

(5) 哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料 51)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

検体純度：プロベナゾール

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来の CHL/IU 細胞株を用い、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。

検体はジメチルスルホキシドに溶解して用いた。検体の処理時間は 6 及び 24 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 時間処理では非代謝活性化条件下で検討した。用量設定範囲は短時間処理法では 50~200 µg/mL(非代謝活性化系)、30~60 µg/mL(代謝活性化系)、連続処理法 40~160 µg/mL とした。また、各条件において陽性対照及び溶媒対照群を設けた。短時間処理法の代謝活性化系では 30, 40, 50, 60 µg/mL の 4 用量で試験を行ったが、50 µg/mL 以上で強い細胞毒性が認められ分析可能な用量が 3 用量得られなかった。したがって、この試験系では再度 10, 20, 30, 40, 50 µg/mL の 5 用量で試験を行い、細胞毒性が認められなかった 40 µg/mL 以下の 4 用量で染色体分析を実施した。

試験は各用量あたり 2 枚のプレートを用い、各プレートについて 100 個すなわち各用量あたり 200 個の分裂中期像について行った。

用量設定根拠：10 mM (2.2 mg/mL) を最高用量とし、公比 2 で 9 用量 (8.6~2200 µg/mL) で細胞増殖抑制試験を実施した。その概要を次頁の表 1 に示す。短時間処理法の非代謝活性化系では、138 µg/mL から 275 µg/mL の間で増殖率が 63% から 25% へ低下した。代謝活性化系では、34.4 µg/mL から 68.8 µg/mL の間で増殖率が 77% から 11% へ急激に低下した。一方、連続処理法では、138 µg/mL で概ね 50% を示した。なお、すべての処理法において、138 µg/mL 以上の用量で被験物質の析出が観察された。

以上の結果から染色体異常本試験の用量は、短時間処理法非代謝活性化系および連続処理法の場合、最高用量としてそれぞれ 200 µg/mL および 160 µg/mL を選択し公比 2 で 3 用量を設定した。それに対して短時間処理法代謝活性化系の場合は最高用量を 60 µg/mL とし、わずかな用量変化で細胞毒性が急激に変動するため 10 µg/mL 間隔で 4 用量を設定した。

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

表 1. 細胞増殖抑制試験結果

被験物質濃度(μg/mL)	細胞増殖率(%)		
	短時間処理 <sup>a)</sup> (-S9mix)	短時間処理 <sup>a)</sup> (+S9 mix)	連続処理 (24h)
0 (溶媒対照 DMSO 1%)	100	100	100
8.6	98	95	96
17.2	98	91	91
34.4	94	77	82
68.8	84	11	70
138	63 <sup>b)</sup>	10 <sup>b)</sup>	52 <sup>b)</sup>
275	25 <sup>b)</sup>	13 <sup>b)</sup>	13 <sup>b)</sup>
550	10 <sup>b)</sup>	16 <sup>b)</sup>	10 <sup>b)</sup>
1100	11 <sup>b)</sup>	15 <sup>b)</sup>	10 <sup>b)</sup>
2200	12 <sup>b)</sup>	15 <sup>b)</sup>	10 <sup>b)</sup>

DMSO : ジメチルスルホキシド

<sup>a)</sup> : 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。

<sup>b)</sup> : 検体処理開始時に被験物質の析出が観察された。

試験結果 : 結果を次頁の表 2 に示す。

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 及びおよびベンツ[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 2. 染色体異常試験結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処理時間	標本作成時間	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				(+g)	(-g)
							ギ ャ ッ プ	切 断	交 換	切 断	交 換							
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	6 <sup>a)</sup>	24	200	-	3	0	1	0	0	0	0	0	1	1	-		
検体	50					0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100					2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-
	200 <sup>b)</sup>					1	3	3	4	0	0	0	0	0	0	10	7	-
陽性対照 (MMC)	0.1					1	7	26	58	4	0	0	0	81	77***	+		
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	6 <sup>a)</sup>	24	200	+	1	2	1	0	0	1	0	0	4	2	-		
検体	10					1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2	2	-
	20					0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	-
	30					0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3	2	-
	40					1	2	2	5	0	0	0	0	0	0	9	7	-
	50					NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
陽性対照 (B[a]P)	40					1	4	17	57	3	5	0	0	71	70***	+		
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	24	24	200	-	0	0	1	0	0	1	0	0	2	2	-		
検体	40					0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	3	1	-
	80					2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	-
	160 <sup>b)</sup>					0	3	2	3	0	0	0	0	0	0	7	5	-
陽性対照 (MMC)	0.1					0	5	27	80	6	0	0	0	97	96***	+		

-g: ギャップを含まない異常を有する細胞数

NA: 細胞傷害性が強い場合評価不能

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): 検体処理開始時に被験物質の析出が観察された。

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

DMSO: ジメチルスルホキシド

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

(5) マウスを用いた小核試験

試験機関：

(資料 37)

[GLP対応]

報告書作成年：2004年

検体の純度：プロベナゾール

供試動物：ICR系SPFマウス、7週齢  
体重：雄 28.0g～36.4g、1群雄各5匹

試験方法：検体を0.5%メチルセルロースに溶解し、0、500、1000及び2000mg/kgの投与レベルで、強制的に1回経口投与した。なお、対照群に0.5%メチルセルロースを同様に投与した。投与24、48時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取してスライドグラス上にメタノールで固定後、3%ギムザ液で染色し骨髄標本を作製した。  
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、細胞毒性を調べるために1000個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した後、引き続き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。

用量設定根拠：検体の最高耐量を求めるため、予備試験を実施した。500、1000および2000mg/kgで各群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結果、死亡例および一般状態に異常のみられなかった2000mg/kg以上が最大耐量と考えられたので、これを最高用量とし、投与量を0、500、1000及び2000mg/kgとした。

結果：骨髄標本の観察結果を表に示した。

検体のすべての用量群において、試験期間中に死亡した動物は認められなかった。また、一般状態においても異常は認められなかった。

いずれの標本採取時間においても、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 (MMC) 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的に有意な増加が認められた。

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

採取時間 (Hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	観 察 動物数	MNPCE % <sup>1)</sup> 平均値±SD (分布範囲)	PCE/(PCE+NCE) % <sup>2)</sup> 平均値±SD (分布範囲)
24Hr	陰性対照(0.5% MC)	0	5	0.21 ± 0.10 (0.10 - 0.35)	49.3 ± 7.0 (38.8 - 58.5)
	検体	500	5	0.23 ± 0.14 (0.05 - 0.40)	54.0 ± 7.0 (44.4 - 63.6)
		1000	5	0.16 ± 0.14 (0.05 - 0.40)	50.7 ± 4.4 (45.9 - 57.6)
		2000	5	0.25 ± 0.09 (0.20 - 0.40)	50.9 ± 4.4 (44.3 - 55.5)
	MMC	10	5	5.63 ± 1.24 (4.05 - 7.10) ***	47.7 ± 6.7 (36.4 - 53.4)
48Hr	陰性対照(0.5% MC)	0	5	0.15 ± 0.05 (0.10 - 0.20)	55.8 ± 5.2 (49.5 - 60.4)
	検体	2000	5	0.20 ± 0.11 (0.10 - 0.35)	56.5 ± 6.8 (44.9 - 62.1)

1) カステンbaum-pauマン又はカイ自乗分布表を用いた検定、2) ウイルコクソンの順位和検定 \*\*\*: p ≤ 0.001

PCE: 多染性赤血球数、 NCE: 正染性赤血球数

MNPCE: 多染性赤血球数のうち、小核を有する多染性赤血球数

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

1 4) 生体の機能に及ぼす影響

プロベナゾールにおける薬理試験

(資料 27)

試験機関

報告書作成年 1990年

検体の純度：

①マウスまたはラットの中枢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 24.0～30.0 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、一般症状を観察した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においても一般症状に有意な作用は認められなかった。

2) マウスの自発運動量

供試動物：ICR系マウス（体重 23.5～33.5 g）、1群雄 20匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、100 mg/kg を経口投与し、3時間後までの自発運動量を観察した。

結 果：プロベナゾールは自発運動量に対し有意な作用は示さなかった。

3) マウスの筋弛緩作用（傾斜板法）

供試動物：ICR系マウス（体重 23.5～30.5 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 および 100 mg/kg を経口投与し、30度の角度を持つ木製傾斜板にマウスをのせ、10秒以内に落下するものを陽性と判定した。

結 果：プロベナゾールはいずれの投与群においても傾斜板法による有意な抑制を示さず、筋弛緩作用は認められなかった。

4) マウスの筋弛緩作用（懸垂法）

供試動物：ICR系マウス（体重 23.5～30.5 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、水平に張った径 1mm の針金にマウスを前肢で把握懸垂させ、後肢を針金に掛けないものを陽性と判定した。

結 果：プロベナゾールはいずれの投与群においても懸垂法による有意な抑制を示さず、筋弛緩作用は認められなかった。

5) マウスの協調運動障害作用

供試動物：ICR系マウス（体重 23.5～30.5 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、毎分 6 回で回転する水平木製棒上にマウスをのせ、1 分以内に落下するものを陽性と判定した。

結 果：プロベナゾールはいずれの投与群においても有意な協調運動障害作用は認められなかった。

6) マウスの抗痙攣作用（抗ペンテトラゾール痙攣作用）

供試動物：ICR系マウス（体重 24.5～31.0 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、60 分後にペンテトラゾール 100 mg/kg を皮下投与し、誘発される間代性痙攣および強直性痙攣の有無を観察した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においても有意な抗ペンテトラゾール痙攣作用は認められなかった。

7) マウスの抗痙攣作用（抗ベメグリド痙攣作用）

供試動物：ICR系マウス（体重 24.5～31.0 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、60 分後にベメグリド 30 mg/kg を皮下投与し、誘発される間代性痙攣の有無を観察した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においても有意な抗ベメグリド痙攣作用は認められなかった。

8) マウスの睡眠延長作用

供試動物：ICR系マウス（体重 23.0～33.5 g）、1群雄 10匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、60 分後にチオペンタール 30mg/kg を静脈内投与し、睡眠時間を測定した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においても有意なチオペンタール麻酔延長作用は認められなかった。

9) マウスの鎮痛作用

供試動物：ICR系マウス（体重 30.1～34.4 g）、1群雄 5匹

方 法：プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、25、50 及び 100 mg/kg を経口投与し、60 分後に 0.6%酢酸溶液を腹腔内投与 5 分後より 15 分間のストレッチング様体位の発現回数を測定した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においても有意な鎮痛作用は認められなかった。

10) ラットの正常体温に対する作用

供試動物：Wistar系ラット（体重 210～220 g）、1 群雄 5 匹

方 法：プロベナゾールを 0.1%CMC 溶液に懸濁して、50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、直腸温を測定した。

結 果：プロベナゾールは 100 mg/kg 投与群において、有意な体温低下を認めしたが、50 mg/kg 投与群においては有意の作用を認めなかった。

②イヌの呼吸・循環器系に対する作用

供試動物：ビーグル犬（体重 8.5～9.0kg）、1 群雌 3 匹

方 法：ペントバルビタール（初回麻酔 30 mg/kg、持続投与 4 mg/kg/hr）の静脈内投与による麻酔下で、プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して、100 mg/kg および 200 mg/kg を十二指腸内投与し、血圧、心拍数、心拍出量、心収縮力 (max dp/dt)、呼吸数および心電図を記録した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においても呼吸および循環器に対する有意な作用は認められなかった。

③ラットの体性神経系に対する作用

1) ラットの横隔膜神経—横隔膜標本に対する作用

供試動物：Wistar系ラット（体重 290～350 g）、1 群雄 3 匹

方 法：摘出横隔膜神経—横隔膜標本をマグヌス管に懸垂し、プロベナゾール  $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ g/mL の神経刺激および筋刺激による筋収縮反応への作用を検討した。

結 果：プロベナゾールはいずれの濃度においても、神経刺激および筋刺激による筋収縮反応に有意な影響を及ぼさず、神経筋接合部に対する作用は認められなかった。

④モルモットの自律神経系に対する作用

1) モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物：Hartley系モルモット（体重 660～750 g）、1 群雄 6 匹

方 法：摘出回腸標本をマグヌス管に懸垂し、プロベナゾール  $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$  g/mL の単独作用、および acetylcholine (ACh,  $3 \times 10^{-7}$ g/mL)、histamine (Hist,  $3 \times 10^{-7}$  g/mL) による回腸の収縮に対する作用を検討した。また、回腸の自動運動に対する作用も併せて検討した。

結 果：プロベナゾールのいずれの濃度においても、Hist の収縮反応には影響しなかった。ACh の収縮反応に対しては極めて僅かに抑制作用を示した。また、 $10^{-6}$ g/mL では回腸の自動運動には影響しなかったが、 $10^{-5}$  g/mL では一過性の有意な抑制作用が認められた。



⑤マウスの消化器系に対する作用

1) マウスの消化管輸送能に対する作用

供試動物：ICR系マウス（体重 23.0～30.0 g）、1群雄 9～10匹

方 法：一夜絶食後、プロベナゾールを 0.1 %CMC 溶液に懸濁して 50 mg/kg および 100 mg/kg を経口投与し、その後炭末懸濁液 1 g/10 mL/kg を経口投与し、その消化管内移行率を検討した。

結 果：プロベナゾールのいずれの投与群においてもマウスの消化管炭末輸送能に有意な影響は認めらなかった。

以上の試験結果より、プロベナゾールは正常体温に対して 100 mg/kg 投与群で体温低下を、摘出回腸により  $10^{-5}$ g/mL 以上で自律運動および acetylcholine の収縮反応に対し軽度な抑制作用が認められたが、その他の中枢神経系、呼吸器系、循環器系、消化器系および体性神経系に影響しないことから、プロベナゾールは生体機能に対してほとんど影響を示さないと判断した。

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

『生体の機能に及ぼす影響に関する試験』の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
I 中枢神経						
①一般症状 (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	一般症状の 作用なし
②自発運動量 (マウス)	経口 (CMC)	100 mg/kg	20 匹/群	—	100 mg/kg	自発運動量に 作用なし
③筋弛緩作用 (傾斜板法) (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	筋弛緩作用なし
④筋弛緩作用 (懸垂法) (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	筋弛緩作用なし
⑤協調運動障害作用 (回転棒法) (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	協調運動障害 作用なし
⑥抗痙攣作用 (抗ペンテタゾール) (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	抗ペンテタゾール 作用なし
⑦抗痙攣作用 (抗ヘキサリド) (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	抗ヘキサリド 作用なし
⑧睡眠延長作用 (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	10 匹/群	—	100 mg/kg	チオペンタール 麻酔延長作用なし
⑨鎮痛作用 (マウス)	経口 (CMC)	25 mg/kg 50 mg/kg 100 mg/kg	5 匹/群	—	100 mg/kg	鎮痛作用なし
⑩正常体温作用 (ラット)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	5 匹/群	100 mg/kg	50 mg/kg	体温の低下
II 呼吸・循環器系 (ビーグル犬)	十二指腸内 投与(CMC)	100 mg/kg 200 mg/kg	3 匹/群	—	200 mg/kg	呼吸・循環器系に対 する作用なし
III 体性神経系 (ラット)	横隔膜神経 横隔膜標本	10 <sup>-6</sup> g/mL 10 <sup>-5</sup> g/mL	3 匹/群	—	10 <sup>-5</sup> g/mL	神経筋遮断作用なし
IV 自律神経系 (モルモット)	摘出回腸 標本	10 <sup>-6</sup> g/mL 10 <sup>-5</sup> g/mL	6 匹/群	10 <sup>-5</sup> g/mL	10 <sup>-6</sup> g/mL	自動運動の一過性の 抑制作用
V 消化器系 (マウス)	経口 (CMC)	50 mg/kg 100 mg/kg	9~10 匹 /群	—	100 mg/kg	消化管端末輸送能 に影響なし

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. 代謝物を用いた試験

1) PBZ-M4 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 52)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2012 年

検体の純度 :

試験動物 : Wistar 系 SPF ラット (Jcl:Wistar)、雌、投与時 8 週齢、  
投与時体重 153~168 g、各段階 3 匹

試験期間 : 14 日間

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、一晚絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。投与は 2000 mg/kg で 2 回実施した。

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 30 分、3 時間及び 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 日及び 14 日に測定した。試験終了時に全生存動物を剖検した。急逝毒性の程度は、毒性等級法(農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年 ; OECD Test Guideline No.423、2001 年)により評価した。

結果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	2000<LD <sub>50</sub> (GHS カテゴリー5 または区分外)
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与後 6 時間から発現し、投与後 1 日までに消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

一般状態の観察において、2000 mg/kg 投与 2 回目の 1 例で軟便および肛門周囲部の被毛の汚れが認められた。体重は投与後 7 日及び 14 日ともに全例で投与前の値と比べて増加した。剖検ではいずれの動物にも異常は認められなかった。

2) PBZ-M4 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 53)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) とトリプトファン要求性大腸菌 *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、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。  
検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、試験 I では 61.7~5000 µg/プレート範囲の 5 濃度、試験 II では 313~5000 µg/プレート範囲の 5 濃度で試験を実施した。各濃度につき 3 枚のプレートで行った。

用量設定根拠：代謝活性化系存在下及び非存在下で、5000 µg/プレートを最高用量として公比 4 で 7 用量 (1.2~5000 µg/プレート) を設定し、用量設定試験を実施した。その結果代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株において生育阻害は観察されなかった。また、いずれの用量においても被験物質の析出は観察されなかった。以上の結果から、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株について試験 I では 61.7, 185, 556, 1667, 5000 µg/プレートの 5 用量、試験 II では 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレートの 5 用量をそれぞれ公比 2 または 3 で設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

試験 I、II とともに代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株において生育阻害は観察されなかった。また、いずれの用量においても被験物質の析出は観察されなかった。

2 回の試験において検体はいずれの菌株においても代謝活性化系の有無にかかわらず、最高用量 (5000 µg/プレート) でも溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、9-アミノアクリジン塩酸塩 (9-AA)、アジ化ナトリウム (NaN<sub>3</sub>) 及び 2-アミノアントラセン (2-AA) 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。

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。

1 回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9mix の 有無	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		
溶媒対照 (DMSO)	—	—	116	6	22	14	5		
検体	61.7	—	124	8	18	14	5		
	185	—	121	7	17	18	6		
	556	—	114	5	22	15	3		
	1667	—	115	7	18	18	2		
	5000	—	111	9	24	15	6		
溶媒対照 (DMSO)	—	+	103	6	25	16	18		
検体	61.7	+	115	8	21	22	11		
	185	+	112	7	23	24	15		
	556	+	129	7	24	23	10		
	1667	+	118	5	21	24	16		
	5000	+	109	7	20	27	14		
陽性 対照	AF-2	0.01	—	593	566	254	414	1003	
		0.1	—						
	NaN <sub>3</sub>	0.5	—						
	2-AA	9-AA	80						—
		0.5	+						
		1	+						548
		2	+						161
10		+	237						

数値は3反復の平均値

DMSO : ジメチルスルホキシド

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

NaN<sub>3</sub> (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

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回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9mix の 有無	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			
溶媒対照 (DMSO)	—	—	127	8	17	12	6			
検体	313	—	138	8	21	13	7			
	625	—	126	9	18	19	7			
	1250	—	125	7	22	9	7			
	2500	—	120	8	16	18	5			
	5000	—	119	7	18	14	4			
溶媒対照 (DMSO)	—	+	127	11	20	22	16			
検体	313	+	123	9	25	29	11			
	625	+	123	7	22	18	15			
	1250	+	121	8	22	25	12			
	2500	+	125	7	20	20	11			
	5000	+	117	7	19	20	13			
陽性 対照	AF-2	0.01	—	623	504	190	456	773		
		0.1	—							
	NaN <sub>3</sub>	0.5	—							
	9-AA	80	—							
	2-AA	0.5	+			556			150	240
		1	+							
		2	+							67
10		+	201							

数値は3反復の平均値

DMSO: ジメチルスルホキシド

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

NaN<sub>3</sub> (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

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。

3. 製剤を用いた試験

1) オリゼメート粒剤 (登録番号: 第 13243 号)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験 (8%粒剤)

(資料 6)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1987 年

検体の純度: 8 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体 : 8.0 %  
界面活性剤 鉍物質微粉等 : 92.0 %

試験動物: Wistar 系ラット (5 週令)、1 群雌雄各 10 匹

試験期間: 投与後 14 日間観察

方法: 検体を 5%アラビアゴム液で懸濁し、金属製経口ゾンデにて投与。  
薬物調整液の投与容量は、10 ml/kg

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、その間、体重測定を行うとともに、試験終了後、全供試動物を剖検した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂ 5000、♀ 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	全観察期間をとおして、雌雄いずれにも異常は認められなかった。
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 5000

雌雄とも 5000 mg/kg を投与しても死亡例はなく、一般状態にも異常は認められず、体重も順調に推移した。また、剖検でも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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験 (8 %粒剤)

(資料 7)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1987 年

検体の純度 : 8 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体 : 8.0 %  
界面活性剤 鋳物質微粉等 : 92.0 %

試験動物 : Slc : ICR 系マウス (5 週令)、1 群雌雄各 10 匹

試験期間 : 投与後 14 日間観察

方 法 : 検体を 5%アラビアゴム液で懸濁し、金属製経口ゾンデにて投与。  
投与容量は、10ml/kg

試験項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、その間、体重測定を行うとともに、試験終了後、全供試動物を剖検した。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	♂ 5000、♀ 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	全観察期間をとおして、雌雄いずれにも異常は認められなかった。
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 5000

雌雄とも 5000 mg/kg を投与しても死亡例はなく、一般状態にも異常は認められず、体重も順調に推移した。また、剖検でも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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(3) ラットにおける急性経皮毒性試験 (8 %粒剤)

(資料 8)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1987 年

検体の純度 : 8 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体 : 8.0 %  
界面活性剤 鋳物質微粉等 : 92.0 %

試験動物 : ウィスター系ラット (7 週令の雄及び 11 週令の雌)、1 群雌雄各 10 匹

試験期間 : 投与後 14 日間観察

方 法 : 検体を局方注射用蒸留水で湿潤させ、ろ紙に均一にのせ刈毛、剪毛したラット背部に密着させ、約 24 時間後に取り除き、適用部位を温水で洗浄した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、その間体重測定を行うとともに、試験終了後、全供試動物を剖検した。

結 果 :

投 与 方 法	経 皮
投与量 (mg/kg)	♂♀ 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂♀ > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	雌雄多くの個体で 2 日目以降に適応部位やその周囲の一部に発赤が認められたが、いずれの所見も 7 日目までには回復した。
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 2000

雌雄とも死亡例は認められず、一般状態にも異常は認められなかった。体重は雄の半数、雌の全例で 3 日目に試験前の体重を下まわったが、7 日目には雌の 1 例を除き増加を示し、その後は全例ともほぼ順調に推移した。2 日目以降に雄の 3 例で適応部位の発赤、さらにこの所見を含む 7 例と雌の 8 例に適応部位周囲の一部に発赤を認めたが、7 日目までにすべて回復した。また、剖検でも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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (8%粒剤)

(資料 12)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

検体の純度：8 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体 : 8.0 %  
 鋳物質微粉等 : 92.0 %

試験動物：日本白色種ウサギ、雄 6 匹 (体重 3.03 kg~3.18 kg)

試験期間：72 時間観察

方 法：検体を蒸留水で泥濁状にし刈毛した動物の背中の皮膚 (2.5 cm 平方) に 500 mg/1 部位を塗布した。貼布は 4 時間後にリント布を取り除き、蒸留水で適用部位を清拭した。

調査項目：塗布終了後、1、24、48 及び 72 時間に塗布部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮形成、浮腫) の有無等を観察した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

変 化	塗 布 後			
	1	24	48	72
紅 斑	0	0	0	0
腫 脹	0	0	0	0
痂皮形成	0	0	0	0
合 計	0	0	0	0

注) 表の点数は 6 匹の平均値である。

観察期間を通じて、全例とも被験物質による影響はみられなかった。

以上の結果から、プロベナゾール 8.0%粒剤は、ウサギの皮膚に対して一次刺激性がないものと考えられる。

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

(5) ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 (8%粒剤)

(資料 11)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

検体の純度：8 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体： 8.0 %

界面活性剤 鉍物質微粉等： 92.0 %

試験動物：日本白色種ウサギ、雄 9 匹体重 (2.71~3.11 kg)

非洗眼 6 匹

洗 眼 3 匹

試験期間：72 時間観察

方 法：非洗眼群は、検体 100 mg を左眼に適用し、右眼を無処置対照眼とした。洗眼群は非洗眼群と同様に適用し、適用後 2~3 分に 200 ml の微温湯で洗眼した。右眼は、洗眼対照眼とした。

観 察：適用後、0.5、1、3、6、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性を観察した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項 目		最高 評点	投 与 後 時 間							
			0.5	1	3	6	24	48	72	
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0.2	0.8	0.8	0	0	0
		分泌物	3	2.0	1.5	1.7	1.5	0	0	0
	合 計	110	4.0	3.3	5.0	4.7	0	0	0	
洗眼群 (3 匹平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0
	合 計	110	0	0	0	0	0	0	0	

注) 上記刺激性の評点は Draize et al の眼一次刺激性の観察基準表に従った。

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

軽度の分泌物及び腫脹を認めた個体がみられ、その平均合計評点は、3.3～5.0であり、また、一過性の閉眼も認められたが、適用後 24 時間には回復した。洗眼群では、一過性の閉眼が認められたが、眼粘膜には刺激性がなかったことから、明らかな洗眼効果が認められた。その他、一般状態については、観察期間をとおしての異常はみられなかった。

以上の結果から、プロベナゾール 8.0 %粒剤は、ウサギの眼に対してわずかな刺激性があるものと考えられるが、適用後速やかに洗眼すれば刺激性は無いものと判断された。

(6) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (8 %粒剤)

(資料 14)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1986 年

検体の純度 : 8 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体 : 8.0%  
界面活性剤 鋳物質微粉等 : 92.0%

試験動物 : ハートレー系雌モルモット (体重 309~408 g)、1 群 20 匹

試験期間 : 48 時間

方 法 : [Maximization Test]

試 験 群 : 被験物質感作群

被験物質非感作群

陽性対照 [2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB)] 感作群

陽性対照非感作群

投与量設定根拠 :

(皮内投与) : 0.1, 1, 3, 5, 10%検体溶液で行った予備試験の結果、3%以上の濃度では技術的に投与が不可能であったことから、投与可能かつ投与部位に軽度の紅斑が認められた1%検体溶液を本試験の第1回目感作時の皮内投与濃度を選択した。

(経皮投与) : 1, 3, 5, 10, 30, 50%の濃度で予備試験を行った結果、いずれの濃度でも刺激性変化は認められなかったが、検体の均一性および皮膚との接着性を考慮して、30%検体を第2回目の感作及び惹起経皮投与濃度とした。また、今回の貼付濃度では一次刺激性が観察されなかったため、第2回目の感作投与前に10%ラウリル硫酸ナトリウム含有親水軟膏を塗布した。

感 作 : 第1回目の感作として、モルモットの肩甲骨上を縦6cm×横4cmの広さに剃毛し、Freund Complete Adjuvant (FCA)、1%被験液あるいは0.1% DNCB オリーブ油懸濁液、2%被験液とFCAの等量エマルジョンあるいは0.2%DNCBのFCA懸濁液と注射用蒸留水との等量エマルジョン液をそれぞれ感作部位に0.05 mlずつ皮内投与した。

第2回目の感作として、第1回目感作7日後に30%被験物質含有親水軟膏200 mg及び1%DNCB軟膏をリント布に均一塗布して、48時間閉塞貼付した。被験物質非感作群及び陽性対照感作群ではそれぞれ溶媒を使用した。

なお、第2回目の閉塞貼付感作前に10%ラウリル硫酸ナトリウム含有親水軟膏を24時間貼付した。

惹 起 : 第一回目の感作21日後に全動物の左右側胴部を除毛し、30%被験物質含有親水軟膏または、0.05%DNCB含有親水軟膏100 mgをリント布に塗布して左

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。

側胴部に閉塞貼布した。右側胴部に親水軟膏 100 mg を貼布した。

観 察：

一般状態

感作誘導開始期から惹起後の皮膚の観察終了日まで、一般状態を毎日観察した。

体重

各群とも皮内投与後 0 日、7 日、21 日、24 日に全動物の体重を測定した。

皮膚反応

貼布除去後、1、24 及び 48 時間に行い、次の評価表に従って判定した。

#### 判 定 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
強度の紅斑および浮腫	3
壊死または痂皮形成	4

試験結果：各試験群とも一般状態に異常は観察されなかった。また、死亡動物もみられなかった。平均体重は各試験群とも順調に推移した。

オリゼメート粒剤の感作群では、感作時にラウリル硫酸ナトリウムを適用した場合、惹起後の観察において軽度の紅斑から強度の紅斑および浮腫が、全例に認められたが、非感作群は皮膚の変化がみられなかった。

一方、DNCB 感作群では、惹起後の観察において中等度から強度の紅斑および浮腫あるいは痂皮形成が認められたが、非感作群には軽度の紅斑しかみられなかったことから、DNCB にはモルモットの皮膚に対して明らかに陽性の皮膚感作性が認められた。

従って、オリゼメート 8% 粒剤は、本試験条件下において、皮膚感作性作用があ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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

試験群		オリゼマト 粒剤感作	オリゼマト 粒剤非感作	DNCB感作	DNCB非感 作
動物数		20	20	20	20
感作濃度	皮内	1 %	0 %	0.1 %	0 %
	経皮	30 %	0 %	1 %	0 %
惹起濃度		30 %	30 %	0.05 %	0.05 %
除去後 の時間	評点	例数	例数	例数	例数
1時間	0	0	20	0	16
	1	1	0	0	4
	2	12	0	19	0
	3	7	0	1	0
	4	0	0	0	0
	平均評点	2.30	0	2.05	0.20
24時間	0	0	20	0	17
	1	3	0	0	3
	2	15	0	2	0
	3	2	0	0	0
	4	0	0	18	0
	平均評点	1.95	0	3.80	0.15
48時間	0	1	20	0	19
	1	11	0	0	1
	2	9	0	1	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	19	0
	平均評点	1.45	0	3.90	0.05
陽性反応動物数 (陽性率)		20/20 (100%)	0/20 (0%)	20/20 (100%)	4/20 (20%)

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) オリゼマト粒剤 20 (登録番号: 第 16018 号)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験 (20%粒剤)

(資料 28)

試験機関  
報告書作成年 1992 年  
[GLP 対応]

検体の純度: 20 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体: 20.0 %  
鋳物質微粉等: 80.0 %

試験動物: Slc-Wistar/ST 系ラット (6 週令)、1 群雌雄各 20 匹

試験期間: 投与後 14 日間観察

方法: 検体を 0.5 % CMC-Na 水溶液に懸濁し、濃度を 50%とした。  
約 17 時間絶食させた動物に体重 100 g 当たり 1ml を金属製胃ゾンデにて投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、その間、体重測定を行うとともに、試験終了後、全供試動物を剖検した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂♀ 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	自発運動の低下 投与 2 日後～投与 6 日後
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 5000

雌雄とも 5000 mg/kg を投与しても死亡例は認められなかった。

一般状態では雌雄とも自発運動の低下が投与 2 日後から 5 日後までの間に観察された。体重の推移は、雌雄とも投与 3 日後に体重増加抑制が認められ、観察期間終了時においても対照群に比し、体重増加の遅れが認められた。また、剖検では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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験 (20%粒剤)

(資料 29)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1992 年

検体の純度：20 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体：20.0 %  
鋳物質微粉等 : 80.0 %

試験動物：Slc-ICR 系マウス (6 週令)、1 群雌雄各 20 匹

試験期間：投与後 14 日間観察

方 法：検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁し、濃度を 50 w/v%とした。

約 17 時間絶食させた動物に体重 10g 当たり 0.1ml を金属製胃ゾンデにて投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察し、その間、体重測定を行うとともに、試験終了後、全供試動物を剖検した。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投与量 (mg/kg)	♂♀ 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂♀ > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	全観察期間をとおして、雌雄いずれにも異常は認められなかった。
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 5000

雌雄とも 5000 mg/kg を投与しても死亡例はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

体重の推移は雌の 5000 mg/kg 投与群で投与 3 日後に体重増加抑制が認められたが、観察終了時の 14 日後には回復した。雄の投与群の体重推移は対照群と同様であった。剖検では、雄に異常は認められなかったが、雌の前胃に肥厚が認められた。

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

(3) ラットにおける急性経皮毒性試験 (20%粒剤)

(資料 30)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1992 年

検体の純度：20%粒剤

[組成] プロベナゾール原体：20.0 %

鋳物質微粉等：80.0 %

試験動物：Slc-Wistar 系ラット (7 週令の雄及び 10 週令の雌)、1 群雌雄各 20 匹

試験期間：投与後 14 日間観察

方 法：検体を精製水で湿潤させ、リント布に均一に広げ、刈毛、剪毛したラット背部皮膚に適用した。適用 24 時間後に取り除き、適用部位を温水で洗浄した。

試験項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察し、その間体重測定を行うとともに、試験終了後、全供試験動物を剖検した。

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投与量 (mg/kg)	♂♀ 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	♂♀ > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	雌雄とも投与部位の皮膚の状態に異常は認められなかった。また、一般状態においても異常は認められなかった。
最大無作用量 (mg/kg)	死亡例の認められなかった最高投与量 ♂♀ 2000

雌雄とも死亡例は認められず、一般状態にも異常は認められなかった。体重も順調に推移した。また、剖検でも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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 (20%粒剤)

(資料 32)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1992 年

検体の純度：20 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体： 20.0 %  
鋳物質微粉等： 80.0 %

試験動物：日本白色種ウサギ、雄 6 匹 (体重 2.03 kg~2.52 kg)

試験期間：72 時間観察

方 法：検体 500 mg を精製水で湿らせて 2×3 cm のリント布に塗布し、剪毛した動物の背中の皮膚 (2×3 cm) に適用した。4 時間後にリント布を取り除き、精製水で適用部位を清拭した。

調査項目：塗布終了後、1、24、48 及び 72 時間に塗布部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮形成、浮腫) の有無等を観察した。

結 果：59 農蚕第 4200 号通達の評価方法に準じて観察した刺激性変化の採点は、以下の表のとおりである。

変 化	塗 布 後						
	1 時間	2 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日
紅斑及び痂皮形成 (最高評点 4)	1.2(2)	1.2(2)	1.0(2)	0.7(2)	0.7(2)	0.3(1)	0
浮腫の形成 (最高評点 4)	0.8(1)	0.3(1)	0	0	0	0	0

注) 表の点数は 6 匹の平均値である。() : 個体別観察の最高評点

検体除去 1 時間後より全例に紅斑、5 例に浮腫が認められたが、浮腫は 48 時間後までに、紅斑は 6 日後までに全て消失した。

一般状態及び体重の推移に検体による影響は認められなかった。

以上のことからプロベナゾール 20%粒剤には極めて軽度の皮膚一次刺激性が認められる。

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

(5) ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 (20%粒剤)

(資料 31)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1992 年

検体の純度：20 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体： 20.0 %  
 鉍物質微粉等： 80.0 %

試験動物：日本白色種ウサギ、雄 9 匹 体重 (2.10kg~2.37kg)

非洗眼 6 匹  
 洗 眼 3 匹

試験期間：72 時間観察

方 法：非洗眼群は、検体 100 mg を右眼に適用し、左眼を無処置対照眼とした。  
 洗眼群は非洗眼群と同様に適用し、適用 2 分後に 20 ml 以上の生理食塩液で洗眼した。左眼は、洗眼対照眼として、適用群と同様に生理食塩水で洗眼した。

観 察：適用後 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性を観察した。

結 果：59 農蚕第 4200 号通達の評価方法に準じて観察した刺激性変化の採点は、以下の表のとおりである。

項 目		投 与 後 時 間			
		1	24	48	72
非洗眼群	角膜 (混濁の程度:最高評点 4)	0	0	0	0
	虹彩 (最高評点 2)	0	0	0	0
	結膜発赤 (最高評点 3)	0.2(1)	0.5(1)	0	0
	結膜浮腫 (最高評点 4)	0.5(1)	0.3(1)	0	0
洗眼群	角膜 (混濁の程度:最高評点 4)	0	0	0	0
	虹彩 (最高評点 2)	0	0	0	0
	結膜発赤 (最高評点 3)	0	0	0	0
	結膜浮腫 (最高評点 4)	0.3(1)	0	0	0

注) 表の点数は各適用群の平均値である。 ( ) : 個別観察の最高評点

非洗眼群では結膜の発赤及び浮腫が、洗眼群では結膜の浮腫が見られたが、いずれも平均評点は 1 以下であり、本試験の評価基準で陰性に区分される反応であった。また、体重の推移に検体によると思われる影響は認められなかった。

以上のことから、プロベナゾール 20%粒剤には眼一次刺激性はないと判断された。

(6) モルモットを用いた皮膚感作性試験 (20 %粒剤)

(資料 33)

試験機関

報告書作成年 1992 年

[GLP 対応]

検体の純度：20 %粒剤

[組成] プロベナゾール原体： 20.0 %

鋳物質微粉等 : 80.0 %

試験動物：ハートレー系雌モルモット (体重 330~383 g)、検体投与群 1 群 20 匹、陽性物質投与群 1 群 10 匹

試験期間：48 時間

方法：[Buehler 法]

試験群：被験物質感作群 (I 群)

被験物質対照群 (II 群)

陽性物質 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) 感作群 (III 群)

陽性物質 DMCB 対照群 (IV 群)

投与量設定根拠；予備試験として、検体を白色ワセリンに混合したところ、75%濃度の調製は不可能だったため、10, 25 および 50%に調製し、6 時間貼付したところ、すべての群において皮膚反応はみられなかった。従って感作時の適用濃度は調製可能な最高濃度である 50 %とした。また、誘発時の濃度も上記の試験結果に基づき、調製可能な最高濃度である 50 %とした。

感 作： 第 1 回目の感作は 5×5 cm に刈毛、剪毛した動物の左腹側部に I 群では白色ワセリンに 50 %濃度で混合した検体を、III 群では 1 %DNCB 混合白色ワセリンを、II 及びIV 群では白色ワセリンをいずれも 1 匹当たり 0.5 g 塗布した 2×2 cm のリント布を 6 時間閉塞貼付した。

第 2 回目の感作は第 1 回目感作より 7 日後に刈毛、剪毛した動物の左腹側部に第 1 回感作と同様に処置した。

第 3 回目の感作は第 1 回目感作より 14 日後に刈毛、剪毛した動物の左腹側部に第 1 回感作と同様に処置した。

誘 発： 第 3 回目の感作 14 日後に全動物の右腹側部を除毛、剪毛し、I 群及びII 群では 50%検体混合白色ワセリンを、III 群並びにIV 群では 0.1 %DNCB 溶液をそれぞれ 1 匹当たり 0.5 g あるいは 0.5 mL 塗布した 2×2 cm のリント布を 24 時間閉塞塗布した。

観 察：

(1) 一般状態及び体重測定

観察期間中、毎日一般状態を観察した。また、週に 2 回体重測定を行った。

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

(2)皮膚反応

貼布除去後、24 及び 48 時間に行い、次の評価表に従って判定した。

判定基準	
皮膚反応の程度	評点
無反応	0
まばらな軽い紅斑	1 *
中程度の紅斑	2 *
強度の紅斑および浮腫	3 *

(\* : 陽性反応)

試験結果： 各試験群とも一般状態に異常は観察されなかった。

検体感作群及び検体対照群とも 50 %濃度のプロベナゾール 20 %粒剤の誘発により、適用部皮膚に紅斑及び浮腫等の皮膚反応は認められなかった。

一方、DNCB 感作群では 0.1 %DNCB の誘発により貼付除去 24 時間及び 48 時間後 10 例中全例に中等度の紅斑もしくは強度の紅斑及び浮腫がみられ痂皮の形成も認められた。

体重の推移に検体感作群及び DNCB 感作群で体重増加抑制がみられたが、一般状態に異常は認められず、感作性の判定に影響しなかった。

群 番 号	使用動物数	処置方法 感 作	誘 発	皮膚反応 動物数	感作率
I (検体感作群)	20	50%検体混合 白色ワセリン	50%検体混合 白色ワセリン	0	0
II (検体対象群)	20	白色ワセリン	50%検体混合 白色ワセリン	0	
III (DNCB 感作群)	10	1%DNCB 混合 白色ワセリン	0.1%DNCB 溶液	10	0
IV (DNCB 対照群)	10	白色ワセリン	0.1%DNCB 溶液	0	

従って、プロベナゾール 20 %粒剤は、本試験条件下において、皮膚感作性作用がないものと考えられた。

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

3) オリゼメート顆粒水和剤 (登録番号: 第20076号)

(1) M-9001顆粒水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 38)

試験機関 :

GLP対応

報告書作成年: 1997年

検体の純度 : M-9001顆粒水和剤

[組成] プロベナゾール 48.0 %

鋳物質微粉等 52.0 %

試験動物 : Crj: CD (SD) 系ラット [SPF]、6週齢、

体重: 雄115~129 g雌103~115 g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を秤量後、0.1 %CMC・Na水溶液で懸濁し、その所定量を単回強制経口投与した。動物は投与前16時間絶食させた。

試験項目 : 中毒症状および生死を14日間観察し、体重を投与直前、投与後1、2、3、7および14日に測定した。

死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 1638,2048,2560, 3200,4000,5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄 2862
死亡開始時間 及び終了時間	投与後24時間から開始 投与後8日に終了
症状発現時間 及び消失時間	投与後1時間から発現 投与後13日に消失
死亡例の認め られなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2048

死亡例については、雌雄各15例認められた。

中毒症状としては、すべての投与群の雌雄で、投与後1時間から自発運動低下および眼瞼閉鎖が各5例全例に認められ、死亡動物の見られた群では、さらに投与後6時間以降から歩行異常、側臥位、腹臥位、振戦、色素涙、消瘦、脱毛、鼻出血が認められ、これらの症状は、死亡例を除き13日後に消失した。

体重については、1638、2048mg/kg群の雌雄で、ほとんどの動物が体重増加を示した。2560mg/kgでは投与後1日に減少し、3200mg/kg以上の群では投与後1日以降7日まで減少を示した。

剖検所見では、生存例では2048mg/kg群の雄で腎臓髓質の赤色化が1例に認められた。死亡例では脾臓の萎縮、膵臓の白色化が認められた。

(2) M-9001顆粒水和剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 39)

試験機関：

GLP対応  
報告書作成年：1997年

検体の純度：M-9001顆粒水和剤

〔組成〕プロベナゾール 48.0 %  
鉍物質微粉等 52.0 %

試験動物Crl：CD-1 (ICR) 系マウス [SPF]、7週齢、

体重：雄28.3～29.9 g 雌22.7～24.7 g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を秤量後、0.1% CMC・Na水溶液で懸濁し、その所定量を単回強制経口投与した。動物は投与前3時間絶食させた。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察し、体重を投与直前、投与後1、2、3、7および14日に測定した。

死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間 及び終了時間	投与後4日から開始 投与後6日に終了
症状発現時間 及び消失時間	投与後5時間から発現 投与後12日に消失
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例については、雌雄各1例認められた。

中毒症状としては、雌雄とも5時間後から歩行異常および眼瞼閉鎖が各5例全例に認められた。自発運動低下、死亡動物ではさらに腹臥位が認められ、これらの症状は死亡例を除き雄で12日後、雌で10日後に消失した。

体重については、雌雄とも体重減少が認められたが、その後回復し、14日後の測定では全例の体重が増加した。

剖検所見では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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(3) M-9001顆粒水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 40)

試験機関 :

GLP対応  
報告書作成年 : 1997年

検体の純度 : M-9001顆粒水和剤  
[組成] プロベナゾール 48.0 %  
鋳物質微粉等 52.0 %

試験動物 : CrjCD (SD) 系ラット [SPF]、8週齢、  
体重 : 雄243~255 g、雌182~191 g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 投与前24時間に動物の躯幹背部を刈毛 (6×7cm) した。所定量の検体を注射用蒸留水 (約1ml) で湿らせ、4×5cmの塗布部位に適用し、パッチで覆い24時間閉塞貼付した。貼付除去後、適用部位に残存した検体はガーゼと微温湯で取り除いた。

試験項目 : 中毒症状および生死を14日間観察し、体重を投与直前、投与後1、2、3、7および14日に測定した。  
試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状なし
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

一般症状としては、一過性の鼻出血ならびに投与後1日に体重減少が認められたが、いずれも検体の影響とは考えられなかった。

剖検所見では、雄で、腎臓の嚢胞が1例認められたが、これも検体の影響とは考えられなかった。

(4) M-9001顆粒水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 41)

試験機関：

GLP対応

報告書作成年：1997年

検体の純度：M-9001顆粒水和剤

〔組成〕 プロベナゾール 48.0 %  
 鋳物質微粉等 52.0 %

試験動物：ニュージーランドホワイト種雌ウサギ、18週齢、  
 体重 3.35～3.70 kg、1群6匹

試験期間：72時間観察

方法：検体500 mgをパッチに取り、約0.5 mLの蒸留水でペースト状とした後、刈毛した動物の背中の皮膚（12×20cm）に適用した。暴露時間は4時間とし、パッチ除去後残存した検体は蒸留水を用いて取り除いた。

観察項目：パッチ除去後、1、24、48及び72時間に刺激性反応（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察し、農林水産省ガイドラインに従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投与後時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は6匹の平均値である。

検体は皮膚刺激性は認められなかった。

以上の結果から、M-9001顆粒水和剤はウサギの皮膚に対して皮膚一時刺激性がないと判定した。

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

(5) M-9001顆粒水和剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 42)

試験機関：

GLP対応

報告書作成年：1997年

検体の純度：M-9001顆粒水和剤

[組成] プロベナゾール 48.0 %  
 鉍物質微粉等 52.0 %

試験動物：ニュージーランドホワイト種雌ウサギ (kbs：NZW) [Healthy]、12週齢、  
 体重2.03~2.71 kg、非洗眼群：6匹、洗眼群：3匹

試験期間：96時間観察

方法：検体0.1 gを右眼に投与し、3匹は2~3分後に局方生理食塩水200 mLで洗眼  
 した。6匹については洗眼しなかった。無処置左眼は対照とした。

観察項目：投与後1、24、48、72および96時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察  
 し、Draizeの評価基準に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目		最高 評点	投与後時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	
非洗眼群 6匹平均	角膜	混濁程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		損傷域	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	0.0	0.8	0.5	0.3	0.0
		浮腫	4	0.0	0.8	0.7	0.0	0.0
		分泌物	3	0.0	1.3	0.7	0.0	0.0
	合計**	110*	0.0	6.0	2.3	0.7	0.0	
洗眼群 3匹平均	角膜	混濁程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		損傷域	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	0.0	0.7	0.3	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	1.0	0.3	0.0	0.0
		分泌物	3	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0
	合計**	110*	0.0	5.3	1.3	0.0	0.0	

\*：判定基準の最高評点    \*\*：Draize法による評価点 (最高110点)

角膜及び虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。結膜の刺激性変化は非洗眼群で、投与後24時間で発赤および浮腫が4例（評点1が3例、評点2が1例）、分泌物が6例全例（評点1が4例、評点2が2例）に認められたが、これらの変化は96時間後には消失した。

洗眼群では投与後24時間で結膜の発赤（評点1）が2例、浮腫および分泌物（各評点1）が

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。

全例に認められたが、これらの変化は72時間後には消失した。

以上の結果から、M-9001顆粒水和剤はウサギの眼に対して刺激性が認められたが、その程度は軽度であり、洗眼効果も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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(6) M-9001顆粒水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 43)

試験機関 :

GLP対応  
報告書作成年 : 1997年

検体の純度 : M-9001顆粒水和剤

〔組成〕 プロベナゾール	48.0 %
鋳物質微粉等	52.0 %

試験動物:ハートレイ系モルモット [クリーン動物] 雌、5週齢、体重334~385 g  
1群 5~10匹 (被験物質感作群、被験物質非感作群 各10匹、DNCB感作群、  
DNCB非感作群 各5匹)

試験期間:30日間 (惹起暴露後48時間観察)

試験方法: [Buehler法]

投与量設定根拠 ; 検体濃度6.75、12.5、25および50 %w/v処置の結果、皮膚反応が認められなかった。従って50 %w/v溶液 (0.5%CMC・Na水溶液に懸濁) を感作および惹起濃度とした。

陽性対照群のDNCBは、感作では0.2%w/v (エチルアルコールの80%v/v水溶液に溶解)、惹起では0.05%w/v (エチルアルコールの80%v/v水溶液に溶解) とした。

感作・投与前日に左胸背部を5×5cm刈毛、剃毛した。当日、検体懸濁液0.4mLをフランネルパッチに広げて貼付し、6時間閉鎖貼付した。検体対照群には蒸留水を、陽性対照DNCB感作群には0.2%w/v DNCBエチルアルコール溶液を、陽性対照DNCB対照群にはエチルアルコールを、それぞれ0.4 mLを同様に適用した。この閉鎖貼付処理は7日毎に3回行った。

惹起・最終感作後14日に感作暴露時と同様に行った。検体感作群および検体対照群には50%w/v検体懸濁液0.4 mLを、陽性対照のDNCB感作群およびDNCB対照群には0.05%w/v DNCBエチルアルコール溶液0.4 mLを、感作暴露時と同様に単回投与した。

観察項目 : 惹起暴露のパッチ除去後24、48時間に適用部位を観察し、Buehler法の皮膚反応判定基準に従って点数化した。

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

皮膚反応の判定基準

肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中程度の紅斑	2
強度の紅斑および浮腫	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	供試動物数	検体濃度 (%W/V)	感作反応動物数				平均評点		陽性動物数		感作陽性率* (%)						
			24時間		48時間		24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間					
			皮膚反応評点 0 1 2 3	皮膚反応評点 0 1 2 3	皮膚反応評点 0 1 2 3	皮膚反応評点 0 1 2 3											
検体	感作群	10	50	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0				
	対照群	10	—	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0				
陽性対照 (DNBC)	感作群	5	0.2	0	1	4	0	0	1	4	0	1.8	1.8	5	5	100	100
	対照群	5	—	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	

\*：感作陽性率 (%) = (感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100)

検体感作群及び検体対照群ともに惹起暴露後24時間及び48時間において皮膚反応は認められなかった。(皮膚感作率0%)。一方、陽性対照群においては、暴露後24時間及び48時間において5例全例に皮膚反応が認められた(感作率100%)。

以上の結果から、M-9001顆粒水和剤のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であると判断する。

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

4) オリゼメート粒剤 40 (登録番号 : 第 21285 号)

(1) オリゼメート粒剤 40 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 44)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2001 年

検体の純度 : Probenazole G40

[組 成]	プロベナゾール	40.0 %
	鉱物質微粉等	60.0 %

試験動物 : Sprague-Dawley CD (CrI : CD® (SD) IGS BR) 系ラット

(8~12週齢 ; 体重 雄271~322 g、雌207~222 g) 1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方 法 : 検体を蒸留水で懸濁させた後、所定量を1回強制経口投与した。動物は投与前一晚絶食させた。

試験項目 : 一般症状及び生死を14日間観察し、体重を投与直前、投与後7及び14日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雄、雌 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄、雌 >2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消 失 時 間	投与後2時間から発現 投与後1日に消失
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雄、雌 2000

一般症状について、雌雄ともに円背位が認められた。また雄1例に立毛が認められた。

これらの症状は、投与後1日目に消失した。

体重変化および剖検について、雌雄とも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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(2) オリゼメート粒剤40のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 45)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2001年

検体の純度：Probenazole G40

[組成] プロベナゾール 40.0 %  
 鋳物質微粉等 60.0 %

試験動物：Sprague-Dawley CD (Cr1:CD® (SD) IGS BR) 系ラット  
 (8週齢；体重 雄214～244 g、雌207～221 g) 1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：適用24時間前に、動物の背部および側腹部の毛を刈毛した。蒸留水で湿らした検体の適切な量を刈毛した皮膚（体表の約10%）に適用し、ガーゼで24時間半閉塞状態にした。  
 適用後、蒸留水で湿らせた脱脂綿で残存した検体を拭き取った。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察し、体重を投与直前、投与後7及び14日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄、雌 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄、雌 2000以上
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	症状発現例なし
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	雄、雌 2000

皮膚反応について、投与後1日目、雌のみにおいて、ごく軽度～はっきりした紅斑が認められた。この皮膚反応は投与後5日目に消失した。

一般症状、体重変化および剖検について、雌雄とも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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(3) オリゼメート粒剤 40 のウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 46)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年:2001年

検体の純度 : Probenazole G40

[組成] プロベナゾール 40.0 %  
          鉍物質微粉等 60.0 %

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ(12~16週齢:体重2.65~2.73 kg)  
          1群雄3匹

試験期間 : 72時間観察

試験方法 : 検体0.5 gを塗布したガーゼパッチを、刈毛した動物の背中の皮膚(約2.5 cm四方)に貼付した。暴露時間は4時間とし、パッチを除去して残存している検体は蒸留水を浸した脱脂綿で拭き取った。

観察項目 : 検体を除去後、1,24,48および72時間後に塗布部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無を観察した。刺激性の変化はDraize法の採点表に準拠した。

結果 : 観察した刺激変化の採点は次表のとおりである。

項目	最高 評点	塗 布 後 時 間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑・痂皮	4	0.6~0.7	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.7	0.0	0.0	0.0

(注) 表の点数は3匹の平均値である

適用1時間後、評点1の紅斑が2例に認められた。これらの症状は適用24時間後には消失した。

以上の結果から、オリゼメート粒剤40の皮膚一次刺激指数は0.0であり、Draizeの分類表に従って、ウサギの皮膚一次刺激性は「非刺激性物質」と分類された。

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

(4) オリゼメート粒剤40のウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 47)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年:2001年

検体の純度：Probenazole G40

[組成] プロベナゾール 40.0 %  
 鋳物質微粉等 60.0 %

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ(12～16週齢:体重2.55～2.96 kg)  
 非洗眼群:3匹(雄1匹、雌2匹)、洗眼群:3匹(雄3匹)

試験期間：7日間観察

試験方法：検体0.1 mlをウサギの右眼に適用した。3匹は洗眼を行わず、もう3匹は適用30秒後に洗眼を行った。左眼は無処置対照とした。

観察項目：投与後、1,24,48,72時間後および7日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性を観察した。刺激性の変化はDraizeの方法に準拠した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項 目		最高* 評 点	投 与 後 時 間					
			1時間	24時間	48時間	72時間	7日	
非洗眼群 (3匹平均)	角 膜 混 濁	程 度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面 積	4	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹 彩		2	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
	結 膜	発 赤	3	2.0	2.0	1.3	0.3	0.0
		浮 腫	4	2.0	1.3	0.7	0.0	0.0
		分泌物	3	2.3	1.0	1.0	0.0	0.0
	合 計**		110	14.3	8.7	6.0	0.7	0.0
洗眼群 (3匹平均)	角 膜 混 濁	程 度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	X
		面 積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹 彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結 膜	発 赤	3	1.0	0.0	0.0	0.0	
		浮 腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	
		分泌物	3	0.0	0.0	0.0	0.0	
	合 計**		110	2.0	0.0	0.0	0.0	

\*:判定基準の最高評点 \*\*:Draize 法による評価点(最高 110 点)

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。

非洗眼群において、適用1時間後、全例に眼の周囲の被毛に淡褐色の着色が認められた。適用1時間後、角膜では1例において混濁に至らない程度の光沢の鈍化、虹彩では評点1の炎症が認められた。

結膜では適用1時間後、全例に評点2の紅斑および浮腫が認められた。これらの皮膚反応は2例が72時間後に、もう1例が7日後に消失した。

洗眼群において、適用1時間後、全例に評点1の発赤が認められた。この皮膚反応は24時間後までに消失した。

以上の結果から、オリゼメート粒剤40の眼一次刺激性はKayとCalandra分類法に従って「軽度の刺激性物質」に分類された。また、洗眼群においては「実質的に非刺激性物質」に分類された。

(5) オリゼメート粒剤40ののモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 48)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2001年

検体の純度：Probenazole G40

[組成]	プロベナゾール	40.0%
	鉍物質微粉等	60.0%

試験動物：Hartley系モルモット(8～12週齢：343～415 g)

1群雄10～20匹(検体投与群20匹、検体対照群10匹)

試験期間：30日間(惹起後48時間観察)

試験方法：[Buehler法]

用量設定；感作暴露では蒸留水で10, 25, 50, 75w/w%の濃度に希釈した検体で予備試験を行った。その結果、75w/w%濃度の群に皮膚紅斑が観察されたが、その他の濃度では異常はみられなかった。従って、本試験の感作暴露濃度としては75w/w%濃度を用いることとした。惹起暴露では蒸留水で50, 75w/w%の濃度に希釈した検体で予備試験を行った。その結果、いずれの濃度でも皮膚に紅斑や浮腫はみられなかった。従って本試験には刺激性を示さない最高濃度である75w/w%及びそれより1段階低い濃度である50w/w%の濃度を用いた。

感作暴露；あらかじめ動物の左腹側部を刈毛し、検体投与群では75w/w%の検体を約2×2cmのリント布に広げ、外科用テープで固定し、6時間の閉鎖塗布をした。各投与群の対照群は溶媒のみを用いて同様に閉鎖貼付した。この感作手順を7及び14日後にも実施し、合計3回行った。

惹起暴露；最終感作暴露の14日後に動物の右腹側部を刈毛し、検体投与群及び検体対照群に75及び50w/w%の検体を感作暴露と同様の方法で6時間閉塞貼付した。

観察項目；パッチ除去後24時間及び48時間に投与部位の皮膚反応(紅斑及び浮腫)を観察した。

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

結 果：各群の感作率は次表のとおりである。

群		供試動物	皮膚反応	感作反応動物数								感作率 (%)					
				24時間					48時間								
				皮膚反応評点					計	皮膚反応評点					計		
0	1	2	3	4	0	1	2	3		4							
75% 検体	75% 検体	20	紅斑	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	
			浮腫	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20		
	50% 検体		紅斑	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20		0
			浮腫	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20		
溶媒	75% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	
			浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10		
	50% 検体		紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10		0
			浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10		

(注)1.皮膚反応に対する最高評点は8(紅斑4、浮腫4の合計)

2.感作率(%)=(陽性動物数/供試動物数)×100

3.陽性対照群には背景データを使用した。(実施日:2001年9月26日)

惹起暴露後、24時間及び48時間において、検体投与群及び検体対照群で皮膚反応は認められなかった(感作率 0%)。一方、陽性対照群(背景データ: 2-Mercaptobenzothiazole,  $\alpha$ -Hexylcinnamaldehyde)においては、それぞれ44/78例、13/60例に皮膚反応が認められた(申請者註: 陽性対照の感作率はそれぞれ56%、21%)。

以上の結果から、オリゼメート粒剤 40 はモルモットに対し、皮膚感作性はないと判断された。