

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

#### 14. 生体機能に及ぼす影響

アメトクトラジンのラットおよびマウスにおける薬理試験

(資料 24)

試験実施機関：

報告書作成年：2008年 (GLP 対応)

検体の純度：

用量設定根拠：本剤のラットにおける急性経口毒性試験(資料 1)で 2000mg/kg 用量において死亡および毒性兆候が認められていないことから、本剤は低毒性であることが確認されている。従って、全試験項目のラットおよびマウスについて、限界用量の 2000mg/kg を最高用量に選択し、公比 3 で以下、600、200mg/kg を設定した。

投与液の調製および分析：検体は 1w/v%カルボキシメチルセルロース Na (以下、CMC-Na とする) 水溶液に懸濁して調製し、調製 24 時間以内に投与した。投与容量を 10mL/kg 体重とし、20、60 および 200mg/mL 濃度の投与液を調製した。調製直後および 24 時間後の投与液の濃度を HPLC により分析したところ、調製直後で設定濃度の 85-96%[基準：85-115%]、CV が 0.6-4.8[基準：10%以下]、24 時間後の残存率が 100-104%であることから、試験に用いた投与液の濃度の正確さ、均一性、安定性が担保された。

##### 14-1. ラットの中樞神経系に対する作用

###### 1) ラットにおける一般状態 (FOB)

試験動物：SD 系ラット [CrI:CD] 1 群雄 5 匹

投与時 7 週齢、投与時体重 雄 222.6-235.1g

投与方法：検体を 200、600 および 2000mg/kg となるように、一晚絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与 6 時間後に給餌を再開した。投与前および投与 1、2、4、6 ならびに 24 時間後に以下に示す機能観察総合評価法 (FOB) に準じて観察、測定し、体温および瞳孔径を測定した。体重は投与開始前および 24 時間の観察終了時に測定した。

FOB：

- ・ ホームケージ内観察 (姿勢、呼吸、間代性/強直性の不随意運動、異常発声、眼瞼閉鎖)
- ・ ハンドリングによる観察 (ケージからの取り出し易さ、ハンドリング時の反応、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、立毛など)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

- ・ オープンフィールドでの観察（立ち上がり回数、異常行動、間代性/強直性の不随意運動、歩調、移動性、覚醒、常同行動、排便、排尿）
- ・ 刺激反応性（接近反応、接触反応、聴覚驚愕反応、尾の痛覚反射、瞳孔反射、眼瞼反射、耳介反射、空中での正向反射）
- ・ 神経・筋の観察（腹筋/肢筋緊張度、前肢/後肢握力、着地時後肢開脚測定）

結果：対照群と比して、全ての測定ポイントで、いずれの FOB 項目においても対照群と比して検体投与によると思われる変化はみられなかった。瞳孔径、体温および体重についても有意な変化はみられなかった（Dunnett's 検定； $p \leq 0.05$ ）。

## 2) 雄マウスにおける一般状態（Irwin 法）

試験動物：ICR 系マウス [CrIj:CD1] 1 群雄 3 匹

投与時 7 週齢、投与時体重 雄 28.6-33.8g

投与方法：検体を 200、600 および 2000mg/kg となるように、投与前 4 時間絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与 6 時間後に給餌を再開した。投与前および投与 1、2、4、6 ならびに 24 時間後に多次元観察法 (Irwin) に準じて行動変化、神経症状および中毒症状を評価した。体重は投与開始前および 24 時間の観察終了時に測定した。

結果：対照群と比して、全ての測定ポイントで、いずれの Irwin の項目においても対照群と比して検体投与によると思われる変化はみられなかった。体重においても有意な変化はみられなかった（Dunnett's 検定； $p \leq 0.05$ ）。

## 3) 雌マウスにおける一般状態（Irwin 法）

試験動物：ICR 系マウス [CrIj:CD1] 1 群雌各 3 匹

投与時 7 週齢、投与時体重 雌 23.8-28.8g

投与方法：検体を 200、600 および 2000mg/kg となるように、投与前 4 時間絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与 6 時間後に給餌を再開した。投与前および投与 1、2、4、6 ならびに 24 時間後に多次元観察法 (Irwin) に準じて行動変化、神経症状および中毒症状を評価した。体重は投与開始前および 24 時間の観察終了時に測定した。

結果：対照群と比して、全ての測定ポイントで、いずれの Irwin の項目においても対照群と比して検体投与によると思われる変化はみられなかった。体重においても有意な変化はみられなかった（Dunnett's 検定； $p \leq 0.05$ ）。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

#### 14-2. 中枢神経系に対する作用

##### 1) ラットにおける自発運動量測定

試験動物：SD系ラット[CrI:CD] 1群雄5匹

投与時7週齢、投与時体重 雄230.5-260.8g

投与方法：検体を200、600および2000mg/kgとなるように、一晩絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与前および投与1、2、4ならびに6時間後に受動型赤外線センサーのついた自動運動量計測システムで3分間の自発運動量を測定した。投与前の測定後の群分けから測定終了までは絶水した。

結果：対照群と比して、全ての測定ポイントで検体投与によると思われる有意な変化はみられなかった（ANOVA検定； $p \leq 0.05$ ）。

##### 2) マウスにおける電撃痙攣

試験動物：ICR系マウス[CrIj:CD1] 1群雄5匹

投与時7週齢、投与時体重 雄29.7-33.2g

投与方法：検体を200、600および2000mg/kgとなるように、投与前4時間絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与1時間後にマウスの両眼に生理食塩水を浸した電極を当て、電気ショック（パルス幅5msec、周波数100Hz）を1秒間に0.5mAずつ上昇させて間代性痙攣（Cl.）および強直性痙攣（T.E.）が出現する時の電流値を調べた。測定開始から終了まで絶水した。

結果：対照群と比して全ての投与群に間代性および強直性痙攣を引き起こす電流に有意な変化はみられなかった（Dunnett's検定； $p \leq 0.05$ ）。

#### 14-3. ラットにおける腎機能に対する作用

ラットの尿量、尿中電解質に対する作用

試験動物：SD系ラット[CrI:CD] 1群雄5匹

投与時7週齢、投与時体重 雄226.8-238.8g

投与方法：検体を200、600および2000mg/kgとなるように、一晩絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与直後に生理食塩液を2.5mL/100g体重の割合で経口負荷し、個別に採尿ケージに移し、投与6時間までの尿を採取し、尿量を測定した。蓄尿を遠心分離（4°C, 1500rpm, 10分間）し、その上清を採取して $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 比、および浸透圧を測定した。蓄尿中は絶食・絶水した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結 果：対照群と比して全ての投与群において、検体投与に関連した有意な変化はみられなかった (Dunnett's 検定 ;  $p \leq 0.05$ ) 。

#### 14-4. ラットにおける循環器系に対する作用

無麻酔ラットの血圧、心拍数に対する作用

試験動物：SD 系ラット [CrI:CD] 1 群雄 5 匹

投与時 7 週齢、投与時体重 雄 218.7-253.3g

投与方法：検体を 200、600 および 2000mg/kg となるように、一晩絶食した動物に単回強制経口投与した。対照群には媒体のみ投与した。投与前、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。各測定ポイントで測定は 5 回実施し、収縮期血圧の最高及び最低値を除く 3 回の平均値を採用した。投与前測定後の群わけから 6 時間後の測定終了まで絶水した。

結 果：対照群と比して全ての投与群および測定ポイントにおいて、検体投与に関連した収縮期血圧および心拍数の有意な変化はみられなかった (ANOVA 検定 ;  $p \leq 0.05$ ) 。

申請者注) ラットにおける呼吸への作用について

14-1 項の詳細な FOB において呼吸状態を観察しており、限界用量 (2000mg/kg) を投与してもラットの呼吸への影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

アメトクトラジンの生体機能に及ぼす影響に関する試験の総括表

試験項目	動物種	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
中枢神経系 一般状態 [FOB]	ラット	経口 (CMC)	0, 200, 600, 2000	♂5	—	2000	2000mg/kg まで作用 なし。
中枢神経系 一般状態 [Irwin]	マウス	経口 (CMC)	0, 200, 600, 2000	♂3 ♀3	—	2000	2000mg/kg まで作用 なし。
中枢神経系 自発運動量	ラット	経口 (CMC)	0, 200, 600, 2000	♂5	—	2000	2000mg/kg まで作用 なし。
中枢神経系 電撃痙攣	マウス	経口 (CMC)	0, 200, 600, 2000	♂5	—	2000	2000mg/kg まで作用 なし。
腎機能 尿量・電解 質・浸透圧	ラット	経口 (CMC)	0, 200, 600, 2000	♂5	—	2000	2000mg/kg まで作用 なし。
循環器系 無麻酔 血圧・心拍数	ラット	経口 (CMC)	0, 200, 600, 2000	♂5	—	2000	2000mg/kg まで作用 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 BASF ジャパン株式会社にある。

## 15. その他・メカニズム試験

### 15-1. マウスを用いた4週間混餌投与免疫毒性試験

(資料 25)

試験実施機関：

報告書作成年：2009年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物： C57BL/6JRj 系マウス 1群雌8匹

試験開始時齢 雌 49±1日齢、体重 雌 15.5-18.7g

投与期間： 4週間 (2009年2月11日～2009年3月11日)

投与方法： 所定量の検体を少量の基礎飼料と混和してプレミックスを調製し、さらに基礎飼料を追加混入して0、500、2000および6000ppmの濃度の飼料を調製し、動物に毎日自由に摂取させた。対照群には基礎飼料のみを給餌した。陽性対照としてシクロホスファミド水和物を飲料用水に溶解し、12mg/kgの用量を毎日強制経口投与した。陽性対照群には基礎飼料を給餌した。飼料調製は試験開始前1回行った。また陽性対照は試験前に1回調製し、投与日数分に分割して-18℃で凍結保存し、投与日に室温に戻して投与した。

用量設定根拠： 90日間のマウスを用いた反復経口投与毒性試験(資料10)において、0、500、2000および6000ppmの飼料中濃度で投与し、無毒性量 (NOEL) が6000ppmであると判断されたことから、本試験においても同じ用量を選択した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率： 動物の生死および毒性徴候を毎日観察した。詳細な一般状態の観察を試験開始前および試験開始後は週1回実施した。

検体投与群動物に死亡はなく、一般状態に検体投与に起因する変化はみられなかった。一方陽性対照群では1例に試験14-15日に立毛および一般状態の軽度低下ならびに15日にはしゃがみこみ姿勢がみられ、瀕死状態となった為切迫屠殺した。

飲水量： 目視により毎日観察した。

飲水量に検体投与に関連した変化はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

体重： 試験開始前、動物の無作為化のために測定した。投与開始後は 0 日および毎週測定した。試験開始日(0 日)との差を体重増加量とした。

表 1

群	体重		体重増加量				
	対照	陽性対照 CP	対照	投与群			陽性対照 CP
用量	0ppm	12mg/kg	0ppm	500ppm	2000ppm	6000ppm	12mg/kg
7 日		92.3 ↓	(0.6)		216.7 ↑		(-0.9) ↓
14 日		90.2					(-0.3)
21 日		91.7 ↓					42.9 ↓
28 日		90.0 ↓					38.7 ↓

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)

CP：シクロホスファミド

( ) 内の数値は実数。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

検体投与群： 統計学的検定：Dunnett (両側) ↓ ;  $p \leq 0.05$

陽性対照群： 統計学的検定：Welch t 検定 (両側) ↓ ;  $p \leq 0.05$ , ↓ ;  $p \leq 0.01$

結果を表 1 に示す。検体投与群において対照群と比して体重の有意な変化は認められなかった。体重増加量は 2000ppm 群の試験 7 日目に有意な増加を示したが、継続性および用量関連性がなく、偶発的なものと考えられた。

一方、陽性対照はほとんどの測定時において体重および増加量ともに有意な低下を示した。

飼料摂取量： 飼料摂取量を毎週(7 日毎)測定し、動物 1 匹 1 日当たりの摂取量 (g) として平均値を計算した。

検体投与群に摂餌量の有意な変動はなかった。陽性対照群においても対照群と比して有意な低下は認められなかった。(Dunnett 検定 (両側) ;  $p \leq 0.05$ )

摂餌効率： 個別の体重および飼料摂取量より 7 日毎に計算した。

表 2 に統計学的有意差のみられた時期を示す。

表 2.

用量群 (ppm)	0	500	2000	6000	陽性対照 CP
試験 0-7 日	1.6				-3.2 ↓

表中の内の値は実数。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

CP：シクロホスファミド (12mg/kg)

検体投与群： 統計学的検定：Dunnett (両側) 有意差なし。

陽性対照群： 統計学的検定：Welch t 検定 (両側) ↓ ;  $p \leq 0.05$

検体投与群に対照群と比して有意な変動は認められなかった。

陽性対照群では試験 7 日目のみに有意な低下がみられたが、これは体重低下による二次的な影響であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

検体摂取量： 体重、飼料摂取量および飼料中の検体濃度より 1 日当たりの平均検体摂取量を算出した。

結果を表 3 に示す。

表 3. 検体摂取量

用量群 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/日)
500	160.0
2000	603.5
6000	1955.7

免疫毒性検査： 28 日間の投与終了後に動物を 16-20 時間の絶食後、麻酔下の動物の眼窩静脈叢より血液を採取した。全血についてリンパ球数を測定した。

1) リンパ球分画： 全血をフィコエリトリン (R-PE)、チトクローム 5 (PE-Cy5)、ペリジニクロロピルタンパク (PerCp) あるいはフルオレセインイソチオシアネート (FITC) モノクロナル抗体抱合体で染色し、各試料についてそれぞれのアイソタイプ対照物質とともに測定し、細胞画分の絶対数を血液学的検査で測定したリンパ球数を用いて算出した。B/T 細胞比および CD4/CD8 細胞比を算出した。

2) NK 細胞活性： Marcusson-Stahl ら (2003)<sup>1</sup>の方法に準拠して分析した。

3) 一次 T 細胞依存性抗体応答 (抗 SRBC IgM ELISA)： 殺菌ヘパリン添加ヒツジ血を 0.9% 生理食塩水で洗浄し  $4 \times 10^8$  赤血球/mL 調整した。試験 23 日目に各マウスに 0.5 mL を腹腔内投与して免疫化し、試験 29 日目に SRBC ELISA 用に各マウスより採血した。ELISA は Temple ら (1995) に従って実施した。

結果を以下の表 4、5 および 6 に示す。

<sup>1</sup> Marcusson-Stahl, M and Cederbrant, K. A.

Flow-cytometric NK-cell cytotoxicity assay adapted for use in rat repeated dose toxicity studies. Toxicology 193: 269 - 279 (2003)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 4. 細胞画分

群 用量 (ppm)	検体投与群 (ppm)				陽性対照 CP
	0	500	2000	6000	12 (mg/kg)
% B 細胞 / % リンパ球	(63.94)	102.9	99.9	100.7	48.98 ↓
% T 細胞 / % リンパ球	(26.54)	96.2	101.7	100.2	206.4 ↑
% NK 細胞 / % リンパ球	(4.82)	131.3	125.5	131.3	174.3 ↑
% CD4 / % T 細胞	(51.26)	101.4	100.1	102.8	100.0
% CD8 / % T 細胞	(45.67)	98.9	100.4	97.2	101.5
B : T 比	(2.48)	110.5	98.4	100.8	24.2 ↓
CD4 : CD8 比	(1.13)	102.6	100.9	107.1	98.2

表中の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)。

対照群の ( ) 内の値は実数。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

CP : シクロホスファミド

検体投与群 : 統計学的検定 : kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、↑ ↓ ; p ≤ 0.01

陽性対照群 : 統計学的検定 : Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、↑ ↓ ; p ≤ 0.01

表 5. 細胞画分 (絶対値)

群 用量 (ppm)	検体投与群				陽性対照 CP
	0	500	2000	6000	12 (mg/kg)
リンパ球数 (giga/L)	(2.53)	78.7	79.5	80.2	27.7 ↓
B 細胞	(1.69)	80.5	76.3	78.7	13.0 ↓
T 細胞	(0.63)	74.6	85.7	82.5	58.7 ↓
NK 細胞	(0.11)	100.0	109.1	118.2	45.5 ↓
CD4	(0.32)	78.1	84.4	84.4	59.4 ↓
CD8	(0.29)	72.4	86.2	82.8	58.6

表中の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)。

対照群の ( ) 内の値は実数。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

CP : シクロホスファミド

検体投与群 : 統計学的検定 : kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、↑ ↓ ; p ≤ 0.01

陽性対照群 : 統計学的検定 : Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、↑ ↓ ; p ≤ 0.01

表 6. NK 細胞活性および抗 SRBC IgM 力価

群 用量 (ppm)	検体投与群				陽性対照 CP
	0	500	2000	6000	12 (mg/kg)
NK 細胞活性 (%)	(27.38)	94.6	99.1	101.4	99.8
抗 SRBC IgM 力価 (LU/mL)	(3400)	101.5	115.3	97.3	12.3 ↓

表中の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)。

対照群の ( ) 内の値は実数。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

CP : シクロホスファミド

検体投与群 : 統計学的検定 : kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、↑ ↓ ; p ≤ 0.01

陽性対照群 : 統計学的検定 : Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓ ; p ≤ 0.05、↑ ↓ ; p ≤ 0.01

検体投与群にはいずれの項目においても対照群と比して有意な変化は認められなかった。一方陽性対照群では、リンパ球数の有意な低下、それに伴う B 細胞、T 細胞、NK 細胞および CD4 の有意な低下ならびに CD8 の低下傾向が認められた。リンパ球画分の割合にも異常が認められた。また、SRBC 力価の有意な低下が認められ、陽性対照物質の免疫毒性が確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

剖検； 動物はイソフルランの麻酔下で断頭屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。

投与群および陽性対照群ともに、検体投与によると思われる異常な所見は認められなかった。

臓器重量； 試験終了時の全生存動物について以下の重量を測定した。

脾臓、胸腺、麻酔動物

表 7 に示すように陽性対照群にのみ胸腺の有意な低下および脾臓の低下傾向が認められ、検体投与群には影響は認められなかった。

表 7.

群	検体投与群				陽性対照 CP	
	用量 (ppm)	0	500	2000	6000	12 (mg/kg)
最終体重		(17.0g)	100	99	96	92 ↓
胸腺	絶対	(52.125mg)	89	89	95	51 ↓
	対体重	(0.307)	89	89	99	55 ↓
脾臓	絶対	(67.125mg)	98	102	98	83
	対体重	(0.396)	98	103	101	91

表中の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)。

対照群の ( ) 内の値は実数。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

CP：シクロホスファミド

検体投与群： 統計学的検定：Dunnett (両側) ↓ ;  $p \leq 0.05$ , ↑ ↓ ;  $p \leq 0.01$

陽性対照群： 統計学的検定：Welch t 検定 (両側) ↓ ;  $p \leq 0.05$ , ↑ ↓ ;  $p \leq 0.01$

以上、検体を飼料中に 6000ppm まで混入して投与したが、免疫毒性の指標に影響は認められなかった。一方、陽性対照のシクロホスファミド投与群では、免疫毒性として、総リンパ球数及びリンパ球分画数の異常値、又、有意に低下した SRBC IgM 抗体価及び脾臓及び胸腺重量の低下が認められ、本試験の感度が十分あることを示した。

従って、本試験において 6000ppm (1955.7mg/kg/日) までの検体濃度の飼料を雌マウスに 28 日間投与した試験条件下において、免疫毒性はないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

## II. 原体混在物・代謝物毒性

### 原体混在物

1-1. 原体混在物 ( ) の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料 IM-1)

試験実施機関 :

報告書作成年 : 2008 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 原体混在物 ( )

方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、標準プレート法では 0、20、100、500、2500 および 5000  $\mu\text{g}$ /プレートで実施した。プレインキュベーション法では TA98 に対しては 0、2、10、50、250 および 500  $\mu\text{g}$ /プレートで、その他の菌株については 0、20、100、500、2500、5000  $\mu\text{g}$ /プレートで試験を実施した。試験は 3 連とした。

陽性対照として S-9mix 存在下には、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S-9mix 非存在下には、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

濃度設定根拠 : 1 回目の試験(標準プレート法)においてネズミチフス菌に細胞毒性が 2500  $\mu\text{g}$ /プレート以上で軽度に見られ、TA98 はさらに 100  $\mu\text{g}$ /プレートから毒性がみられたことから、2 回目の試験(プレインキュベーション法)においては TA98 のみ 0、2、10、50、250 および 500  $\mu\text{g}$ /プレートとした。沈殿は 500  $\mu\text{g}$ /プレート以上で認められた。

結果 : 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに S-9mix の存在下および非存在下においていずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。検体の沈殿はいずれの試験法、S-9mix の有無によらず 500  $\mu\text{g}$ /プレート以上で認められた。TA98 を除くネズミチフス菌に対し、2500  $\mu\text{g}$ /プレート以上で細菌への毒性(復帰変異コロニー数の減少、タイターの減少)が認められた。TA98 に対しては標準プレート法では 100  $\mu\text{g}$ /プレート以上で、プレインキュベーション法では 250  $\mu\text{g}$ /プレート以上で細胞毒性が認められた。大腸菌には細胞毒性は認められなかった。陰性対照は背景データの範囲内であり、また陽性対照は明瞭に増加した。

以上より、検体は復帰変異原性を有しないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	104	15	44	26	8
検体	20	-	92	14	34	20	8
	100	-	93	14	36	22	5
	500	-	92P	12P	43P	14P	8P
	2500	-	89P	11P	43P	11P	6P
	5000	-	71P	3P	36P	2P	1P
陽性対照 MNNG	5.0	-	754	658	987	340	410
AAC	100	-					
NOPD	10	-					
4-NQO	5.0	-					
対照 (DMSO)		+	111	14	38	37	9
検体	20	+	94	14	47	26	9
	100	+	104	13	39	24	8
	500	+	84P	12P	47P	19P	8P
	2500	+	89P	8P	45P	6P	4P
	5000	+	70P	5P	44P	7P	2P
陽性対照 2-AA	2.5	+	984	119	205	940	167
	60	+					

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

P: 沈殿

2-アミノアントラセン(2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 1537
対照 (DMSO)		-	96	15	46	6
検体	20	-	103	15	39	7
	100	-	103	12	43	8
	500	-	100P	10P	51	7P
	2500	-	81P	12P	36	3P
	5000	-	39P	4P	40	2P
陽性対照 MNNG	5.0	-	1133	704	1367	466
AAC	100	-				
NOPD	10	-				
4-NQO	5.0	-				
対照 (DMSO)		+	114	19	47	7
検体	20	+	96	15	41	8
	100	+	97	15	28	7
	500	+	99P	15P	38P	6P
	2500	+	77P	10P	41P	4P
	5000	+	43P	5P	35P	3P
陽性対照 2-AA	2.5	+	952	132	190	111
	60	+				

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

P: 沈殿

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法 (つづき)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix の有無	復帰変異
			コロニー数/プレート*
			フレームシフト型 TA 98
対照 (DMSO)		-	24
検体	2	-	24
	10	-	23
	50	-	20
	250	-	17
	500	-	6P
陽性対照 NOPD	10	-	1035
対照 (DMSO)		+	30
検体	2	+	28
	10	+	25
	50	+	25
	250	+	15
	500	+	6P
陽性対照 2-AA	2.5	+	821

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

P: 沈殿

2-アミノアントラセン (2-AA)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-2. 原体混在物 ( ) の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料 IM-2)

試験実施機関 :

報告書作成年 : 2008 年 [GLP 対応]

検体の純度 : 原体混在物 ( )

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、標準プレート法では 0、20、100、500、2500 および 5000  $\mu\text{g}$ /プレートで実施した。プレインキュベーション法では 0、312.5、625、1250、2500 および 5000  $\mu\text{g}$ /プレートで試験を実施した。試験は 3 連とした。

陽性対照として S-9mix 存在下には、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S-9mix 非存在下には、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

濃度設定根拠 : 1 回目の試験 (標準プレート法) の結果に基づいてプレインキュベーション法では 0、312.5、625、1250、2500 および 5000  $\mu\text{g}$ /プレートとした。

結 果 : 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに S-9mix の存在下および非存在下においていずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。検体の沈殿は S-9mix 存在下では 500  $\mu\text{g}$ /プレート以上で、非存在下では 312.5  $\mu\text{g}$ /プレート以上で認められた。細菌への弱い毒性 (復帰変異コロニー数の減少) は S-9mix の非存在下で両試験法の 5000  $\mu\text{g}$ /プレートに認められた。

陰性対照は背景データの範囲内であり、また陽性対照は明瞭に増加した。

以上より、検体は復帰変異原性を有しないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	99	14	43	29	8
検体	20	-	114	14	34	27	8
	100	-	104	13	39	25	8
	500	-	108P	11P	39P	27P	6P
	2500	-	120P	12P	43P	24P	8P
	5000	-	121P	11P	41P	26P	4P
陽性対照 MNNG	5.0	-	873	881			
AAC	100	-				504	451
NOPD	10	-					
4-NQO	5.0	-			739		
対照 (DMSO)		+	125	14	43	33	9
検体	20	+	97	14	45	34	8
	100	+	113	13	28	34	8
	500	+	106P	13P	41P	31P	7P
	2500	+	100P	12P	37P	28P	8P
	5000	+	100P	12P	42P	25P	7P
陽性対照 2-AA	2.5	+	663	149		675	115
	60	+			238		

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

P: 沈殿

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法

薬物	濃度 (µg/プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	101	14	29	25	8
検体	312.5	-	113P	16P	33P	24P	9P
	625	-	104P	15P	34P	27P	7P
	1250	-	103P	12P	30P	22P	5P
	2500	-	99P	13P	35P	23P	6P
	5000	-	98P	13P	30P	21P	4P
陽性対照 MNNG	5.0	-	608	689	581	481	142
AAC	100	-					
NOPD	10	-					
4-NQO	5.0	-					
対照 (DMSO)		+	102	15	34	29	8
検体	312.5	+	102	13	39	27	6
	625	+	89P	11P	38P	27P	7P
	1250	+	94P	13P	34P	31P	6P
	2500	+	98P	13P	39P	32P	6P
	5000	+	96P	11P	37P	28P	6P
陽性対照 2-AA	2.5	+	806	151	219	560	143
	60	+					

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

P: 沈殿

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

## 代謝物

### 1. 土壌代謝物

1-1. 代謝物                      の細菌を用いた復帰変異原性試験                      (資料 MT-1)

試験実施機関：

報告書作成年・修正：2005年、2006年

(GLP 対応)

検体の純度： 代謝物                      (塩酸塩として)

方 法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに 0、24、120、600、3000 および 6000  $\mu\text{g}$ /プレートで試験を実施した<sup>申請者注<sup>1</sup></sup>。試験は 3 連とした。

陽性対照として S-9mix 存在下には、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S-9mix 非存在下には、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

濃度設定根拠： 1 回目の試験(標準プレート法)において沈殿はみられず、細胞毒性が 3000  $\mu\text{g}$ /プレート以上で軽度のみられた。この結果から 2 回目の試験(プレインキュベーション法)においても同じ濃度設定 0、24、120、600、3000、6000  $\mu\text{g}$ /プレートとした。

結 果： 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに S-9mix の存在下および非存在下においていずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。検体の沈殿はいずれの試験法および濃度でも認められなかった。また、3000  $\mu\text{g}$ /プレート以上で細菌への毒性(復帰変異コロニー数の減少、バックグラウンドロンの消失または減少、タイターの減少)がネズミチフス菌にのみ認められ、大腸菌には認められなかった。陰性対照は背景データの範囲内であり、また陽性対照は明瞭に増加した。

以上より、検体は復帰変異原性を有しないと判断した。

申請者注<sup>1</sup>： 検体の純度が低いことから、最高濃度が 5000  $\mu\text{g}$ /プレートとなるよう補正し、以下の濃度もこれに準じた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	108	16	39	33	9
検体	24	-	101	21	37	26	8
	120	-	107	18	34	31	10
	600	-	106	18	35	26	7
	3000	-	104	16	35	17	10
	6000	-	97	14	31	11	5B
陽性対照 MNNG	5.0	-	1077	883	626	598	411
AAC	100	-					
NOPD	10	-					
4-NQO	5.0	-					
対照 (DMSO)		+	106	19	41	39	11
検体	24	+	107	20	35	34	8
	120	+	105	18	39	36	10
	600	+	105	19	42	44	13
	3000	+	103	15	41	23	5
	6000	+	97	18	31	20	3B
陽性対照 2-AA	2.5	+	927	138	228	839	147
	60	+					

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

B: バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	108	18	32	28	9
検体	24	-	106	16	36	31	8
	120	-	106	13	35	27	9
	600	-	102	14	34	24	8
	3000	-	99	15	28	20	7
	6000	-	66B	11B	21	12B	4B
陽性対照 MNNG	5.0	-	678	716	536	623	458
AAC	100	-					
NOPD	10	-					
4-NQO	5.0	-					
対照 (DMSO)		+	107	17	36	32	9
検体	24	+	101	15	32	31	9
	120	+	106	17	27	28	8
	600	+	104	15	31	30	6
	3000	+	105	12	28	26	6
	6000	+	69B	11B	21	14B	3B
陽性対照 2-AA	2.5	+	703	126	235	680	110
	60	+					

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

B: バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン(2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)

9-アミノアクリジン(AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-2. 代謝物

マウスの骨髄細胞を用いた小核試験

(資料 MT-2)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年（GLP 対応）

検体の純度： 代謝物 （塩酸塩として）

試験動物： CrI:NMRI 系マウス、1 群雄各 5 匹

試験開始時週齢 5-8 週齢、体重 29g（平均値）

試験期間： 投与後 48 時間

試験方法： 検体を純水に懸濁して用時調製し、20mL/kg の容量で、575、1150 および 2300 mg/kg（塩酸塩換算：500、1000 および 2000mg/kg）の用量を単回強制経口投与した。陰性対照群には純水を、また陽性対照には染色体異常誘発物質であるシクロホスファミド（CP：20mg/kg、経口）および異数性誘発物質であるピンクリスチン（VC：0.15mg/kg、腹腔内）を用い、純水を溶媒として調製した。投与容量は陰性対照は 20mL/kg および陽性対照は 10mg/kg 体重とし、検体群では投与可能な 20mL/kg 体重とした。

投与 24 および 48 時間後に動物を屠殺して、大腿骨の骨髄を採取し、スライドグラス上に固定後、エオジン&メチレンブルー（メイグリユンワルド変法）およびギムザにより染色し、骨髄標本を作製した。試験群の設定は以下のとおりである。

薬 物	用量 (mg/kg)	動物数	
		24 時間後屠殺	48 時間後屠殺
陰性対照 純水	—	5	5
陽性対照 シクロホスファミド (CP)	20	5	—
陽性対照 ピンクリスチン (VC)	0.15	5	—
検 体	575	5	—
	1150	5	—
	2300	5	5

—：設定なし。

各標本について、動物当たり 2000 個以上の多染性赤血球を観察し小核の有無を確認した。多染性赤血球 2000 個観察中の小核を有するまたは有さない正染性細胞を記録した。また多染性赤血球の小核の大きさを細胞直径の 1/4 より大きい小さいかを記録した。

用量設定根拠： 予備試験として雌雄マウスを用いた急性経口毒性を実施した。2000mg/kg 用量を単回経口投与したところ、全例が生存し、毒性徴候を示さなかった。本試

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

験には雄動物のみを用い、検体の純度が低いことから最高用量には 2300mg/kg を選択し、以下 1150 および 575mg/kg を設定した。

結果： 表 1 に結果を示す。

検体投与群の動物には毒性徴候はみられなかった。いずれの検体投与群とも、対照群と比して小核を有する多染性赤血球および小核を有する正染性赤血球数の有意な増加はみられなかった。また、多染性赤血球 10000 個 (N=5) あたりの正染性赤血球の数も対照群と比して異常はみられなかった。多染性赤血球と正染性赤血球の比率から、造血性への毒性影響はなかったと判断された。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加がみられ、CP 陽性対照群では、小さな小核のみが増加し、紡錘体毒性を有する VC 陽性対照群では大きな小核も有意に増加した。陽性対照および陰性対照は背景データの範囲内であった。

以上の結果より、本試験条件下では、検体の小核誘発性は陰性と判断される。

表 1

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	PCE	NCE	MN/PCE			MN/NCE (%)
							%	d<D/4	d≥D/4	
24	陰性対照(純水)	—	雄	5	10000	2145	1.2	1.2	0.0	0.5
	陽性対照(CP)	20		5	10000	2030	14.1 ↑	13.8 ↑	0.3	1.5
	陽性対照(VC)	0.15		5	10000	1883	63.3 ↑	47.6 ↑	15.7 ↑	1.6
	検体	575		5	10000	1981	1.4	1.4	0.0	1.0
		1150		5	10000	1803	1.3	1.2	0.1	0.6
		2300		5	10000	3073	0.4	0.4	0.0	1.0
48	陰性対照(純水)	—	雄	5	10000	2591	1.4	1.4	0.0	0.8
	検体	2300		5	10000	1765	0.6	0.6	0.0	0.0

PCE：多染性赤血球(5例の合計)、NCE：正染性赤血球(5例の合計)、%：赤血球1000個中の数、

MN/PCE：PCE1000個あたりの小核を有するPCE、d：小核の直径、D：赤血球の直径

MN/NCE：NCE1000個あたりの小核を有するNCE、

Wilcoxon (片側) 検定：↑ ; p ≤ 0.05, ↑ ; p ≤ 0.01

陽性および陰性対照背景データ

投与経路	陰性対照(水溶液)			陽性対照(シクロスファミド <sup>†</sup> )			陽性対照(ヒンクリスチン)		
	経口			経口			腹腔内		
PEC1000個あたりの小核を有するPCE(%)	d<D/4	d≥D/4	合計	d<D/4	d≥D/4	合計	d<D/4	d≥D/4	合計
平均値	1.4	0.0	1.4	14.6	0.1	14.7	57.4	13.1	70.3
最小値	0.6	0.0	0.6	8.7	0.0	8.9	21.9	3.8	26.0
最大値	2.4	0.2	2.6	22.6	0.9	22.8	101.9	36.4	113.7
SD	0.5	0.1	0.5	3.5	0.2	3.5	14.7	5.4	17.5
群数	41			34			90		

PCE：多染性赤血球、d：小核の直径、D：赤血球の直径

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

## 2. 植物・土壌代謝物

### 2-1. 代謝物 M650F03 のラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 MT-3)

試験実施機関：

報告書作成年：2008 年 [GLP 対応]

検体の純度： 代謝物 (塩酸塩として)

試験動物： Wistar 系ラット [CrI:WI (Han)] 1 群雌雄各 10 匹  
試験開始時 42±1 日齢、試験開始時体重 雄 163.8-189.9g、雌 123.2-146.9g

投与期間： 91 日間 (2007 年 9 月 19 日～2007 年 12 月 19 日)

投与方法： 所定量の検体を少量の飼料と混和してプレミックスを調製し、飼料を追加混入して 0、1500、5000 および 15000ppm 濃度の飼料をそれぞれ調製し、動物に随時摂取させた。投与飼料は 4 週間ごとに調製した。

用量設定根拠： 小核試験 (資料 MT-7) の用量設定のために実施した OECD ガイドラインに従ったラットにおける急性経口毒性試験において 2000mg/kg の用量で死亡および毒性徴候がなく、低毒性であることが確認されている。本試験ではガイドラインの限界用量である 1000mg/kg/日 を達成する濃度を高用量として 0、1500、5000 および 15000ppm 濃度を設定した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率； 動物の生死および毒性徴候を毎日観察した。詳細な一般状態の観察を試験開始前および試験開始後は週 1 回実施した。

試験期間中死亡は認められず、また一般状態は対照群および投与群ともに変化はみられなかった。

摂餌量； 摂餌量を毎週 (7 日毎) 測定し、動物 1 匹 1 日当たりの摂取量 (g) として平均値を計算した。

多くの時期で対照群と投与群との間に増加および低下の一定しない変動がみられたが、変動が大きく逸脱値に一貫性がないことから投与と関連しないものと思われた。

飲水量； 飲水量は毎週 (7 日毎) 測定し、動物 1 匹 1 日当たりの摂取量 (g) として平均値を計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

多くの時期で対照群と投与群との間に増加および低下の一定しない変動がみられたが、変動が大きく逸脱値に一貫性がないことから投与と関連しないものと思われた。

体重： 試験開始前、動物の無作為化のために測定した。投与開始後は 0 日および毎週測定した。試験開始日(0日)との差を体重増加量とした。

体重の推移を図 1 および 2 に示す。雌雄ともに体重および体重増加量に検体投与に関連した影響はなかった (Dunnett 検定；両側 有意差なし)。

図 1. 体重推移—雄

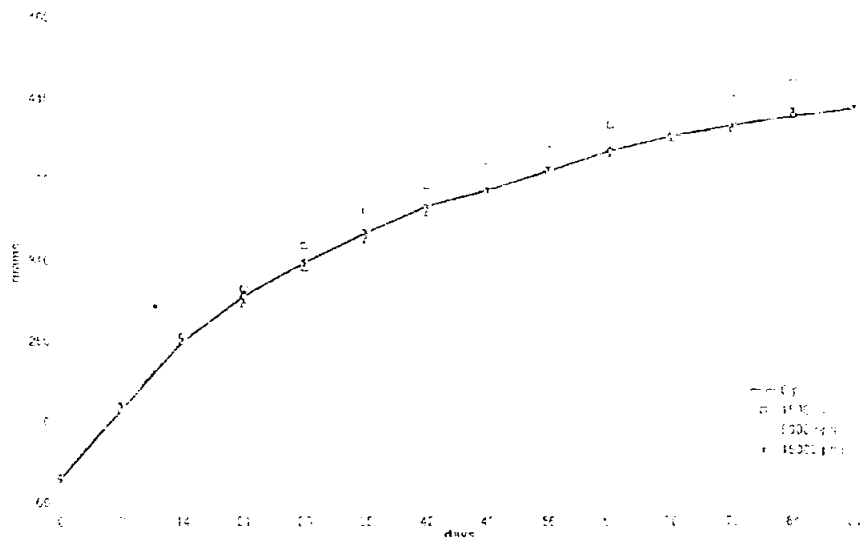
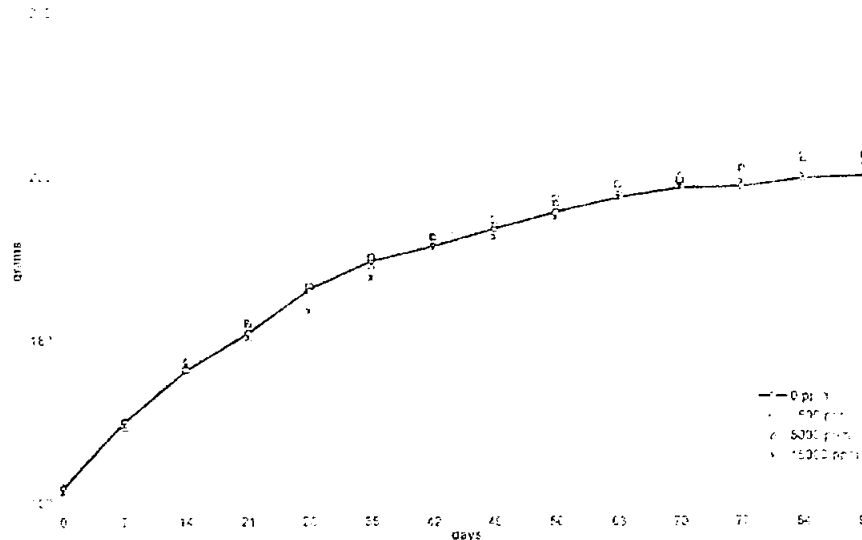


図 2. 体重推移—雌



摂餌効率： 個別の体重および飼料摂取量より計算した。

摂餌効率に検体投与に関連した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 BASF ジャパン株式会社にある。

検体摂取量： 体重、飼料摂取量および飼料中の検体濃度より 1 日当たりの平均検体摂取量を算出した。

結果を表 2 に示す。

表 2. 検体摂取量

用量群 (ppm)	1 日検体摂取量 (mg/kg/日)	
	雄	雌
1500	89.5	107.1
5000	298.8	348.6
15000	942.6	1093.6

機能検査 (FOB)： 投与終了時に全動物を対象に以下の項目を実施した。

ホームケージ観察 (姿勢、振戦、痙攣、異常行動、歩行異常、その他)

検体投与に関連した変化は認められなかった。

オープンフィールド観察 (ケージ取り出し時の行動、被毛、皮膚、流涎、鼻汁、流涙、眼/瞳孔径、姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦、痙攣、異常行動、歩行異常、活動/覚醒レベル、糞(回数、外観、硬さ)/2 分間、尿(量、色)/2 分間、立ち上がり回数/2 分間)

検体投与に関連した変化は認められなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。

感覚運動検査/反射 (接近反応、触覚反応、視覚(位置視覚反応)、瞳孔反射、耳介反射、聴覚(驚愕反応)、運動協調性(立ち直り反応)、取扱い時の行動、発声、痛覚反応(テイルピンチ)、前肢握力、後肢握力、接地開脚幅、その他)

対照群、5000 および 15000ppm 群の雌それぞれ 1 例に、接触時の頻繁な発声が認められたが、用量関連性がなく、検体投与によるものではないと判断した。

その他の項目、検体投与に関連した有意な変化はみられなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。

自発運動量： FOB と同日に 5 分間にビームを横切る回数の測定を 12 回実施した。

15000ppm 群雄の第 12 回目自発運動量が対照群と比して有意に増加した (対照群を 100 とした場合 667%,  $p \leq 0.05$ )。しかし、12 回の合計の自発運動量では対照群と同等であり、有意ではなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。この単発の変動は毒性学的に関連性がないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

眼検査： 投与開始前はすべての動物を対照に、また投与開始 91 日目には対照群および高用量群を対象に散瞳薬を点眼し、検眼鏡を用いて検査した。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査： 投与期間終了時に麻酔下の動物の眼窩静脈叢から採血し、全血について以下の項目を検査した。動物は一晩絶食した。

赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、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、血小板、白血球、白血球百分比、網状赤血球、プロトロンビン時間

対照群と比して検体投与に関連した変化および傾向は認められなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。

血液生化学的検査： 採血した血液の血清を用いて以下の項目を検査した。

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

対照群と比して検体投与に関連した変化および傾向は認められなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。

尿検査： 試験終了時に、動物を個別に代謝ケージに入れ、絶食および絶水下で一晩尿を採取した。蓄積尿について以下の項目を検査した。

量、色調、濁度、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

対照群と比して検体投与に関連した変化および傾向は認められなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側) または Fisher 正確検定; 有意差なし)。

臓器重量： 投与終了後、全生存動物はイソフルランによる麻酔下で断頭し、肉眼的病理検査の後、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、脾臓、脳、心臓、胸腺、甲状腺、麻酔動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

いずれの臓器においても、絶対重量および対体重比に投与群と対照群との間の有意な変動はなかった (Kruskal-Wallis H および Wilcoxon test (両側) ; 有意差なし)。

肉眼的病理検査： 投与終了後の全動物について肉眼的病理検査を実施した。

投与群において対照群と比して肉眼的に変化の認められた臓器はなかった。

病理組織学的検査： 死亡動物および生存動物の以下の臓器を採取し、4%ホルマリン溶液で固定した。対照群および高用量群の全動物を対象として\*を除く以下の組織について病理標本作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施し、低および中用量群の動物については肉眼的異常の認められた動物の組織を対象として組織病理学的検査を実施した。

唾液腺(顎下、舌下)、食道、胃(前胃、腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、膵臓、脳、下垂体、坐骨神経、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼、副腎、甲状腺、副甲状腺、気管、肺、咽頭、喉頭、鼻(鼻腔)、大動脈、心臓、骨髄(大腿骨)、リンパ節(腸間膜、腋窩)、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、卵管を伴う卵巣、子宮、膣、精巣上体、前立腺、精囊、乳腺(雌)、皮膚、骨格筋\*、胸骨(骨髄を含む)\*、大腿骨(膝関節を含む)\*、眼窩外涙腺\*、  
その他肉眼的異常部位

検体投与に関連すると思われる所見は認められなかった。(統計検定なし)

以上、本試験における検体投与による変化は高用量の 15000ppm 群まで認められなかった。従って、本試験における無毒性量 (NOAEL) は、最高用量の 15000ppm (雄：942.6mg/kg/日、雌：1093.6mg/kg/日) であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2-2. 代謝物                      の細菌を用いた復帰変異原性試験                      (資料 MT-4)

試験実施機関：

報告書作成年・修正：2005年、2006年

[GLP 対応]

検体の純度： 代謝物                      (塩酸塩として)

方 法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、標準プレート法(実験 1)では 0、20、100、500、2500 および 5000  $\mu$ g/プレートで、プレインキュベーション法では 0、4、20、100、500 および 2500  $\mu$ g/プレートの濃度での実施(実験 2)に加えて 0、500、1000、2000、3000 および 4000  $\mu$ g/プレート(実験 3)の濃度においても試験を実施した。試験は 3 連とした。

陽性対照として S-9mix 存在下には、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S-9mix 非存在下には、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

濃度設定根拠：標準プレート法(実験 1)において沈殿はみられず、細胞毒性が 2500  $\mu$ g/プレート以上で菌株によりみられたことから、プレインキュベーション法(実験 2)において 2500  $\mu$ g/プレートを最高濃度とした。その結果 2500  $\mu$ g/プレートで復帰変異コロニーに対し著しい生育阻害を示す強い毒性がみられたことから、実験 3 では 2500  $\mu$ g/プレートをはさんだ 500~4000  $\mu$ g/プレートで試験し確認した。

結 果： 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに S-9mix の存在下および非存在下においていずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。検体の沈殿はいずれの試験法および濃度でも認められなかった。また、標準プレート法では 2500  $\mu$ g/プレート以上で細菌への毒性(復帰変異コロニー数の減少、バックグラウンドロンの消失または減少、タイターの減少)がみられた。プレインキュベーション法では 500~2000  $\mu$ g/プレートから細菌への毒性がみられた。陰性対照は背景データの範囲内であり、また陽性対照は明瞭に増加した。以上より、検体は復帰変異原性を有しないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法 (実験 1)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	105	18	37	31	14
検体	20	-	102	16	29	25	9
	100	-	105	19	32	23	11
	500	-	101	21	30	28	11
	2500	-	102	18	22	25	8
	5000	-	74B	13B	21B	88	4B
陽性対照	MNNG 5.0	-	866	692	583	614	411
	AAC 100	-					
	NOPD 10	-					
	4-NQO 5.0	-					
対照 (DMSO)		+	111	18	49	38	12
検体	20	+	105	18	35	29	12
	100	+	108	15	38	37	14
	500	+	98	14	36	30	9
	2500	+	99	18	28	25	8
	5000	+	87B	14B	19B	15B	3B
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	756	127	217	737	122

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

B: バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法-1 (実験 2)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	106	17	30	28	9
検体	4	-	102	15	32	29	10
	20	-	104	15	27	25	10
	100	-	110	16	28	30	9
	500	-	107	13	25	16	8
	2500	-	0B	0B	7B	0B	0B
陽性対照 MNNG	5.0	-	842	860			
AAC	100	-					458
NOPD	10	-				619	
4-NQO	5.0	-			595		
対照 (DMSO)		+	106	17	34	30	11
検体	4	+	101	17	33	28	11
	20	+	111	14	31	30	11
	100	+	107	15	30	27	10
	500	+	100	14	25	25	9
	2500	+	0B	0B	8B	0B	0B
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	872	104		602	153
					225		

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

B: バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

3) プレインキュベーション法-2 (実験 3)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	107	16	35	33	8
検体	500	-	108	15	38	26	9
	1000	-	106	16	37	20	7
	2000	-	84	9	22	12	4
	3000	-	0B	0B	0B	0B	0B
	4000	-	0B	0B	0B	0B	0B
陽性対照 MNNG	5.0	-	834	711		650	418
AAC	100	-					
NOPD	10	-					
4-NQO	5.0	-					
対照 (DMSO)		+	108	16	37	33	12
検体	500	+	104	15	30	28	9
	1000	+	100	11	21	21	6
	2000	+	20B	3B	8B	12B	2B
	3000	+	0B	0B	0B	0B	0B
	4000	+	0B	0B	0B	0B	0B
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	725	131	238	611	110

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

B: バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2-3. 代謝物 のチャイニーズハムスターV79 細胞における *in vitro* 染色体異常試験  
(資料 MT-5)

試験実施機関：

報告書作成年：2007 年 [GLP 対応]

検体の純度： 代謝物 (塩酸塩として)

試験方法： チャイニーズハムスターV79 細胞のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で、独立した 2 試験を実施し、構造的染色体異常について、100 個の分裂中期プレートを評価した。試験の設計を以下に示す。下線太字は評価した濃度。

実験	暴露時間 (hr)	標本作製までの時間 (hr)	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}$ )					
			S9mix 非存在下					
I	4	18	275	<u>550</u>	<u>1100</u>	<u>2200</u>		
II	18	18	275	550	<u>1100</u>	<u>1650</u>	<u>2200</u>	
II	18	28			1100	1650	<u>2200</u>	
			S9mix 存在下					
I	4	18	137.5	275	550	<u>1100</u>	<u>1650</u>	<u>2200</u>
II	4	28			<u>550</u>	<u>1100</u>	<u>1650</u>	2200

陽性対照区として S-9mix 存在下ではエチルメタンスルホネート (EMS) を、S-9mix 非存在下ではシクロホスファミド (CP) を用い、陰性 (溶媒) 対照区として S-9mix の有無によらず DMSO を用いた。

細胞を 4 または 18 時間処理後、生理食塩液で洗浄し、完全培地と交換して処理開始 11~12 および 21~22 時間後にコルセミドを添加して、細胞分裂を停止させた。その 2~3 時間後に試料採取し、低張溶液 (0.4%KCl) で 37°C で 20 分間処理し、メタノールおよび氷酢酸混合物 (3:1) で細胞を固定した。実験ごと各群 2 枚のスライドを作成しギムザ染色した。

用量設定根拠： 検体を DMSO に懸濁し、1~3000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲の濃度について S-9mix 存在下および非存在下で 4 時間暴露させ 18 時間後に試料採取した。S-9mix 非存在下で 10mM に相当する 2200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  まで十分な中期分裂細胞が得られたが、S-9mix 存在下では、この濃度での評価可能な細胞は得られなかった。また 18 時間暴露 18 時間後試料採取では 2200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度で評価不可能であった。以上の結果より実験 I および II において 10mM に相当する 2200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を最高濃度とした。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結 果： 実験 I および II の結果を次頁以降の表に示す。  
細胞毒性は実験 II の S-9mix 存在下の 2200  $\mu$ g/mL 濃度にのみ認められた。個々の試験において、生物学的に意味のある構造的染色体異常を有する細胞数の増加はいずれもみられなかった。陽性対照は有意な増加を示した。  
以上、本試験条件下において染色体異常誘発性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

実験 I

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S-9 Mix の有無	分裂指数	染色体異常を有する細胞の割合 (%)							
							含 ギヤップ	除 ギヤップ	交 換	多重 異常	染色体 分裂	異数性	倍数 体性	内部 倍数性
溶媒対照 DMSO				200		9.6	2.5	2.0	1.0	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0
陽性対照 EMS	500	4	18	100	—	10.2	15.0↑	14.0↑	8.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
検体	550			200		10.2	1.5	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0
	1100				10.7	3.0	1.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2200				11.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
溶媒対照 DMSO				200		15.9	3.5	2.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
陽性対照 CP	0.5	4	18	100	+	11.0	22.0↑	21.0↑	13.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
検体	1100			200		14.3	3.0	1.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	1.5
	1650				18.2	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5
	2200				14.3	4.5	2.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0

DMSO : ジメチルスルホキシド, EMS : エチルメタンサルホネート, CP : シクロホスファミド  
Fisherの正確検定 ↑ :  $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

実験Ⅱ

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S-9 Mixの有無	分裂指数	染色体異常を有する細胞の割合 (%)							
							含ギヤップ	除ギヤップ	交換	多重異常	染色体分裂	異数性	倍数体性	内部倍数性
溶媒対照 DMSO				200		11.1	6.0	2.0	0.5	0.0	0.0	0.0	2.4	0.0
陽性対照 EMS		18	18	100	-	7.7	21.0↑	17.0↑	13.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	200			10.3		10.5	3.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	
				9.0		5.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	
				8.4		6.0	3.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	
溶媒対照 DMSO				200		10.9	7.0	0.5	0.5	0.0	0.0	5.7	0.0	
陽性対照 EMS	500	18	28	100	-	8.1	27.0↑	25.0↑	21.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	200			12.1		7.0	3.0	1.0	0.0	0.0	4.3	0.0		
溶媒対照 DMSO				200		10.5	4.0	3.0	1.0	0.0	0.0	4.7	0.5	
陽性対照 CP		4	28	100	+	12.2	18.0↑	17.0↑	10.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	200			8.9		2.5	0.5	0.5	0.0	0.0	6.5	0.0		
				12.7		2.0	1.0	0.5	0.0	0.0	6.1	0.0		
				11.2		6.0	2.0	1.5	0.0	0.0	3.3	1.0		

DMSO: ジメチルスルホキシド, EMS: エチルメタンサルホネート, CP: シクロホスファミド

Fisherの正確検定 ↑:  $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2-4. 代謝物 のチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた HPRT 遺伝子座突然変異試験  
(資料 MT-6)

試験実施機関：

報告書作成年： 2006 年 [GLP 対応]

検体の純度： 代謝物 (塩酸塩として)

試験方法： チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO-K1 細胞) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、2 回行った。溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。  
用量設定のために、コロニー形成率について 10~3000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の範囲の 7 用量で実験を行い、S-9 Mix の非存在下では 1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の濃度で、存在下では 750  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の濃度でコロニー形成率の抑制が認められた。これらの結果から以下の用量を選定した。

試験 1： S-9 mix 非存在下： 0、800、1000、1200、1400、1600、1800  $\mu\text{g}/\text{mL}$

S-9 mix 存在下： 0、100、200、400、600、800、1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$

試験 2： S-9 mix 非存在下： 0、1400、1450、1500、1550、1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$

S-9 mix 存在下： 0、500、600、700、800、900、1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$

陽性対照として、S-9 mix の非存在下ではエチルメタンサルホネート (EMS) 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S-9 mix の存在下ではメチルコラントレン (MCA) 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を用い、溶媒対照に (DMSO) も同様に試験した。

HAT 培地で、自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を 10%FCS 添加 Ham' s F12 培地に播種し ( $1 \times 10^6$ 個/フラスコ)、24 時間培養し付着させた。新鮮培地と交換後、S-9mix の存在下および非存在下で 4 時間、検体処理を行った。細胞を Hank's 平衡塩溶液で洗浄後、Ham's F12 培地を加え培養を続けた。突然変異発現時間 (6~8 日) の間に 1 回継代培養した。発現期間終了時に、各濃度につき  $1.8 \times 10^6$  の細胞を選択培地 (TG 培地) 10mL の入ったフラスコに播種した。6~8 日間の培養後、メタノールで固定し、ギムザで染色して変異コロニー数を計測した。

細胞毒性は検体処理後の最初の継代時 (細胞毒性 1) および発現時間後の再播種時 (細胞毒性 2) に約 200 細胞/フラスコを播種し、Ham' s F12 培地を加え、約 5~8 日間培養後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

結果： 結果を表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 1. 試験結果

試験 1							
濃度 (μg/mL)	S-9 mix	細胞毒性試験 1 (4 時間処理後)		細胞毒性試験 2 (発現時間後)		突然変異試験	
		コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		突然変異頻度 (10 <sup>6</sup> 個当り)	
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	補正前	補正後 <sup>a</sup>
溶媒対照 (DMSO)		86.5	100.0	80.3	100.0	1.12	1.40
検体	800	88.8	102.7	72.2	89.9	1.39	1.95
	1000	88.6	102.4	66.4	82.7	2.23	3.14
	1200	67.2	77.7	71.3	88.8	0.84	1.33
	1400	69.3	80.1	65.3	81.3	0.84	1.26
	1600	0.0	0.0	-	-	-	-
	1800	0.0	0.0	-	-	-	-
陽性対照 EMS	300	85.4	98.7	50.2	62.5	88.89	181.17
試験 2							
濃度 (μg/mL)	S-9 mix	細胞毒性試験 1 (4 時間処理後)		細胞毒性試験 2 (発現時間後)		突然変異試験	
		コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		突然変異頻度 (10 <sup>6</sup> 個当り)	
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	補正前	補正後 <sup>a</sup>
溶媒対照 (DMSO)		84.3	100.0	84.5	100.0	2.78	3.37
検体	1400	63.0	74.7	72.4	85.7	2.23	3.14
	1450	52.4	62.2	71.3	84.4	2.50	3.84
	1500	13.2	15.7	65.7	77.8	0.56	0.75
	1550	0.4	0.5	-	-	-	-
	1600	0.0	0.0	-	-	-	-
陽性対照 EMS	300	73.9	87.7	63.8	75.5	144.72	238.92
試験 2 (続)							
溶媒対照 (DMSO)		59.9	100.0	84.6	100.0	1.11	1.31
検体	500	55.7	93.0	80.7	95.4	0.84	1.09
	600	27.7	46.2	86.0	101.7	1.95	2.28
	700	10.9	18.2	77.8	92.0	0.00	0.00
	800	3.5	5.8	82.7	97.8	0.56	0.68
	900	2.0	3.3	81.8	96.7	0.56	0.69
	1000	0.0	0.0	78.8	93.1	0.28	0.32
陽性対照 MCA	10	61.8	103.2	86.8	102.6	42.50	48.99

DMSO: ジメチルスルホキシド、EMS: エチルメタンサルホネート、MCA: メチルコラントレン  
沈殿はみられなかった。

<sup>a</sup>: 発現時間後のコロニー形成率(細胞毒性試験 2)により補正を行った

-: 強い細胞毒性により計測しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

試験 1 および 2 の S-9mix の存在下および非存在下ともに検体による突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

細胞毒性は S-9mix 非存在下において、コロニー数の減少が 1400~1600  $\mu\text{g/mL}$  以上の用量で、また細胞濃度の減少が 1500~1600  $\mu\text{g/mL}$  以上で認められた。S-9mix 存在下では、コロニー数の減少は 400~600  $\mu\text{g/mL}$  以上で、細胞濃度の減少が試験 1 の 1000  $\mu\text{g/mL}$  に認められた。毒性のみられた濃度で細胞形態にも異常が観察された。

溶媒対照は背景データの範囲内であり、陽性対照データは明瞭な増加を示した。

以上の結果より、本検体はチャイニーズハムスターの卵巣細胞の HPRT 座において前進突然変異を誘発しないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2-5. 代謝物 のマウスの骨髄細胞を用いた小核試験 (資料 MT-7)

試験実施機関：

報告書作成・修正年：2006年[GLP 対応]

検体の純度： 代謝物 (塩酸塩として)

試験動物： CrI:NMR1系マウス、1群雄各5匹  
試験開始時週齢5-8週齢、体重 29g (平均値)

試験期間： 投与後48時間

試験方法： 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に懸濁して用時調製し、20mL/kgの容量で、500、1000および2000mg/kgの用量を単回強制経口投与した。陰性対照群には0.5%CMCを、また陽性対照には染色体異常誘発物質であるシクロホスファミド(CP:20mg/kg, 経口)および異数性誘発物質であるビンクリスチン(VC:0.15mg/kg, 腹腔内)を投与した。投与24および48時間後に動物を屠殺して、大腿骨の骨髄を採取し、スライドグラス上に固定後、エオジン&メチレンブルー(メイグリユンワルド変法)およびギムザにより染色し、骨髄標本を作製した。試験群の設定は以下のとおりである。

薬物	用量 (mg/kg)	動物数	
		24時間後屠殺	48時間後屠殺
陰性対照 0.5%CMC	—	5	5
陽性対照 シクロホスファミド (CP)	20	5	—
陽性対照 ビンクリスチン (VC)	0.15	5	—
検体	500	5	—
	1000	5	—
	2000	5	5

各標本について、動物当たり2000個以上の多染性赤血球を観察し小核の有無を確認した。多染性赤血球2000個観察中の小核を有するまたは有さない正染性細胞を記録した。また多染性赤血球の小核の大きさを細胞直径の1/4より大きい小さいかを記録した。

用量設定根拠： 予備試験としてOECDガイドラインに従い、雌雄マウスを用いた急性経口毒性を実施した。2000mg/kg用量を単回経口投与したところ、全例が生存し、毒性徴候を示さなかった。本試験には雄動物のみを用い、最高用量には2000mg/kgを選択し、以下1000および500mg/kg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 BASF ジャパン株式会社にある。

結果： 次表に結果を示す。

検体投与群の動物にはいずれも毒性徴候はみられなかった。

いずれの検体投与群とも、対照群と比して小核を有する多染性赤血球及び小核を有する正染性赤血球数の有意な増加はみられなかった。多染性赤血球と正染性赤血球の比率から、造血性への毒性影響はなかったと判断された。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加がみられた。CP 陽性対照群では、小さな小核のみが増加し、紡錘体毒性を有する VC 陽性対照群では大きな小核も有意に増加した。陽性対照および陰性対照は背景データの範囲内であった。

以上の結果より、本試験条件下では、検体の小核誘発性は陰性と判断される。

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	PCE	NCE	MN/PCE			MN/NCE (%)
							(%)	d<D/4	d≥D/4	
24	陰性対照 (0.5%CMC)	—	雄	5	10000	2330	1.1	1.1	0.0	0.9
	陽性対照 (CP)	20		5	10000	2030	14.1 †	13.8 †	0.3	1.5
	陽性対照 (VC)	0.15		5	10000	1883	63.3 †	47.6 †	15.7 †	1.6
	検体	500		5	10000	1931	1.1	1.1	0.0	0.5
		1000		5	10000	1543	1.4	1.4	0.0	0.6
		2000		5	10000	2206	1.8	1.8	0.0	1.4
48	陰性対照 (0.5%CMC)	—	雄	5	10000	1634	1.4	1.4	0.0	0.6
	検体	2000		5	10000	1528	1.2	1.2	0.0	0.7

PCE：多染性赤血球 (5例の合計)、NCE：正染性赤血球 (5例の合計)、%：該赤血球 1000 個中の数、

MN/PCE：PCE1000 個あたりの小核を有する PCE、MN/NCE：NCE1000 個あたりの小核を有する NCE、

D：細胞の直径、d：小核の直径、

Wilcoxon (片側) 検定：†；p≤0.05、††；p≤0.01

陽性および陰性対照背景データ

投与経路	陰性対照 (水溶液)			陽性対照 (シロキスファミド*)			陽性対照 (ヒンクリスチン)		
	経口			経口			腹腔内		
PEC1000 個あたりの小核を有する PCE	d<D/4	d≥D/4	合計	d<D/4	d≥D/4	合計	d<D/4	d≥D/4	合計
平均値	1.4	0.0	1.4	14.6	0.1	14.7	57.4	13.1	70.3
最小値	0.6	0.0	0.6	8.7	0.0	8.9	21.9	3.8	26.0
最大値	2.4	0.2	2.6	22.6	0.9	22.8	101.9	36.4	113.7
SD	0.5	0.1	0.5	3.5	0.2	3.5	14.7	5.4	17.5
試験数	41			34			90.0		



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

### 3. 植物・土壌代謝物

3-1. 代謝物 のラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 MT-8)

試験実施機関：

報告書作成年：2008 年 [GLP 対応]

検体の純度： 代謝物

試験動物： Wistar 系ラット [CrI:Wi (Han)] 1 群雌雄各 10 匹

試験開始時 42±1 日齢、試験開始時体重 雄 160.4-183.4g、雌 128.1-149.4g

投与期間： 91 日間 (2007 年 4 月 16 日～2007 年 7 月 16 日)

投与方法： 所定量の検体を少量の飼料と混和してプレミックスを調製し、飼料を追加混入して 0、1500、5000 および 15000ppm 濃度の飼料をそれぞれ調製し、動物に随時摂取させた。投与飼料は 4 週間ごとに調製した。

用量設定根拠： 低毒性を予測してガイドラインの限界用量である 1000mg/kg/日を達成する濃度を高用量として 0、1500、5000 および 15000ppm 濃度を設定した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率： 動物の生死および毒性徴候を毎日観察した。詳細な一般状態の観察を試験開始前および試験開始後は週 1 回実施した。

試験期間中死亡は認められなかった。

一般状態では、雄対照群に 1 例(試験 35-83 日)および雌 5000ppm 群に 1 例(試験 35-41 日)に腹部の上腹部位の触知腫瘍が認められた。15000ppm 群雌に斜頭姿勢(試験 84-93 日)および歯の斜交が(試験 21-93 日)にそれぞれ 1 例認められた。これらの所見は用量に関連のない孤立したもので検体投与によるものではなかった。

摂餌量： 摂餌量を毎週(7 日毎)測定し、動物 1 匹 1 日当たりの摂取量(g)として平均値を計算した。

多くの時期で対照群と投与群との間に増加および低下の一定しない変動がみられた(統計検定なし)。変動が大きく逸脱値に一貫性がないことから投与と関連しないものと思われた。

飲水量： 飲水量は毎週(7 日毎)測定し、動物 1 匹 1 日当たりの摂取量(g)として平均値を計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

試験期間を通し、15000ppm 群の雌雄で飲水量が増加していた（統計検定なし）。  
投与に関連したものである可能性が大きいが、臨床化学検査および病理学的検査において因果関係または相関性が認められなかったことより毒性学的な悪影響に関連しないと考えられた。

体重： 試験開始前、動物の無作為化のために測定した。投与開始後は 0 日および毎週測定した。試験開始日(0 日)との差を体重増加量とした。  
体重の推移を図 1 および 2 に示す。雌雄ともに体重および体重増加量に検体投与に関連した影響はなかった（Dunnett 検定；両側 有意差なし）。

図 1. 体重推移—雄

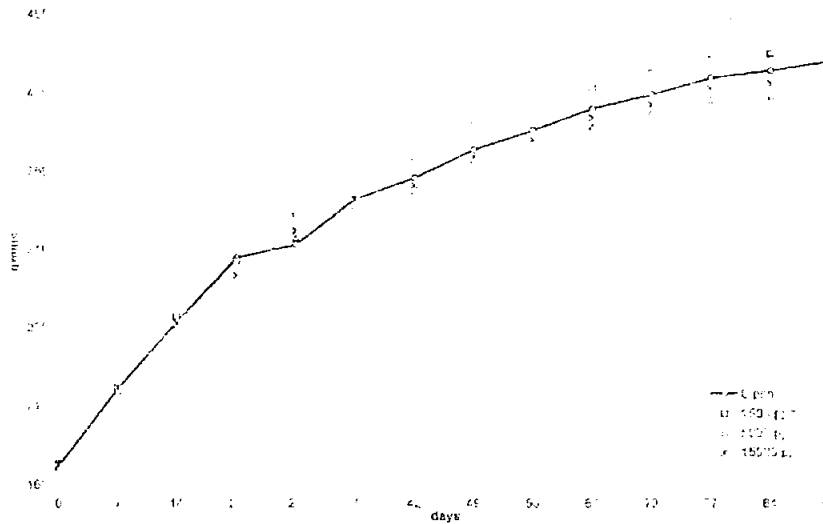
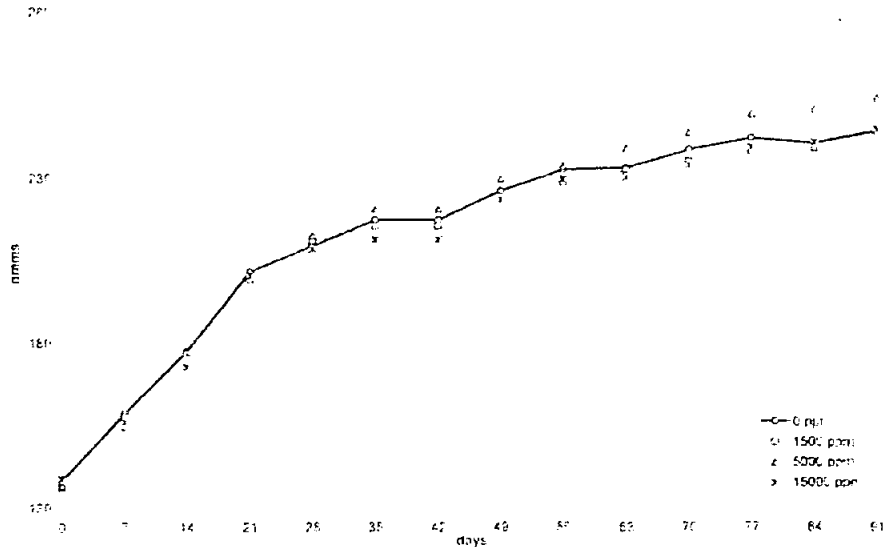


図 2. 体重推移—雌



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

摂餌効率： 個別の体重および飼料摂取量より計算した。

摂餌効率に検体投与に関連した影響は認められなかった。

検体摂取量： 体重、飼料摂取量および飼料中の検体濃度より 1 日当たりの平均検体摂取量を算出した。

結果を表 1 に示す。

表 1. 検体摂取量

用量群 (ppm)	1 日検体摂取量 (mg/kg/日)	
	雄	雌
1500	96.9	114.9
5000	317.9	418.0
15000	1033.5	1161.4

機能検査 (FOB)： 投与終了時に全動物を対象に以下の項目を実施した。

ホームケージ観察 (姿勢、振戦、痙攣、異常行動、歩行異常、その他)

検体投与に関連した変化は認められなかった。

オープンフィールド観察 (ケージ取り出し時の行動、被毛、皮膚、流涎、鼻汁、流涙、眼/瞳孔径、姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦、痙攣、異常行動、歩行異常、活動/覚醒レベル、糞(回数、外観、硬さ)/2 分間、尿(量、色)/2 分間、立ち上がり回数/2 分間)

15000ppm 群雄の 1 例にエリア探索行動の低下が認められたが、孤立した所見であり、検体投与によるものではないと判断した。

感覚運動検査/反射 (接近反応、触覚反応、視覚(位置視覚反応)、瞳孔反射、耳介反射、聴覚(驚愕反応)、運動協調性(立ち直り反応)、取扱い時の行動、発声、痛覚反応(テイルピンチ)、前肢握力、後肢握力、接地開脚幅、その他)

1500ppm 群の雄に 1 例、対照群および 5000ppm の雌に 1 例ずつ、ならびに 15000ppm 群の雌に 3 例、接触時の頻繁な発声が認められた。明瞭な用量関連性がなく、検体投与によるものではないと判断した。

その他、検体投与に関連した変化はみられなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。

自発運動量： FOB と同日に 5 分間にビームを横切る回数の測定を 12 回実施した。

個々の回および 12 回の合計において有意な変動はみられなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test; 両側 有意差なし)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

眼検査： 投与開始前および投与開始 91 日目に対照群および高用量群を対象に散瞳薬を点眼し、検眼鏡を用いて検査した。  
検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査： 投与期間終了時に麻酔下の動物の眼窩静脈叢から採血し、全血について以下の項目を検査した。動物は一晩絶食した。  
赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、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、血小板、白血球、白血球百分比、網状赤血球、プロトロンビン時間

対照群と比して有意差のみられた項目を表 2 に示す。

表 2.

雄	1500ppm	5000ppm	15000ppm
好酸球比		77.8 ↓	

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)

空欄は有意差なし。

Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側) : ↓ ;  $P \leq 0.05$

中間用量群の好酸球の有意な低下は用量関連性がなく、偶発的なものと考えられた。

血液生化学的検査： 採血した血液の血清を用いて以下の項目を検査した。

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

対照群と比して有意差のみられた項目を表 3 に示す。

表 3.

項目/用量 (ppm)	雄			雌		
	1500	5000	15000	1500	5000	15000
グロブリン	104.3 ↑	106.1 ↑				
カルシウム				97.1 ↓		
トリグリセリド				83.0 ↓		

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)

Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側) : ↑ ↓ ;  $P \leq 0.05$ , ↓ ;  $P \leq 0.01$

空欄は有意差なし。

いずれの有意な変動も用量関連性がなく、偶発的なものと考えられた。

尿検査： 試験終了時に、動物を個別に代謝ケージに入れ、絶食および絶水下で一晩尿を採取した。蓄積尿について以下の項目を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

量、色調、濁度、亜硝酸塩、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

対照群と比して検体投与に関連した変化および傾向は認められなかった  
(Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側) または Fisher 正確検定; 有意差なし)。

臓器重量: 投与終了後、全生存動物は二酸化炭素による麻酔下で断頭し、肉眼的病理検査の後以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、脾臓、脳、心臓、胸腺、甲状腺、麻酔動物

脳重量に統計学的有意差が認められたが、病理組織学的所見および用量関連性が認められないことから投与に関連がないと考えられた(表 4)。その他の臓器には、有意な変動はなかった。

表 4.

臓器	1500ppm	5000ppm	15000ppm
脳 絶対重量	103.1		102.1

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合(%)。

Kruskal-Wallis + Wilcoxon-test (両側) : 1 ;  $P \leq 0.05$

空欄は有意差なし

肉眼的病理検査: 投与終了後の全動物について肉眼的病理検査を実施した。

投与群において対照群と比して肉眼的に変化の認められた臓器はなかった。

病理組織学的検査: 全生存動物の以下の臓器を採取し、4%ホルマリン溶液で固定した。対照群および高用量群の全動物を対象として以下の組織について病理標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施し、低および中用量群の動物については肉眼的異常の認められた動物の組織を対象として組織病理学的検査を実施した。唾液腺(顎下、舌下)、食道、胃(前胃、腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、脳、下垂体、坐骨神経、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼、副腎、甲状腺、副甲状腺、気管、肺、咽頭、喉頭、鼻(鼻腔)、大動脈、心臓、骨髄(大腿骨)、リンパ節(腸間膜、腋窩)、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、卵管を伴う卵巣、子宮、陰、精巣上体、前立腺、精囊、乳腺(雌)、皮膚、骨格筋、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(膝関節を含む)、眼窩外涙腺、その他肉眼的異常部位

増加傾向を示す所見を表 5 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 5

組織所見/用量 (ppm)	雄				雌			
	0	1500	5000	15000	0	1500	5000	15000
検査動物数	10			10	10			10
肺 肺胞組織球症	1			5	6			4

表中の値は発生動物数。空欄は検査なし。

統計検定なし。

雄の 15000ppm 群で肺胞組織球症の発生率が増加したが、雌の対照群で 6 例発生していることから、自然発生的なもので検体投与に関連しないと考えられた。その他に投与に関連して増加した所見は認められなかった。

以上、本試験において検体を 15000ppm の濃度まで投与したが、検体投与に起因する毒性影響は認められなかった。

従って、本試験における無毒性量 (NOEL) は最高用量群の 15000ppm (雄 : 1033.5mg/kg/日、雌 : 1161.4mg/kg/日) であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

3-2. 代謝物                      の細菌を用いた復帰変異原性試験                      (資料 MT-9)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年（GLP 対応）

検体の純度： 代謝物

方 法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、標準プレート法またはプレインキュベーション法で独立した 3 試験を 1 試験当たり 3 連で実施した。試験に用いた濃度は以下のとおりである。

標準プレート法（1 回目）：S-9mix 存在下および非存在下ともに

0、20、100、500、2500 および 5000  $\mu$ g/プレート

プレインキュベーション法（2 回目）：S-9mix 存在下および非存在下ともに

0、20、100、500、2500 および 5000  $\mu$ g/プレート

プレインキュベーション法（3 回目）：

TA1535（-S-9mix）； 0、20~5000  $\mu$ g/プレート

（+S-9mix）； 0、8~2000  $\mu$ g/プレート

TA100（-/ +S-9mix）； 0、10~2500  $\mu$ g/プレート

TA1537（+S-9mix）； 0、2~500  $\mu$ g/プレート

TA98（-/ +S-9mix）； 0、2~500  $\mu$ g/プレート

*E. coli*（+S-9mix）； 0、0.4~100  $\mu$ g/プレート

陽性対照として S-9mix 存在下には、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S-9mix 非存在下には、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

濃度設定根拠： 1 回目の試験（標準プレート法）において沈殿はみられず、2500  $\mu$ g/プレート以上に弱い細胞毒性が認められたため、2 回目の試験（プレインキュベーション法）にも同じ濃度設定とした。2 回目の試験では細胞毒性が強く現れたため、菌株ごとに細胞毒性の認められないよう低濃度を設定した。

結 果： 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに S-9mix の存在下および非存在下においていずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。検体の沈殿はいずれの試験法および濃度でも認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

また、細胞毒性（復帰変異コロニー数の減少、タイターの減少）が標準プレート法では 2500  $\mu$ g/プレート以上に、プレインキュベーション法では 20  $\mu$ g/プレート以上において、菌株により認められた。

陰性対照は背景データの範囲内であり、また陽性対照は明瞭に増加した。

以上より、検体は復帰変異原性を有しないと判断した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法 (1回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	116	17	33	31	10
検体	20	-	108	17	33	32	11
	100	-	117	19	37	30	11
	500	-	122	16	35	27	9
	2500	-	118	18	29	26	10
	5000	-	127	13	32	16	10
陽性対照							
MNNG	5.0	-	854	577			
AAC	100	-					393
NOPD	10	-				422	
4-NQO	5.0	-			654		
対照 (DMSO)		+	116	16	37	34	11
検体	20	+	114	17	40	35	12
	100	+	95	18	34	45	12
	500	+	114	17	40	32	8
	2500	+	142	15	35	20	11
	5000	+	119	15	31	15	4
陽性対照							
2-AA	2.5 60	+	770	122		534	110
					204		

\* 3回の平均値

空欄は該当なし

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトログアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法 (2 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S-9mix 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	
			TA 100	TA 1535	E. coli WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	133	22	43	32	9
検体	20	-	116	13	38	32	6
	100	-	123	13	36	27	8
	500	-	106	15	36	20B	8
	2500	-	70B	17B	30	0B	9B
	5000	-	62B	10B	34	0B	7B
陽性対照 MNNG	5.0	-	1161	1165			
AAC	100	-					853
NOPD	10	-				1098	
4-NQO	5.0	-			1239		
対照 (DMSO)		+	135	13	49	42	11
検体	20	+	98B	12	29	16B	9B
	100	+	89B	13B	24	26B	6B
	500	+	101B	16B	21	26B	7B
	2500	+	70B	0B	0B	0B	0B
	5000	+	0B	0B	0B	0B	0B
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	1347	253		1161	127
					192		

\* 3 回の平均値

空欄は該当なし

B: バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

3) プレインキュベーション法 (3 回目)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異 コロニー数 /プレート*
			塩基置換型 TA 1535
対照 (DMSO)		-	15
検体	20	-	15
	100	-	15
	500	-	14
	2500	-	15B
	5000	-	0B
陽性対照 MNNG	5.0	-	546
AAC	100	-	
NOPD	10	-	
4-NQO	5.0	-	
対照 (DMSO)		+	15
検体	8	+	13
	40	+	17
	200	+	12
	1000	+	10B
	2000	+	3B
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	134

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異 コロニー数 /プレート*
			塩基置換型 TA 100
対照 (DMSO)		-	108
検体	10	-	106
	50	-	104
	250	-	106
	1250	-	96
	2500	-	50B
陽性対照 MNNG	5.0	-	647
AAC	100	-	
NOPD	10	-	
4-NQO	5.0	-	
対照 (DMSO)		+	107
検体	10	+	89
	50	+	99
	250	+	106
	1250	+	97B
	2500	+	9B
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	765

\* : 3 回の平均値

空欄は該当なし

B : バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

3) プレインキュベーション法 (3 回目) つづき

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異 コロニー数 / $\text{プレート}$ *
			フレームシフト型
			TA 1537
対照 (DMSO)		+	9
検体	2	+	9
	10	+	8
	50	+	8
	250	+	7B
	500	+	7B
陽性対照 2-AA	2.5	+	126
	60	+	

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異 コロニー数 / $\text{プレート}$ *
			フレームシフト型
			TA 98
対照 (DMSO)		-	27
検体	2	-	25
	10	-	22
	50	-	19
	250	-	20B
	500	-	22B
陽性対照 MNNG	5.0	-	473
AAC	100	-	
NOPD	10	-	
4-NQO	5.0	-	
対照 (DMSO)		+	32
検体	2	+	28
	10	+	26
	50	+	26
	250	+	21B
	500	+	15B
陽性対照 2-AA	2.5	+	588
60	+		

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S-9mix の有無	復帰変異 コロニー数 / $\text{プレート}$ *
			塩基置換型
			E. coli WP2 uvrA
対照 (DMSO)		+	37
検体	0.4	+	28
	2	+	30
	10	+	29
	50	+	27
	100	+	25
陽性対照 2-AA	2.5	+	227
	60	+	

\* : 3 回の平均値

空欄は該当なし

B : バックグラウンドのコロニー減少

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

3-3. 代謝物 のチャイニーズハムスターV79細胞における  
*in vitro* 染色体異常試験

(資料 MT-10)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

検体の純度： 代謝物

試験方法： チャイニーズハムスターV79 細胞のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で、独立した 2 試験を実施し、構造的染色体異常について、100 個の分裂中期プレートを評価した。試験の設計を以下に示す。斜体太字は評価した濃度。

実験	暴露時間 (hr)	標本作製までの時間 (hr)	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}$ )				
			S9mix 非存在下				
I	4	18	131.3	262.5	<b>525.0</b>	<b>1050.0</b>	<b>2100.0</b>
II	18	18	131.3	262.5	<b>525.0</b>	<b>1050.0</b>	<b>2100.0</b>
II	18	28			525.0	1050.0	<b>2100.0</b>
			S9mix 存在下				
I	4	18	131.3	262.5	<b>525.0</b>	<b>1050.0</b>	<b>2100.0</b>
II	4	28	131.3	262.5	<b>525.0</b>	<b>1050.0</b>	<b>2100.0</b>

陽性対照区として S-9mix 存在下ではエチルメタンサルホネート (EMS) を、S-9mix 非存在下ではシクロホスファミド (CP) を用い、陰性 (溶媒) 対照区として S-9mix の有無によらず DMSO を用いた。

細胞を 4 または 18 時間処理後、HBSS で洗浄し、完全培地と交換して処理開始 10、14 または 24 時間後に細胞を採取した。採取の 2~3 時間前にコルセミドを添加して、細胞分裂を停止させた。低張溶液 (0.4%KCl) で 37°C で 20 分間処理し、メタノールおよび氷酢酸混合物 (3:1) で細胞を固定した。実験ごと各群 2 枚のスライドを作成しギムザ染色した。

用量設定根拠： 検体の純度および分子量に基づき、2100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (約 10mM) を最高濃度として暴露期間終了 18 時間後に試料採取した。暴露時間は、S-9mix 非存在下では 4 および 18 時間とし、S-9mix 存在下では 4 時間とした。S-9mix 存在下の 4 時間暴露後、および非存在下の 18 時間暴露後の 2100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度において検体の沈殿が認められた。細胞毒性は認められなかったことから、本試験の最高濃度を 2100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  として本試験の濃度を設定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結 果： 実験ⅠおよびⅡの結果を次頁以降の表に示す。

以下を除き、個々の試験において、生物学的に意味のある構造的染色体異常を有する細胞数の増加はいずれもみられなかった。

実験ⅠにおけるS-9mix存在下での4時間暴露18時間採取の核内倍数性の有意でないが用量に関連した増加は、背景データ(平均; 0.2%、範囲; 0.0-2.4%, N=41)を上回っていた。しかし、単一の観察結果のみであることから、技術的な問題によるものと判断された。

実験ⅡにおけるS-9非存在下で18時間暴露/28時間採取の2100  $\mu$ g/mLでギャップを除く染色体異常および交換の割合が有意な増加を示したが、これは細胞毒性の認められた濃度であった。

沈殿はS-9mix存在下で262.5  $\mu$ g/mL以上で観察され、重量オスモル濃度およびpH値に検体による影響はみられなかった。陽性対照の構造的染色体異常の発生頻度の増加より試験系は担保された。

以上、本試験条件下において染色体異常誘発性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

実験 I

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理時間 (h)	標本 作製 時間 (h)	観 察 細 胞 数	S-9 Mix の 有 無	細胞 密度 (%) ( $1 \times 10^6 /$ mL)	分 裂 指 数	染色体異常を有する 細胞の割合 (%)			多重 異常 (%)	染色体 分裂 (%)	異数性 (%)	倍数性 (%)	核内 倍数 性 (%)
								含 ギ ャ ッ フ	除 ギ ャ ッ フ	交 換					
溶媒対照 DMSO				200		(3.10)	9.9	9.0	3.0	2.0	0.0	0.0	4.3	0.0	
陽性対照 EMS 検体	500	4	18	100	—	—	7.0	20.0↑	16.0↑	10.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	
	525			200		100.3	10.2	5.5	3.5	1.5	0.0	0.0	0.0	3.8	0.0
	1050			200		103.2	11.3	5.5	3.5	2.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
	2100			200		98.7	10.0	3.0	1.5	0.5	0.0	0.0	2.9	0.5	
溶媒対照 DMSO				200		(3.61)	11.4	3.5	2.5	1.5	0.0	0.0	0.5	0.5	
陽性対照 CP 検体	0.5	4	18	100	+	—	11.7	22.0↑	19.0↑	11.0↑	1.0	0.0	0.0	0.0	
	525			200		98.6	14.2	5.5	3.5	2.0	0.0	0.0	0.0	2.4	1.4
	1050			200		94.5	12.7	8.5	3.5	1.0	0.0	0.0	0.0	1.4	1.9
	2100			200		83.7	13.6	4.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.9	3.8	

DMSO : ジメチルスルホキシド, EMS : エチルメタンスルホネート, CP : シクロホスファミド

細胞密度の溶媒対照の ( ) 内数値は実数。

Fisherの正確検定 ↑ :  $p \leq 0.05$ , ↑↑ :  $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

実験 II

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S-9 Mix の有無	細胞密度 ( $1 \times 10^6 / \text{mL}$ )	分裂指数	染色体異常を有する細胞の割合 (%)			多重異常 (%)	染色体分裂 (%)	異数性 (%)	倍数性 (%)	核内倍数性 (%)
								含ギャップ	除ギャップ	交換					
溶媒対照 DMSO				200		(2.64)	8.7	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
陽性対照 EMS	500	18	18	100	-	-	12.4	14.0↑	13.0↑	9.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	525			200		7.3	1.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	1050			200		7.7	1.5	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
検体	2100			200		91.3	5.9	2.5	1.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
溶媒対照 DMSO				200		(3.82)	14.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
陽性対照 EMS	500	18	28	100	-	-	9.6	13.0↑	13.0↑	13.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2100			200		10.6	3.5	3.0↑	2.5↑	0.0	0.0	0.0	0.0	2.9	0.5
				200											
溶媒対照 DMSO				200		(3.93)	11.7	4.5	3.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
陽性対照 CP	0.5	4	28	100	+	-	14.6	12.0	12.0↑	11.0↑	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	525			200		13.8	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	1050			200		14.0	2.5	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2100			200		12.2	3.0	1.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5

DMSO : ジメチルスルホキシド, EMS : エチルメタンスルホネート, CP : シクロホスファミド

細胞密度の溶媒対照の ( ) 内数値は実数。

Fisherの正確検定 ↑ :  $p \leq 0.05$ , ↑↑ :  $p \leq 0.01$



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

3-4. 代謝物 のチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた HPRT 遺伝子座突然変異試験  
(資料 MT-11)

試験実施機関：

報告書作成年： 2006 年 [GLP 対応]

検体の純度： 代謝物

試験方法： チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO-K1 細胞) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、2 回行なった。S-9mix は S-9 画分とコファクターとの割合を 1:9 のものを用いた試験系と 3:7 の割合の試験系を設定した。溶媒としてジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。

用量設定として、S-9mix 非存在下および存在下におけるコロニー形成率について 0.7~1555.6  $\mu\text{g/mL}$  の範囲の 9 用量で実験を行った。S-9 Mix の非存在下ではコロニー形成率の低下はみられなかった。S-9mix(1:9) の存在下では 1111.1  $\mu\text{g/mL}$  以上の濃度でコロニー形成率の抑制が認められ、S-9mix(3:7) の存在下では、1555.6  $\mu\text{g/mL}$  でコロニー形成率が低下した。DMSO 中の検体の沈殿は 740.8  $\mu\text{g/mL}$  以上で認められた。培養培地中の検体の沈殿は S-9mix(1:9) の存在下および非存在下において 1555.9  $\mu\text{g/mL}$  で認められたが、S-9mix(3:7) においては S-9mix の強い沈殿により確認できなかった。

これらの結果から、本試験には以下の用量を選定し、2 反復の培養を行った。また、予備試験において 1111.1 および 1555.6  $\mu\text{g/mL}$  濃度でわずかな pH のシフトが認められたことから本試験では 2N NaOH で pH 調製を行った。

試験 1：S-9 mix 非存在下； 0、131.3、262.5、525.0、1050、2100  $\mu\text{g/mL}$

S-9 mix(1:9) 存在下； 0、131.3、262.5、525.0、1050、2100  $\mu\text{g/mL}$

試験 2：S-9 mix 非存在下； 0、500、1000、1500、2000、2100  $\mu\text{g/mL}$

S-9 mix(3:7) 存在下； 0、131.3、262.5、525.0、1050、2100  $\mu\text{g/mL}$

陽性対照として、S-9 mix の非存在下ではエチルメタンサルホネート (EMS) 300  $\mu\text{g/mL}$ 、S-9 mix の存在下ではメチルコラントレン (MCA) 10  $\mu\text{g/mL}$  を用い、溶媒対照 (DMSO) も同様に試験した。

HAT 培地で、自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を 10%FCS 添加 Ham's F12 培地に播種し ( $1 \times 10^6$  個/フラスコ)、24 時間培養し付着させた。新鮮培地と交換後、S-9mix の存在下および非存在下で 4 時間、検体処理を行った。細胞を Hank's 平衡塩溶液で洗浄後、Ham's F12 培地を加え培養を続けた。突然変異発現

時間(6~8日)の間に2回継代培養した。発現期間終了時に、各濃度につき  $3 \times 10^5$  の細胞を選択培地(TG培地)10mLの入ったフラスコに播種した。6~8日間の培養後、メタノールで固定し、ギムザで染色して変異コロニー数を計測した。

細胞毒性は検体処理後の最初の継代時(細胞毒性1)および発現時間後の再播種時(細胞毒性2)に約200細胞/フラスコを播種し、Ham's F12培地を加え、1週間培養後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

結果： 結果を表に示す。

表 1. 試験結果

試験 1							
濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S-9 mix (1:9)	細胞毒性試験 1 (4時間処理後)		細胞毒性試験 2 (発現時間後)		突然変異試験	
		コロニ形成率(%)		コロニ形成率(%)		突然変異頻度 ( $10^6$ 個当り)	
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	補正前	補正後 <sup>a</sup>
溶媒対照 (DMSO)	-	91.1	100.0	92.7	100.0	1.67	1.76
検体 131.3		76.9	84.4	86.8	93.6	2.50	2.93
262.5		88.9	97.6	76.9	83.0	1.95	2.77
525.0		88.8	97.5	80.9	87.3	2.78	3.48
1050.0		86.9	95.4	83.3	89.9	1.39	1.67
2100.0		85.7	94.1	81.2	87.6	2.50	3.17
陽性対照 EMS 300		78.6	86.3	61.3	66.1	60.00	97.91
溶媒対照 (DMSO)	+	61.2	100.0	80.1	100.0	1.67	2.10
検体 131.3		55.4	90.5	90.3	112.7	3.61	4.01
262.5		32.4	52.9	92.4	115.4	1.11	1.31
525.0		23.6	38.6	90.8	113.4	1.95	2.21
1050.0		15.9	26.0	94.1	117.5	1.39	1.44
2100.0		6.4	10.5	85.4	106.6	1.67	2.03
陽性対照 MCA 10		63.9	104.4	75.7	94.5	82.78	109.43

DMSO: ジメチルスルホキシド(1%)、EMS: エチルメタンスルホネート、MCA: メチルコラントレン  
沈殿はみられなかった。

<sup>a</sup>: 発現時間後のコロニー形成率(細胞毒性試験2)により補正を行った

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

試験 2							
濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S-9 mix (3:7)	細胞毒性試験 1 (4 時間処理後)		細胞毒性試験 2 (発現時間後)		突然変異試験	
		コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		突然変異頻度 ( $10^6$ 個当り)	
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	補正前	補正後 <sup>o</sup>
溶媒対照 (DMSO)		94.3	100.0	80.3	100.0	1.39	1.86
検体	500	91.6	97.1	75.1	93.5	1.11	1.37
	1000	91.1	96.6	87.4	108.8	1.95	2.35
	1500	92.4	98.0	90.8	113.1	0.56	0.62
	2000	92.3	97.9	89.9	112.0	1.95	1.96
	2100	92.4	98.0	84.2	104.9	2.50	3.27
陽性対照 EMS 300		92.9	98.5	93.2	116.1	109.17	119.21
溶媒対照 (DMSO)		78.9	100.0	85.2	100.0	5.56	6.59
検体	131.3	67.9	86.1	88.7	104.1	0.84	0.86
	262.5	86.8	110.0	73.7	86.5	1.95	2.69
	525.0	83.4	105.7	58.7	68.9	0.84	1.42
	1050.0	74.2	94.0	92.1	108.1	0.28	0.30
	2100.0	79.1	100.3	87.4	102.6	3.34	3.58
陽性対照 MCA 10		62.7	79.5	65.1	76.4	85.56	132.02

DMSO: ジメチルスルホキシド(1%)、EMS: エチルメタンサルホネート、MCA: メチルコラントレン沈殿はみられなかった。

<sup>o</sup>: 発現時間後のコロニー形成率(細胞毒性試験 2)により補正を行った

試験 1 および 2 の S-9mix の存在下および非存在下ともに検体による突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

細胞毒性は S-9mix (1:9) の存在下において、コロニー数の減少が  $2100 \mu\text{g/mL}$  で認められた。細胞形態に異常は観察さなかった。

溶媒対照および陽性対照はいずれも背景データの範囲内であった。

背景データ (陰性対照 DMSO)

突然変異頻度	S-9mix 非存在下		S-9mix (1:9) 存在下		S-9mix (3:7) 存在下	
	補正前	補正後	補正前	補正後	補正前	補正後
平均	2.54	2.99	2.23	2.59	2.89	3.44
最小	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
最大	12.22	13.11	7.22	9.38	13.89	15.02
標準偏差	2.72	3.11	1.75	2.09	2.64	3.10
試験数	86		28		57	

補正は発現期間終了時のコロニー系成立に適用して補正した ( $10^6$ 細胞当り)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

背景データ陽性対照

	S-9mix 非存在下		S-9mix 存在下 (1:9)		S-9mix 存在下 (3:7)	
	EMS		MCA		MCA	
突然変異頻度	補正前	補正後	補正前	補正後	補正前	補正後
平均	196.82	250.56	117.38	145.57	176.99	245.47
最小	42.22	72.79	46.11	65.39	43.33	63.20
最大	353.33	587.77	349.44	413.54	473.33	730.71
標準偏差	68.50	79.72	57.32	65.74	96.53	144.15
試験数	121		39		85	

DMSO: ジメチルスルホキシド、EMS: エチルメタンサルホネート、

MCA: メチルコラントレン

補正は発現期間終了時のコロニー系成立に適用して補正した(10<sup>6</sup>細胞当り)

以上の結果より、本検体はチャイニーズハムスターの卵巣細胞の HPRT 座において前進突然変異を誘発しないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

### Ⅲ. 製剤毒性

1-1. アメトクトラジン水和剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 F1-1)

試験実施機関:

報告書作成年: 2006 年 [GLP 対応]

検体の純度: アメトクトラジン水和剤 ( )

有効成分 アメトクトラジン

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物: Wistar 系ラット [HanRcc:WIST (SPF)] 雌 6 匹

試験開始時約 8-12 週齢、試験開始時体重 173-177g

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 毒性等級法 (OECD423、2001 年 12 月 17 日)

方法: 検体を無希釈で動物に 2000mg/kg 用量となるように単回強制経口投与した。投与前動物は少なくとも 16 時間絶食させた。投与容量は 1.92mL/kg 体重 (比重 1.041) とした。

試験項目: 動物の死亡および毒性徴候を毎日観察し、体重は投与開始直前およびその後は週 1 回測定した。試験終了時の全生存動物は屠殺し、肉眼的病理検査に供した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	>2000
死亡開始および終了時間	死亡なし
症状発現および消失時間	症状なし
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
症状の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

毒性徴候は認められなかった。体重は順調に増加した。  
肉眼的病理検査において異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-2. アメトクトラジン水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 F1-2)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン水和剤 ( )  
有効成分 アメトクトラジン  
その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： Wistar 系ラット [HanRcc:WIST (SPF)] 雌雄各 5 匹  
試験開始時 雄：約 8-10 週齢、雌：約 12-14 週齢、  
試験開始時体重 雄：251-263g、雌：229-237g

試験期間： 14 日間観察

方 法： 検体を希釈せずに用いた。投与 24 時間前に刈毛した動物の背部に 5000mg/kg 用量 (4.80mL/kg; 比重 1.041) となるよう単回投与し、投与部位は 24 時間半閉塞に保持した。24 時間後に投与部位を微温湯で清拭した。

試験項目： 動物の死亡、毒性徴候および投与部位の皮膚反応を毎日観察し、体重は投与開始直前およびその後は 1 週間に 1 度測定した。試験終了時の全生存動物は屠殺し、肉眼的病理検査に供した。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 > 5000
死亡開始および終了時間	死亡なし
症状発現および消失時間	症状なし
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000
症状の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

毒性徴候および適用部位の皮膚反応は認められなかった。体重は順調に増加した。肉眼的病理検査において異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-3. アメトクトラジン水和剤のラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 F1-3)

試験実施機関:

報告書作成年: 2007 年 [GLP 対応]

検体の純度: アメトクトラジン水和剤 ( )

有効成分 アメトクトラジン

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物: Wistar 系ラット [HanRcc:WIST (SPF)] 雌雄各 5 匹

試験開始時 雄: 約 8-9 週齢、雌: 約 11-12 週齢、

試験開始時体重 雄: 252.6-287.2g、雌: 200.5-224.5g

試験期間: 14 日間観察

方法: 検体をそのまま用い、攪拌した状態で適量をポンプで 2 コンポーネント式噴霧器に連続供給して発生させた。圧縮空気を用いて、暴露システム内の噴霧器でエアロゾルを発生させて、動物に 4 時間鼻部曝露させた。対照群は設けなかった。

暴露濃度および粒子径分布の測定に、暴露期間中 1 時間に 1 回暴露空気をカスケードインパクターに捕集した。暴露濃度は HPLC を用い、有効成分濃度の測定から求めた。

試験条件:

設定濃度 (mg/L)	69.4
実測濃度 (mg/L)*	5.1
粒子径分布	
粒子径 ( $\mu\text{m}$ )**	(%)
<1.2	4.7
1.2~2.8	41.0
2.8~5.5	44.9
5.5~8.5	6.8
8.5~18.2	0.5
18.2~29.5	0.5
>29.5	1.6
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ )**	3.05
呼吸可能な粒子径 (<5.5) の割合 (%)**	90.6
チャンバー容積 (L)	約 55
チャンバー内通気量 ( $\text{m}^3/\text{時間}$ )	1.5
暴露条件	ミスト 4 時間、鼻部暴露

\*: 4 回の平均値、\*\*: 2 回の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

試験項目： 動物の死亡および毒性徴候を毎日観察した。体重は投与開始前、開始後は週1回観察した。試験終了時の全生存動物は屠殺し、肉眼的病理検査に供した。

結 果：

投与方法	吸入(ミスト)
実測投与量 (mg/L)	5.1
LC <sub>50</sub> 値 (mg/L)	雌雄>5.1
死亡開始および終了時間	死亡なし
症状発現および消失時間	なし
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	5.1

検体投与によると思われる毒性兆候は認められなかった。雌動物の体重増加は第1週目は4例に減少がみられたが、2週目は増加した。雄動物の体重増加は順調であった。

肉眼的病理検査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 BASF ジャパン株式会社にある。

1-4. アメトクトラジン水和剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 F1-4)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン水和剤 ( )

有効成分 アメトクトラジン

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： ニュージーランド白色ウサギ 雄2匹、雌1匹

試験開始時 約7ヶ月齢、試験開始時体重 雄 3.43-3.47kg、雌 3.90kg

試験期間： 72時間観察

方法： 無希釈の検体 (pH7) 0.5mL を 2.5x2.5cm のパッチに塗布し、24時間前に刈毛した動物の胸部に適用し、半閉塞貼付した。4時間後パッチを除去し、Lutrol®E400(ポリエチレングリコール)または Lutrol®E400 と水(1:1)を用いて残余の検体を除去した。

試験項目： パッチ除去直後および1、24、48ならびに72時間後に皮膚反応を観察した。

皮膚反応評点は以下の基準を用いた。

紅斑および痂皮形成

- 0： 紅斑なし
- 1： 非常に軽度の紅斑（かろうじて識別できる）
- 2： はっきりした紅斑
- 3： 中等度から重度の紅斑
- 4： 重度の紅斑（ビート赤色）から紅斑の評点化を妨げる痂皮形成

浮腫形成

- 0： 浮腫なし
- 1： 非常に軽度の浮腫（かろうじて識別できる）
- 2： 軽度の浮腫（はっきりした膨隆により範囲の境界が明瞭である）
- 3： 中等度の浮腫（膨隆約1mm）
- 4： 重度の浮腫（膨隆1mm以上および適用範囲を超えている）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結 果： 結果を以下の表に示す。

動物 番号	項目	最高 評点	パッチ除去後時間 (h)					24-72h の平均
			0h	1h	24h	48h	72h	
01	紅斑・痂皮	4	2	2	2	1	0	1.0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
02	紅斑・痂皮	4	2	2	1	1	0	0.7
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
03	紅斑・痂皮	4	2	2	1	1	0	0.7
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	2.0	2.0	1.33	1.0	0	0.8
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合 計		8	2.0	2.0	1.33	0	0	

パッチ除去直後より全例に紅斑が見られたが、72 時間後には回復した。24-72 時間の平均スコアは 0.8 であった。

以上、Commission Directive 67/548/EEC および OECD Harmonized Integrated Classification System に基づくと、本試験条件下で検体はウサギの皮膚に対し刺激性を有しないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-5. アメトクトラジン水和剤のウサギにおける眼刺激性試験 (資料 F1-5)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン水和剤 ( )  
有効成分 アメトクトラジン  
その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： ニュージーランド白色ウサギ 雄2匹、雌1匹  
試験開始時 3-4ヶ月齢、試験開始時体重 雄2.55-2.77kg、雌2.96kg

試験期間： 72時間観察

方法： 無希釈の検体 0.1mL を動物の右眼に適用し、24時間後に 3-6 mL の温水で洗浄した。

試験項目： 適用 1、24、48 および 72 時間後に眼の刺激性反応を観察した。無処置の左眼を対照眼とした。

眼刺激性評点は以下の基準を用いた。

角膜混濁 (op)

- 0： 混濁なし。
- 1： 散在性～び漫性の不透明化。正常な光沢がやや鈍くなることは含まない (虹彩を明視できる程度)。
- 2： 半透明な部位が容易に識別でき、虹彩の細部がわずかにぼやける。
- 3： 真珠様の領域、虹彩の細部が観察できないが、瞳孔の大きさはかろうじて識別できる。
- 4： 角膜不透明、虹彩は透視できない。

角膜混濁の範囲 (ar)

- 1：  $> 0 \leq 1/4$
- 2：  $> 1/4 \leq 1/2$
- 3：  $> 1/2 \leq 3/4$
- 4：  $> 3/4$

虹彩

- 0： 正常。
- 1： はっきりした皺壁形成、充血、腫脹、角膜周囲の充血 (いずれかあるいは総て、もしくは組み合わせ) が見られるが、対光反射は認められる。
- 2： 対光反射消失、出血、広範囲の破壊 (これらのいずれかまたは全て)。

結膜発赤 (red)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

- 0: 血管正常。
- 1: 血管のはっきりした充血
- 2: び漫性の深紅色、個々の血管は容易に識別できない。
- 3: び漫性の牛肉様発赤

結膜浮腫 (sw)

- 0: 浮腫なし。
- 1: 正常を超える腫脹(瞬膜も含む)。
- 2: 眼瞼の部分的反外を伴う腫脹。
- 3: 1/2 の眼瞼閉鎖を伴う腫脹。
- 4: 1/2 以上の眼瞼閉鎖を伴う腫脹。

結膜の分泌物 (di)

- 0: 分泌物なし。
- 1: 正常を超える分泌物(正常な動物の内眦に見られる少量は含まない)。
- 2: 眼瞼及び眼瞼に接する被毛を湿潤。
- 3: 眼瞼及び眼の周囲を相当範囲湿潤。

結果: 以下に結果を示す。

動物番号	項目		最高 評点	眼刺激性評点				24-72h の平均
				1h	24h	48h	72h	
01	角膜	程度	4	0	0	0	0	0.0
		面積	4	-	-	-	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	0	0	0	0.0
		浮腫	4	0	0	0	0	0.0
		分泌物	3	1	0	0	0	0.0
02	角膜	程度	4	0	0	0	0	0.0
		面積	4	-	-	-	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	0	0	0	0.0
		浮腫	4	0	0	0	0	0.0
		分泌物	3	1	0	0	0	0.0
03	角膜	程度	4	0	0	0	0	0.0
		面積	4	-	-	-	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	0	0	0	0.0
		浮腫	4	0	0	0	0	0.0
		分泌物	3	1	0	0	0	0.0
3匹の平均値*			110	6.0	0.0	0.0	0.0	

\*: Draize による評点

評点合計 = 角膜評点 + 虹彩評点 + 結膜評点

角膜評点: (混濁) × (混濁領域) × 5、虹彩評点: 虹彩 × 5、結膜評点: {(発赤) + (浮腫) + (分泌物)} × 2

-: 範囲なし

また、適用 1 時間後には 1 例に限局的領域の強膜血管の充血がみられた。全ての所見は 24 時間後には消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

適用 1 時間後に全例に結膜の発赤（スコア 2）および分泌物（スコア 1）が認められたが、24 時間後には全ての所見は回復した。従って 24-72 時間の平均スコアは 0.0 であった。

以上、Commission Directive 67/548/EEC および OECD Harmonized Integrated Classification System に基づくと、本試験条件下で検体はウサギの眼に対し刺激性を有しないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1-6. アメトクトラジン水和剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 F1-6)

試験実施機関:

報告書作成年: 2009 年 [GLP 対応]

検体の純度: アメトクトラジン水和剤 ( )  
有効成分 アメトクトラジン  
その他成分 水、界面活性剤等

試験動物: Dunkin Hartley (CrI:HA) 系モルモット  
試験群: 雌 20 匹、陰性対照群: 雌 10 匹  
試験開始時 5-8 週齢、試験開始時体重 329-386g

試験期間: 48 時間観察

方法: Buehler 法

感作: 無希釈の検体 0.5mL を 2 x 2 cm の 6 層のガーゼパッチに塗布し、毛刈した動物の腹側部に適用して固定し、6 時間閉塞貼付した。  
これを週 1 回計 3 回行い、原液を用いたことから陰性対照は無処置とした。

惹起: 経皮感作の 2 週間後に刈毛した動物の感作と反対側の腹側部に無希釈の検体 0.5mL を塗布したガーゼパッチを適用して固定し、6 時間閉塞貼付した。パッチ試験群および対照群ともに検体を適用した。

濃度設定根拠: 予備試験において、3 匹のモルモットの毛刈した右および左腹側部にそれぞれ 100%原液および 50%水溶液を 0.5mL 塗布したガーゼパッチを 6 時間閉塞貼付した。パッチ除去 1、24、48 時間後に皮膚反応を調べたが、1 時間後のみに 100%原液で中等度の紅斑(平均評点 2)が 50%濃度で軽度の紅斑(平均評点 1)が確認されたのみであった。従って、本試験には感作および惹起ともに 100%原液を用いた。

観察項目: 感作終了の 24 時間後、惹起終了の 24 および 48 時間後に適用部位の皮膚反応を観察した。皮膚反応は以下の基準で観察した。

0: 変化なし

1: 不連続、不均一の紅斑

2: 中等度及び融合した紅斑

3: 強度の紅斑および腫脹

結果の判定: 本試験において試験群の動物の 15%以上が陽性反応を示した場合、検体には皮膚感作性ありと判断する。(OECD Harmonized Integrated Classification Systemに基づく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結 果：

感作でみられた皮膚反応評点を以下に示す。

群	動物数	感作 24 時間後の皮膚反応評点											
		第 1 回				第 2 回				第 3 回			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
試験群	20	20	0	0	0	19	1	0	0	19	1	0	0
陰性対照群*	10												

\*：陰性対照群は無処置の為、観察しなかった。

惹起後の皮膚反応評点を以下に示す。

群	感作	惹起	動物数	皮膚反応動物数								陽性率 (%)		
				24 時間後				陽性動物数	48 時間後					
				皮膚評点					皮膚評点					
0	1	2	3	0	1	2	3	数	0	1	2	3	数	
試験群	検体 100%	検体 100%	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
陰性対照群	無処置	検体 100%	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0

惹起後に陽性反応を示した動物はいなかった。従って、検体は本試験条件下において陰性であると判断する。

本試験において陽性を設けなかったが、本試験の直近に実施した陽性対照物質の試験は以下のとおりであり、試験系は担保されたと判断した。

プロジェクト番号	実施日		惹 起 (陽性反応動物数)					
			陽性対照物質			溶媒 (Lutrol 400)		
			24 h	48 h	合計	24 h	48 h	合計
32H0288/982194	2009 年 4-5 月	陰性対照群	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
		陽性対照群	12/20	9/20	12/20	0/20	0/20	0/20

陽性対照物質： Alpha-Hexylcinnamaldehyde 原体 (85%) 感作 25%、惹起 15%  
 溶媒： Lutrol E 400

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

## 2-1. アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 F2-1)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤（ ）

有効成分 アメトクトラジン

ジメトモルフ

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： Wistar 系ラット [HanRcc:WIST (SPF)] 1 群雌 6 匹

試験開始時約 8-12 週齢、試験開始時体重 175-194g

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 毒性等級法 (OECD423、2001 年 12 月 17 日)

方法： 検体は無希釈または再蒸留水で希釈してラットに 500 および 2000mg/kg となるように単回強制経口投与した。投与容量は 1.8-2.0mL/kg とした。投与前動物は少なくとも 16 時間絶食させた。

試験項目： 動物の死亡および毒性徴候を 14 日間観察し、体重は投与開始直前およびその後は週 1 回測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物は屠殺し、肉眼的病理検査に供した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	500、2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	500 < LD <sub>50</sub> < 2000
死亡開始および終了時間	投与 2 日目
症状発現および消失時間	発現 投与 1 時間後 消失 投与 3 日目
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	500
症状の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	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 BASF ジャパン株式会社にある。

毒性徴候として、一般状態の悪化、呼吸困難、無関心、腹臥位及び側臥位、よろめき歩行、運動失調、筋弛緩、痛覚反射の欠如、立毛、脱水、流涎、流涙、赤色鼻汁および糞の減少が認められた。

2000mg/kg 投与群において、投与 2 日目に 4 匹に死亡が認められた。これに対し、500mg/kg 投与群では、試験期間を通し、死亡動物は認められなかった。

肉眼的病理検査において、死亡動物 2 例に胃の黒色化びらん/潰瘍および肝臓の褐色変色がみられた。その他の 2 例の死亡動物および生存動物には異常はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

## 2-2. アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 F2-2)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤（ ）

有効成分 アメトクトラジン

ジメトモルフ

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： Wistar 系ラット [HanRcc:WIST (SPF)] 雌雄各 5 匹

試験開始時 雄：約 8-10 週齢、雌：約 12-14 週齢、

試験開始時体重 雄：249-260g、雌：218-230g

試験期間： 14 日間観察

方法： 無希釈の検体を投与 24 時間前に刈毛した動物の背部に 5000mg/kg 用量  
(4.5mL/kg；比重 1.112) となるよう単回経皮投与し、投与部位は 24 時間半閉塞  
に保持した。24 時間後に投与部位を微温湯で清拭した。

試験項目： 動物の死亡、毒性徴候および投与部位の皮膚反応を毎日観察し、体重は投与開始  
直前およびその後は 1 週間に 1 度測定した。試験終了時の全生存動物は屠殺し、  
肉眼的病理検査に供した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 > 5000
死亡開始および終了時間	死亡なし
症状発現および消失時間	症状なし
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000
症状の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

毒性徴候および適用部位の皮膚反応は認められなかった。体重は順調に増加した。  
肉眼的病理検査において異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

### 2-3. アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 F2-3)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤 ( )  
有効成分 アメトクトラジン  
ジメトモルフ  
その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： Wistar 系ラット [HanRec:WIST (SPF)] 雌雄各 5 匹  
試験開始時 雄：約 8-9 週齢、雌：約 11-12 週齢、  
試験開始時体重 雄：231.1-255.7g、雌：195.9-210.7g

試験期間： 14 日間観察

方 法： 検体は再蒸留水と等量に混合し、攪拌した状態で適量をポンプで 2 コンポーネント式噴霧器に連続供給して発生させた。圧縮空気を用いて、暴露システム内の噴霧器でエアロゾルを発生させて、動物に 4 時間鼻部曝露させた。対照群は設けなかった。暴露濃度および粒子径分布の測定に、暴露期間中 1 時間に 1 回暴露空気をカスケードインパクターに捕集した。暴露濃度は HPLC を用い、有効成分濃度の測定から求めた。

試験条件：

設定濃度 (mg/L)	48.5
実測濃度 (mg/L)*	5.1
粒子径分布 (%)	
粒子径 ( $\mu\text{m}$ )**	(%)
<1.2	9.6
1.2~2.8	42.5
2.8~5.5	36.7
5.5~8.5	7.6
8.5~18.2	1.1
18.2~29.5	0.7
>29.5	2.0
空気力学的質量中位径 ( $\mu\text{m}$ )**	2.7
呼吸可能な粒子径 (<5.5) の割合 (%)**	88.8
チャンバー容積 (L)	約 55
チャンバー内通気量 ( $\text{m}^3/\text{時間}$ )	1.5
暴露条件	ミスト、4 時間、鼻部暴露

\*：4 回の平均値、\*\*：2 回の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

試験項目： 動物の死亡および毒性徴候を毎日観察した。体重は投与開始前、開始後は週 1 回観察した。試験終了時の全生存動物は屠殺し、肉眼的病理検査に供した。

結 果：

投与方法	吸入、ミスト
投与量 (mg/L)	5.1
LC <sub>50</sub> 値 (mg/L)	雌雄 > 5.1
死亡開始および終了時間	死亡なし
症状発現および消失時間	発現：暴露終了 4 時間後 消失：第 1 日目
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	5.1

毒性兆候として、軽度の呼吸数の増加が認められた。体重増加は順調であった。肉眼的病理検査では全例に肺全葉のびまん性暗赤色変色異常が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

#### 2-4. アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 F2-4)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤（ ）  
有効成分 アメトクトラジン  
ジメトモルフ  
その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： ニューゼーランド白色ウサギ 雄 3 匹  
試験開始時 約 7 ヶ月齢、試験開始時体重 3.50-3.70kg

試験期間： 72 時間観察

方 法： 無希釈の検体 (pH 約 8) 0.5mL を 2.5x2.5cm のパッチに塗布し、24 時間前に刈毛した動物の胴部に適用して半閉塞貼付した。4 時間後パッチを除去し、Lutrol®E400 (ポリエチレングリコール) または Lutrol®E400 と水 (1:1) を用いて残余の検体を除去した。

試験項目： パッチ除去直後および 1、24、48 ならびに 72 時間後に皮膚反応を観察した。

皮膚反応評点は以下の基準を用いた。

紅斑および痂皮形成

- 0： 紅斑なし
- 1： 非常に軽度の紅斑（かろうじて識別できる）
- 2： はっきりした紅斑
- 3： 中等度から重度の紅斑
- 4： 重度の紅斑（ビート赤色）から紅斑の評点化を妨げる痂皮形成

浮腫形成

- 0： 浮腫なし
- 1： 非常に軽度の浮腫（かろうじて識別できる）
- 2： 軽度の浮腫（はっきりした膨隆により範囲の境界が明瞭である）
- 3： 中等度の浮腫（膨隆約 1mm）
- 4： 重度の浮腫（膨隆 1mm 以上および適用範囲を超えている）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結 果： 結果を以下の表に示す。

動物 番号	項目	最高 評点	パッチ除去後時間(h)					24-72h の平均
			0h	1h	24h	48h	72h	
01	紅斑・痂皮	4	2	2	1	0	0	0.3
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
02	紅斑・痂皮	4	2	2	1	0	0	0.3
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
03	紅斑・痂皮	4	2	2	1	0	0	0.3
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	2	2	1	0	0	0.3
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合 計		8	2	2	1	0	0	

全動物にパッチ除去直後から紅斑がみられたが、48 時間後には回復した。24-72 時間における平均スコアは 0.3 であった。

以上、Commission Directive 67/548/EEC および OECD Harmonized Integrated Classification System に基づくと、本試験条件下で検体はウサギの皮膚に対し刺激性を有しないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2-5. アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤のウサギにおける眼刺激性試験

(資料 F2-5)

試験実施機関：

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤（ ）

有効成分 アメトクトラジン

ジメトモルフ

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： ニュージーランド白色ウサギ 雄1匹、雌2匹

試験開始時 3-4ヶ月齢、試験開始時体重 雄2.76kg、雌2.37-2.81kg

試験期間： 72時間観察

方法： 無希釈の検体 0.1mL を動物の右眼に適用し、24時間後に 3-6 mL の温水で洗浄した。

試験項目： 適用 1、24、48 および 72 時間後に眼の刺激性反応を観察した。無処置の左眼を対照眼とした。

眼刺激性評点は以下の基準を用いた。

角膜混濁 (op)

0： 混濁なし。

1： 散在性～び漫性の不透明化。正常な光沢がやや鈍くなることは含まない（虹彩を明視できる程度）。

2： 半透明な部位が容易に識別でき、虹彩の細部がわずかにぼやける。

3： 真珠様の領域、虹彩の細部が観察できないが、瞳孔の大きさはかろうじて識別できる。

4： 角膜不透明、虹彩は透視できない。

角膜混濁の範囲 (ar)

1：  $> 0 \leq 1/4$

2：  $> 1/4 \leq 1/2$

3：  $> 1/2 \leq 3/4$

4：  $> 3/4$

虹彩

0： 正常。

1： はっきりした皺壁形成、充血、腫脹、角膜周囲の充血（いずれかあるいは総て、もしくは組み合わせ）が見られるが、対光反射は認められる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2: 対光反射消失、出血、広範囲の破壊(これらのいずれかまたは全て)。

結膜発赤 (red)

- 0: 血管正常。
- 1: 血管のはっきりした充血
- 2: び漫性の深紅色、個々の血管は容易に識別できない。
- 3: び漫性の牛肉様発赤

結膜浮腫 (sw)

- 0: 浮腫なし。
- 1: 正常を超える腫脹(瞬膜も含む)。
- 2: 眼瞼の部分的反外を伴う腫脹。
- 3: 1/2 の眼瞼閉鎖を伴う腫脹。
- 4: 1/2 以上の眼瞼閉鎖を伴う腫脹。

結膜の分泌物 (di)

- 0: 分泌物なし。
- 1: 正常を超える分泌物(正常な動物の内眥に見られる少量は含まない)。
- 2: 眼瞼及び眼瞼に接する被毛を湿潤。
- 3: 眼瞼及び眼の周囲を相当範囲湿潤。

結果: 以下に結果を示す。

動物 番号	項目		最高 評点	眼刺激性評点				24-72h の平均
				1h	24h	48h	72h	
01	角膜	程 度	4	0	0	0	0	0.0
		面 積	4	-	-	-	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発 赤	3	2	0	0	0	0.0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0.0
分泌物		3	1	0	0	0	0.0	
02	角膜	程 度	4	0	0	0	0	0.0
		面 積	4	-	-	-	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発 赤	3	1	0	0	0	0.0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0.0
分泌物		3	1	0	0	0	0.0	
03	角膜	程 度	4	0	0	0	0	0.0
		面 積	4	-	-	-	-	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発 赤	3	2	0	0	0	0.0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0.0
分泌物		3	1	0	0	0	0.0	
3 匹の平均値 *			110	5.3	0.0	0.0	0.0	

\*: Draize による評点

評点合計 = 角膜評点 + 虹彩評点 + 結膜評点

角膜評点: (混濁) x (混濁領域) x 5、虹彩評点: 虹彩 x 5、結膜評点: {(発赤) + (浮腫) + (分泌物)} x 2

-: 範囲なし



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

適用 1 時間後に全例に結膜の紅斑（スコア 1-2）および分泌物（スコア 1）が認められたが、24 時間後には全ての所見は回復した。従って 24-72 時間の平均スコアは 0.0 であった。

以上、Commission Directive 67/548/EEC および OECD Harmonized Integrated Classification System に基づくと、本試験条件下で検体はウサギの眼に対し刺激性を有しないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2-6. アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 F2-6)

試験実施機関：

報告書作成年：2007 年 [GLP 対応]

検体の純度： アメトクトラジン・ジメトモルフ水和剤（ ）

有効成分 アメトクトラジン

ジメトモルフ

その他成分 水、界面活性剤等

試験動物： Dunkin Hartley (CrI:HA) 系モルモット

試験群： 雌 20 匹、陰性対照群； 雌 10 匹

試験開始時 5-8 週齢、試験開始時体重 358-403g

試験期間： 48 時間観察

方法： Buehler 変法

感作： 無希釈の検体 0.5mL を 2 x 2 cm の 6 層のガーゼパッチに塗布し、毛刈した動物の腹側部に適用して固定し、6 時間閉塞貼付した。

これを週 3 回計 9 回行い、原液を用いたことから陰性対照は無処置とした。

惹起： 感作の 13 日後に刈毛した動物の感作と反対側の腹側部に無希釈の検体 0.5mL を塗布したガーゼパッチを適用して固定し、6 時間閉塞貼付した。試験群および対照群ともに検体を適用した。

濃度設定根拠： 予備試験において、3 匹のモルモットの毛刈した右および左腹側部にそれぞれ 100%原液および 50%水溶液を 0.5mL 塗布したガーゼパッチを 6 時間閉塞貼付した。これを週 1 回、計 4 回行った。パッチ開始 6 および 24 時間後に皮膚反応を調べたが、6 時間後(パッチ除去直後)のみに 100%原液および 50%希釈液で軽度の紅斑(平均評点 1)が確認されたのみで 24 時間後には刺激はみられなかった。従って、本試験には感作および惹起ともに 100%原液を用いた。

観察項目： 感作開始 24 時間後、惹起終了の 24 および 48 時間後に適用部位の皮膚反応を観察した。 皮膚反応は以下の基準で観察した。

0；変化なし

1；不連続、不均一の紅斑

2；中等度及び融合した紅斑

3；強度の紅斑および腫脹

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結果の判定： 本試験において試験群の動物の 15%以上が陽性反応を示した場合、検体には皮膚感作性ありと判断する。(OECD Harmonized Integrated Classification Systemに基づく)

結 果：

感作でみられた皮膚反応評点を以下に示す。

感作	試験群			
	評点 0	評点 1	評点 2	評点 3
第 1 回	20	0	0	0
第 2 回	19	1	0	0
第 3 回	20	0	0	0
第 4 回	20	0	0	0
第 5 回	19	1	0	0
第 6 回*	19	0	0	0
第 7 回	20	0	0	0
第 8 回	20	0	0	0
第 9 回	18	2	0	0

\*：1匹の動物のバッチ除去が6時間後に行われず、24時間後の観察時間で除去したため観察しなかった。

惹起後の皮膚反応評点を以下に示す。

群	感作	惹起	動物数	皮膚反応動物数								陽性率 (%)				
				24 時間後				陽性動物数	48 時間後							
				皮膚評点					皮膚評点							
				0	1	2	3		0	1	2		3			
試験群	検体 100%	検体 100%	20	20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
陰性対照群	無処置	検体 100%	10	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0

惹起後に陽性反応を示した動物はいなかった。従って、検体は本試験条件下において陰性であると判断する。

本試験において陽性を設けなかったが、本試験の直近に実施した陽性対照物質の試験は以下のとおりであり、試験系は担保されたと判断した。

プロジェクト番号	実施日		惹 起 (陽性反応動物数)					
			陽性対照物質			溶媒 (Lutrol E 400)		
			24 h	48 h	合計	24 h	48 h	合計
33H0288/982046	2005 年 1-2 月	陰性対照群	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
		陽性対照群	19/20	16/20	19/20	0/20	0/20	0/20

陽性対照物質：Alpha-Hexylcinnamaldehyde 原体 (85%) 感作 25%、惹起 15%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

〈代謝分解試験一覧表〉

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-A1 (GLP)	動物代謝試験 体内動態	ラット 1群♂4 ♀4 組織内分布 1群♂12 ♀12	ピリジジンおよびトリアゾール環 <sup>14</sup> C-標識検体 血漿中/血中動態： 単回 20, 100, 500, 1000mg/kg 尿・糞排泄： 単回 50, 500mg/kg 反復 500(14日間非標識体+標識体1回) 組織内分布： 単回 50, 500mg/kg 胆汁排泄： 単回 50, 500mg/kg	血漿/血中では Cmax は雌高用量の2時間後を除き投与1hr後に認められた。血中/血漿比が経時的に増加し、血球との結合が示唆された。 低高用量および反復投与での排泄は主に糞中排泄され、糞・尿とも48時間以内にほとんどが排泄された。168hrでは組織中にはほとんど残留せず、投与量の1%未満であった。 組織分布では主に胃(内容物)、腸(内容物)に分布残留し、腎、肝に多く検出された。 胆汁排泄として、低高用量それぞれ投与量の約12-22%および約3-11%が検出された。 パイオパイピリイは低用量の雄、雌でそれぞれ約36%および42%、高用量の雄、雌でそれぞれ23%および16%であった。	( /2008)	代6
代-A2 (GLP)	動物代謝試験 代謝物同定	ラット 1群♂4 ♀4	ピリジジンおよびトリアゾール環 <sup>14</sup> C-標識検体 単回 50, 500mg/kg 反復 500(14日間非標識体+標識体1回)	尿：親化合物は検出されず、  が同定された。 糞：未吸収の親化合物が低、高用量でそれぞれ最大約69%および92%検出され、その他  が同定された。 胆汁： 肝臓および腎臓に微量の親化合物および  が検出された。親化合物はオクチル側鎖の末端の酸化により代謝され、  が生成し、続いて  に相当するカルボキシル側鎖の分解(C2-またはC1ユニットの消失)により  が生成する。その他酸化代謝物と  および酸化代謝物と  その異性体)が生成した。	( /2008)	代17
代-P1 (GLP)	レタス代謝試験	レタス <sup>14</sup> C-標識体	処理量：移植後21、31および39日に、水和剤として24g a. i./10a/1回をスプレーで作物に処理。	3回目処理の7日後の総残留放射能(TRR)は8.486mg/kgであった。その99%が親化合物であり、その他代謝物は検出されなかった。	( /2008)	代27
代-P2 (GLP)	トマト代謝試験	トマト <sup>14</sup> C-標識体	処理量：移植後47、54および61日に、水和剤として30g a. i./10a/1回をスプレーで作物に処理。	3回目処理の1日後のTRRは茎葉部及び果実部でそれぞれ9.159mg/kgおよび0.360mg/kgであった。茎葉部および果実でそれぞれTRRの99%が親化合物であり、その他代謝物は検出されなかった。	( /2008)	代30
代-P3 (GLP)	ばれいしょ代謝試験	ばれいしょ <sup>14</sup> C-標識体	処理量：収穫前35、21および7日に、水和剤として48g a. i./10a/1回をスプレーで作物に処理。	3回目処理の7日後のTRRは、茎葉部および塊茎部でそれぞれ44.741mg/kgおよび0.041mg/Lであった。茎葉部では、その85%が親化合物であり、代謝物としては、  以下検出された。その他検出された未同定化合物は、全てTRRの1.1%以下であった。塊茎部では、TRRの3.6%が親化合物であった。代謝物として、  が検出され、その生成量はそれぞれTRRの40%および27%に達した。その他検出された未同定化合物は全てTRRの8.9%以下であった。	( /2008)	代33

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

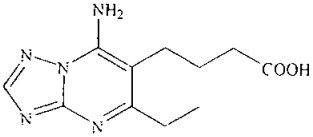
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-S1 (GLP)	好氣的 土壤代謝	Bruch west 土 壤(砂 壤土)  <sup>14</sup> C-標 識体	処理量 : 1.9 mg/kg 乾土 (7.2 kg ai/ha 相当 量) 温度 : 20°C 非滅菌 期間 : 最大 360 日	物質収支は、試験期間を通じて総処理放射能 (TAR) の 88.2 % 以上であった。親化合物は急速に分解し、試験開始時に TAR の 96 %、119 日後に TAR の 1.8 %、360 日後には TAR の 0.8 % まで減少、DT <sub>50</sub> は 1.3 日と算出された。 主代謝物として がそれぞれ最大で TAR の % (2 日後)、 % (3 日後)、 % (10 日後) および % (119 日後) 生成し、その他の未同定代謝物はそれぞれ TAR の 5 % 以下であった。二酸化炭素の生成は経時的に増加し、360 日後に TAR の 42 % まで到達した。非抽出性放射能は 62 日に TAR の 28 % に到達した後一定に維持され、そのほとんどがフルボ酸およびヒューミンであった。	( /2008)	代 40
代-S2 (GLP)	好氣的 土壤減衰	LUFA 5M (砂壤土) Li10 (壤質砂土) LUFA 2.2 (壤質砂土)  <sup>14</sup> C-標 識体	処理量 : 1.1 mg/kg 乾土 (0.4 kg ai/ha 相当 量) 温度 : 20°C (Li10 は 20°C および 10°C) 非滅菌 期間 : 最大 120 日	物質収支は試験期間を通じて TAR の 96 % 以上であった。 20°C 下において親化合物は急速に分解し、120 日後には TAR の 0.7~3.4 % まで減少、各土壌における DT <sub>50</sub> は LUFA 5M、Li10 および LUFA 2.2 でそれぞれ 1.5、1.8 および 3.2 日と算出された。 主代謝物として が最大で TAR の % 生成した。微量代謝物として が TAR の 5.0 % 以下検出された。その他未同定代謝物はそれぞれ TAR の 3.0 % 以下であった。二酸化炭素の生成は 120 日後に TAR の 4.6~6.9 %、非抽出性放射能は経時的に増加し、TAR の 30~44 % まで達した。  10°C 下 Li10 土壌においても親化合物は急速に分解し、120 日後には TAR の 4.2 % まで減少、DT <sub>50</sub> は 6.3 日と算出された。代謝物パターンは量、質ともに 20°C 下と同様であった。	( /2008)	代 49
代-W1 (GLP)	加水分解 運命	pH4、5、7、9 の 緩衝液  <sup>14</sup> C-標 識体	試験濃度 : 0.08 ppm 温度 : 49.9 ± 1°C 期間 : 最大 7 日	本試験条件下において親化合物は安定に存在し、試験期間を通じて TAR の 92 % 以上であった。個々の分解物は試験期間を通じて TAR の 1% 以下であった。  加水分解は環境中での分解要因ではないと考えられる。	( /2006)	代 60
代-W2 (GLP)	水中光分解 運命	緩衝液 pH7  <sup>14</sup> C-標 識体	試験濃度 : 2.6 ppm 光源 : 日ノ光 <290nm をカット 測定波長 : 315-400 nm 光強度 : 3 mW/cm <sup>2</sup> 温度 : 22°C 期間 : 最大 15 日	親化合物は穏やかに減少し、本試験条件下における DT <sub>50</sub> は 38.4 日、北緯 35 度で正午の春季太陽光下では 147.8 日と算出された。 15 日後に、3 種の分解物がそれぞれ TAR の 9 %、6 % および 12% 検出されたが同定には至らなかった。揮発性物質の生成量は、試験期間を通じて TAR の 5 % 以下であった。	( /2008)	代 63
代-W3 (GLP)	水中光分解 運命	自然水 pH8.18  <sup>14</sup> C-標 識体	試験濃度 : 2.6 ppm 光源 : 日ノ光 <290 nm をカット 測定波長 : 315-400 nm 光強度 : 3 mW/cm <sup>2</sup> 温度 : 22°C 期間 : 最大 15 日	親化合物は穏やかに減少し、本試験条件下における DT <sub>50</sub> は 14.1 日、北緯 35 度で正午の春季太陽光下では 54 日と算出された。 15 日後に、数種の未同定分解物が検出されたが、各々の生成量は試験期間を通じて TAR の 10 % 未満であった。揮発性物質の生成量は、試験期間を通じて TAR の 5% 以下であった。	( /2009)	代 66

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代 - S3 (GLP)	土壌吸着性	ヨーロッパ 土壌 5種、 アメリカ 土壌 2種、 日本 土壌 1種  14C- 標識体	試験濃度：0.01、 0.04、0.07、0.1 μg/L 土壌/水：1/50 温度：22°C 時間：16時間	各試験土壌におけるフロインドリッヒ吸着係数 $K_f$ およ びフロインドリッヒ有機炭素吸着係数 $K_f^{ads}_{oc}$ は下記の 通りであった。(先頭の値が $K_f^{ads}$ ) Shifferdtadt(壤質砂土)：59.6、6620 LUFA2.2(壤質砂土)：61.2、3560 1680(壤質砂土)：38.0、4320 LUFA 3A(壤土)：72.8、2250 Studernheim(砂壤土)：23.9、1580 New Jersey(壤土)：44.7、4060 California(砂壤土)：14.2、4060 帯広(シルト質壤土)：80.0、4850	( /2008)	代 69
代-E1 (GLP)	生物濃縮性	ブルー ギル  14C- 標識体	試験濃度：0.1、1.0 μg/L 暴露条件：流水式 取込期間：28日 排泄期間：16日	試験水中の総放射能は試験期間中一定に維持され、 魚体中の TRR は取込期間 7~24 日に定常状態に達し た。魚体中からの放射能の排泄は早く、排泄期間 2 日以内に定常状態の 10%以下まで減少した。 試験水中の親化合物は、取込期間 14 日において低濃 度区で総放射能の 44%、それ以外の試料ではそれぞ れ総放射能の 10%以下であった。主代謝物は であり、最高で総放射能の 82%を占めた。その他 、および がそれぞれ総放射 能の 10%前後検出された。 全魚体中の親化合物は、低濃度区では取込期間 14 日 において既に検出限界以下であり、高濃度区では 14 および 28 日において TRR の 1.3%以下であった。 代謝物は、高濃度区の 28 日において、 が TRR の 40%、 および がそれぞれ TRR の 17%、 および がそれぞれ TRR の 10%以下検出された。 定常状態における総放射能に基づく $BCF_k$ は、低濃度 区および高濃度区においてそれぞれ 197 および 202、 総放射能に基づく $BCF_{ss}$ は、それぞれ 205 および 219 であった。親化合物に基づく $BCF_{ss}$ は、高濃度区を取 込期間 14 日および 28 日において平均 1.4 であっ た。	( /2008)	代 74

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

代謝物一覧表

代謝物 番号/名称	由来	化学名	構造式
	動物 植物 土壌	4-(7-amino-5-ethyl[1,2,4] triazolo[1,5-a]pyrimidin-6- yl)butanoic 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 BASF ジャパン株式会社にある。

代謝物 番号	由来	化学名	構造式



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

## IX. 動植物および土壌等における代謝分解

### 1. 動物体内運命に関する試験

1-1. ラットを用いた  $^{14}\text{C}$ -アメトクトラジンの体内動態試験 (資料 代-A1)

試験実施機関:

報告書作成年: 2008 年 [GLP 対応]

標識化合物:

1)  $^{14}\text{C}$ -標識検体

\* 標識位置

バッチ番号	846-1017	846-2007	846-2102	846-2201
用いた実験	1~4	5~7, 10~11	10~11	8~9
放射化学的純度 (%)				
化学的純度 (%)				
比放射能 (MBq/mg)				

2)  $^{13}\text{C}$ -標識検体

\* 標識位置

バッチ番号	847-1011
用いた実験	6, 10~11
純度 (%)	

3) 非標識検体

バッチ番号	COD-000567	COD-000682
用いた実験	1~4	5~11
純度 (%)		

供試動物: Wistar 系ラット [CrI:WI (Han)] 試験開始時 8 週齢  
1 群雌雄各 4 匹 (実験 1~7), 1 群雌雄各 12 匹 (実験 8, 9)

投与方法:  $^{14}\text{C}$  標識検体、 $^{13}\text{C}$  標識検体および非標識化合物を約 1% の Cremophor 存在下で  
0.5% カルボキシメチルセルロース水溶液と混合し、目的の濃度および比活性の投

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

与液を調製した。下記に示す用量を動物に強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg であった。

用量設定根拠： ラット慢性毒性試験（資料 13）の結果から、毒性影響が考えられる用量を高用量、毒性影響がない用量を低用量として設定した。個別の試験の構成を以下に示した。

試験群の構成： 以下に試験の設計を示す。

実験番号	試験項目	供試動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	分析対象
1	血液中 ／血漿中濃度	♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	20	総放射能
2		♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	100	総放射能
3		♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	500	総放射能
4		♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	1000	総放射能
5	物質収支 ／排泄	♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	50	総放射能
6		♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	500	総放射能
7		♂ : 4 ♀ : 4	経口 1日1回14日間の非放射能標識物質の投与および15日目の放射能標識物質の単回投与	500	総放射能
8	組織内分布	♂ : 12 ♀ : 12	単回経口	500	組織：総放射能 屠殺時期： ♂1, 4, 16, 22hr ♀1, 2, 8, 20hr
9		♂ : 12 ♀ : 12	単回経口	50	組織：総放射能 屠殺時期： ♂♀ : 1, 2.5, 8, 20hr
10	胆汁中排泄	♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	500	組織：総放射能
11		♂ : 4 ♀ : 4	単回経口	50	組織：総放射能

試験方法および結果：

1) 血液中／血漿中濃度（実験1～4）

投与後に動物をスチール製ワイヤーメッシュケージに收容して、血液試料（約 100～200μL）を後眼窩静脈叢から採取するか、又は投与後の以下の屠殺時期（投与後 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 および 96 時間）に放血により採取した。全血および血漿試料の総放射能を測定した。

血中／血漿中濃度および比の推移を表 1 に、薬物動態パラメーターを表 2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 1. 単回経口投与後の血中、血漿中放射活性の推移および比

雄												
群	実験 1			実験 2			実験 3			実験 4		
	20 mg/kg			100 mg/kg			500 mg/kg			1,000 mg/kg		
時間	血漿	血中	比*	血漿	血中	比*	血漿	血中	比*	血漿	血中	比*
1	0.83	0.24	0.289	2.43	0.95	0.391	6.45	3.32	0.515	12.53	6.45	0.515
2	0.57	0.19	0.333	1.50	0.70	0.467	4.20	2.71	0.645	8.08	5.43	0.672
4	0.31	0.15	0.484	0.99	0.58	0.586	3.04	2.62	0.862	5.34	4.56	0.845
8	0.20	0.11	0.550	0.70	0.47	0.671	2.01	2.11	1.050	3.74	3.91	1.045
24	0.05	0.08	1.600	0.16	0.30	1.875	0.60	1.65	2.750	1.33	2.91	2.188
48	0.02	0.08	4.000	0.08	0.28	3.500	0.28	1.07	3.821	0.64	2.53	3.953
72	0.01	0.05	5.000	0.06	0.25	4.167	0.22	1.00	4.545	0.36	2.28	6.333
96	0.01	0.04	4.000	0.03	0.21	7.000	0.11	0.85	7.727	0.24	1.51	6.292

雌												
群	実験 1			実験 2			実験 3			実験 4		
	20 mg/kg			100 mg/kg			500 mg/kg			1,000 mg/kg		
時間	血漿	血中	比*	血漿	血中	比*	血漿	血中	比*	血漿	血中	比*
1	0.73	0.22	0.301	2.86	0.94	0.329	7.88	3.70	0.470	13.10	6.64	0.507
2	0.45	0.16	0.356	1.73	0.72	0.416	10.32	4.01	0.389	7.66	5.12	0.668
4	0.19	0.12	0.632	0.85	0.47	0.553	3.19	2.52	0.790	4.26	4.47	1.049
8	0.10	0.09	0.900	0.60	0.42	0.700	2.27	2.11	0.930	3.46	3.76	1.087
24	0.05	0.08	1.600	0.18	0.30	1.667	0.63	1.62	2.571	1.23	3.13	2.545
48	0.02	0.06	3.000	0.07	0.25	3.571	0.22	1.17	5.318	0.61	2.39	3.918
72	0.01	0.06	6.000	0.05	0.28	5.600	0.21	0.98	4.667	0.36	2.41	6.694
96	0.01	0.05	5.000	0.03	0.20	6.667	0.10	0.79	7.900	0.21	1.64	7.810

表中の値は群平均値（単位：μg Eq/g）、比\*：血中/血漿比

雌の 500mg/kg 群を除き、最高血中濃度 (Cmax) は投与 1 時間後であり、その後減衰した。雌の 500mg/kg 群では投与 2 時間後に Cmax を示した<sup>申請者注)</sup>。

血中放射能濃度については雌雄ともに血漿と同様の経時的推移が認められた。

血液/血漿濃度比は約 0.3 (投与後 1 時間) ~ 7.9 (投与後 96 時間) の範囲にあり、測定時間を通して経時的に増加したことから、放射能の一部が血球成分と結合したことが示唆された。

表 2. 血漿中薬物動態パラメータ

性	投与量 mg/kg	Cmax μg Eq/g	Tmax hr	半減期 initial hr	半減期 Intermediate hr	半減期 terminal hr	AUC μg Eq*hr/g
雄	20	0.83	1	2.13	7.71	20.67	6.5
	100	2.43	1	2.42	7.51	31.33	23.0
	500	6.45	1	2.91	8.71	31.21	66.9
	1,000	12.53	1	2.54	10.18	29.12	136.4
雌	20	0.73	1	2.51	-	20.67	5.1
	100	2.86	1	1.74	9.21	29.13	22.0
	500	7.88/10.32*	1/2	1.18	8.58	29.88	79.9
	1,000	13.10	1	1.91	11.03	28.53	126.1

\*：第 2 ピーク

<sup>申請者注)</sup>500mg/kg 投与雌において投与 2 時間後に Cmax (10.32 μgEq/g) が認められたが、4 匹中 1 匹にこの時点のみ同群他の動物と比べて 25.59 μgEq/g という高い測定値を示したことによる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

AUCに雌雄の差は認められなかった。投与用量を50倍に増加させた場合において、AUCは雄で約21倍および雌では約25倍の増加を示し、ほぼ直線的な相互関係が示唆された。

## 2) 物質収支/排泄 (実験5~7)

投与後6、12、24時間およびその後24時間間隔で投与後168時間まで尿を、又、24時間間隔で投与後168時間まで糞を採取するために、投与後に動物を代謝ケージに收容した。

実験5および6では、さらに呼気を投与後48時間まで採取するために、最初の2匹の雄を閉鎖型の代謝ケージに收容した。呼気中の放射能は投与量の2%未満であったことから、その後の実験を開放系で実施した。投与後168時間に動物を屠殺して、各組織の残留放射能を測定した。収支の推定のため、ケージ洗浄液の放射能も測定した。

結果を表3aおよび3bに示す。

尿中および糞中排泄は、高用量および低用量ともにそのほとんどが48時間以内に排泄された。投与168時間後に組織に残留する放射能は僅かであり、最も多く残留した組織でも投与量の0.5%未満であった。

物質収支は91.49~109.73%であった。

表3a. 尿中および糞中排泄 (残留放射能割合(%))

試料	投与群 採取時期	実験5		実験6		実験7	
		50mg/kg 単回		500mg/kg 単回		500mg/kg 反復 (14日間非標識化合物 +1日標識化合物)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0-6時間	9.82	8.87	3.24	4.05	1.99	2.01
	6-12時間	4.23	4.95	0.93	0.96	0.88	0.20
	12-24時間	3.30	4.57	1.16	0.99	0.84	1.83
	24-48時間	1.66	2.31	0.88	2.01	0.76	1.57
	48-72時間	0.21	0.56	0.16	0.31	0.15	0.19
	72-96時間	0.06	0.22	0.09	0.10	0.06	0.12
	96-120時間	0.05	0.14	0.05	0.04	0.03	0.05
	120-144時間	0.04	0.11	0.03	0.03	0.02	0.04
	144-168時間	0.02	0.09	0.01	0.02	0.02	0.04
合計	19.37	21.81	6.51	8.51	4.76	6.03	
糞	0-24時間	57.48	62.21	91.40	76.00	76.44	64.97
	24-48時間	14.42	19.91	7.02	23.02	17.72	17.46
	48-72時間	1.04	1.39	1.39	1.03	1.29	0.93
	72-96時間	0.21	0.27	0.18	0.17	1.05	0.13
	96-120時間	0.04	0.11	1.84	0.08	0.05	0.96
	129-144時間	0.03	0.12	0.06	0.06	1.69	0.06
	144-168時間	0.23	0.05	0.04	0.05	0.04	0.06
	合計	73.44	84.05	101.91	100.41	98.28	84.56

表中の数値は投与放射能に対する割合(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 3b. 組織中の分布 (残留放射能割合 (%))

試料	投与群 採取時期	実験 5		実験 6		実験 7	
		50mg/kg 単回		500mg/kg 単回		500mg/kg 反復 (14日間非標識化合物 +1日標識化合物)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	合計	19.37	21.81	6.51	8.51	4.76	6.03
糞	合計	73.44	84.05	101.91	100.41	96.28	84.56
組織 その他	投与 168 時間後						
	洗浄ケージ	0.09	0.35	0.16	0.10	0.14	0.36
	血球	0.00	0.00	0.02	0.01	0.12	0.09
	血漿	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	肺	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01
	心臓	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
	脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	腎臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	精巣/卵巣	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	子宮	-	0.00	-	0.00	-	0.00
	筋肉	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	脂肪組織	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
	骨髓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	脾臓	0.00	0.00	0.06	0.02	0.00	0.00
	胃内容物	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
	胃	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	腸内容物	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.02
	腸	0.01	0.01	0.32	0.30	0.06	0.07
	肝臓	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01
皮膚	0.08	0.02	0.08	0.06	0.07	0.05	
カーカス	0.06	0.08	0.31	0.29	0.23	0.27	
	合計	93.18	106.36	109.40	109.73	103.72	91.49

表中の数値は投与放射能に対する割合 (%)

- : 該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

### 3) 組織中分布 (実験 8~9)

投与後に動物をスチール製ワイヤーメッシュケージに収容した。雌雄各 3 匹を、実験 2 および 3 の結果に基づいて選択した投与後の 4 時点にそれぞれ屠殺した。選択した時期は、実験 2 および 3 の結果に基づく最高血漿濃度 (MPC)、1/2 MPC、1/4 MPC および 1/8 MPC に相当する時期であった。屠殺後、以下の臓器を溶解させて、残留放射能を測定した。

心臓、肝臓、脾臓、骨、皮膚、肺、卵巣、カーカス、筋肉、腎臓、脳、膵臓、子宮、精巢、脂肪組織、胃および胃内容物、甲状腺、副腎、血球および血漿、腸および腸内容物、骨髄

結果を表 4-1~4-4 に示す。

表 4-1. 組織中の平均残留放射能 (50mg/kg、単回)

性	雄				雌			
	1	2.5	8	20	1	2.5	8	20
投与後時間								
血球	0.89	0.42	0.43	0.33	1.24	0.35	0.36	0.32
血漿	2.86	0.88	0.33	0.16	4.48	0.65	0.36	0.10
肺	1.77	0.62	0.33	0.20	2.42	0.97	0.35	0.17
心臓	1.32	0.53	0.21	0.14	1.72	0.41	0.18	0.09
脾臓	1.10	1.06	0.52	0.25	1.31	0.43	0.38	0.40
腎臓	15.18	6.68	1.48	0.82	22.52	3.46	1.86	0.36
副腎	3.02	1.10	0.86	0.33	2.49	1.20	0.45	0.20
精巢/卵巣	0.65	0.33	0.11	0.07	3.73	1.99	0.45	0.51
子宮	-	-	-	-	6.41	4.33	0.72	1.10
筋肉	0.73	0.40	0.31	0.12	1.19	0.53	0.47	0.10
脳	0.30	0.13	0.08	0.12	0.31	0.44	0.62	0.09
脂肪組織	6.01	3.00	0.25	0.21	1.75	0.32	0.12	0.24
骨	0.38	0.19	0.16	0.15	0.40	0.60	0.26	0.15
骨髄	1.45	0.78	0.69	0.66	2.39	1.91	1.20	1.53
甲状腺	5.65	7.58	10.07	0.86	4.24	7.08	2.04	0.08
膵臓	2.87	4.00	2.65	0.36	9.10	1.10	1.04	0.95
胃内容物	800.96	241.81	7.41	1.91	683.84	448.47	26.32	0.82
胃	174.79	39.92	3.16	0.54	118.21	60.24	2.94	0.37
腸内容物	577.92	706.81	733.77	237.45	545.86	637.89	780.03	44.21
腸	78.90	87.00	50.47	15.23	100.27	59.35	44.68	9.58
肝臓	33.36	11.30	3.73	2.03	30.78	5.17	2.82	0.61
皮膚	1.46	1.98	2.67	0.52	3.93	1.12	0.89	0.43
カーカス	2.56	2.72	0.58	2.54	2.00	0.91	0.61	0.51

単位:  $\mu\text{g Eq/g}$  組織

-: 該当無し。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 4-2. 組織中の平均残留放射能 (50mg/kg、単回)

性 投与後時間	雄				雌			
	1	2.5	8	20	1	2.5	8	20
血球	0.02	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01
血漿	0.05	0.01	0.00	0.00	0.06	0.01	0.01	0.00
肺	0.02	0.01	0.01	0.00	0.03	0.02	0.01	0.00
心臓	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.22	0.09	0.02	0.01	0.31	0.05	0.02	0.00
副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精巣/卵巣	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
子宮	-	-	-	-	0.03	0.02	0.00	0.00
筋肉	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
脂肪組織	0.03	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨髄	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.02	0.02	0.01	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00
胃内容物	17.30	1.27	0.09	0.02	17.06	5.93	0.12	0.01
胃	1.61	0.34	0.03	0.00	1.05	0.57	0.03	0.00
腸内容物	58.78	68.42	76.36	26.67	57.80	60.56	69.14	3.76
腸	3.10	3.45	2.31	0.56	3.49	2.34	1.74	0.30
肝臓	2.37	0.80	0.26	0.16	2.19	0.40	0.18	0.04
皮膚	0.47	0.64	0.83	0.17	1.04	2.33	0.27	0.11
カーカス	2.92	3.13	0.66	2.99	2.35	1.08	0.70	0.57

単位：% (投与量に対する割合)

-：該当無し。

雄において投与後 1 時間の組織内濃度は消化管、肝臓、甲状腺、脂肪組織および腎臓で高く、骨、脳、筋肉、精巣および血球で低かった。雌においては消化管、肝臓、脾臓、子宮および腎臓で高く、骨、脳、筋肉および血球で低かった。

雄の甲状腺、脾臓、皮膚を除き、雌雄とも一般にその後減衰した。

投与 20 時間後では、雄において消化管を除きカーカス、肝臓および甲状腺で高く、雌では同じく消化管を除きカーカス、肝臓、脾臓、甲状腺、骨髄、子宮および卵巣で高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 4-3. 組織中の平均残留放射能 (500mg/kg、単回)

性 投与後時間	雄				雌			
	1	4	16	22	1	2	8	20 <sup>a</sup>
血球	3.16	2.56	1.71	1.71	3.38	3.55	2.29	1.77
血漿	3.83	2.09	0.57	0.45	4.09	5.58	1.74	0.57
肺	3.42	2.29	1.49	1.19	3.89	4.52	2.45	41.04
心臓	5.75	2.10	0.97	0.90	2.79	3.25	1.59	1.12
脾臓	2.59	1.88	1.99	2.03	4.52	2.87	2.93	2.08
腎臓	22.43	24.91	4.12	1.86	20.58	28.19	9.48	1.99
副腎	7.77	5.39	4.06	3.79	9.80	5.64	4.06	2.45
精巣/卵巣	1.12	1.70	0.37	0.20	3.32	3.12	2.03	0.85
子宮	-	-	-	-	4.36	4.01	2.09	1.54
筋肉	1.91	1.07	0.60	0.51	2.18	1.82	1.54	0.88
脳	0.89	1.33	0.51	0.63	1.37	1.39 <sup>b</sup>	2.69	0.79
脂肪組織	0.68	1.28	1.82	0.80	1.22	0.81	0.78	0.44
骨	0.92	1.03	0.98	0.25	2.63	0.67	0.78	0.37
骨髓	5.26	7.87	5.55	3.86	18.84	6.05	8.02	7.19
甲状腺	41.93	64.34	19.79	84.51	34.80	36.42	130.75	20.49
脾臓	5.38	3.13	2.11	1.93	5.75	4.16	2.95	1.07
胃内容物	19352.49	3733.50	15.05	1.69	25655.77	3691.72	129.27	1.87
胃	1198.56	197.76	7.30	1.60	2282.00	520.73	32.06	17.02
腸内容物	6214.23	7906.96	2377.99	1889.34	8348.09	8212.99	8396.97	996.51
腸	122.82	202.28	77.24	55.11	330.86	202.88	245.48	29.22
肝臓	31.32	19.92	5.13	3.78	24.92	36.56	12.97	3.19
皮膚	2.37	3.13	1.40	0.60	4.32	3.54	3.69	1.31
カーカス	3.87	4.05	18.01	29.58	3.57	4.84	3.51	14.23

単位:  $\mu\text{g Eq/g}$  組織

- : 該当無し。

a : 1 匹に異常な高値が認められたため除外 (動物番号 102) し、N=2 とした。

b : 1 匹に異常な高値が認められたため除外 (動物番号 97) し、N=2 とした



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 4-4. 組織中の平均残留放射能 (500mg/kg、単回)

性	雄				雌			
	1	4	16	22	1	2	8	20
投与後時間								
血球	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
血漿	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
肺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.05
心臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.03	0.04	0.00	0.00	0.03	0.04	0.01	0.00
副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精巣/卵巣	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子宮	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00
筋肉	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脂肪組織	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨髓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
胃内容物	19.20	2.04	0.03	0.00	10.40	5.27	0.11	0.00
胃	1.05	0.16	0.00	0.00	2.36	0.51	0.03	0.02
腸内容物	65.35	84.26	28.81	22.70	73.51	78.46	68.25	10.51
腸	0.35	0.59	0.24	0.16	1.14	0.74	1.09	0.11
肝臓	0.23	0.16	0.04	0.03	0.17	0.27	0.08	0.02
皮膚	0.08	0.11	0.04	0.03	0.12	0.10	0.10	0.04
カーカス	0.48	0.49	2.10	3.68	0.42	0.59	0.39	1.68

単位：% (投与量に対する割合)

- : 該当無し

雌雄とも投与後1時間において組織内濃度は消化管、肝臓、甲状腺および腎臓で最も高く、雄において脳、脂肪組織および骨で低く、雌では筋肉、脳および脂肪組織で低かった。雌では投与2時間後に最高血中濃度が示され、血球、心臓、腎臓および肝臓において最も高い組織内濃度を示した。その後雄では甲状腺およびカーカスを除き減衰した。雌では甲状腺、脳、肺およびカーカスを除き減衰した。

申請者注) 以下の表に平均値と標準偏差または個体別値を示すが、肺(雌)、脳(雌)、甲状腺(雌雄)およびカーカス(雌雄)の高値は個体の変動によるもので蓄積性を示すものではないと考える。

性	雄				雌			
	1	4	16	22	1	2	8	20 <sup>a</sup>
肺					3.89 ±0.53	4.52 ±0.51	2.45 ±0.37	41.04 (74.86, 7.22)
脳					1.37 ±0.70	1.39 <sup>b</sup> (0.86, 1.96)	2.69 ±3.53	0.79 (0.59, 0.79)
甲状腺	41.93 ±8.61	64.34 ±61.78	19.79 ±3.83	84.51 ±96.62	34.80 ±11.09	36.42 ±13.88	130.75 ±166.13	20.49 (20.08, 20.90)
カーカス	3.87 ±1.15	4.05 ±3.17	18.01 ±6.95	29.58 ±21.67	3.57 ±0.57	4.84 ±2.26	3.51 ±0.80	14.23 (20.87, 7.58)

単位：μg Eq/g 組織、( )内は個別の数値。

a : 1匹に異常な高値が認められたため除外(動物番号102)し、N=2とした。

b : 1匹に異常な高値が認められたため除外(動物番号97)し、N=2とした

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

#### 4) 胆汁中排泄 (実験 10~11)

動物用胆管カニューレを動物に挿入し、投与後に代謝ケージに収容して、動物の健康状態および排泄速度に応じ、投与後 72 時間まで 3 時間間隔で胆汁を採取し、24 時間間隔で尿および糞を採取した。実験後、動物を屠殺して、以下の組織の残留放射能を測定した。収支の推定のため、ケージ洗浄液の放射能も測定した。

胃および胃内容物、腸および腸内容物、カーカス

表 5 胆汁排泄 (%投与量)

投与後時間 (hr)	50mg/kg		500mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0 - 3	0.60	0.82	2.15	0.21
3 - 6	1.14	1.05	1.35	0.25
6 - 9	1.25	0.74	0.73	0.18
9 - 12	2.42	0.85	0.70	0.14
12 - 15	3.21	0.99	0.78	0.12
15 - 18	2.22	1.25	0.85	0.14
18 - 21	1.76	1.37	0.87	0.16
21 - 24	1.49	0.96	0.74	0.20
24 - 27	1.87	0.73	0.71	0.16
27 - 30	1.46	0.59	0.51	0.17
30 - 33	1.52	0.45	0.41	0.16
33 - 36	1.04	0.45	0.28	0.16
36 - 39	0.64	0.24	0.21	0.13
39 - 42	0.44	0.30	0.14	0.11
42 - 45	0.34	0.29	0.13	0.09
45 - 48	0.30	0.24	0.08	0.09
48 - 51	0.24	0.26	0.07	0.08
51 - 54	0.21	0.21	0.07	0.09
54 - 57	0.13	0.18	0.04	0.10
57 - 60	0.09	0.15	0.03	0.10
60 - 63	0.05	0.11	0.02	0.09
63 - 66	0.05	0.06	0.02	0.09
66 - 69	0.03	0.06	0.01	0.09
69 - 72	0.02	0.06	0.01	0.11
合計 (0 - 72)	22.51	12.39	10.82	3.22

低用量において、雄で投与量の 22.51% および雌で 12.39% が 72 時間以内に胆汁中に排泄された。雌雄ともに胆汁中への排泄は投与 57 時間までは比較的一定で、その後次第に減少した。高用量において雄で投与量の 10.82% および雌で 3.22% が 72 時間以内に胆汁中に排泄された。投与後 42 時間までは比較的一定でその後減少した。

表 6 に尿、糞、胆汁排泄および組織残留等の物質収支およびバイオアベイラビリティを示した。回収率は 91.64~101.65% であった。バイオアベイラビリティは 50mg/kg 投与群の雄および雌でそれぞれ約 36% および 42%、500mg/kg 群の雄および雌でそれぞれ 23% および 16% であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 6 尿、糞および胆汁中排泄率 (%)

投与群	50 mg/kg		500 mg/kg		
	雄	雌	雄	雌	
性					
体重 (g)	277.7	224.5	286.3	223.2	
放射活性 (MBq/g)	54.82 / 48.67	52.68 / 48.67	4.71	5.48	
投与量 (mg/kg bw)	46.8	52.0	500.5	540.7	
投与放射能 (MBq/animal)	0.68	0.58	0.68	0.66	
尿中排泄	0-24 時間	8.23	14.41	5.89	2.62
	24-48 時間	2.70	6.51	2.18	3.06
	48-72 時間	0.87	5.44	0.86	2.17
	合計	11.80	26.36	8.93	7.85
糞中排泄	0-24 時間	13.55	0.61	12.27	0.02
	24-48 時間	17.63	15.95	30.10	10.37
	48-72 時間	2.20	5.32	9.06	25.94
	合計	32.65	21.87	48.40	36.33
洗浄ケージ	72 時間後採取	1.39	1.66	0.61	0.94
胃内容物	72 時間後採取	15.93	12.73	10.96	3.22
胃	72 時間後採取	0.89	1.37	0.92	0.92
腸内容物	72 時間後採取	5.53	14.89	17.51	36.76
腸	72 時間後採取	0.26	1.37	0.59	1.20
カーカス	72 時間後採取	0.68	1.26	2.92	3.90
胆汁中排泄	0-72 時間	22.51	12.39	10.82	3.22
総計		91.64	93.89	101.65	94.36
バイオアベイラビリティ		36.37	41.67	23.28	15.91

以上の各実験結果より、アメトクトラジンは性にかかわらず単回経口投与後に消化管から急速に吸収され、48 時間以内にそのほとんどが排泄されたが、尿に比して糞中に多く排泄された。呼吸での排泄は 2%未満であった。単回投与および反復投与での血漿中最高濃度は投与 1 時間後であった。血液/血漿比より血球への結合性が示唆されたが、投与量の約 0.1%とわずかであった。組織分布では比較的肝および腎に残留が多かった。特異的に高蓄積性を示す組織はなかった。胆汁排泄を含め、排泄および組織残留より求めたバイオアベイラビリティは 50mg/kg 投与群の雄雌でそれぞれ約 36%および 42%、500mg/kg 群の雄雌でそれぞれ 23%および 16%であった。AUC 値の比較では、用量を 50 倍に増加しても雄雌それぞれ 21 および 25 倍の増加であり、組織分布においても 10 倍の用量増加で組織濃度の上昇は僅かであった。