

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

農 薬 抄 録

一般名：アミカルバゾン
「除草剤」

(作成年月日)

平成 28年 6月 2日

(作成会社名) アリスタ ライフサイエンス株式会社
(作成責任者・所属)

連絡先 アリスタ ライフサイエンス株式会社

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

目 次

I. 開発の経緯	1
II. 物理的・化学的性状	2
III. 生物活性	12
IV. 適用及び使用上の注意	13
V. 土壌残留性	14
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	17
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等	26
VIII. 毒性	
1. 原体	
(1) 急性毒性	33
(2) 皮膚及び眼に対する刺激性	38
(3) 皮膚感作性	42
(4) 急性神経毒性	46
(5) 急性遅発性神経毒性	61
(6) 90日間反復経口投与毒性	62
(7) 21日間反復経皮投与毒性	95
(8) 90日間反復吸入毒性試験	104
(9) 90日間反復経口投与神経毒性	105
(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性	113
(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性	114
(12) 繁殖毒性及び催奇形性	166
(13) 変異原性	203
(14) 生体機能影響	221
(15) その他	234
2. 製剤	272
IX. 動植物及び土壌等における代謝分解	281
アミカルバゾンの開発年表	371

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1. 開発の経緯

1. 開発の経緯

アミカルバゾンとは、独国バイエル社によって創製された、広い殺草スペクトラムを有する新規のトリアゾリノン系化合物で、ブラジルにおいては 1993 年から MKH-3586 の試験コードで、さとうきび、とうもろこし分野での開発が開始され、2001 年に農薬登録された。その後、2002 年に同剤は、バイエル社より米国アーベスタ社（現アリスタ ライフサイエンス社）にライセンスされた。

日本国内では、2002 年から財団法人日本植物調節剤研究協会（現公益財団法人日本植物調節剤研究協会）において基礎評価が開始され、芝用除草剤として有用であることが見いだされた。2005 年より 70%顆粒水和剤としてアリスタ ライフサイエンス社が ALH-024 の試験名で開発を開始し、財団法人日本植物調節剤研究協会（現公益財団法人日本植物調節剤研究協会）を通じ、アミカルバゾンの性能評価試験を実施してきた。その結果、アミカルバゾンはノシバ及びコウライシバの生育初期における一年生イネ科雑草防除に有用であり、芝に対して安全性が高い剤であることが確認された。

その後、日本国内における芝に対する同剤の開発は、SB-208 顆粒水和剤としてエス・ディー・エスバイオテック社との共同開発として継続され、今回の農薬登録申請に至った。芝分野以外にも、緑地管理、家庭園芸分野において混合剤を含め積極的に開発が進められている。

現在のアミカルバゾンの工業所有権はアリスタライフサイエンス株式会社であり、国内の農薬登録はアリスタ ライフサイエンス株式会社とエス・ディー・エスバイオテック社が申請する。

2. 海外における登録、開発状況

現在同剤は、ブラジル、チリ、コロンビア、コートジボアール、南アフリカ、タイ、アメリカ合衆国等において、さとうきび、とうもろこし、芝等を対象に登録、商業化されており、主要国のアミカルバゾン ADI (mg/kg/日) は以下の通りである。

国名	ADI (mg/kg/日)
オーストラリア	0.02
ブラジル	0.02
南アフリカ	0.016
アメリカ合衆国	0.023

また、急性参照用量 (ARfD) はオーストラリアにおいて設定されており、急性神経毒性試験の NOEL、10 mg/kg/日に基づき、不確定定数 100 を考慮した 0.1 mg/kg/日と設定されている。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

II. 物理的・化学的性状

1. 有効成分の名称及び化学構造

1) 一般名

(和名) アミカルバゾン (英名) amicarbazone (ISO名)

2) 別名

商品名: ゾネレート顆粒水和剤

試験名: MKH3586、ALH-024、SB-208 顆粒水和剤

3) 化学名

IUPAC名

(和名)

4-アミノ-N-tert-ブチル-4,5-ジヒドロ-3-イソプロピル-5-オキソ-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミド

(英名)

4-amino-N-tert-butyl-4,5-dihydro-3-isopropyl-5-oxo-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide

CAS名

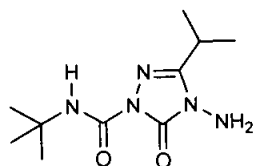
(和名)

4-アミノ-N-(1,1-ジメチルエチル)-4,5-ジヒドロ-3-(1-メチルエチル)-5-オキソ-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミド

(英名)

4-amino-N-(1,1-dimethylethyl)-4,5-dihydro-3-(1-methylethyl)-5-oxo-1H-1,2,4-triazole-1-carboxamide

4) 構造式



5) 分子式 C₁₀H₁₉N₅O₂

6) 分子量 241.3

7) CAS No. 129909-90-6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1-1. 代謝物

の名称及び化学構造

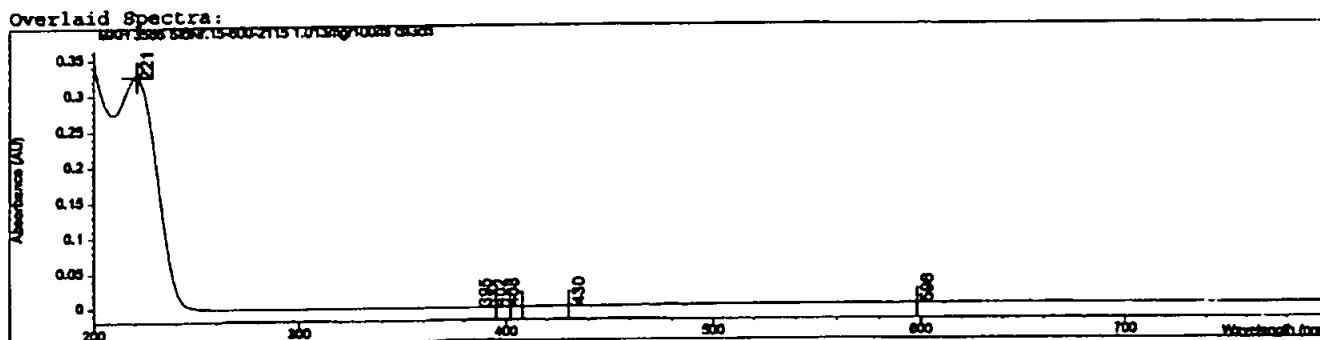
2. 有効成分の物理的・化学的性状

資料 No.	項目		測定値 (測定条件)	測定方法	試験機関 (報告年)	
1	色調		無色	官能法	(1996、GLP)	
	形状		結晶			
	臭気		かすかな非特異的な臭気			
	密度		1.12 g/mL (20°C)	OECD 109 (静的バランス法)		
	融点		137.5°C	OECD 102 (溶融顕微鏡)		
	沸点		高温で分解するため測定不可能			
	蒸気圧		1.3 × 10 ⁻⁶ Pa (20°C) 3.0 × 10 ⁻⁶ Pa (25°C)	OECD 104 (気体流動法)		
	解離定数 (pKa)		解離しないため測定不可能	OECD 112 (滴定法)		
	溶解度	有機溶媒	水	4.6 g/L (20°C)		OECD 105 (フラスコ振盪法)
			n-ヘプタン	0.07 g/L (20°C)		フラスコ法
			キシレン	9.2 g/L (20°C)		
			1-オクタノール	43 g/L (20°C)		
			2-プロパノール	110 g/L (20°C)		
			酢酸エチル	140 g/L (20°C)		
ポリエチレングリコール			79 g/L (20°C)			
アセトニトリル			> 250 g/L (20°C)			
アセトン			> 250 g/L (20°C)			
ジメチルスルホキシド			> 250 g/L (20°C)			
ジクロロメタン	> 250 g/L (20°C)					
オクタノール/水分配係数 (log Pow)		超純水 : log Pow = 1.14 (20°C) pH 4 : log Pow = 1.18 (20°C) pH 7, 9 : log Pow = 1.23 (20°C)	OECD 107 (フラスコ振盪法)			
-	生物濃縮性					
S-1	土壌	シルト質壤土 4種	K _{F^{ads}} = 0.28~0.60 K _{F^{ads}oc} = 22.9~37.0	EPA 163-1	(1999、GLP)	
S-2		吸着性 壤土 (火山灰) 2種	K _{F^{ads}} = 0.31~0.97 K _{F^{ads}oc} = 10.3~20.0	OECD 106	(2012、GLP)	
MW-1	加水分解性 (25°C)		半減期 pH 5、7 : 30 日間安定 pH 9 : 65 日	EPA 161-1	(1998、GLP)	
MW-2	水中光分解性 (25°C)	滅菌緩衝液 678~697 W/m ² (300~800 nm)	12 日間分解せず (pH 7)	EPA 161-2	(1999、GLP)	
		自然水 671~694 W/m ² (300~800 nm)	半減期 21.7 日 (本試験条件、pH 8.4) 149 日 (東京北緯 35 度、春 4~6 月)			
1	安定性	対熱	常温で安定 160°C以上質量減少、180°C以上発熱	OECD 113 (TG-DTA)	(1996、GLP)	
2	スペクトル	IR/ ¹ H-NMR ¹³ C-NMR/MS/UV	次頁以降記載		(2000、GLP)	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

UV、赤外、MS、¹H-NMR、¹³C-NMR スペクトル

1) UV



最大吸収波長 (nm)	モル吸光係数 (1000cm ² /mol)
221	7772

被験物質純度 :

測定条件 :

使用溶媒 ; アセトニトリル

使用機器 ; UV/VIS 分光光度計 HP8453 (Hewlett Packard)

あるいはその相当機器

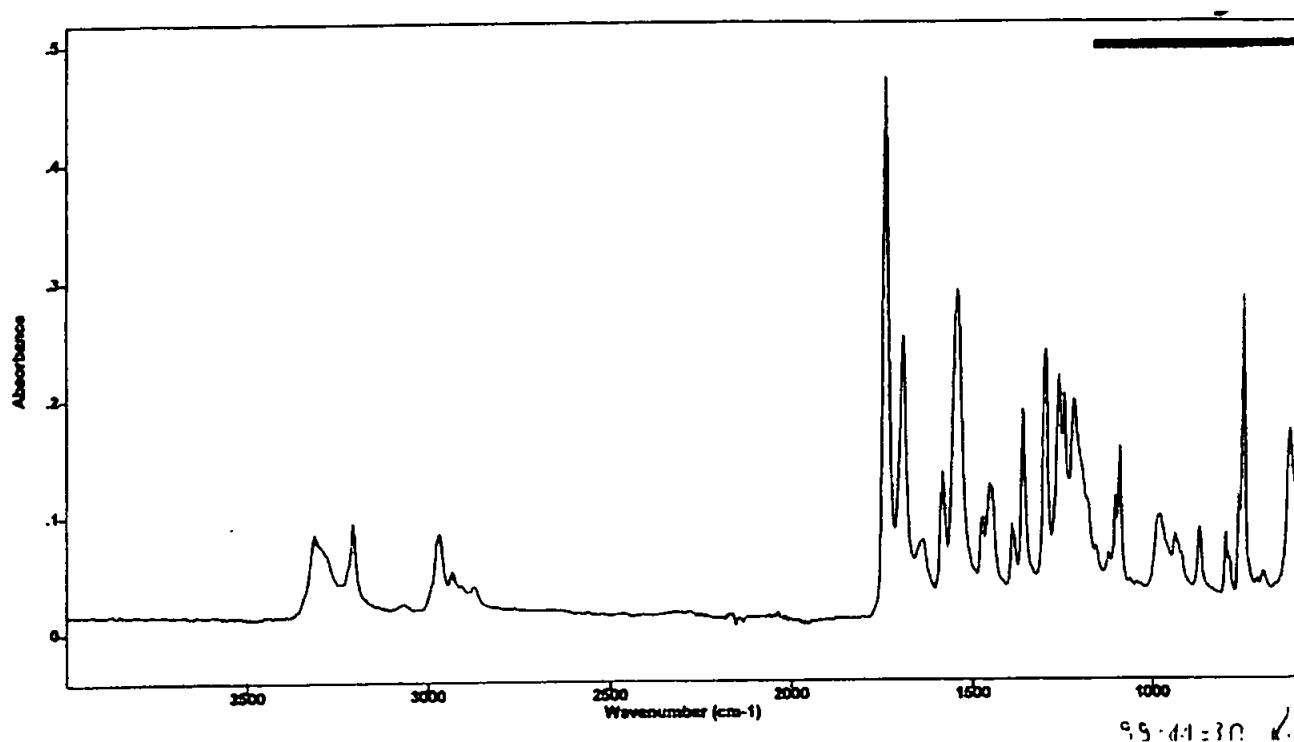
測定温度 ; 22°C

測定波長 ; 200~800 nm

被験物質濃度 ; 10 ppm

図1 UV スペクトル

2) IR



波数 (cm ⁻¹)	帰属
1545	CO-NH-C, CNH
1696, 1744	Imide, C=O
2935, 2972	CH
3211, 3317	N-H

被験物質純度 :

測定条件 :

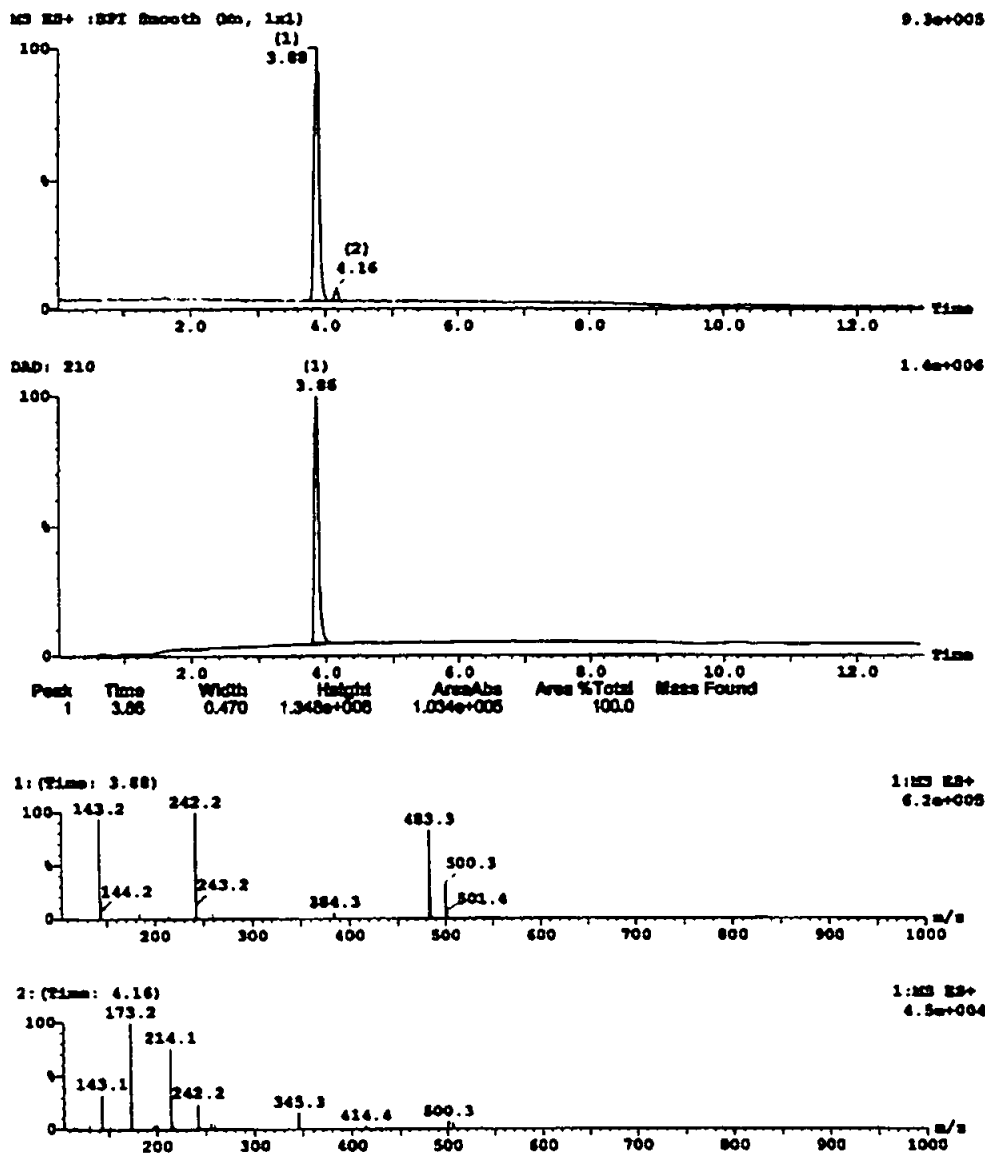
使用機器 ; BIO-RAD フーリエ変換赤外分光光度計 FTS7

測定波数 ; 600~4000 cm⁻¹

測定方法 ; ATR 法 (ダイヤモンド)

図 2 赤外線吸収スペクトル

3) MS



m/z	推定構造
500.3	$[2M+NH_4]^+$
483.3	$[2M+H]^+$
384.3	$[2M+H-OCNC(CH_3)_3]^+$
242.2	$[M+H]^+$
143.2	$[M+H-OCNC(CH_3)_3]^+$

被験物質純度 :

測定条件 :

使用機器 ; HPLC ; 多波長検出器 (DAD) 付き HP1100

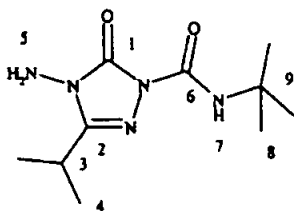
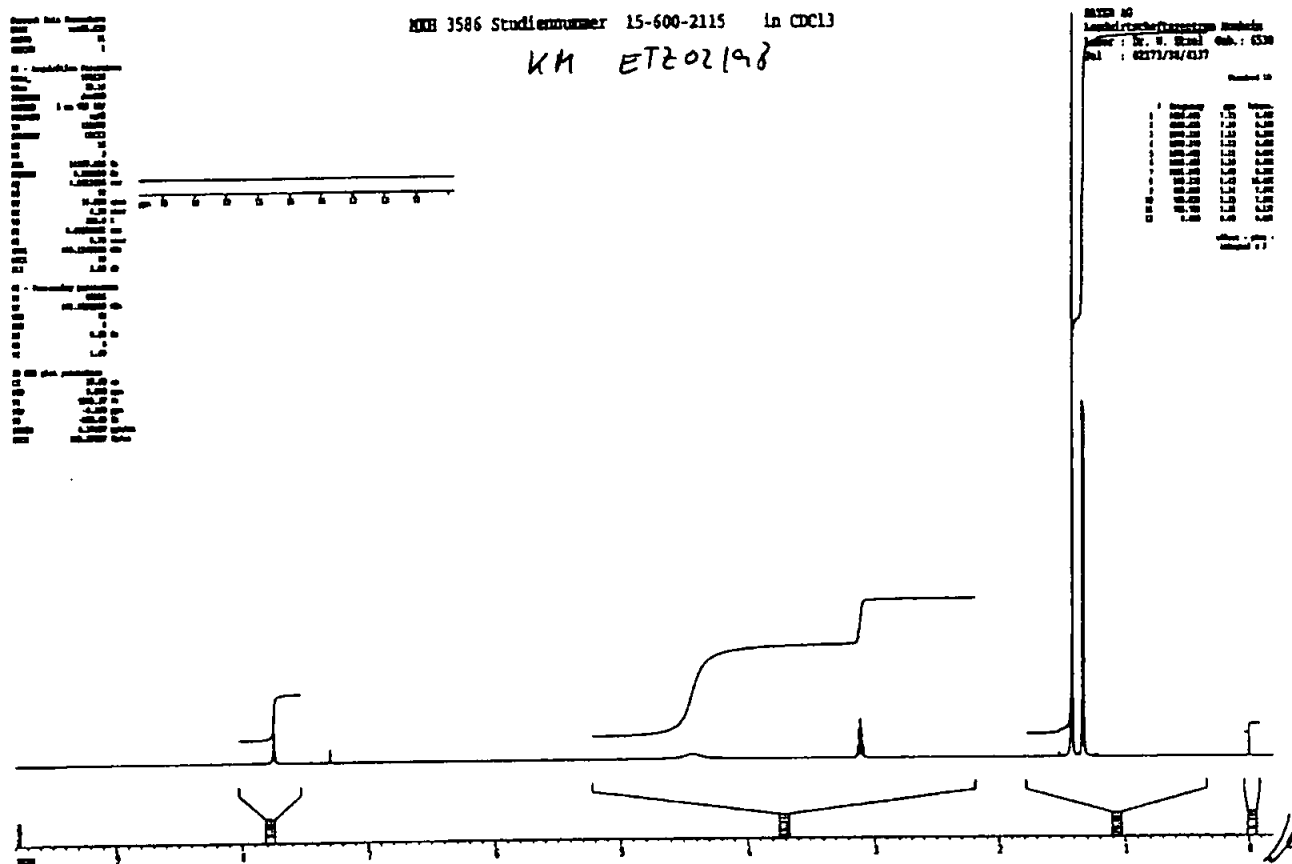
MS ; ESI Z-Spray ソース付き Micromass LC-Z

イオン化法 ; エレクトロスプレーイオン化法 (ESI 法)

図 3 MS スペクトル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4-1) $^1\text{H-NMR}$



帰属	化学シフト(ppm)	プロトン数	多重度
3	3.11	1	hep
4	1.33	6	d
5	4.43	2	s, br
7	7.75	1	s
8	1.42	9	s

被験物質純度 :

測定条件 :

使用機器 ; Bruker DMX 600

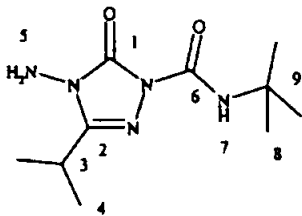
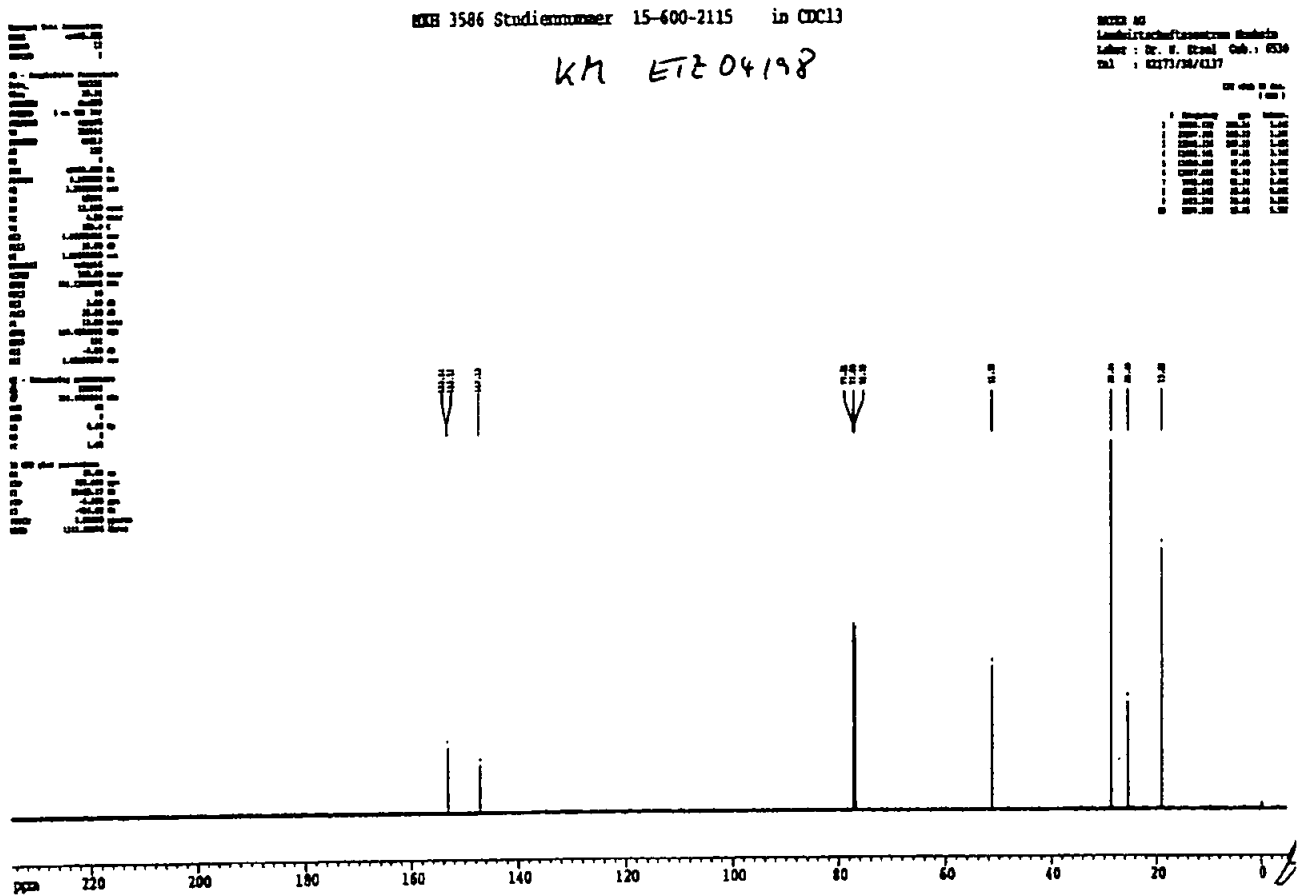
測定溶媒 ; CDCl_3 , d_6 -DMSO, D_2O のいずれか

基準物質 ; TMS

発振器周波数 ; 600.13MHz

図-4-1 $^1\text{H-NMR}$ スペクトル

4-2) ^{13}C -NMR



帰属	化学シフト(ppm)	カーボン数	多重度
1	153.1	1	s
2	153.1	1	s
3	25.4	1	d
4	19.0	2	q
6	147.1	1	s
8	28.6	3	q
9	51.3	1	s

被験物質純度 :

測定条件 :

使用機器 ; Bruker DMX-600

測定溶媒 ; CDCl_3 、 d_6 -DMSO、 D_2O のいずれか

基準物質 ; 使用溶媒

発振器周波数 ; 150.90MHz

図-4-2 ^{13}C -NMR スペクトル

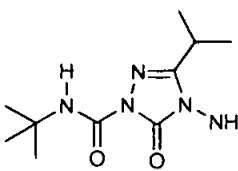
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2-1. 代謝物] の物理的・化学的性状

資料 No.	項目	測定値 (測定条件)	測定方法	試験機関 (報告年)
MS-5				
MS-4				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値
有効成分	アミカルバゾン	4-amino- <i>N</i> - <i>tert</i> -butyl-4,5-dihydro-3-isopropyl-5-oxo-1 <i>H</i> -1,2,4-triazole-1-carboxamide		C ₁₀ H ₁₉ N ₅ O ₂	241.3		
混在物							

4. 製剤の組成

- 1) 70.0%水和剤 (ゾネレート顆粒水和剤)

アミカルバゾン 70.0%

鋳物質微粉、界面活性剤等 30.0%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) 1.0%粒剤	
アミカルバゾン	1.0%
カルブチレート	2.0%
メコプロップPカリウム塩	1.5%
鉱物質微粉等	95.5%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

III. 生物活性

(ア) 活性の範囲

アミカルバゾン は、一年生、多年生広葉雑草に対して発生初期処理で高い殺草活性を示す一方、ノシバ、コウライシバ、さとうきび、とうもろこし等の作物に選択性を有する。

(イ) 作用機構

アミカルバゾンの殺草効果は、主に根部吸収によって植物中に移行したアミカルバゾンが、葉緑体中の光化学系 II に存在する D1 タンパクに結合して、電子伝達を阻害することにより ATP や NADPH の産生を停止することにより引き起こされると考えられている。

同様な作用機構を持つ代表的な除草剤としてはアトラジン等のトリアジン類、DCMU 等の尿素類、アイオキシニル等のニトリル類が挙げられるが、除草剤抵抗性対策委員会 (HRAC) ではトリアジン類が属する C1 グループに分類されている。

(ウ) 作用特性と防除上の利点等

- (1) アミカルバゾンは植物の根部や茎葉部から吸収された後、葉緑体中、光化学系 II において D1 タンパクに結合して光合成を阻害する。
- (2) 雑草発生前から発生初期での土壌処理または茎葉散布により、根部あるいは茎葉からの吸収によって、効果を発現する。
- (3) ノシバ、コウライシバ、とうもろこし、さとうきび等に高い選択性を有する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

IV. 適用及び使用上の注意

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

(1) アミカルバゾン 70.0%水和剤

作物名	適用雑草名	使用時期	使用量		本剤の使用回数	使用方法	アミカルバゾンを含む農薬の総使用回数
			薬量	希釈水量			
日本芝	一年生及び多年生広葉雑草	雑草発生初期	30~50 g/10a	100~200 L/10a	6回以内	散布	6回以内

(2) アミカルバゾン1.0%・カルブチレート2.0%・メコプロップPカリウム塩1.5%粒剤

作物名	適用場所	適用雑草名	使用時期	使用量	本剤の使用回数	使用方法	アミカルバゾンを含む農薬の総使用回数	カルブチレートを 含む農薬の総使用回数	メコプロップPを含む農薬の総使用回数
樹木等	公園 堤とう 駐車場 道路 運動場 宅地 のり面 鉄道等	一年生雑草	雑草発生前	5~10 g/m ²	2回以内	植栽地を除く樹木等の周辺地に全面土壌散布	2回以内	2回以内	3回以内
			雑草生育初期 (草丈 20cm 以下)	10~20 g/m ²					
		多年生雑草							

2. 使用上の注意事項

(1) アミカルバゾン 70.0%水和剤

- 1) 本剤は雑草の発生初期に有効なので、時期を失ないように均一に散布すること。
- 2) イネ科雑草には効果が劣るので、イネ科雑草が多い場合はこれに有効な土壌処理剤との組み合わせで使用すること。
- 3) 周辺の植物にかかると薬害を生じるので、散布の際は芝生の中や付近にある草木や花木、畑作物などに薬液がかからないようその付近での散布は避けること。
- 4) 夏期高温時や芝の生育が劣っている場合は、黄変等の薬害を生じることがあるので十分注意すること。
- 5) 散布に用いた器具類はよく水洗いして、他の用途に使用する時は、影響のないように注意すること。
- 6) 空袋は圃場などに放置せず適切に処理すること。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

7) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意すること。特に適用作物群に属する作物又はその新品種に本剤を初めて使用する場合は、使用者の責任において事前に薬害の有無を十分確認してから使用すること。なお、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

(2) アミカルバゾン 1.0%・カルブチレート 2.0%・メコプロップPカリウム塩 1.5%粒剤

- 1) 雑草が大きくなりすぎると効果が劣るので、雑草発生前～生育初期（草丈 20 cm 以下）、あるいは雑草を刈払った後早めに使用すること。
- 2) 使用量に合わせ秤量し、使いきること。
- 3) 散布むらを生じないように均一に散布すること。
- 4) 激しい降雨の予想される場合は、使用を避けること。
- 5) 雨水が直接河川、かんがい水、農耕地に流れ込むような場所では、散布を避けること。
- 6) 水源池、養殖池等に本剤が飛散、流入しないように十分に注意すること。
- 7) 他の農作物には薬害を生ずるおそれがあるので付近に農作物がある場合には、飛散流入等ないように十分に注意すること。
- 8) 植栽地を除く樹木等の周辺地で使用する場合は、薬剤が樹木等の植栽地に流入または飛散するおそれのある場所等では使用しないこと。また、樹木等有用植物の根が分布していると思われるところでは使用を避けること。
- 9) 散布器具、容器の洗浄水は河川等に流さず、容器、空袋等は環境に影響を与えないよう適切に処理すること。
- 10) 本剤の使用にあたっては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないように注意し、とくに初めて使用する場合には病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3. 水産動植物に有害な農薬については、その旨

(1) アミカルバゾン 70.0%水和剤

使用残りの薬液が生じないように調製を行い、使いきること。散布器具及び容器の洗浄水は、河川等に流さないこと。また、空容器、空袋等は水産動植物に影響を与えないよう適切に処理すること。

(2) アミカルバゾン 1.0%・カルブチレート 2.0%・メコプロップPカリウム塩 1.5%粒剤

水産動植物（藻類）に影響を及ぼす恐れがあるので、河川、養殖池等に飛散、流入しないよう注意して使用すること。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

1. 土壌残留

(1) 分析方法の原理と操作概要

(2) 分析対象の化合物名

① アミカルバゾン [A]

化学名 : 4-アミノ-*N*-*tert*-ブチル-4,5-ジヒドロ-3-イソプロピル-5-オキソ-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミド¹⁾

分子式 : C₁₀H₁₉N₅O₂

分子量 : 241.3

¹⁾ 報告書には 4-アミノ-4,5-ジヒドロ-*N*-(1,1-ジメチルエチル)-3-(1-メチルエチル)-5-オキソ-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミドと記載

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(3) 残留試験結果

推定半減期：アミカルバゾン [A] +

火山灰 埴壤土
 洪積 埴壤土

推定半減期：アミカルバゾン [A] 単体

火山灰 埴壤土 約29.3日
 洪積 埴壤土 約41.7日

分析機関：

試料調製 及び 採取場所	被験物質の 処理方法		経過 日数	測定値 (mg/kg)									
				アミカルバゾン [A]									
				濃度	回数	最高値	平均値						
植調研 茨城 (火山灰) 埴壤土 平成22年度	水和剤(70.0%) 100g/200L/10a	0	-	<0.01	<0.01								
		3	0	1.13	1.10								
		3	1	1.19	1.17								
		3	3	1.10	1.08								
		3	7	0.96	0.94								
		3	14	0.79	0.79								
		3	30	0.48	0.48								
		3	59	0.48	0.48								
		3	91	0.27	0.27								
		3	120	0.20	0.20								
		3	182	0.03	0.03								
		3	269	<0.01	<0.01								
新中国 グリーン研 広島 (洪積) 埴壤土 平成22年度	100g/200L/10a	0	-	<0.01	<0.01								
		3	0	0.73	0.72								
		3	1	0.73	0.72								
		3	3	0.62	0.61								
		3	7	0.69	0.68								
		3	14	0.65	0.64								
		3	30	0.36	0.36								
		3	60	0.30	0.29								
		3	90	0.16	0.16								
		3	121	0.10	0.10								
		3	247	<0.01	<0.01								
		3	272	<0.01	<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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

推定半減期：アミカルバゾン [A] +

火山灰 埴壤土
沖積 砂壤土

推定半減期：アミカルバゾン [A] 単体

火山灰 埴壤土 32.1 日
沖積 砂壤土 15.1 日

分析機関：

試料調製 及び 採取場所	被験物質の 処理方法		経過 日数	測定値 (mg/kg)							
				アミカルバゾン [A]							
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
植調研 茨城 (火山灰) 埴壤土 平成 26 年	粒剤 (1%)	-	直前	<0.01	<0.01						
		2	直後	3.16	3.12						
		2	1	3.09	3.02						
		2	3	5.09	4.94						
		2	7	2.99	2.99						
		2	14	2.32	2.28						
		2	30	2.42	2.41						
		2	59	0.93	0.88						
		2	90	0.45	0.41						
		2	120	0.09	0.09						
2	175	0.03	0.02								
新中国 グリーン研 広島 (沖積) 砂壤土 平成 26 年	20kg/10a	-	直前	<0.01	<0.01						
		2	直後	4.49	4.46						
		2	1	2.04	2.00						
		2	3	2.56	2.56						
		2	7	2.33	2.30						
		2	14	1.91	1.88						
		2	30	0.86	0.86						
		2	60	0.32	0.32						
		2	90	0.06	0.06						
		2	120	0.03	0.03						
2	180	0.03	0.02								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

1) 原体

No.	試験の種類 ・ 被験物質	供試生物	一群 当りの 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ または EC ₅₀ 値 (mg/L)				試験機関 (報告年)	頁
						24 時間	48 時間	72 時間	96 時間		
F-1 GLP	魚類急性 毒性試験 原体 ()	コイ	10	止水式	22.1~ 22.4	>96.1 ¹⁾				(2012 年)	18
F-2 GLP	ミジンコ類 急性遊泳 阻害試験 原体 ()	オオミジンコ	20	止水式	19.6~ 20.5	—	40.8 ¹⁾	—	—	(1998 年)	19
F-3 GLP	藻類生長 阻害試験 原体 ()	淡水緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 1.0×10 ⁴ cells/mL	振とう 培養法	23.8~ 24.3	ErC ₅₀ (72 時間) : 0.188 ¹⁾ NOEC : 0.0129 ¹⁾				(1999 年)	20

1) 実測濃度に基づく有効成分換算値

2) 製剤 (70.0%水和剤)

No.	試験の種類 ・ 被験物質	供試生物	一群 当りの 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ または EC ₅₀ 値 (mg/L)				試験機関 (報告年)	頁
						24 時間	48 時間	72 時間	96 時間		
FF-1 GLP	魚類急性 毒性試験 水和剤 (70.0%)	コイ	10	止水式	20.5~ 22.2	760	536	510	509	(2012)	21
FF-2 GLP	ミジンコ類 急性遊泳 阻害試験 水和剤 (70.0%)	オオミジンコ	20	止水式	20.3~ 20.5	> 100	24.2	—	—		22
FF-3 GLP	藻類生長 阻害試験 水和剤 (70.0%)	淡水緑藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	初期濃度 約 0.7×10 ⁴ cells/mL	振とう 培養法	22.5	ErC ₅₀ (0-72h) 0.166 NOECr (0-72h) 0.01					23

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1) 原体

(1) コイを用いた急性毒性試験

(資料 No.F-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：アミカルバゾン原体（純度 ）

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)

一群各 10 匹、全長（暴露終了時）；35~44 mm、体重（暴露終了時）；0.47~0.88 g

方 法：

暴露方法：止水式

暴露期間：96 時間

環境条件：

試験容器：300×300×300 mm (20L) のガラス製水槽

収容密度：10 匹/20 L

照明：室内光、1 日 16 時間照明

給餌：なし

希釈水：水道水（兵庫県宝塚市）を活性炭処理し残留塩素等を除去した脱塩素水

溶存酸素濃度：6.0~8.4 mg/L（飽和溶存酸素濃度の 60%以上）

pH：7.6~8.2

助剤使用：なし

試験水温：22.1~22.4℃

結 果：

試験濃度 ¹⁾ (mg/L)	設定濃度		
	平均実測濃度	96.1	
LC ₅₀ (mg/L) ²⁾	24 時間	>96.1	
	48 時間		
	72 時間		
	96 時間		

1) 有効成分換算値

2) 平均実測濃度に基づく値

本試験は での限度試験として実施、被験物質は本試験期間中設定濃度に維持され、平均実測濃度は 96.1 mg a.i./L であった。

被験物質に 96 時間暴露されたコイの累積死亡率は 0% でありいずれの中毒症状も見られず、本被験物質の平均実測濃度に基づく LC₅₀ (96 時間) は >96.1 mg a.i./L であった。また、対照区の死亡率は 0% であった。

(2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No.F-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

被験物質：アミカルバゾン原体 ()

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)

生後 24 時間以内、一群各 10 頭×2 反復

方 法：

暴露方法：止水式

暴露時間：48 時間

環境条件：

試験容器：1000 mL ホウケイ酸ガラス製ビーカー

収容密度：10 頭/900 mL

照明：1 日 16 時間照明 (光強度；平均 450 Lux)

給餌：なし

希釈水：活性炭処理及び脱塩素処理を施した井戸水及び逆浸透水を混合して調製し軟水
化処理した水

溶存酸素濃度：8.2~8.6 mg/L (飽和溶存酸素濃度の 90%以上)

pH：8.1~8.3

助剤使用：なし

試験水温：19.6~20.5°C

結 果：

試験濃度 ¹⁾ (mg/L)	設定濃度	
	平均実測濃度	15.0、25.2、40.8、69.5、119
EC ₅₀ (mg/L)	48 時間	40.8 (25.2~69.5)

1) 有効成分換算値

() 内は 95%信頼限界

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の であり、本被験物質は試験期間
を通じて設定濃度に維持された。

試験期間中に死亡例は観察されず、25.2 mg a.i./L 以下では遊泳異常も観察されな
かった。40.8 mg a.i./L 以上で表面浮上、着底、不規則な動きが観察され、EC₅₀ (48 時
間) 及び NOEC (48 時間) はそれぞれ 40.8 mg a.i./L 及び 25.2 mg a.i./L と算出され
た。

また、対照区では死亡、遊泳異常いずれも観察されなかった。

(3) 藻類生長阻害試験

(資料 No.F-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

被験物質：アミカルバゾン原体（純度 ）

供試生物：緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* SC-165 株)

初期細胞濃度： 1×10^4 cells/mL、反復：3 反復（対照区及び試験濃度区）

方 法：

暴露方法：振とう培養法（100 rpm）

暴露時間：96 時間

環境条件：

試験容器：250 mL ホウケイ酸ガラス製フラスコ

試験水量：100 mL

照明：約 4,400 Lux で連続照射

培地：pH7.5 の調製培地（ASTM 培地）

pH：7.5～8.6

助剤使用：なし

試験水温：23.8～24.3°C

結 果：

試験濃度 ¹⁾ ($\mu\text{g/L}$)	設定濃度	
		平均実測濃度
ErC ₅₀ ($\mu\text{g/L}$) 72 時間 ²⁾		188 (163～238)
NOEC _r ($\mu\text{g/L}$) 72 時間 ³⁾		12.9

1) 有効成分換算値

2) 申請者が平均実測濃度に基づき Logit 法を用いて算出

3) 申請者が平均実測濃度に基づきノンパラメトリック Dunnett 法を用いて算出

() 内は 95%信頼限界

被験物質の平均実測濃度は設定濃度の であり、本被験物質濃度は試験期間を通じて設定濃度に維持された。

対照区については、生物量は暴露期間中に 162 倍に増加し、24 時間後との生長速度の変動係数は平均 13.4%、繰り返し間の成長速度の変動係数は 0.54%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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) 製剤

(1) コイを用いた急性毒性試験

(資料 No. FF-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：アミカルバゾン水和剤 (70.0%)

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)

一群各 10 尾、全長；4.6 cm (4.3~4.8 cm)、体重；1.3 g (1.0~1.5 g)

方 法：

暴露方法：止水式

暴露期間：96 時間

環境条件：

収容密度：10 匹/50 L

照明：室内光で 16 時間照明

給餌：なし

通気：弱い通気を行った

希釈水：脱塩素水 (活性炭濾過水道水 (磐田市水))

溶存酸素濃度：87~100%

pH：7.6~8.2

試験液の調製：所定量の被験物質を希釈水と混合攪拌した。

試験水温：20.5~22.2°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	220、300、410、550、740、1,000
LC ₅₀ (mg/L) ¹⁾	24 時間	760 (673~867)
	48 時間	536 (472~605)
	72 時間	510 (432~573)
	96 時間	509 (446~562)

値は製剤濃度として記載、() 内は 95%信頼限界

1) Probit 法を使用

740mg/L 試験区以上の試験区で暴露 24 時間後から死亡が認められた。

740 mg/L 試験区では 48 時間後に、1,000 mg/L 試験区では 24 時間後に全ての魚に死亡が認められた。

症状としては、表層遊泳及び運動亢進が 300 mg/L 以上の試験区で、横転が 740 mg/L 試験区で認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No. FF-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質： アミカルバゾン水和剤 (70.0%)

供試生物： オオミジンコ (*Daphnia magna*)

一群各 20 頭 (生後 24 時間以内の個体)

方 法：

暴露方法： 止水式

暴露時間： 48 時間

環境条件：

収容密度： 5 頭/100mL、4 連

照明： 室内光で 16 時間照明

給餌： なし

希釈水： Elendt M4 培地

溶存酸素濃度： 8.2~8.5 mg/L

pH： 8.0~8.4

試験液の調製方法；所定量の被験物質を希釈水 (Elendt M4 培地) と混合攪拌して 10 mg/mL 基準液とし、所定量の基準液を希釈水に添加後、攪拌して調製した。

試験水温： 20.3~20.5°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	3、6、12、25、50、100
EC ₅₀ (mg/L)	24 時間	>100
	48 時間 ¹⁾	24.2 (19.1~31.7)

値は製剤濃度として記載

1) probit 法を使用

() 内は 95%信頼限界

症状としては、横転が 6 mg/L 以上の試験区で、触覚運動の減少が 12 及び 25 mg/L の試験区で、死亡が 25 mg/L 以上の試験区で、いずれも暴露 48 時間後に認められた。

(3) 藻類生長阻害試験

(資料 No. FF-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質： アミカルバゾン水和剤 (70.0%)

供試生物： 淡水緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* ATCC22662 株)

初期濃度：約 0.7×10^4 cells/mL、3 連 (対照区 6 連)

方 法：

暴露方法：振とう培養法 (100 rpm)

暴露時間：72 時間

環境条件：

照明：400~700 nm、73.0~73.4 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (連続照明)

pH：8.1~8.2

培地：OECD TG201 試験培地

試験液の調製方法：所定量の被験物質を OECD 培地に溶解して 10 mg/mL の試験原液を作製した後、試験容器に入れた 100 mL の試験用水に所定量の試験原液を添加し試験水を調製した。

試験温度：22.5°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.01、0.03、0.1、0.3、1
ErC ₅₀ (mg/L) ¹⁾	72 時間	0.166 (0.152~0.182)
NOEC (mg/L)	72 時間	0.01

値は製剤濃度として記載

1) logit 法を使用

() 内は 95%信頼限界

1 mg/L 区で藻類細胞の萎縮が認められた。また 0.3 mg/L 以下の試験区での異常は認められなかった。

対照区については、生物量は暴露期間中に 119 倍に増加し、24 時間後との生長速度の変動係数は平均 7.3%、繰り返し間の成長速度の変動係数は 1.3%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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

(1) ミツバチ

資料 No.	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当りの供試虫数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
E-1 GLP	ミツバチ急性経口接触毒性試験 原体 ()	セイヨクミツバチ (<i>Apis mellifera</i> L.) 成虫	10頭 5反復	経口毒性：5.0、9.9、19.8、39.3、73.6µg/頭混餌投与* 接触毒性：200µg/頭胸部腹面に処理	48時間経口LD ₅₀ ： 24.8 µg/頭*	(1998)
					48時間接触LD ₅₀ ： >200 µg/頭	
E-2	ミツバチ急性経口接触毒性試験 原体 ()	セイヨクミツバチ (<i>Apis mellifera</i> L.) 成虫	10頭 3反復	経口毒性：0.015、0.15、1.5、15、150µg/20µL ショ糖液を4～6時間給与。 接触毒性：11.604、116.04µg a.i./µL 胸部背面に処理。	96時間後経口LD ₅₀ ： >51.565 µg a.i./頭*	(2012)
E-3					96時間後接触LD ₅₀ ： >116.04µg a.i./頭	

*実質接種量としての値

(2) 蚕

資料 No.	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当りの供試虫数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
E-4	蚕急性毒性試験 原体 ()	蚕 朝日×東海 (4齢起蚕)	20頭 3反復	経口毒性：原体希釈液を人工飼料に混和し、9.05 mg/飼料 50g を給餌。	9.05mg/50g 飼料 4日後死亡率：0%	(2012)

(3) 天敵

資料 No.	試験名称及び被験物質	供試生物	一群当りの供試虫数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
E-5	タイリクヒメハナカメシ急性接触毒性試験 原体 ()	タイリクヒメハナカメシ (<i>Orius strigicollis</i>) 2齢幼虫	4頭 8反復	間接接触暴露試験：3.5 µg a.i./cm ² を試験容器表面に滴下拡散し、容器内に供試虫を放飼。	補正死亡率 2時間後：0% 96時間後：43.3%	(2012)
E-6	ミヤコブアリガニ急性接触毒性試験 原体 ()	ミヤコブアリガニ (<i>Amblyseius californicus</i>) 若虫	6～10頭 4反復	間接接触暴露試験：3.5 µg a.i./cm ² を試験容器表面に滴下拡散し、容器内に供試虫を放飼。	補正死亡率 2時間後：0% 48時間後：29.7% 96時間後：55.4%	(2012)
E-7	キイロタマゴバチ急性接触毒性試験 原体 ()	キイロタマゴバチ (<i>Trichogramma dendrolimi</i>) 雌成虫	12～21頭 4反復	間接接触暴露試験：3.5 µg a.i./cm ² を試験容器表面に滴下拡散し、容器内に供試虫を放飼。	死亡率 2時間後：0% 48時間後：42.0% 96時間後：100%	(2012)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) 鳥類

資料 No.	試験の種類 ・被験物質	供試 生物	一群 当りの供試 数	試験方法 (投与方法、投与量、試 験条件等)	試験結果	試験機関 (報告年)
B-1 GLP	経口投与 毒性試験 原体 ()	コリン ウズラ (<i>Colinus virginianus</i>)	10羽	63、125、250、500、1000、 2000mg a.i./kg ゼラチンカプセルを単回 経口投与 14日間観察	LC ₅₀ : >2000mg a.i./kg NOEC : 250mg a.i./kg 1000mg a.i./kg以上で死 亡及び毒性兆候が認め られた。	(1999)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

アミカルバゾン水和剤（70.0%）

- 1) 本剤は眼に対して刺激性があるので眼に入らないよう注意すること。眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。使用後は洗眼すること。
- 2) 公園等で使用する場合は、散布中及び散布後（少なくとも散布当日）に小児や散布に関係のない者が散布区域に立ち入らないよう縄囲いや立て札を立てるなど配慮し、人畜等に被害を及ぼさないよう注意を払うこと。

2. 解毒法及び治療法

特定の解毒法はなく、本剤を体外に排除し対症治療法による治療を行う。

3. 製造時、使用時等における事故例

製造時及び散布時における中毒症例はない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

Ⅷ. 毒性

(毒性一覧表)

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	一群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kg 又は mg/kg/日)	LD ₅₀ (mg/kg) 又は無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-1 (GLP)	急性毒性 (14 日間観察)	ラット	♂♀ 各 5	経口	♂ : 0、100、250、800、1000、1300、1600、3200、5000 ♀ : 0、100、250、800、1200、1600、3200、5000	♂ 1300 ♀ 1015	(1994)	33
T-2 (GLP)	急性毒性 (14 日間観察)	ラット	♂♀ 各 6	経皮	♂♀ : 0、2000	♂♀ > 2000	(1994)	35
T-3 (GLP)	急性毒性 (14 日間観察)	ラット	♂♀ 各 6	吸入 (ダスト)	♂♀ : 0、2242 mg/m ³ (4 時間、鼻部暴露)	♂♀ > 2242	(1995)	36
T-4 (GLP)	皮膚刺激性 (72 時間観察)	ウサギ	♂6	塗布	0.5 g/匹	刺激性なし	(1994)	38
T-5 (GLP)	眼刺激性 (72 時間観察)	ウサギ	♂6	点眼	0.1 mL/眼	極めて軽度の刺激性あり	(1994)	40
T-6 (GLP)	皮膚感作性 (48 時間観察)	モルモット	検体 ♀10 対照 ♀5	Maximization 法	感作 : 1.0% (皮内) 40% (経皮) 惹起 : 40% (経皮)	感作性なし	(2012)	42
T-7 (GLP)	皮膚感作性 (31 日間観察)	モルモット	検体 ♂♀ 各 10 対照 ♂♀ 各 5	Buehler 法	感作 : 100% (経皮) 惹起 : 100% (経皮)	感作性なし	(1995)	44
T-8-1 (GLP)	急性神経毒性 (15 日間観察)	ラット	♂♀ 各 12	経口	♂ : 0、20、150、600 ♀ : 0、20、100、400	♂♀ < 20 神経毒性あり	(1996)	46
T-8-2 (GLP)	補足試験 急性神経毒性 (神経毒性の無毒性量検討) (3 日間観察)	ラット	♂♀ 各 10	経口	♂♀ : 0、2、5、10	♂♀ 10	(1997)	54
T-8-3 (GLP)								56
	急性遅発性神経毒性							61

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	一群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kg 又は mg/kg/日)	LD ₅₀ (mg/kg) 又は無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-9 (GLP)	90 日間反復経口投与毒性 (4 週間回復)	ラット	♂♀ 各 15 (回復♂♀各 15)	飼料中混入	♂ : 0, 6.9, 17.8, 32.9, 67.2, 181.8, 353.8 ♀ : 0, 7.9, 20.5, 38.0, 77.7, 200.6, 396.8 0, 100, 250, 500, 1000, 2500, 5000 ppm	♂ 32.9 ♀ 38.0 500 ppm	(1997)	62
T-10 (GLP)	90 日間反復経口投与毒性	イヌ	♂♀ 各 4	飼料中混入	♂ : 0, 6.74, 27.03, 57.40 ♀ : 0, 6.28, 24.99, 62.11 0, 200, 800, 2000 ppm	♂ 6.74 ♀ 6.28 200 ppm	(1998)	82
T-11 (GLP)	21 日間反復経皮投与毒性	ラット	♂♀ 各 10	経皮	♂♀ : 0, 200, 500, 1000	♂♀ 1000	(1998)	95
	90 日間反復吸入毒性							104
T-12 (GLP)	90 日間反復神経毒性	ラット	♂♀ 各 12	飼料中混入	♂ : 0, 6.7, 33.4, 66.5 ♀ : 0, 7.8, 38.2, 75.8 0, 100, 500, 1000 ppm	一般毒性 ♂ 66.5 ♀ 7.8 神経毒性 ♂ 66.5 ♀ 75.8 一般毒性 ♂ 1000 ppm ♀ 100 ppm 神経毒性 ♂♀ 1000 ppm 神経毒性なし	(1999)	105
	28 日間反復遅発性神経毒性							113
T-13 (GLP)	1 年間反復経口投与毒性 (1 年間)	イヌ	♂♀ 各 4	飼料中混入	♂ : 0, 1.6, 2.5, 8.9, 31.5 ♀ : 0, 1.8, 2.3, 8.7, 34.6 0, 75, 100, 300, 1200 ppm	♂ 1.6 ♀ 1.8 75 ppm	(1999)	114
T-14 (GLP)	1 年間反復経口投与毒性/発がん性 (24 カ月間)	ラット	中間屠殺 低/中 ♂♀ 各 10 対照/高用 ♂♀ 各 20 最終屠殺 ♂♀ 各 50	飼料中混入	♂ : 0, 2.3, 25, 67 ♀ : 0, 2.7, 30, 65 ♂ : 0, 50, 500, 1250 ppm ♀ : 0, 50, 500, 1000 ppm	♂ 2.3 ♀ 2.7 50 ppm 発がん性なし	(1999)	124
T-15 (GLP)	発がん性 (18 カ月間)	マウス	♂♀ 各 50	飼料中混入	♂ : 0, 15.7, 245, 709 ♀ : 0, 17.9, 275, 806 0, 100, 1500, 4000 ppm	♂ 15.7 ♀ 17.9 100 ppm 発がん性なし	(1999)	151

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	一群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kg 又は mg/kg/日)	LD ₅₀ (mg/kg) 又は無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-16 (GLP)	繁殖毒性 (2世代)	ラット	♂♀各30	飼料中混入	P世代 ♂: 0, 6.0, 31.6, 67.1 ♀: 0, 6.9, 35.8, 77.1 F ₁ 世代 ♂: 0, 6.8, 36.2, 79.3 ♀: 0, 7.7, 41.6, 90.9 0, 100, 500, 1000 ppm	一般毒性: 親動物 ♂6.0, ♀6.9 100 ppm 児動物 ♂6.8, ♀7.7 100 ppm 繁殖性: 親動物 ♂67.1, ♀77.1 1000 ppm 児動物 ♂79.3, ♀90.9 1000 ppm	(1998)	166
T-17-1 (GLP)	催奇形性 (妊娠6~19日、14日間)	ラット	♀30	経口	0, 15, 100, 300	母動物 15 胎児 15 催奇形性なし	(1999)	174
T-17-2 (GLP)								181
T-18-1 (GLP)	催奇形性 (妊娠6~28日、23日間)	ウサギ	♀22	経口	0, 5, 20, 70	母動物 5 胎児 20 催奇形性なし	(1999)	189
T-18-2 (GLP)								196
T-19 (GLP)	変異原性 復帰変異性	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537, TA98, TA100		<i>in vitro</i>	0, 16, 50, 158, 500, 1581, 5000 µg/プレート	陰性	(1995)	203
T-20 (GLP)	変異原性 復帰変異性	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537, TA98, TA100 大腸菌		<i>in vitro</i>	0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレート	陰性	(2012)	206
T-21 (GLP)	変異原性 染色体異常	チャイニーズハムスター肺細胞 (V79細胞)		<i>in vitro</i>	0, 1000, 2000, 3000 µg/mL	陰性	(1997)	209
T-22 (GLP)	変異原性 小核試験	マウス	♂♀各5	腹腔内	0, 100	陰性	(1997)	212
T-23 (GLP)	変異原性 小核試験	ラット	♂各5	経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	陰性	(2012)	215
T-24 (GLP)	変異原性 遺伝子突然変異 (HPRTアッセイ)	チャイニーズハムスター肺細胞 (V79細胞)		<i>in vitro</i>	0, 250, 500, 1000, 2000, 4000 µg/mL	陰性	(1997)	217

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試生物	一群当りの動物数	投与方法	投与量 (mg/kg 又は mg/kg/日)	LD ₅₀ (mg/kg) 又は無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-25 (GLP)	症状観察 (Iwin 変法)	ラット	♂ 各 6	経口	0、1、20、100	1	(1996)	221
T-26 (GLP)	症状観察 (Iwin 変法) (最小毒性量推定)	ラット	♂ 各 6	経口	0、2.5、5、10	5	(1996)	222
T-27 (GLP)	中枢神経系 生体機能への影響	マウス	♂ 各 10	経口	0、1、20、100	20	(1996)	223
						20		
						20		
						20		
						20		
						20		
						20		
T-28 (GLP)	中枢神経系 生体機能への影響	ラット	♂ 各 5~10	経口	0、1、20、100	>100	(1996)	226
						20		
						1		
						1		
						1		
T-29 (GLP)	呼吸器系 腎機能 生体機能への影響	ラット	♀ 各 5	経口	0、80、400、2000	80	(2012)	229
						>2000		
						80		
T-30								234

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試 生物	一群 当りの 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg 又は mg/kg/日)	LD ₅₀ (mg/kg) 又 は無毒性量 (mg/kg/日)	試験機関 (報告年)	記載頁
T-31 (GLP)	発達神経毒性 (妊娠0日～ 哺育21日)	ラット	♀30	飼料中 混入	妊娠中：0、7.8、39.3、 90.8 哺育期：0、16.6、84.1、 177.3	一般毒性：妊 娠中 7.8 哺育期 16.6 100 ppm	(2001)	239
					0、100、500、1000 ppm	発達神経毒 性： 妊娠中 90.8 哺育期 177.3 1000 ppm 発達神経毒性 なし		
T-32 (GLP)								258
T-33 (GLP)								264

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 (期間)	供試 生物	1群 当りの 動物数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ または無 毒性量(mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
FT-1 (GLP)	急性毒性 70.0%水和剤 (14日間観察)	ラット	♀3	経口	2000	♀ > 2000	(2012)	272
FT-2 (GLP)	急性毒性 70.0%水和剤 (14日間観察)	ラット	♂5 ♀5	経皮	2000	♂ > 2000 ♀ > 2000		273
FT-3 (GLP)	皮膚刺激性 70.0%水和剤 (3日間観察)	ウサギ	♀3	貼付	0.5 g/匹	刺激性なし		274
FT-4 (GLP)	眼刺激性 70.0%水和剤 (14日間観察)	ウサギ	非洗眼 ♀3 洗眼 ♀3	点眼	0.1 mg/眼	中程度の刺激性		276
FT-5 (GLP)	皮膚感作性 70.0%水和剤 (30日間観察)	モルモット	検体 ♀20 対照 ♀10	経皮	Buehler 法 感作; 50% 惹起; 50%	感作性なし		279

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

1. 原体を用いた試験成績

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. T-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体純度： (1993 年 12 月 14 日)、 (1994 年 6 月 17 日)

供試動物： SD 系ラット、投与時雄 8～9 週齢、雌 9～10 週齢
体重：雄 164～236 g、雌 174～202 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を 0.5% (w/v) カルボキシメチルセルロース及び 0.4% (v/v) Tween 80 を含む脱イオン水溶液で所定濃度(雄 8 濃度及び雌 7 濃度)に懸濁調製し、単回強制経口投与した。なお、投与液量は 20 mL/kg とした。対照群には 0.5% (w/v) カルボキシメチルセルロース及び 0.4% (v/v) Tween 80 を含む脱イオン水溶液のみを同様に投与した。投与前は一晚絶食させた。
なお、投与液の実測濃度を化学分析法により求めた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を投与後 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。また、試験期間中に死亡した全動物の最終体重を測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。
LD₅₀ 値は死亡率からプロビット (Probit) 法により算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：(実測投与量に基づき評価した。)

投与方法	経 口	
	雄	雌
設定投与量 (mg/kg)	0、100、250、800、1,000、 1,300、1,600、3,200、5,000	0、100、250、800、1,200、 1,600、3,200、5,000
実測投与量 (mg/kg)	0、98.4、252、816、978、 1,334、1,710、3,388、5,210	0、98.4、252、816、1,218、 1,710、3,388、5,210
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	1,300 (1,085~1,639)	1,015 (653~1,395)
死亡開始及び 終了時間	投与後当日より開始 投与後 2 日に終了	投与後当日より開始 投与後 2 日に終了
症状発現及び 消失時間	投与当日より発現 投与後 7 日に消失	投与当日より発現 投与後 8 日に消失 <small>申請者註</small>
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	98.4	98.4
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	816	252

中毒症状として、雌雄ともに活動低下、流涎、痙攣、頭部及び腹部周辺の各種汚れ及び分泌物並びに接触時の動物の跳躍が認められた。

死亡は、雄では 978 mg/kg 以上、雌では 816 mg/kg 以上の群で認められた。

体重は、978 mg/kg 以上の群の雄生存動物では、投与後 0~7 日に用量に相関して体重増加量が減少したが、投与後 14 日には回復した。雌の生存動物では、体重増加量に対する検体投与の影響は認められなかった。

死亡動物の剖検では、流涎の痕跡、腹部の汚れ、肺の赤色化及び胃腺部粘膜の黒色領域が認められたが、試験 14 日まで生存した動物の剖検では検体投与による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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) アミカルバゾン原体のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. T-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体純度： (1993 年 12 月 14 日)、 (1994 年 6 月 17 日)

供試動物： SD 系ラット、投与時雄 約 8 週齢、雌 10 週齢、体重：雄 231~256 g、雌 204~243 g、
1 群雌雄各 6 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： ビニールで裏張りしたガーゼ (約 16 cm²) に均一に広げた検体を水道水で湿らせた後、
ガーゼを剪毛した背部皮膚に貼付して低アレルギー性テープ及び伸縮性包帯で閉塞し
た。貼付約 24 時間後、包帯及びパッドを除去し、貼付部位を水道水で湿らせた紙タ
オルで清拭した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を投与後 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14
日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 皮	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、2,000	
LD ₅₀ (mg/kg)	> 2,000	> 2,000
死亡開始及び 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	症状発現なし	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2,000	2,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2,000	2,000

検体投与に起因する中毒症状は認められなかった。

体重及び剖検では、検体投与による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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No. T-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度： (1993 年 12 月 14 日)、 (1994 年 6 月 17 日)

供試動物： SD 系ラット、投与時 7~9 週齢、体重：雄 199~232 g、雌 195~214 g、
1 群雌雄各 6 匹

観察期間： 14 日間

暴露方法： 微粉碎した検体をダスト発生装置を用いてダスト発生させ、粒子の大きなダストをプレセパレーターで分離した後に、チャンバー内に噴射し、4 時間鼻部暴露した。
対照群は、同様の手順で導入した室内の空気に暴露した。暴露空気をフィルター（孔径 0.45 μm ）を用いて捕集し、重量測定法により実測濃度を求めた。

暴露条件：

設定暴露濃度 (mg/m^3)	0	2,000
実測暴露濃度 (mg/m^3)	—	2,242
平均粒子径 (μm)	—	3.72
呼吸可能な粒子 (<4 μm) 径分布 (重量比%)	—	53
チャンバー容積 (L)	27	
チャンバー内通気量 (L/分)	21	
暴露条件	ダスト 4 時間 鼻部暴露	

観察・検査項目：中毒症状及び生死を暴露直後ならびに暴露後連日 14 日間観察した。体重は暴露直前、暴露後 3、7 及び 14 日に測定した。
観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：（実測濃度に基づき評価した。）

投与方法	吸 入	
	雄	雌
実測暴露濃度 (mg/m ³)	0、2,242	
LC ₅₀ (mg/m ³)	> 2,242	> 2,242
死亡開始及び 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	暴露当日に発現* 暴露終了2日後に消失	暴露当日に発現* 暴露終了2日後に消失
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/m ³)	—	—
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/m ³)	2,242	2,242

*暴露中の観察は実施していない。

中毒症状として、雌雄ともに、きわめて軽度の鼻及び口の汚れ、粗毛が認められ、雄ではさらに流涙が認められた。また、対照群では雌雄各1例で粗毛が認められた。体重及び剖検では、検体投与による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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. T-4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年

検体純度: (1993 年 12 月 14 日)、 (1994 年 6 月 17 日)

供試動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、投与時約 11 週齢、1 群雄 6 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 検体 0.5 g をガーゼパッチに塗布し、刈毛した動物の背中中の皮膚に閉塞貼付した。4 時間の暴露時間後、皮膚に残った検体は水道水で湿らせた紙タオルを用いて拭き取った。

観察項目: 暴露終了の 0.5~1、24、48 及び 72 時間後に適用部分の刺激性変化 (紅斑、浮腫) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。各動物の 0.5~1、24、48 及び 72 時間後の紅斑及び浮腫の評点を合計して 4 で割り、個体別刺激率を求め、これらを平均して皮膚一次刺激率を求めた。その他の病変及び毒性徴候についても観察した。

結 果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

いずれの動物でも、刺激性 (紅斑及び浮腫) の徴候は認められなかった。その結果、一次刺激率は 0.0 であった。その他の病変及び毒性徴候も認められなかった。

以上の結果から、アミカルバゾン原体はウサギの皮膚に対して刺激性を有しないと判定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

動物 番号	項 目	最高 評点	暴露後時間			
			0.5~1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
7	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
8	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. T-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体純度： (1993 年 12 月 14 日)、 (1994 年 6 月 17 日)

供試動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ、投与時約 11 週齢 (80 日齢)、1 群雄 6 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 検体約 52 mg (0.1 mL 重量相当) を左眼に適用し、眼瞼を閉じて約 1 秒間保持した。右眼は無処置対照とした。

観察項目： 適用の 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、EPA-FIFRA ガイドライン (1984 年) に従って採点した。

結 果： 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

いずれの動物においても角膜及び虹彩に、病変又はその他の刺激性の徴候は認められなかった。一過性の結膜の分泌物 (評点 2)、並びに結膜浮腫 (評点 1) 及び発赤 (評点 1) が認められたが、これらは適用 1 時間後に発現し、全動物で適用 72 時間後までに消失した。眼病変に関する FIFRA 評価基準に基づけば陽性の影響は認められなかった。

以上の結果から、アミカルバゾン原体はウサギの眼粘膜に対して、きわめて軽度の刺激性を有すると判定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項 目		最高 評点	適用後時間					
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 2	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物	3	2	0	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0
			分泌物	3	0	0	0	0
	動物 番号 9	角膜混濁	4	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	1	1	1	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	
動物 番号 10	角膜混濁	4	0	0	0	0		
	虹 彩	2	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	
		浮腫	4	1	1	0	0	
		分泌物	3	2	0	0	0	
動物 番号 11	角膜混濁	4	0	0	0	0		
	虹 彩	2	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	
動物 番号 12	角膜混濁	4	0	0	0	0		
	虹 彩	2	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	
		分泌物	3	2	0	0	0	
合 計*		96	18	7	3	0		
平 均*		16	3	1.2	0.5	0		

* 申請者が算出
 合計＝全動物の評点総計
 平均＝全動物の評点総計／動物数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(3) 皮膚感作性

(資料 No. T-6)

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

検体純度：

供試動物： Hartley 系モルモット、投与時 6 週齢、体重；336～389 g
検体感作群；1 群雌 10 匹、対照群；1 群雌 5 匹

観察期間： 惹起処理終了後 48 時間

試験操作： [Maximization 法]

投与量設定根拠：

感作； 一次感作（皮内）

胸背部を除毛し、左右各々の区画（2×4 cm）に、以下に示す 3 対の皮内投与（0.1 mL /箇所）を行った。

上 部：FCA と蒸留水の 1：1 乳化物

中央部：検体の 1%オリーブ油溶液

下 部：検体の 2% FCA 溶液と蒸留水の 1：1 乳化物

検体非感作群には投与液から検体を除き、上記と同様に処置した。

二次感作（経皮）

一次感作の 7 日後、検体の 40%ワセリン溶液 0.2 mL を展延した濾紙（2×4 cm）を胸背部に貼付し、サージカルテープを用いて 48 時間閉塞貼付した。

検体非感作群には検体を除いて同様に処置した。

惹起； 二次感作の 14 日間後、検体の 40%ワセリン溶液 0.1 mL を展延した濾紙（2×2 cm）を、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

除毛した腹背部に貼付し、サージカルテープを用いて24時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起24及び48時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

皮膚反応の判定基準	評点
肉眼的に変化なし	0
軽度又はまばらな紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強度の紅斑及び浮腫	3

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を次表に示す。

群	感作			惹起	供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)				
						24時間後				計	48時間後				計	24時間	48時間	合計
						皮膚反応評点					皮膚反応評点							
						0	1	2	3		0	1	2	3				
検体	1.0% 検体	40% 検体	40% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0	
	媒体	媒体	40% 検体	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0	0	
陽性 対 照	0.1% CDNB	0.1% CDNB	0.1% CDNB	5	0	0	1	4	5/5	0	0	3	2	5/5	100	100	100	

陽性対照 CDNB：1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン

検体処理群及び非処理群ともに、皮膚反応は認められなかった。一方、陽性対照群には、全動物に明瞭な紅斑が認められた。

以上の結果から、アミカルバゾン原体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. T-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度：

供試動物： Hartley 系モルモット、投与時約 5 週齢、体重；雄 314.9～369.7 g、雌 300.2～352.4 g、
検体感作群；1 群雌雄各 10 匹、対照群；1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 感作開始後 31 日間

試験操作： [Buehler の局所閉鎖パッチ法 (Buehler Topical Closed-Patch Technique)]

投与量設定根拠；

感作； 未希釈の検体 0.4 g をガーゼパッチ (2 cm×2 cm) に塗布した後、ただちに脱イオン水でパッチを湿らせ、除毛した左肩部に 6 時間閉塞貼付した。感作処理は、試験開始時、試験開始 7 日及び 14 日後に合計 3 回実施した。

惹起； 最終感作の 14 日後 (試験 28 日) に、感作処理と同様の方法で未希釈の検体 0.4 g を除毛した左側腰部に 6 時間閉塞貼付した。検体非感作群の動物には惹起処理のみを行った。

観察項目： 3 回の感作処理後毎及び惹起処理後、それぞれ約 24、48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従って採点した。観察時における動物の反応を、頻度 (評点 1 以上の反応が観察された動物を供試動物数で除した値) 及び重篤度 (全動物の観察時における評点の平均値) で示し、対応する非感作動物の反応と比較した。その他の病変及び毒性徴候が認められた場合は記録した。又、試験 0 日及び 31 日に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

評点	判定基準
0	紅斑なし
1	軽度の、かろうじて識別できる紅斑
2	中等度の、はっきりと識別できる紅斑
3	重度の、投与範囲を超えた顕著な紅斑

結果： 惹起後の各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数												陽性率 (%)						
				24 時間後				48 時間後				72 時間後				24 時間	48 時間	72 時間	合計			
				皮膚反応 評点			計	皮膚反応 評点			計	皮膚反応 評点			計							
				0	1	2		3	0	1		2	3	0		1	2	3				
検体	100% 検体	100% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0	0
	—	100% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0	0
陽性対照	1 mg/mL DNCB	1 mg/mL DNCB	20	0	0	20	0	20/20	0	8	12	0	20/20	10	9	1	0	10/20	100	100	50	100
	—	1 mg/mL DNCB	10	10	0	0	0	0/20	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0	0

陽性対照については、本試験の6ヵ月以内に、同研究所で別の試験として、雌雄モルモット（適用開始時に約5週齢）にDNCB（1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン）を暴露した試験結果を使用した。DNCBの溶媒には50%（v/v）エタノール/脱イオン水を用い、容量0.4 mLで適用した。

3回の感作処理後及び惹起処理後のいずれの観察時間においても、検体感作群及び非感作群の動物に紅斑は観察されなかった。従って、惹起投与後の検体感作群における頻度指数は0.0、重篤度指数も0.0であった。

なお、本試験では陽性対照群を設定しなかったが、本試験の6ヵ月以内に別の試験として、DNCB（1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン）を用いて実施した試験の結果、DNCB惹起暴露による雄動物の頻度指数及び重篤度指数はそれぞれ1.0及び1.47、雌動物ではそれぞれ1.0及び1.30であり、本試験方法の感度、信頼性及び妥当性が確認された。

以上の結果から、アミカルバゾン原体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) 急性神経毒性

1) ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 No. T-8-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体純度：

供試動物：Fischer 344 CDF 系ラット、投与時約 9 週齢、体重：雄 175～184 g、雌 176～185 g、
1 群雌雄各 12 匹

観察期間：15 日間

投与方法：検体を 0.5%メチルセルロース-0.4% Tween 80 水溶液に懸濁して、雄には 0、20、150 及び 600 mg/kg、雌には 0、20、100 及び 400 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食し、投与容量は 10 mL/kg とした。

投与量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率；全ての動物について 1 日 1 回以上、死亡又は瀕死状態の有無を観察した。

600 mg/kg 投与群の雄 5 例及び 400 mg/kg 群の雌 1 例が、投与当日（0 日目）又は投与後 1 日以内に死亡した。これらの死亡は検体投与に起因するものであった。投与期間中にこれら以外の死亡は認められなかった。

一般状態；全ての動物について 1 日 1 回、臨床観察を行った。

検体投与に関連していると考えられる症状の発現頻度を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

症状発現頻度

性別	雄				雌			
	0	20	150	600	0	20	100	400
投与量 (mg/kg)	0	20	150	600	0	20	100	400
症状\検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
尿による汚れ	0	0	0	0	0	0	2	12
口部 汚れ	0	0	5	7	0	0	3	10
鼻部 汚れ (赤色)	0	1	8	6	0	0	1	11
眼瞼下垂	0	1	0	5	0	0	0	6
透明な鼻汁	0	0	0	5	0	0	0	4
流涎	0	0	0	3	0	0	0	4
尾の外傷 (自咬による)	0	0	0	0	0	0	0	2
前肢の汚れ	0	0	0	2	0	0	0	2
紅涙による汚れ	0	0	0	2	1	0	0	1
反応性増加	0	0	0	1	0	0	0	0

太枠は検体投与の影響であることを示す。

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

統計解析は実施しなかった。

検体投与に関連した臨床徴候が、3用量全群の雄並びに100及び400 mg/kg 投与群の雌で認められた。20 mg/kg 群の雄では、鼻部の赤色の汚れと眼瞼下垂が認められた。死亡がみられなかった最高用量である150 mg/kg 群の雄及び100 mg/kg 群の雌では、鼻口部の汚れ (赤色の汚れを含む)、雌では尿による汚れも認められた。高用量群では、これらに加えて、眼瞼下垂、透明な鼻汁、流涎、尾の外傷、紅涙による汚れ、反応性増加及び前肢の汚れが認められた^{申請者註}。雌雄ともに検体投与に関連した症状の多くは投与当日 (0日目) に発現、致死量以下の用量群での症状は投与後0~9日以内に消失した。

体重変化；全ての動物の体重を週1回測定した。

いずれの用量においても、各測定時点の体重は対照群の値と同等であり、検体投与による影響は認められなかった。

詳細な状態観察；投与開始前、投与日 (0日目) の最大影響発現時点 (投与後約3時間)、7日目及び14日目に全動物を対象として、以下の項目について観察した。

ホームケージ内観察；姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動 (間代性、強直性)、発声取扱い時の観察；ケージからの取り出し易さ、保定に対する反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、瞳孔サイズ、瞳孔反射、流涙、流涎、汚れ

オープンフィールド観察；立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動 (間代性、強直性)、常同行動、異様な行動、歩行異常、発声、覚醒状態、立ち上がり、排糞、排尿

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

反射反応 ; 接近反応、接触反応、聴覚反応、痛覚反応 (テイルピンチ)、
 正向反射

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目及び投与の影響と考えられる所見の
 発現頻度を次表に示す。

詳細な状態観察結果

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg)		0	20	150	600	0	20	100	400
	症状\検査動物数		12	12	12	12	12	12	12	12
0日	ホームケージ内観察 ;									
	反復咀嚼		0	0	0	2	0	0	0	0
	振戦		0	0	0	3*	0	0	0	0
	座位で前肢の反復動作		0	0	0	0	0	0	0	1
	歩行失調		0	0	0	0	0	0	0	1
	活動性低下		0	0	0	3*	0	0	0	1 ^a
	眼瞼下垂		0	3	10*	12*	0	1	9*	12*
	前肢の反復動作		0	0	0	3	0	0	0	1
	取扱い時の観察 ;									
	取出し易さ 保定回避		0	0	0	1	0	0	0	1
	発声を伴い軽度抵抗		0	0	1	5	0	0	1	0
	筋緊張 強固		0	0	0	4*	0	0	0	1
	眼瞼閉鎖 半閉鎖		0	0	0	11*	0	0	1	11*
	完全閉鎖		0	0	0	1 ^a	0	0	0	1 ^a
	流涙		0	0	0	0	0	0	0	6*
	流涎 (透明) 軽度		0	0	0	7*	0	0	0	7*
	中等度~重度		0	0	0	1 ^a	0	0	0	0
	(赤色) 軽度		0	0	0	0	0	0	0	1 ^a
	鼻部 汚れ (透明)		0	0	0	3*	0	0	0	9*
	(赤色)		0	0	3	3	0	0	2	2
	口部 汚れ (透明)		0	1	4	3	0	0	0	2
	(赤色)		0	0	3*	0	0	0	3*	0
	オープンフィールド観察 ;									
	円背姿勢		0	0	0	1	0	0	0	0
	座位で前肢の反復動作		0	0	0	1	0	0	0	1
	振戦		0	0	0	3*	0	0	0	0
	歩行失調		0	0	0	1	0	0	0	1
	覚醒状態									
	ほとんど動きなし		2	2	0	2	0	0	0	1 ^a
	いくらか探索行動あり		3	4	4	3	1	2	0	5*

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

* : 対照群との有意差検定は SAS の GLM 及び CATMOD 法を用いて行った (P ≤ 0.05)。

a: 申請者註 :

詳細な状態観察結果 (つづき)

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg)		0	20	150	600	0	20	100	400
	症状\検査動物数		12	12	12	12	12	12	12	12
0 日	オープンフィールド観察；									
	眼瞼下垂		0	7	9	12	1	0	6	11
	前肢の反復動作		0	0	0	3	0	0	0	0
	排尿回数 (尿溜り数)		0.5	0.5	0.8	0.7	0.2	0.1	0.1	↑0.9
	反射反応；									
	接近反応 軽度反応		8	6	5	1*	8	10	9	1*
	無反応		4	6	7	11*	4	2	3	11*
正向反射 軽度失調		1	0	0	2	0	0	2	2	
側面で着地		0	0	0	1	0	0	0	2	
7 日	ホームケージ内観察；									
	尾 外傷		0	0	0	0	0	0	0	2
	取扱い時の観察；									
	口部 汚れ (赤色)		0	0	0	0	0	0	0	1
	尿による汚れ 軽度		0	0	0	0	0	0	1	2
中等度		0	0	0	0	0	0	0	1	
前肢の汚れ		0	0	0	0	0	0	0	1	
14 日	ホームケージ内観察；									
	尾 外傷		0	0	0	0	0	0	0	2
	尿による汚れ 軽度		0	0	0	0	0	0	0	2

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

*：対照群との有意差検定は SAS の GLM 及び CATMOD 法を用いて行った ($P \leq 0.05$)。

↑：対照群との有意差検定は Dunnett 検定を用いて行った ($P \leq 0.05$)。

太枠は検体投与の影響であることを示す。

投与当日 (0 日目) には 3 用量全群において、雌雄ともに検体に関連した影響が認められた。20 mg/kg 投与群での変化は雌雄での眼瞼下垂と雄での口部の透明の汚れのみであった。中間用量である雄の 150 mg/kg 群並びに雌の 100 mg/kg 群では、雌雄の眼瞼下垂と雄での口部の透明の汚れの発現が増加するとともに、雌雄で鼻部における赤色の汚れ、雌で正向反射の障害も認められた。これらの変化には、一部に統計学的有意差が認められなかったものもあったが、対照群ではみられなかったこと、用量相関性があること、投与当日に特異的に発現していることから、投与に関連した変化と考えられた。しかし、投与群でみられた被験物質に関連した変化は、投与後 7 日目の観察時までにはすべて消失していた。同用量において、さらに雌雄での口部の赤色汚れがみられたが、用量相関性がみられないことから、投与とは無関係と判断した。その他の検体に関連した影響は、いずれも致死用量である雄の 600 mg/kg 及び/あるいは雌の 400 mg/kg 群でのみ認められた。これらの変化の一部には統計学的有意差が認められなかったものもあったが、対照群ではみられなかったこと、用量相関性があること、投与当日に特異的に発現していることから、投与に関連した変化と考えられた。投与後 7 日目の観察時においても検体に

関連した変化が継続して認められたのは400 mg/kg 群の雌のみであった。これらのうち、口部の汚れと前肢の汚れは7日目まで、尾の外傷と尿汚れは14日目までみられた。0日目に観察されたその他の変化は偶発的であり、検体投与との関連はないと考えられた。

機能検査；投与開始前、投与日（0日目）の最大影響発現時点（投与後約3時間）、7日目及び14日目に全動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

体温、体重、前肢及び後肢握力、着地開脚幅、自発運動量（8字型迷路）、移動運動量

自発運動量は、90分間のセッション全体及び10分間の各インターバルについて光線遮断回数として測定した。移動運動量は、同様にセッション全体及び各インターバルについてある光線を遮断した後移動をし、別の光線を遮断した場合にはじめて1回と計数して測定した。

対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた項目を次表に示す。

機能検査結果

検査時期	性別	雄				雌					
		投与量 (mg/kg)		0	20	150	600	0	20	100	400
0日	体温 ^a		100	100	↓98	↓94	100	100	↓98	↓93	
	着地開脚幅 ^a		100	98	92	100	100	102	↓81	102	
	自発運動量 ^b	インターバル1	189	180	↓78	↓83	236	209	↓138	↓106	
		インターバル4	6	7	7	↑27	42	67	19	30	
		インターバル6	1	6	14	↑18	11	30	22	35	
		インターバル8	3	1	1	↑18	13	29	32	55	
		インターバル9	2	1	5	↑19	3	34	37	52	
	移動運動量 ^b	インターバル1	72	71	↓24	↓26	89	76	↓42	↓34	
		インターバル2	25	24	↓5	18	47	41	↓18	↓18	
		インターバル6	0	1	2	↑8	4	10	7	7	
		インターバル8	0	0	0	↑6	0	8	13	6	
		インターバル9	0	0	1	↑6	0	8	13	5	
	7日	自発運動量 ^b	インターバル1	265	254	248	220	230	↑298	↑307	259

↑↓：対照群との有意差検定はDunnnett検定を用いて行った（ $P \leq 0.05$ ）。

a：表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表す。

b：表中の数値は実測値を示す。

太枠は検体投与の影響であることを示す。

0日目には、150及び600 mg/kg 投与群の雄並びに100及び400 mg/kg 投与群の雌で検体投与に影響した体温低下が認められたが、投与後7日目の観察時までには消失した。

また、0日目には検体投与に関連した自発運動量及び移動運動量の減少が150及び600 mg/kg 投与群の雄並びに100及び400 mg/kg 投与群の雌で認められた。これらの群では、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

0 日目のセッションの最初のインターバル又は最初の 3 回のインターバルでの自発運動量及び移動運動量が対照群に比して減少した。しかし、その後のインターバルでの運動量が対照群に比して同等又は軽度に増加したことから、総運動量には対照群と差が認められなかった。自発運動量には投与後 7 日目の観察時までには完全な回復がみられ、7 及び 14 日目の運動量には対照群と比較して有意な差は認められなかった。なお、7 日目のインターバル 1 の自発運動量で雌の 20 及び 100 mg/kg 群で統計学的有意差が認められたが、この間のみ認められ、用量相関性がないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

前肢及び後肢の握力、着地開脚幅に検体投与に関連する影響は認められなかった。0 日目に 100 mg/kg 群の雌で平均開脚幅の減少がみられたが、用量相関性がないことから、偶発的であり、検体投与との関連はないと考えられる。

臓器重量；試験終了時に灌流固定した各群雌雄各 6 匹を対象に脳重量を測定し、対体重比を算出した。

いずれの投与群においても、脳重量は大差なく、検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時に全生存動物を対象に検査した。

最終屠殺時に認められた検体投与に関連した肉眼的病変は、高用量群の生存雌 (BF3101) 1 例において屠殺時まで継続してみられた自咬による尾の外傷のみであった。途中死亡した雄 5 例及び雌 1 例で認められた検体投与に関連した肉眼的所見は、臨床所見と同じであった。又、途中死亡した雄 1 例で腹側頸部に浮腫が認められたが、投与との関連は不明であった。

病理組織学的検査；試験終了時に各群雌雄各 6 匹を対象に、ペントバルビタールの腹腔内投与で深麻酔し、亜硝酸ナトリウム溶液を用いて灌流した。次いで、4%グルタルアルデヒドと 4%ホルムアルデヒドのリン酸緩衝液を用いて *in situ* 固定し、10%緩衝ホルマリンで後固定した。対照群及び最高用量群の以下の組織並びに中間用量群の脳について病理標本作製し鏡検した。

以下の組織はパラフィンに包埋し、ヘマトキシリン及びエオジン (H&E)、ルクソール・ファスト・ブルー/クレシル・バイオレット及び Sevier-Munger で染色した。

脳、脊髄 (頸部、胸部、腰部、馬尾)

以下の組織はメタクリル酸グリコール (GMA) に包埋し、改変 Lee 染色液で染色した。

後根神経節 (後根及び前根線維を含む)、ガッセル神経節、眼、視神経、腓腹筋

以下の組織はエポキシ樹脂に包埋し、トルイジンブルーで染色した。

坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

認められた主な病理組織学的所見を次表に示す。

神経病理組織学的検査結果

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		0	150	600	0	100	400
臓器	所見\検査動物数	6	6	6	6	6	6
脳 ^a レベル5	神経細胞壊死	0	0	1	0	0	1
	神経線維変性	1	0	1	1	0	0
脳 ^a レベル7	軸索膨化	2	0	1	0	0	1
	神経線維変性	6	5	4	3	6	4
脳 ^a レベル8	軸索膨化	0	0	1	0	0	0
眼	変性	1	—	1	1	—	0
	角膜鉍質沈着	4	—	4	3	—	1
視神経	神経線維変性	1	—	1	1	—	0
脊髓馬尾	軸索膨化	4	—	2	2	—	4
脊髓頸部	軸索膨化	3	—	2	2	—	0
	神経線維変性	2	—	1	2	—	3
脊髓腰部	軸索膨化	3	—	3	3	—	2
	神経線維変性	0	—	2	0	—	0
脊髓胸部	軸索膨化	2	—	1	1	—	3
	神経線維変性	1	—	2	5	—	4

20 mg/kg 投与群は観察しなかった。

対照群との有意差検定は Fisher の正確検定 ($P \leq 0.05$) を用いて行った。

表中の数値は所見を有する動物数を示す。 — : 検査せず。

a: 各レベルには嗅球 (レベル1)、大脳皮質 (レベル2~6)、尾状核-被殻/淡蒼球 (レベル2~5)、海馬 (レベル5~6)、視床 (レベル4~5)、視床下部 (レベル4~5)、中脳 (レベル6)、小脳 (レベル7~8)、延髄 (レベル7~8) が含まれる。

太枠は検体投与の影響であることを示す。

高用量の 600 mg/kg 投与群の雄 1 例及び 400 mg/kg 群の雌 1 例の脳組織に、検体投与に関連した病理組織学的病変が認められた。この病変は、視床正中領域 (レベル 5) における神経細胞壊死 (軽度) であった。これら 2 例は同投与群の生存動物のうち、もっとも顕著な毒性症状を呈した動物であった。次に用量の低い群の雌雄それぞれ 150 及び 100 mg/kg 群の脳組織には、検体投与に関連した病理組織学的病変はみられなかった。対照群及び投与群において認められたその他の複数の変化は、偶発的なもの、また以前にもラットの自然発生的変化として報告されているものであり、被験物質に関連しないものと判断された。

以上の結果から、本剤のラットに対する単回強制経口投与による急性神経毒性試験における影響として、高用量である 600 mg/kg 群の雄及び 400 mg/kg 群の雌では、死亡、鼻汁、流涎、前肢の汚れ、紅

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

涙による汚れ、眼瞼閉鎖^{申請者註}、活動性低下、筋緊張、歩行失調、接近反応失調、正向反射失調が、また、600 mg/kg 群雄では振戦、円背姿勢、取り出す際の抵抗、反復咀嚼、400 mg/kg 群雌では尿による汚れ、流涙、覚醒状態低下、排尿回数増加が認められた。中用量群以上の雄（150 mg/kg）及び雌（100 mg/kg）で鼻・口部の汚れ、眼瞼下垂、体温低下、自発運動量低下、移動運動量低下を認めた。さらに、100 mg/kg 群雌で正向反射失調、20 mg/kg 群雄で鼻・口部の汚れ及び同群雌雄で眼瞼下垂を認めた。死亡が認められた高用量では、投与後も生存し最も顕著な毒性症状を示した動物において神経病理学的変化、脳レベル5における神経細胞壊死が認められた。したがって、本検体は急性神経毒性を有すると判断された。

致死量以下の用量で認められた毒性学的変化は、一過性の臨床徴候と神経行動学的変化のみであったが、一過性の所見が雌雄とも20 mg/kgで認められたため、検体の急性神経毒性に関する無毒性量は雌雄ともに20 mg/kg未満であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ラットを用いた急性神経毒性試験－追試 I

(資料 No. T-8-2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

試験目的: ラットを用いた急性神経毒性試験 (資料 No. T-8-1) の結果、低用量の 20 mg/kg を投与した Fischer 344 系ラットにおいて、臨床観察では雄に、詳細な状態の観察では雌雄ともに軽微な毒性徴候が認められたため、急性神経毒性に関する無毒性量を検索する目的で実施した。なお、前試験においてその他の検査 (運動量測定、体重、肉眼的病理検査、病理組織学的検査) 結果からの無毒性量はすべて 20 mg/kg 以上であったことから、これらの検査は試験に含めなかった。

検体純度: (1995 年 11 月)、 (1996 年 6 月)

供試動物: Fischer 344 CDF 系ラット、投与時約 9 週齢、1 群雌雄各 10 匹

観察期間: 3 日間 (1996 年 2 月 27 日～1996 年 3 月 1 日)

投与方法: 検体を 0.5%メチルセルロース-0.4%Tween 80 水溶液に懸濁して、0、2、5 及び 10 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与前に一晩絶食し、投与容量は 10 mL/kg とした。
投与量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

死亡率; 全ての動物について 1 日 1 回以上、死亡又は瀕死状態の有無を観察した。
投与 1 日後 (雌) 又は 3 日後 (雄) の最終屠殺前に死亡は認められなかった。

一般状態; 全ての動物について 1 日 1 回、臨床観察を行った。
いずれの投与群の雌雄においても検体投与に関連した臨床徴候は認められなかった。

詳細な状態の観察; 神経行動学的な最大影響発現時点の投与約 3 時間後に全動物を対象として、以下の項目について観察した。

ホームケージ内観察; 姿勢、立毛、歩行異常、不随意運動 (間代性、強直性)、発声

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

保定中観察；ケージからの取り出し易さ、保定に対する反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、瞳孔サイズ、瞳孔反射、流涙、流涎、汚れ

オープンフィールド観察；立毛、呼吸異常、姿勢、不随意運動（間代性、強直性）、常同行動、異様な行動、歩行異常、発声、覚醒状態、立ち上がり、排糞、排尿

反射；接近反応、接触反応、聴覚反応、痛覚反応（テイルピンチ）、正向反射

主な所見の発現頻度を次表に示す。

詳細な状態観察結果

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (mg/kg)	0	2	5	10	0	2	5	10
	症状\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
3時間後	ホームケージ内観察；								
	姿勢 立位 正常	0	2	0	0	0	0	0	1
	背位	0	0	0	0	0	0	1	0
	座位 正常	10	8	10	10	10	10	9	9
	取扱い時の観察；								
	取出し易さ 軽度抵抗	9	10	9	10	10	9	10	10
	発声を伴い軽度抵抗	0	0	1	0	0	1	0	0
	保定回避	1	0	0	0	0	0	0	0
	取扱い時 軽度抵抗	10	10	10	10	10	10	10	10
	オープンフィールド観察；								
	姿勢 立位 正常	10	10	10	10	10	10	10	10
	覚醒状態 いくらか探索行動あり	4	7	4	5	3	1	3	1
	眼瞼下垂	1	3	1	2	3	0	1	2
	排尿回数（尿溜り数）	0.8	0.7	0.7	1.1	0.5	0.6	0.9	0.6
	刺激反応								
	接近反応 軽度反応	5	7	6	7	10	6	6	7
	無反応	5	3	4	3	0	4	4	3
接触反応 軽度反応	10	10	10	10	10	10	10	10	
聴覚反応 軽度反応	10	10	10	10	10	10	10	10	
痛覚反応 軽度反応	10	10	10	10	10	10	10	10	

統計解析は実施しなかった。

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

いずれの投与群の雌雄でも検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果から、10 mg/kg 以下の用量では臨床観察所見及び詳細な状態の観察所見が認められなかったため、先の試験（資料 No. T-8-1）結果を併せ、検体の神経毒性に関する無毒性量は雌雄ともに 10 mg/kg 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(資料 No. T-8-3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

急性遅発性神経毒性試験提出の除外に関する考察