgの投与量では投与後間もなく死亡した。

##### 3) ウサギの体温に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重2.5～3.5kg、雄1群3匹

試験方法： 検体をポリエチレングリコール(#400)に溶解し、0、0.25、0.5及び1mg/kgを静脈内投与した。体温は投与前、投与後30分、1、2及び3時間に直腸温を測定した。

試験結果： いずれの投与群においても検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2. ウサギの呼吸及び循環系に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.5～3.5 kg、雄 3 匹

試験方法： ウレタン麻酔下のウサギに検体のポリエチレングリコール (#400)溶液を 0.1、0.2、0.5、1 及び 2 mg/kg を約 30 分の間隔で静脈内に漸増投与し、呼吸運動、血圧、心電図及び心拍数を観察した。

試験結果： 0.1 mg/kg の投与量で一時的に血圧の上昇が認められ、1 mg/kg の投与量で一時的に血圧の上昇、心拍数の減少及び呼吸亢進が認められた。しかし、これらの変化は 30 分後に回復した。心電図には変化は認められなかった。2 mg/kg の投与量では、投与後数分以内に死亡した。

3. ウサギの瞳孔に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.5～3.5 kg、1 群雄 3 匹

試験方法： 検体をポリエチレングリコール (#400)に溶解し、0、0.25、0.5 及び 1 mg/kg を静脈内投与した。投与後、5、15、30 及び 60 分に瞳孔径を測定した。

試験結果： いずれの投与群においても検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

4. ラットの小腸輸送能に対する作用

供試動物： SD 系ラット、体重 250～350 g、1 群雄 10 匹

試験方法： 検体をポリエチレングリコール (#400)に溶解し、一夜絶食した動物に 0、625、1250、2500 及び 5000 mg/kg を皮下投与した。検体投与 30 分後に炭末・アラビアゴム各 10%懸濁液 10 mL/kg を強制経口投与し、30 分後に開腹して小腸を取り出し、胃幽門から炭末先端迄の長さを測定した。

試験結果： 5000 mg/kg の投与群で軽度な抑制作用が認められたが、2500 mg/kg 以下の投与群では検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

5. ウサギの前頸骨筋収縮に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 2～3 kg、雄 3 匹

試験方法： ウレタン麻酔下でウサギの総腓骨神経と前頸骨筋を露出させ、総腓骨神経の電気刺激による前頸骨筋の収縮を測定した。検体はポリエチレングリコール (#400)に溶解し、0.2、0.5、1 及び 2 mg/kg を静脈内に漸増投与した。

試験結果： 1 mg/kg 以下の投与量では検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。2 mg/kg の投与量で投与後間もなく死亡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 6. ウサギの溶血性に対する作用

供試動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.5~3.5 kg、雄 1 匹

試験方法： 血液を採取し、ヘパリン処理後遠心して赤血球を分離し、10 倍量の生理食塩水に浮遊させた。検体を生理食塩水に懸濁して、終濃度 0、 $10^{-5}$ 、 $5 \times 10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $5 \times 10^{-4}$  及び  $10^{-3}$  g/mL に調整し、これに一定量の赤血球浮遊液を加えて 2 時間後に溶血の有無を調べた。

試験結果：  $10^{-3}$  g/mL の濃度で軽度の溶血作用が認められたが、それ以下の濃度では溶血作用は認められなかった。

## 7. 試験結果の総括

検査項目	動物	投与経路	投与量 (mg/kg)	反応	最小作用量
一般症状	マウス	腹腔内	0, 10, 20, 80, 160, 320	体温低下	160 mg/kg
脳波	ウサギ	静脈内	0.1, 0.5, 1, 2	振幅低下	1 mg/kg
呼吸	ウサギ	静脈内	0.1, 0.2, 0.5, 1, 2	呼吸亢進	1 mg/kg
循環系				血圧上昇	0.1 mg/kg 以下
心電図				反応なし	1 mg/kg 以上
体温	ウサギ	静脈内	0, 0.25, 0.5, 1	反応なし	1 mg/kg 以上
瞳孔径	ウサギ	静脈内	0, 0.25, 0.5, 1	反応なし	1 mg/kg 以上
小腸輸送能	ラット	皮下	0, 625, 1250, 2500, 5000	抑制	5000 mg/kg
前頸骨筋収縮	ウサギ	静脈内	0.2, 0.5, 1, 2	反応なし	1 mg/kg 以上
溶血性	ウサギ		0, $10^{-5}$ , $5 \times 10^{-5}$ , $10^{-4}$ , $5 \times 10^{-4}$ , $10^{-3}$ g/mL	溶血	$5 \times 10^{-4}$ g/mL

## 8. 考察

この一連の試験において比較的顕著に認められた変化は、ウサギの呼吸及び循環系と脳波における変化であった。即ちウサギに対して静脈内注射ではあったが、低用量 (0.1~1 mg/kg) で一時的な血圧の上昇、心拍数の減少、呼吸亢進及び脳波の低振幅化が認められた。検体の作用機構は不明であるが、ほかに自律神経、運動神経或いは中枢神経に対する作用による症状は殆ど認められなかったため、循環系に対する作用は恐らく直接作用であろうと考えられる。

その他の変化 (マウス一般症状における体温低下、ラット小腸輸送能の低下、ウサギ溶血作用等) は極めて軽度なものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.9 その他の毒性

### 8.9.1 マウスにおける肝薬物代謝酵素誘導、細胞増殖及び活性酸素産生能試験 (資料 No. T-7.1)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 論： 以上の結果から、本剤は1000 ppm及び100 ppmの投与量で肝薬物代謝酵素を誘導し、1000 ppmの投与量で細胞増殖作用を誘発する可能性が示唆されたが、活性酸素産生亢進を示唆する所見は認められなかった。本試験における無毒性量は10 ppm (1.38 mg/kg/day)と判断され、本剤の肝薬物代謝酵素誘導あるいは細胞増殖作用には閾値があることが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.2 ラットにおける甲状腺機能に関連する血清ホルモン、肝ミクロソーム UDP グルクロン酸  
転移酵素、甲状腺濾胞上皮細胞増殖活性測定試験 (資料 No. T-7.2)

試験機関

報告書作成年 2004 年 [GLP 対応]



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 論： 以上の結果から、本剤は肝臓のミクロソーム UDPGT 活性を上昇させ、結果として T4 レベルが低くなって TSH レベルが上昇し、甲状腺の細胞増殖促進および濾胞上皮細胞の肥大を引き起こすと考えられた。UDSGT 活性は用量相関性に上昇したが、50 ppm (3.58 mg/kg/day)では他のパラメーターに有意な変化はないため、T4/TSH レベルおよび甲状腺の細胞増殖に対する閾値であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.3 イヌの網膜の機能と形態における変化ならびにその回復性の研究 (資料 No. T-7.3)

試験機関

報告書作成年 1986年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

**結 論** : 本検体は、200 mg/kg/day (第3～5週以降 150 mg/kg/day)の投与量で11週間イヌに経口投与したときERG波形の振幅の減少を引き起こした。ERGの電圧の減少は、休薬期間終了時までには3例中2例で回復したが、1例は回復しなかった。しかし夜盲症の証拠はなく、神経障害を示唆するERG波形の変化も認められなかった。本試験の投与量は、摂餌量の減少や体重及び生化学的検査結果から、最大耐量に近いものであった。生化学的検査では肝臓毒性が示唆された。眼底部壁紙における褐色顆粒の増加は、投与期間中と休薬期間中に投与群の各々1例で認められたが、休薬期間終了時には回復した。病理組織学的検査ならびに電子顕微鏡検査では検体と関連性のある変化は認められなかった。以上のことより、ERG異常は、網膜色素上皮あるいはグリア細胞における機能的変化と考えられた。このような変化が進行するものであれば、網膜の神経障害へと徐々に発展して行く可能性があるものと推察された。

申請者の見解 :

ERGの変化については、一般的にみて眼底所見との関連はなく、最大耐量に近い濃度での投与によって波形の振幅の減少を引き起こしたと考えられる。一部の波形が消失したような重大な変化ではなく、神経障害を意味する波形でもなかった。また、夜盲症の証拠もなかった。52週間の慢性毒性試験においても網膜障害等がみられなかったことから、ERGの所見についても毒性学的意義はないと考えられる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.4 ラットにおける静脈内投与による急性毒性試験 (資料 No. T-7.4)

試験機関

報告書作成年 1991年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

一般症状；死亡例では自発運動低下、呼吸数の低下及び強直性痙攣を示した後、投与 30 秒～1 日目にかけて 80.0 mg/kg 群では全例、64.0 mg/kg 群では雄 8 例雌 6 例、51.2 mg/kg 群では雄 5 例雌 3 例、41.0 mg/kg 群では雄 3 例が死亡した。生存例において強直性痙攣は認められず、自発運動、呼吸数の低下は 30 分～2 日目に漸次回復し、以後特記すべき所見は認められず、3 日以後順調な体重増加を示した。体重では雌雄共に 1 日目に体重の減少又は体重増加抑制が認められたが、3 日目以後順調に増加した。

剖検所見；死亡例において 41.0 mg/kg 群の雄の 1 例に消化器系の自己融解が見られたが、これは死後変化によるものと類推された。生存例を含む全例において肺の充血が認められた。このことは検体が血管系を介して肺に何らかの影響を与えたものと示唆された。また、その他の臓器については特に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石原産業株式会社にある。

#### 8.9.5 ウサギにおける静脈内投与による急性毒性試験 (資料 No. T-7.5)

試験機関

報告書作成年 1991 年 [GLP 対応]

一般症状；検体を耳静脈に投与直後から間もなく全例に自発運動の低下が見られ、さらに 5～15 分目にかけて呼吸数の低下が認められた。又、強直性痙攣を示し一部は 15 分から 5 時間目にかけて死の転帰を示すものが見られた。なお、生存例において、見られた自発運動の低下及び呼吸数の低下は 3 時間～2 日目にわたって回復を示した。体重では雌雄共に 1 日目に体重の減少、体重増加抑制が認められたが、3 日目以後順調に増加した。

剖検所見；死亡例及び生存例のいずれも、肺に充血が見られた。その他の臓器には、特記すべき異常変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 8.9.6 ラットにおける静脈内投与による急性毒性試験 (資料 No. T-7.6)

試験機関

報告書作成年

1992年 [GLP 対応]

臨床症状； 投与直後から自発運動の低下、呼吸数の低下が認められ、痙攣が認められた動物は死亡し、生存例では5時間後までに回復した。死亡は投与後15分以内に起った。溶媒対照群においても全例で投与直後より自発運動の低下がみられたが、死亡例はなく、投与3時間後までに回復した。

剖検所見； 途中死亡例及び生存例の剖検では異常変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.7.1 フルアジナム原体中混在物 9 種類のマウスにおける単回経口投与による脳毒性確認試験  
(資料 No.T-7.7)

試験機関

報告書作成年 1998 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論： 種類の原体中混在物のうち、混在物- を除く 種類の混在物では、50 mg/kg 以上の単回経口投与で異常所見は認められなかった。混在物- 投与群では、投与 24 時間後に体重低下、後肢麻痺を伴う症状が見られ瀕死状態となったため切迫屠殺された。剖検後の検査で、脳重量の増加、浮腫が見られ、病理組織学的検査では脳に白質空胞化が認められた。以上の結果から、フルアジナム原体投与による CNS 白質空胞化は混在物- によるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.7.2 フルアジナム原体と純品 (分析標品)の

マウスにおける単回経口投与による脳毒性確認試験 (資料 No.T-7.8)

試験機関

報告書作成年 1998 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論：純品では、5000 mg/kg 以上の単回経口投与で脳に異常所見は認められなかった。一方、原体①と②投与群では、投与 48 時間後までに体重低下、後肢麻痺を伴う症状が見られ瀕死状態となったため切迫屠殺された。剖検後の検査で、脳重量の増加、浮腫が見られ、病理組織学的検査では脳に白質空胞化が認められた。以上の結果から、フルアジナム原体投与による CNS 白質空胞化は有効成分であるフルアジナムそのものによるものではなく、原体中混在物によるものと考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.7.3 フルアジナム原体のマウスにおける 28 日間投与による脳毒性確認試験  
及び 56 日間回復性試験 (資料 No. T-7.9)

試験機関

報告書作成年 1998 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論：原体の 7000 ppm での 4 日間または 28 日間投与あるいは 20000 ppm での 4 日間投与によりマウスに CNS 白質空胞化が認められた。この変化は電顕的に神経線維髄鞘に局限していた。また、これら変化は投与終了後の 56 日以内の回復期間で完全に回復するものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.7.4 フルアジナム原体のラットにおける 14 日間投与による脳毒性確認試験  
及び 25 日間回復性試験 (資料 No.T-7.10)

試験機関

報告書作成年 1998 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論：原体を極めて高い用量 (10000 ppm、30000 ppm) で雄ラットに混餌投与した結果、脳に白質空胞化が認められたが、25 日間の回復期間後には、それら所見は完全に消失あるいは軽微な程度まで回復した。フルアジナム原体に起因する CNS 白質空胞化は回復性があると結論付けられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.7.5 フルアジナム原体中混在物- のマウスにおける脳及び眼に対する影響確認試験  
-マウスの年齢による感受性差 (資料 No. T-7.11)

試験機関

報告書作成年 1998年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論：混在物を 3 週齢～24 週齢のマウスに単回経口投与したとき、脳の白質空胞化の程度及び頻度は 3 週齢から 10 週齢の間で若干増加したが、それ以降はほとんど変わらなかった。視神経の空胞化は脳の白質空胞化より軽度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

- 8.9.7.6 フルアジナム原体中混在物- のマウスとラットにおける  
脳の白質空胞化発現の感受性差確認試験－動物種差による感受性差 (資料 No. T-7.12)

試験機関

報告書作成年 1998 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論：混在物<sup>1</sup> の 14 日間反復強制経口投与による脳毒性に関する雌ラットと雌マウスの感受性差は同等であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.7.7 フルアジナム原体中混在物- のマウスとラットにおける

脳の白質空胞化発現の感受性差確認試験－動物種差、年齢差による感受性差

(資料 No.T-7.13)

試験機関

報告書作成年 1998 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論：混在物- の脳毒性に関するラットとマウスの感受性差は同等であった。なお、ラット、マウス共に、3週齢よりも10週齢のほうが感受性は若干高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.6.8 フルアジナム原体中混在物- のマウス、ラット、イヌにおける神経毒性感受性比較

(資料 No. T-7.14)

試験機関

報告書作成年 1998年 [GLP 対応]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

考察及び結論:混在物<sup>1)</sup> の 2.0 mg/kg/day の 3 日間反復強制経口投与による脳毒性に関し雄マウス、雄ラット及び雄イヌの感受性は同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.10 代謝物の毒性

### 8.10.1 のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-1)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : CFLP 系マウス、1 群雄雌 5 匹、投与時 4~6 週齢、体重 21~25 g

試験期間 : 単回投与 14 日間観察

試験方法 : 検体を 1% w/v メチルセルロース水溶液に懸濁して、20 mL/kg の用量で 5000 mg/kg をマウスに経口投与し、投与後 14 日間観察した。

試験項目 : 生死及び中毒症状を毎日観察し、体重を 1 日目 (投与当日)、8 日目及び 15 日目に測定した。14 日後 (15 日目) に生存動物を屠殺して肉眼病理学的検査を行った。

試験結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄共 >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 1 日目に発現し、投与 2 日目に消失
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

観察期間中に死亡例はなく、中毒症状として、投与 1 日目に全動物に立毛がみられたが、2 日目には回復し、他に異常はなかった。

体重については検体投与に関連した影響は認められなかった。

剖検所見では検体投与に起因するとみられる変化は全く認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.2 の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No. TM-2)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*)TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性酵素系 (S9Mix)の存在下又は非存在下で、Ames 等の方法で復帰変異誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用い、試験は 2 連制で行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。

検体は S9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN<sub>3</sub>, ICR-191 では S9Mix の無添加において、また 2AA では S9Mix の添加において復帰変異コロニー数の著しい増加が認められた。

結 論 : 検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において復帰変異誘起性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

の復帰変異試験結果

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照	0	-	82	8	35	20	
検体	313	-	86	4	25	19	
	625	-	77	3	30	13	
	1250	-	73	2	37	7	
	2500	-	82	5	29	8	
	5000	-	55*	4*	24	5*	
溶媒対照	0	+	106	9	40	25	8
検体	313	+	104	8	44	25	4
	625	+	98	6	58	23	5
	1250	+	103	6	46	16	2
	2500	+	99	3	35	19	3
	5000	+	90	4	36	19	1*
陽性 対照	AF-2	0.01	-	409		168	
		0.1	-			617	
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-	188			
	2-AA	0.5	+	1839		511	
		1	+				
		2	+	397		417	
	20	+			1369		

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート
			TA1537
溶媒対照	0	-	9
検体	31.3	-	12
	62.5	-	5
	125	-	2
	250	-	2
	500	-	1*
	1000	-	0*
陽性対照 ICR-191	1	-	1045

コロニー数はプレート2枚の平均値を示す。

\* : 菌の生育阻害を認める。

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

NaN<sub>3</sub> : sodium azide

ICR-191 : acridine halmustard

2AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.3 のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-3)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : CFLP 系マウス、1 群雄雌 5 匹、投与時 4~6 週齢、体重 16~26 g

試験期間 : 単回投与 14 日間観察

試験方法 : 検体を 1% w/v メチルセルロース水溶液に懸濁し 20 mL/kg の容量で、予備試験結果に基づいて決めた下表の用量を各用量群のマウスに経口投与し、投与後 14 日間観察した。

試験項目 : 生死及び中毒症状を毎日観察し、体重を 1 日目 (投与日)、8 日目及び 15 日目に測定し、観察期間中に死亡した動物についてはその都度、生存動物については投与 14 日後 (15 日目)に屠殺して、肉眼病理学的検査を行った。死亡データから probit 解析法によって LD<sub>50</sub> 値を求めた。

試験結果 :

	雄				雌			
投与量 (mg/kg)	160	250	400	640	160	250	400	640
死亡率 (死亡数/供試数)	0/5	0/5	4/5	5/5	0/5	2/5	3/5	5/5
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	349				317			
LD <sub>0</sub> (mg/kg)	250				160			

症状 ; 160 mg/kg 雄雌共投与後 1 時間以内から立毛、円背位、四肢蒼白がみられたが、2 日目及び 3 日目までに回復した。

250 mg/kg 投与後 1 時間以内から立毛、円背位、あひる歩行、嗜眠、呼吸数減少、眠瞼下垂、四肢蒼白がみられたが生残例は、3~4 日目までに回復した。雌 1 匹に流涙増加と横揺運動が、死亡雌 1 匹に運動失調と疲憊もみられた。

400 mg/kg 投与後 1 時間以内から立毛、円背位、あひる歩行、嗜眠、呼吸数減少、眠瞼下垂、四肢蒼白、運動失調、もがきがみられ、雄 1 匹に流涙増加もみられたが、生残例では 4 日目までに回復した。死亡例には疲憊もみられた。

640 mg/kg 投与後 1 時間以内から立毛、嗜眠、呼吸数減少、眠瞼下垂、四肢蒼白、運動失調、疲憊、もがきがみられ、2 日目までに全例が死亡した。

体 重 ; 死亡例はほとんど体重低下を示したが、生残例はすべて 8 日目には体重増加を示した。

肉眼病理学的検査 ;

死亡例及び生存例ともに異常は認められなかった。但し、640 mg/kg 群の雌 1 匹が投与手技の失敗によって死亡したことが判明した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.4 の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No. TM-4)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*)TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性酵素系 (S9 Mix)の存在下又は非存在下で、Ames 等の方法で復帰変異誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用い、試験は 2 連制で行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。

TA98 の S9Mix を添加しない試験で、復帰変異コロニー数が溶媒対照値の 2 倍を僅かに上回り、用量依存性もみられたが、その他のすべての場合においては復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN<sub>3</sub>、ICR-191 では S9Mix の無添加において、また 2AA では S9Mix の添加において復帰変異コロニー数の著しい増加が認められた。

結論 : 本試験条件下において検体は代謝活性化系が存在しない場合に、サルモネラ菌 TA98 に対してのみ軽度の復帰変異誘起性があるものと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

の復帰変異試験結果

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照	0	-	89	10	43	24	8
検体	125	-	81	11	39	22	7
	250	-	96	5	35	22	7
	500	-	105	10	36	37	10
	1000	-	91	6	33	54	6
	2000	-	37*	3*	31	48	0*
	4000	-	0*	0*	20*	0*	0*
溶媒対照	0	+	90	9	48	31	12
検体	156	+	83	7	58	33	9
	313	+	90	8	65	28	8
	625	+	105	7	63	34	11
	1250	+	90	5	65	52	5
	2500	+	35*	3*	61	29	0*
	5000	+	0*	0*	28*	0*	0*
陽性 対照	AF-2	0.01	-	464	271	546	
		0.1	-				
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-	225			
		1	-				
	ICR-191	1	-				1047
	2-AA	0.5	+	1484	323	1389	
		1	+				
2		+					
20		+					

コロニー数はプレート2枚の平均値を示す。

\* : 菌の生育阻害を認める。

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

NaN<sub>3</sub> : sodium azide

ICR-191 : acridine halmustard

2AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.5 の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No. TM-5)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。1回目試験 (用量設定)はプレート法、2回目および3回目試験はプレインキュベーション法で実施し、いずれも3連性で行った。

試験結果： 結果を次表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらずいずれの菌株、いずれの用量においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN<sub>3</sub> 及び ICR-191 では S9 Mix の非添加で、また 2AA では S9 Mix の添加により全ての検定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突然変異誘発性は陰性であると判断される。

1 回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 $\pm$ 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	152 $\pm$ 13	33 $\pm$ 4	73 $\pm$ 10	39 $\pm$ 2	22 $\pm$ 9
検体	5	-	143 $\pm$ 8	20 $\pm$ 11	87 $\pm$ 6	42 $\pm$ 7	15 $\pm$ 6
	15	-	143 $\pm$ 26	14 $\pm$ 2	87 $\pm$ 8	44 $\pm$ 2	17 $\pm$ 2
	50	-	143 $\pm$ 11	34 $\pm$ 6	86 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	15 $\pm$ 5
	150	-	147 $\pm$ 9	26 $\pm$ 7	84 $\pm$ 12	38 $\pm$ 7	25 $\pm$ 6
	500	-	131 $\pm$ 12	26 $\pm$ 3	73 $\pm$ 21	35 $\pm$ 4	16 $\pm$ 4
	1500	-	129 $\pm$ 10	20 $\pm$ 1	65 $\pm$ 4	30 $\pm$ 9	0 $\pm$ 0*
	5000	-	29 $\pm$ 26*	0 $\pm$ 0*	48 $\pm$ 7	5 $\pm$ 3*	0 $\pm$ 0*
対照 (DMSO)	0	+	173 $\pm$ 23	25 $\pm$ 2	86 $\pm$ 5	66 $\pm$ 7	34 $\pm$ 13
検体	5	+	186 $\pm$ 9	17 $\pm$ 4	89 $\pm$ 11	57 $\pm$ 11	31 $\pm$ 1
	15	+	190 $\pm$ 8	25 $\pm$ 5	85 $\pm$ 6	53 $\pm$ 3	26 $\pm$ 9
	50	+	200 $\pm$ 9	16 $\pm$ 1	89 $\pm$ 10	60 $\pm$ 19	39 $\pm$ 2
	150	+	190 $\pm$ 26	18 $\pm$ 2	80 $\pm$ 15	60 $\pm$ 16	33 $\pm$ 8
	500	+	208 $\pm$ 15	21 $\pm$ 1	85 $\pm$ 6	55 $\pm$ 4	35 $\pm$ 6
	1500	+	202 $\pm$ 8	24 $\pm$ 2	52 $\pm$ 5	53 $\pm$ 1	36 $\pm$ 5
	5000	+	152 $\pm$ 5	8 $\pm$ 2	46 $\pm$ 4	44 $\pm$ 7	6 $\pm$ 1*
AF-2	0.05	-			381 $\pm$ 59		
ENNG	5	-					
NF	1	-				385 $\pm$ 32	
NaN <sub>3</sub>	0.5	-	579 $\pm$ 65	478 $\pm$ 68			
9AC	50	-					484 $\pm$ 59
AA	2	+		249 $\pm$ 58			
	10	+			575 $\pm$ 42		
B[a]P	5	+	625 $\pm$ 43			686 $\pm$ 40	309 $\pm$ 19

\* : 菌の生育阻害

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

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

NF : 2-nitrofluorene

9AC : 9-aminoacridine

AA : 2-aminoanthracene

B[a]P : benzo[a]pyrene

2 回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 $\pm$ 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	180 $\pm$ 10	16 $\pm$ 1	47 $\pm$ 4	24 $\pm$ 6	10 $\pm$ 3
検体	5	-	/	17 $\pm$ 7	/	30 $\pm$ 15	12 $\pm$ 4
	15	-	/	23 $\pm$ 1	/	31 $\pm$ 7	16 $\pm$ 1
	50	-	168 $\pm$ 14	13 $\pm$ 2	88 $\pm$ 25	36 $\pm$ 7	15 $\pm$ 2
	150	-	164 $\pm$ 4	21 $\pm$ 8	76 $\pm$ 1	34 $\pm$ 4	15 $\pm$ 1
	500	-	110 $\pm$ 10	17 $\pm$ 6*	90 $\pm$ 10	11 $\pm$ 4*	0 $\pm$ 0*
	1500	-	48 $\pm$ 5	/	86 $\pm$ 17	/	/
	5000	-	0 $\pm$ 0*	/	51 $\pm$ 18	/	/
対照 (DMSO)	0	+	166 $\pm$ 13	19 $\pm$ 6	81 $\pm$ 5	52 $\pm$ 13	42 $\pm$ 7
検体	50	+	167 $\pm$ 26	18 $\pm$ 5	66 $\pm$ 5	38 $\pm$ 7	44 $\pm$ 4
	150	+	153 $\pm$ 25	14 $\pm$ 2	66 $\pm$ 6	50 $\pm$ 7	43 $\pm$ 2
	500	+	165 $\pm$ 8	17 $\pm$ 5	59 $\pm$ 13	52 $\pm$ 2	42 $\pm$ 8
	1500	+	153 $\pm$ 11	17 $\pm$ 6	49 $\pm$ 7	50 $\pm$ 3	35 $\pm$ 8
	5000	+	78 $\pm$ 6*	0 $\pm$ 0*	24 $\pm$ 6*	17 $\pm$ 4*	0 $\pm$ 0*
AF-2	0.05	-			731 $\pm$ 162		
ENNG	5	-					
NF	1	-				230 $\pm$ 71	
NaN <sub>3</sub>	0.5	+	578 $\pm$ 54	280 $\pm$ 56			
9AC	50	+					748 $\pm$ 70
AA	2	+		153 $\pm$ 122			
	10				253 $\pm$ 60		
B[a]P	5		789 $\pm$ 85			622 $\pm$ 65	321 $\pm$ 41

TA1535、TA98 及び TA1537 の S9Mix 非存在試験は 3 回目試験の結果を示した。

\* : 菌の生育阻害

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

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

NF : 2-nitrofluorene

9AC : 9-aminoacridine

AA : 2-aminoanthracene

B[a]P : benzo[a]pyrene

8.10.6 の雄マウスを用いた小核試験 (資料 No. TM-6)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : BDF1 系マウス、雄、1 群 6 匹、投与時 6 週齢

試験方法 : 検体を 0.5 % CMC-Na に懸濁し、100、200 及び 400 mg/kg の投与レベルで単回経口投与した。なお、対照群に 0.5 % CMC-Na 水溶液を同様に投与した。この 3 用量群は投与 24 時間後に、更に最高用量群は投与の 16, 48, 及び 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドガラス上にメタノール固定後ギムザ液で染色し骨髄標本を作製した。溶媒対照群は投与後 16、24、48 及び 72 時間後に動物を屠殺して骨髄標本を作製した。陽性対照群はマイトマイシン C の 2 mg/kg を単回腹腔内投与し 24 時間後に動物を屠殺して骨髄標本を作製した。  
各標本について 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。同時に正染性赤血球数を計数して全赤血球中に占める多染性赤血球数の割合を求めた。

試験結果 : 結果を次表に示した。

100 及び 400 mg/kg 群で途中死亡が認められた。いずれの投与群においても溶媒対照群と比べて小核を有する多染性赤血球の出現頻度に統計学的に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球が有意に増加した。

結論 : 以上の試験結果から、本試験条件下において検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発させず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

の小核試験結果

薬物	用量 (mg/kg)	採取時間 (時間)	動物数 (匹)	小核出現頻度(%) (平均値±SD)	多染性赤血球の割合(%) (平均値±SD)
0.5% CMC-Na	0	16	6	0.27±0.12	49.6±8.41
		24	6	0.25±0.10	51.4±3.23
		48	6	0.22±0.21	50.3±7.14
		72	6	0.13±0.15	58.2±5.86
検 体	100	24	5 <sup>a</sup>	0.16±0.09	42.8±4.63
	200	24	6	0.13±0.14	46.3±9.92
	400	16	4 <sup>b</sup>	0.08±0.10	48.5±8.83
		24	6 <sup>b</sup>	0.15±0.14	45.2±10.61
		48	5 <sup>b</sup>	0.06±0.09	48.4±7.52
		72	5 <sup>b</sup>	0.04±0.05	53.8±6.61
MMC	2	24	6	3.88±1.03**	43.3±4.69

MMC：マイトマイシンC

<sup>a</sup>：1例途中死亡

<sup>b</sup>：400 mg/kg 群 27 匹中 7 例が途中死亡した。

\*\*：p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.7 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-7)

試験機関

報告書作成年 1991年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : SD (CD)系ラット、1群雄雌各5匹、投与時6週齢、  
体重雄 175~195 g、雌 126~152 g

試験期間 : 単回投与後 14 日間観察

試験方法 : トウモロコシ油を媒体として用い、12.5 %の濃度に調製した。用量変換による投与容量で一晩絶食後に経口投与

試験項目 : 臨床症状及び生死を 14 日間観察。投与直前、1、3、5、7 及び 14 日目に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物について肉眼病理学的検査を実施した。

試験結果 :

投与量 (mg/kg)	雌雄共	2625.9、3413.7、4437.8、5769.2、7500				
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界幅)	雄	3892.2 (3255.1~4652.5)				
	雌	4492.5 (3676.0~5481.2)				
死亡開始終了時間	雄	投与後 1 時間目~2 日目				
	雌	投与後 1 時間目~2 日目				
症状発現消失時間	雄	投与後 40 分目に発現、生存例では 5 日目までに消失				
	雌	投与後 40 分目に発現、生存例では 8 日目までに消失				
体重	雌雄共	5 日目まで減少又は抑制、その後順調に増加				
LD <sub>0</sub> (mg/kg)	雌雄共	2625.9				
死 亡						
投与量 (mg/kg)		2625.9	3413.7	4437.8	5769.2	7500
死亡数	雄	0/5	1/5	4/5	5/5	5/5
	雌	0/5	1/5	1/5	5/5	5/5

臨床症状 ; 軟便、水様便、流涎、自発運動の減少、腹臥位、側臥位、背臥位、呼吸粗大、呼吸困難、呼吸微弱、チェーンストーク呼吸、体温降下、呼吸促進、流涙、失調性歩行等の中毒症状がみられた。生存例では軟便、水様便、自発運動の減少がみられたが、雄では 5 日目まで、雌では 8 日目までに回復した。死亡は 2 日目まで起った。

剖検所見 ; 途中死亡例の剖検では、目、口、鼻周囲黄赤色の汚れ及び下腹部の黄色の汚れがほぼ全例に観察されたが、臓器には異常はなかった。生存例では雌の少数例に前胃粘膜の肥厚が認められたが、他に異常はなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.8 の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No. TM-8)

試験機関

報告書作成年 1991年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験期間 : 1991年3月25日~1991年3月28日

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA102の5株及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2*uvrA* を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性酵素系 (S9Mix)の存在下又は非存在下で、Ames等の方法で復帰変異誘発性を検定した。

検体はDMSOに溶解して用い、試験は2連制で行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。

検体はS9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、NaN<sub>3</sub>、2NF、9AA及びMMCではS9Mixの無添加において、またBaP及び2AAではS9Mixの添加において復帰変異コロニー数の著しい増加が認められた。

結論 : 検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において復帰変異誘起性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

の復帰変異試験結果 (予備試験)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	109	8	171	14	28	8
検体	50	-	112	10	196	14	28	9
	100	-	119	10	198	13	27	6
	500	-	125	10	200	13	32	10
	1000	-	125	5	133	13	23	7
	5000	-	0*	0*	0*	0	0*	0*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	119	10	193	17	31	12
検体	50	+	117	9	223	13	26	10
	100	+	118	6	231	16	25	10
	500	+	131	9	214	16	33	13
	1000	+	130	5	205	15	31	8
	5000	+	0*	0*	56*	0	0*	0*
陽性 対照	AF-2	0.01				77		
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		224			
	MMC	0.5	-		1052			
	2NF	1	-				325	
	9-AA	80	-					879
	BaP	5	+	1036		698		440
	2-AA	2	+		302			
2-AA	20	+				916		

コロニー数はプレート2枚の平均値を示す。

\*: 菌の生育阻害を認めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

の復帰変異試験結果 (本試験)

薬物	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/ $\text{プレート}$					
			塩基対置換型				フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	119	13	190	13	25	9
検体	156	-	144	11	195	11	32	6
	313	-	131	15	199	13	34	8
	625	-	127	15	158	17	22	11
	1250	-	72	4	90	19	11	2
	2500	-	0*	4*	12*	9	5*	0*
	5000	-	0*	0*	0*	0*	0*	0*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	113	10	183	16	31	13
検体	156	+	139	13	91	12	33	10
	313	+	146	10	198	14	36	10
	625	+	131	17	167	17	37	7
	1250	+	143	6	127	12	13	3
	2500	+	75*	3*	85*	16	7*	2*
	5000	+	62*	0*	31*	8*	0*	0*
陽性 対照	AF-2	0.01				87		
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		251			
	MMC	0.5	-			894		
	2NF	1	-				335	
	9-AA	80	-					794
	BaP	5	+	783		725		329
	2-AA	2	+		297			
2-AA	20	+				1026		

コロニー数はプレート2枚の平均値を示す。

\* : 菌の生育阻害を認めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.9 のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-9)

試験機関  
報告書作成年 1995 年

検体純度 :

試験動物 : Crl:CD-1 系マウス、投与時 5 週齢、平均体重雄 29.7 g 雌 25.8 g、1 群雌雄 5 匹

試験期間 : 1 回投与後 14 日間観察

試験方法 : 0.5 %カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC-Na)水溶液を媒体として用い、  
10 または 20 mL/kg の容量で 4~5 時間絶食後に経口投与した。

試験項目 : 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14 日目に  
体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与量 (mg/kg)	雌雄共 200、1000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄 >1000 雌 >1000
死亡開始時間及び終了時間	---
症状発現時間及び消失時間	雌雄共 投与 19 時間後から 2 日後
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 200 雌 200
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 1000

死亡

投与量 (mg/kg)	200	1000	
死亡数	雄	0/5	0/5
	雌	0/5	0/5

臨床症状 ; 1000 mg/kg 群の雌雄に粗毛が認められたが、2 日目には消失した。14 日後の肉眼的  
病理検査において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石原産業株式会社にある。

8.10.10 の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No. TM-10)

試験機関

報告書作成年 1995 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。  
検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験はプレート法で行い、溶媒対照には 3 枚、検体及び陽性対照には 2 枚のプレートを用いた。

試験結果 : 結果を次表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN<sub>3</sub>、ENNG 及び ICR-191 では S9 Mix の非添加で、また 2AA 及び BP では S9 Mix の添加により全ての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (平均値*)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	80	8	23	32	5
検体	313	-	86	7	25	47	4
	625	-	77	12	29	29	4
	1250	-	85	4	22	24	6
	2500	-	90	5	22	33	4
	5000	-	100	5	26	46	6
溶媒対照 (DMSO)	0	+	83	9	25	38	5
検体	313	+	82	9	26	36	7
	625	+	97	7	23	47	9
	1250	+	98	8	34	42	6
	2500	+	84	5	30	49	6
	5000	+	91	7	29	43	9
陽性 対照	AF-2	0.01	-	320			
		0.1	-			456	
	NaN <sub>3</sub>	0.5	-		178		
	ENNG	2	-			327	
	ICR-191	1	-				157
	2-AA	2	+		149		
		10	+			890	
BP	5	+	838			436	112

\*: 溶媒対照は3枚、検体及び陽性対照は2枚のプレートの平均を示す。

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

NaN<sub>3</sub>: Sodium azide

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

ICR-191: Acridine halmustard

2-AA: 2-Aminoanthracene

BP: Benzo(a)pyrene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.11

のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-11)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : SD 系ラット、投与時 4~6 週齢、体重雄 98~150 g 雌 110~133 g、1 群雌雄 5 匹

試験期間 : 1 回投与後 14 日間観察

試験方法 : 1%メチルセルロース水溶液を媒体として用い、20 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与

試験項目 : 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14 日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与量 (mg/kg)	雌雄共 3200、4000、5000、6400				
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄	>5000			
	雌	>5000			
死亡開始時間及び終了時間	雄	投与 5 日後			
	雌	投与 24 時間後から 4 日間後			
症状発現時間及び消失時間	雌雄共 投与直後から 8 日後				
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2500				
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 3200				
死亡					
投与量 (mg/kg)		3200	4000	5000	6400
死亡数	雄	0/5	1/5	0/5	0/5
	雌	0/5	1/5	1/5	3/5

予備試験として、1 群 2 匹の雌雄ラットを用いて、800 及び 2500 mg/kg の用量で実施した。その結果、何れの投与群も死亡は認められなかった。

臨床症状 : 投与における中毒症状として、立毛と異常行動 (背湾曲姿勢)、異常歩行 (蹠踉)、および下痢が全てのラットで 4 時間以内に認められた。

1 日目における他の臨床症状は 4000 mg/kg 以上の投与群における昏睡、3200 mg/kg 群の 1 匹の雄および 4000 mg/kg 以上投与群における四肢蒼白、3200 mg/kg および 6400 mg/kg 群の全ての動物における投与後の唾液分泌亢進その他に観察された臨床症状として、呼吸数の減少が高用量群の雄 1 匹と雌 1 匹に 2 日目もしくは 4 日目に認められた。

生存動物での投与からの回復は外観や行動から判断して 3200 mg/kg 群は 4 日目、4000 mg/kg 群もしくはそれ以上の投与群は 6~8 日目に認められた。

5.0 g/kg 群の雄 1 匹において期間中に体重の減少が認められたが、その他の生存動物は予想されていた増体量を 8~15 日の間に達成した。

剖検所見 : 主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.12

の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. TM-12)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。試験は2連制とし、プレート法で行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。

TA100及びTA98では、S9 Mixの有無にかかわらず用量-相関性を伴って復帰変異コロニー数が著しく増加した。また、TA1535及びTA1537ではS9 Mixの有無にかかわらず、大腸菌ではS9 Mix非添加で復帰変異コロニー数が溶媒対照の2倍以上に増加した。

一方、陽性対照として用いたAF-2、NaN<sub>3</sub>及びICR-191ではS9 Mixの非添加で、また2AAではS9 Mixの添加により全ての検定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突然変異誘発性を有するものと判断される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

TA100 及び TA1535 の試験成績 (2枚の平均)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9Mixの有無	復帰変異コロニー数/プレート	
			塩基対置換型	
			TA100	TA1535
溶媒対照	0	-	82	8
検体	0.1	-	76	7
	0.3	-	84	11
	1	-	116	5
	3	-	295	9
	10	-	2137	39
	30	-	3627	111
	90	-	0*	11*
溶媒対照	0	+	106	9
検体	1	+	83	10
	3	+	99	11
	10	+	103	8
	30	+	1903	41
	100	+	2371	59
	300	+	0*	0*
AF-2	0.01	-	409	
NaN <sub>3</sub>	0.5	-		188
2AA	1	+	1839	
	2	+		397

\*: 菌の生育阻害

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

NaN<sub>3</sub>: sodium azide

2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

TA98 及び TA1537 の試験成績 (2 枚の平均)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート	
			フレームシフト型	
			TA98	TA1537
溶媒対照	0	-	20	6
検体	12.5	-	33	6
	25	-	102	17
	50	-	332	18
	100	-	569	3*
	200	-	347	0*
	400	-	20*	0*
溶媒対照	0	+	25	8
検体	12.5	+	25	11
	25	+	36	3
	50	+	132	11
	100	+	358	21
	200	+	558	3*
	400	+	155	0*
AF-2	0.1	-	617	
ICR-191	1	-		765
2AA	0.5	+	511	
	2	+		417

\*: 菌の生育阻害

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

ICR-191: acridine halmustard

2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

WP2 *uvrA* の試験成績 (2枚の平均)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9Mixの有無	復帰変異コロニー数/プレート
			塩基対置換型
			WP2 <i>uvrA</i>
溶媒対照	0	-	30
検体	157	-	31
	313	-	64
	625	-	83
	1250	-	41
	2500	-	16*
	5000	-	3*
溶媒対照	0	+	54
検体	157	+	52
	313	+	52
	625	+	60
	1250	+	62
	2500	+	15*
	5000	+	0*
AF-2	0.01	-	229
2AA	20	+	1383

\*: 菌の生育阻害

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

2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.13 のラット肝細胞を用いる  
in vivo 不定期 DNA 合成 (UDS)試験 (資料 No. TM-13)

試験機関  
報告書作成年 2006 年 [GLP 対応]

検体純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley 系ラット (8 週齢、雄、体重 284~318 g)、1 群 3 匹

試験方法 : 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na に懸濁し、600 及び 2000 mg/kg の投与レベルで 1 回強制経口投与した。なお、対照群に 0.5%カルボキシメチルセルロース-Na を同様に投与した。

全ての生存動物は、投与 2 及び 16 時間後に麻酔下で肝コラゲナーゼ灌流法によって肝細胞を遊離した。遊離肝細胞をプラスチック製スライドグラスに播種し、DNA 修復合成を放射能標識するためにトリチウムラベルしたチミジンを加えて 4 時間培養し、更に、非標識チミジンを添加して 18 時間培養した。固定後オートラジオグラムを作製し、1 匹当たり 100 個の細胞を観察して肝細胞におけるネットグレイン数及び修復細胞率を評価した。結果の評価は、検体投与群において平均ネットグレイン数が 5 以上であり、かつ平均修復細胞率が 20%以上の群が見られる場合を陽性と判定した。

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

検体のいずれの投与群においても死亡は認められなかった。検体はいずれの投与量及びいずれのサンプリング時間においても、平均ネットグレイン数及び平均修復細胞率は溶媒対照群と同程度の値を示した。一方、陽性対照群の dimethylnitrosoamine 及び 2-acetylaminifluorene では明らかな UDS の誘発が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体はラットの肝臓に対して DNA 損傷を誘発しないと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ラットを用いる *IN VIVO-IN VITRO* 肝・不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

標本作製時間	群	投与量 (mg/kg)	動物数	細胞生存率 (%) (平均±SD)	ネットゲイン数 (平均±SD)	修復細胞率 (%) (平均±SD)
2	溶媒対照 (0.5%CMC-Na)	0	3	84.3 ± 4.1	-2.11 ± 0.26	0.7 ± 0.6
	検体	600	3	80.5 ± 5.6	-1.53 ± 0.22	1.0 ± 1.0
		2000	3	78.6 ± 10.9	-2.05 ± 0.15	1.3 ± 0.6
	陽性対照 (DMN)	10	3	81.7 ± 6.9	10.17 ± 0.13	96.3 ± 1.5
16	溶媒対照 (0.5%CMC-Na)	0	3	82.3 ± 5.5	-2.02 ± 0.13	1.7 ± 0.6
	検体	600	3	89.8 ± 1.2	-1.92 ± 0.11	0.7 ± 0.6
		2000	3	91.4 ± 3.4	-2.25 ± 0.31	0.3 ± 0.6
	陽性対照 (2-AAF)	50	3	77.6 ± 7.1	10.18 ± 0.67	97.0 ± 1.7

DMN : dimethylnitrosoamine

2-AAF : 2-acetylaminifluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.11 製剤の毒性

### 8.11.1 水和剤

#### 8.11.1.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤

供試動物： SD系ラット、投与時5週齢、体重雄133~151g、雌105~131g、1群雄雌各6匹

試験方法： 検体を精製水で希釈し、10 mL/kgの容量で17時間絶食後に経口投与

試験項目： 臨床症状及び生死を14日間観察。投与直前、投与後2、4、7及び14日目に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物を剖検し、異常組織を病理組織学的に検査した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	雌雄共	0, 1323, 1666, 2100, 2646, 3333, 4200
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄	3607 (2862~5276)
	雌	2472 (2143~2846)
死亡開始時間及び終了時間	雄	投与後30時間以内に終了
	雌	投与後6時間目~6日目
症状発現時間及び消失時間	雄	投与後1時間目~6日目
	雌	投与後の30分目~6日目
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄	2100
	雌	1666
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄	2100
	雌	1666

#### 死 亡

投与量 (mg/kg)		0	1323	1666	2100	2646	3333	4200
死亡数	雄	0/6	0/6	0/6	0/6	2/6	2/6	4/6
	雌	0/6	0/6	0/6	1/6	5/6	5/6	6/6

中毒症状としては、下痢、鼠径部の被毛汚染、自発運動の減少、流涎が認められた。また少数例に異常呼吸音、口吻部周囲の被毛汚染、振顫、眼周囲の赤褐色汚染、腹囲膨満及び立毛が認められた。体重については雄の1666~3333 mg/kg群で低値、雌の2646 mg/kg群で2日目に低値であった。

死亡例の剖検所見では、口吻部及び鼠径部被毛の褐色汚染、肝臓・心臓・肺のうっ血、胃粘膜の水腫が認められ、生存例では1323 mg/kg群の雌を除くすべての群の各性に胃粘膜の肥厚が認められた。

死亡例の病理組織学的検査では、肝臓・腎臓・心臓・肺のうっ血、胃の粘膜水腫が認められ、生存例では胃粘膜上皮の増殖、粘膜下織の細胞浸潤が認められた。少数例の胃に糜爛又は潰瘍が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.2 マウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤

供試動物： ICR系マウス、投与時5週齢、体重雄21.4~25.7g、雌17.7~20.7g、  
1群雄雌各6匹 (1638mg/kg群雄のみ5匹)

試験方法： 検体を精製水で希釈し、10mL/kg容量で17時間絶食後に経口投与

試験項目： 臨床症状及び生死を14日間観察。投与直前、投与後2、4、7及び14日目に体重を測定。  
死亡動物及び観察終了時の全生存動物を剖検し、異常組織を病理組織学的に検査した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	雄 0, 1638, 2048, 2560, 3200, 4000, 5000 雌 0, 3472, 4167, 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 3467 (2590~5158) 雌 2927
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与後6時間目~5日目(1例が14日目に死亡) 雌 投与後6時間目~3日目
症状発現時間及び消失時間	雄 投与後6時間目~2日目に発現 14日目までに消失 雌 投与後3時間目~24時間目に発現 6日目までに消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 < 1638 雌 < 3472
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 < 1638 雌 < 3472

死 亡

投与量 (mg/kg)	0	1638	2048	2560	3200	3472	4000	4167	5000	
死亡数	雄	0	1/5	1/6	1/6	3/6	—	3/6	—	5/6
	雌	0	—	—	—	—	3/6	—	1/6	2/6

—：実施せず

中毒症状は自発運動の減少が2048mg/kg群以上の雄に認められた。また少数例に皮温の低下、腹部膨満、陰莖脱、異常呼吸音、振顫、流涙及び麻痺が認められた。体重については、雄の4000mg/kg群で4日目に低値、雌では4167mg/kg群で7日目、並びに5000mg/kg群で2日目に低値を示した。

死亡例の剖検所見では、肝臓・腎臓・心臓及び肺のうっ血、胃粘膜の水腫または赤色巣、小腸内容物の褐色タール様化または粘膜様物の貯留が認められた。生存例では4000mg/kg群の雄1例における肝臓の白色巣の外には異常は認められなかった。

また、死亡例の病理組織学的検査では、肝臓の小葉中心性壊死、肝細胞の変性、腎臓・心臓・肺のうっ血、胃粘膜の水腫・潰瘍・糜爛が認められた。生存例の雄1例に肝臓の小葉中心性壊死及び石灰沈着が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

### 8.11.1.3 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤

供試動物： SD系ラット、投与時7週齢、体重雄133~151g、雌105~131g、1群雄雌各6匹

試験方法： 検体を精製水で希釈し、前日に剪毛したラットの背部中央の皮膚4×5cmの範囲に24時間閉鎖貼付。24時間後に貼付を除去し、投与液を精製水で除去した。

試験項目： 臨床症状及び生死を14日間観察。投与前、投与後2、4、7及び14日目に体重を測定。観察終了時に全動物を剖検した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 2000
体重	雄雌共 正常に増加
LD <sub>0</sub> (mg/kg)	雄雌共 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	皮膚の紅斑が投与後24時間目~6日目
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

観察期間中に死亡例はなく、中毒症状も全く認められなかった。

体重については検体投与に関連した影響は認められなかった。

剖検所見では検体投与に起因するとみられる変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に、投与24時間目から雄5匹及び雌全例に紅斑がみられたが6日目には消失した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.4 ウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-1.4)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤  
組成：フルアジナム原体  
鉍物質微粉、界面活性剤等

試験動物： New Zealand White 種雄ウサギ、適用時 5ヶ月齢、体重 3.327~3.785 kg、1群 6匹

試験期間： 単回適用 14日後まで観察

試験方法： 製剤をそのまま及び 1000 倍 (w/w)並に 2000 倍 (w/w)水懸濁液として用いた。  
検体 0.5 g を精製水で湿らせ、または検体 0.5mL を刈毛した動物の背中の皮膚 (2.5 cm 四方)に適用し、半閉塞貼付した。動物 1 匹あたり製剤は 2 箇所、希釈液はそれぞれ 1 箇所の暴露部位を設けた。4 時間暴露後に、皮膚に残った検体を水で拭き取った。

観察項目： 暴露終了の 1、24、48、72 時間及び 7、10、14 日後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、試験指針 (59 農蚕第 4200 号)に従って採点し皮膚一次刺激性インデックス (PCI)を求めて AFNOR (1982) の基準に従って評価した。

試験結果： 結果を次表に示した。

製剤適用部；貼付除去 1 時間後から全区画に極く軽度の紅斑と中～高度の浮腫が認められ、紅斑は 24 時間後から痂皮を伴う高度紅斑に増強した。7 日後から 5/6 例で痂皮脱落と 1/6 例で落屑が認められ、14 日後の 2/12 区画では皮膚への色素沈着及び非常に軽度の浮腫がみられた。皮膚一次刺激性インデックス (PCI)は 6.2 であった。

1000 倍水希釈液適用部；

貼付除去 1 時間後から 2/6 区画で非常に軽度の紅斑が認められたが、24 時間後には全て消失した。浮腫は認められなかった。

2000 倍水希釈液適用部；

貼付除去 1 時間後から 2/6 区画で非常に軽度の紅斑が認められたが、24 時間後には全て消失した。浮腫は認められなかった。

結 論： AFNOR (1982)の基準により、本試験条件下においてフロンサイド水和剤は、ウサギの皮膚に対して Severely irritant (中等度の刺激性)、その 1000 倍及び 2000 倍水希釈液は Non irritant (非刺激性)と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンサイド水和剤の皮膚一次刺激性試験結果

群	観察項目	最高評点*	観察時間ごとの平均評点						
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日	10日	14日
製 剤	紅斑/痂皮	4	1.0	4.0	4.0	4.0	痂皮脱落または落屑		
	浮腫	4	3.6	3.1	2.8	2.3			
	合 計		55	85	82	76			
	平 均		4.6	7.1	6.8	6.3			
	PCI		6.2						
1000 倍 希釈液	紅斑/痂皮	4	0.3	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
	合 計		2	0	0	0	0	0	0
	平 均		0.3	0	0	0	0	0	0
2000 倍 希釈液	紅斑/痂皮	4	0.3	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
	合 計		2	0	0	0	0	0	0
	平 均		0.3	0	0	0	0	0	0

\*：判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 8.11.1.5 ウサギにおける眼一次刺激性試験 (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤  
組成：フルアジナム原体  
鉍物質微粉、界面活性剤等

供試動物： New Zealand White 種雄ウサギ、適用時 3ヶ月齢、体重 2.887~3.785 kg、18匹

試験期間： 単回適用 21日後まで観察

試験方法： 試験は製剤そのままを用いた試験と 1000倍水希釈液を用いた試験とを実施した。  
18匹の動物を下記の如く割当て、左眼結膜嚢内に製剤 0.1 g 又は 1000倍水希釈液 0.1 mL を適用した。洗眼群-1 では適用 2分後に洗眼群-2 では適用 30秒後に各々微温湯により洗眼した。右眼は全て無処理対照とした。

製剤	—	非洗眼群	(6匹)
製剤	—	洗眼群-1	(3匹)
製剤	—	洗眼群-2	(3匹)
1000倍水希釈液	—	非洗眼群	(6匹)

観察項目： 適用の 1、24、48、72、96時間後及び 7、10、14、18、21日後に角膜、虹彩ならびに結膜の刺激性変化を観察し、Draize (1959)の基準に従って採点し、AFNOR (1982)の基準に基づいて刺激性を評価した。

試験結果： 結果を次表に示した。

製剤・非洗眼群；

角膜では、適用 24時間後から混濁が認められ、白濁にまで増強したが、21日後までに虹彩を認める程度まで回復した。血管新生は 96時間後から 21日後にかけて全例に認められた。虹彩では、適用 24時間後から 10日後にかけて全例に充血が認められたが、14日後までに全て消失した。結膜では、適用 1時間後から全例に明らかな充血が認められ、24時間後から増強したが 21日後までに明らかな充血に回復した。結膜の点状出血が適用 1時間後から 24時間後にかけて全例に認められたが、18日後までに全て消失した。眼瞼分泌物が適用 1時間後から全例にみられたが、14日後までに全て消失した。結膜壊死が適用 24時間後から全例に認められたが、21日後までに全て消失した。内眼角周囲から下眼瞼にわたる脱毛が 72時間後から 10日後にかけて全例にみられ、2例を除き 21日後までに毛生した。

製剤・洗眼群；非洗眼群に比較して全般的に症状の軽減が認められた。

1000倍水希釈液・非洗眼群；

刺激性反応を認めなかった。なお、体重推移は、途中一部の動物に体重減少がみられたが、いずれの動物も一般状態は良好であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結論： フロンサイド水和剤の非洗浄群における平均評点 (MOI)の最大値 (AOI)は 85.8 であり、7日後の平均評点 (MOD)は 23.3 であった。

AFNOR (1982)の評価基準によると、本試験条件下においてフロンサイド水和剤 50 はウサギの眼に対して Extremely irritant と評価された。眼洗浄を行うことにより症状の軽減がみられた。1000 倍水希釈液では刺激性反応を認めなかったことから Non irritant と評価された。

フロンサイド水和剤の眼一次刺激性試験結果

群	動物数	観察項目	最高評点*	観察時間ごとの平均評点									
				時間					日				
				1	24	48	72	96	7	10	14	18	21
製剤 非洗浄群	6匹	角膜混濁 程度 <sup>A</sup>	4	0	1.0 <sup>#</sup>	1.8	4.0	4.0	3.3	2.5	1.7	1.5	1.2
		面積 <sup>B</sup>	4	0	2.0 <sup>#</sup>	2.0	3.3	2.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
		虹彩 <sup>C</sup>	2	0	1.0 <sup>#</sup>	1.0	0.8	0.8	0.3	0.2	0	0	0
		結膜 発赤 <sup>D</sup>	3	1.0	2.0	2.0	1.5	1.5	1.2	1.2	1.2	1.0	1.0
		浮腫 <sup>E</sup>	4	1.7	3.8	3.5	3.0	2.2	1.2	1.3	0.7	0	0
		分泌物 <sup>F</sup>	3	2.2	3.0	3.0	2.8	0.7	0.2	0.2	0	0	0
加重評点の平均(MOD)**			110	9.7	20.2	40.3	85.5	62.8	23.3	18.7	12.0	9.5	7.8
製剤 洗浄群1	3匹	角膜混濁 程度 <sup>A</sup>	4	0.3	1.0	2.0	2.0	2.0	1.3	0.3	0	0	0
		面積 <sup>B</sup>	4	0.3	3.3	1.7	1.7	1.0	1.0	0.3	0	0	0
		虹彩 <sup>C</sup>	2	0	1.0	0.7	0	0	0	0	0	0	0
		結膜 発赤 <sup>D</sup>	3	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3
		浮腫 <sup>E</sup>	4	2.0	3.0	2.0	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3	0	0
		分泌物 <sup>F</sup>	3	2.0	3.0	2.3	1.0	0	0	0	0	0	0
加重評点の平均(MOD)**			110	11.7	37.7	30.7	22.7	14.0	10.0	4.3	2.0	0.7	0.7
製剤 洗浄群2	3匹	角膜混濁 程度 <sup>A</sup>	4	0.7	1.0	2.0	2.0	2.0	1.0	0	0	0	0
		面積 <sup>B</sup>	4	0.7	3.0	1.3	1.0	1.0	0.7	0	0	0	0
		虹彩 <sup>C</sup>	2	0	1.0	0.7	0	0	0	0	0	0	0
		結膜 発赤 <sup>D</sup>	3	1.0	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.3	0.3
		浮腫 <sup>E</sup>	4	1.3	3.0	1.3	1.0	1.0	0	0	0	0	0
		分泌物 <sup>F</sup>	3	2.0	3.0	2.3	0.3	0	0	0	0	0	0
加重評点の平均(MOD)**			110	12.0	36.0	26.0	14.7	14.0	7.0	2.0	1.3	0.7	0.7
希釈液 非洗浄群	6匹	角膜混濁 程度 <sup>A</sup>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		面積 <sup>B</sup>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩 <sup>C</sup>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜 発赤 <sup>D</sup>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫 <sup>E</sup>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物 <sup>F</sup>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
加重評点の平均(MOD)**			110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

\* : 判定基準の最高評点

\*\* : Mean Ocular Irritation Index、 $[A \times B \times 5] + [C \times 5] + [(D + E + F) \times 2]$

# : 5匹が結膜浮腫のため判定不能であった。

8.11.1.6 モルモットにおける皮膚感作性試験—Maximization 法 (資料 No. TF-1.6)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤  
組成：フルアジナム原体  
鉍物質微粉、界面活性剤等

試験動物： Hartley 系雄モルモット、試験開始時 3~4 週齢、  
体重 262~332 g、1 群 20 又は 10 匹

試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 24 日間

試験方法： Maximization 法に準じて行った。検体の媒体には蒸留水を用いた。

感 作： モルモットの肩背部を除毛し、検体試験群(20 匹)には検体の 0.5%水懸濁液及び 0.6%フロイント完全アジュバント (FCA)乳化液ならびに FCA 乳化液のそれぞれ 0.1 mL を皮内注射した。その 1 週間後、検体の 10%水懸濁液 0.2 mL を 48 時間閉塞貼付した。一方、陽性対照群 (10 匹)には DNCB の 0.1%オリーブ油液及び 0.1%FCA 乳化液ならびに FCA 乳化液を同様に皮内注射し、その 1 週後に DNCB の 0.5%エタノール液を同様に閉塞貼付した。検体の対照群(20 匹)には媒体及び FCA 乳化液を同様に投与した。

惹 起： 貼付感作の 2 週間後に、検体試験群及びその対照群の刈毛した腹側部の左に検体 5%ならびに 0.5%水懸濁液を、右に蒸留水をそれぞれ 0.1 mL を 24 時間閉塞貼付した。DNCB 陽性対照群の刈毛した腹側部の左に 0.1%エタノール液を、右にエタノールをそれぞれ 0.1 mL を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起 24 及び 48 時間後に適用部位の紅斑ならびに浮腫の有無を肉眼的に観察し、以下の基準 (Draize 法)に従って採点し、群平均評点を算出すると共に検体群と対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して、感作反応を示す動物の有無を検討した。

皮膚反応の程度	評点
1)紅斑と痂皮形成	
紅斑なし	0
極軽度の紅斑 (やっとな認められる程度)	1
明らかな紅斑	2
中等度から重度の紅斑	3
深紅色の重度の紅斑から軽度の痂皮形成 (傷害は深部に)	4
2)浮腫形成	
浮腫なし	0
極軽度の浮腫 (やっとな認められる程度)	1
明らかな浮腫 (周囲と明らかに区分可能)	2
中等度の浮腫 (約 1 mm 盛り上がっている)	3
重度の浮腫 (1 mm 以上盛り上がり、周囲にも広がる)	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石原産業株式会社にある。

試験結果： 次表に結果を示した。

#### 検体群

5%適用部；

惹起貼布除去 24 及び 48 時間後ともに全例に明らかな紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 及び 48 時間後の 19/20 例にごく軽度から中等度の浮腫が認められ、24 時間後の 1/20 例及び 48 時間後の 19/20 例に角化亢進が認められた。

0.5%適用部；

惹起貼布除去 24 及び 48 時間後ともに全例にごく軽度の紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 時間後の 9/20 例及び 48 時間後の 12/20 例にごく軽度から明らかな浮腫が認められ、24 時間後の 1/20 例及び 48 時間後の 14/20 例に角化亢進が認められた。

蒸留水適用部 (溶媒対照)；

惹起貼布除去 24 時間後の 4/20 例及び 48 時間後の 2/20 例にごく軽度の紅斑が認められた。

#### 対照群

5%適用部；

惹起貼布除去 24 時間後の 13/20 例及び 48 時間後の 12/20 例にごく軽度の紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 及び 48 時間後ともに 2/20 例にごく軽度の明らかな浮腫が認められ、48 時間後の 5/20 例に角化亢進が認められた。

0.5%適用部；

惹起貼布除去 24 時間後の 11/20 例及び 48 時間後の 9/20 例にごく軽度の紅斑から深紅色重度の紅斑と 24 及び 48 時間後ともに 2/20 例にごく軽度の明らかな浮腫が認められ、48 時間後の 1/20 例に角化亢進が認められた。

蒸留水適用部 (溶媒対照)；

惹起貼布除去 24 時間後の 8/20 例及び 48 時間後の 4/20 例にごく軽度の紅斑が認められた。

陽性対照 (DNCB)群；

惹起貼布除去 24 及び 48 時間後ともに全例に明らかな紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 時間後の 7/10 例及び 48 時間後の 8/10 例にごく軽度の明らかな浮腫が認められた。

エタノール適用部 (溶媒対照)；

惹起貼布除去 24 時間後 1/10 例にごく軽度の紅斑が認められた。

結 論： 一次刺激性が軽微であった 0.5%検体懸濁液適用部の 48 時間後について、陰性対照群の最大評点を超える評点の動物 (合計評点 6 以上)を陽性動物として陽性率を算出した結果、検体群の陽性率は 30%であり、Magnusson & Kligman (1969)の基準に従って感作性を評価したところ、フロンサイド水和剤は Moderate な皮膚感作性を有するものと推察された。一方、陽性対照の DNCB の陽性率は 100%であり Extreme な皮膚感作性が確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンサイド水和剤の皮膚感作性試験結果

群	投与濃度 (%)		動物数	皮膚 反応 評点	観察時間ごとの反応動物数			
	感作	惹起			24 時間		48 時間	
					紅斑/痂皮	浮腫	紅斑/痂皮	浮腫
検 体	皮内:0.6 経皮:10	5	20	0	0	1	0	1
				1	0	5	0	1
				2	1	9	1	11
				3	5	5	1	7
				4	14	0	18	0
		平均評点		5.6		6.1		
		0.5		0	0	11	0	8
				1	4	6	1	6
				2	8	3	6	6
				3	6	0	4	0
				4	2	0	9	0
		平均評点		2.9		4.0 (陽性率 30%)		
0 (蒸留水)	0	16	20	18	20			
	1	4	0	2	0			
	2	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0			
	4	0	0	0	0			
平均評点	0.2		0.1					
検 体 対 照	皮内:0 経皮:0	5	20	0	7	18	8	18
				1	6	1	8	2
				2	4	1	2	0
				3	2	0	1	0
				4	1	0	1	0
		平均評点		1.4		1.1		
		0.5		0	9	18	11	18
				1	8	1	7	1
				2	2	1	1	1
				3	0	0	1	0
				4	1	0	0	0
		平均評点		1.0		0.8		
0 (蒸留水)	0	12	20	16	20			
	1	8	0	4	0			
	2	0	0	0	0			
	3	0	0	0	0			
	4	0	0	0	0			
平均評点	0.4		0.2					
陽 性 対 照	DNCB 皮内:0.1 経皮:0.5	0.1	10	0	0	3	0	2
				1	0	3	0	4
				2	3	4	1	4
				3	2	0	1	0
				4	5	0	8	0
		平均評点		4.3		4.9 (陽性率 100%)		
		0 (イソノール)		0	9	10	10	10
				1	1	0	0	0
				2	0	0	0	0
				3	0	0	0	0
4	0		0	0	0			
平均評点	0.1		0					

DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene

平均評点 : 紅斑/痂皮及び浮腫の合計平均評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 8.11.1.7 モルモットにおける皮膚感作性試験－Buehler 法 (資料 No. TF-1.7)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤  
組成：フルアジナム原体  
鉍物質微粉、界面活性剤等

試験動物： Hartley 系雌モルモット、試験開始時 5～6 週齢、体重 284.6～360.7 g、1 群 10 匹

試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 30 日間

試験方法： Buehler 法に準じて試験した。投与開始前に動物の腹側部の適用部を剃毛した上で、感作および惹起ともに検体 0.3 g を 6 時間閉塞貼付した。

感 作： 予備試験の結果から、100%の検体 0.3 g を 2 cm 角の広さに 7 日間間隔で 3 回、それぞれ 6 時間貼付適用した。

惹 起： 予備試験の結果から、100%の検体 0.3 g を 2 cm 角の広さに 6 時間貼付適用した。

試験項目： 惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に惹起部位を観察し、その皮膚反応を部位毎に以下の基準に従って採点し、群平均反応評点を求めると共に、検体群と検体対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して皮膚感作性を評価した。

##### 皮膚反応評価基準

皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度の紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3

試験結果： 結果を次表に示した。

検体感作群では 5 匹に軽度ないし中等度の紅斑が認められ、検体対照群では 4 匹に軽度の紅斑が認められた。

一方、陽性対照の DNCB 感作群では全例に軽度ないし中等度紅斑が認められたのに対し、DNCB 対照群では何れの動物においても紅斑は認められなかった。

結 論： フロンサイド水和剤感作群では対照群よりも平均反応率が若干高かったことから、本検体の皮膚感作性は個体差によってわずかに発現する可能性があるものと判断される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンサイド水和剤の皮膚感作性試験結果

群	投与濃度 (%)		動物数	皮膚反応 評点	観察時間ごとの反応動物数	
	感作	惹起			24 時間	48 時間
検 体	100	100	10	0	5	6
				1	5	0
				2	0	4
				3	0	0
				平均評点	0.5	0.8
検体対照	0 (蒸留水)	100	10	0	8	6
				1	2	4
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0.2	0.4
陽性対照 DNCB	0.1	0.1	10	0	0	0
				1	6	10
				2	4	0
				3	0	0
				平均評点	1.4	1.0
DNCB 対照	0 (オリーブ油)	0.1	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0

DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.8 水和剤の白試料 モルモットにおける皮膚感作性試験 - Buehler 法 (資料 No. TF-1.8)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド水和剤白試料  
鉱物性微粉及び界面活性剤等

供試動物： Hartley 系雌モルモット、試験開始時 5~6 週齢、体重 290.9~357.0 g、1 群 10 匹

試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 30 日間

試験方法： Buehler 法に準じて試験した。投与開始前に動物の腹側部の適用部を剃毛した上で、感作および惹起ともに検体 0.3 g を 6 時間閉塞貼付した。

感 作： 予備試験の結果から 100%の検体 0.3 g を 2 cm 角の広さに 7 日間間隔で 3 回、それぞれ 6 時間貼付適用した。

惹 起： 予備試験の結果から 100%の検体 0.3 g を 2 cm 角の広さに 6 時間貼付適用した。

試験項目： 惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に惹起部位を観察し、その皮膚反応を部位毎に以下の基準に従って採点し、群平均反応評点を求めると共に、検体群と検体対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して皮膚感作性を評価した。

皮膚反応評価基準

皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度の紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3

試験結果： 結果を次表に示した。

検体群及び検体対照群ともに紅斑等の皮膚反応は全く認められなかった。

一方、陽性対照の DNCB 群では全例に軽度ないし中等度紅斑が認められたのに対し、DNCB 対照群では何れの動物においても紅斑は認められなかった。

結 論： 以上の結果から、フロンサイド水和剤の白試料は皮膚感作性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

白試料の皮膚感作性試験結果

群	投与濃度 (%)		動物数	皮膚反応 評点	観察時間ごとの反応動物数	
	感作	惹起			24時間	48時間
検体	100	100	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0
検体対照	0 (蒸留水)	100	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0
陽性対照 DNCB	0.1	0.1	10	0	0	0
				1	6	10
				2	4	0
				3	0	0
				平均評点	1.4	1.0
DNCB対照	0 (オリーブ油)	0.1	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0

DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.9 水和剤の 1000 倍水希釈液 モルモットにおける皮膚感作性試験  
- Buehler 法 (資料 No. TF-1.9)

試験機関 生活科学研究所  
報告書作成年

- 検体純度： フロンサイド水和剤 の 1000 倍水希釈液
- 供試動物： Hartley 系雌モルモット、試験開始時 5~6 週齢、体重 294.6~350.4 g、1 群 10 匹
- 試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 30 日間
- 試験方法： Buehler 法に準じて試験した。投与開始前に動物の腹側部の適用部を剃毛した上で、感作および惹起ともに検体 0.3g を 6 時間閉塞貼付した。
- 感 作： 予備試験の結果から 100%の検体 0.3g を 2 cm 角の広さに 7 日間間隔で 3 回、それぞれ 6 時間貼付適用した。
- 惹 起： 予備試験の結果から 100%の検体 0.3g を 2 cm 角の広さに 6 時間貼付適用した。
- 試験項目： 惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に惹起部位を観察し、その皮膚反応を部位毎に以下の基準に従って採点し、群平均反応評点を求めると共に、検体群と検体対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して皮膚感作性を評価した。

皮膚反応評価基準

皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度の紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3

- 試験結果： 結果を次表に示した。  
検体群では感作群及び対照群ともに紅斑等の皮膚反応は全く認められなかった。  
一方、DNCB 感作群では全例に軽度ないし中等度紅斑が認められたのに対し、対照群では何れの動物においても紅斑は認められなかった。
- 結 論： 以上の結果から、フロンサイド水和剤の 1000 倍水希釈液は皮膚感作性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンサイド水和剤の 1000 倍水希釈液の皮膚感作性試験結果

群	投与濃度(%)		動物数	皮膚反応 評点	観察時間ごとの反応動物数	
	感作	惹起			24 時間	48 時間
検 体	100	100	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0
検体対照	0 (蒸留水)	100	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0
陽性対照 DNCB	0.1	0.1	10	0	0	0
				1	6	10
				2	4	0
				3	0	0
				平均評点	1.4	1.0
DNCB 対照	0 (オリーブ油)	0.1	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0

DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

## 8.11.2 粉剤

### 8.11.2.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-2.1)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤

供試動物： SD系ラット、投与時5週齢、体重雄135~148g、雌110~124g、1群雄雌各6匹

試験方法： 検体を精製水で希釈し、10 mL/kg容量で17時間絶食後に経口投与

試験項目： 臨床症状及び生死を14日間観察。投与前、投与後2、4、7及び14日目に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物を剖検した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄、雌共 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄、雌共 > 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	雄、雌共 異常症状なし
毒性兆候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄、雌共 5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄、雌共 5000

観察期間中に死亡例はなく、中毒症状も全く認められず体重も順調に増加した。剖検所見では、主要な組織器官に特記すべきすべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 8.11.2.2 マウスにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-2.2)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤

供試動物： ICR 系マウス、投与時 5 週齢、体重雄 22.5~25.9 g、雌 17.8~20.6 g、1 群雄雌各 6 匹

試験方法： 検体を精製水で希釈し、10 mL/kg 容量で 17 時間絶食後に経口投与

試験項目： 臨床症状及び生死を 14 日間観察。投与前、投与後 2、4、7 及び 14 日目に体重を測定。死亡動物及び観察終了時の全生存動物を剖検した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 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	雄雌共異 常症状なし
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

観察期間中に死亡例はなく、中毒症状も全く認められなかった。

体重については検体投与に関連した影響は認められなかった。

剖検所見では検体投与に起因するとみられる変化は全く認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

### 8.11.2.3 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-2.3)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤

供試動物： SD 系ラット、投与時 7 週齢、体重雄 265～280 g、雌 185～205 g、1 群雄雌各 6 匹

試験方法： 検体を精製水で希釈し、前日に剪毛したラットの背部中央の皮膚 4×5 cm の範囲に 24 時間閉鎖貼付。24 時間後に貼付を除去し、投与液を精製水で除去した。

試験項目： 臨床症状及び生死を 14 日間観察。投与前、投与後 2、4、7 及び 14 日目に体重を測定。観察終了時の全生存動物を剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌共 > 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	雄雌共 異常症状なし
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

観察期間中に死亡例はなく、中毒症状も全く認められず体重も順調に増加した。剖検所見では、主要な組織器官に特記すべきべき変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に、刺激性変化及びその他の異常は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.2.4 ラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. TF-2.4)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度: フロンサイド粉剤

供試動物: SD系ラット、1群雄雌各10匹、暴露時6週齢、体重雄187~201g、雌144~165g

試験期間: 単回(4時間)暴露後14日観察

試験方法: 検体を空气中粉体限界濃度として設定した5.0 mg/Lの濃度となるように懸濁させた空気を200 L/分の流量で、動物を収容した暴露室(容積380 L)に導入して4時間に亘り全身暴露した。

試験項目: 空气中の粉体濃度、同粉体粒度分布等の暴露条件を実測し、同粉体の空気力学的質量中位径(MMAD)を算出した。

設定濃度 (mg/L)	5.0
実際濃度 (mg/L)	5.27
粒子径分布 (%) <sup>1)</sup>	
>11.0(μm)	20.16
7.0~11.0	18.62
4.7~7.0	27.34
3.3~4.7	20.39
2.1~3.3	9.00
1.1~2.1	2.91
0.65~1.1	0.52
0.43~0.65	0.13
<0.43	0.94
空気力学的質量中位径 (μm)	6.20
吸入可能な粒子 (<7 μm)の割合 (%)	61.2
チェンバー容積 (L)	380
チェンバー内通気量 (L/分)	200
暴露条件	ダスト 4時間 全身暴露

<sup>1)</sup>: 暴露開始1及び3時間後の測定の平均値

観察・検査項目: 暴露中及び暴露終了後2時間までは頻繁に、翌日から暴露後14日までは毎日2回中毒症状及び生死を観察した。

体重は暴露開始直前、暴露終了後1、3、5、7、10及び14日目に測定した。

死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物につき肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果：

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.27
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雄雌共 >5.27
死亡開始及び終了時間	雄雌共 死亡例なし
症状発現及び消失時間	雄雌共 暴露中に発現～暴露後消失
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雄雌共 5.27
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雄雌共 5.27

観察期間中に死亡はなく、中毒症状として、暴露中は全例に自発運動低下がみられたが、暴露終了までにみられなくなった。終了後は何の異常もみられなかった。体重では暴露後1日に雄の1例、雌の3例に体重の減少がみられたが3日後には回復し、以後全例において順調に増加した。剖検所見では全例に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石原産業株式会社にある。

8.11.2.5 ウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料 No. TF-2.5)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤  
組成： フルアジナム原体  
          鉍物質微粉、界面活性剤等

試験動物： New Zealand White 種ウサギ、適用時 3 ヶ月齢、体重 3.100~3.819 kg、雄 6 匹

試験期間： 適用 14 日後まで観察

試験方法： 検体 0.5 g を精製水で湿らせ、刈毛した動物の背中中の皮膚 (2.5 cm 四方) に 2 箇所適用し、半閉塞貼付した。4 時間暴露後に、皮膚に残った検体を水で拭き取った。

観察項目： 暴露終了の 1、24、48 及び 72 時間に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、試験指針 (59 農蚕第 4200 号) に従って採点し皮膚一次刺激性インデックス (PCI) を求めて AFNOR (1982) の基準に従って評価した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点を次に示した。

観察項目	最高評点*	暴露時間後の平均評点			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑/痂皮	4	0.9	0.3	0.2	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計		0.9	0.3	0.2	0
PCI		0.5			

\*：判定基準の最高評点

貼付除去 1 時間後から非常に軽度~明らかな紅斑が認められたが、72 時間後までにすべて消失した。浮腫は認められなかった。

結論： 以上の結果から、フロンサイド粉剤はウサギの皮膚に対し非刺激性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

#### 8.11.2.6 ウサギにおける眼一次刺激性試験 (資料 No. TF-2.6)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤

組成： フルアジナム原体

鋳物質微粉、界面活性剤等

試験動物： New Zealand White 種ウサギ、適用時 3ヶ月齢、体重 2.954~3.546 kg、雄 12匹

試験期間： 7日間観察

試験方法： 検体 0.1 g を左眼に適用し、6匹を非洗眼群、3匹を洗眼群-1として適用 2分後に微温湯で洗眼し、残りの 3匹を洗眼群-2として適用 30秒後に洗浄を行った。右眼は全て無処理対照とした。

観察項目： 適用の 1、24、48、72、96時間後及び 7日後に角膜、虹彩ならびに結膜の刺激性変化を観察し、Draize (1959)の基準に従って採点し AFNOR (1982)の基準に基づいて刺激性を評価した。

試験結果： 結果を次表に示した。

非洗眼群；角膜及び虹彩に刺激性反応は認められなかった。結膜では、適用 1時間後から全例に明らかな充血が認められたが、7日後までに全て消失した。結膜の点状出血が 4/6例に認められた。また結膜浮腫及び正常よりやや多い程度の分泌物の生成がみられたが、各々 48時間後及び 72時間後には全て消失した。

洗眼群；角膜及び虹彩に刺激性反応は認められなかった。結膜では、適用 1時間後から全例に明らかな充血が認められたが、72時間後までに全て消失した。結膜の点状出血が 1/3例にみられた。正常よりやや多い程度の分泌物の生成は 24時間後に消失した。なお、体重減少が認められたが、いずれの動物も一般状態は良好であった。

考察及び結論：フロンサイド粉剤の非洗眼群における平均評点 (MO) の最大値 (AOI) は 7.3 であり、48時間後の平均評点 (MOI) は 3.0 であった。

AFNOR (1982) の評価基準によると、フロンサイド粉剤はウサギの眼に対して Slightly irritant と評価された。また非洗浄試験と比較した場合、洗浄効果があると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンスайд粉剤の眼一次刺激性試験結果

群	動物数	観察項目	最高 評点*	観察時間ごとの平均評点					
				1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	7日
非洗 浄群	6匹	角膜混濁 程度 A	4	0	0	0	0	0	0
		面積 B	4	0	0	0	0	0	0
		虹彩 C	2	0	0	0	0	0	0
		結膜 発赤 D	3	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0
		浮腫 E	4	0.2	1.0	0	0	0	0
		分泌物 F	3	1.5	1.7	0.5	0	0	0
	加重評点の平均(MOI)**	110	5.3	7.3	3.0	2.0	1.3	0	
洗 浄群 1	3匹	角膜混濁 程度 A	4	0	0	0	0	0	0
		面積 B	4	0	0	0	0	0	0
		虹彩 C	2	0	0	0	0	0	0
		結膜 発赤 D	3	1.0	1.0	1.0	0.3	0	0
		浮腫 E	4	0.7	0	0	0	0	0
		分泌物 F	3	0.7	0	0	0	0	0
	加重評点の平均(MOI)**	110	4.7	2.0	2.0	0.7	0	0	
洗 浄群 2	3匹	角膜混濁 程度 A	4	0	0	0	0	0	0
		面積 B	4	0	0	0	0	0	0
		虹彩 C	2	0	0	0	0	0	0
		結膜 発赤 D	3	1.0	0.7	0.3	0	0	0
		浮腫 E	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物 F	3	0.7	0	0	0	0	0
	加重評点の平均(MOI)**	110	3.3	1.3	0.7	0	0	0	

\* : 判定基準の最高評点

\*\* : Mean Ocular Irritation Index,  $[A \times B \times 5] + [C \times 5] + [(D+E+F) \times 2]$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.2.7 モルモットにおける皮膚感作性試験- Maximization 法 (資料 No. TF-2.7)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤  
組成： フルアジナム原体  
          鋳物質微粉、界面活性剤等

供試動物： Hartley 系雌モルモット、試験開始時 3~4 週齢、体重 276~323g、1 群 20 又は 10 匹

試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 24 日間

試験方法： Maximization 法に準じて行った。

感 作； モルモットの肩背部を除毛し、検体試験群 (20 匹)には検体の 1.25%オリーブ油液及び 1.25%フロイント完全アジュバント (FCA)乳化液ならびに FCA 乳化液のそれぞれ 0.1 mL を皮内注射した。その 1 週間後、検体の 3%ワセリン混合物 0.2mL を 48 時間閉塞貼付した。一方、陽性対照群 (10 匹)には DNCB の 0.1%オリーブ油液及び 0.1%FCA 乳化液ならびに FCA 乳化液を同様に皮内注射し、その 1 週後に DNCB の 0.5%エタノール液を同様に閉塞貼付した。検体の対照群 (20 匹)には媒体及び FCA 乳化液を同様に投与した。

惹 起； 貼付感作の 2 週間後に、検体試験群及びその対照群の刈毛した腹側部の左に検体 1.5%ならびに 0.15%ワセリン混合物を、右にワセリンをそれぞれ 0.1 mL を 24 時間閉塞貼付した。DNCB 陽性対照群の刈毛した腹側部の左に 0.1%エタノール液を、右にエタノールをそれぞれ 0.1 mL を 24 時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起 24 及び 48 時間後に適用部位の紅斑ならびに浮腫の有無を肉眼的に観察し、以下の基準 (Draize 法)に従って採点し、群平均評点を算出すると共に検体群と対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して、感作反応を示す動物の有無を検討した。

皮膚反応の程度	評点
3)紅斑と痂皮形成	
紅斑なし	0
極軽度の紅斑 (やっとなめられる程度)	1
明らかな紅斑	2
中等度から重度の紅斑	3
深紅色の重度の紅斑から軽度の痂皮形成 (傷害は深部に)	4
4)浮腫形成	
浮腫なし	0
極軽度の浮腫 (やっとなめられる程度)	1
明らかな浮腫 (周囲と明らかに区分可能)	2
中等度の浮腫 (約 1 mm 盛り上がっている)	3
重度の浮腫 (1 mm 以上盛り上がり、周囲にも広がる)	4

試験結果： 次表に結果を示した。

#### 検体群

1.5%適用部；

惹起貼布除去 24 及び 48 時間後ともに全例にごく軽度の紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 時間後の 9/20 例及び 48 時間後の 11/20 例にごく軽度又は中等度の浮腫が認められた。また、24 時間後の 2/20 例及び 48 時間後の 13/20 例に角化亢進が認められた。

0.15%適用部；

惹起貼布除去 24 及び 48 時間後ともに全例にごく軽度の紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 時間後の 4/20 例及び 48 時間後の 7/20 例にごく軽度の明らかな浮腫が認められた。また、24 時間後の 2/20 例及び 48 時間後の 8/20 例に角化亢進が認められた。

ワセリン適用部 (溶媒対照)；

惹起貼布除去 24 時間後の 13/20 例及び 48 時間後の 11/20 例にごく軽度の紅斑から明らかな紅斑が認められた。また、48 時間後の 1/20 例に角化亢進が認められた。

#### 検体対照群

1.5%適用部；

惹起貼布除去 24 時間後及び 48 時間後ともに 19/20 例にごく軽度の紅斑から中等度の紅斑と 24 時間後 2/20 例及び 48 時間後の 1/20 例にごく軽度の浮腫が認められた。また、48 時間後の 4/20 例に角化亢進が認められた。

0.15%適用部；

惹起貼布除去 24 時間後の 17/20 例及び 48 時間後の 15/20 例にごく軽度の紅斑から明らかな紅斑が認められた。また、48 時間後の 2/20 例に角化亢進が認められた。

ワセリン適用部 (溶媒対照)；

惹起貼布除去 24 時間後の 18/20 例及び 48 時間後の 16/20 例にごく軽度の紅斑から明らかな紅斑が認められた。また、48 時間後の 1/20 例に角化亢進が認められた。

#### 陽性対照 (DNCB)群

0.1%DNCB 群；

惹起貼布除去 24 及び 48 時間後ともに全例に軽度の紅斑から痂皮形成を伴う重度の紅斑と 24 時間後の 5/10 例及び 48 時間後の 4/10 例にごく軽度から中等度の浮腫が認められた。

エタノール適用部 (溶媒対照)；

惹起貼布除去 24 時間後 3/10 例及び 48 時間後の 2/10 例にごく軽度の紅斑が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結論： 一次刺激性の少ない 0.15%検体適用部の 48 時間後について、対照群の最大評点を超える評点の動物 (合計評点 3 以上)を陽性動物として陽性率を算出した結果、検体群の陽性率は 35%であり、Magnusson & Kligman (1969)の基準に従って感作性を評価した結果、フロンサイド粉剤は中等度の皮膚感作性を有するものと推察された。一方、陽性対照として用いた DNCB の陽性率は 100%であり Extreme な皮膚感作性が確認された。

フロンサイド粉剤の皮膚感作性試験結果

群	投与濃度 (%)		動物数	皮膚反応 評点	観察時間ごとの反応動物数			
	感作	惹起			24 時間		48 時間	
					紅斑/痂皮	浮腫	紅斑/痂皮	浮腫
検 体	皮内:1.25 経皮:3	1.5	20	0	0	11	0	9
				1	1	5	1	6
				2	9	4	7	4
				3	4	0	5	1
				4	6	0	7	0
				平均評点	3.4		3.8	
	0 (ワセリン)	0.15	20	0	0	16	0	13
				1	11	4	13	5
				2	6	0	1	2
				3	3	0	3	0
				4	0	0	3	0
				平均評点	1.8		2.3 (陽性率 35%)	
検 体 対 照	皮内:0 経皮:0	1.5	20	0	7	20	9	20
				1	12	0	10	0
				2	1	0	1	0
				3	0	0	0	0
				4	0	0	0	0
				平均評点	0.7		0.6	
	0 (ワセリン)	0.15	20	0	1	18	1	20
				1	9	2	13	0
				2	9	0	5	0
				3	1	0	1	0
				4	0	0	0	0
				平均評点	1.6		1.4	
0 (ワセリン)	0	20	0	3	20	5	20	
			1	14	0	13	0	
			2	3	0	2	0	
			3	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			平均評点	1.0		0.9		
0 (ワセリン)	0	20	0	2	20	4	20	
			1	13	0	14	0	
			2	5	0	2	0	
			3	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			平均評点	1.2		0.9		

平均評点：紅斑/痂皮及び浮腫の合計平均評点



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンサイド粉剤の皮膚感作性試験結果 (続き)

群	投与濃度 (%)		動物数	皮膚反応 評点	観察時間ごとの反応動物数				
	感作	惹起			24 時間		48 時間		
					紅斑/痂皮	浮腫	紅斑/痂皮	浮腫	
陽 性 対 照	DNCB 皮内:0.1 経皮:0.5	0.1	10	0	0	5	0	6	
				1	1	3	3	0	
				2	4	1	3	2	
				3	2	1	0	2	
				4	3	0	4	0	
			平均評点	3.5		3.5 (陽性率 100%)			
		0 (イタノール)			0	7	10	8	10
					1	3	0	2	0
					2	0	0	0	0
					3	0	0	0	0
4					0	0	0	0	
		平均評点	0.3		0.2				

DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene

平均評点 : 紅斑/痂皮及び浮腫の合計平均評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.2.8 モルモットにおける皮膚感作性試験－Buehler 法 (資料 No. TF-2.8)

試験機関

報告書作成年 1989年 [GLP 対応]

検体純度： フロンサイド粉剤

組成： フルアジナム原体

鉍物質微粉、界面活性剤等

供試動物： Hartley 系雌モルモット、試験開始時 5～6 週齢、体重 287.1～350.6 g、1 群 10 匹

試験期間： 感作開始から惹起後の観察終了まで 30 日間

試験方法： Buehler 法に準じて試験した。投与開始前に動物の腹側部の適用部を剃毛した上で、感作および惹起ともに検体 0.3 g を 6 時間閉塞貼付した。

感 作； 予備試験の結果から、100%の検体 0.3 g を 2 cm 角の広さに 7 日間間隔で 3 回、それぞれ 6 時間貼付適用した。

惹 起； 予備試験の結果から、100%の検体 0.3 g を 2 cm 角の広さに 6 時間貼付適用した。

試験項目： 惹起貼付除去 24 及び 48 時間後に惹起部位を観察し、その皮膚反応を部位毎に以下の基準に従って採点し、群平均反応評点を求めると共に、検体群と検体対照群との皮膚反応の程度及び頻度を比較して皮膚感作性を評価した。

皮膚反応評価基準

皮膚反応の程度	評点
肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度の紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3

試験結果： 結果を次表に示した。

24 時間後の観察において、検体感作群及び検体対照群でそれぞれ 1 例に軽度の紅斑が認められた。

一方、陽性対照の DNCB 感作群では全例に軽度ないし中等度紅斑が認められたのに対し、DNCB 対照群では何れの動物においても紅斑は認められなかった。

結 論： 以上の結果から、フロンサイド粉剤は皮膚感作性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロンサイド粉剤の皮膚感作性試験結果

群	投与濃度 (%)		動物数	皮膚反応 評点	観察時間ごとの反応動物数	
	感作	惹起			24 時間	48 時間
検 体	100	100	10	0	9	10
				1	1	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0.1	0
検体対照	0 (蒸留水)	100	10	0	9	10
				1	1	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0.1	0
陽性対照 DNCB	0.1	0.1	10	0	0	2
				1	6	6
				2	4	2
				3	0	0
				平均評点	1.4	1.0
DNCB 対照	0 (オリーブ油)	0.1	10	0	10	10
				1	0	0
				2	0	0
				3	0	0
				平均評点	0	0

DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene