

1 2) 繁殖毒性および催奇形性

(1) AH-01原体 (酸) のラットにおける繁殖毒性試験

(資料 毒-15)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

試験動物：SD系SPFラット (Crj:CD(SD)[IGS])、1群当り雌雄各24匹

投与開始時週齢 5週齢 (P世代)、3週齢 (F1世代)

投与開始時体重 P世代 雄：172～196 g、雌：126～149 g

F1世代 雄：64～87 g、雌：60～84 g

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳後の剖検までの約18週間

F1世代；離乳時からF2児離乳後の剖検までの約18週間

(2004年6月8日～2005年2月9日)

投与方法：検体を0、15、120または1000 ppmの濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠；検体を0、30、300または3000 ppmの濃度で混合した飼料を、1群雌雄8匹からなるCrj:CD(SD)[IGS]ラットに、交配前3週間とF1児離乳まで自由摂取させる用量設定試験を行った。3000 ppm投与群で投与第1週の雌雄の親動物の体重、体重増加量および摂餌量に有意な低値が認められ、雌親動物では妊娠20日の体重、体重増加量および摂餌量が対照群と比較して有意に低かった。親動物の繁殖能力では、300 ppm投与群の着床数が僅かではあるが有意に低下し、3000 ppm投与群では出産率低下、妊娠期間延長、着床数および産児数低下が認められた。児動物への影響は300および3000 ppm投与群で認められ、離乳児における腎臓のう胞の発生頻度が高かった。以上の結果から、親動物の繁殖能力や児動物の腎臓に軽度の毒性発現が認められ、試験を継続するために必要な数の児動物を得ることができると予想される1000 ppmを高用量とし、以下120と15 ppmを設定した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

表1. 試験の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成(10週)		毎日一般状態および死亡の有無確認。 体重、摂餌量を週1回測定。
	交配 (2週)	雌雄1対1で交配。交尾成立は膣栓又は膣垢中の精子の存在により確認(妊娠0日)。	交配14日前から性周期を観察。 交配状況の観察。
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14、20日に体重および摂餌量測定。 毎日妊娠状態および分娩の有無確認。
	出産----- 哺育(3週)	哺育4日に各同腹児数を雄4匹雌4匹に調整(不可能なら雌雄計8匹)	出産状況の観察(分娩完了日を哺育0日)。 新生児の生死、性別、外表異常、体重測定(哺育0、4、7、14、21日)、哺育4日に選抜から外れた児の剖検。 母動物の体重および摂餌量を哺育0、7、14、21日に測定。
F1	離乳----- 育成(10週)	継代用の各群雌雄24匹ずつを無作為に選抜(原則各腹から雌雄各1匹)。	継代用以外の児動物を屠殺し、臓器重量測定を含む剖検を実施。膣開口および包皮分離を観察。P世代親動物を剖検し臓器重量測定、雄親動物の精子検査。生殖器官、下垂体、副腎および腎臓を病理組織学的検査。 その他(P世代に準ずる)
	交配 (2週)	(P世代に準ずる) 兄妹交配を避けた。	(P世代に準ずる)
	妊娠(3週) 出産----- 哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる) 哺育4日に肛門生殖突起間距離測定。 その他(P世代に準ずる)
F2	離乳-----		離乳児を屠殺し、臓器重量測定を含む剖検を実施。F1親動物はP世代と同様の検査。病理組織学的検査は生殖器官、下垂体、副腎、腎臓および肝臓について実施。

一般状態および死亡率；試験期間中、親動物の一般状態および死亡の有無を1日2回（休日
は1回）、児動物は1日1回観察した。死亡動物は、発見後速やかに剖検して所見を
記録した。

交配および妊娠の確認；交配は雌の発情を2週間以上膣垢像で確かめ、発情前期の日に同
群内の雄と1対1で同居させた（2週間以内）。交尾成立は膣栓又は膣垢中の精子の
存在により確認した。交尾を確認した日を妊娠0日とした。妊娠は分娩および着床
痕の存在によって確認した。

繁殖性に関する指標；育成、交配、妊娠および哺育の各期間と剖検時の観察に基づき、次
の指標を算出した。

性成熟 = 雄の包皮分離と雌の膣開口の日齢（F1親動物について）

発情周期長 = 交配前の2週間発情周期を観察し、発情周期の平均日数を算出

雄の交尾率 (%) = (交尾を認めた雄数/交配に用いた雄数) × 100

雌の交尾率 (%) = (交尾を認めた雌数/交配に用いた雌数) × 100

交尾成立までの日数 = 雌雄を同居後、交尾が確認されるまでの日数

受胎率 (%) = (妊娠雌数/交尾を認めた雌数) × 100

出産率 (%) = (正常出産雌数/妊娠雌数) × 100

妊娠期間 = 交尾確認日（妊娠0日）から分娩完了日（哺育0日）までの日数

着床数 = 剖検時に肉眼的に数えた着床痕数

産児数 = 哺育0日における生存児と死亡児の合計

性比 = 総雄産児数/総産児数

哺育0日の生存率 (%) = (哺育0日の生存児数/産児数) × 100

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

哺育21日の生存率 (%) = (哺育21日の生存児数/哺育4日に選抜した児数) × 100

精子検査 精巢上部尾部精子の運動性、数および形態と精巢の精子頭数

体重および摂餌量；雄は週1回および剖検日に、雌については、交配前は週1回、繁殖期間
中は妊娠0、7、14、20日と哺育0、7、14、21日および剖検日に測定した。児動物の
体重は哺育0、4、7、14および21日に測定した。

体重増加量；雄は各測定体重と検体投与開始日体重の差として増加量を求めた。雌は、育
成期間、妊娠期間および哺育期間の各測定体重とそれぞれの期間開始日体重（投与
開始日、妊娠0日および哺育0日の体重）の差として増加量を求めた。また、剖検日
の体重増加量は検体投与開始日体重を基準とした。

病理学的検査：

剖検所見；親動物は児動物の離乳後に剖検し、所見を記録した。雌親動物全例の着床数を数えた。死亡動物、屠殺児動物（哺育4日に選抜されなかった新生児、F1親動物に選抜されなかったF1離乳児およびすべてのF2離乳児）全例についても剖検を実施した。

臓器重量；親動物の脳、下垂体、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精のう（凝固腺を含む）および前立腺（腹側葉）の重量を測定した。児動物については、各群各腹の雌雄1匹ずつの脳、脾臓、胸腺、腎臓および子宮の重量を測定した。

病理組織学的検査；繁殖成績正常の対照群と高用量群の10組の雌雄親動物および交尾不成立、妊娠不成立の雌雄親動物の組ならびに全哺育児死亡の雌親動物について、卵巣、卵管、子宮（角部および頸部）、膈、精巣、精巣上体、精のう、凝固腺、前立腺、下垂体および副腎を病理組織学的に検査した。対照群と高用量群のF1雌の卵巣については、原始卵胞数も計測した。その他に全てのPおよびF1雄親動物と対照群と高用量群のPおよびF1雌親動物の腎臓および対照群と高用量群のF1雌雄親動物の肝臓についても病理組織学的検査を行った。

結果：概要を表2に示す。

親動物

一般状態および死亡率；両世代のいずれの投与群においても、投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。1000 ppm投与群のP世代の雌1例が尿路系の異常により投与第10週に死亡したが、1例のみの発現であり検体投与によるものとは考えられなかった。

体重；F1世代の1000 ppm投与群の雌において投与第5-9週、12週および16-18週の体重が対照群と比較して有意に高かったが、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。1000 ppm投与群の雌では、P世代の妊娠20日の体重が有意に低く、P世代の哺育0日と投与18週およびF1世代の哺育0日と21日および投与18週の体重が有意に高かった。これらの変化は産児数と哺育児数が同群で少なかったことに関連した変化と考えられた。

体重増加量；1000 ppm投与群では、P世代の投与0-1週における体重増加量が雌雄とも対照群の値より有意に低かったが、単発的な変化であった。この投与群では、P世代雌の妊娠20日と哺育7、14および21日の体重増加量、およびF1世代雌の妊娠20日の体重増加量が対照群より有意に低かった。また、雌の投与18週の体重増加量が、いずれの世代でも有意に高かった。これらの変化は産児数と哺育児数が同群で少なか

ったことに関連した変化であると考えられた。

摂餌量;雄の摂餌量には、P世代の各投与群で散発的に有意な低値がみられ、F1世代の1000 ppm投与群で有意な高値が観察されたが、いずれも毒性的に意味のある変化とは考えられなかった。雌の摂餌量は、15および120 ppm投与群では、15 ppm投与群のP世代の妊娠7-14日に用量と関連のない一過性の有意な高値がみられたことを除き、いずれの世代においても有意差は認められなかった。一方、1000 ppm投与群では、P世代の哺育14-21日の値ならびにF1世代の哺育0-7日、7-14日および14-21日の値が有意に低く、産児数と哺育児数が少なかったことに関連した変化と考えられた。

性成熟;F1世代の親動物について行った性成熟の観察では、雄の包皮分離の完了日齢と包皮分離日の体重に有意な差はみられなかった。雌の観察では1000 ppm投与群の腔開口完了日齢がやや遅く、腔開口日の体重は有意に高かった。しかし、発情周期、子宮および卵巣重量、肛門生殖突起間距離などの指標に性成熟遅延に関連するような変化はみられず、毒性的影響とは考えられなかった。

繁殖成績;発情周期長、正常性周期を示す雌の顔度、精子検査結果、交尾成立までの日数、交尾率、受胎率、出産率および着床数に検体投与の影響はみられなかった。精子検査結果のうち、正常形態精子率がP世代の120および1000 ppm投与群で有意に低かったが、検体投与の影響というよりは対照群の値が極めて高かったことによる偶発的な変動と考えられた。妊娠期間は、PおよびF1世代ともに、1000 ppm投与群で有意な延長が認められた。

剖 検;いずれの世代においても、検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量;1000 ppm投与群のF1世代雌雄で肝臓の絶対および相対重量が、また、腎臓重量に関して、15 ppm投与群でF1世代雄の相対重量、120 ppm投与群でP世代雌の相対重量とF1世代雌雄の絶対および相対重量、1000 ppm投与群でP世代雌の絶対重量、P世代雄とF1世代雌雄の絶対および相対重量が、いずれも対照群と比較して有意に高く、検体投与に関連した変化と考えられた。しかし、本変化は病理組織学的検査において観察された近位尿管直部上皮細胞肥大に対応するものであろうと判断されたが、これらの腎における変化は次項の病理組織学的所見において述べられているように検体投与に対応する腎臓の適応変化であり、毒性的変化を意味するものではないと考えられた。その他に、120 ppm投与群と1000 ppm投与群のPまたはF1雌雄に脳の絶対重量の高値または相対重量の低値、下垂体の絶対または相対重量の高値、副腎の絶対重量の高値、脾臓の絶対または相対重量の高値および甲状腺の相対重量の低値がみられたが、偶発的な変化または、特に1000 ppm投与群の変化については、体重が有意に高かったことに関連した変動と考えられた。

病理組織学的所見;腎臓の病理組織学的検査の結果、120 ppm投与群のF1世代雄と1000 ppm投与群のPおよびF1世代雌雄に近位尿細管直部上皮細胞肥大が認められた。腎臓重量増加と近位尿細管直部上皮細胞肥大は「ラットにおける1年間反復経口投与毒性試験(資料 毒-12)」でも認められており、3000 ppmの用量で1年間投与した場合でも組織学的な変化は繁殖毒性試験でみられたものと同程度、かつ腎機能障害を示唆するような尿検査や血液生化学検査項目の変動は認められなかった。したがって、これらの腎臓重量および組織学的変化は適応反応の亢進による変化であり、毒性学的意義のあるものではないと考えられた。また、肝臓や重量増加のみられたその他の臓器には、検体投与に関連した病理組織学的変化はみられなかった。

卵胞数;F1世代の雌親動物について検査した原始卵胞数は、対照群と1000 ppm投与群でほぼ同じであった。

児動物

産児数;1000 ppm投与群のF1およびF2産児数が有意に低かった。着床数に差がみられなかったことおよび妊娠20日にのみ母動物の体重増加量が有意に低かったことから、主として妊娠後期に胎児の死亡や吸収が起こり、産児数が低下したと考えられた。

一般状態、性比および生存率;F1およびF2哺育児のいずれにおいても検体投与の影響はみられなかった。

体重;1000 ppm投与群で、哺育0日から哺育4日または7日までの期間における雌雄の哺育児体重が、いずれの世代においても対照群と比較して有意に高かった。しかし、これらの体重の高値はこの投与群において産児数が著しく少なかったことに起因すると考えられ、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

肛門生殖突起間距離;4日齢のF2哺育児について肛門生殖突起間距離を測定したところ、120および1000 ppm投与群で、雌雄ともに絶対値と相対値が有意に高かった。しかし、この変化は雌雄ともに認められたことと、120および1000 ppm投与群の哺育児体重が対照群と比較して重かったことから、体型が大きかったことによる変動と考えられた。

剖 検;いずれの世代の児動物にも検体投与に関連した変化は認められなかった。

臓器重量;検体投与に関連した変化が腎臓に認められ、120 ppm投与群のF2雌雄の絶対および相対重量ならびに1000 ppm投与群のF1雌雄の相対重量とF2雌雄の絶対および相対重量に対照群の値と比較して有意な高値が認められた。これらの重量増加は、親動物と同様に、腎臓の適応反応の亢進による変化と推察され、毒性学的に意義

のある変化ではないと考えられた。その他に、15および120 ppm投与群においてF1雌の子宮、F2雄の脾臓およびF2雌の胸腺に有意な低値または高値が観察されたが、1000 ppm投与群にはそのような変化はみられなかった。

以上の結果から、PおよびF1世代のラット親動物に対する一般毒性的影響に関して、本検体の中毒量は1000 ppm（P世代の雄で54.0 mg/kg/day、雌で81.6 mg/kg/day、F1世代の雄で60.5 mg/kg/day、雌で84.9 mg/kg/day）、無毒性量は120 ppm（P世代の雄で6.42 mg/kg/day、雌で10.3 mg/kg/day、F1世代の雄で7.33 mg/kg/day、雌で10.8 mg/kg/day）と結論された。親動物の繁殖能力に対する無毒性量ならびにF1およびF2世代の児動物に対する無毒性量は、いずれも120 ppmと考えられた。

表2. 結果の概要

親動物の一般状態、体重、摂餌量

世代		親：P				親：F1					
投与量 (ppm)		0	15	120	1000	0	15	120	1000		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	一般状態	—	検体投与に起因する異常なし				—	検体投与に起因する異常なし			
	死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	
		雌	0	0	0	1 ^a	0	0	0	0	
	体重	雄	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	第5週↑, 第6週↑, 第7-9週↑, 第12週↑, 第16-17週↑, 第18週↑	
		雌	—	有意差なし	有意差なし	妊娠20日↓, 哺育0日↑, 第18週↑	—	有意差なし	有意差なし	哺育0日↑, 哺育21日↑, 第18週↑	
	体重増加量	雄	—	有意差なし	有意差なし	第1週↓	—	有意差なし	有意差なし	第2-3週↑, 第5-6週↑, 第7-8週↑, 第12週↑, 第16-18週↑	
		雌	—	有意差なし	有意差なし	第1週↓, 妊娠20日↓, 哺育7日↓, 哺育14日↓, 哺育21日↓, 第18週↑	—	有意差なし	有意差なし	妊娠20日↓, 第18週↑	
	摂餌量	雄	—	第2週↓	第8週↓	第1週↓, 第8週↓	—	有意差なし	有意差なし	第12週↑, 第14-16週↑, 第17週↑	
		雌	—	妊娠7-14日↑	有意差なし	哺育14-21日↓	—	有意差なし	有意差なし	哺育0-7日↓, 哺育7-14日↓, 哺育14-21日↓	
	^b 検体採取量	雄	—	0.809	6.42	54.0	—	0.911	7.33	60.5	
雌		—	1.306	10.3	81.6	—	1.364	10.8	84.9		

a : 投与10週に死亡した。

b : mg/kg体重/日

Dunnett多重比較検定：体重、体重増加量、摂餌量 ↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01

Fisherの直接確率計算法：一般状態観察所見 ↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01、↑↓ p≤0.001

表2. 結果の概要 (つづき)

親動物の性成熟、交配結果、精子検査

世代		親 : P				親 : F1				
投与量 (ppm)		0	15	120	1000	0	15	120	1000	
親動物	雄	包皮分離日齢(日) ^a	—	—	—	—	42.0	41.9	41.4	41.4
		包皮分離時体重(g) ^a	—	—	—	—	224	226	224	236
		交尾率<%>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	23/23<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	24/24<100.0>
		精子頭部数/精巢(x10 ⁶) ^{a,b}	209	224	223	223	228	229	234	232
			132	141	141	142	139	137	141	137
		精子数/精巢上体尾部(x10 ⁶) ^{a,b}	209	231	210	229	183	199	191	196
			702	752	701	732	640	669	663	638
	運動性精子率(%) ^a	91.9	92.4	90.1	90.7	92.0	92.6	92.6	90.5	
	正常形態精子率(%) ^a	99.7	99.4	↓99.2	↓98.9	99.3	99.1	99.2	96.5	
	雌	膣開口日齢(日) ^a	—	—	—	—	31.1	31.5	31.0	32.7
		膣開口時体重(g) ^a	—	—	—	—	111	114	116	↑127
		発情周期長(日) ^a	4.0	4.0	4.1	4.1	4.1	4.2	4.1	4.2
		正常性周期雌率<%>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>
		交尾成立までの日数 ^a	1.2	1.3	1.0	1.1	1.6	1.2	1.0	1.9
交尾率<%>		24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	23/23<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	
受胎率<%>		23/24<95.8>	22/24<91.7>	24/24<100.0>	23/23<100.0>	22/24<91.7>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	21/24<87.5>	
出産率<%>	23/23<100.0>	22/22<100.0>	24/24<100.0>	22/23<95.7>	22/22<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	20/21<95.2>		
妊娠期間(日) ^a	22.3	22.3	22.4	↑23.1	22.1	22.3	22.5	↑23.0		
着床数 ^a	14.1	14.3	14.3	14.0	15.0	14.5	14.1	14.4		

a: 平均値

b: 上段は平均全精子(頭部)数、下段は精巢または精巢上体尾部1g当りの精子(頭部)数

Dunnett多重比較検定: 性成熟(包皮分離および膣開口)、体重、精子(頭部)数、運動性精子率、正常形態精子率、発情周期長、交尾成立までの日数、妊娠期間、着床数、産児数

↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01

Fisherの直接確率計算法: 交尾率、正常性周期雌率、受胎率、出産率

↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01、↑↓ p≤0.001

表2. 結果の概要 (つづき)

齧動物の臓器重量

世代	親：P				親：F1				
	投与量(ppm)	0	15	120	1000	0	15	120	1000
雌・親動物	雌体重(g)	541	536	532	525	573	585	591	↑619
	脳： A(mg)	2187	2184	2179	2206	2211	2213	2180	↑2273
	R(%)	0.407	0.410	0.412	0.423	0.388	0.381	0.371	0.370
	下垂体： A(mg)	13.0	13.1	13.5	14.0	12.5	13.3	↑13.7	↑14.6
	R(%)	0.00242	0.00244	0.00255	↑0.00268	0.00218	0.00229	0.00232	0.00238
	肝臓： A(mg)	17626	17600	17187	17593	19921	20223	20576	↑23522
	R(%)	3.26	3.29	3.23	3.35	3.47	3.45	3.48	↑3.78
	副腎： A(mg)	29.2	27.7	28.1	29.5	30.4	31.4	31.1	↑35.8
	R(%)	0.00543	0.00521	0.00528	0.00565	0.00535	0.00537	0.00529	0.00581
	腎臓： A(mg)	1769	1794	1850	↑1912	1762	1906	↑1967	↑2337
	R(%)	0.328	0.336	0.349	↑0.365	0.307	↑0.327	↑0.333	↑0.379
	脾臓： A(mg)	836	814	843	809	857	903	882	↑978
	R(%)	0.154	0.153	0.159	0.155	0.150	0.154	0.150	0.158
	雌・親動物	雌体重(g)	308	312	309	↑325	333	327	334
脳： A(mg)		1995	2008	1983	2018	2005	2012	2010	2055
R(%)		0.649	0.646	0.645	0.622	0.605	0.617	0.604	↓0.570
下垂体： A(mg)		16.3	16.7	16.5	17.1	14.7	15.4	↑16.3	↑16.9
R(%)		0.00532	0.00535	0.00535	0.00525	0.00441	0.00470	↑0.00489	0.00466
肝臓： A(mg)		13076	13358	13113	13857	14094	13909	14368	↑16619
R(%)		4.23	4.25	4.24	4.26	4.22	4.26	4.30	↑4.57
腎臓： A(mg)		1194	1204	1256	↑1304	1212	1228	↑1354	↑1500
R(%)		0.387	0.386	↑0.407	0.401	0.364	0.376	↑0.406	↑0.414
脾臓： A(mg)		654	627	670	641	638	625	702	675
R(%)		0.212	0.201	0.218	0.198	0.192	0.191	↑0.210	0.186
甲状腺： A(mg)		24.5	22.4	23.4	22.1	22.2	21.8	21.2	22.8
R(%)		0.00794	0.00721	0.00757	↓0.00680	0.00667	0.00670	0.00635	0.00637

表中の値は平均値

A：絶対重量 R：相対重量（体重比）

Dunnett多重比較検定：臓器重量 ↑↓ $p \leq 0.05$ 、↑↓ $p \leq 0.01$

表2. 結果の概要 (つづき)

親動物の肉眼的病理所見、病理組織学的所見、卵胞数

世代		親：P				親：F1				
投与量(ppm)		0	15	120	1000	0	15	120	1000	
親動物	剖検所見：	-				検体投与に起因する異常なし				
	病理組織学的所見：									
	腎臓：近位尿管直部上皮細胞肥大									
	雄	0/24	0/24	0/24	↑5/24	0/24	0/24	↑7/24	↑9/24	
	雌	0/24	-	-	3/24	0/24	-	-	↑7/24	
原始卵胞数 (平均値)：										
雌	-	-	-	-	522	-	-	-	506	

Fisherの直接確率計算法：肉眼的病理所見、病理組織学的所見

↑↓ $p \leq 0.05$ 、↑↓ $p \leq 0.01$ 、↑↓ $p \leq 0.001$

F検定後のStudent *t* 検定またはAspin-Welch検定：卵胞数

↑↓ $p \leq 0.05$ 、↑↓ $p \leq 0.01$

表2. 結果の概要 (つづき)

児動物の産児数、性比、一般状態、肛門生殖突起間距離、生存率、体重

世代		児：F1				児：F2				
投与量 (ppm)		0	15	120	1000	0	15	120	1000	
児動物	産児数 ^a	12.9	13.2	13.3	↓7.4	13.9	13.7	13.1	↓8.3	
	性比(雄数/産児数)	0.497	0.481	0.531	0.444	0.508	0.473	0.543	0.506	
	一般状態	検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし				
	肛門生殖突起	雄	絶対 ^b	—	—	—	5.37	5.58	↑5.87	↑6.34
		相対 ^c	—	—	—	—	0.237	0.246	↑0.255	↑0.261
	間距離 ^a	雌	絶対 ^b	—	—	—	2.18	2.25	↑2.35	↑2.46
		相対 ^c	—	—	—	—	0.0973	0.1009	↑0.1045	↑0.1035
	生存率 (%) ^a	哺育0日	98.3	97.2	98.8	98.1	98.3	98.7	98.3	98.3
		哺育4日	96.8	99.4	96.0	93.5	95.1	98.9	94.2	94.0
		哺育21日	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.5	100.0
	体重(g) ^a									
	雄	生後0日	6.9	6.9	6.9	↑7.9	6.7	7.0	7.2	↑7.9
		生後4日 ^d	11.7	11.7	11.5	↑14.3	11.9	12.1	12.5	↑14.6
		生後7日	19.5	19.3	18.8	↑21.7	19.9	19.8	20.2	↑22.2
生後14日		40.3	40.0	38.9	42.0	41.6	41.4	42.1	43.1	
生後21日		66.2	66.4	65.2	66.4	67.5	68.0	69.5	67.8	
雌	生後0日	6.5	6.5	6.6	↑7.1	6.4	6.6	6.7	↑7.4	
	生後4日 ^d	11.1	11.0	11.2	↑13.1	11.4	11.2	11.7	↑13.6	
	生後7日	18.5	18.3	18.4	20.0	19.2	18.5	19.1	↑21.0	
	生後14日	38.6	38.3	38.0	39.8	40.5	39.2	40.1	41.6	
	生後21日	62.6	62.8	62.2	62.2	64.9	63.2	65.3	63.9	

a: 平均値

b: 絶対値 = 肛門生殖突起間距離 (mm)

c: 相対値 = 肛門生殖突起間距離 (mm) ÷ (体重(g) × 1000)^{1/3}

d: 児数調整後

Dunnnett多重比較検定: 肛門生殖突起間距離、生存率、体重 ↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01

Fisherの直接確率計算法: 性比 ↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01、↑↓ p≤0.001

Mann-Whitney U 検定: 一般状態観察所見 ↑↓ p≤0.05、↑↓ p≤0.01

表2. 結果の概要 (つづき)

児動物の臓器重量、肉眼的病理所見

世代		児：F1				児：F2					
投与量(ppm)		0	15	120	1000	0	15	120	1000		
児動物	雄	雄体重(g)	89	91	89	88	90	90	92	91	
	脾臓：	A(mg)	367	350	379	324	348	383	↑400	364	
		R(%)	0.414	0.388	0.425	0.370	0.388	↑0.423	↑0.435	0.399	
	腎臓：	A(mg)	563	582	587	595	546	566	↑589	↑607	
		R(%)	0.634	0.643	0.658	↑0.680	0.609	0.626	↑0.643	↑0.665	
	雌	雌体重(g)	82	82	80	81	81	80	82	83	
	胸腺：	A(mg)	316	331	314	315	303	↑335	↑340	314	
		R(%)	0.384	0.402	0.391	0.384	0.375	↑0.418	↑0.418	0.379	
	子宮：	A(mg)	76.9	↓60.5	↓63.2	70.0	54.7	55.7	55.0	54.6	
		R(%)	0.0944	↓0.0738	↓0.0786	0.0862	0.0681	0.0694	0.0672	0.0659	
	腎臓：	A(mg)	530	526	538	560	492	506	↑533	↑561	
		R(%)	0.649	0.642	0.670	↑0.690	0.609	0.633	↑0.652	↑0.676	
	剖検所見：		—	検体投与に起因する異常なし				—	検体投与に起因する異常なし		

表中の値は平均値

A：絶対重量。 R：相対重量（体重比）

Dunnett多重比較検定：体重、臓器重量 ↑↓ $p \leq 0.05$ 、↑↓ $p \leq 0.01$

Mann-Whitney U 検定：肉眼的病理所見 ↑↓ $p \leq 0.05$ 、↑↓ $p \leq 0.01$

(2) AH-01 原体 (酸) のラットを用いる催奇形性試験

(資料 毒-16)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 2005 年

検体純度： %

供試動物：SD 系 SPF ラット (Crj:CD(SD)[IGS])、交配開始時 雌 11 週齢、雄 12 週齢、
1 群当り交尾成立雌 24 匹

投与期間：妊娠 6 日から妊娠 19 日までの 14 日間

投与方法：検体を脱イオン水に溶解し、0 (対照群)、1、10 および 100 mg/kg/day の投与
用量で、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間毎日 1 回、10 ml/kg の容量で胃ゾンデ
を用いて強制経口投与した (陰栓または陰垢中精子の確認日を妊娠 0 日とした)。
なお、対照群の動物には溶媒の脱イオン水を同様に投与した。

用量設定根拠：投与量を設定するため、1 群当り 8 匹の交尾を認めた雌ラットに、0、10、
30、100 および 300 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 19 日まで毎日 1 回強制経
口投与した。妊娠 20 日に母動物を剖検し、胎児を摘出して外表検査を実施した。
その結果、10 および 30 mg/kg 群では母動物の投与初期摂餌量 (妊娠 6~9 日) に
有意な低値がみられた。胎児および胎盤に対しては 30 mg/kg 群で胎盤重量に有意
な低値がみられた以外に影響は認められなかった。100 および 300 mg/kg 群では
投与期間中母動物の体重増加量および摂餌量のほとんど全ての値が有意に低かつ
た。また、雌雄の胎児体重および胎盤重量に有意な低値がみられた。以上のこと
から、母動物に明瞭な影響が現われると予測される 100 mg/kg/day を高用量とし、
母動物および胎児に毒性影響が発現しないと予測される 1 mg/kg/day を低用量、
その等比中項の 10 mg/kg/day を中間用量とした。

観察・検査項目：

母動物：試験期間中 (妊娠 0~20 日)、一般状態および死亡について少なくとも毎日 1
回 (投与期間中は投与の前と後の 2 回) 観察して所見を記録した。各動物の体重
を妊娠 0 日 (交尾成立日) と 3 日、および妊娠 6 日から 20 日 (剖検日) までは毎
日測定した。さらに妊娠 20 日には体重から妊娠子宮重量を減じた補正体重を算出
した。妊娠 3 日以降の各体重値から妊娠 0 日の体重値を減じて体重増加量を算出
した。摂餌量を妊娠 0、3、6、9、12、15、18 および 20 日に測定し、各個体の 1
日当りの量 (g/動物/日) として算出した。妊娠 20 日に、母動物を安楽死させて
剖検し、妊娠の成否と肉眼による病理学的変化を調べた。卵巣については妊娠黄
体数を、子宮については妊娠子宮重量、着床数、死亡胚・胎児数、生存胎児数お
よび胎盤重量を記録した。死亡胚・胎児については、発生上の死亡の早い順に、

着床痕、胎盤遺残、浸軟胎児および死亡胎児に分類して記録した。

胎児：各生存胎児の体重を測定し、性比と外表異常の有無について検査した。各腹約半数の胎児をブアン液で固定した後、内部器官の異常・変異について調べた。頭部は Wilson の粗大切片法、胸部は西村の顕微解剖法に準じて検査した。各腹の残り約半数の胎児は、70%エタノールで固定した後、アリザリンレッド S とアルシアンブルーで骨・軟骨二重染色をして骨格の異常・変異について検査した。胎児については以下の指標を算出した。

$$\text{外表異常胎児出現率 (\%)} = (\text{外表異常胎児数} / \text{検査胎児数}) \times 100$$

$$\text{外表異常胎児を持つ腹の頻度} = \text{外表異常胎児を持つ腹数} / \text{検査腹数}$$

$$\text{内部器官・組織変異胎児出現率 (\%)} = (\text{内部器官・組織変異胎児数} / \text{検査胎児数}) \times 100$$

$$\text{内部器官・組織異常胎児出現率 (\%)} = (\text{内部器官・組織異常胎児数} / \text{検査胎児数}) \times 100$$

$$\text{内部器官・組織変異胎児を持つ腹の頻度} = \text{内部器官・組織変異胎児を持つ腹数} / \text{検査腹数}$$

$$\text{内部器官・組織異常胎児を持つ腹の頻度} = \text{内部器官・組織異常胎児を持つ腹数} / \text{検査腹数}$$

$$\text{骨格変異胎児出現率 (\%)} = (\text{骨格変異胎児数} / \text{検査胎児数}) \times 100$$

$$\text{骨格異常胎児出現率 (\%)} = (\text{骨格異常胎児数} / \text{検査胎児数}) \times 100$$

$$\text{骨格変異胎児を持つ腹の頻度} = \text{骨格変異胎児を持つ腹数} / \text{検査腹数}$$

$$\text{骨格異常胎児を持つ腹の頻度} = \text{骨格異常胎児を持つ腹数} / \text{検査腹数}$$

$$\text{骨化進行度} = \text{頸椎、胸椎、腰椎および仙尾椎椎体、胸骨分節、中手骨ならびに中足骨の平均骨化数}$$

試験結果：概要を次頁以降の表に示す。

母動物；

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	1	10	100		
1群当り妊娠雌動物数	24	24	24	24		
死亡雌動物数	0	0	0	0		
一般状態	—	影響なし	影響なし	影響なし (1例に皮下腫瘍)		
体重	—	有意差なし	有意差なし	有意な低値 (妊娠 11, 14, 17~20日 ^D ↓)		
補正体重(g) ^a	343.4	346.6	335.4	^D ↓332.8		
体重増加量	—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 11, 18, 20日 ^D ↓)	有意な低値 (妊娠 7~8日 ^D ↓, 9~10日 ^D ↓, 11日 ^D ↓, 12~13日 ^D ↓, 14~20日 ^D ↓)		
摂餌量	—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 6~9日 ^D ↓)	有意な低値 (妊娠 6~9日 ^D ↓, 妊娠 9~12日 ^D ↓)		
剖検所見	—	影響なし	影響なし	影響なし (白色皮下腫瘍1例)		
着床所見	妊娠雌動物数	24	24	24	24	
	全胚吸収の腹数	0	0	0	0	
	妊娠黄体数 ^a	15.1	15.2	15.4	15.4	
	妊娠子宮重量 ^a (g)	78.6	76.0	74.3	72.8	
	着床数 ^a	14.8	14.7	14.4	15.0	
	着床率 ^a (%)	98.1	96.6	93.9	97.3	
	着床痕+胎盤遺残数 ^a	0.6	0.6	0.7	0.7	
	浸軟胎児+死亡胎児数 ^a	0.0	0.0	0.0	0.1	
	胚・胎児死亡率 ^a (%)	4.6	4.5	5.8	5.0	
	生存胎児数 ^a	14.2	14.0	13.7	14.3	
	胎児性比 ^a	0.521	0.557	0.459	0.477	
	胎児体重 ^a (g)	雄	3.715	3.643	3.668	^U ↓3.444
		雌	3.538	3.438	3.444	^U ↓3.205
胎盤重量 ^a (g)	0.482	0.490	^U ↓0.478	^U ↓0.422		

^a 平均値

補正体重 = 妊娠 20 日の体重 - 妊娠子宮重量

着床率 (%) = (着床数/妊娠黄体数) × 100

胚・胎児死亡率 (%) = (死亡胚・胎児数/着床数) × 100

性比 = 雄生存胎児数/全生存胎児数

Dunnnett 検定^Dまたは Mann-Whitney の U 検定^U: 体重、補正体重、体重増加量、摂餌量、妊

娠子宮重量、妊娠黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数、胎児体重、胎盤重量

Wilcoxon の順位和検定: 着床率、胚・胎児死亡率、胎児生存率、胎児性比

↑↓: P<0.05、↑↓↓: P<0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり

胎児；

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	1	10	100
外表検査：				
検査胎児 (腹) 数	340 (24)	337 (24)	329 (24)	342 (24)
外表異常のある胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
矮小体	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
内部器官・組織検査：				
検査胎児 (腹) 数	166 (24)	164 (24)	161 (24)	165 (24)
内臓異常のある胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓変異のある胎児 (腹) 数	9 (8)	5 (5)	13 (10)	12 (9)
胸腺頸部残留	7 (6)	4 (4)	9 (8)	11 (8)
腎盂拡張	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
左側臍動脈	1 (1)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
骨格検査：				
検査胎児 (腹) 数	174 (24)	173 (24)	168 (24)	177 (24)
骨格異常のある胎児 (腹) 数	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
胸椎椎体分離	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
骨格変異のある胎児 (腹) 数	16 (10)	30 (12)	8 (8)	14 (12)
胸椎椎体骨化核分離	0 (0)	4 (3)	3 (3)	1 (1)
胸椎椎体骨化核歪鈴型	1 (1)	1 (1)	2 (2)	0 (0)
胸椎椎体未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (3)
腰肋	13 (7)	25 (11)	4 (4)	10 (8)
13 肋骨短小	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腰椎の仙椎化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Wilcoxon の順位和検定：異常または変異を認めた胎児の出現率 (1 腹を標本単位とした)

Fisher の正確確率検定：異常または変異のみられた胎児を持つ腹の頻度

胎児（続き）；

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	1	10	100
骨化進行度 ^a ：				
検査胎児（腹）数	174 (24)	173 (24)	168 (24)	177 (24)
椎体骨化数				
頸椎	0.6	0.7	0.6	0.4
胸椎	13.0	13.0	13.0	13.0
腰椎	6.0	6.0	6.0	6.0
仙尾椎	7.7	7.6	7.4	^D ↓7.2
合計	27.3	27.2	27.0	26.6
胸骨分節骨化数	5.2	5.2	5.1	^D ↓4.7
中手骨骨化数				
右	3.3	3.2	3.2	3.1
左	3.2	3.2	3.1	^U ↓3.1
合計	6.5	6.3	6.4	^U ↓6.1
中足骨骨化数				
右	4.0	4.0	4.0	4.0
左	4.0	4.0	4.0	4.0
合計	8.0	8.0	7.9	7.9

^a 平均値

Dunnett 検定(^D)または Mann-Whitney の U 検定(^U)： ↑↓: P≤0.05、↑↓: P≤0.01

母動物の一般状態の観察では、100 mg/kg 群の 1 例にのみ妊娠 18 日から 20 日まで右鼠頸部に皮下腫瘍がみられたが、妊娠雌ラットに自然発生する乳腺腫瘍であった。

母動物の体重、補正体重および体重増加量では、10 mg/kg 群で妊娠 11、18 および 20 日の体重増加量に低値が、100 mg/kg 群で妊娠 11、14 ならびに 17～20 日の体重ならびに妊娠 20 日の補正体重に低値がみられた。100 mg/kg 群の体重増加量は、妊娠 7 日以降の全ての値が有意に低かった。

摂餌量については、10 mg/kg 群で妊娠 6～9 日に、100 mg/kg 群では妊娠 6～12 日に有意な低値がみられた。

妊娠 20 日の剖検では、100 mg/kg 群の一般状態に所見のみられた 1 例で白色皮下腫瘍のみられた他には異常は認められなかった。卵巣と子宮内容の検査では、妊娠黄体数、妊娠子宮重量、着床数、着床率、死亡胚・胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児数および胎児の性比に検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。胎児体重は 100 mg/kg 群の雌雄が有意に低く、胎盤重量も 10 および 100 mg/kg 群で有意な低値がみられた。しかし、10 mg/kg 群の胎盤重量 (0.478 g) は、対照値 (0.482 g) の 99.2% であり低下の程度が極めてわずかであることおよび試験実施施設の背景データ (0.451～0.495 g、平均 0.475 g) の範囲内にあることから、毒性学的に意味のない変化と考えられた。

生存胎児の外表検査では、10 mg/kg 群で矮小体が1例みられたのみであった。

内部器官・組織検査では、異常を持つ胎児はみられなかった。変異については、胸腺頭部残留、腎盂拡張および左側臍動脈がみられたが、これらの出現頻度に検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。

骨格検査では、骨格異常として胸椎椎体分離が、骨格変異として胸椎椎体骨化核の分離および歪鈴型、胸椎椎体未骨化、腰肋、13肋骨短小および腰椎仙椎化がみられたが、いずれの出現頻度にも検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。

胎児の骨化進行度では、100 mg/kg 群で仙尾椎椎体、胸骨分節および中手骨の平均骨化数に有意な低値がみられ、胎児体重の低値と関連した変化と考えられた。

以上の結果から、100 mg/kg/day の用量は母動物に対して体重増加および摂餌量を抑制し、胎児に対しては成長を抑制する量であると考えられた。10 mg/kg/day の用量は母動物の体重増加および摂餌量を軽度抑制するが、胎児に対しては影響を及ぼさないと考えられた。従って、本試験条件下における検体の無毒性量は、ラットの母動物に対しては1 mg/kg/day であり、胎児に対しては10 mg/kg/day であると考えられた。また、催奇形性に関しては100 mg/kg/day の用量まで陰性であると結論された。

(3) AH-01 原体(酸)のウサギを用いた催奇形性試験 (資料 毒-17)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 2006 年

検体純度: %

供試動物: ニュージーランドホワイト種 SPF ウサギ (Kbl: NZW)
交配開始時 雌 17 週齢、雄 58 週齢、1 群当り交尾成立雌 25 匹

投与期間: 妊娠 6 日から妊娠 27 日までの 22 日間

投与方法: 検体を脱イオン水に溶解し、0 (対照群)、0.5、1 および 3 mg/kg/day の投与用量で、妊娠 6 日から 27 日までの 22 日間毎日 1 回、5 mL/kg の容量でネラトンカテーテルを用いて強制経口投与した (交尾並びに膈内および膈口周囲の精液の確認日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群の動物には溶媒の脱イオン水を同様に投与した。

用量設定根拠: 投与量を設定するため、1 群当り 6 匹の交尾を認めた雌ウサギに、0、1、3 および 10 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 27 日まで毎日 1 回強制経口投与した。妊娠 28 日に母動物を剖検し、胎児を摘出して外表検査を実施した。その結果、10 mg/kg で音刺激に対して過敏な反応と思われる音反射性の神経症状を伴う死亡が発現した。3 mg/kg では母動物に死亡は発現しなかったが、投与期間中の体重の増加抑制および摂餌量の低下が認められた。以上のことから、母動物が死亡せずかつ毒性の発現が予想される 3 mg/kg/day を高用量とし、中および低用量はそれぞれ 1 および 0.5 mg/kg/day とした。

観察・検査項目:

母動物: 試験期間中 (妊娠 0~28 日)、一般状態および死亡について少なくとも毎日 1 回 (投与期間中は投与前、投与直後および投与 1 時間後の 3 回) 観察して所見を記録した。各動物の体重を妊娠 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27 および 28 日 (剖検日) に測定した。さらに妊娠 28 日の体重から妊娠子宮重量を減じた補正体重を算出した。体重増加量は各測定日間の体重値を減じて算出した。摂餌量を妊娠 1、3、6、9、12、15、18、21、24、27 および 28 日に測定し、各個体の 1 日当りの量 (g/動物/日) として算出した。妊娠 28 日に、母動物を安楽死させて剖検し、妊娠の成否と肉眼による病理学的変化を調べた。卵巣については妊娠黄体数を、子宮については妊娠子宮重量、着床数、胚・胎児死亡数、生存胎児数および胎盤重量を記録した。死亡胚・胎児については、発生上の死亡の早い順に、吸収胚、胎盤遺残、早期浸軟胎児、後期浸軟胎児および死亡胎児に分類して記録した。

胎児；各生存胎児の体重を測定し、性比と外表異常の有無について検査した。全生存胎児について胸腔内（心臓の内部観察を除く）および腹腔内の内部臓器の異常の有無を肉眼的に検査した。脳および心臓はリン酸緩衝 10%ホルマリン液で固定した後、それぞれ Wilson の粗大切片法による脳室の検査と西村の顕微解剖法に準じた内臓異常・変異の検査を行った。次いで全胎児は、剥皮して脂肪組織を除去し、95%アルコールに固定した後、Dawson 法に準じてアリザリン・レッド S 染色を施して骨格の異常・変異について検査した。胎児については以下の指標を算出した。

$$\text{着床率(\%)} = (\text{着床数} / \text{黄体数}) \times 100$$

$$\text{胚・胎児死亡率(\%)} = (\text{胚・胎児死亡数} / \text{着床数}) \times 100$$

$$\text{性比} = (\text{雄胎児数} / \text{総生存胎児数}) \times 100$$

試験結果：概要を次頁以降の表に示す。

母動物：

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	0.5	1	3		
1群当り雌動物数	25	25	25	25		
1群当り妊娠雌動物数	24	23	24	22		
死亡雌動物数	0	0	0	0		
一般状態	—	影響なし	影響なし (排糞量減少したが一時的)	排糞量減少 (持続的)		
体重	—	有意差なし	有意差なし	低値傾向 (妊娠 9-28 日)		
補正体重 ^a (kg)	3.45	3.45	3.48	3.37		
体重増加量(各測定日)	—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 6~9 日↓)	有意な低値 (妊娠 6~9 日↓)		
摂餌量	—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 9 日↓)	有意な低値 (妊娠 9~15 日↓)		
剖検所見	—	影響なし	影響なし	影響なし		
着床所見	妊娠雌動物数	24	23	24	22	
	全胚吸収の腹数	0	0	0	0	
	妊娠黄体数 ^a	9.9	10.3	10.0	10.5	
	妊娠子宮重量 ^a (g)	421.2	401.8	441.3	424.0	
	着床数 ^a	8.9	8.4	9.0	9.5	
	着床率 ^a (%)	90.2	81.6	90.2	89.7	
	早期死亡胚数	4	4	3	1	
	後期死亡胎児数	8	1	6	16	
	胚・胎児死亡率 ^a (%)	5.6	2.4	4.1	6.9	
	生存胎児数 ^a	8.4	8.2	8.7	8.7	
	胎児性比 (%) ^a	48.7	50.2	51.0	54.9	
	胎児体重 ^a (g)	雄	34.57	34.96	35.67	32.77
		雌	33.51	34.15	33.46	32.51
	胎盤重量 ^a (g)	3.33	3.37	3.52	3.25	

^a 平均値

補正体重 = 妊娠 28 日の体重 - 妊娠子宮重量

早期死亡胚 = 着床痕 + 吸収胚 + 胎盤遺残、後期死亡胎児 = 早期および後期浸軟胎児 + 死亡胎児

Dunnett の多重比較検定：体重、体重増加量、摂餌量、補正体重^a、黄体数、着床数、生存胎児

数、生存胎児体重、胎盤重量、着床率、胚・胎児死亡率、外表異常率および性比 ↑↓ p ≤ 0.05、

↑↓ p ≤ 0.01

生存胎児体重 (雌雄別) および胎盤重量は一腹ごとの平均値を一標本単位とした。

着床率、胚・胎児死亡率、外表異常率および性比は母動物ごとに率を求め検定を行った。

胎児；

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	0.5	1	3
外表検査：				
検査胎児（腹）数	202 (24)	189 (23)	208 (24)	191 (22)
外表異常のある胎児（腹）数	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
臍帯ヘルニア	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓検査：				
検査胎児（腹）数	202 (24)	189 (23)	208 (24)	191 (22)
内臓異常のある胎児（腹）数	11 (9)	8 (7)	5 (5)	9 (8)
肺の分葉異常（副葉欠損）	4 (2)	1 (1)	1 (1)	4 (4)
心室中隔欠損（膜性部）	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
左又は右心室乳頭筋欠損	1 (1)	2 (1)	0 (0)	1 (1)
左房室口狭小	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
左又は右房心弁欠損	2 (2)	7 (5)	0 (0)	2 (2)
左胸心	1 (1)	0 (0)	2 (2)	2 (2)
右冠状動脈走行異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
異常右鎖骨下動脈	1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
食道の位置異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胆嚢の欠損	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓変異：				
内臓変異のある胎児（腹）数	83 (23)	86 (22)	105 (24)	89 (22)
胸腺頸部遺残	26 (12)	32 (14)	41 (12)	34 (13)
右冠状動脈口過剰	65 (22)	65 (22)	71 (21)	62 (21)
右大静脈後尿管	3 (3)	3 (2)	2 (2)	3 (2)
骨格検査：				
検査胎児（腹）数	202 (24)	189 (23)	208 (24)	191 (22)
骨格異常のある胎児（腹）数	4 (3)	0 (0)	2 (1)	1 (1)
肋骨の分岐	1 (1)	0 (0)	2 (1)	0 (0)
胸椎半脊椎	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
胸骨核癒合	2 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
尾椎の位置異常	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格変異：				
骨格変異のある胎児（腹）数	9 (6)	8 (5)	8 (4)	18 (6)
胸骨核分離	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
距骨未骨化	8 (6)	8 (5)	8 (4)	18 (6)
13 肋骨	150 (24)	139 (22)	148 (24)	142 (22)

胎児（続き）：

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	0.5	1	3
化骨進行度 ^a ：				
検査胎児（腹）数	202 (24)	189 (23)	208 (24)	191 (22)
胸骨核骨化率 (%)				
1st	100	100	100	100
2nd	100	100	100	100
3rd	100	100	100	100
4th	100	100	100	100
5th	75.5	86.1	75.9	77.6
6th	88.2	93.0	87.5	89.2
骨化数 ^a ：				
右前肢 中手骨	4.77	4.75	4.71	4.69
基節骨	4.96	4.97	4.97	4.97
中節骨	3.69	3.55	3.65	3.64
末節骨	5.00	5.00	5.00	5.00
左前肢 中手骨	4.77	4.76	4.72	4.72
基節骨	4.96	4.97	4.97	4.97
中節骨	3.67	3.57	3.65	3.64
末節骨	5.00	5.00	5.00	5.00
左後肢 中足骨	4.00	4.00	4.00	4.00
基節骨	3.97	4.00	4.00	4.00
中節骨	3.95	3.95	3.95	3.92
末節骨	4.00	4.00	4.00	4.00
左後肢 中足骨	4.00	4.00	4.00	4.00
基節骨	3.97	4.00	4.00	4.00
中節骨	3.96	3.95	3.95	3.92
末節骨	4.00	4.00	4.00	4.00
仙尾椎	19.48	19.52	19.45	19.43

^a 平均値

Dunnett の多重比較検定：中手骨、中足骨、指骨並びに仙尾椎骨の各骨化数 ↑↓ $p \leq 0.05$ 、

↑↓ $p \leq 0.01$

各骨化数は一腹ごとの平均値を一標本単位とした。

母動物に及ぼす一般毒性学的な影響は、3 mg/kg 投与群で認められた。すなわち、一般状態の変化として排糞量の持続的減少を示した動物数の増加が見られた。体重は投与期間を通じて低く推移し、妊娠 6～9 日の体重増加量に有意な低値がみられた。摂餌量は妊娠 9 日から 15 日までの期間有意に低下した。1 mg/kg 群でも排糞量の減少や体重増加量および摂餌量の低値がみられたが、排糞量の減少は大部分が対照群と同様に 1～2 日間観察されただけの一時的な現象であり、毒性影響とは考えられなかった。また、体重増加量の低値（対照群の 0.05 ± 0.04 kg に対して 0.01 ± 0.04 kg）は妊娠 6～9 日の期間について、摂餌量の低値（対照群の 171 ± 19 g に対して 149 ± 31 g）は妊娠 9 日に一時的に認められたが、いずれも試験実施機関の背景データ（2001～2003 年実施の 12 試験で、それぞれ $-0.01 \sim -0.06$ kg と $132 \sim 170$ g）の範囲内であり、検体投与の影響とは考えられなかった。0.5 mg/kg 群では、一般状態、体重、体重増加量および摂餌量に検体投与の影響はみられなかった。

妊娠 28 日の剖検では、対照群を含むいずれの群にも被験物質投与に起因した異常はみられなかった。妊娠黄体数、妊娠子宮重量、着床数、着床率、早期死亡胚数、後期死亡胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児数、胎児性比、胎児体重および胎盤重量に検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。

生存胎児の外表面検査では、対照群で臍帯ヘルニアが 1 例みられたのみであった。

内臓検査では種々の異常および変異が観察されたが、いずれの出現頻度にも検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。

骨格検査では種々の異常および変異が観察されたが、いずれの出現頻度にも検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。骨格変異として距骨未骨化の頻度が 3 mg/kg 群でやや高かったが、観察された 18 例中 9 例は 1 腹に偏って発現したものであった。骨化進行度についても検体投与群と対照群で有意な差はみられなかった。

以上の結果から、母動物に対する無毒性量は 1 mg/kg/day、胎児の発生に対する無毒性量は 3 mg/kg/day と考えられた。また、催奇形性に関しては 3 mg/kg/day の用量まで陰性であると結論された。

1.3) 変異原性試験

(1) AH-01 原体 (酸) の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 毒-18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) 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。

検体は滅菌水に溶解し、0.61~78.1 µg/プレート (S9 Mix 非存在下の WP2 *uvrA* 株)、2.4~313 µg/プレート (S9 Mix 非存在下のネズミチフス菌 4 株及び S9 Mix 存在下の WP2 *uvrA* 株)、9.8~1250 µg/プレート (S9 Mix 存在下のネズミチフス菌 4 株) の範囲の 8 濃度で実施した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

用量設定根拠：5000 µg/プレートを最高用量として公比 4 で 7 用量を設定した。その結果 S9 Mix の有無にかかわらず、すべての用量において被験物質の析出は観察されなかった。しかし、S9 Mix 非存在下と S9 Mix 存在下の両方において生育阻害が観察された。したがって、本試験は各菌株の生育阻害を考慮し、78.1 µg/プレート (S9 Mix 非存在下の WP2 *uvrA* 株)、313 µg/プレート (S9 Mix 非存在下のネズミチフス菌 4 株及び S9 Mix 存在下の WP2 *uvrA* 株)、1250 µg/プレート (S9 Mix 存在下のネズミチフス菌 4 株) を最高用量として公比 2 で 8 用量を設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示した。

2 回の試験において検体は S9 Mix の有無にかかわらず、各菌株の生育阻害を起ささない最高用量においても、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 (2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド)、2-AA (2-アミノアントラセン)、NaN₃ (アジ化ナトリウム) 及び 9-AA (9-アミノアクリジン塩酸塩) ではすべ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、本検体は代謝活性化系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した。

1回目試験

薬物	用量 (μg /プレ- ート)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
対照 (滅菌水)		-	120	7	25	15	7	
AH-01 原体	0.61	-	/	/	23	/	/	
	1.2	-	/	/	22	/	/	
	2.4	-	114	6	24	13	6	
	4.9	-	124	10	31	17	8	
	9.8	-	129	8	25	17	9	
	19.5	-	128	8	25*	12	8	
	39.1	-	105	8	23*	12	8	
	78.1	-	80	3	13*	11	5*	
	156	-	39*	3*	/	7*	3*	
313	-	8*	1*	/	3*	2*		
対照 (滅菌水)		+	127	9	26	26	11	
AH-01 原体	2.4	+	/	/	18	/	/	
	4.9	+	/	/	29	/	/	
	9.8	+	121	8	29	27	13	
	19.5	+	121	5	26	16	14	
	39.1	+	108	6	19	23	8	
	78.1	+	92	5	15	14	9	
	156	+	72	2	4*	11	8	
	313	+	15	2	0*	7	4	
	625	+	5*	0*	/	2*	1*	
	1250	+	0*	0*	/	0*	0*	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	361	/	177	/	/
		0.1	-	/	/	/	256	/
	NaN ₃	0.5	-	/	473	/	/	414
	9-AA	80	-	/	/	/	/	/
	2-AA	0.5	+	/	/	/	286	/
		1	+	715	/	/	/	/
		2	+	/	141	/	/	102
	10	+	/	/	117	/	/	

数値は3反復の平均値

*: 菌株の生育阻害が認められた。

AF-2 (DMSOに溶解): 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ (滅菌水に溶解): アジ化ナトリウム

9-AA (DMSOに溶解): 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA (DMSOに溶解): 2-アミノアントラセン

2 回目試験

薬物	用量 (μ g/ プレート)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (滅菌水)		-	111	9	22	18	6
AH-01 原体	0.61	-	/	/	22	/	/
	1.2	-	/	/	22	/	/
	2.4	-	120	5	22	15	5
	4.9	-	127	10	21	15	4
	9.8	-	124	12	26	19	6
	19.5	-	108	11	23*	14	7
	39.1	-	109	9	19*	15	5
	78.1	-	80	4	9*	11	2*
	156	-	35*	4*	/	6*	3*
313	-	8*	1*	/	2*	2*	
対照 (滅菌水)		+	124	10	31	26	11
AH-01 原体	2.4	+	/	/	23	/	/
	4.9	+	/	/	23	/	/
	9.8	+	122	5	22	25	14
	19.5	+	124	6	26	25	6
	39.1	+	100	5	19	19	8
	78.1	+	92	6	8	18	8
	156	+	64	3	4*	11	8
	313	+	11	2	0*	4	3
	625	+	1*	0*	/	0*	1*
	1250	+	0*	0*	/	0*	0*
陽性 対照	AF-2	0.01	-	383	/	162	/
		0.1	-	/	/	/	/
	NaN ₃	0.5	-	/	487	267	/
	9-AA	80	-	/	/	/	447
	2-AA	0.5	+	/	/	257	/
		1	+	764	/	/	/
2		+	/	162	/	98	
	10	+	/	/	128	/	

数値は3反復の平均値

*: 菌株の生育阻害が認められた。

AF-2 (DMSOに溶解): 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ (滅菌水に溶解): アジ化ナトリウム

9-AA (DMSOに溶解): 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA (DMSOに溶解): 2-アミノアントラセン

(2) AH-01 原体 (酸) のチャイニーズハムスターの

CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 毒-19)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体純度： %

試験方法：継代培養したチャイニーズハムスターの CHL 細胞を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は生理食塩水に溶解して用いた。検体の処理時間は 6、24 及び 48 時間とし、6 時間処理では代謝活性化及び非代謝活性化の両条件下で、24 及び 48 時間処理では非代謝活性化条件下で検討した。また、各条件において陽性対照及び溶媒対照群を設けた。

試験は各用量あたり 2 枚のプレートを用いて行った。

観察は各プレートあたり 100 個、1 用量あたり 200 個の分裂中期像について行った。

用量設定根拠：10 mM (1810 µg/mL) を最高用量とし、公比 2 で 9 用量 (7.1~1810 µg/mL) で実施した細胞増殖抑制試験の結果、短時間処理法において代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての用量において 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。また、連続処理法でも、24 及び 48 時間処理ともに、すべての用量において 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。

以上の結果から、短時間処理法及び連続処理法ともに、ガイドライン (12 農産第 8147 号, 2-1-19-2) に従って 10 mM (1810 µg/mL) を最高用量とし、公比 2 で 453、905、1810 µg/mL の 3 用量を設定した。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

検体は短時間処理法及び連続処理法のいずれの方法においても、構造的染色体異常を持つ細胞及び倍数性細胞の出現頻度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 及びベンツ(a)ピレンでは染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において、本検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、染色体異常誘発性を有さないものと結論された。

表. 染色体異常試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理時間	原本 作成時間	観察細胞数	S9 Mix	倍 数性 細胞 数	染色体異常を有する細胞数							総合		判 定		
							染色分体型			染色体型		断 片 化	そ の 他					
							ギ ャ ッ プ	切 断	交 換	切 断	交 換							
												(+g)	(-g)					
溶媒対照 (PS)	1.0%	6 ^{a)}	24	200	-	0	1	1	0	0	1	0	0	3	2	-		
検体	453 ^{b)}					2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1	-
	905 ^{b)}					2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3	2	-
	1810 ^{b)}					4	0	0	1	1	1	0	0	0	0	3	3	-
陽性対照 (MMC)	0.1					3	6	28	69	1	0	0	0	85	83***	+		
溶媒対照 (PS)	1.0%	6 ^{a)}	24	200	+	1	1	0	1	2	0	0	0	4	3	-		
検体	453					7	2	0	3	1	0	0	0	0	0	6	4	-
	905 ^{b)}					1	0	0	2	0	2	0	0	0	0	4	4	-
	1810 ^{b)}					4	1	1	0	1	0	0	0	0	0	2	2	-
陽性対照 [B(a)P]	40					2	12	28	100	3	0	0	0	110	110***	+		
溶媒対照 (PS)	1.0%	24	24	200	-	3	1	1	0	1	0	0	0	3	2	-		
検体	453 ^{b)}					3	2	0	4	0	1	0	0	0	0	5	4	-
	905 ^{b)}					2	1	1	2	1	0	0	0	0	0	5	4	-
	1810 ^{b)}					1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	3	2	-
陽性対照 (MMC)	0.1					3	8	42	91	7	3	0	0	109	107***	+		
溶媒対照 (PS)	1.0%	48	48	200	-	2	3	0	0	1	0	0	0	4	1	-		
検体	453 ^{b)}					1	1	2	3	1	1	0	0	0	0	8	7	-
	905 ^{b)}					4	1	0	1	0	1	0	0	0	0	3	2	-
	1810 ^{b)}					1	2	1	0	3	0	0	0	0	0	5	4	-
陽性対照 (MMC)	0.05					1	4	30	82	6	7	0	0	105	104***	+		

g: ギャップを含まない異常を有する細胞数

a): 被験物質を6時間処理し、新鮮な培地でさらに18時間培養した。

b): 被験物質溶液添加直後に培地の色が黄色に変色し、わずかにpHの低下が認められた。

***: $p \leq 0.001$ (χ^2 test)、溶媒対照区との統計学的有意差あり。

PS: 生理食塩水

陽性対照 MMC: マイトマイシン C、B(a)P; ベンツ(a)ピレン

判定: -; 陰性、+; 陽性

(3) AH-01 原体 (酸) のマウスを用いた小核試験

(資料 毒-20)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系 SPF マウス (Crj:CD)、投与時 7 週齢

投与時体重 平均 34.1 g (30.3~38.6 g)

一群雄各 5 匹 (最高用量群については別にサテライト群として 3 匹)

試験方法：検体を純水に溶解し、62.5、125 及び 250 mg/kg の投与用量 (公比 2) で、強制的に 1 回経口投与した (投与容量は 20 mL/kg)。なお、溶媒対照群には純水を同様に投与した。

投与 24 及び 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドガラス上にメタノールで固定後、ギムザ液で染色し骨髓塗抹標本を作製した。ただし、48 時間後は溶媒対照群と 250 mg/kg 群に対してのみ行った。

マイトマイシン C を投与した陽性対照群は、24 時間後に動物を屠殺した。各標本について、小核を有する多染性赤血球の頻度は、多染性赤血球を 2000 個観察し、その中で小核を持った多染性赤血球を計数することにより求めた。また、多染性赤血球の割合は、赤血球を多染性と正染性に区別しながら 1000 個観察し、その中に占める多染性赤血球の数から求めた。

用量設定根拠：検体の最高耐量を求めるため、125、250、500、1000 および 2000 mg/kg で一群雌雄各 3 匹の動物に投与し、投与後 1、3、5、24 および 48 時間の一般症状を観察した。予備試験の結果、最大耐量は雌雄ともに死亡例の発生がなかった 250 mg/kg と考えられた。最大耐量に性差が見られなかったことから、小核試験では雄動物のみを用いることとした。最高用量を 250 mg/kg とし、投与量を 62.5、125 及び 250 mg/kg とした。しかし、250 mg/kg で雄に跳び上がりなどの症状が認められたことから、投与動物数を増やした場合に死亡例の発生が予想されたため、250 mg/kg ではサテライト群を設け、3 匹の予備動物を用いた。

結果：骨髓塗抹標本の観察結果を以下の表に示した。

250 mg/kg 群及びサテライト群 (250 mg/kg) に1例ずつ死亡が認められた。250 mg/kg 群では立毛、跳び上がり、自発運動低下、昏迷が認められた。その他の投与群では死亡した動物は認められず、また動物の一般状態に異常は認められなかった。

いずれの用量においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照であるマイトマイシンCでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

観察結果

採取時間 (hrs)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	MNPCE/PCE (%)		PCE/ (PCE+NCE) (%)	
					平均値±SD	S ^{KC}	平均値±SD	S ^{WC}
24	陰性対照 (純水)	0	雄	5	0.25±0.14	—	53.8±2.4	—
	検体	62.5	雄	5	0.15±0.04	N.S.	55.3±5.0	N.S.
		125	雄	5	0.22±0.06	N.S.	58.8±2.7	N.S.
		250	雄	5	0.25±0.16	N.S.	45.9±13.3	N.S.
	陽性対照 (マイトマイシンC)	10	雄	5	4.21±2.29	***	41.7±11.2	*
48	陰性対照 (純水)	0	雄	5	0.21±0.07	—	56.6±5.8	—
	検体	250	雄	5	0.17±0.14	N.S.	51.7±4.9	N.S.

MNPCE：小核を有する多染性赤血球数

PCE：多染性赤血球数

NCE：正染性赤血球数

SD：標準偏差

S^{KC}：Kastenbaum-Bowman の数表 (被験物質投与群) またはカイ二乗検定 (陽性対照群) を用いた。

S^{WC}：Wilcoxon の順位和検定を用いた。

N.S.：陰性対照群に対し統計学的有意差なし (p>0.05)

*, ***：陰性対照群に対し統計学的に有意差あり (*; p≤0.05、***; p≤0.001)

結論：以上の結果から本試験条件下において、本検体はの小核誘発性は陰性であるものと結論された。

1 4) 生体機能影響

(1) AH-01 原体 (酸) の生体機能への影響に関する試験 (資料 毒-21)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2006 年

検体純度 : %

1 一般状態に対する作用

1) マウスおよびラットの一般症状に及ぼす影響

供試動物 : ICR 系マウス、投与時 6 週齢、投与時体重 ; 雄, 24.9~29.6 g ; 雌, 18.1~24.2 g、1 群雄雌 5 匹、

SD 系ラット、投与時 6 週齢、投与時体重 ; 138.7~154.2 g、1 群雄 5 匹

投与方法 : マウス ; 検体を脱イオン水に懸濁し、0、50、100、200 および 400 mg/kg の投与量で経口投与し、投与 1、2、4、6 および 24 時間後に Irwin の多次元観察法 (Irwin, S., 1968) に従って一般症状を観察した。さらに 3 日間飼育し 1 日 1 回毒性徴候と死亡について観察した。

ラット ; 検体を脱イオン水に懸濁し、0、60、200 および 600 mg/kg の投与量で経口投与し、機能観察総合評価法 (FOB, Mattson, J.L. et al., 1996) に準じた方法で行動変化、神経症状および中毒症状を評価し、併せて、体温および瞳孔径も測定した。投与 1、2、4、6 および 24 時間後に一般症状を観察した。さらに、投与 24 時間後の観察終了後に体重を測定した。24 時間後の一般状態観察で症状がみられたため、症状が消失した 4 日後まで 24 時間毎に一般状態観察を行った。

結果 : マウス ; 雄マウスの一般状態に対して、AH-01 原体の 50 および 100 mg/kg 投与群では影響を及ぼさなかった。200 mg/kg 投与群では、投与 4 時間後あたりから振戦などの影響が認められ、24 時間後以降、著明な状態の悪化が確認され、48~72 時間後で全例に死亡が認められた。400 mg/kg 投与群でも投与 4 時間後あたりから振戦などの影響が認められ、24~48 時間後で全例に死亡が認められた。雌マウスの一般状態に対して、AH-01 原体の 50 mg/kg 投与群では影響を及ぼさなかった。100 mg/kg 投与群では、投与後の一般状態に異常は認められなかったが、24 時間後に 1/5 例で死亡が認められた。200 mg/kg 投与群では、投与 6 時間後あたりから振戦などの影響が認められ、24~72 時間後で 4/5 例が死亡した。400 mg/kg 投与群では投与 4 時間後あたりから警戒性異常や歩行失調などの影響が認められ、6~48 時間後に全例で死亡が認められた。

ラット ; 一般状態に対して、AH-01 原体の 60 および 200 mg/kg 投与群では明らかな影響を及ぼさなかった。600 mg/kg 投与群では、投与 24 時間後で接触反応亢進、運動失調、痛覚過敏、移動性の増加など中枢興奮性を示唆

する影響が認められた。これらの症状は、投与 72 時間後まで減弱しながら持続し、96 時間後に回復が認められた。なお、600 mg/kg 投与群の体重は、24~96 時間後で明らかな減少が認められた。

2 中枢神経系に対する作用

1) ラット自発運動に対する作用

供試動物：SD 系ラット、投与時 6 週齢、投与時体重；146.2~178.8 g、1 群雄 8 匹
投与方法：検体を脱イオン水に懸濁し、0、60、200 および 600 mg/kg の投与量で経口投与し、投与 1、2、4、6 および 24 時間後に各々 3 分間のケージ内の自発運動量を受動型赤外線センサー方式の測定システムで測定した。

結果：AH-01 原体の 200 および 600 mg/kg 投与群の投与 6 時間後又は 24 時間後に自発運動量の有意な減少が認められた。また、600 mg/kg 投与群の 1 例では、24 時間後に死亡が認められた。

自発運動量の結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	投与後時間					
	投与前	1	2	4	6	24
0	890	864	746	542	654	632
60	894	756	619	602	505	778
200	899	638	596	258	315↓	639
600	897	732	511	440	378	274↓

Dunnett の多重比較検定： ↑↓, $p < 0.05$ ↑↓, $p < 0.01$

2) マウスの電撃痙攣に対する作用

供試動物：ICR 系マウス、投与時 6 週齢、投与時体重；27.9~33.3 g、1 群雄 10 匹
投与方法：検体を脱イオン水に懸濁し、0、50、100 および 200 mg/kg の投与量で経口投与し、投与 2 時間後に、マウスの両眼瞼に電気ショックを与えた。電気ショックの刺激条件は、パルス幅 5 msec、周波数 100 Hz とし、1 秒間に 0.5 mA ずつ電流を段階的に上昇させ、間代性痙攣 (Cl.) および強直性伸展痙攣 (T.E.) が発現する時の電流値を読み取った。

結果：AH-01 原体の 200 mg/kg 投与群まで影響を及ぼさなかった。

3) マウスの抗痙攣作用

供試動物：ICR 系マウス、投与時 6 週齢、投与時体重；27.9~33.3 g、1 群雄 10 匹
投与方法：検体を脱イオン水に懸濁し、0、50、100 および 200 mg/kg の投与量で経口投与し、その 2 時間後に pentetrazol 60 mg/kg を皮下投与し、間代性痙攣 (Cl.)、強直性伸展痙攣 (T.E.) および死亡の有無を 30 分間にわたって観察した。評価はそれぞれの出現例数で行った。

結果：AH-01 原体の 50 および 100 mg/kg 経口投与は、雄マウスの pentetrazol 誘発

痙攣における Cl⁻、T.E.および死亡発現に対して影響を及ぼさなかったが、200 mg/kg 投与量で間代性痙攣を誘発する傾向が認められた。

3 循環器系に対する作用

1) 無麻酔ラットの血圧、心拍数に対する作用

供試動物：SD系ラット、投与時6週齢、投与時体重；145.1～185.6 g、1群雄6匹
 投与方法：検体を脱イオン水に懸濁し、0、60、200 および 600 mg/kg の投与量で経口投与し、投与1、2、4 および 6 時間後に血圧および心拍数を測定した。

結果：ラットの無麻酔下での収縮期血圧および心拍数に対して、AH-01 原体の 60 および 200 mg/kg 投与群では影響を及ぼさなかった。600 mg/kg 投与群では血圧に影響を及ぼさなかったが、心拍数の減少傾向が認められた。

4 腎機能に対する作用

1) ラットの尿量および尿中電解質に対する作用

供試動物：SD系ラット、投与時6週齢、投与時体重；142.4～167.4 g、1群雄6匹
 投与方法：検体を脱イオン水に懸濁し、0、60、200 および 600 mg/kg の投与量で経口投与し、その直後に生理食塩液を 2.5 mL/100 g 体重の割合で経口負荷し、1匹ずつ採尿ケージに入れた。媒体又は被験液投与 6 時間後までの尿を採取し、遠心分離（4℃、1500 rpm、10 分間）して上清を採取するとともに尿量を測定した。また、尿中の Na⁺、K⁺ および Cl⁻ 濃度および浸透圧を測定した。尿中 Na⁺ および K⁺ 濃度から Na⁺/K⁺ 比を求めた。

結果：AH-01 原体の 60 mg/kg 投与群は、尿量および尿中電解質排泄量および尿浸透圧に影響を及ぼさなかった。200 mg/kg 投与群では、尿量および尿中電解質排泄量に影響を及ぼさなかったが、尿浸透圧は有意に上昇した。600 mg/kg 投与群では、尿量に対して影響を及ぼさなかったが、尿中 Na⁺ および K⁺ 排泄量の増加傾向および Cl⁻ 排泄量の有意な増加が認められ、尿浸透圧も有意に上昇した。

尿量および尿中電解質の結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	全尿量 (mL/10 0g/6hr)	[Na ⁺] (μEq/100 g/6hr)	[K ⁺] (μEq/100 g/6hr)	Na ⁺ /K ⁺ 比	[Cl ⁻] (μEq/100 g/6hr)	浸透圧 (mOsm/k g·H ₂ O)
0	2.4	250	84	2.99	183	503
60	1.8	204	53	4.15	174	569
200	1.8	207	81	2.92	209	682↑
600	2.3	315	110	2.94	394↑	712↑

Dunnett の多重比較検定： ↑↓, p<0.05 ↑↓, p<0.01

5 血液系に対する作用

1) ラットの血液凝固に対する作用

供試動物：SD系ラット、投与時6週齢、投与時体重：151.1～175.6g、1群雄6匹

投与方法：検体を脱イオン水に懸濁し、0、60、200および600mg/kgの投与量で経口投与し、投与2時間後にペントバルビタールナトリウム40mg/kg腹腔内投与麻酔下で開腹した。後大静脈から採血し、プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結果：血液系に対する作用として検討したラットの血液凝固試験では、AH-01原体は600mg/kgの投与用量まで影響を及ぼさなかった。

以上のように、本剤の生体機能に及ぼす試験に関して、ラットあるいはマウスを用いて検討した結果、一般状態において、マウスの雄では200mg/kg以上、雌では100mg/kg以上、ラットでは600mg/kg投与群で死亡や神経症状が認められた。また、200mg/kg以上の投与群で自発運動量、pentetrazol誘発痙攣、心拍数、尿中電解質排泄と尿浸透圧に影響を及ぼすことが明らかとなった。

生体機能に及ぼす影響一覧表

試験項目	使用動物 (動物数)	投与経路 (溶媒)	用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果	
一般状態	Irwin	マウス 雄 (5)	経口 (脱イ オン水)	50, 100, 200, 400,	200	100	200mg/kg: 4 時間後に 1/5 例で振戦 24 時間後に 2/5 例瀕死、2/5 例接触 反応過敏など興奮性の異常 48~72 時間後に全例死亡 400mg/kg: 4 時間後に 3/5 例で振戦 6 時間後に 4/5 例で振戦、興奮動作 24~48 時間後に全例死亡
	Irwin	マウス 雌 (5)	経口 (脱イ オン水)	50, 100, 200, 400,	100	50	100mg/kg: 24 時間後に 1/5 例死亡 したが、4/5 例は 72 時間後まで異 常なし 200mg/kg: 6 時間後に 1/5 例で振戦 24~72 時間後に 4/5 例死亡、1/5 例 は異常なし 400mg/kg: 4 時間後から 3/5 例に警 戒性異常、歩行失調など、6 時間後 に 1/5 例死亡、2/5 例は異常なし 24~48 時間後に残り全例死亡
	FOB	ラット 雄 (5)	経口 (脱イ オン水)	60, 200, 600,	600	200	600mg/kg: 24 時間後に全例で接触 反応亢進、運動失調、取り扱い困 難など興奮性を示唆する異常状態 これらの症状は 4 日後に全例回復
中枢神経系	自発運動量	ラット 雄 (8)	経口 (脱イ オン水)	60, 200, 600,	200	60	200mg/kg: 6 時間後に有意な減少 600mg/kg: 24 時間後に有意な減少
	電撃痙攣	マウス 雄 (10)	経口 (脱イ オン水)	50, 100, 200,	-	200	200mg/kg まで作用なし
	Pentetrazol 痙攣	マウス 雌 (10)	経口 (脱イ オン水)	50, 100, 200,	200	100	200mg/kg で間代性痙攣の誘発傾向
循環器系	無麻酔 血圧、 心拍数	ラット 雄 (6)	経口 (脱イ オン水)	60, 200, 600,	600	200	600mg/kg で心拍数の減少傾向、血 圧には作用なし
腎機能	尿量・電解 質・浸透圧	ラット 雄 (6)	経口 (脱イ オン水)	60, 200, 600,	200	60	200mg/kg で尿浸透圧の有意な上昇 600mg/kg で尿中 Cl ⁻ 排泄量の有意 な増加および尿浸透圧の有意な上 昇、尿中 Na ⁺ , K ⁺ 排泄量の増加傾向
血液系	血液凝固	ラット 雄 (6)	経口 (脱イ オン水)	60, 200, 600,	-	600	600mg/kg まで作用なし

2. 原体混在物および代謝物

1) AHI-B、AHI-C 混合物のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 毒-22)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検体純度： % (内、AHI-B, 48.83% ; AHI-C, 48.70%)

供試動物：ICR 系 SPF マウス(Crj:CD1(ICR))、雌、
投与時 8 週齢、投与時体重 23.3 g~27.2 g、一群 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を注射用水に溶解して、マウスに 20 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。
動物を投与約 3 時間前より投与終了の約 1 時間後まで絶食させた。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与 30 分および 4 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日に測定した。試験終了時の全生存動物を屠殺後、剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法 (農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年) により評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300, 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000 (GHS カテゴリー 5)
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	一般状態の変化なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

臨床症状の観察では、全ての動物において臨床症状は認められなかった。
全ての動物において、投与後 7 日および 14 日の測定で投与前の値と比べ体重増加が認められた。

観察期間終了時に行った剖検では、全ての動物で異常は認められなかった。

2) AHI-D のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 毒-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系 SPF マウス (Crj:CD1(ICR))、雌、
投与時 8 週齢、投与時体重 22.4~27.2 g、一群各 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：毒性等級法により、1 回目は 300 mg/kg として投与を開始した。検体を注射用水に溶解して、投与前約 3 時間絶食させたマウスに 20 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与 30 分および 4 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日および死亡発見時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物を安楽死させ、剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年）により評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	300 < LD ₅₀ ≤ 2000 (GHS カテゴリー 4)
死亡開始時間および終了時間	2000 mg/kg： 投与後 1 日から発現 投与後 2 日まで
症状発現時間および消失時間	300 および 2000 mg/kg： 投与後 4 時間から発現 投与後 1 日まで
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	≤ 300
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

投与 1 回と 2 回目 (300 mg/kg) では死亡はみられなかった。投与 3 回目 (2000 mg/kg) では、投与後 1 日に 1 例、2 日に 2 例の死亡がみられた。一般状態の観察において、

300 mg/kg 投与により肛門周囲被毛の汚れおよび軟便が投与後4時間にみられたが、投与後1日には消失した。2000 mg/kg 用量では横臥位、攻撃性、自発運動低下または消失、呼吸緩徐、体温下降、口周囲被毛の汚れおよび流涎が観察された。

投与後7日の体重測定では、投与1回と2回目における300 mg/kg 用量の6例中2例にごくわずかの体重減少がみられたが、14日目の測定では投与前の体重を上回った。死亡動物の剖検所見として、腺胃部黒色斑散在、胃の黒色内容物および口周囲被毛の汚れが認められた。観察期間終了時（投与後14日）に行った生存動物の剖検では異常は認められなかった。

3) AHI-B、AHI-C 混合物の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検体純度： % (内、)

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA/pKM101* 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) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法を用いて変異原性を検定した。

検体を DMSO (ジメチルスルホキシド) に溶解し、S9 mix 非存在下では全ての菌株に対し 39.1~1250 µg/プレート、S9 mix 存在下では 39.1~1250 µg/プレート (WP2 *uvrA/pKM101*) または 156~5000 µg/プレート (ネズミチフス菌 4 菌株) の範囲の 6 用量 (公比 2) で試験を実施した。各用量について 2 枚 (溶媒対照群のみ 4 枚) のプレートを用了。

用量設定根拠：5000 µg/プレートを最高用量とし公比 4 で 7 用量を設定した試験 (表 1) を行った。その結果、S9 mix 非存在下の全ての菌株および S9 mix 存在下の WP2 *uvrA/pKM101* で 1250 µg/プレート以上、S9 mix 存在下の TA98、TA100、TA1535 および TA1537 では 5000 µg/プレートの用量で生育阻害が認められた。したがって、本試験では 1250 µg/プレート (S9 mix 非存在下の全ての菌株および S9 mix 存在下の WP2 *uvrA/pKM101*) または 5000 µg/プレート (S9 mix 存在下のネズミチフス菌 4 菌株) を最高用量として公比 2 で 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示した。

用量設定試験 (表 1) および本試験 (表 2) とも、使用した全ての菌株において S9 mix の有無にかかわらず、溶媒対照値と比較して 2 倍以上となる検体処理群での復帰突然変異コロニー数増加は認められなかった。また、本試験において、S9 mix 非存在下の全ての菌株および S9 mix 存在下の WP2 *uvrA/pKM101* で 625 µg/プレート以上、S9 mix 存在下のネズミチフス菌 4 菌株では 2500 µg/プレート以上の用量で生育阻害が認められた。

一方、陽性対照物質として用いた AF-2 (2-(2-フリル)-3-(5-ニコロ-2-フリル)アクリルアミド)、 NaN_3 (ナトリウム・アジド)、9-AA (9-アミノアクリジン)、2-AA (2-アミノアントラセン) では、それぞれの菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、代謝活性化系を含む本試験条件下で、本検体の復帰変異原性は陰性と判断された。

表1 用量設定試験

薬物	用量 (μg / プレート)	S9 mix	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 <i>uvrA</i> / pKM101	TA98	TA1537			
溶媒対照 (DMSO)		-	123	9	84	18	9			
AHI-B、 AHI-C 混合物	1.22	-	134	12	85	19	6			
	4.88	-	121	10	79	14	8			
	19.5	-	118	9	84	22	8			
	78.1	-	124	10	76	20	9			
	313	-	114	10	61	13	6			
	1250	-	85*	6*	0*	9*	8*			
	5000	-	0*	1*	0*	0*	3*			
溶媒対照 (DMSO)		+	125	12	125	26	13			
AHI-B、 AHI-C 混合物	1.22	+	138	7	110	23	8			
	4.88	+	131	10	125	23	11			
	19.5	+	125	8	122	26	13			
	78.1	+	122	11	126	18	11			
	313	+	110	9	114	21	12			
	1250	+	95	6	19*	11	6			
	5000	+	4*	3*	0*	1*	1*			
陽性 対照	AF-2	0.005	-	/	/	/	/	/		
		0.01	-						709	
		0.1	-							
	NaN ₃	0.5	-						401	
		9-AA	80						-	
	2-AA		0.5						+	
		1	+						1077	
		2	+							235

数値は2プレートの平均値。ただし、溶媒対照のみ4プレートの平均値。

DMSO: ジメチルスルホキシド

*: 菌株の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: ナトリウム・アジド

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2 本試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix	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 <i>avrA</i> / pKM101	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)		—	106	9	91	14	9
AHI-B、 AHI-C 混合物	39.1	—	120	9	79	17	9
	78.1	—	94	11	84	15	7
	156	—	91	9	73	18	10
	313	—	105	8	61	15	8
	625	—	87*	8*	18*	13*	6*
	1250	—	57*	6*	0*	8*	5*
溶媒対照 (DMSO)		+	109	11	123	23	11
AHI-B、 AHI-C 混合物	39.1	+	/	/	125	/	/
	78.1	+	/	/	115	/	/
	156	+	104	9	108	18	9
	313	+	83	8	104	20	8
	625	+	79	4	57*	15	8
	1250	+	67	7	20*	14	6
	2500	+	25*	5*	/	2*	7*
	5000	+	0*	3*	/	0*	2*
陽性 対照	AF-2	0.005	/	/	1438	/	/
		0.01	741	/	/	/	/
	NaN ₃	0.1	/	/	/	491	/
		0.5	/	332	/	/	/
	9-AA	80	/	/	/	/	536
		0.5	+	/	/	373	/
	2-AA	1	+	1046	/	/	/
		2	+	/	258	771	/

数値は 2 プレーットの平均値。ただし、溶媒対照のみ 4 プレーットの平均値。

DMSO：ジメチルスルホキシド

*：菌株の生育阻害が認められた。

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃：ナトリウム・アジド

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

4) AHI-D の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA*/pKM101 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) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法を用いて変異原性を検定した。

検体を滅菌水に溶解し、S9 mix 有無のいずれの場合においても、9.77~313 µg/プレート (TA98) および 39.1~1250 µg/プレート (その他の菌株) の範囲の 6 用量 (公比 2) で試験を実施した。各用量について 2 枚 (溶媒対照群のみ 4 枚) のプレートを用いた。

用量設定根拠：5000 µg/プレートを最高用量とし公比 4 で 7 用量を設定した試験 (表 1) を行った。その結果 S9 mix 有無のいずれの場合においても、TA98 で 313 µg/プレート以上、TA100、TA1535、TA1537 および WP2 *uvrA*/pKM101 では 1250 µg/プレート以上の用量で生育阻害が認められた。したがって、本試験では 313 µg/プレート (TA98) および 1250 µg/プレート (その他の菌株) を最高用量として公比 2 で 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示した。

用量設定試験 (表 1) および本試験 (表 2) とともに、使用した全ての菌株において S9 mix の有無にかかわらず、溶媒対照値と比較して 2 倍以上となる検体処理群での復帰突然変異コロニー数増加は認められなかった。また、本試験においては、S9 mix 有無のいずれの場合でも、TA98 の 156 µg/プレート以上、TA100、TA1535、TA1537 および WP2 *uvrA*/pKM101 では 625 µg/プレート以上の用量で生育阻害が認められた。

一方、陽性対照物質として用いた AF-2 (2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド)、NaN₃ (ナトリウム・アゾド)、9-AA (9-アミノアクリジン)、2-AA (2-アミノトラン) では、それぞれの菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、代謝活性化系を含む本試験条件下で、本検体の復帰変異原性は陰性と判断された。

表1 用量設定試験

薬物	用量 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	TA98	TA1537	
溶媒対照 (滅菌水)		-	109	9	93	18	10	
AHL-D	1.22	-	122	9	104	22	11	
	4.88	-	123	11	109	15	9	
	19.5	-	121	13	108	16	9	
	78.1	-	109	7	122	17	7	
	313	-	111	7	96	7*	7	
	1250	-	104*	9*	64*	0*	8*	
5000	-	106*	9*	40*	0*	6*		
溶媒対照 (滅菌水)		+	119	13	135	23	15	
AHL-D	1.22	+	137	9	124	22	11	
	4.88	+	132	12	133	28	14	
	19.5	+	137	12	125	20	6	
	78.1	+	126	8	131	12	10	
	313	+	115	6	107	9*	10	
	1250	+	99*	9*	54*	0*	10*	
5000	+	43*	4*	29*	0*	3*		
陽性 対照	AF-2	0.005	-	/	/	1592	/	
		0.01	-			685		
	0.1	-	370			483		
	NaN ₃	0.5				-		
	9-AA	80	-			462		469
	2-AA	0.5	+					
		1	+			1255		247
2	+							

数値は2プレートの平均値。ただし、溶媒対照のみ4プレートの平均値。

*: 菌株の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: ナトリウム・アジド

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

表2 本試験

薬物	用量 (μg / プレート)	S9 mix	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 <i>uvrA</i> / pKM101	TA98	TA1537	
溶媒対照 (滅菌水)		-	99	13	81	17	10	
AHI-D	9.77	-	/	/	/	19	/	
	19.5	-	/	/	/	17	/	
	39.1	-	114	7	79	14	7	
	78.1	-	125	11	95	16	10	
	156	-	103	12	88	12*	11	
	313	-	95	11	84	11*	9	
	625	-	90*	18*	66*	/	6*	
	1250	-	99*	8*	47*	/	8*	
溶媒対照 (滅菌水)		+	117	9	115	19	14	
AHI-D	9.77	+	/	/	/	24	/	
	19.5	+	/	/	/	21	/	
	39.1	+	116	14	128	22	12	
	78.1	+	125	10	121	14	11	
	156	+	107	9	125	16*	9	
	313	+	99	9	111	8*	10	
	625	+	102*	8*	72*	/	6*	
	1250	+	99*	5*	38*	/	3*	
陽性対照	AF-2	0.005	-	/	/	1242	/	/
		0.01	-	593	/	/	/	/
		0.1	-	/	/	/	518	/
	NaN ₃	0.5	-	/	358	/	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	/	538
	2-AA	0.5	+	/	/	/	366	/
		1	+	1087	/	/	/	/
		2	+	/	232	749	/	188

数値は2プレートの平均値。ただし、溶媒対照のみ4プレートの平均値。

*: 菌株の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: ナトリウム・アジド

9-AA: 9-アミノアクリジン

2-AA: 2-アミノアントラセン

5) AH-C のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 毒-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系 SPF マウス(Crlj:CD1(ICR))、雌、
投与時 8 週齢、投与時体重 23.2 g～27.8 g、一群各 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を注射用水に溶解して、一晩絶食させたラットに 20 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。動物を投与約 3 時間前より投与終了の約 1 時間後まで絶食させた。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与 30 分および 4 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日に測定した。試験終了時の全生存動物を屠殺後、剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年）により評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300, 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000 (GHS カテゴリー 5)
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	一般状態の変化なし
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

臨床症状の観察では、全ての動物において臨床症状は認められなかった。

投与 2 回目の 300 mg/kg 群の 1 例に、投与後 7 日の測定で投与前の値と比べごく軽度の体重減少 (0.1 g) が認められた。投与後 14 日の測定では、投与前の値と比べ体重増加が認められた。

観察期間終了時に行った剖検では、全ての動物で異常は認められなかった。

6) AH-C の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA/pKM101* 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) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法を用いて変異原性を検定した。

検体を滅菌水に溶解し、S9 mix 有無のいずれの場合においても、全ての菌株について 156~5000 µg/プレートの範囲の 6 用量 (公比 2) で試験を実施した。各用量について 2 枚 (溶媒対照群のみ 4 枚) のプレートを用いた。

用量設定根拠：5000 µg/プレートを最高用量とし公比 4 で 7 用量を設定した試験 (表 1) を行った。その結果、S9 mix 有無のいずれの場合においても、TA98、TA100、TA1535、TA1537 および WP2 *uvrA/pKM101* で 5000 µg/プレートの用量で生育阻害が認められた。したがって、本試験では全ての菌株について、5000 µg/プレートを最高用量として公比 2 で 6 用量を設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示した。

用量設定試験 (表 1) および本試験 (表 2) とも、使用した全ての菌株において S9 mix の有無にかかわらず、溶媒対照値と比較して 2 倍以上となる検体処理群での復帰突然変異コロニー数増加は認められなかった。また、本試験においては、S9 mix 有無のいずれの場合でも、全ての菌株で 2500 µg/プレート以上の用量で生育阻害が認められた。

一方、陽性対照物質として用いた AF-2 (2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド)、 NaN_3 (ナトリウムアジド)、9-AA (9-アミノアクリジン)、2-AA (2-アミノアントラセン) では、それぞれの菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、代謝活性化系を含む本試験条件下で、本検体の復帰変異原性は陰性と判断された。

表1 用量設定試験

薬物	用量 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	TA98	TA1537	
溶媒対照 (滅菌水)		—	107	8	96	18	10	
AH-C	1.22	—	117	8	90	17	6	
	4.88	—	125	9	97	19	15	
	19.5	—	114	5	84	18	8	
	78.1	—	111	10	84	19	10	
	313	—	129	4	101	16	8	
	1250	—	124	6	92	17	12	
	5000	—	134*	8*	84*	16*	13*	
溶媒対照 (滅菌水)		+	118	12	135	23	13	
AH-C	1.22	+	125	9	117	20	12	
	4.88	+	131	7	128	20	13	
	19.5	+	130	6	148	23	13	
	78.1	+	132	9	141	24	15	
	313	+	127	8	135	18	10	
	1250	+	122	9	123	18	7	
	5000	+	0*	0*	0*	0*	0*	
陽性対照	AF-2	0.005	/	/	1449	/	/	
		0.01	670	/	/	/	/	
		0.1	/	/	/	473	/	
	NaN ₃	0.5	/	360	/	/	/	
	9-AA	80	/	/	/	/	448	
	2-AA	0.5	+	/	/	/	458	/
		1	+	1212	/	/	/	/
	2	+	/	242	849	/	215	

数値は2プレートの平均値。ただし、溶媒対照のみ4プレートの平均値。

*：菌株の生育阻害が認められた。

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃：ナトリウム・アジド

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 2 本試験

薬物	用量 (μg / プレート)	S9 mix	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 <i>uvrA</i> / pKM101	TA98	TA1537
溶媒対照 (滅菌水)		—	99	12	82	18	10
AH-C	156	—	118	7	81	16	14
	313	—	94	11	88	17	9
	625	—	104	11	86	20	11
	1250	—	102	11	79	13	9
	2500	—	117*	12*	85*	15*	12*
	5000	—	113*	11*	92*	21*	15*
溶媒対照 (滅菌水)		+	117	13	116	19	14
AH-C	156	+	122	13	122	23	15
	313	+	129	13	136	21	9
	625	+	125	8	138	22	15
	1250	+	123	8	126	22	9
	2500	+	113*	10*	111*	23*	12*
	5000	+	0*	0*	0*	0*	0*
陽性 対照	0.005	—	/	/	1204	/	/
	AF-2	0.01	—	593	/	/	/
		0.1	—	/	/	515	/
	NaN ₃	0.5	—	/	361	/	/
	9-AA	80	—	/	/	/	527
	2-AA	0.5	+	/	/	367	/
		1	+	1060	/	/	/
	2	+	/	234	749	/	184

数値は2プレートの平均値。ただし、溶媒対照のみ4プレートの平均値。

*：菌株の生育阻害が認められた。

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃：ナトリウム・アジド

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

3. 製剤

1) AH-01 11.5%液剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 毒-28)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

検 体: AH-01 11.5%液剤 (ロット番号 FS-491)

供試動物: Wistar 系 SPF ラット (Icl:Wistar)、雌、
投与時週齢 9 週齢、投与時体重 168.5 g (165~174 g)、1 群 3 匹

観察期間: 投与後 14 日間

投与方法: 検体を精製水で希釈して、濃度 200 mg/mL の投与液を調製した。16~18 時間絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重の用量で胃内に 1 回強制経口投与した (投与容量は 10 mL/kg 体重)。投与後 4 時間で再給餌した。

観察・検査項目: 全例について動物の生死、外観、行動等を投与前、投与後、1、2、および 4 時間後に観察し、投与後 1 日から毎日 1 回以上 14 日間観察した。投与 0 日、投与後 1、3、5、7、10 及び 14 日 (最終剖検日) に個別別体重を測定した。投与後 8 日に死亡した 1 例はその日に、生存例 5 例は投与後 14 日にエーテル麻酔で安楽死させた後に、いずれについても詳細な剖検を実施した。急性毒性の程度は、毒性等級法 (農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年) により評価した。

結 果: 結果を下表に示す。

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000
死亡開始及び終了時間	投与後 8 日のみ
症状発現及び消失時間	投与後 1 日から発現 投与後 14 日で 1/5 例に継続
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし

2000 mg/kg の投与後 1 日以降に全例に被毛の汚れ（口周囲、肛門周囲、外尿道口周囲）がみられた。他に下痢、呼吸緩徐、自発運動低下が認められ、1 例が投与後 8 日に衰弱死した。したがって、死亡率は 1/6 であった。体重推移では、投与後 1 日以降に全例で体重減少がみられ、死亡例 1 例と生存例 1 例を除く 4 例は投与後 10 日までに回復した。剖検所見では、死亡した 1 例で胸腺、肝臓及び脾臓に萎縮が認められ、生存した 5 例中 1 例で胸腺、肝臓及び脾臓の萎縮に加え前胃粘膜肥厚も認められた。

(資料 毒-29)

2) AH-0111.5%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関：)

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

検 体：AH-01 液剤 (ロット番号 FS-631)

供試動物：Wistar 系 SPF ラット [Crj:WI(Wistar)]、雌雄、投与時雄 8 週齢、雌 10 週齢
投与時体重 雄 266~307 g、雌 213~256 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 500、1000 ないし 2000 mg/kg の投与量で 4×5 cm のパッドの上に均一に
載せ、前日剪毛したラットの背部中央に当てて閉塞性サージカルテープで固定
し、24 時間貼付投与した。投与終了後、残存する検体を微温湯で除去した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 1、3 及び 6 時間後に、1 日後
から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、
14 日及び死亡発見時に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物を屠殺
後、剖検した。雌の LD₅₀ は Moving average 法で求めた。

結果：結果を下表に示す。

投与方法	経皮	
	雄	雌
性		
投与量 (mg/kg)	2000	500、1000、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	1782 (傾き：5.05)
死亡開始及び終了時間	投与後 1 日に発現	2000 mg/kg で投与後 3 日から発現し、投与後 8 日に終了
症状発現及び消失時間	投与後 1 日から発現し、投与後 5 日に消失	2000 mg/kg で投与後 1 日から発現し、投与後 8 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	なし	1000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	なし	1000

死亡率は雄の 2000 mg/kg 投与群で 1/5、雌の 2000 mg/kg 投与群で 3/5 となった。また、雌の 1000 及び 500 mg/kg 投与群ではいずれも 0/5 であった。

一般状態の観察において、腹臥位、攻撃性、鎮静、自発運動低下、触発運動、呼吸緩徐、体温下降及び流涎が観察され、さらに鼻周囲部ないし外陰部被毛の汚れも認められた。体重測定において、投与後 7 日では 2000 mg/kg の雌雄 1 例ずつに体重減少がみられたものの、投与後 14 日では生存例全例で投与前の値と比べ増加した。剖検所見においては、死亡例では、胸腺萎縮、腺胃部の黒色斑散在、胃と腸管の黒色内容物及び背部皮膚硬化が観察され、さらに被毛汚れが鼻周囲部あるいは外陰部に認められた。

3) AH-01 11.5%液剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 毒-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検 体：AH-01 11.5%液剤 (ロット番号 FS-491)

供試動物：日本白色種ウサギ (Kbs: JW)、雄、

入荷時週齢：18-19 週齢、 投与時体重：3.49~3.80 kg

一群 3 匹

観察期間：投与終了後 72 時間観察で評価、一般状態は投与終了後 10 日。

投与方法：検体 0.5 mL をリント布 (1 inch×1 inch) に均一に塗布し、剪毛・剃毛した動物の左背中の皮膚にあて、粘着テープで固定した。投与は 4 時間の半閉塞パッチとし、パッチ開始後 4 時間にリント布を外し、投与部位を微温湯を浸した脱脂綿を用いて清拭した。右背中の皮膚を対照部位とし、検体と同様の方法で精製水 0.5 mL を投与した。

観察項目：パッチ除去後 1、24、48 および 72 時間、さらに パッチ除去後 4、5、7 および 10 日に、全例の投与部位の観察を行った。投与部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) は、農林水産省ガイドラインに従い採点した。また、皮膚刺激性の評価は、観察時間ごとに平均評点を算出し、パッチ除去 1、24 および 48 時間後の平均評点を平均し、その値を皮膚一次刺激指数として評価基準 (AFNOR、1982 年) に従って区分した。

結 果：観察した刺激性変化の評点を下表に示す。

項目	最高評点*	投与後時間							
		1h	24h	48h	72h	4d	5d	7d	10d
紅斑・痂皮	4	2.0	2.0	2.0	2.0	1.7	1.0	0.7	0.0
浮腫	4	1.0	1.0	1.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	3.0	3.0	3.0	2.3	1.7	1.0	0.7	0.0

表の点数は 3 匹の平均評点

*：判定基準の最高評点

h：時間、d：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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

パッチ除去後 1 時間に非常に軽度の浮腫 (評点 1) を伴うはっきりした紅斑 (評点 2) が全例 (3 匹) に認められた。この変化はパッチ除去後 48 時間まで継続して認められ、その後漸次回復し、パッチ除去後 10 日までに消失した。検体の皮膚一次刺激指数は 3.0 であり、評価基準では「軽度刺激物」であった。

以上の結果から、本試験条件下において検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有すると判断された。

4) AH-01 11.5%液剤のウサギにおける眼刺激性試験

(資料 毒-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検 体：AH-01 11.5%液剤 (ロット番号 FS-510)

供試動物：ニュージーランドホワイト種 SPF ウサギ、雌、投与時 8-9 週齢、
投与時体重 1793~2046 g、一群各 3 匹

観察期間：7日間

投与方法：検体 0.1 mL を左眼に適用した。動物は、被験物質投与後洗眼しない群 (A 群) および投与 30 秒後に洗眼する群 (B 群) の 2 群に分け、A 群および B 群とも 3 匹を用いた。右眼は無処理対照眼とした。

観察項目：投与後 1、24、48、72 時間および 4、7 日に、スリットランプを用いて、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化の有無を観察し、採点は農林水産省の毒性試験指針 (12 農産第 8147 号、2-1-5、2000 年) に従い実施した。また、投与後 24 時間にフルオレスセインおよびスリットランプを用いた眼検査を行った。
眼刺激性の評価については OECD の基準¹⁾を参考にして、(a)刺激性反応の種類、(b)反応の強さ、(c)反応が可逆性または非可逆性であるか、(d)反応がみられた動物の割合を総合的に判断した。

結 果：観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

項 目		最高 評点	適用後時間						
			1 時間	1 日後	2 日後	3 日後	4 日後	7 日後	
A, 非洗眼群	角膜	混濁	4	0.7	1.0	0.7	0.7	0.7	0
	虹彩		2	0.3	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	2.0	1.3	0.7	0.7	0
		浮腫	4	2.3	2.0	1.0	0	0	0
B, 洗眼群	角膜	混濁	4	0.7	0.3	0.3	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	1.3	0.3	0.3	0.3	0
		浮腫	4	1.7	0.3	0.3	0	0	0

評点は 3 匹の平均値

角膜の刺激性変化：

散在性またはびまん性の混濁が投与後 1 時間から観察され、A 群では投与後 7 日までに、B 群では投与後 72 時間までに消失した。

虹彩の刺激性変化：

投与後 1 時間の観察でわずかな虹彩の充血が A 群の 1 例に観察された。B 群では観察期間中に虹彩の刺激性変化は認められなかった。

結膜の刺激性変化：

結膜の発赤：一部の血管が明らかに充血する程度の発赤ないしびまん性で深紅色の発赤が、A 群および B 群とも全例に投与後 1 時間から 4 日にかけて認められた。これら結膜の発赤は投与後 7 日までに消失した。

結膜の浮腫：A 群では正常を超える腫脹、眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹ないし眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹が、B 群では正常を超える腫脹ないし眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹が、いずれの群とも全例に投与後 1 時間から 48 時間にかけて認められた。

その他：結膜の分泌物として、正常よりわずかに多い分泌物（評点 1）から眼瞼、眼瞼に接する被毛および眼の周囲を相当範囲浸潤する分泌物（評点 3）が、投与後 1 時間および 24 時間にかけて A 群および B 群の全例に観察された。投与後 24 時間のフルオレスセイン染色による眼検査では、A 群の全例に角膜損傷範囲 1/4 以上の評点 2 ないし 3 が、B 群の 1 例のみに角膜損傷範囲 1/2 以上の評点 3 が観察された。

以上の結果から、AH-01 液剤はウサギの眼粘膜に対し、OECD 区分 2B の軽度の眼刺激性であると判定した。また、投与 30 秒後の洗眼による洗眼効果が認められた。

参考文献：

- 1) OECD (2001) Harmonized integrated classification system for human health and environmental hazards of chemical substances and mixtures. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 33, ENV/JM/MONO(2001)6.

4)-1 AH-01 11.5%液剤(50倍希釈液)のウサギにおける眼刺激性試験 (資料 毒-31-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検 体：AH-01 11.5%液剤 (ロット番号 FS-491)

供試動物：ニュージーランドホワイト種 SPF ウサギ、雌、投与時 11 週齢
投与時体重 2352～2405 g、一群 3 匹

観察期間：3 日間

投与方法：検体 0.1 mL を左眼に適用した。右眼を無処置対照眼とした。

観察項目：投与後 1、24、48 および 72 時間に、スリットランプを用いて、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化の有無を観察し、採点は農林水産省の毒性試験指針 (12 農産第 8147 号、2-1-5、2000 年) に従い実施した。

眼刺激性の評価については OECD の基準¹⁾を参考にして、(a)刺激性反応の種類、(b)反応の強さ、(c)反応が可逆性または非可逆性であるか、(d)反応がみられた動物の割合を総合的に判断した。

結 果：観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

項 目		最高 評点	適用後時間			
			1 時間	1 日後	2 日後	3 日後
角膜	混濁	4	0	0	0	0
虹彩		2	0	0	0	0
結膜	発赤	3	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

評点は 3 匹の平均値

角膜の刺激性変化：観察期間中に角膜の刺激性変化は認められなかった。

虹彩の刺激性変化：観察期間中に虹彩の刺激性変化は認められなかった。

結膜の刺激性変化：観察期間中に結膜の発赤および浮腫は認められなかった。

その他：結膜の分泌物として、正常よりわずかに多い分泌物 (評点 1) ないし眼瞼および眼瞼に接する被毛を浸潤する分泌物 (評点 2) が投与後 1 時間の観察にて認められた。これら結膜の分泌物は投与後 24 時間までにすべて消失した。

以上の結果から、本被験物質はウサギの眼粘膜に対し無刺激性であると判定した。

参考文献：

- 1) OECD (2001) Harmonized integrated classification system for human health and environmental hazards of chemical substances and mixtures. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 33, ENV/JM/MONO(2001)6.

5) AH-01 11.5%液剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 毒-32)

試験機関：4

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

検 体：AH-01 11.5%液剤 (ロット番号 FS-491)

供試動物： ハートレイ系 SPF モルモット、雌、
感作投与開始時 5 週齢で体重 345~385 g、
陰性対照群 (A 群) 10 匹、検体感作群 (B 群) 20 匹、陽性対照物質非感
作群 (C 群) 5 匹、陽性対照物質感作群 (D 群) 10 匹、

観察期間： 惹起用パッチ除去後 48 時間

試験操作： [Buehler 法]

投与量設定根拠；予備試験として、検体を精製水で 25、5 および 1% に希釈し、1 週
間間隔で 3 回経皮投与した。一般状態、体重推移および投与部位の変化を観
察した結果、25% では第 2 回投与後以降に体重増加抑制および軽度または高
度の紅斑が、5% では第 2 回投与後以降に軽度の紅斑がみられ、1% では変化
はみられなかった。以上の結果より感作誘導は一般状態、体重推移に変化の
みられない 5%、惹起濃度は皮膚一次刺激性を生じない最高濃度である 25%
とした。

感作誘導投与；感作期間開始の前日に動物の左側腹部 (約 6×6 cm) を剪毛・剃毛し
た。感作誘導開始日、誘導開始後 7 日および 14 日に左側腹部中央に、2.4×
2.4 cm のリント布に塗布した以下の物質をあて、粘着テープで被覆・固定し、
6 時間閉塞パッチした。

群	物質(溶媒)	濃度(%)	投与容量(mL)	回数
A	精製水	—	0.2	3
B	検体(精製水)	5	0.2	3
C	オリーブ油	—	0.2	3
D	DNCB(オリーブ油)	0.5	0.2	3

DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン

惹起投与；最終誘導日の 14 日後に、前処理 (前日に剪毛・剃毛) した右側腹部に、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2.4×2.4 cm のリント布に塗布した以下の物質をあて、粘着テープで被覆・固定し、6 時間閉塞パッチした。

群	物質(溶媒)	濃度(%)	投与容量(mL)	回数
A	検体(精製水)	25	0.2	1
B	検体(精製水)	25	0.2	1
C	DNCB(エタノール)	0.1	0.2	1
D	DNCB(エタノール)	0.1	0.2	1

DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン

観察項目；惹起用パッチ除去後 24 および 48 時間に、パッチ部位を肉眼的に観察し以下に示す基準に従って採点した。

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

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
				24 時間後					48 時間後					24 時間	48 時間
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計		
				0	1	2	3		0	1	2	3			
A	0% 検体	25% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
B	5% 検体	25% 検体	20	7	13	0	0	13/20	7	13	0	0	13/20	65	65
C	0% DNCB	0.1% DNCB	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0
D	0.5% DNCB	0.1% DNCB	10	0	0	5	5	10/10	0	6	4	0	10/10	100	100

DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン。

精製水で感作誘導し 25%検体で惹起した陰性対照群 (A 群) では、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかったのに対し、5%検体で感作誘導し 25%検体で惹起した検体感作群 (B 群) では、20 例中 13 例に散在性または斑状の紅斑 (評点 1) が認められ、5%検体は皮膚感作性を有することが示唆された。しかし、25%検体の惹起における平均評価点および陽性率は 0.7 および 65%であり、いずれも評点 1 を超える反応は認められず、陽性率が 100%未満であることから、その感作性は弱いと考えられた。

一方、オリーブ油で感作誘導し 0.1%DNCB で惹起した陽性対照物質非感作群 (C

群) では、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかったのに対し、0.5%DNCB で感作誘導し 0.1%DNCB で惹起した陽性対照物質感作群 (D 群) では、全例 (10 匹) に散在性または斑状の紅斑 (評点 1) から強い紅斑と浮腫 (評点 3) が認められた。0.1%DNCB の惹起における 24 および 48 時間後の平均評価点は 2.5 および 1.4、陽性率はいずれも 100%であった。

以上の結果から、本試験条件下において、5%検体は弱い皮膚感作性を有するものと考えられ、本検体は感作性物質であると判断した。

6) AH-01 11.5%液剤の生体機能への影響に関する試験

(資料 毒-33)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

検 体：AH-01 11.5%液剤（ロット番号 FS-631）

1 一般状態に対する作用

1) マウスの一般状態に及ぼす影響

供試動物：ICR系マウス、投与時6週齢、投与時体重；雄，26.4～28.2g；雌，20.7～22.5g、1群雄雌3匹

投与方法：検体を注射用水に溶解して、一晚絶食させた動物に、溶媒対照、1000及び2000mg/kgの用量で投与容量10mL/kgで強制経口投与し、投与1、2、4、6および24時間後にIrwinの多次元観察法（Irwin, S., 1968）に従って一般状態を観察した。24時間後の観察で症状がみられたため、症状が消失した6日後まで1日1回一般状態観察を行った。

結 果：1000mg/kg群では投与6時間後から接触反応の過敏、拳尾及び体重の減少などを呈する個体が認められ、3日後までに雌雄各3例中1例が死亡した。2000mg/kg群では投与4～6時間の間に眼瞼下垂、警戒性の過敏又は鈍化、受動性の低下、接触反応の過敏、振戦、ピクつき、腹臥位、歩行失調、異常歩行、針金の後肢把握の低下、同側性屈曲反射の過敏、あえぎ呼吸、低体温、血色不良、立毛及び体重の減少などを呈する個体が認められ、6日後までに雌雄各3例中3例が死亡した。死亡例の解剖結果、消化管内（胃前庭、十二指腸、小腸）に出血痕、消化管内にガス貯留が認められた。

2 中枢神経系に対する作用

1) マウスの抗痙攣作用

供試動物：ICR系マウス、投与時6週齢、投与時体重；27.4～31.9g、1群雄8匹

投与方法：検体を注射用水に溶解して、一晚絶食させた動物に、溶媒対照、1000及び2000mg/kgの用量で投与容量10mL/kgで強制経口投与し、その2時間後にpentetrazol 60mg/kgを皮下投与し、間代性痙攣、強直性伸展痙攣および死亡の有無を30分間にわたって観察した。評価はそれぞれの出現例数で行った。

結 果：AH-01液剤の1000及び2000mg/kg群は、間代性けいれん、強直性伸展けいれん及び死亡の有無に対して媒体群と比較して有意な変化は認められなかった。

3 循環器系に対する作用

1) 無麻酔ラットの血圧、心拍数に対する作用

供試動物：SD系ラット、投与時6～7週齢、投与時体重；196.6～248.2 g、1群雄5匹
 投与方法：検体を注射用水に溶解して、一晚絶食させた動物に、溶媒対照、1000及び2000 mg/kgの用量で投与容量10 mL/kgで強制経口投与し、投与1、2、4および6時間後に血圧および心拍数を測定した。

結果：ラットの無麻酔下での収縮期血圧および心拍数に対して、AH-01液剤の1000 mg/kg群は、収縮期血圧に対して投与6時間後に媒体群と比較して有意な低下が認められた。心拍数に対しては媒体群と比較して有意な変化は認められなかった。2000 mg/kg群は、収縮期血圧に対して投与2及び6時間後に媒体群と比較して有意な低下が認められた。また、心拍数に対して投与4及び6時間後に媒体群と比較して有意な減少が認められた。

4 腎機能に対する作用

1) ラットの尿量および尿中電解質に対する作用

供試動物：SD系ラット、投与時7週齢、投与時体重；200.9～231.4 g、1群雄5匹
 投与方法：検体を注射用水に溶解して、一晚絶食させた動物に、溶媒対照、1000及び2000 mg/kgの用量で投与容量10 mL/kgで強制経口投与し、その直後に生理食塩液を2.5 mL/100 g体重の割合で経口負荷し、1匹ずつ採尿ケージに入れた。媒体又は被験液投与6時間後までの尿を採取し、遠心分離（4℃、1500 rpm、10分間）して上清を採取するとともに尿量を測定した。また、尿中のNa⁺、K⁺およびCl⁻濃度および浸透圧を測定した。尿中Na⁺およびK⁺濃度からNa⁺/K⁺比を求めた。

結果：AH-01液剤の1000 mg/kg群では、媒体群と比較して有意な浸透圧の上昇が認められた。2000 mg/kg群は、媒体群と比較して有意な尿量の減少及び浸透圧の上昇が認められた。なお、5例中3例において下痢が原因と推察される懸濁尿が認められた。

尿量および尿中電解質の結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	全尿量 (mL/100g /6hr)	[Na ⁺] (μEq/100g /6hr)	[K ⁺] (μEq/100 g/6hr)	Na ⁺ /K ⁺ 比	[Cl ⁻] (μEq/100 g/6hr)	浸透圧 (mOsm/k g・H ₂ O)
0	2.8	243	49	5.58	260	420
1000	2.3	319	58	6.00	319	748↑
2000	1.8	315	75	4.22	287	1170↑

Dunnettの多重比較検定： ↑↓, p<0.05 ↑↓, p<0.01

5 血液系に対する作用

1) ラットの血液学的検査

供試動物：SD系ラット、投与時7週齢、投与時体重；208.5～230.0 g、1群雄5匹

投与方法：検体を注射用水に溶解して、一晩絶食させた動物に、溶媒対照、1000及び2000 mg/kgの用量で投与容量10 mL/kgで強制経口投与し、投与2時間後にペントバルビタールナトリウム40 mg/kg腹腔内投与麻酔下で開腹した。後大静脈から採血し、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度及び白血球型別百分率(好塩基球、好酸球、好中球、リンパ球、単球、その他)、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結果：血液系に対する作用として検討したラットの血液学的検査では、AH-01液剤は1000及び2000 mg/kgの用量においても、全測定項目に対して影響を及ぼさなかった。

以上、AH-01液剤は、マウスの一般状態において全身状態の悪化に伴う中毒様の抑制作用がみられたのに加え、振戦、ピクつき、拳尾などなど中枢神経系の興奮様症状も認められた。ラットでは、1000 mg/kg群では収縮期血圧の低下及び尿浸透圧の上昇が、2000 mg/kg群では収縮期血圧及び心拍数の低下、尿量の減少及び尿浸透圧の上昇が認められた。

生体機能に及ぼす影響一覧表

試験項目	使用動物 (動物数)	経路 (溶液)	用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果
一般状態 観察	マウス 雄 (3) 雌 (3)	経口 (注射 用水)	0, 1000, 2000	1000	—	1000 mg/kg: (雄雌各 1 例死亡) 雄;振戦、ピクつき、挙尾、接触反応の過敏 雌;警戒性の過敏又は鈍化、視覚位置の反応低下、受動性の低下、接触反応の過敏、疼痛 反応の過敏、挙尾、歩行失調、歩行不能、 正向反射の着地不全、肢筋緊張度の低下、 針金の後肢把握の低下、同側性屈曲反射の 過敏、あえぎ呼吸、低体温、血色不良、立 毛、体重の減少 2000 mg/kg: (雄雌全例死亡) 雄;眼瞼下垂、警戒性の鈍化、受動性の低下、 振戦、常同行動、歩行失調、歩行不能、接 触反応の過敏、挙尾、ピクつき、腹臥位、 針金の後肢把握の低下、あえぎ呼吸、低体 温、血色不良又は立毛、体重の減少 雌;眼瞼下垂、警戒性の過敏又は鈍化、視覚 位置の反応低下、受動性の低下、接触反応 の過敏、疼痛反応の過敏又は鈍化、振戦、 ピクつき、腹臥位、歩行失調、異常歩行又 は歩行不能、正向反射の着地不全、肢筋緊 張度の低下、針金の後肢把握の低下、耳介 反射の低下、角膜反射の低下、同側性屈曲 反射の過敏、あえぎ呼吸・深大呼吸又は呼 吸緩徐、低体温、血色不良、立毛、体重の 減少 死亡例の解剖結果: 胃前庭部の出血痕、十二指腸、小腸の出血 痕、胃及び小腸内にガス貯留
Pentetrazol 誘発けい れん	マウス 雄 (8)		0, 1000, 2000	—	2000	2000 mg/kg まで作用なし。
血圧・ 心拍数	ラット 雄 (5)		0, 1000, 2000	1000	—	1000 mg/kg: 投与 6 時間後、血圧の低下。 2000 mg/kg: 投与 2、6 時間後、血圧の低下。 投与 4、6 時間後、心拍数減少。
尿量・電解 質 ・浸透圧	ラット 雄 (5)		0, 1000, 2000	1000	—	1000 mg/kg: 浸透圧の上昇 2000 mg/kg: 尿量の減少、浸透圧の上昇。
血液学的 検査	ラット 雄 (5)		0, 1000, 2000	—	2000	2000 mg/kg まで作用なし。

7) AH-01 11.5%液剤のラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験 (資料 毒-34)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011 年

検 体：AH-01 11.5%液剤 (ロット番号 FS-631)

供試動物：Wistar 系 SPF ラット (Jcl:Wistar)、雌、

投与時週齢 8 週齢、投与時体重 149~170 g、1 群 9 匹 (血中濃度測定は 1 群 3 匹)

観察期間：投与後 24 時間

投与方法：AH-01 液剤、AH-01 原体及び AH-01 溶媒をそれぞれ注射用水を用いて希釈し、約 16 時間絶食させた動物に 2000 mg/kg、205 mg/kg 及び 2000 mg/kg を単回経口投与した。各群の被験物質投与及び AH-01 (酸) 濃度を下表に示す。

被験物質	投与量 ^{a)} (mg/kg)	濃 度 ^{a)} (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)
AH-01 液剤	2000 (205)[1795]	200 (20.5)[179.5]	10
AH-01 原体	205 (205)[0]	20.5 (20.5)[0]	10
AH-01 溶媒	2000 (0)[2000]	200 (0)[200]	10

a) : () 内の数値は AH-01 フリー体としての投与量又は濃度を示し、
[] 内の数値は溶媒の投与量又は濃度を示す

観察・検査項目：動物は投与開始前、開始後 1、2、4 及び 24 時間後に一般症状観察を行い、投与後 24 時間に剖検した。また、投与 0.25、0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後の計 7 時点で採取した血液を用いて、血漿中の AH-01 (酸) あるいは溶媒の主成分である界面活性剤ポリオキシエチレンアルキルエーテル濃度を測定し、採血時点ごとの平均値を用いて最高薬物濃度 (C_{max})、最高薬物濃度到達時間 (T_{max}) 及び濃度時間曲線下面積 (AUC_{0-24h}) を算出した。

結 果：

一般症状：AH-01 液剤投与群において、投与約 24 時間後に自発運動低下、呼吸緩徐及び外尿道口周囲の被毛の汚れがみられた。AH-01 原体投与群及び AH-01 溶媒投与群では、一般状態の異常はみられなかった。

剖検：いずれの投与群においても、胃、小腸及び大腸に肉眼的異常はみられなかった。

血中濃度変化（トキシコキネティクス）；AH-01（酸）及びポリオキシエチレンアルキルエーテルの血中濃度パラメータを次表に示す。

性	雌 (n=3)		
	AH-01液剤	AH-01原体	AH-01溶媒
被験物質	AH-01液剤	AH-01原体	AH-01溶媒
投与量 (mg/kg)	2000*	205	2000
AH-01（酸）			
T _{max} (h)	0.25	0.25	—
C _{max} (ng/mL)	80700	37000	—
AUC _{0-24h} (ng·h/mL)	274000	77500	—
ポリオキシエチレンアルキルエーテル			
T _{max} (h)	—	—	2
C _{max} (ng/mL)	—	—	4140
AUC _{0-24h} (ng·h/mL)	—	—	24800
表中の値は平均値、—：測定せず			
*：AH-01（酸）として205 mg/kgに相当			

AH-01液剤投与群及びAH-01原体投与群の血漿中のAH-01（酸）濃度は、投与後速やかに上昇し、その後徐々に低下した。T_{max}はいずれも0.25時間であった。C_{max}は、液剤投与群で原体投与群の約2倍の高値を示した。投与24時間後の血漿中のAH-01（酸）濃度は、原体投与群では検出下限以下となったが、液剤投与群では比較的高いまま推移し、液剤投与群のAUC_{0-24h}は原体投与群の約3.5倍高かった。

AH-01溶媒投与群では、ポリオキシエチレンアルキルエーテルの全身暴露が確認され、T_{max}は2時間であった。

以上、AH-01液剤投与群では原体投与群に比べてAH-01（酸）の血中濃度が高く維持された状態で推移しており、このことが、AH-01液剤投与群における一般状態変化の発現に関与していると考えられた。一方、AH-01液剤投与群と同量の溶媒を投与した群では、溶媒の主成分であるポリオキシエチレンアルキルエーテルの血中移行（全身暴露）が確認された。

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 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
運-1 (GLP)	動物体 内にお ける代 謝	ラット 雌雄	試験項目:排泄バラン ス 試験方法: [¹⁴ C]AH-01 をラッ ト雌雄に 2mg/kg ま たは 100mg/kg の用 量で単回経口投与し た。 投与 72 時間後に屠殺 し、残部体組織、消化 管(内容物を含む)お よびケージ洗液の放 射能を測定した。 尿中の放射能を投与 6,24,48,72 時間後に、 糞中の放射能を投与 24,48, 72 時間後に測 定した。 全時点の試料を合わ せ、糞尿中の代謝物を HPLC,LC-MS(MS) で同定、定量した。	投与した[¹⁴ C]AH-01 は速やか に糞尿に排泄された。主要な排泄 経路は糞であり、投与後 72 時間で 投与量の 88.5~88.9%が糞中に排 泄され、尿中には 7.8~9.1%が排 泄された。 投与 72 時間後における消化管 (内容物を含む) および残部体組 織の残留量はそれぞれ投与量の 0.2~0.8%および 0.2~0.9%であ った。 糞中の主要代謝物は親化合物 (低用量群: 54.9%、高用量群: 76.4~76.9%)、 (低用 量群: 23.6~26.4%、高用量群: 5.0~8.6%) および (低 用量群: 6.5~7.5%、高用量群: 2.2~2.4%) であった。 尿中の主要代謝物は親化合物 (低用量群: 2.3~3.7%、高用量 群: 2.4~3.3%)、 (低 用量群: 1.7~1.8%、高用量群: 1.3~1.8%) および (低 用量群: 1.3~1.6%、高用量群: 1.7~1.8%) であった。 用量に係りなく、性差は認めら れなかった。	(2006)	231
運-2 (GLP)	動物体 内にお ける代 謝	ラット 雌雄	試験項目:血中キネテ イクス 試験方法: [¹⁴ C]AH-01 をラッ	血漿中の薬物動態パラメータは 以下の通りであった。 <低用量> T _{max} : 1 時間 (雄) 1 時間 (雌) C _{max} : 0.047 μg eq/g (雌)	(2006)	236

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
			ト雌雄に 2mg/kg または 100mg/kg の用量で単回経口投与した。 投与 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 24 時間後の血漿および血液中の放射能を測定した。	0.045 $\mu\text{g eq/g}$ (雌) AUC _{0-∞} : 0.232 $\mu\text{g eq/g.h}$ (雄) 0.219 $\mu\text{g eq/g.h}$ (雌) T _{1/2} : 4.28 時間 (雄) 3.94 時間 (雌) <高用量> T _{max} : 2 時間 (雄) 1 時間 (雌) C _{max} : 2.333 $\mu\text{g eq/g}$ (雄) 2.360 $\mu\text{g eq/g}$ (雌) AUC _{0-∞} : 13.951 $\mu\text{g eq/g.h}$ (雄) 14.538 $\mu\text{g eq/g.h}$ (雌) T _{1/2} : 3.95 時間 (雄) 4.03 時間 (雌) 用量に係りなく、性差は認められなかった。		
運-2 (GLP)	動物体内における代謝	ラット 雌雄	試験項目: 組織分布 試験方法: [¹⁴ C]AH-01 をラット雌雄に 2mg/kg または 100mg/kg の用量で単回経口投与した。 投与 1, 6 (低用量), 9 (高用量), 72 時間後に屠殺し、組織中の放射能を測定した。	最高血漿中 ¹⁴ C 濃度 (C _{max}) 時点である投与 1 時間後の低用量では、消化管以外の臓器・組織への分布は投与量の 1% 未満であった。投与 72 時間後では、雌雄の腎臓、肝臓および胸腺、雄の精巣で 0.04 $\mu\text{g eq/g}$ 以上の濃度を示した。精巣および精巣上体を除き、各臓器・組織中の ¹⁴ C 濃度は投与後 72 時間までに減衰した。 高用量では、精巣および精巣上体を含め、全ての臓器・組織において投与後 72 時間までに臓器・組織中の ¹⁴ C 濃度は減衰した。投与 72 時間後では、雄の腎臓、精巣、および雌雄の脾臓、胸腺で 1.0 $\mu\text{g eq/g}$ 以上の濃度を示した。	(2006)	236
運-3 (GLP)	動物体内における代謝	ラット 雌雄	試験項目: 胆汁排泄 試験方法: [¹⁴ C]AH-01 をラット	投与後 48 時間以内に投与量の 82.1%~87.2% が糞中に、7.0~8.2% が尿中に、0.04~0.05% が胆汁中に排泄された。また、投与 48	(2006)	242

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
			<p>ト雌雄に 2mg/kg または 100mg/kg の用量で単回経口投与した。投与 6,12,24,48 時間後の胆汁および尿中の放射能、24,48 時間後の糞中の放射能を測定した。</p> <p>また投与 48 時間後に屠殺し、残部体組織、消化管(内容物を含む)およびケージ洗液の放射能を測定した。</p>	<p>時間後には投与量の 0.4~0.8%が残部体組織に、0.4~1.1%が消化管(内容物を含む)に、2.8~5.3%がケージ洗液に検出された。これらのことより、胆汁への排泄率は極値かであった。また、吸収率は 10.6~14.2%であった。</p> <p>用量に係りなく、性差は認められなかった。</p>		
<p>逗-4 (非GLP)</p>	<p>動物体内における代謝</p>	<p>ラット 雌雄</p>	<p>試験項目： 予備試験(排泄バランス、血中キネティクス、組織分布、胆汁排泄)</p> <p>試験方法： [¹⁴C]AH-01 をラット雌雄に 2mg/kg または 100mg/kg の用量で単回経口投与した。</p> <p>試料の分析は投与後下記の時点で実施した。</p> <p>尿: 6,24,48,72 時間後 糞: 24,48,72 時間後 呼気: 6,24,48 時間後 胆汁: 6,24,48 時間後 血漿: 0.5,1,2,4,6,9, 12,24,48 時間後 臓器・組織: 72 時間後</p>	<p>投与した [¹⁴C]AH-01 は速やかに糞尿に排泄された。主要な排泄経路は糞であり、投与量の 89.7~92.2%が糞中に排泄された。呼気中へは投与量の 0.2%以下であり、有意な量の放射能は検出されなかった。主要な排泄経路である糞中の放射能は胆汁ではなく、直接糞に排泄されていた。</p> <p>血漿中の放射能濃度は用量、雌雄に関わらず投与後 0.5~1 時間に最大になり、半減期は 5~12 時間であった。</p> <p>投与 72 時間後の体内残留量は投与量の 0.3~1.2%であり、投与後 72 時間までにほぼ全量が体外に排泄された。</p> <p>用量に係りなく、排泄バランス、血中キネティクス、組織分布、胆汁排泄において性差は認められなかった。</p>	<p>(2006)</p>	<p>245</p>

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
逡-5 (GLP)	植物体 内にお ける代 謝	水稻	<p>試験項目:分布、移行、 代謝</p> <p>試験方法: [¹⁴C]AH-01を4.77 mg/ポット(最大慣行 施用量相当)で1回土 壌混和処理した。処理 66日後に茎葉部を中 間採取し、127日後に 玄米、初穀、稲わら、 根部を採取して、放射 能を測定した。また、 HPLC,LC-MS(MS), TLCで代謝物を同 定、定量した。</p>	<p>最終収穫期における玄米および 稲わらの TRR レベルはそれぞれ 0.31ppm、0.55ppmであった。玄 米においては0.067ppm(TRRの 22%)が抽出され、0.24ppm(TRR の78%)が結合残渣に存在した。稲 わらにおいては、0.25ppm(TRRの 46%)が抽出され、0.3ppm (TRR の54%)が結合残渣に存在した。 玄米および稲わらにおける主要代 謝物としては、それぞれ が0.042ppm(TRRの 14%)、0.21ppm (TRRの38%) 検出されたが、親化合物は検出さ れなかった。</p> <p>一方、中間収穫期における茎葉 部の TRR レベルは0.23ppmであ った。0.089ppm(TRRの39%)が 抽出され、0.14ppm (TRRの61%) が結合残渣に存在した。主要代謝 物としては、 が 0.067ppm(TRRの29%)検出され たが、親化合物は検出されなかつ た。</p>	(2006)	251
逡-6 (GLP)	植物体 内にお ける代 謝	キャベツ	<p>試験項目:分布、移行、 代謝</p> <p>試験方法: [¹⁴C]AH-01を77.2 mg/m²(最大慣行施用 量相当)で移植7日 前に土壌混和処理し た。移植65日後に中 間収穫後、再び79.7</p>	<p>最終収穫期におけるキャベツの TRR レベルは0.043ppmであつ た。0.035ppm (TRRの82%)が 抽出され、0.008ppm (TRRの 18%)が結合残渣に存在した。主 要代謝物としては、 が 0.02ppm (TRRの46%) 検出され たが、親化合物は検出されなかつ た。</p> <p>一方、中間収穫期におけるキャ</p>	(2006)	258

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
			mg/m ² で土壌表面散布処理し、処理14日後に採取して、放射能を測定した。 また、HPLC, LC-MS(MS), TLCで代謝物を同定、定量した。	ベツのTRRレベルは0.036ppmであった。0.031ppm (TRRの86%)が抽出され、0.005ppm (TRRの14%)が結合残渣に存在した。主要代謝物としては が 0.02ppm (TRRの54%) 検出されたが、親化合物は検出されなかった。		
暹・7 (GLP)	植物体内における代謝	トマト	試験項目:分布、移行、代謝 試験方法: [¹⁴ C]AH-01を84.0 mg/m ² (最大慣行施用量相当)で移植7日前に土壌混和処理した。移植76日後に実を中間収穫後、再び82.7 mg/m ² で土壌表面散布処理し、処理14日後に実および葉を採取して、放射能を測定した。またHPLC, LC-MS(MS), TLCで代謝物を同定、定量した。	最終収穫期における実および葉のTRRレベルはそれぞれ0.013ppm、0.068ppmであった。実においては0.012ppm (TRRの93%)が抽出され、結合残渣への残存はわずかであった。実および葉における主要代謝物としてはそれぞれ が0.009ppm (TRRの73%)、0.049ppm (TRRの72%) 検出されたが、親化合物は検出されなかった。 一方、中間収穫期における実のTRRレベルは0.01ppmであった。0.009ppm (TRRの91%)が抽出され、結合残渣への残存はわずかであった。主要代謝物としては、 が0.006ppm (TRRの66%) 検出されたが、親化合物は検出されなかった。	(2006)	263
暹・8 (GLP)	土壌分解等 (好気的土壌)	畑地土壌 (埼玉県久喜市)	試験方法: [¹⁴ C]AH-01を0.72 mg/kg (最大慣行施用量相当)で処理した。25°Cでインキュベーターし、1,3,7,14,30, 59,120日後の放射能	DT ₅₀ は3.3日、DT ₉₀ は15.4日であり、速やかに分解した。120日後におけるCO ₂ への無機化率は約64%であった。主要な代謝物としては: (最大19.9%) および: (最大9.6%)を 検出したが、いずれの分解物も120	(2006)	268

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁															
			を測定した。また、HPLC,TLCで分解物を同定、定量した。	日後には1.5%以下まで減少した。																	
遅-9 (GLP)	土壌分解等 (好氣的湛水土壤)	水田土壌 (埼玉県熊谷市)	試験方法： [¹⁴ C]AH-01を0.91 mg/kg (最大慣行施用量相当)で処理した。25℃でインキュベートし、3,7,14,21, 32,59,119日後の放射能を測定した。また、HPLC,TLCで分解物を同定、定量した	DT ₅₀ は6.9日、DT ₉₀ は22.9日であり、速やかに分解した。119日後におけるCO ₂ への無機化率は約51%であった。主要な代謝物として (最大34%)を検出したが、119日後には8.6%まで減少した。	(2006)	269															
遅-10 (GLP)	土壌吸着	砂壌土 (青森) 壤土 (福島) シルト質壤土 (栃木) シルト質埴土 (埼玉) 砂土 (徳島)	試験条件： (土/水比) 徳島：1/1 福島、青森、埼玉：1/5 栃木：1/50 (濃度) 0.0572, 0.114, 0.572, 1.14, 5.72 ppm (温度) 25℃	(吸着平衡化時間) 徳島、福島、埼玉：4時間 青森、栃木：48時間 (吸着パラメータ) <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th></th> <th>青森</th> <th>福島</th> <th>栃木</th> <th>埼玉</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>K_F</td> <td>9.75</td> <td>0.873</td> <td>351</td> <td>0.608</td> </tr> <tr> <td>K_{Foc}</td> <td>339</td> <td>153</td> <td>3975</td> <td>14.3</td> </tr> </tbody> </table> 徳島土壌は吸着性が著しく低く解析不可能		青森	福島	栃木	埼玉	K _F	9.75	0.873	351	0.608	K _{Foc}	339	153	3975	14.3	(2006)	290
	青森	福島	栃木	埼玉																	
K _F	9.75	0.873	351	0.608																	
K _{Foc}	339	153	3975	14.3																	
遅-11 (GLP)	水中運命 (加水分解)	緩衝液 (pH 4、5、7、9)	試験方法： [¹⁴ C]AH-01を5 ppmとなるように各緩衝液に添加し、25℃で29日間インキュベートした。経時的に試料を採取し、HPLCで定量、同定を行った。	いずれの条件下でも分解は見られず、安定であり、DT ₅₀ は1年以上と推定された。	(2006)	296															

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁
運-12 (GLP)	水中選 命 (水中光 分解)	緩衝液 (pH 5、 7、9) 自然水	試験方法： [¹⁴ C]AH-01を2 ppm となるように添加し、 25℃で48.4W/m ² (300-400nm)の光強 度で約300時間照射 した。経時的に試料を 採取し、HPLC,TLC で定量、同定を行っ た。	pH5, 7では分解は見られず安定 であったため、DT ₅₀ は1年以上と 推定された。 一方、pH9と自然水においては 分解速度は遅かったが、分解が見 られた。pH9では最終分析時点に おいて、 が8.7%生成し た。また、自然水では最終分析時 点において が12.9%生 成した。東京の春の太陽光に換算 したDT ₅₀ はpH9においては399 日、自然水においては220日と推 定された。	(2006)	300

残農研：財団法人残留農薬研究所（日本）

Ricerca：Ricerca Biosciences, LLC（米国）

PTRL：PTRL West, Inc.（米国）

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
AH-01	親化合物	AH-01	L-homoalanin-4-yl(methyl) phosphinic acid	
M1	動物 植物 上壤 光	AH-C	3-[hydroxy(methyl)phosphinoyl] propionic acid	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

< [¹⁴C]AH-01 の合成法 >

* : ¹⁴C 標識位置