

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。

101403110

1-11-3 宿主経由突然変異試験

1-11-3-1 マウスを用いた宿主経由突然変異試験

(資料 47)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ペンタゾン

試験方法: ICR系雄マウス (7週齢、36.5±1.3 g) を使用し、以下の4群に分けた。

群	薬物	1回投与量 mg/kg	総投与量 mg/kg	供試動物数
対照群	10%アラビアゴム			6
処置群	検体	50	100	6
		200	400	6
陽性対照群	ジメチルニトロソアミン	50	50	5

検体を24時間間隔で2回強制経口投与した。陽性対照としては、ジメチルニトロソアミンを1回強制経口投与した。投与直後、ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 を腹腔内に注入し、処置3時間後に腹腔内菌液を回収。培養後、復帰変異コロニー数および生存菌数を計数した。

また、G46株を用いて *in vitro* における復帰変異試験を行った。

試験結果:

復帰変異試験成績 (*S. typhimurium* G46)

薬物	濃度 (µg/プレート)	復帰変異 コロニー数/プレート	
対照	0	6	7
検体	10	3	8
	50	7	11
	100	9	12
	500	10	12
	1,000	3	7
β-プロピオラクトン (陽性対照)	1,000	91	108

宿主経由試験成績

群	総投与量 mg/kg	復帰変異 菌数/mL	生存菌数 ×10 ⁸ /mL	復帰変異/10 ⁸ 菌数/生存菌 数	平均値±S. D.
対 照 10%アピコム		30.8	42.5	0.73	0.45±0.19
		8.3	49.6	0.17	
		15.8	38.9	0.41	
		15.8	47.5	0.33	
		33.3	59.0	0.57	
		25.0	47.6	0.53	
検体	50×2	26.7	35.2	0.76	0.42±0.19
	50×2	14.2	49.1	0.29	
	50×2	15.8	37.4	0.42	
	50×2	10.8	47.8	0.23	
	50×2	18.3	49.3	0.37	
	50×2	19.2	41.2	0.47	
	200×2	15.8	45.7	0.35	0.53±0.27
	200×2	38.3	39.2	0.98	
	200×2	11.7	30.9	0.38	
	200×2	19.2	30.8	0.62	
	200×2	19.2	30.8	0.62	
	200×2	10.0	46.7	0.21	
陽性対照 ジメチルニトロソアミン	50	4560	41.5	110	116±30***
	50	4157	60.1	69	
	50	6203	44.6	139	
	50	6083	50.7	120	
	50	7213	50.6	143	

*** p<0.001

宿主経由試験において、検体投与群は、対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。また、検体は、G46株を用いた *in vitro* における復帰変異試験の結果は陰性であった。

一方、陽性対照群として用いたジメチルニトロソアミン投与群では対照群と比較して著明な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果から検体の宿主経由および *in vitro* における復帰変異誘発性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。

10-10-10

1-11-3-2 マウスを用いた宿主経由突然変異試験

(資料 57)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：ペンタゾン Na 塩

試験方法：ICR 系雄マウス (8 週齢、 36.9 ± 1.9 g) を使用し、以下の 4 群に分けた。

群	薬物	1 回投与量 mg/kg	総投与量 mg/kg	匹数
対 照 群	10%アラビアゴム			6
処 置 群	検体	100	200	6
		300	600	6
陽性対照群	ジメチルニトロソアミン	50	50	5

検体を 24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。陽性対照としては、ジメチルニトロソアミンを 1 回強制経口投与した。投与直後、ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 を腹腔内に注入し、処置 3 時間後に腹腔内菌液を回収、培養後、復帰変異コロニー数および生存菌数を計数した。

また、G46 株を用いて *in vitro* における復帰変異試験を行った。

試験結果：結果は次表に示す。

宿主経由試験において、検体投与群は、対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。また、検体は、G46 株を用いた *in vitro* における復帰変異試験の結果は陰性であった。

一方、陽性対照群として用いたジメチルニトロソアミン投与群では対照群と比較して著明な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果から検体の宿主経由および *in vitro* における復帰変異誘発性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。

bio.010.010

復帰変異試験成績 (*S. typhimurium* G46)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異 コロニー数/プレート	
対 照	0	2	3
検体	10	2	3
	50	2	2
	100	1	6
	500	1	4
	1000	3	3
	3000	4	4
β -ブドウ糖オクタ (陽性対照)	1000	65	44

宿主経路試験成績

群	総投与量 mg/kg	復帰変異 菌数/mL	生存菌数 $\times 10^{-8}/\text{mL}$	復帰変異/ 10^8 菌数/生存菌数	平均値 \pm S. D.
対 照 (H_2O)		15.0	37.1	0.40	0.47 \pm 0.16
		27.5	51.0	0.54	
		29.2	43.5	0.67	
		8.3	38.9	0.21	
		22.5	49.1	0.46	
		20.8	38.1	0.55	
ベンタゾン Na	100 \times 2	16.7	36.2	0.46	0.43 \pm 0.16
	100 \times 2	21.7	45.3	0.48	
	100 \times 2	5.0	40.0	0.13	
	100 \times 2	27.5	44.7	0.62	
	100 \times 2	19.2	46.1	0.42	
	100 \times 2	21.7	44.2	0.49	
	300 \times 2	15.0	39.0	0.38	0.45 \pm 0.16
	300 \times 2	14.2	36.9	0.38	
	300 \times 2	12.5	27.6	0.45	
	300 \times 2	10.8	48.2	0.22	
	300 \times 2	23.3	32.7	0.71	
	17.5	34.3	0.51		
陽性対照 ジメチルニトロソアミン	50	2957	31.8	93	104 \pm 22*
	50	4137	37.0	112	
	50	4917	35.4	139	
	50	3457	39.4	88	
	50	4670	54.2	86	

* $p < 0.001$

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。

Perlezo 6

1-11-4 チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験 (資料 58)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 : ベンタゾン原体

方 法 :

予備試験 : 166.7、500、1700 および 5000 $\mu\text{g/mL}$ の濃度 (2 高濃度では沈殿を生じたので水酸化ナトリウムで pH を調整) を用い、代謝活性化系の非存在下では 2 時間処理後、5-ブromo-2'-デオキシウリジ (BrdU) 10 μM を加えて 21.5 時間培養後、細胞を洗浄した後、BrdU (10 μM) およびコルセミド (0.1 $\mu\text{g/mL}$) を含む完全培地を加え、さらに 2.75 時間培養した後、標本作製して、細胞毒性および細胞周期遅延を評価した。その結果、2 高濃度では約 60% の細胞増殖面積の減少と分裂細胞の減少がみられ、100% の細胞が 1 回目の分裂期で、細胞周期の遅延がみられたので、染色体異常試験の濃度を 250~5000 $\mu\text{g/mL}$ の範囲とし、標本作製時間を遅らせることとした。

代謝活性化系の存在下では、非存在下と同じ濃度で 2 時間処理後、細胞を洗浄し、牛胎児血清と BrdU (10 μM) 含有培地を加え、さらに 21.5 時間培養した後、コルセミド (0.1 $\mu\text{g/mL}$) を加え、2.75 時間培養した。非存在下の試験と同様に標本作製して、評価した。その結果、著しい細胞毒性は認められなかったが、最高用量の 5000 $\mu\text{g/mL}$ で細胞周期の遅延がみられた。低濃度では細胞周期の遅延は認められなかったので、染色体異常試験濃度を 250~5000 の範囲とし、3000~5000 では培養時間を延長して標本作製を遅らせ 250~2000 では通常の培養時間とした。

染色体異常試験 : 代謝活性化系の非存在下では培養開始 1 日後の細胞を、予備試験で選定した濃度範囲で 17.5 時間処理後、細胞を洗浄し、コルセミド (0.1 $\mu\text{g/mL}$) を含む新鮮な培地を加え、約 2.5 時間培養後に中期分裂細胞を集め、膨潤、固定後、標本作製し、染色した。

代謝活性化系の非存在下では培養開始 1 日後の細胞を、予備試験で選定した濃度範囲で、S9 mix の存在下の牛胎児血清を含まない培地中で 2 時間処理後、細胞を洗浄し、牛胎児血清を含む通常培地を加え、さらに、5.5 時間または 15.5 時間培養した後、コルセミドを加えて 2.5 時間培養後、前記のように標本作製し、染色した。

染色体の異常の評価 : 各濃度で 200 個の分裂中期像を観察し、染色体の異常をギャップ、切断、欠失、断片、交換、二動原体および環状等に分類し観察した。異常を有する細胞の出現頻度 (%) を、検体処理群と陰性対照群 (溶媒対照群と無処理群をプールしたもの) の間で比較し、統計学的に有意な増加 ($P < 0.05$) を陽性とした。

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。

Reference

結果：細胞毒性について評価した結果、代謝活性化系の非存在下では 4000 および 5000 μ g/mL で単層細胞密度の 70~90%減少および細胞分裂の抑制が認められたので、染色体異常は 500~3000 μ g/mL について観察した。また、代謝活性化系の存在下では細胞毒性は認められなかったが、1000~5000 μ g/mL では沈殿が認められたので、500~5000 μ g/mL で処理した培地の pH を調整した。染色体異常は 2000~5000 μ g/mL について観察した。

染色体異常の観察結果は次表に示す如く、検体処理群では細胞毒性を示した濃度を含め、代謝活性化系の有無にかかわらず、染色体異常の出現頻度において、濃度関連性の増加、または対照と比較して有意な増加を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C およびシクロホスファミドでは、顕著な染色体異常の出現頻度の増加を認めた。

以上の結果から、本検体における CHO 細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験における染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (μ g/mL)	観察細胞数	染色分体型異常の数				染色体型異常の数			核内有糸分裂	異常数/細胞	担異常細胞率 (%)	担複数異常細胞率 (%)	
				切断	欠失	断片	交換	切断	断片	二動					
無	無処理群		100									0.00	0.0	0.0	
	溶媒対照	(1%DMSO)	100	1				1				0.02	2.0	0.0	
	検体	500	200	200	1				1				0.01	0.5	0.5
		1000	200	200							1*	0.00	0.0	0.0	
		2000	200	200	1						4*	0.005	0.5	0.0	
		3000	200	200		1				2	1	0.02	1.0	0.5	
	陽性対照 (MMC)	0.04	25	25	2	1		1	1			0.20	16.0 \uparrow	4	
有	無処理群		100						1			0.01	1.0	0.0	
	溶媒対照	(1%DMSO)	100									0.00	0.0	0.0	
	検体	2000	200	200	1					3	1	0.025	2.5	0.0	
		3000	200	200								0.00	0.0	0.0	
		4000	200	200	1		1				1*	0.01	1.0	0.0	
		5000	200	200				3		1		2*	0.02	1.5	0.5
	陽性対照 (CP)	50	100	100	2			5	1	1		2*	0.09	8.0 \uparrow	1.0

* 異常の総数には含まない。

統計学的方法：カイ二乗検定（溶媒対照および無処理対照に比して有意（ \uparrow ：P<0.05）に増加。

二動：二動原体

担異常細胞率：染色体異常を有する細胞の出現頻度

担複数異常細胞率：複数の染色体異常を有する細胞の出現頻度

MMC：マイトマイシン C

CP：シクロホスファミド

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。

Reference

1-11-5 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 98)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質の純度: ペンタゾン Na 塩 (バッチ番号)

試験方法: チャイニーズハムスターV79 細胞を用いて染色体異常誘発性を評価した。代謝活性化系 (S9mix) の存在下及び非存在下で実施し、構造的および数的染色体異常について、スライド当たり 200 個の分裂中期像を 2 回反復で評価した。試験の設計を以下に示す。

標本作製 までの 時間 (hr.)	暴露 時間 (hr)	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)					
18	4	S9mix 非存在下					
		0	187.5	375	750	1500	3000
18	4	S9mix 存在下					
		0	187.5	375	750	1500	3000

陽性対照として S9mix 存在下ではエチルメタンスルホネート (EMS) を、S9 mix 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 S9mix の有無によらずイオン交換水を用いた。

細胞を 4 時間処理後、緩衝液で洗浄し、被験物質を含まない培地と交換した。さらに 14 時間 (処理開始から 18 時間まで) インキュベートし、コルセミドを添加して、細胞分裂を停止させた。その後に低張溶液 (0.4%KCl) で処理し、メタノールおよび氷酢酸混合物 (3:1) で細胞を固定した。各投与濃度 2 枚のスライドを作成しギムザ染色した。

用量設定根拠:

結 果： 結果を表1に示す。

細胞毒性は最高濃度までみられなかったが、被験物質投与によってS9mixの有無、ギャップの有無に関わらず統計学的、また生物学的有意な染色体異常の増加が認められた。

S9mix非存在下において、中濃度である1500 μ g/mLでは溶媒対照群に比べて変化はなかったものの、750および3000 μ g/mLではギャップを有さない染色体構造異常の合計が溶媒対照を超えており、背景データ（0.0~5.5%）も超えていた。加えて3000 μ g/mLでは複数異常も認められた。

S9mix存在下においては、用量相関的にギャップを有さない染色体構造異常の割合が増加し、全ての濃度で溶媒対照および背景データ（0.0~5.5%）を超えていた。

染色体の数的異常は認められなかった。また、溶媒対照群は背景データ範囲内であり、陽性対照は明瞭に増加した。

以上、本試験条件下において被験物質は代謝活性化の有無に関わらず染色体異常誘発性を有すると判断される。

表 1 結果

処理/ 調製 時間	検体	濃度(μ g/mL)	S9 Mix の 有無	総 観察 細胞 数	染色体異常 (%)								細胞毒性 (%)		
					構造異常					数的異常			細胞数	有糸 分裂 指数	
					含ギャ ップ	除ギャップ				異数体	倍数体	内部 倍数体			
						合計	交換	複数異常 (>5)	細粉化						
4/18	陰性対照	-	-	200	10.5	5.5	1.0	0.0	0.0	6.5	0.0	0.0	100.0	100	
	陽性対照 (EMS)	500		100	25.0↑	22.0↑	10.0↑	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	n. t.	60.8	
	被験物質	187.5		200	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	93.0	n. d.
		375.0			n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	104.9	n. d.
		750.0			10.5	6.5	2.5	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0	92.3	100.9	
		1500.0			9.5	4.5	1.5	0.0	0.0	2.9	0.0	0.0	97.5	92.6	
3000.0	20.5↑	14.5↑	10.0↑	4.5↑	0.0	0.5	0.0	0.0	82.4	76.0					
4/18	陰性対照	-	+	200	7.0	3.5	1.0	0.0	0.0	2.8	0.0	5.5	100.0	100	
	陽性対照 (GPP)	0.5		100	33.0↑	28.0↑	14.0↑	1.0	0.0	2.0	0.0	0.0	n. t.	62.1	
	被験物質	187.5		200	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	110.9	n. d.
		375.0			n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	112.2	n. d.
		750.0			10.0	7.0	2.5	0.0	0.0	2.4	0.0	1.4	105.5	117.1	
		1500.0			12.5	8.0	4.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.5	106.0	93.3	
3000.0	100	18.0↑	16.0↑	10.0↑	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0	103.0	88.9				

表中の数値は 2 回反復の平均、EMS : エチルメタンスルホネート、GPP : シクロホスファミド、n. t. : 試験せず、n. d. : 測定せず

対応する対照値より統計学的に大きい (Fisher の正確検定 (片側) ; ↑: p<0.05, ↑↑: p<0.01)

1-11-6 マウスを用いた小核試験

(資料 59)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ベンタゾン

試験動物: NMRI 系マウス(平均体重約 28g)、1 群雌雄各 5 匹

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、200、400 および 800 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。陰性対照として 0.5% CMC 水溶液のみを同様に投与した。陽性対照としては、蒸留水に溶解したシクロホスファミド 40 mg/kg を同様に投与した。

800 mg/kg 群は投与後 16 および 48 時間に、その他の群はすべて投与 24 時間後に屠殺して、各動物の大腿骨髄を採取して、スライドグラス上に塗沫風乾後、エオジン・メチレンブルーで染色した後、洗浄後、ギムザ液で染色し、洗浄して骨髄標本を作製した。

各標本について、1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。同時に正染性赤血球数および小核を有する正染性赤血球数も計数した。

用量設定根拠:

結 果:

溶媒対照群および陽性対照群では、何ら毒性症状は認められなかったが、検体投与群ではそれぞれ投与後 15~30 分に興奮がみられ、約 90 分間持続した。なお、800 mg/kg 群の動物 1 例が投与の翌日に死亡した。

骨髄標本の観察結果を次頁の表に示す。

小核を有する多染性赤血球数は、検体の用量ならびに屠殺時期に係らず、溶媒対照群に比較して統計学的に有意な差は認められなかった。また、小さい小核および大きい小核を有する正染性および多染性赤血球の数にも溶媒対照群との差は認められなかった。なお、多染性赤血球の正染性赤血球に対する比率は、いずれの群も溶媒対照群と同じ範囲内にあり、検体投与によるマウスの赤血球造血阻害は認められなかった。

一方、陽性対照群では顕著な小核を有する多染性赤血球数の増加が認められた。

以上の結果から、本検体におけるマウスの骨髓細胞を用いた小核試験において、小核誘発性は陰性であると判断される。

マウスの骨髓細胞を用いた小核試験の結果

群 (mg/kg)		標本作製時期											
		処理後 16 時間				処理後 24 時間				処理後 48 時間			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
溶媒対照						10000	3519	0.7	1.71				
検体	800	9000	3421	1.11	1.75	10000	3317	1	0.9	9000	3011	0.89	1.99
	400					10000	3222	1.9	0.31				
	200					10000	3364	1.4	1.49				
陽性対照						10000	5101	30.5 [↑]	1.96				

溶媒対照 : 0.5% CMC 水溶液

陽性対照 : シクロホスファミド 40 mg/kg

A : 検査した多染性赤血球数

B : 多染性赤血球 10000 個あたりの正染性赤血球数

C : 多染性赤血球 1000 個あたりの小核を有する赤血球数

D : 正染性赤血球 1000 個あたりの小核を有する赤血球数

統計学的方法 : Fisher Yates test および U 検定 : $P < 0.01$

1-11-7 マウスの骨髄細胞を用いた小核試験

(資料 99)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質の純度: ベンタゾン Na 塩 (バッチ番号)

試験動物: CrI:NMRI 系マウス、1 群雄・雌各 5 匹
投与開始時週齢 5-8 週齢、体重 26.8g (平均値)

試験期間: 投与後 48 時間

試験方法: ベンタゾン Na 塩をイオン交換水に溶解して投与液を調製し、雄は 0 (溶媒対照)、312.5、625 および 1250 mg/kg の用量を、雌は 0 (溶媒対照)、200、400 および 800 mg/kg の用量を、単回強制経口投与した。陰性対照群にはイオン交換水を、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 (メイグリュンワルド変法) およびギムザ染色し、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。

群	用量 (mg/kg)	動物数 (雄)		動物数 (雌)	
		24 時間後 屠殺	48 時間後 屠殺	24 時間後 屠殺	48 時間後 屠殺
陰性対照 イオン交換水	-	5	5	5	5
陽性対照 シクロホスファミド (CP)	20	5	-	5	-
陽性対照 ピンクリスチン (VC)	0.15	5	-	5	-
ベンタゾン Na 塩	312.5	5	-	-	-
	625	5	-	-	-
	1250	5	5	-	-
	200	-	-	5	-
	400	-	-	5	-
	800	-	-	5	5

-: 設定なし

各標本について、動物当たり 2000 個の多染性赤血球 (PCE) を観察し小核の有無を確認した。小核を有する正染性細胞 (NCE) も記録した。多染性赤血球については、小核が細胞直径の 1/4 より大きい細胞、小さい細胞についてもそれぞれ記録した。また、PCE/NCE 比を算出した。

用量設定根拠：

結 果： 次表に結果を示す。

被験物質投与群、陽性対照群、陰性対照群、いずれの動物でも一般症状はみられなかった。

いずれの投与群においても、対照群と比べ小核を有する PCE 及び小核を有する NCE の有意な増加はみられなかった。1250 mg/kg 群雄では、投与 24 時間後に対照群と比較して小核を有する PCE の有意な増加が認められたが、明確な用量相関性はなく、背景データの範囲 (小核を有する PCE 総数、小核が細胞直径の 1/4 より小さい細胞数および大きい細胞、それぞれ、0.4~2.7%、0.4~2.7%および 0.0~1.0%) であり偶発的な変動と考えられた。また同用量群の投与 48 時間後の検査では異常は認められず、雌においても最高投与量群まで、投与 24 および 48 時間の検査いずれにおいても異常は認められなかった。

また PCE/NCE 比にも変化がなく、造血性に及ぼす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、被験物質の小核誘発性は陰性と判断される。

表 1 結果

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 (イオン交換水)	—	雄	5	10000	5573	1.4	1.4	0.0	1.4
	陽性対照 (CP)	20		5	10000	5105	16.4 ↑	16.3 ↑	0.1	1.4
	陽性対照 (VC)	0.15		5	10000	5480	36.8 ↑	26.5 ↑	10.3 ↑	2.0
	被験物質	312.5		5	10000	5435	2.0	1.9	0.1	0.7
		625		5	10000	6014	3.0	2.8	0.2	2.3
	1250	5	10000	5535	2.7 ↑	2.2	0.5 ↑	2.0		
48	陰性対照 (イオン交換水)	—	雄	5	10000	4842	1.7	1.6	0.1	0.8
	被験物質	1250		5	10000	5611	2.0	1.7	0.3	1.1
24	陰性対照 (イオン交換水)	—	雌	5	10000	4180	1.8	1.6	0.2	1.4
	陽性対照 (CP)	20		5	10000	4768	13.4 ↑	13.2 ↑	0.2	1.0
	陽性対照 (VC)	0.15		5	10000	5891	48.8 ↑	32.7 ↑	16.1 ↑	0.8
	被験物質	200		5	10000	5182	1.5	1.4	0.1	0.6
		400		5	10000	4772	1.7	1.7	0.0	1.5
800		5	10000	5058	2.7	2.5	0.2	1.8		
48	陰性対照 (イオン交換水)	—	雌	5	10000	5102	1.8	1.7	0.1	0.8
	被験物質	800		5	10000	4417	2.0	2.0	0.0	1.6

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,

Wilcoxon (片側) 検定 : ↑ ; $p \leq 0.05$, ↑↑ ; $p \leq 0.01$

表2 陽性および陰性対照背景データ

投与経路	陰性対照(イオン交換水)			陽性対照(シクロスファミド [*])			陽性対照(ヒソクリスチン)		
	経口			経口			腹腔内		
PCE1000個あたりの 小核を有するPCE数	$d < D/4$	$d \geq D/4$	合計	$d < D/4$	$d \geq D/4$	合計	$d < D/4$	$d \geq D/4$	合計
平均値	1.3	0.0	1.3	15.2	0.1	12.7	47.4	13.7	61.0
最小値	0.4	0.0	0.4	6.1	0.0	6.1	17.1	2.5	22.5
最大値	2.7	1.0	2.7	27.2	0.7	27.2	88.4	36.4	108.2
SD	0.4	0.1	0.4	3.6	0.1	3.6	15.0	4.9	17.1
試験数	101			130			176		

1-11-6 不定期 DNA 合成試験

1-11-6-1 マウス初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験 (資料 60)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ベンタゾン()

試験方法:

供試細胞: B6C3F1 マウス雄(体重約 10~25g)から分離した初代培養肝細胞を用いた。

処理: 検体は DMSO に溶解し、培地中濃度 1004 $\mu\text{g/mL}$ から公比 2 で 0.05 $\mu\text{g/mL}$ までの 14 濃度を用いた。検体の沈殿が 1004 $\mu\text{g/mL}$ で認められ、251~1004 $\mu\text{g/mL}$ の濃度では pH が酸性に移動した。陰性対照として DMSO 1%、陽性対照はジメチルニトロソアミン 0.5 および 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 培地を用いた。処理約 20~24 時間後に生存細胞数を計数し、高い方の濃度から 6 濃度を選定し、核標識を行った。

カバースリップ1枚を入れた培養シャーレに 0.5×10^6 個の初代培養肝細胞を播種し、付着用培地で 1.5~2 時間培養後、未付着細胞を除去し、培地を加えて 3 時間培養した。培地に検体、溶媒あるいは陽性対照物質および ^3H -チミジン(比放射能約 1 $\mu\text{Ci/mL}$) を添加した培地に培養細胞を移し、さらに 18~19 時間培養を継続した。培養は 5 シャーレを用い、2 枚は細胞毒性の検査に、3 枚を UDS 試験に用いた。細胞毒性の検査用シャーレは培地のみで、UDS 試験用シャーレは ^3H -チミジン(1mM)含有培地で、さらに処理開始 20~24 時間後まで培養した。培養後、生存細胞数を計測した。培養は 37°C、95% O_2 /5% CO_2 気中で行った。

UDS の定量: 培養終了後、細胞を固定し、オートラジオグラフィーを取り、William の改良ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。各用量につきスライド 3 枚 (50 細胞/スライド、合計 150 細胞/用量) を自動計測器で観察し、細胞当り正味の銀粒子数 (=核銀粒子数 - 細胞質銀粒子数)、修復細胞 (正味銀粒子数が ≥ 6 個あるいは ≥ 20 の細胞の割合) を求めた。

結果の判定: 正味の銀粒子数の平均が 6 個以上、 ≥ 6 個以上の割合が 10%以上、あるいは ≥ 20 個以上の割合が 10%以上の場合を陽性とした。

試験結果: 結果を次表に示す。

1004 $\mu\text{g/mL}$ では検体の沈殿も認められ、顕著な細胞毒性のために、観察は不可能であった。502 $\mu\text{g/mL}$ で細胞生存率は 60.1%であったが、形態的に細胞毒性が認められた。50.2 $\mu\text{g/mL}$ 以下の濃度で細胞数および細胞形態とも溶媒対照と同等であった。

検体は 2.51~502 $\mu\text{g/mL}$ の濃度でいずれの濃度とも、溶媒対照に比較して有意な正味銀粒子数の増加を認めず、また濃度関連性の増加もなかった。正味銀粒子数 ≥ 6 個あるいは ≥ 20 個の割合にも有意な差は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたジメチルニトロソアミンでは 0.5 および 1.0 $\mu\text{g/mL}$ とも細胞毒性は認められず、顕著な銀粒子数の増加が認められた。

以上の結果から、本検体はマウス初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成試験において、不定期 DNA 合成を誘発しないと判断される。

150 細胞当り平均銀粒子数および細胞生存率

濃度 [$\mu\text{g/mL}$]	正味銀粒子数	正味銀粒子数 ≥ 6 の割合%	正味銀粒子数 ≥ 20 の割合%	処理 24 時間後細胞生存率 (溶媒対照%)	
溶媒対照 (1%DMSO)	1.31	4.0	0.0	100.0	
検体	2.51	1.05	4.0	0.0	測定せず
	5.02	0.78	1.3	0.0	測定せず
	10.0	0.78	2.0	0.0	97.6
	25.1	1.11	2.7	0.0	103.1
	50.2	1.05	4.0	0.0	112.5
	100	0.87	4.7	0.0	84.1
	251	0.97	3.3	0.0	72.2
	502	0.69	0.7	0.0	60.1
	1004	過剰毒性で、計測不可能			24.0
DMN (陽性対照)	0.5	29.84	98.0	78.0	100.5
	1.0	33.81	100.0	81.3	91.7

DMN: ジメチルニトロソアミン

1-11-6-2 *in vivo* マウス肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

(資料 61)

試験機関:

報告書作成年:

検体純度: ベンタゾン原体()

試験方法:

供試細胞: B6C3F1 マウス雄(体重約 23~30g)から分離した肝細胞を用いた。

処理: 予備試験で、検体は DMSO に溶解し、460 mg/kg を 2 匹のマウスの腹腔内に単回投与した。1 例は投与約 2 時間後に、他の 1 例は約 12 時間後屠殺し、単離肝細胞について、UDS を観察した結果、両時期で反応に差が認められなかったため、投与後 6 時間で屠殺することとした。用量は LD₅₀ が約 360 mg/kg であることから、約 360 mg/kg から公比 2 で 4 濃度を選定し、用量当たり 2 匹を用いた。陽性対照のジメチルニトロソアミンは 50 および 100 mg/kg を用いたが、50 mg/kg 群のみ UDS の分析に用いた。

投与 6 時間後に、そのまま肝臓を Hank の平衡塩溶液で 2 分間灌流後、コラゲナーゼ含有培地で 6 分間灌流した。切り取った肝臓組織を、コラゲナーゼ含有培地を入れた培養シャーレに入れ、機械的に分散させて単離肝細胞を得た。

カバースリップ 1 枚を入れた培養シャーレに 0.5×10^6 個の生存肝細胞を播種し、付着用培地で 1.5~2 時間培養後、未付着細胞を除去し、³H-チミジン(比放射能約 1 μCi/mL) 添加培地を加えて、さらに 18~19 時間培養を継続した。培養は 8 シャーレを用い、2 枚は細胞毒性の検査に、3 枚を UDS 試験に用い、残りの 3 枚は再検査用に保存した。細胞毒性の検査用シャーレは培地のみで、さらに処理開始 20~24 時間後まで培養し、生存細胞数を計測した。培養は 37°C、95% O₂/5% CO₂ 気中で行った。

UDS の定量: 培養終了後、細胞を固定し、オートラジオグラフィーを取り、William の改良ヘマトキシリン-エオジン染色を行った。各用量につきスライド 3 枚 (50 細胞/スライド、合計 150 細胞/用量) を自動計測器で観察し、細胞当たり正味の銀粒子数 (= 核銀粒子数 - 細胞質銀粒子数)、修復細胞 (正味銀粒子数が ≥ 6 個あるいは ≥ 20 の細胞の割合) を求めた。

結果の判定: 正味の銀粒子数の平均が 6 個以上、≥ 6 個以上の割合が 10% 以上、あるいは ≥ 20 個以上の割合が 10% 以上の場合を陽性とした。

試験結果: 結果を次表に示す。

検体はいずれの用量とも溶媒対照に比較して有意な正味銀粒子数の増加を認めず、また濃度関連性の増加もなかった。正味銀粒子数 ≥ 6 個あるいは ≥ 20 個の割合にも有意な差は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたジメチルニトロソアミンでは顕著な銀粒子数の増加が認められた。

以上の結果から、本検体はマウスを用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成試験において、不定期 DNA 合成を誘発しないと判断される。

150 細胞当り平均銀粒子数および細胞生存率

用量 ^a [mg または mL/kg]		正味銀粒子数	正味銀粒子数 ≥ 6 の割合%	正味銀粒子数 ≥ 20 の割合%
溶媒対照 (DMSO)	0.004mL	0.55	2.7	0.0
	0.004mL	1.09	4.0	0.0
陰性対照	—	0.43	0.0	0.0
		1.17	5.3	0.0
検体	41.4	0.39	0.0	0.0
	41.2	0.95	2.7	0.0
	98.3	0.72	0.7	0.7
	83.7	0.72	0.0	0.0
	184.0	0.69	0.7	0.0
	151.0	0.60	1.3	0.0
	368.0	2.11	6.7	2.7
	354.0	0.38 ^b	0.0	0.0
DMN (陽性対照)	44.6	14.23	72.0	22.0
	47.2	12.78 ^c	75.2	21.4

^a: 実際に各動物に投与した用量を示す。

^b: 1 スライドは評価不適のため、100 細胞について検査。

^c: 1 スライドは 45 細胞の検査。したがって、合計 145 細胞を検査した。

1-11-6-3 *in vivo* ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

(資料 100)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質の純度: ベンタゾン Na 塩 (バッチ番号)

試験動物: Wistar 系ラット Crl: WI (Han)、1 群雄 4 匹
投与開始時週齢 8-10 週齢、体重 242.9g (平均値)

試験方法: ベンタゾン Na 塩をイオン交換水に溶解して投与液を調製し、0(溶媒対照)、275、550 および 1100mg/kg の用量を単回強制経口投与した。陽性対照群には 50 mg/kg の投与量でコーンオイルに懸濁した 2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)を投与した。動物は投与前最低 6 時間以上絶食させた。投与後 3 および 14 時間、ナルコレンを腹腔内に投与して麻酔した動物を開腹し、EGTA 緩衝液およびコラゲナーゼ灌流液で肝臓を灌流処理した。肝臓から肝細胞を採取し、トリパンブルー染色により生存細胞数を計測した後、8 ウェルプレートに約 400000 生存細胞/ウェルとなるように播種し、CO₂ インキュベーターで培養した。2 時間以上の接着期間を設け、一度非接着細胞を除去した後、³H-チミジンを含むラベリング溶液を各ウェルに添加し 4 時間培養した。WMEI および HBSS 緩衝液で洗浄した後、非標識のチミジンを含む溶液を加え、さらに 12 時間培養を行った。再度洗浄し、3:1 エタノール酢酸で固定した後、自動分析計を用いたオートラジオグラフィを行った。自動分析計 () を用いて、各群 3 動物について、動物当たり最低 2 枚のスライドについて 100 個の形態の良好な細胞を観察し、核上銀粒子数(NGC) 及び細胞質粒子数(CGC)を計数した。これらの値から正味核上銀粒子数(NNGC; NGC-CGC) および修復細胞(正味核上銀粒子数が 5 個以上)の割合を算出した。

用量設定根拠:

結果： 結果を表1および2に示した。

表1 UDS 試験結果

投与後 時間	試験群	動物数	生存率 % ^a	用量 (mg/kg)	NGC 数 平均±SD	CGC 数 平均±SD	NNGC 数 平均±SD	修復中 細胞%
3h	溶媒対照 (イオン 交換水)	4	100.0	-	11.64±4.87	16.12±6.80	-4.49±2.30	2
	被験物質	3	100.0	275	15.44±1.47	20.73±5.99	-5.30±2.31	3
		3	102.3	550	9.21±0.3	12.23±2.25	-3.02±2.08	4
	陽性対照 (2-AAF)	3	100.7	50	21.68±2.20	12.05±3.07	9.64±3.56	69
14h	溶媒対照 (イオン 交換水)	4	100.0	-	9.73±3.67	14.76±5.38	-5.03±2.08	2
	被験物質	3	104.5	275	12.67±1.98	17.62±2.26	-4.96±0.66	1
		3	91.4	550	5.90±1.87	8.08±1.82	-2.18±0.16	2
	陽性対照 (2-AAF)	3	104.6	50	22.72±2.06	11.71±1.24	11.00±4.47	76

a: 対照群を100とした場合の相対値、NGC = 核上銀粒子数、CGC = 細胞質粒子数、
NNGC = 正味核上銀粒子数 (NGC-CGC)、SD = 標準偏差、2-AAF: 2-acetylaminofluorene

表2. 背景データ

溶媒対照群 (CMC 0.5%, corn oil, water, DMSO)				
	NGC (平均)	CGC (平均)	NNGC (平均)	復活細胞
				NNGC ≥ 5
平均	5.26	9.74	-4.49	0.27
最少	1.31	3.70	-7.92	0.00
最大	11.12	19.01	-1.96	4.00
標準偏差	2.20	2.77	1.12	0.69
動物数	135			

表 2. (続き)

陽性対照 (2-AAF 50 mg/kg b.w.)				
	NGC (平均)	CGC (平均)	NNGC (平均)	復活細胞 NNGC \geq 5
平均	17.41	9.89	7.51	62.07
最少	6.85	2.61	0.03	10.00
最大	29.32	17.86	17.35	92.00
標準偏差	5.14	3.28	2.99	15.34
動物数	135			

被験物質投与により、最高用量である 1100mg/kg では、立毛や呼吸低下などが認められ、雄 2 匹、雌 4 匹 (全例) の死亡が認められたため、生存細胞数の測定、肝細胞の調製および検査はいずれも行わなかった。550 mg/kg 投与群雄でも 1 匹が投与 3 時間後に死亡した。陽性対照群では異常は認められなかった。

溶媒対照と比べ、被験物質投与群ではいずれもの核上銀粒子および正味の核上銀粒子数 (NNGC) の明確な増加は認められず、また修復細胞 (正味核上銀粒子数が 5 個以上) の割合も増加しなかった。従って、肝 UDS の誘発性を示さなかった。細胞毒性は認められず、細胞形態にも異常はなかった。

一方、陽性対照では正味の核上銀粒子および修復中細胞の割合の明確な増加がみられ、試験の妥当性が確認された。

以上の結果より、本試験条件下で被験物質はラットに対し、肝細胞不定期 DNA 合成誘発性を有しないと結論された。

1-11-7 細菌を用いた DNA 損傷誘発性試験

1-11-7-1 Rec-assay

(資料 62)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン

方法: 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA 損傷の誘発性を検定した。

溶媒として DMSO を用いた。6 用量 (20~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$) で試験を実施した。陰性対照としてカナマイシンを 10 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の用量で、陽性対照としてマイトマイシン C を 0.1 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の用量で用いた。

試験結果:

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (DMSO)		0	0	0
検体	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	<1	0	<1
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	<1	0	<1
カナマイシン	10	8.5	6.5	2.0
マイトマイシン C	0.1	11.0	2.0	9.0

検体は、両株の間にほとんど生育阻止の差を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両株の間に著明な生育阻止の差が生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止を認めた。

以上の結果よりベンタゾンの DNA 損傷は認められなかった。

1-11-7-2 Rec-assay

(資料 63)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ペンタゾン

方法: 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA 損傷の誘発性を検定した。

溶媒として DMSO を用いた。3 用量 (2000、5000 および 10000 $\mu\text{g}/\text{disk}$) で試験を実施した。陰性対照としてカナマイシンを 10 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の用量で、陽性対照としてマイトマイシン C を 0.1 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の用量で用いた。なお、本試験は以前に実施した試験 (資料 62) より高濃度で試験した。

試験結果:

薬物	濃度	阻止域 (mm)		差
	($\mu\text{g}/\text{disk}$)	M-45	H-17	(mm)
対照 (DMSO)		0	0	0
検体	2000	0.5	0	0.5
	5000	3	3	0
	10000	4	3	1
カナマイシン	10	8	7	1
マイトマイシン C	0.1	8.5	1	7.5

検体は、両株の間にほとんど生育阻止の差を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両株の間に著明な生育阻止の差が生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止を認めた。

以上の追加試験結果より、ペンタゾンの DNA 損傷は認められなかった。

1-11-7-3 Rec-assay

(資料 51)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン Na 塩

試験の方法: 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA 損傷の誘発性を検定した。

溶媒として水を用いた。6 用量 (20~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$) で試験を実施した。陰性対照としてカナマイシンを 10 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の用量で、陽性対照としてマイトマイシン C を 0.1 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の用量で用いた。

試験結果:

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対照 (H ₂ O)		0	0	0
ベンタゾン Na	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
カナマイシン	10	8.5	6.5	2.0
マイトマイシン C	0.1	11.0	2.0	9.0

検体は、両株の間にほとんど生育阻止の差を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両株の間に著明な生育阻止の差が生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止を認めた。

以上の結果よりベンタゾンの DNA 損傷は認められなかった。

1-11-8 動物を用いた優性致死試験

1-11-8-1 ラットを用いた混餌投与による優性致死試験

(資料 64)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： ベンタゾン ()

試験動物： SD系ラット、1群20匹、交配開始時：雄19週齢、雌14週齢、

試験期間：

試験方法： 検体を20、60、180 ppm含有した飼料を雄ラットに13週間摂食させた長期毒性試験の雄ラットを用い、投与を継続しながら、無投与の雌ラットと1:1で一晩同居させ、翌朝、膈垢を検査し、精子の有無を調べた。7日間精子を確認できないときは、別の無投与雌と交配させた。これを最高4週間繰り返した。精子の確認日を妊娠0日とした。交配終了後、雄は元の試験に返した。

試験項目： 一般症状、生死を毎日観察した。摂餌量を毎日測定した。体重は、雄は毎週測定し、雌は妊娠期間中毎日測定した。

雌は妊娠20日に帝王切開し、子宮を摘出し、黄体数、着床数、胎仔数、死亡吸収胚数を検査した。さらに、内臓の肉眼的病理検査を行った。

胎仔について、性別、体重(平均同腹児体重の70%以下の体重を有する胎児は矮小児とした)、外表、内臓(胎児の1/3)および骨格(胎児の2/3)検査を行った。

試験結果：

試験結果を次表に示す。

全群とも母動物の一般状態の異常は観察されず、摂餌量および体重に对照群との差は認められなかった。雄ラットに対する検体投与によって、母動物の妊性、繁殖能力および胎仔に対して、何ら異常は認められず、特に奇形児、矮小児ならびに死亡胎児がいずれも認められなかった。また、母動物の剖検時の肉眼的検査においても病変は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるベンタゾンの優性致死誘発性は陰性であると判断される。

妊性および繁殖能力：

投与量 (ppm)		対 照	20	60	180
1 群当り動物数		20	20	20	20
母 動 物	妊娠動物数	20	20	20	20
	平均黄体数/腹	13.4	13.5	13.4	13.4
	平均着床数/腹	12.9	13.2	12.9	12.9
	着床前損失率%	3.4	2.2	3.4	3.4
	平均生存胎児数/腹	11.7	12.2	12.1	11.8
	平均死亡吸収胚数/腹	1.2	1.1	0.8	1.1
	着床後損失率 %	9.3	8.0	6.2	8.5
	検体摂取量 (mg/kg/日)	0	1.78	5.3	16.9
胎 児	性比% (雄/雌)	52/48	51/49	53/47	51/49
	体重	3.5	3.5	3.5	3.5
	死亡胎児数	0	0	0	0
	外表検査胎児数	234	243	242	236
	矮小児数	0	0	0	0
	奇形児数	0	0	0	0
	内臓検査胎児数	75	81	79	80
		異常所見なし			
	骨格検査胎児数	159	162	163	156
	奇形児数	0	0	0	0
変異を有する胎児数 (%)	12 (7.6)	5 (3.1)	7 (4.3)	8 (5.1)	

1-11-8-2 マウスを用いた腹腔内投与による優性致死試験

(資料 65)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン ()

試験動物: NMRI 系マウス、雄: 12~14 齢、体重約 29.5 g、1 群 20 匹、雌(無投与、未交尾):
体重約 25.5 g、480 匹

試験期間: 約 2 ヶ月間 ()

試験方法: 検体を 0.5% CMC 水溶液に懸濁して、195 mg/kg (急性腹腔内投与 LD₅₀ 値の 1/5 相当量) を雄に単回腹腔内投与した。また、陽性対照として Trenimon®[2,3,5-トリ
ス-エチレンイミノベンゾキノン-(1,4)] を 0.125 mg/kg、および陰性対照として
CMC 腹腔内投与および無投与群を設けた。

投与の翌日(約 20 時間後)、各雄を無投与雌 3 匹と 7 日間交配した。その後、同様に各雄に対して別の無投与雌 3 匹と交配させ、計 8 回交配を続けた。雌はそれぞれ交配週間の始めより数えて 18 日後に屠殺した(妊娠期間は交尾後 10~17 日の幅がある)。

試験項目: 雌雄の一般症状、生死を毎日観察した。雄について、体重を投与前後、その後週 1 回測定、最終交配終了後に屠殺し、肉眼的病理検査を行った。

雌については帝王切開し、子宮を摘出後、妊娠率、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、脱落膜数、吸収胚数を記録し、突然変異誘発指数(胚死亡率)を算出した。

突然変異誘発指数 = [(死亡胎児数 + 脱落膜数 + 未熟吸収胚数) / 着床数] × 100

試験結果:

雄は、いずれの群とも、投与後、交配週間中ともに特記すべき一般症状に異常は認められず、体重および肉眼的病理検査でも異常は認められなかった。

雌の子宮の検査結果を次表に示す。

検体投与群において、妊娠率、着床数、胚生存率、胚死亡率(突然変異誘発指数)は 4 および 8 週の交配で有意に少なかった。

一方、陽性対照群は妊娠率に無投与および陰性対照との差が認められなかったが、1~3 週の交配時の平均着床数および生存率の明らかな減少が認められ、胚死亡率が有意に高かった。

以上の結果から、マウスにおける腹腔内投与による優性致死試験において、検体の優性致死誘発性は陰性であると判断する。

子宮の検査結果；

交配週間	処 理 群	交 配 数	妊 娠 数	妊 娠 率 (%)	平 均 着 床 数	胚 生 存 率 (%)	胚 死 亡 率 (%)
第 1	無投与	59	57	96.6	11.6	89.1	10.9
	陰性対照	60	53	88.3	12.1	90.5	9.5
	陽性対照	60	50	83.3	8.4	64.6	35.4†
	検体	60	55	91.7	11.9	89.6	10.4
第 2	無投与	59	55	93.2	13.0	91.5	8.5
	陰性対照	60	57	95.0	13.2	88.5	11.5
	陽性対照	60	55	91.7	7.7	53.9	46.1†
	検体	60	55	91.7	12.8	90.5	9.5
第 3	無投与	60	51	85.0	12.8	91.0	9.0
	陰性対照	60	54	90.0	12.7	90.5	9.5
	陽性対照	60	54	90.0	9.2	71.4	28.6†
	検体	60	53	88.3	12.3	88.8	11.2
第 4	無投与	60	51	85.0	12.9	87.6	12.4
	陰性対照	60	54	90.0	12.2	86.5	13.5
	陽性対照	60	47	78.3	11.8	90.4	9.6
	検体	60	56	93.3	12.7	91.2	8.8↓
第 5	無投与	60	53	88.3	12.3	91.6	8.4
	陰性対照	60	54	90.0	11.6	89.6	10.4
	陽性対照	60	49	81.7	11.8	93.1	6.9
	検体	60	52	86.7	12.3	89.2	10.8
第 6	無投与	60	55	93.2	13.3	86.1	13.9
	陰性対照	60	53	88.3	12.5	88.1	11.9
	陽性対照	60	51	85.0	11.6	89.0	11.0
	検体	60	56	93.3	12.1	89.8	10.2
第 7	無投与	60	55	93.2	12.7	87.4	12.6
	陰性対照	60	54	90.0	13.1	89.0	11.0
	陽性対照	60	50	83.3	13.1	88.0	12.0
	検体	60	54	90.0	12.8	91.6	8.4
第 8	無投与	60	55	93.2	13.3	88.3	11.7
	陰性対照	60	52	86.7	12.8	86.8	13.2
	陽性対照	60	52	86.7	12.7	87.1	12.9
	検体	60	52	86.7	13.3	92.5	7.5↓

統計学的方法：カイ二乗検定：↓ $P < 0.05$ 、† $p < 0.001$

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。

Bentazone

1-12 生体の機能に及ぼす影響

1-12-1 ベンタゾンの薬理試験

(資料 66、67)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：ベンタゾン

投与量の選定根拠：

マウス：

ラット：

ウサギ：

(1) マウス、ラット、ウサギの中枢神経系に対する作用

a) 雄マウスの一般症状の観察

供試動物：NMRI 系マウス雄、5 週齢、体重 23.3~27.2 g、1 群 3 匹

方 法：検体を 4% カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁して、0、500 および 1000 mg/kg を経口投与し、投与後 3 時間まで Irwin の変法により行動を観察した。

結 果：経口投与後 3 時間までの間にマウスの行動に顕著な変化は認められなかった。

b) 雄マウスのヘキソバルビタール睡眠時間に対する作用

供試動物：NMRI 系マウス雄、5 週齢、体重 21.8~27.9 g、1 群 6 匹

方 法：4% CMC 水溶液に懸濁して、0、500 および 1000 mg/kg を、また蒸留水に溶解し

* 申請者注：

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。

Bentazone

たジアゼパム 5 mg/kg をそれぞれ経口投与した。投与 1 時間後にヘキソバルビタールを蒸留水に溶解して 70 mg/kg の用量で腹腔内投与し、正向反射の消失と回復の観察により睡眠時間を測定した。

結 果：睡眠時間に対する延長作用は認められなかった。

群	対照	検体		ジアゼパム
		500	1000	
平均睡眠時間(秒)	658.5	797.3	654.5*	2150.8↑

統計学的方法：Dunnett 検定 ↑ $p < 0.05$

*：投与過誤のため 5 例の平均値

c) 雄マウスのペントラゾール痙攣に対する作用

供試動物：NMRI 系マウス雄、4 週齢、体重 18.9~24.8 g、1 群 6 匹

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、0、500 および 1000 mg/kg を、また蒸留水に溶解したジアゼパム 5 mg/kg をそれぞれ経口投与した。投与 1 時間後にペントラゾールを蒸留水に溶解して 150 mg/kg の用量で腹腔内投与し、痙攣が発現するまでの時間を測定し、また各群における死亡率を記録した。

結 果：500 および 1000 mg/kg 群では、検体に起因する軽度の痙攣発現が認められ、痙攣発現までの時間が、500 mg/kg 群で 23%、1000 mg/kg 群で 11%短縮された。ペントラゾール痙攣に対する抗痙攣作用は認められなかった。

群	対照	検体		ジアゼパム
		500	1000	
痙攣発現時間(秒)	50.7	39.2	45.3	192.3↑

統計学的方法：Dunnett 検定 ↑ $p < 0.05$

d) 雄マウスのストリキニーネ痙攣に対する作用

供試動物：NMRI 系マウス雄、4 週齢、体重 23.4~27.7 g、1 群 6 匹

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、0、500 および 1000 mg/kg を、また蒸留水に溶解したジアゼパム 25 mg/kg をそれぞれ経口投与した。投与 1 時間後にストリキニーネを生理食塩液に溶解して 2 mg/kg の用量で腹腔内投与し、痙攣が発現するまでの時間をストリキニーネ投与後 120 分間測定し、また各群における死亡率を記録した。

結 果：ストリキニーネ痙攣に対する抗痙攣作用は認められなかった。

群	対照	検体		ジアゼパム
		500	1000	
痙攣発現時間(秒)	140.0	136.7	130.0	379.2↑

統計学的方法：Dunnett 検定 ↑ $p < 0.05$

e) 雄ラットの体温に対する作用

供試動物：Wistar 系ラット雄、7 週齢、体重 198～236 g、1 群 6 匹

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、0、250 および 500 mg/kg を経口投与し、直腸温を 1 時間ごとに 6 時間後まで測定した。

結 果：体温に対する作用は認められなかった。

f) 雄ウサギの体温に対する作用

供試動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ雄、15.5 週齢、体重 2.54～3.07 kg、1 群 5 匹

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、250 mg/kg を経口投与し、直腸温を 1 時間ごとに 6 時間後まで測定した。

結 果：体温に対する作用は認められなかった。

g) 雄マウスの自発運動量に対する作用

供試動物：NMRI 系マウス雄、4 週齢、体重 22.0～25.0 g、1 群 4 匹

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、0、500 および 1000 mg/kg を、また蒸留水に溶解したジアゼパム 25 mg/kg をそれぞれ経口投与した。

マウスを自発運動量測定ケージに入れ、投与後 45～60 分、105～120 分、165～180 分の 3 回各 15 分間ずつ自発運動量を測定した。

結 果：運動性に対する影響は認められなかった。

群	対照	検体		ジアゼパム
		500	1000	
合計運動量の対照比%	100	104	107	20

h) 雄ラットの脳波に対する作用

供試動物：Wistar 系ラット雄、7～10 週齢、体重 320～370 g、1 群 2 匹（但し、500 mg/kg 群は 1 群 6 匹、0 mg/kg 群は 1 群 4 匹）

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、0、400、500、700 および 1000 mg/kg を経口投与し、皮質および深部脳波を測定した。

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

Bentazone

結 果 : 1000 mg/kg 群では、投与後 8 時間までの間に脳波および行動に対する影響は認められなかった。このうち 1 例は 8~22 時間の間に死亡し、生存した 1 例に変化は認められなかった。

700 mg/kg 群では、2 例中 1 例が、投与約 3 時間後に脳波活性の低下を示し死亡、他の 1 例は約 5 時間半後に死亡した。

500 mg/kg 群の行動および運動性にわずかな変化が認められたが、脳波に対する影響は認められず、脳波解析による睡眠/覚醒パターンにもほとんど影響は認められなかった。

400 mg/kg 群では影響は認められなかった。

(2) ウサギの呼吸、循環器系に対する作用

a) 雄ウサギの血圧、呼吸数、心拍数に対する作用

供試動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ雄、14~15 週齢、体重 2.51~2.55 kg、3 匹

方 法 : 麻酔ウサギに 250 mg/kg の腹腔内投与では明確な症状は認められなかったことから検体 250 mg/kg を 0.2% Tween 80 を含む生理食塩液に懸濁して、腹腔内投与し、呼吸、血圧、心電図を検体投与前から投与 2 時間後まで測定した。刺激薬(ヒスタミン、アセチルコリン、ノルエピネフリン)は静注投与し、続けて、生理食塩液を投与した。

結 果 : 動脈圧、心拍数、呼吸数に対する影響は認められなかった。

検体はヒスタミン、アセチルコリンおよびノルエピネフリンの投与による標準的な血圧変化に対しても影響を与えなかった。

(3) モルモットの自律神経系に対する作用

a) 雄モルモットの摘出輸精管に対する作用

供試動物 : ヒマヤラ白斑種モルモット雄、体重 298~348 g、14 匹 (1 濃度あたり 4 例)

方 法 : 検体を 0.2% Tween 80 を含む生理食塩液に懸濁して、マグヌス管に懸垂した摘出輸精管に 10^{-5} 、 10^{-4} および 10^{-3} g/mL の検体濃度で適用した(濃度を 10^{-3} g/mL 以上にすることは不可能であった)。

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。

Bentazone

10^{-4} g/mL のアセチルコリンあるいは 10^{-6} g/mL のエピネフリン適用により収縮を惹起して検体の影響を検討した。

結果： 10^{-3} g/mL 適用下では、アセチルコリン収縮が対照に比べて 117.6%に増強されたが、有意な差ではなかった。

エピネフリン収縮に対しては、 10^{-5} g/mL 適用下で 65%に抑制されたが、 10^{-4} g/mL 適用下ではわずかな増強（112%）がみられ、 10^{-3} g/mL 適用下では顕著な増強（300%以上）が認められた。

また検体の 10^{-3} g/mL 単独適用により 114%の収縮作用が認められた。

群	対照	溶媒対照	検体 (g/mL)		
			10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
アセチルコリン収縮	100.0	93.9	95.5	87.6	117.6
エピネフリン収縮	100.0	88.0	65.0	112.0	>300

b) 雄モルモットの摘出気管に対する作用

供試動物：ヒマヤラ白斑種モルモット雄、体重 411~450 g、8 匹（1 濃度あたり 4 例）

方法：検体を 0.2% Tween 80 を含む生理食塩液に懸濁して、マグヌス管に懸垂した摘出気管に 10^{-5} 、 10^{-4} および 10^{-3} g/mL の検体濃度で適用した（濃度を 10^{-3} g/mL 以上にすることは不可能であった）。

10^{-4} g/mL のヒスタミンあるいは 10^{-7} g/mL のエピネフリン適用により収縮を惹起して検体の影響を検討した。

結果： 10^{-3} g/mL 適用下では、顕著な気管弛緩作用が見られた。エピネフリンによる弛緩に対する増強作用も見られた。ヒスタミンによる気管収縮に対して、 10^{-4} g/mL 適用下でその増強作用が、 10^{-3} g/mL では減弱作用が見られた。アセチルコリン収縮に対しては影響を与えなかった。

群	対照	溶媒対照	検体 (g/mL)		
			10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
非エピネフリン収縮		0	9.3	51.1	135.6
エピネフリン収縮	100.0	104.1	86.0	48.9	50.4
相加作用	100.0	104.1	95.3	100.0	186.0
非ヒスタミン収縮		0	0	-65.5*	-115.5*
ヒスタミン収縮	100.0	103.9	109.0	128.0	50.8
非アセチルコリン収縮		0	0	-36.6	-60.0
アセチルコリン収縮	100.0	104.7	98.7	126.7	90.6

*：ヒスタミン/アセチルコリン適用前に検体に起因する気管の弛緩が認められた。

(4) マウス、モルモットおよびラットの消化器に対する作用

a) 雄マウスの炭末輸送に対する作用

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。

Bentazone

供試動物：NMRI系マウス雄、7週齢、体重25.0~30.5g、1群10匹

方法：500 mg/kgの皮下投与で急性の可逆的な症状が認められたことから500 mg/kgを選定した。マウスを一晩絶食させ、検体を0.2% Tween 80を含む生理食塩液に懸濁して、0および500 mg/kgを皮下投与した。検体投与1時間後に5%アラビアゴムを含む10%炭末懸濁液を0.3 mLずつ経口投与した。炭末投与後、90分後にマウスを屠殺し、炭末が盲腸内に輸送されているかどうかを記録した。

結果：炭末輸送に対する影響は認められなかった。

b) 雄モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物：ヒマヤラ白斑種モルモット雄、体重284~300g、2匹使用

方法：検体を0.2% Tween 80を含む生理食塩液に懸濁して、マグヌス管に懸垂した摘出回腸に 10^{-5} 、 10^{-4} および 10^{-3} g/mLの濃度で適用した(濃度を 10^{-3} g/mL以上にすることは不可能であった)。

10^{-7} g/mLのアセチルコリンあるいはヒスタミン適用により収縮を惹起して検体の影響を検討した。

結果： 10^{-5} および 10^{-4} g/mL適用下では、それぞれの収縮反応に対する作用は認められなかった。 10^{-3} g/mL適用下では、アセチルコリン収縮およびヒスタミン収縮がそれぞれ対照に比べて7.6%および10.9%に抑制された。

群	対照	溶媒対照	検体 (g/mL)		
			10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
アセチルコリン収縮	100.0	86.0	85.2	80.9	7.6
ヒスタミン収縮	100.0	86.2	85.6	89.1	10.9

c) 雄ラットの胃液分泌に対する作用

供試動物：Wistar系ラット雄、8週齢、体重181~209g、1群5匹

方法：一晩絶食させたラットの幽門をエーテル麻酔下で結紮し、術後に生理食塩液4 mL (37°C)を腹腔内投与した。麻酔から覚醒後直ちに、検体を4% CMC水溶液に懸濁して、0、250および500 mg/kgを経口投与した。6時間後に再度麻酔し、噴門を結紮した後、胃を摘出した。胃液を採取し、その量およびpHを記録した。

結果：胃液分泌に対する作用は認められなかった。

(5) ラットの骨格筋に対する作用

a) 雄ラットの骨格筋に対する作用

供試動物：Wistar 系ラット雄、8 週齢、体重 200～219 g、1 群 4 匹

方 法：ラットにウレタンを腹腔内投与して麻酔し、検体を 0.2% Tween 80 を含む生理食塩液に懸濁して、250 mg/kg を腹腔内投与した。坐骨神経を電気刺激し、骨格筋の収縮反応を記録した。血圧も同時に記録した。

結 果：間接刺激による筋収縮に対する作用は認められなかった。

動脈圧に対する低下作用（60 分後に -22.4%、120 分後に -37.2%）が認められた。

(6) ラットおよびウサギの血液に対する作用

a) 雄ラットの血液凝固に対する作用

供試動物：Wistar 系ラット雄、8 週齢、体重 194～222 g、1 群 7 匹

方 法：検体を 4% CMC 水溶液に懸濁して、0、250 および 500 mg/kg を経口投与した。3 時間後に無麻酔下で眼窩静脈叢から採血し、プロトロンビン時間、部分トロンボプラスチン時間およびトロンビン時間を測定した。

結 果：各血液凝固パラメータに対する影響は認められなかった。

b) 雄ウサギの血液に対する *in vitro*での溶血作用

供試動物：ニュージーランドホワイ種ウサギ雄、体重 2.5～3.5 kg、1 群 2 匹

方 法：眼窩静脈叢より採血し、遠心分離して赤血球を分離後、生理食塩液を用いて 10% 赤血球浮遊液を調整した。0.4% Tween 20 を含む生理食塩液により検体の 10、1 および 0.1%液を調整した。赤血球浮遊液を検体希釈液 5 mL に対し 0.25 mL の割合で加え、溶血を赤血球浮遊液滴下の直後、1 時間後および 2 時間後に観察した。対照として生理食塩液および 0.4% Tween 20 を含む生理食塩液を用いた。

結 果：検体を加えることにより、試験に供する生理食塩液が褐色を帯びるため、0.1%、1.0%、10%濃度での溶血試験ができなかった。この呈色は 2 時間の試験時間を通して一定であり、そのため溶血を観察することができなかった。

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。

Bentazone

以上の試験結果から、ベンタゾン原体には中枢神経系、呼吸循環器系、胃液分泌、骨格筋および血液凝固に対する作用は認められなかった。

自律神経系に対する作用としては、検体の 10^{-3} g/mL 適用下で摘出輸精管のエピネフリン収縮の顕著な増強が認められた。また、ベンタゾン原体 10^{-4} および 10^{-3} g/mL 適用により、摘出気管の弛緩作用が認められ、さらに、エピネフリン弛緩に対する増強作用が認められた。消化器に対する作用として、検体の 10^{-3} g/mL 適用下で摘出回腸のアセチルコリン収縮およびヒスタミン収縮の抑制が認められた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無毒性量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 一般症状 [Irwin変法] 雄マウス	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 500, 1000	♂3	-	1000	一般症状の異常なし
ヘキソバル ビタール睡 眠時間 雄マウス	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 500, 1000	♂6		1000	睡眠延長作用なし
ペンテトラ ゾール痙攣 雄マウス	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 500, 1000	♂6		1000	抗痙攣作用なし
ストリキニ ーネ痙攣 雄マウス	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 500, 1000	♂6		1000	抗痙攣作用なし
体温 雄ラット	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 250, 500	♂6		500	体温に対する作用なし
体温 雄ウサギ	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 250	♂5		250	体温に対する作用なし
自発運動量 雄マウス	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 500, 1000	♂4	-	1000	自発運動量の変化なし
脳波 雄ラット	経口投与 4%CMC 水溶液	0, 400, 500, 700, 1000	♂4	700	500	脳波の変化なし
呼吸、循環器 系 麻酔雄ウサ ギ	腹腔内投与 生理食塩液	0, 250	♂3	-	250	呼吸、循環パラメータ ーの変化なし

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。

Bentazone

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表（つづき）

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無毒性量 (mg/kg)	結果の概要
自律神経系 モット の 摘出輸精管	<i>in vitro</i> 試験 生理食塩液	0, 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ g/mL	♂4	単独作用	10 ⁻³ g/mL	収縮作用あり
		アセチルコリン 10 ⁻⁴ g/mL		10 ⁻³ g/mL	10 ⁻⁶ g/mL	アセチルコリン収縮を 10 ⁻³ で有意でないが増強した
		エトネフリン 10 ⁻⁶ g/mL			<10 ⁻⁵ g/mL	エトネフリン収縮を 10 ⁻⁶ で抑制、10 ⁻⁶ 以上で増強
モット の 摘出気管	<i>in vitro</i> 試験 生理食塩液	0, 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ g/mL	♂4	10 ⁻³ g/mL	10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻³ g/mL で気管弛緩作用あり
		ヒスタミン 10 ⁻⁴ g/mL		10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁵ g/mL	10 ⁻⁴ g/mL で増強、10 ⁻³ g/mL で減弱
		エトネフリン 10 ⁻⁷ g/mL		10 ⁻³ g/mL	10 ⁻⁴ g/mL	エトネフリン弛緩作用を 10 ⁻³ g/mL で増強、
消化器 炭末輸送能 雄マウス	経口投与 生理食塩液	0, 500	♂10	-	500	炭末輸送能に影響なし
モット の 摘出回腸	<i>in vitro</i> 試験 生理食塩液	0, 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻³ g/mL アセチルコリン 10 ⁻⁷ g/mL ヒスタミン 10 ⁻⁷ g/mL	♂2	10 ⁻³ g/mL	10 ⁻⁴ g/mL	アゴニスト収縮を 10 ⁻³ g/mL で、抑制した
胃液分泌 雄ラット	経口投与 4% CMC 水溶液	0, 250, 500	♂5	-	500	胃液分泌に影響なし
骨格筋収縮 雄ラット坐骨神経刺激	腹腔内投与 生理食塩液	0, 250	♂4	-	250	間接刺激による筋収縮作用なし
血液 雄ラットの 血液凝固	経口投与 4% CMC 水溶液	0, 250, 500	♂7		500	血液凝固パラメータに影響なし
雄ウサギの 溶血	<i>in vitro</i> 試験 生理食塩液	0, 0.1, 1, 10%	♂2			溶液が褐色となり、試験できず

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。
Bentazone

1-13 その他

1-13-1 ベンタゾンのマウスにおける4週間混餌投与免疫毒性試験 (資料 101)

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。

Bentazone

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。

Bentazone

結果： 以上の通り、本剤を 0、300、1000 及び 3000 ppm の濃度で飼料に混入し、1 群当たり各 8 匹の雌マウスに 4 週間にわたって混餌投与し、免疫毒性試験を実施した。

体重、摂餌量および一般症状においていずれの投与群においても被験物質投与の影響は観察されなかった。

プライマリーT 細胞依存性抗体反応において、抗 SRBC IgM 抗体の抗体価に変化はなかった。これに対し陽性対照群では顕著な抗体価の減少が見られた。臓器重量においても、被験物質投与群に変化は認められなかったが、陽性対照群では最終体重と胸腺重量の顕著な低下が認められた。

従って本試験の NOAEL は、3000 ppm 以上 (1094 mg/kg 以上) であると考えられる。

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

Bentazone

2. 原体中混在物および代謝物に関する試験成績

2-1 (原体中混在物) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 68)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 原体中混在物

試験動物: SD系ラット、6週齢、平均体重: 約 100~105 g、1群雌雄各 10匹

試験期間: 28日間観察

試験方法: 検体を 1%メチルヒドロキシエチルセルロース溶液に懸濁して、約 16 時間絶食させたラットに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 28 日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	1, 260、1, 590、2, 000、2, 520、3, 180
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 2, 350 (2, 180~2, 540) 雌: 2, 470 (2, 270~2, 690)
死亡開始時間 および終了時間	投与 1 時間後に開始 投与後 6 時間以内に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後 30 分から発現 投与後 24 時間以内に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1590
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1260

中毒症状として無関心、運動失調、呼吸困難、昏睡、摂餌量低下が認められた。

剖検所見では死亡例に実質臓器の退色および肺のうっ血が認められた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-2

(原体中混在物) のラットにおける

急性経口毒性試験

(資料 69)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 原体中混在物

試験動物: SD系ラット、6週齢、平均体重: 約 100~105 g、1群雌雄各 10匹

試験期間: 28日間観察

試験方法: 検体を 1%メチルヒドロキシエチルセルロース溶液に懸濁して、約 16 時間絶食させたラットに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 28 日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	7900、10000、12600
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄: >12600
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時期 および消失時期	中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	12600
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	12600

中毒症状および死亡例は認められなかった。

剖検では、組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-3 (動植物/土壌代謝物、原体中混在物) の
ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 70)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 動植物/土壌代謝物、原体中混在物

試験動物: SD系ラット、雄7週齢、雌10週齢、平均体重: 約170~181g、1群雌雄各10匹

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各10匹、体重: 170~181g

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を1%メチルヒドロキシエチルセルロース溶液に懸濁して、約16時間絶食させたラットに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	1,780、2,150、2,610、3,160、3,830、 4,640、5,620
LD ₅₀ 値(mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 3,250(2,900~3,640) 雌: 2,940(2,670~3,230)
死亡開始時間 および終了時間	投与1.5時間後に開始 投与後24時間以内に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後15分から発現 投与24時間に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	1780
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	1780

中毒症状として鎮静、運動失調、散瞳、呼吸困難、昏睡が認められた。

剖検所見では死亡例の胃に、帯赤色液状物、潰瘍、糜爛および肝臓の暗調化が認められた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-4

(原体中混在物) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 71)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 原体中混在物

試験動物: SD系ラット、雄7週齢、雌10週齢、平均体重: 約170~181 g、1群雌雄各10匹

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を1%メチルヒドロキシエチルセルロース溶液に懸濁して、約16時間絶食させたラットに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	825、1,000、1,210、1,470、1,780、 2,150、2,610、3,160
LD ₅₀ 値(mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 1,850(1,650~2,070) 雌: 1,890(1,650~2,120)
死亡開始時間 および終了時間	投与1.5時間後に開始 投与後24時間以内に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後15分から発現 投与24時間に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	825
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	1000

中毒症状として沈静、運動失調、散瞳、呼吸困難、昏睡、痙攣が認められた。

剖検所見で、死亡例の胃腸管に帯赤色液状物が認められた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-5 (動物/土壌の代謝物、原体中混在物)のマウスにおける急性経口毒性試験
(資料 72)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 動物/土壌の代謝物、原体中混在物

試験動物: NMR1系マウス、1群雌5匹(但し1,250 mg/kg群は10匹)、平均体重: 約23.3 g

試験期間: 7日間観察

試験方法: 検体を水溶液として強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および死亡を7日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	200、400、800、1,250、1,600
LD ₅₀ 値(mg/kg) (95%信頼限界)	雌: 約1400
死亡開始時間 および終了時間	投与後20分に開始 投与3日後に終了
症状発現時期 および消失時期	投与30分後から発現 投与3日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	800
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	200

中毒症状として軽度の振顫、正向反射の欠如、間代性痙攣、橙色尿、無関心が認められた。

剖検所見では、死亡例に肝臓および腎臓の退色が認められた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-6

(動植物の代謝物) のラットにおける急性経口毒性(資料 73)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 動植物の代謝物

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各1~6匹、平均体重: 雄約150g、雌約172g

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体をカルボキシメチルセルロース液に懸濁して強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および死亡を14日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	1,000、2,150、3,160、4,640、5,620、5,810、6,000、6,810、8,250、10,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄雌: 5,780 (5,453~6,127)
死亡開始時間 および終了時間	投与後1時間以内に開始 投与後7日以内に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後から発現 投与8日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	<1000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄: 4640 雌: 5810

中毒症状として、軟便、貧血、軽度の無関心、感覚不均衡、後肢麻痺および呼吸困難が認められた。

剖検所見では、死亡例に急性うっ血性充血、急性心室拡張、腺胃の瀰漫性紅斑および出血性潰瘍形成と胃・小腸の血様内容物、赤色尿が認められた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-7-1 (代謝物) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 74)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: 代謝物

試験動物: ウィスター系ラット、平均体重: 雄 180g、雌 179g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース液に懸濁して約 16 時間絶食させたラットに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時期 および消失時期	症状発現なし

中毒症状および解剖所見については、何ら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。

Bentazone

2-7-2

(代謝物)の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 75)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

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* (TA1535、TA100、TA1537、TA98 株) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法 (標準プレート法およびプレインキュベーション法) で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。20~5000 µg/プレート の範囲の 5 濃度で実施した。試験は 3 プレートで行った。

結果:

(標準プレート法)

[数値は平均値、()内は SD]

薬物	濃度 (µg/プレート)	S9 Mix の有	復帰変異コロニー数/プレート			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	17 (4)	111 (8)	7 (1)	24 (2)
検体	20	-	16 (2)	118 (14)	8 (1)	27 (1)
	100	-	17 (7)	104 (3)	8 (1)	26 (5)
	500	-	20 (4)	104 (6)	10 (2)	22 (1)
	2500	-	16 (3)	107 (6)	9 (2)	22 (3)
	5000	-	14 (3)	104 (20)	12 (1)	26 (2)
対照 (DMSO)		+	16 (4)	104 (5)	8 (2)	36 (5)
検体	20	+	16 (4)	114 (3)	10 (2)	36 (5)
	100	+	16 (5)	113 (8)	6 (2)	32 (2)
	500	+	17 (3)	113 (9)	7 (3)	33 (4)
	2500	+	14 (2)	111 (9)	7 (1)	35 (5)
	5000	+	18 (3)	115 (6)	6 (1)	38 (12)
陽性対照	2AA 10	+	333 (34)	1567 (78)	142 (13)	1517 (112)
	MNNG 5	-	2367 (202)	1977 (87)		
	AAC 100	-			743 (111)	
	NPD 10	-				806 (58)

AA: 2-アミノアントラセン
AAC: 9-アミノアクリジン

MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
NPD: 4-ニトロフェニレンジアミン

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

Bentazone

(プレインキュベーション法) [数値は 3 プレートの平均、()内は SD]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	15 (2)	109 (2)	8 (1)	23 (1)
検体	20	-	16 (2)	106 (5)	8 (2)	25 (1)
	100	-	16 (5)	120 (2)	8 (2)	21 (2)
	500	-	14 (5)	117 (7)	9 (1)	21 (1)
	2500	-	13 (2)	120 (5)	11 (3)	24 (2)
	5000	-	15 (5)	123 (1)	8 (2)	24 (3)
対照 (DMSO)		+	17 (4)	108 (4)	8 (1)	36 (4)
検体	20	+	15 (4)	111 (8)	10 (4)	31 (3)
	100	+	17 (3)	111 (7)	12 (1)	35 (4)
	500	+	15 (1)	101 (2)	9 (2)	38 (4)
	2500	+	15 (2)	113 (9)	10 (1)	38 (3)
	5000	+	18 (3)	110 (9)	9 (2)	39 (8)
陽性対照	2AA 10	+	386 (41)	1380 (98)	144 (17)	1780 (46)
	MNNG 5	-	2117 (104)	1870 (46)		
	AAC 100	-			445 (51)	
	NPD 10	-				1347 (242)

AA : 2-アミノアントラセン

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

AAC : 9-アミノアクリジン

NPD : 4-ニトロフェニレンジアミン

検体は代謝活性化を含め 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 4-ニトロフェニレンジアミンでは、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

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

Bentazone

2-8-1 (代謝物) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 76)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: 代謝物

試験動物: ウィスター系ラット、平均体重: 180g (5000 mg/kg 群雌雄)、雄 177g および雌 179g (3830 mg/kg 群)、雄 168g および雌 188g (2150 mg/kg 群)、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して、約 16 時間絶食させたラットに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2, 150、3, 830、5, 000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄: 約 5000 雌: >5000
死亡開始時間 および終了時間	投与後 2 日に開始 投与後 7 日に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後 1 日から発現 投与後 7 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	3830
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄: 3, 830 雌: 5, 000

中毒症状としては、よろめき歩行および立毛が認められた。

剖検所見では、死亡例に全身性うっ血がみられた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-8-2 (代謝物) のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 77)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: 代謝物

試験動物: NMR1 系マウス、群平均体重: 雄 20~22 g および雌 19~21 g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して、約 16 時間絶食させたマウスに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	1780、3160、5,000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄雌: >5000
死亡開始時間 および終了時間	投与後 1 時間に開始 投与後 7 日に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後 1 時間から発現 投与後 10 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1730
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1780 (死亡は 3160 mg/kg で雌雄とも各 1 例のみ)

中毒症状としては、呼吸困難、無関心、よろめき歩行、立毛および一般状態不良が、雌で多く認められた。

剖検所見では、死亡例にうっ血がみられた。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-8-3 (代謝物)のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 78)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: 代謝物

試験動物: NMR1 系マウス、群平均体重: 雄 22~26g、雌 21~23g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して、約 16 時間絶食させたマウスに強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	562、1000、1780、3160、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄雌: >5000
死亡開始時間 および終了時間	投与後 1 時間に開始 投与後 7 日に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後 1 時間から発現 投与後 2 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	562
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1780 (死亡は 3160mg/kg で雌 1 例、5000)

中毒症状としては、呼吸困難、無関心、よろめき歩行、痙攣性歩行、一般状態の障害あるいは不良が認められた。死亡が 5000mg/kg の雄および 3160mg/kg の雌各 1 例で認められ、前者は誤投与のためであった。

剖検所見では、死亡例および生存例とも組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

2-8-4 (代謝物) の Wistar 系ラットにおける 3 ヶ月反復経口投与毒性試験 (資料 79)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: 代謝物 (バッチ番号:)

供試動物: Wistar 系ラット (Chbb:Thom)、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時日齢: 42 日齢、投与開始時体重: 雄: 176~201 g, 雌: 134~150 g

投与期間: 94 日間 ()

投与方法: 検体を各濃度別に秤量し、少量の飼料と混合してプレミックスを調製し、さらに必要量の飼料を混合して 0、400、1200 あるいは 3600 ppm の飼料を調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態: 死亡および一般状態を毎日観察した。

死亡が 400 および 1200ppm 群で雄各 1 例認められたが、検体の投与に関連のない偶発的死亡であった。一般状態に検体投与に関連した変化は認められなかった。

摂餌量および食餌効率: 全動物の摂餌量は、週 1 回測定し、動物 1 日あたり摂餌量 (g) を算出した。食餌効率は、体重および摂餌量の個体別値から算出した。

摂餌量および食餌効率ともに、対照群に比し、本質的な差は認められなかった。

検体摂取量: 全試験期間中における 1 日平均検体摂取量は平均摂餌量、体重および設定濃度から算出した。

試験群	飼料中濃度 (ppm)	1 日あたり平均検体摂取量 (mg/kg/日)		
		雄	雌	平均
1	400	28	34	31
2	1200	85	101	93
3	3600	259	304	282

体重変化: 体重は、投与開始 1 日前、その後は毎週測定した。各測定日と試験 0 日の体重差を体重変化とした。

体重および体重増加ともに、対照群に比し、本質的な差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。

Bentazone

血液学的検査：投与 45 日および投与終了時の全生存動物を対象として、非絶食下で眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、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、血小板数、白血球像、網状赤血球数、トロンボプラスチン時間

投与終了時の検査で、対照群と比べ統計学的に有意 (Dunnett 両側検定 $p < 0.05$) な増加が、3600 ppm 群雌の網状赤血球数(対対照比 140%)に認められたのみであり、検体投与に関連した変化はないと考えられた。

血液生化学的検査：血液学的検査と同一の検査時期に、全生存動物から採取した血液の血清を用いて以下の項目の測定を行った。

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、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、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ

対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査時期	雄			雌		
		400	1200	3600	400	1200	3600
無機リン	94 日		90↓	89↓			
カルシウム	94 日		97↓				
総ビリルビン	94 日	55↓					
総蛋白	94 日	95↓					
グロブリン	94 日	92↓					

統計学的手法：Dunnett の検定：↑↓； $p \leq 0.05$ ↑↓； $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものである。

表のように有意差が認められたが、いずれの項目も検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

尿 検 査：試験 39 および 88 日に絶食、絶水下で採取した尿について以下の項目を検査した。

比重、容量、色調、外観、硝酸塩、pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血および沈渣

検体の投与に起因する変化は認められなかった。

眼科学的検査：投与開始 1 日前および試験 89 日に対照群および高用量群の動物を対象に散瞳剤を投与後、検眼鏡を用いて検査した。

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。

Bentazone

検体の投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量：試験終了時の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣

検体の投与に起因する変化は認められなかったが、対照群と比べ統計学的に有意 (Dunnett 両側検定、 $p < 0.05$) な副腎重量の低下 (対対照比 86%) が 400 ppm 群雄でのみ認められた。対体重比には有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理検査：すべての供試動物を対象にして剖検を行った。

認められた所見はいずれも自然発生的な変化であり、検体投与によるものではなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製した。

肉眼的病変部、脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、卵巣、前立腺、精巣上体、精囊、乳腺(雌)、子宮、膣、皮膚、筋肉、顎下腺、舌下腺、食道、胃(腺胃および前胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、坐骨神経、胸骨(および骨髄)、骨髄(大腿骨)、膝関節を含む大腿骨、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼球

検鏡は対照群および 3200 ppm 群の上記の全ての組織、さらに、肺、肝臓、腎臓および肉眼的異常部位については全ての投与群について行った。

検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、検体[]のラットに対する 3 ヶ月間飼料混入投与による亜急性毒性試験における影響は最高用量の 3600 ppm でも認められなかった。したがって、無毒性量 (NOAEL) は 3600 ppm 以上 (雌雄の平均で 282 mg/kg/日以上) であると判断された。

親化合物の NOAEL は 400ppm であることから、代謝物 の毒性は親化合物より弱いものと推察される。

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

Bentazone

2-8-5 (代謝物) のラットにおける催奇形性試験

(資料 80)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: 代謝物

試験動物: ウィスター系 Chbb:THOM (SPF) 妊娠ラット、妊娠 0 日で 77~79 日齢、平均体重 232.5g、
1 群 25 匹

投与期間: 器官形成期の 10 日間 ()

投与方法: 雌を同系の雄と 1~4:1 で交配し、膣垢中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。
検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁して毎日調製し、0 (対照群)、40、100 および 250 mg/kg の用量で妊娠 6~15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群の動物には、0.5% CMC 水溶液のみを同様に投与した。投与容量 (10 mL/kg) は妊娠 6 日の個体別体重に基づき算出した。

投与量設定根拠:

試験項目:

母動物:

臨床症状および生死について毎日観察した。妊娠 0、1、3、6、8、10、13、15、17 および 20 日に体重と摂餌量を測定した。

妊娠 20 日に屠殺し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮重量を測定した後、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児: 性別の判定、体重と胎盤重量の測定および外表異常の観察を行った。各同腹児の約半数の胎児について骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児につ

いては内臓異常の有無を検査した。

結 果:

母動物(表 1):

いずれの群とも母動物の死亡/切迫殺例はなく、一般状態、摂餌量、体重および体重増加、補正体重増加、妊娠子宮重量、剖検所見に投与に起因する特記すべき影響は認められなかった。着床所見で、対照群の着床前損失率をもっとも高かったが、投与に起因する影響は認められなかった。

表 1. 母動物の一般状態、体重、摂餌量および着床所見

群 (mg/kg/日)		対照	40	100	250
1 群当り動物数		25	25	25	25
未妊娠雌数		5	0	2	3
妊娠雌数 (%)		20 (80)	25 (100)	23 (92)	22 (88)
全胚吸収雌数		2	0	0	0
生存胎児を有する腹数		18	25	23	22
一般状態		(検体に起因する異常なし)			
体重		(検体に起因する異常なし)			
体重変化		(検体に起因する異常なし)			
補正体重変化 ^a		(検体に起因する異常なし)			
摂餌量		(検体に起因する異常なし)			
妊娠子宮重量		(検体に起因する異常なし)			
腹 当 り 着 床 所 見	検査動物数(腹数)	20	25	23	22
	黄体数(率)	14.4	15.8	15.7	15.2
	着床数(率)	11.9	15.0 [†]	14.5 [†]	13.8
	着床前損失率 (%)	20.1	5.8 [↓]	5.6 [↓]	9.7
	吸収胚数合計	0.9	1.3	1.0	1.6
	早期吸収胚数	0.7	1.2	0.9	1.5
	後期吸収胚数	0.2	0.1	0.0	0.1
	着床後損失率 (%)	15.7	9.6	6.5	11.3
	生存胎児数(全胚吸収腹を除く)	12.3	13.6	13.8	12.1
	胎盤重量(g)	.044	0.43	0.44	0.45
死亡胎児数(総数)					1
剖検所見		(検体に起因する異常なし)			

統計学的手法: t-検定: †↓; p ≤ 0.05

^a 補正体重変化は妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量および妊娠 6 日の体重を減じた値。

表 2. 胎児動物

投与量 (ppm)		対照	40	100	250	
1 群当り動物数		18	25	23	22	
胎児	胎児数/腹	雄	6.7	7.0	7.3	6.3
		雌	5.6	6.7	6.6	5.8
	性比(雄%)		54.5	51.0	52.5	52.3
	体重(g)	平均	4.0	3.8	3.8	3.9
		雄	4.1	3.9	3.9	3.9
		雌	3.8	3.7	3.7	3.8
	外表異常	検査動物数	222 (18)	341 (25)	318 (23)	267 (22)
		奇形胎児総数				1 (1)
		全身浮腫				1 (1)
		胎盤癒合胎児数			2 (2)	2 (2)
内臓異常	検査動物数	106 (18)	164 (25)	151 (23)	126 (22)	
	奇形胎児総数	1 (1)		2 (2)	1 (1)	
	内臓逆位				1 (1)	
	導尿管重度拡張			1 (1)		
	水頭症	1 (1)				
	右心症			1 (1)		
変異胎児総数	13 (10)	24 (15)	20 (12)	18 (11)		
腎盂拡張	13 (10)	24 (15)	20 (12)	18 (11)		
水尿管症	3 (3)	2 (2)	5 (3)	6 (6)		
骨格異常	検査動物数	116 (18)	177 (25)	167 (23)	141 (22)	
	奇形胎児総数	5 (4)	3 (3)	7 (7)	7 (6)	
	異椎体/重度変形弓			1 (1)		
	胸椎体/非対称亜鈴型	5 (4)	2 (2)	6 (6)	3 (3)	
	胸椎体/二分				2 (2)	
	腰椎体/非対称亜鈴型				1 (1)	
	胸骨裂		1 (1)			
	胸骨分節二分/骨化中心位置異常				2 (2)	
	骨格変異胎児総数	55 (16)	66 (23)	72 (21)	69 (21)	
	不整形胸骨分節	51 (16)	52 (21)	66 (20)	60 (21)	
	短縮 13 肋骨	7 (6)	19 (10)	9 (6)	7 (4)	
	痕跡頸肋	2 (2)	2 (2)	5 (2)	1 (1)	
	骨格遅延胎児総数	43 (16)	86 (22)	90 (23)	65 (19)	
胸椎体/不完全骨化	15 (6)	38 (18†)	30 (15)	33 (16†)		
未骨化胸骨分節	2 (2)	11 (7)	13 (8)	13 (8)		
胸骨分節不完全骨化/小型	17 (15)	38 (14)	40 (17)	19 (10)		
胸椎体/対照亜鈴型	12 (9)	13 (9)	16 (11)	12 (9)		

統計学的手法: Fisher 直接確率検定: †: p ≤ 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。

Bentazone

胎児(表 2):

腹当たり胎児数、性比、体重および胎児の死亡率には、検体投与の影響は認められなかった。

外表、内臓および骨格の奇形および変異ともに、生物学的変動の範囲内にあり、検体投与に起因する異常は認められなかった。

胸椎体不完全骨化を有する胎児数あるいは腹数の増加が 40 あるいは 250 mg/kg 群、未骨化胸骨分節有する胎児数の増加が 100 および 250 mg/kg 群で認められた、骨格遅延を有する胎児の総数が 100mg/kg 群で有意に高かったが、250mg/kg 群では有意差は認められなかった。これらの差には明確な用量反応関係がないこと、本試験では対照群の平均着床数が最も少ないことが骨格遅延を有する胎児数が相対的に低かったことに関連している可能性があること、および背景データの範囲と同程度であることから、検体の投与に起因するとは考えられなかった。

以上の結果から、検体を妊娠ラットの器官形成期に経口投与したとき、母動物および胎児に対して 250 mg/kg/日でも投与に起因する影響は認められず、胎児に対して催奇形性も認められなかった。

親化合物は 250 mg/kg/日でも母動物に摂餌量の減少および体重増加の抑制、胎児に対して体重の減少を伴い発育遅延が認められ、無毒性量が 100 mg/kg/日であったことから、代謝物である本検体の毒性は親化合物よりも弱いものであった。

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

Bentazone

2-8-6 (代謝物) の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 81)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

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* (TA1535、TA100、TA1537、TA98 株) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法 (標準プレート法およびプレインキュベーション法) で変異原性を検定した。

検体を溶解させるため、DMSO を用いた。20~5000 µg/プレート の範囲の 5 濃度で実施した。試験は 3 プレートで行った。

結果:

(標準プレート法)

[数値は平均値、()内は SD]

薬物	濃度 (µg/プレート)	S9 Mix の有 無	復帰変異コロニー数/プレート			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	17 (3)	108 (15)	10 (3)	27 (2)
検体	20	-	18 (5)	110 (14)	9 (1)	25 (5)
	100	-	13 (2)	100 (8)	6 (4)	23 (1)
	500	-	17 (1)	102 (14)	6 (1)	23 (1)
	2500	-	17 (7)	92 (11)	8 (1)	26 (3)
	5000	-	22 (3)	103 (2)	10 (2)	24 (1)
対照 (DMSO)		+	20 (5)	108 (6)	12 (2)	33 (3)
検体	20	+	17 (4)	106 (15)	13 (1)	32 (1)
	100	+	14 (4)	114 (10)	12 (1)	33 (3)
	500	+	17 (5)	96 (5)	12 (3)	32 (3)
	2500	+	17 (6)	126 (6)	12 (3)	38 (3)
	5000	+	15 (2)	119 (2)	10 (5)	33 (6)
陽性対照	2AA 10	+	471 (68)	1545 (35)	110 (6)	1063 (45)
	MNNG 5	-	1747 (265)	1427 (159)		
	AAC 100	-			1133 (32)	
	NPD 10	-				1403 (67)

AA: 2-アミノアントラセン
AAC: 9-アミノアクリジン

MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
NPD: 4-ニトロフェニレンジアミン

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

Bentazone

(プレインキュベーション法)

[数値は平均値、()内は SD]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有 無	復帰変異コロニー数/プレート			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		—	15 (2)	109 (5)	9 (2)	22 (1)
検体	20	—	16 (2)	107 (7)	9 (2)	21 (1)
	100	—	15 (3)	104 (9)	9 (2)	21 (2)
	500	—	18 (4)	92 (7)	10 (2)	22 (1)
	2500	—	16 (4)	102 (4)	10 (4)	20 (2)
	5000	—	18 (5)	91 (13)	8 (3)	18 (2)
対照 (DMSO)		+	14 (3)	107 (3)	9 (2)	36 (4)
検体	20	+	15 (3)	100 (9)	10 (3)	34 (3)
	100	+	13 (2)	100 (9)	9 (1)	29 (2)
	500	+	11 (2)	112 (9)	8 (2)	35 (10)
	2500	+	13 (1)	98 (3)	9 (2)	33 (5)
	5000	+	11 (2)	104 (6)	9 (2)	30 (3)
陽性対照	2AA 10	+	384 (35)	1617 (108)	136 (27)	809 (77)
	MNNG 5	—	1187 (42)	1350 (72)		
	AAC 100	—			735 (118)	
	NPD 10	—				973 (190)

AA : 2-アミノアントラセン

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

AAC : 9-アミノアクリジン

NPD : 4-ニトロフェニレンジアミン

検体は代謝活性化を含め 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジンおよび 4-ニトロフェニレンジアミンでは、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

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

Bentazone

2-8-7 (代謝物)の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 102)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

被験物質の純度: 代謝物 (バッチ番号)

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 (S9mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検討した。

被験物質は DMSO に溶解し、標準プレート法では 0、33、100、333、1000、2500 および 5000 μg /プレートで試験を実施した。プレインキュベーション法では、ネズミチフス菌では、より低い 10~2500 μg /プレートの範囲の 7 段階の濃度とし、大腸菌では標準プレート法と同じ 7 濃度を設定とした。

陽性対照として S9mix 存在下では、2-アミノアントラセン (2-AA) を、S9mix 非存在下では、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。

結果: 標準プレート法では、菌種にもよるが概ね 2500 μg /プレート以上の濃度で細胞毒性が認められた。プレインキュベーション法では、概ね 1000 μg /プレート以上の濃度で細胞毒性が認められた。しかし、いずれの試験法においても、S9mix の有無に関わらず、全ての菌株で復帰コロニー数の増加はみられなかった。溶媒対照は背景データ範囲内であり、陽性対照は明瞭な増加を示した。

以上より、被験物質は復帰突然変異誘発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。

Bentazone

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法

	濃度 (μ g/プレート)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	101	17	29	27	8
被験物質	33	-	105	14	35	23	7
	100	-	105	18	32	22	7
	333	-	108	16	31	27	9
	1000	-	94	15	32	23	7
	2500	-	91 B	15 B	29	12 B	5 B
	5000	-	0 B	0 B	21 B	0 B	0 B
陽性対照							
MNNG	5.0	-	703	934			
AAC	100	-					404
NOPD	10	-				454	
4-NQO	5.0	-			724		
溶媒対照 (DMSO)	-	+	108	16	41	28	7
被験物質	33	+	114	15	47	28	8
	100	+	112	16	45	32	8
	333	+	102	17	41	28	9
	1000	+	115	18	42	19	8
	2500	+	82 B	12 B	31	11 B	6 B
	5000	+	0 B	0 B	17 B	0 B	0 B
陽性対照							
2-AA	2.5	+	650	165		568	170
	60	+			238		

表中の数値は3プレートの平均値、空欄は該当なし、B: 背景細菌叢の減少

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。

Bentazone

2) プレインキュベーション法

薬物	濃度 (μg /プレート)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	98	14	34	26	7
被験物質	10	-	98	14		28	5
	33	-	94	13	33	21	7
	100	-	95	13	41	21	6
	333	-	84	17	40	22	7
	1000	-	80	13	36	15	5
	2500	-	0 B	0 B	30	0 B	0 B
	5000	-			0 B		
陽性対照	MNNG 5.0	-	737	755			
	AAC 100	-					401
	NOPD 10	-				552	
	4-NQO 5.0	-			573		
溶媒対照 (DMSO)	-	+	105	14	45	27	8
被験物質	10	+	99	16		28	7
	33	+	106	16	48	28	7
	100	+	100	16	40	27	8
	333	+	101	13	39	24	8
	1000	+	85	10	45	27	6
	2500	+	0 B	0 B	33	0 B	0 B
	5000	+			6 B		
陽性対照	2-AA 2.5	+	813	133		571	126
	60	+			241		

表中の数値は3プレートの平均値、空欄は該当なし、B: 背景細菌叢の減少

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。

Bentazone

2-8-7 (代謝物) のチャイニーズハムスターV79 細胞を用いた遺伝子突然変異 (HPRT) 試験
(資料 82)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: 代謝物

試験方法: チャイニーズハムスターV79 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ラットの代謝活性化系の存在下および非存在下で、2 反復で 2 回行った。溶媒として DMSO を用いた。用量設定のために、コロニー形成率について 1~5005 $\mu\text{g/mL}$ の範囲の 9 濃度で本試験と同じ培養法で培養して、細胞毒性を検討した結果、代謝活性化系の非存在下および存在下ではそれぞれ 990 $\mu\text{g/mL}$ 以上 (陰性対照の 10%以下) および 5005 $\mu\text{g/mL}$ (陰性対照の 42%) の濃度で顕著なコロニー形成率の抑制が認められた。この結果から以下の濃度で試験 1 の実験を行い、その結果を下に試験 2 を行った。

試験 1: 代謝活性化系の非存在下で 55~2002 $\mu\text{g/mL}$ の 6 濃度

代謝活性化系の存在下で 495~5005 $\mu\text{g/mL}$ の 4 濃度

試験 2: 代謝活性化系の非存在下で 300~3000 $\mu\text{g/mL}$ の 6 濃度

代謝活性化系の存在下で 500~5000 $\mu\text{g/mL}$ の 4 濃度

陽性対照 [S-9 mix の非存在下ではエチルメタンサルホネート 0.6mg/mL、S-9 mix の存在下では 7,12-ジメチルベンゾ (α) アントラセン 3.85 $\mu\text{g/mL}$] および陰性 (無処置および溶媒) 対照も同様に試験した。

自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を播種し (2 x 10⁶ 細胞/フラスコ; 試験 2 では 1.5 x 10⁶ 個播種)、24 時間培養後、代謝活性化系の非存在下および存在下で、無血清培地中で 4 時間、検体処理を行った。細胞を洗浄後、完全培地を加え 3 または 4 日間培養した後、1 回継代培養し、3 または 4 日後に選択培地 (6-チオグアニン 11 $\mu\text{g/mL}$ 添加) を含む培地に 3~5 x 10⁶ 細胞/フラスコを播種して継代培養した。また、コロニー形成率を測定のために 500 細胞/フラスコを播種した。培養約 1 週間後、固定・染色して変異コロニー数を計測した。

細胞毒性は 500 細胞/フラスコを播種後、; 検体を同様に処理後、1 週間培養して固定・染色してコロニー数を計測した。

試験結果: 2 回行った試験結果を表 1 および 2 に示した。

代謝活性化系の非存在下において、600 $\mu\text{g/mL}$ 以上の濃度 (2 試験とも) で、代謝活性化系の存在下では 5005 $\mu\text{g/mL}$ (試験 1) で、明らかに細胞毒性が認められた。初回継代時

の細胞密度は代謝活性化系の非存在下における試験2の3000 $\mu\text{g/mL}$ では陰性対照の約半分であったが、その他の濃度では陰性対照との差はほとんど認められなかった。

検体処理区のすべての突然変異頻度(10^6 細胞当り)は、代謝活性化系の非存在下および存在下の両試験で7.2~36.6 個/ 10^6 細胞の範囲で、陰性および溶媒対照(0~20.9 個/ 10^6 細胞)の範囲より僅かに多かったが、背景データの範囲内(5~45 個/ 10^6 細胞)に入り、生物学的に意義のある突然変異頻度の増加はないものと考えられる。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンスルホネート(EMS)および7,12-ジメチルベンゾ(α)アントラセン(DMBA)では明らかな突然変異頻度の増加を示した。

以上の結果より、本試験の条件下において、代謝活性化系の非存在下および存在下において、突然変異頻度の増加は認められなかった。したがって、突然変異誘発性はないものと判断される。

表 1. 突然変異試験結果—試験 1

S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞毒性			突然変異試験			
		播種細胞に対するコロニー数の比率% ^a	陰性対照コロニー数の比率	初回継代時の細胞密度の陰性対照比%	播種細胞に対するコロニー数の比率% ^a	突然変異コロニー数/フラスコ ^b	突然変異頻度 (10^6 個当り)	
無	陰性対照(無処置)	55.9	100.0	100.0	92	0.0	0.0	
	検体	55	52.9	94.6	検査せず	(培養を継続せず)		
		99	58.9	105.2	検査せず			
		198	53.0	94.8	87.8	95	2.8	7.2
		495	51.2	91.6	92.8	51	4.4	19.3
		1001	5.4	9.6	78.9	56	3.0	14.0
		2002	0.0	0.0	79.4	60	6.4	24.4
	陽性対照 EMS 0.6	50.8	90.7	73.3	64	119.6	415.3	
有	陰性対照(無処置)	53.9	100.0	100.0	66	6.2	20.9	
	溶媒対照(DMSO)	49.9	100.0	100.0	80	6.8	20.9	
	検体	495	52.3	97.0	94.4	80	8.8	26.2
		1001	53.2	98.8	91.4	82	8.4	21.3
		2497	54.8	101.7	91.0	82	12.6	36.6
		5005	21.8	40.6	85.3	80	3.0	9.6
	陽性対照 DMBA3.85	5.8	11.7	65.9	54	224.0	1063.6	

a: 処理後、7日間培養後に2フラスコの平均値

b: 選択培地播種8日後の5フラスコの平均値

EMS: エチルメタンスルホネート、DMBA: 7,12-ジメチルベンゾ(α)アントラセン

表 2. 突然変異試験結果—試験 2

S-9 mix	濃度 (μg/mL)	細胞毒性			突然変異試験			
		播種細胞 に対するコ ロニー数の比 率% ^a	陰性対照 コロニー数の 比率	初回継代 時の細胞 密度の陰 性対照比%	播種細胞 に対する コロニー数の 比率% ^a	突然変 異コロニー 数/フラスコ ^b	突然変 異頻度 (10 ⁶ 個当 り)	
無	陰性対照(無処置)	53.6	100.0	100.0	83	6.6	19.9	
	検体	300	53.8	100.3	100.4	88	2.8	7.3
		600	31.7	59.0	検査せず	(培養を継続せず)		
		1000	5.9	10.9	108.4	90	3.2	8.3
		2000	0	0	80.3	82	3.6	9.4
		2500	0	0	検査せず	(培養を継続せず)		
		3000	0	0	50.4	79	6.6	18.1
陽性対照 EMS 0.6	50.5	94.1	83.4	81	138.2	389.5		
有	陰性対照(無処置)	50.9	100.0	100.0	84	6.2	16.4	
	溶媒対照(DMSO)	48.5	100.0	100.0	78	5.4	17.8	
	検体	500	61.1	119.9	108.3	82	9.8	32.7
		1000	54.9	107.9	113.1	80	5.6	15.6
		2500	56.1	110.1	110.4	83	8.4	23.1
		5000	39.9	78.2	86	82	4.8	11.5
	陽性対照 DMBA3.85	3.4	6.9	26.6	78	230.8	741.9	

a : 処理後、7日間培養後に2フラスコの平均値

b : 選択培地播種8日後の5フラスコの平均値

EMS : エチルメタンスルホネート、DMBA : 7,12-ジメチルベンゾ(α)アントラセン

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

Bentazone

2-8-8 (代謝物) のマウスを用いた小核試験

(資料 83)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度:

試験動物: NMRI 系マウス (平均体重約 28g)、1 群雌雄各 5 匹 (陽性対照は雌雄合計 5 匹)

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、625、1250 および 2500 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。陰性対照として 0.5%CMC 水溶液のみを同様に投与した。陽性対照として、蒸留水に溶解したシクロホスファミド 20 mg/kg (経口投与) およびピンクリスチン 0.15 mg/kg (腹腔投与) を投与した。

2500 mg/kg 群は投与後 16、24 および 48 時間に、その他の群はすべて投与 24 時間後に屠殺して、各動物の大腿骨髄を採取して、スライドグラス上に塗沫風乾後、エオジン・メチレンブルーで染色し、洗浄後、ギムザ液で染色し、洗浄して骨髄標本を作製した。

各標本 (動物当たり) について、1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。同時に正染性赤血球数および小核を有する正染性赤血球数も計数した。

用量設定根拠:

結果:

溶媒対照群および陽性対照群では、何ら毒性症状は認められなかったが、検体投与群では、それぞれ投与後 15~30 分に立毛、不整呼吸がみられ、1250mg/kg 以上の群ではうずくまり姿勢も見られた。

骨髄標本の観察結果を次頁の表に示す。

小核を有する多染性および正染性赤血球数は、検体の用量ならびに屠殺時期に係らず、溶媒対照群に比較して生物学的に意味のある差は認められなかった。また、小さい小核および大きい小核を有する正染性および多染性赤血球の数にも溶媒対照群との差は認められなかった。なお、多染性赤血球の正染性赤血球に対する比率は、いずれの群も溶媒対照群と同じ範囲内にあり、検体投与によるマウスの赤血球造血阻害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。

Bentazone

一方、陽性対照群では顕著な小核を有する多染性赤血球数の増加が認められた。

以上の結果から、本検体におけるマウスの骨髄細胞を用いた小核試験において、小核誘発性は陰性であると判断される。

マウスの骨髄細胞を用いた小核試験の結果

群 (mg/kg)	投与後 時間	検査多 染性赤 血球数	多染性赤血 球 10000 個 当たり正染 性赤血球数	多染性赤血球 1000 個当たり小 核を有する赤血球数*			正染性赤血 球 1000 個当 たり小核を 有する赤血 球数	
				合計	小さい 小核	大きい 小核		
溶媒対照	24	10000	4195	1.6	1.6		0.7	
検体	2500	16	10000	3361	1.9	1.8	0.1	0.6
	2500	24	10000	4502	1.1	1.0	0.1	0.9
	2500	48	10000	4534	1.3	1.3		1.3
	1250	24	10000	4054	2.3	2.2	0.1	0.5
	625	24	10000	4054	1.9	1.9		0.7
陽性 対照	CP	24	5000	1909	10.2	10.2		1.6
	VIN	24	5000	2870	67.6	51.0	16.6	2.1

溶媒対照 : 0.5% CMC 水溶液

陽性対照 : CP: シクロホスファミド 40 mg/kg VIN: ビンクリスチン 0.15 mg/kg

*: 小さい小核は細胞直径の 1/4 以下、大きい小核は 1/4 以上とした。

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。

Bentazone

3. 製剤に関する試験成績

3-1 液剤 (Na 塩 480 g/L 液剤)

3-1-1 ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 84)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン 480 g/L 液剤

[組成] ベンタゾン: 43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹 (平均体重 雄約268g、雌約189g)

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を水に溶解して単回強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および死亡を7日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mm ³ /kg)	640、800、1,000、1250、1600、2000、2500
LD ₅₀ 値 (mm ³ /kg) (95%信頼限界)	雄雌: 1,750 (約 2063mg/kg 相当) (1,120~2,050)
死亡開始時間 および終了時間	投与後 24 時間以内に開始 投与後 24 時間以内に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後から発現 投与 3 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mm ³ /kg)	< 640
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mm ³ /kg)	1000

中毒症状として、呼吸困難および正向反射消失が認められた。

剖検所見では、死亡例で心室拡張および受動性充血があった。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

3-1-2 モルモットにおける急性経口毒性試験

(資料 85)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： ベンタゾン 480 g/L 液剤

〔組成〕 ベンタゾン：43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物： Pirbright 種白色モルモット、1 群雄 5 匹、雌 1 匹、平均体重：約 697 g)

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 検体を水に溶解して単回強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状および死亡を 7 日間観察した。死亡動物および試験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。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mm ³ /kg)	500、1,000、2,000
LD ₅₀ 値 (mm ³ /kg)	1000 (約 1200mg/kg 相当)
死亡開始時間 および終了時間	投与後 24 時間以内に開始 投与後 2 日以内に終了
症状発現時期 および消失時期	投与後から発現 投与 3 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mm ³ /kg)	< 500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mm ³ /kg)	500

中毒症状として、正向反射喪失、よろめき、無関心、食欲不振が認められた。

剖検所見では、死亡例で肺気腫、心室拡張、小腸内液状物滞留および肝の淡灰褐色化が認められた。

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。

Bentazone

3-1-3 ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 86)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： ベンタゾン 480 g/L 液剤

〔組成〕 ベンタゾン：43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物： SD系ラット、1群雌雄各10匹、平均体重：約193g

試験期間： 14日間観察

試験方法： 検体の原液を剃毛した背部および側腹部皮膚(約50cm²)に24時間塗布した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量(mm ³ /kg)	5000
LD ₅₀ 値(mm ³ /kg)	雌雄：>5000(6050mg/kg相当)
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時期 および消失時期	中毒症状なし

中毒症状および死亡例は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に刺激性の変化およびその他の異常は認められなかった。

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

Bentazone

3-1-4 ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料 87)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン 480 g/L 液剤

[組成] ベンタゾン: 43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物: Vienna 種白色ウサギ、1 群雌雄各 3 羽、平均体重: 約 3.6 kg

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体の原液を剃毛した背部皮膚(約 385cm²)に塗布し 24 時間被覆暴露した。

試験項目: 中毒症状、適用部位の異常および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mm ³ /kg)	2000
LD ₅₀ (mm ³ /kg)	雄雌: >2000 (>2420mg/kg 相当)
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時期	中毒症状なし
無毒性量 (mm ³ /kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mm ³ /kg)	2000

中毒症状および死亡例は認められなかった。

剖検所見では主要組織臓器に特記すべき変化は認められなかった。全動物の適用部位に軽度の紅斑が認められ、8 日後に回復した。

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。

Bentazone

3-1-5 ラットにおける急性吸入毒性試験（評価対象から除外するデータ）

（資料 88）

試験機関：

報告書作成年：

評価対象からの除外理由：本試験では、気中濃度が不明であることから、再試験が実施され（資料 88）、この抄録の後に添付しているので、それを評価に使用願いたい。

検体の純度： ベンタゾン 480 g/L 液剤

〔組成〕 ベンタゾン：43.6%（ナトリウム塩として）

試験動物： SD系ラット、雌雄各 12 匹、平均体重 約 221 g

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 検体の 20°C に加温し、検体の揮発性成分を含んだ空気を吸入チャンバーに通気し、8 時間暴露した。

試験項目： 暴露中および暴露後 14 日間、中毒症状および生死を観察した。観察期間終了時の全生存動物につき、肉眼的病理検査を実施した。

試験結果： 中毒症状および死亡例は認められなかった。

剖検所見では主要組織臓器に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

3-1-6 ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 89)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン 480 g/L 液剤

[組成] ベンタゾン: 43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物: SD系ラット、雌雄計 10 匹、平均体重 約 231 g

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 製剤は希釈せず、原液のまま治療用エアロゾル噴霧器(エアロゾルの大きさ 0.5~5 μ)を使用して噴霧した。気中濃度は使用した製剤量と通気量から算出した。

気中濃度: 約 16 g/m³ (名目濃度)

暴露条件: チャンバー 400 L

通気量: 1,000 L/時

暴露時間: 4 時間

試験項目: 暴露中および暴露後 14 日間、中毒症状および生死を毎日観察した。試験終了時の全生存動物につき、肉眼的病理検査を実施した。

試験結果:

投与方法	吸入(エアロゾル)
暴露濃度 (mg/L)	16
LC ₅₀ (mg/L)	>16
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時期	中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	16

中毒症状は認められず、死亡例もなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

3-1-7 マウスにおける急性吸入毒性試験

(資料 90)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： ベンタゾン 480 g/L 液剤

〔組成〕 ベンタゾン： 43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物： NMR1 系マウス、雌雄計 20 匹、平均体重 約 33 g

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 製剤は希釈せず、原液のまま治療用エアロゾル噴霧器(エアロゾルの大きさ 0.5~5 μ)を使用して噴霧した。気中濃度は使用した製剤量と通気量から算出した。

気中濃度： 約 16 g/m³ (名目濃度)

暴露条件： チャンバー 400 L

通気量： 1,000 L/時、

暴露時間： 4 時間

試験項目： 暴露中および暴露後 14 日間、中毒症状および生死を毎日観察した。試験終了時の全生存動物につき、肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	吸入(エアロゾル)
暴露濃度 (mg/L)	16
LC ₅₀ (mg/L)	>16
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時期	中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/L)	16

中毒症状は認められず、死亡例もなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

3-1-8 ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 91)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン 480 g/L 液剤

[組成] ベンタゾン: 43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物: ウィーン種白色ウサギ、平均体重 3.1 kg、雄 6羽

試験期間: 72時間

試験方法: 剃毛した背部の擦過および非擦過皮膚に検体の原液(約 0.5 mL)を染込ませたパッチ (2.5×2.5 cm) を貼布して 24 時間閉塞被覆した。

試験項目: 試験パッチ除去直後および 48 時間後に貼付部位の刺激性変化(紅斑および浮腫)の有無等を観察し、以下の評価基準に従って、採点した。

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; はっきりした軽度の紅斑
- 3; 中等度～重度の紅斑
- 4; 重度の紅斑(ビート赤色)～痂皮形成まで

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る明確な縁が識別できる)
- 3; 中等度の浮腫(約 1 mm の膨隆)
- 4; 重度の浮腫(1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)

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。

Bentazone

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下のとおりであった。

適用部位	時間	症状	各動物についての評価						合計	平均
			No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6		
非擦過皮膚	24	紅斑-痂皮形成	2	2	1	2	2	2	11	1.83
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	72	紅斑-痂皮形成	1	1	0	1	0	2	5	0.83
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0.0
擦過皮膚	24	紅斑-痂皮形成	2	2	2	2	2	2	12	2.0
		浮腫	2	0	2	0	0	0	4	0.67
	72	紅斑-痂皮形成	2	2	2	2	2	2	12	2.0
		浮腫	2	2	2	0	0	0	6	1.0

$$\text{皮膚に対する一次刺激性の評価点} = \frac{8.33}{4} = 2.082$$

非擦過皮膚に対する検体の 24 時間塗布では、明瞭な軽度の紅斑が認められ、72 時間後には大部分が軽快した。擦過皮膚においても明瞭な軽度の紅斑が認められ、2~3 例は浮腫を伴っていた。

以上の結果から、検体の一時刺激性指数は 2.08 で、ウサギの皮膚に対し軽度の刺激性を有するものと判断する。

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

Bentazone

3-1-9 ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 92)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: ベンタゾン 480 g/L 液剤

[組成] ベンタゾン: 43.6% (ナトリウム塩として)

試験動物: ウィーン種白色ウサギ、平均体重 3.4 kg、雌雄各 1 羽

試験期間: 8 日間

試験方法: 検体の原液約 50 mm³ を動物の片方の眼の結膜嚢に点眼した。他眼には生理食塩水を 1 滴点眼し対照とした。

観察: 適用 1 時間、24 時間および 8 日後に眼の刺激性変化(紅斑、浮腫、角膜炎)を観察した。なお、採点基準は以下のとおりである。

— ; 変化なし

+ ; 軽度

++ ; 中等度

試験結果:

薬物	症状		投与後経過時間			備考
			1 時間	24 時間	8 日	
検体 (約 50 mm ³)	結膜	紅斑	♂	+	+	雌雄共 24 時間後に粘稠性分泌物および出血あり
			♀	+	+	
	浮腫	♂	++	+	—	
		♀	++	+	—	
	角膜炎	♂	+	—	—	
		♀	+	+	—	
生理食塩水 (対照)	結膜	紅斑	♂♀	—	—	—
		浮腫	♂♀	—	—	—
	角膜炎	♂♀	—	—	—	

* 2 羽のうち 1 羽は変化なし。

検体を点眼した結果、点眼 1 時間後には粘稠性分泌物、出血を伴う結膜の軽度の紅斑および中等度浮腫および軽度の角膜炎が観察された。24 時間後には軽快し紅斑および浮腫とも軽度となり、角膜炎は 1 例では治癒した。これらの病変は 8 日以内に治癒し、何の痕跡も残らなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対し、軽度の刺激性を有するものと判断する。

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

Bentazone

3-1-10 モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 93)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： ベンタゾン 480 g/L 液剤

〔組成〕 ベンタゾン：43.6% (ナトリウム塩として)

(1) Epicutaneous Test (開放法)

試験動物： モルモット、1群 10匹

試験期間： 12時間観察

方法： 感作；両脇腹を刈毛（約 25 cm²）し、左脇腹をエーテルで脱脂し、検体を原液のまま染込ませた綿栓により十字型の塗布を 10回連続して行い、5回目以降の塗布については、被験物質の残渣をアルコールで除去してから行った。この処理を毎日 2回週 5日（計 10回）行った。

誘発；最終感作の 10日後に再び両脇腹を刈毛し、右脇腹に感作時と同じ要領で 1回塗布した。

観察項目： 誘発 12時間後に適用部位の皮膚反応を観察した。

結果： 感作時の 10回の塗布により、すべての動物に軽度の鱗屑と発赤が認められたが、10日後の誘発投与では、感作性を示すような皮膚反応は認められなかった。

(2) Maximization Test

試験動物： モルモット、1群 10匹

試験期間： 24時間観察

方法： 感作；肩の部分を刈毛（約 25 cm²）し、皮内注射 [a. 完全アジュバント：蒸留水（1：2）、b. 検体 5%のパラフィンオイル溶液、c. 検体 5%の完全アジュバント溶液] を 2シリーズ（計 6ヶ所）を、それぞれ 2×4 cm の部位に行った。1週間後に、その適用部位に検体を原液のまま染込ませた濾紙（2×2cm）を 48時間貼付した。

誘発；最終感作の 18日後に右脇腹を刈毛（約 25 cm²）し、検体を原液のまま染込ませた濾紙（2×2 cm）を 24時間閉塞貼付した。

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。

Bentazone

観 察 項 目： 被服除去 24 時間後に適用部位の皮膚反応を観察した。

結 果： 本法においても、皮膚に感作性を示すような皮膚反応は認められなかった。

以上の結果からベンタゾン（ナトリウム塩）480 g/L 液剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

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

Bentazone

3-2 粒剤 (11%Na 塩)

3-2-1 ラットにおける急性経口毒性試験

(資料住 1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体: ペンタゾン 11%粒剤 (Na 塩)

組成: ペンタゾン原体 (Na 塩) 11.6%

試験動物: SD 系ラット、試験開始時 7 週齢、体重; 雄 218~254 g、雌; 146~180 g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 5%アラビアゴム液に懸濁して、約 16 時間絶食したラットに単回強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および死亡を 7 日間観察した。死亡動物および試験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。
剖検で異常の認められた肺について、代表例の病理組織学的検査を行った。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、2500、3200、4000、5000、6300
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 4284 (3688~5037) 雌: 4670 (3998~5466)
死亡開始時間 および終了時間	投与 1 時間後に開始 投与 4 時間後に終了
症状発現時期 および消失時期	投与 30 分後から発現 投与 6 時間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄: 3200 雌: 2500

中毒症状として、自発運動の低下、呼吸数の減少および深大、腹臥姿勢等であった。

剖検所見では、死亡動物全例で肺の暗赤色斑と拡張、気管支より泡沫液の流出が認められた。これらの肺には病理組織学的に軽度の限局性出血および肺水腫が観察された。生存例では組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

3-2-2 マウスにおける急性経口毒性試験

(資料住 2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体: ベンタゾン 11% 粒剤 (Na 塩)

組成: ベンタゾン原体 (Na 塩) 11.6%

試験動物: CD-1 (ICR) 系マウス (試験開始時 7 週齢、体重; 雄 26.5~31.0 g、雌; 20.8~22.7 g)、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 5% アラビアゴム液に懸濁して、約 16 時間絶食したマウスに容量 2 mL/kg で強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察し、生存動物は試験期間終了時に剖検した。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂♀: 0、2500、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現 および消失時間	中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂♀: 5000

観察期間を通じて中毒症状の発現は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

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

Bentazone

3-2-3 ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料住3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体: ベンタゾン 11%粒剤 (Na 塩)

組成: ベンタゾン原体 (Na 塩) 11.6%

試験動物: SD系ラット (試験開始時7週齢、体重; 雄 232~258 g、雌; 162~182 g)
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を5%アラビアゴム液に懸濁 (ペースト状) して、容量4 g/kgを刈毛した背部皮膚 (4×5 cm) に塗布し、24時間閉塞貼付した。24時間後、被覆を除去して塗布部位は温水で清拭した。

試験項目: 毒症状および生死を14日間観察し、試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂♀: 0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共>2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現 および消失時間	中毒症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂♀共>2000

一般状態、体重および剖検においても特記すべき変化は認められず、検体投与の影響はなかった。

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

Bentazone

3-2-4 ウサギの眼に対する刺激性試験

(資料住 4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体: ベンタゾン 11%粒剤 (Na 塩)

組成: ベンタゾン原体 (Na 塩) 11.6%

試験動物: 日本白色種雄性ウサギ (体重; 2.71~2.92 kg)、非洗眼群; 6羽、洗眼群; 3羽

試験期間: 適用後 72 時間

試験方法: 検体 100 mg を左眼の結膜嚢に適用し、無処置の右眼は対照とした。洗眼群は適用 2~3 分後に微温湯で洗眼した。

観察: 適用後 1、24、48 および 72 時間に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察した。また、適用 24 時間後に 2%フルオレセイン ナトリウム水溶液を 1 滴点眼し、速やかに蒸留水で洗眼した後、角膜の染色斑の有無を観察した。眼刺激性は農水省ガイドラインに従って採点し記録した。

試験結果: 観察した刺激性反応の採点は次のとおりである。

項目	適用後の経過時間				
	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非洗眼群 (6羽平均)	角膜	0	1.0	0	0
	虹彩	0	0.5	0	0
	結膜発赤	0.7	1.2	0.7	0
	結膜浮腫	1.0	0.8	0	0
合計	1.7	3.5	0.7	0	
洗眼群 (3羽平均)	角膜	0	0.7	0	0
	虹彩	0	0.3	0	0
	結膜発赤	0.3	1.0	1.0	0
	結膜浮腫	1.0	0.3	0	0
合計	1.3	2.3	1.0	0	

検体を適用した場合、非洗眼群では刺激性反応として角膜に評点 1 の混濁、虹彩に評点 1 の充血、結膜に評点 1~2 の発赤および腫脹が認められ、閉眼および分泌物も観察された。

洗眼群では非洗眼群と同様の一次刺激反応が認められたが、頻度は非洗眼群より低く、洗眼効果が認められた。

以上の結果から、11%粒剤 (Na 塩) はウサギの眼粘膜に対して刺激性有りと判定されるが、洗眼効果が認められた。

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。

Bentazone

3-2-5 ウサギの皮膚に対する刺激性試験

(資料住 5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体: ベンタゾン 11%粒剤 (Na 塩)

組成: ベンタゾン原体 (Na 塩) 11.6%

試験動物: 日本白色種雄性ウサギ (体重; 2.55~3.01 kg)、1群6羽

試験期間: 72時間

観察

試験方法: 剪毛した背部を2つの部位に分け、一方に検体 500 mg をリント布 (2.5×2.5 cm) にのせ、同量の蒸留水で湿らせてから適用した。適用4時間後にリント布を取り除き蒸留水で適用部位を清拭した。他方は無処置とした。

観察: 検体除去1、24、48 および 72 時間後に紅斑と浮腫の徴候を観察し、農水省ガイドラインに従って採点し記録した。刺激の程度は Draize らの方法を参考にして評価した。

試験結果: 観察した刺激性反応の採点は次のとおりである。

項目	適用後の経過時間			
	1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑および痂皮形成	0	0	0	0
浮腫	0	0	0	0
一次刺激性指数	0			

いずれの観察時期においても皮膚および一般状態に変化は認められなかった。

以上の結果から、11%粒剤には皮膚一次刺激性がないと結論した。

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。

Bentazone

3-2-6 モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料住 6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検 体: ベンタゾン 11% 粒剤 (Na 塩)

組成: ベンタゾン原体 (Na 塩) 11.6%

試験動物: Hertley 系モルモット (体重: 345~420 g)、1 群雄 10~20 匹

試験期間: 48 時間観察

試験方法: [Buehler 法]

感作: モルモットの左側胸部を剃毛し、蒸留水で懸濁した検体の 50% 懸濁液 0.2 mL を直径 2.5 cm のパッチに塗布して外科用テープで閉塞貼布した。貼布 6 時間後にパッチを取り除き、蒸留水で適用部位を清拭した。閉塞貼布は 7 日毎に 3 回行った。陽性対照群には 1.0% DNCB (2,4-ジニトロクロロベンゼン) のオリーブ油溶液 0.2 mL を塗布し同様に感作を実施した。

惹起: 最終感作の 2 週後にモルモットの右側胸部を剃毛し、感作適用と同じ方法で、惹起のための 6 時間の閉塞適用を行った。DNCB の適用濃度は 0.25% とした。なお、比較のため別に設けた非感作動物に対して検体あるいは DNCB を同様に処置した。

観察: 惹起 24 および 48 時間後に惹起部位における皮膚反応を観察し、Magunusson and Kligman の判定基準に従って判定した。また、感作日、惹起日および惹起 2 日後に全動物の体重を測定した。

試験結果: 皮膚感作性反応の強さは次の表のとおりである。

群	11% 粒剤 (Na 塩)				DNCB				
	感 作		非感作		感 作		非感作		
惹起後の時間	24	48	24	48	24	48	24	48	
評 点 ^{a)}	0	20	20	20	20	0	0	10	10
	1	0	0	0	0	9	10	0	0
	2	0	0	0	0	1	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
陽 性 率	0%		0%		100%		0%		

a) 0; 肉眼的に変化なし、1; 軽度またはまばらな紅斑

2; 中等度の紅斑、3; 強度の紅斑および浮腫

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。

Bentazone

検体の感作群および非感作群では惹起 24 および 48 時間後の観察において全例とも皮膚に変化は認められず、陽性率は 0%であった。

一方、陽性対照の DNCB 感作群では惹起 24 および 48 時間後の観察において全例に軽微ないし軽度の紅斑が認められ、陽性率は 100%であった。DNCB 非感作群では惹起 24 および 48 時間後の観察において全例とも皮膚の変化は認められなかった。

体重については偶発的な変化とみられる体重増加の抑制または体重の軽度の減少がみられた他は、各群とも影響は見られなかった。

以上の結果から、11%粒剤 (Na 塩) には皮膚感作性はないと結論した。