

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No. 23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度： %

供試動物：Cri:COBS CD (SD) BR 系妊娠ラット (8~9 週齢)、1 群雌 35 匹

投与期間：10 日間 (妊娠 6 日~15 日) (1985 年 8 月 13 日~10 月 15 日)

投与方法：検体を 1%メチルセルローズに懸濁し、0、200、400 及び 800 mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。

対照群の動物には 1%メチルセルローズを同様に投与した。

膣垢中に精子または膣栓が観察された日を交配日とし、これを妊娠 0 日とした。

[投与量設定根拠]

1 群各 6 匹の非妊娠ラットに検体を 0、250、500 及び 1000 mg/kg/day の投与量で 10 日間経口投与した予備試験の結果、1000 mg/kg/day 群で全例に体重増加抑制及び脾臓肥大、500 mg/kg/day 群では全例、250 mg/kg/day 群では 1 例に脾臓肥大が認められたことから、本試験の最高投与量を 800 mg/kg/day とし、以下 400、200 mg/kg/day を設定した。

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 1、3、6、10、14、17 及び 20 日目に体重及び摂餌量を測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；体重を測定し外表異常及び性別を観察した。その後、各同腹児群の 1/2 の胎児については Dawson 変法によるアザリアン染色で骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児についてはブアン液に保存し、Wilson 法で内臓異常の有無を検査した。

結 果：

親動物；

一般状態及び死亡；

死亡例は認められなかった。

800、400 mg/kg/day 群では全例に投与期間中流涎が認められた。200 mg/kg/day 群では同様に認められたものの出現頻度は少なかった。その他投与に関連した一般症状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保土谷化学工業株式会社にある。

妊娠率；妊娠率に有意な差は認められなかった。

体重変化；投与の影響は認められなかった。

摂餌量；800 mg/kg/day 群では、投与期間中に摂餌量の減少が認められた。

脾臓の臓器重量；対照群と比較して統計学的有意差が認められた。対照群を 100 とした場合の値を下表に示す。

投与群 (ppm)		200	400	800
最終体重				
脾臓	絶対重量	↑118	↑162	↑175
	相対重量	↑118	↑162	↑175

絶対重量：↓：p<0.05、↑↓：p<0.01（最終体重を共変数として、共分散分析後に Williams 検定を実施）

相対重量：↓：p<0.05、↑↓：p<0.01（ステップ型 Dunnett 手順による Welch 型の多重 t 検定、申請者が実施）

〔申請者注〕相対重量の統計処理の手順について：

各検査項目について、Bartlett 検定で分散の均一性の確認を行い、両側の p 値について全ての検査項目で p<0.2 であったため、ステップ型 Dunnett 手順による Welch 型の多重 t 検定を実施した。

全投与群に脾臓重量の有意な増加が認められた。

肉眼的病理検査；

全投与群に脾臓重量の有意な増加が認められた。

800 mg/kg/day 群 1 匹に脾臓腫大が認められた。その他の投与群では肉眼的異常は認められなかった。

同腹児データ；いずれの投与群においても同腹児データにおける異常は認められなかった。

胎児；胎仔動物では全投与群において、奇形、内臓及び骨格異常の増加は認められなかった。

なお、骨格検査および奇形のいくつかの項目で用量相関性を伴う統計学的有意差が認められたが、いずれも増加ではなく減少であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した時、親動物では 800 mg/kg/day 群で投与期間中に摂餌量の減少が、全投与群に脾臓重量の有意な増加が認められ、胎児動物ではいずれの投与群においても変化は認められなかったことから、親動物に対する無毒性量は 200 mg/kg/日を下回り、胎児動物に対する無毒性量は 800 mg/kg/日を上回ると判断される。

また、最高投与量の 800 mg/kg/日でも胎児動物に催奇形性を及ぼさないと判断される。

〔申請者注〕全投与群の母動物及び胎児において、急性影響に関連する異常は特に観察されなかったことから、本試験の ARfD 評価のための無毒性量は、母動物及び胎児とも最高投与量の 800 mg/kg/日以上と判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

結果の概要：

投与群 (mg/kg/日)		0	200	400	800	
1 群当り動物数		35	35	35	35	
親動物	死亡動物数	0	0	0	0	
	不妊動物数	7	5	9	8	
	流産した動物数	0	0	0	0	
	妊娠率 (%)	80.0	85.7	74.3	77.1	
	一般状態		1ないし3日間位流涎	投与期間半数流涎	全投与期間中流涎	
	体重変化		投与による影響は認められなかった			
	平均摂餌量(g/rat/day) *					
	妊娠 10~13 日	25.9	25.2	24.2	↓ 23.1	
	剖検		投与による異常所見は認められなかった		1例に脾臓腫大	
	脾臓重量 (g) \$	0.66	↑↑ 0.77	↑↑ 1.052	↑↑ 1.157	
	着床所見 #	検査親動物数	28	30	26	27
		黄体数	13.9	13.8	13.7	14.6
		着床数	12.6	11.9	12.2	13.6
		生存胎児数	11.9	11.2	10.9	12.7
初期死胚数		0.6	0.7	1.2	0.7	
後期死胚数		0.2	0.0	0.1	0.1	
着床前胚損失率 (%)		8.7	12.8	10.9	6.2	
着床後胚損失率 (%)	5.8	5.4	11.2	5.9		

* ↑↓ : p<0.05、↑↑↓ : p<0.01 (ケージごとの総摂餌量について分散分析後、Williams 検定)

\$ ↑↓ : p<0.05、↑↑↓ : p<0.01 (最終体重を共変数として、共分散分析後に Williams 検定)

Kruskal-Wallis 検定および Jonckheere 検定 : 統計学的有意差は認められなかった。

着床所見については、一腹当りの数を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	200	400	800
胎 児 動 物	胎児体重 (g) #	3.30	3.35	3.31	3.37
	性比 ((雄/雌))	5.8/6.1	6.3/4.8	5.5/5.4	6.4/6.3
	検査動物数	333 (28)	335 (30)	283 (26)	343 (27)
	外表検査	異常を認めず			
	内臓検査 ¥				
	検査総胎児数	166 (28)	167 (30)	141 (26)	169 (27)
	食道転移 (気管側)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	精巣転移 (前方)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	精巣転移 (中心線)	2 (2)	3 (3)	1 (1)	1 (1)
	腹腔内出血	3 (3)	0 (0)	4 (4)	1 (1)
	腎盂拡張	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	尿管拡張	3 (3)	3 (3)	1 (1)	1 (1)
	眼窩静脈の拡張	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
	腕頭動脈の欠損	1 (1)	2 (2)	3 (3)	0 (0)
異常胎児数 (発生率) #	15 (8.6%) (11)	15 (9.4%) (13)	11 (8.2%) (9)	7 (4.1%) (7)	
骨格検査 ¥					
検査総胎児数	161 (28)	165 (30)	142 (26)	172 (27)	
骨化不全 (頭蓋部中心)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
骨化不全 (頭頂間骨)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
骨化不全 (後頭骨)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
骨化不全 (頸椎弓)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
骨化不全 (恥骨)	5 (5)	5 (5)	3 (2)	1 (1)	
骨化不全 (仙尾部の椎弓)	14 (12)	14 (10)	15 (9)	↓ 5 (5)	
骨化不全 (第 11 胸部椎体)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
未骨化 (第 5 中手骨)	0 (0)	1 (1)	4 (3)	1 (1)	
二分骨化 (第 9 胸部椎体)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
二分骨化 (第 10 胸部椎体)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	

括弧内の数字は腹数を示す。

Kruskal-Wallis 検定および Jonckheere 検定：統計学的有意差は認められなかった。(異常胎児数の腹数については申請者が実施)

¥ Cochran-Armitage 傾向検定 (+ : $p < 0.05$) および拡張 Fisher 正確検定 (↓ : $p < 0.05$) (申請者が実施、なお腹数についてはいずれの項目も有意差は見られなかった。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

(表の続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	200	400	800	
胎 児 動 物	二分骨化 (第 11 胸部椎体)	3 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	二分骨化 (第 12 胸部椎体)	2 (2)	0 (0)	1 (1)	2 (1)	
	蝶型化 (第 10 胸部椎体)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	蝶型化 (第 11 胸部椎体)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
	形体異常 (第 12 胸部椎体)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	
	短小 (第 13 肋骨)	3 (2)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	
	欠損 (前仙椎 1 個)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	頸肋骨	1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	
	眼窩の小型化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
	骨化不全に伴う 小型化	0 (0)	1 (1)	2 (2)	0 (0)	
	異常胎児数 (発生率) ##	27 (19.0%) (19)	25 (13.7%) (16)	23 (16.1%) (14)	↓10 (5.8%) (↓8)	
	14 肋骨 (発生率) #	5 (4.2%)	3 (1.6%)	11 (7.1%)	2 (1.4%)	
	胸骨分節変異体 (発生率) #	115 (71.0%)	106 (64.8%)	110 (73.7%)	105 (60.2%)	
	奇形 ¥					
	検査総胎児数	333 (28)	335 (30)	283 (26)	343 (27)	
	頭蓋顔面欠損に 伴う小型化	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	網膜ひだ (retinal folding)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	
	心室中隔欠損 +	3 (1)	↓ 0 (0)	↓ 0 (0)	↓ 0 (0)	
	心臓位置異常	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	一部重複及び不完 全な前大静脈 (後主静脈の遺残 を伴う) +	3 (1)	↓ 0 (0)	↓ 0 (0)	↓ 0 (0)	
内臓逆位 (胸部) +	3 (1)	1 (1)	0 (0)	↓ 0 (0)		
内臓逆位 (腹部) +	4 (1)	↓ 1 (1)	↓ 0 (0)	↓ 0 (0)		
異常胎児数 (発生率) #	6 (2.5%) (2)	3 (0.9%) (3)	0 (0%) (0)	2 (0.7%) (1)		

括弧内の数字は腹数を示す。

Kruskal-Wallis 検定および Jonckheere 検定：統計学的有意差は認められなかった。(異常胎児数の腹数については申請者が実施)

↑↓: p<0.05, ↑↑↓↓: p<0.01 (Kruskal-Wallis 検定、なお異常胎児数の腹数については申請者が実施)

¥ Cochran-Armitage 傾向検定 (+: p<0.05) および拡張 Fisher 正確検定 (↑↓: p<0.05) (申請者が実施、なお腹数についてはいずれの項目も有意差は見られなかった。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

3) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No. 24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度： %

供試動物：New Zealand White 妊娠ウサギ（13～16週齢）、1群雌 16～18匹

投与期間：13日間（妊娠6日～18日）（1985年6月25日～8月6日）

投与方法：検体を1%メチルセルローズに懸濁し、0、50、150及び450 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。

対照群の動物には1%メチルセルローズを同様に投与した。

交配日を妊娠0日とした。

[投与量設定根拠]

1群各6匹の非妊娠ウサギに検体を0、200、500及び800 mg/kg/dayの投与量で13日間経口投与した予備試験の結果、800及び500 mg/kg/day群で死亡がみられ、生存例では体重増加抑制、摂餌量の減少が認められた。200 mg群では影響が認められなかったことから、本試験の最高投与量を450 mg/kg/dayとし、以下150、50 mg/kg/dayを設定した。

観察・検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠1、6、8、10、14、19、23及び29日目に体重及び摂餌量を測定した。

妊娠29日に頸椎脱臼により屠殺、解剖し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；体重及び外表異常の観察を行った。その後解剖に供し、内臓異常の有無及び性別について検査し、またDawson変法で骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果：概要を次頁に示した。

親動物；

一般状態及び死亡；

450 mg/kg/day群で4日間以上食欲不振を示す例が増加した。その他投与に関連した一般症状の異常は認められなかった。

なお、投与開始前に対照群2匹、50 mg/kg/day群1匹及び450 mg/kg/day群1匹を切迫屠殺した（なお、その理由は報告書に未記載）。

また、投与開始後、150 mg/kg/day群1匹、450 mg/kg/day群3匹を切迫屠殺した。

150 mg/kg/day群1匹は妊娠27日目、450 mg/kg/day群2匹は妊娠23及び25日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

目に屠殺した。これらの動物は、屠殺前に体重の減少傾向を示し、剖検時に肺の変化がみられ、このうち 150 及び 450 mg/kg/day 投与群の各 1 匹には、肝臓の褪色がみられた。

その他、450 mg/kg/day 群の 1 匹は妊娠 18 日目に誤投与の影響がみられたことから屠殺した。

〔申請者注〕 150 mg/kg/day 投与群 1 例の試験期間中の死亡について、同群で他に関連する変化がみられなかったことから、偶発的死亡と考えられ、毒性学的影響ではないと判断する。

妊娠率；妊娠率に有意な差は認められなかった。

体重変化；450 mg/kg/day 群では、平均体重増加抑制が認められた。

150 mg/kg/day 以下の群では影響は認められなかった。

摂餌量；450 mg/kg/day 群では、投与期間中に摂餌量の減少が認められた。

150 mg/kg/day 以下の群では影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；いずれの投与群においても肉眼的異常は認められなかった。

同腹児データ；いずれの投与群においても同腹児データにおける異常は認められなかった。

胎児；450 mg/kg/day 群に第 13 肋骨および胸骨分節間余剰片（第 5 および第 6 胸骨間）の有意な増加が認められた。

なお、骨格検査において縫合骨の発生率の用量相関性に有意差が認められたが、対照群との比較では、いずれの群にも有意差は認められなかった。また、頸肋骨の発生率について、450 mg/kg/day 投与群で対照群と比較して統計学的有意差がみられたが、変化が増加ではなく減少であった。

その他には、いずれの投与群においても奇形、内臓及び骨格異常の増加は認められなかった。

以上の結果、親動物では 450 mg/kg/day 投与群に体重増加抑制及び摂餌量の減少、胎児動物では 450 mg/kg/day 投与群で第 13 肋骨および胸骨分節間余剰片（第 5 および第 6 胸骨間）の増加が認められたことから、親動物及び胎児動物に対する無毒性用量はともに 150 mg/kg/日と判断される。

また、最高投与量の 450 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

〔申請者注〕 450 mg/kg/日投与群の母動物で体重増加抑制及び摂餌量の減少、並びに胎児で第13肋骨および胸骨分節間余剰片の増加などの骨格変異が観察されたことから、本試験のARfD評価のための無毒性量は、母動物及び胎児とも150 mg/kg/日と判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		0	50	150	450	
1 群当り動物数		18	17	16	18	
親動物	切迫屠殺動物数	2	1	1	4	
	不妊動物数	1	2	0	1	
	流産した動物数	1	0	0	0	
	妊娠率 (%)	93.8	87.5	100	92.9	
	一般状態	投与による影響は認められなかった			食欲不振	
	体重変化 (g) *					
		妊娠 6~8 日	35	13	42	4
		妊娠 6~10 日	94	83	94	66
		妊娠 6~14 日	223	172	230	169
		妊娠 6~19 日	321	280	335	267
	平均摂餌量 (g/rabbit/day) *					
		妊娠 6~7 日	189	182	193	149
		妊娠 8~9 日	193	182	194	171
		妊娠 10~13 日	185	173	187	166
		妊娠 14~18 日	188	166	189	160
		妊娠 19~22 日	185	173	182	173
		剖検	投与による影響は認められなかった			
着床所見 #	検査親動物数	14	13	14	13	
	黄体数	10.5	9.9	10.3	10.5	
	着床数	9.3	9.3	9.5	9.4	
	生存胎児数	8.7	8.9	8.4	8.2	
	初期死胚数	0.4	0.1	0.9	1.0	
	後期死胚数	0.1	0.3	0.3	0.2	
	着床前胚損失率(%)	12.9	6.2	7.5	8.7	
	着床後胚損失率(%)	5.9	4.5	12.8	12.8	

* 体重変化及び平均摂餌量：統計解析実施せず

Kruskal-Wallis 検定および Jonckheere 検定：統計学的有意差は認められなかった。

着床所見については、一腹当りの数を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	50	150	450
胎 児 動 物	胎児体重 (g)#	42.8	43.1	43.4	42.8
	性比 (雄/雌)	3.9/4.8	5.4/3.5	3.7/4.6	3.6/4.5
	検査動物数	122 (14)	116 (13)	117 (14)	106 (13)
	外表検査	異常を認めず			
	内臓検査 ¥				
	角膜中央白濁	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	水晶体白濁	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	大動脈弓からの動脈起源の変異	5 (4)	1 (1)	3 (1)	3 (3)
	肝分葉過剰	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	胆嚢分枝	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (2)
	胆嚢二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
	異常胎児数 (発生率) #	8 (6.1%) (5)	7 (6.1%) (6)	4 (2.9%) (2)	8 (8.9%) (7)
	骨格検査 ¥				
	骨化不整 (頭頂骨)	1 (1)	1 (1)	3 (3)	0 (0)
	骨化不整 (鼻腔)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
	縫合骨 +	4 (3)	2 (2)	8 (6)	8 (5)
	頸肋骨	9 (5)	4 (3)	10 (4)	↓ 1 (1)
	癒合 (第3及び第4胸骨)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	癒合 (第3及び第5胸骨)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
	癒合 (第4及び第5胸骨)	4 (2)	2 (2)	4 (2)	3 (3)
胸骨分節間余剰片 (第1胸骨の前方側)	2 (2)	0 (0)	4 (4)	2 (2)	
胸骨分節間余剰片 (第5及び第6胸骨間) ++	0 (0)	0 (0)	1 (1)	↑↑ 4 (2)	
胸椎1個過剰	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	
異常胎児数 (発生率) #	22 (17.5%) (11)	16 (13.9%) (8)	30 (25.3%) (13)	22 (23.5%) (10)	

括弧内の数字は腹数を示す。

Kruskal-Wallis 検定および Jonckheere 検定：統計学的有意差は認められなかった。(異常胎児数の腹数については申請者が実施)

¥ Cochran-Armitage 傾向検定 (+ : $p < 0.05$, ++ : $p < 0.01$) および拡張 Fisher 正確検定 (↓ : $p < 0.05$, ↑↑↓ : $p < 0.01$) (申請者が実施、なお腹数についてはいずれの項目も有意差は見られなかった。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

(表の続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	150	450
胎 児 動 物	13 肋骨 ##	38/118 (28.7%)	39/112 (36.2%)	50/114 (43.0%)	↑54/100 (52.9%)
	胸骨分節 変異体 #	19/118 (17.4%)	30/112 (26.3%)	18/114 (15.9%)	10/100 (8.8%)
	奇形 ¥				
	小眼球	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	網膜異形成	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	頭頂間骨欠損	2 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	頭蓋扁平化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	心室中隔欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	欠損 (大動脈弓 及び心室中隔)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	大動脈弓低形成	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
後食道部右鎖骨 下動脈	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	
腰仙尾部の 二分脊椎	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
異常胎児数 (発生率) #	4 (3.0%) (3)	4 (3.1%) (4)	3 (3.9%) (3)	6 (6.2%) (5)	

括弧内の数字は腹数を示す。

Kruskal-Wallis 検定および Jonckheere 検定：統計学的有意差は認められなかった。(異常胎児数の腹数については申請者が実施)

↑↓ : p<0.05、↑↑↓↓ : p<0.01 (Jonckheere 検定)

¥ Cochran-Armitage 傾向検定および拡張 Fisher 正確検定：統計学的有意差は認められなかった。(申請者が実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

(13) 変異原性

1-1) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 No. 25)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、1~1000 µg/プレートの範囲の 4 濃度で実施した。試験は 1 回行った。

用量設定根拠：不明

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた、β-naphthylamine (β-NA)、2-aminoanthracene (2AA)、neutral red (NR) 及び 2-acetylaminofluoren (AF-2) ではすべての菌株で復帰変異コロニー数の増加が認められた。

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保土谷化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix の有無	復帰変異体コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	0	-	6	17	3	9	14
検体	1		2	15	4	6	18
	10		2	19	1	3	16
	100		*	19	*	*	20
	1000		*	*	*	*	*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	8	41	4	12	34
検体	1		8	52	3	13	35
	10		7	36	5	12	30
	100		12	43	6	7	26
	1000		*	*	*	*	*
陽性対照	陽性対照物質名	+	β -NA	2AA	NR	AF-2	2AA
	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		10	20	10	20	20
	コロニー数/plate		355	570	26	511	720

統計学的解析実施せず

* 菌株の生育阻止を認める。

陽性対照 : β -NA ; β -naphthylamine
 2AA ; 2-aminoanthracene
 NR ; neutral red
 AF-2 ; 2-acetylaminofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

1-2) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 No. 26)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *hcr*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、1~5000 µg/プレートの範囲の 8 濃度で実施した。試験は 2 回行った。

試験結果：結果を次表に示した。

2 回の試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた、2-aminoanthracene (2AA)、2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (AF2)、β-propiolactone (β pro)、9-aminoacridine (9AA) 及び 2-nitrofluorene (2NF) ではすべての菌株で復帰変異コロニー数の増加が認められた。

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保土谷化学工業株式会社にある。

1回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix の有無	復帰変異体コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	16	3	152	4	13	33	
検体	1		13	5	102	5	9	27	
	5		12	8	88	8	9	25	
	10		6	3	100	7	12	26	
	50		17	4	92	8	13	31	
	100		15	2	110	3	8	25	
	500		6	4	*	*	5	*	
	1000		13	2	*	*	*	*	
	5000		*	1	*	*	*	*	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	14	1	109	4	24	25	
検体	1		11	3	98	3	10	26	
	5		20	0	91	4	23	26	
	10		19	7	101	1	7	27	
	50		21	6	120	6	12	22	
	100		26	4	102	6	11	20	
	500		18	2	78	4	13	19	
	1000		14	3	*	*	2	*	
	5000		*	0	*	*	*	*	
陽性対照	2AA	10	-	22	5	194	24	21	58
	AF-2	0.05				848			
		0.25		1692					
		0.1							318
	β pro	50.0			1082				
	9AA	200.0					>10000		
	2NF	50.0						>3000	
	2AA	10	+	122	193	>3000	232	>3000	>3000

統計学的解析実施せず

*菌株の生育阻止を認める。

陽性対照： 2AA ; 2-aminoanthracene

AF2 ; 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

β pro ; β -propiolactone

9AA ; 9-aminoacridine

2NF ; 2-nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix の有無	復帰変異体コロニー数/プレート						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	22	5	152	4	8	30	
検体	1		10	2	115	5	-	18	
	5		18	3	91	4	9	25	
	10		12	7	81	9	17	27	
	50		17	3	91	4	12	28	
	100		13	3	114	2	5	31	
	500		9	5	*	*	4	*	
	1000		7	5	*	*	*	*	
	5000		*	3	*	*	*	*	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	15	6	114	5	14	38	
検体	1		7	5	101	11	16	25	
	5		20	6	112	4	11	26	
	10		18	3	107	4	14	23	
	50		13	3	90	6	18	23	
	100		19	2	91	8	13	27	
	500		21	8	74	3	8	18	
	1000		18	0	*	*	2	*	
	5000		*	1	*	*	*	*	
陽性 対照	2AA	10	-	14	1	236	25	22	53
	AF-2	0.05				856			
		0.25		1424					
		0.1							352
		β pro		50.0		1100			
	9AA	200.0					>10000		
	2NF	50.0						>3000	
	2AA	10		+	222	209	>3000	192	>3000

統計学的解析実施せず

*菌株の生育阻止を認める。

陽性対照： 2AA ; 2-aminoanthracene

AF2 ; 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

β pro ; β -propiolactone

9AA ; 9-aminoacridine

2NF ; 2-nitrofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

1-3) マウスを用いた経口投与による宿主経由法試験

(資料 No. 25)

試験機関：

報告書作成年：1978年

検体純度： %

試験動物：CFLP系マウス1群雌雄各5匹

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 TA1535 (塩基置換型)

方 法：1)IPCを0.5%トラガントゴム液に溶解し強制経口投与した。IPCの投与量は1000、2000及び4000 mg/kgとし、対照群には0.5%トラガントゴム液を、陽性対照群にはジメチルニトロソアミン50 mg/kgを同様に投与した。なお、IPC群は24時間ごとに2回分割し投与した。

2)2回目の投与終了後、細菌懸濁液(細菌数約 2×10^8 /mL、対数期細菌)を2 mL腹腔内投与した。投与2時間半後に動物を屠殺し、直ちに殺菌食塩水2 mLを腹腔内に投与した後、開腹し得られた腹水を殺菌容器に保存した。

3)各群より得られた腹水を10倍系列に希釈し、 10^{-1} 希釈液は復帰変異コロニー全数を推定するためにヒスチジン欠乏培地に、 10^{-8} 希釈液はヒスチジン培地で各々37°C、48時間培養後コロニー数を測定し、群平均値を算出した。

4)突然変異発現頻度(mf)は次式により算出した。なお、群間の比較は溶媒対照群との比較によった。

$$mf = \text{復帰変異株のコロニー数} / \text{全菌数}$$

試験結果：結果を次ページ表に示した。

IPC投与群は対照群と比較し突然変異発現頻度に有意な増加は認められなかった。

以上の結果、IPCはマウスを宿主とした塩基置換型ヒスチジン要求性サルモネラ菌(TA1535)に対する突然変異原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保土谷化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disc}$)	性別	平均コロニー数		突然変異 発生頻度 (mf)
			10 ⁻¹ 希釈液 (ヒスチジン 欠乏培地)	10 ⁻¹ 希釈液 (ヒスチジン培地)	
溶媒対照 (0.5%トランソコム)	—	雄	6.0	387	0.16
検体	1000		6.3	238	0.26
	2000		5.0	227	0.21
	4000		6.5	884	0.07
陽性対照 (ジメチルニトロソアミン)	50		21.3	412	0.52
溶媒対照 (0.5%トランソコム)	—	雌	6.0	432	0.14
検体	1000		7.2	719	0.10
	2000		2.0	102	0.20
	4000		4.8	753	0.06
陽性対照 (ジメチルニトロソアミン)	50		動物全例死亡のため未実施		

統計学的解析実施せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

1-4) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No. 26)

試験機関：

報告書作成年：1978 年

検体純度： %

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、
薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の非存在下で DNA の損傷の誘発性を検定した。
検体は DMSO に溶解し、20~2000 µg/disc の範囲の 6 濃度で実施した。

試験結果：結果を下表に示した。

最高投与量である 2000 µg/disk においても、両株にほとんど生育阻止を認めなかつた。

一方、陽性対照では両株に明らかな生育阻止が認められた。

以上の結果、検体は DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

薬 剤	濃 度 (µg/disc)	代謝活性化 の有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			H-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	0	0	0
検体	20		0	0	0
	100		0	0	0
	200		0	0	0
	500		1	<1	<1
	1000		1.5	1	0.5
	2000		2	2	0
陰性対照 (カナマイシン)	10		7	6	1
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	10.5	3	7.5	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2) チャイニーズハムスターの肺由来線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. 27)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度： %

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した肺由来線維芽細胞を用いて、薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下 (S-9mix+) 及び非存在下 (S-9mix-) において染色体異常誘発性を検定した。

検体は CMC 水溶液に懸濁して用い、また無処理対照を設けた。

各処理終了後、細胞を採取し標本作製し、各濃度当たり 200 個の分裂中期像を観察した。

用量設定根拠：

細胞分裂抑制試験で最高濃度を 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、以下 2500、1250、625、313 及び 156 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を処理した結果、代謝活性化を用いた 48 時間処理で 625 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上、6 時間処理では代謝活性化の有無に関わらず 2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で細胞増殖抑制が認められた。従って、本試験での処理濃度は、代謝活性化法を用いない場合で 50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化法を用いる場合で 313、625、1250、2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各々 4 段階とした。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

検体では代謝活性化の有無に関わらず、全ての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞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マイトマイシン C 及びジメチルニトロソアミンでは染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常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保土谷化学工業株式会社にある。

結 果：

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g/mL}$)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	観 察 細 胞 数	S-9 Mix の 有 無	染色体構造異常を有する細胞数					数的異常	評 価					
						染色体分型		染色体型		ギャップ	その他		倍数体				
						ctb	cte	csb	sce	g	other		polyploid				
無処理対照	—	24 時間	24 時間	200	(-)	0	0	0	0	1	0	1	—				
溶媒対照 (CMC)	—			200		0	0	0	0	0	0	0	1	—			
IPC	50			200		1	0	0	0	0	0	0	0	—			
	100			200		1	0	0	0	1	0	0	1	—			
	200			200		1	1	0	0	0	0	0	1	—			
	400			NM		/	/	/	/	/	/	/	/	/			
陽性対照 (MMC)	0.05			200		24	28	0	0	2	0	0	2	+			
無処理対照	—			48 時間		48 時間	200	(-)	1	0	0	0	0	0	0	—	
溶媒対照 (CMC)	—						200		0	0	0	0	0	0	0	0	—
IPC	50						200		0	0	0	0	1	0	0	1	—
	100	200	2		1		0		0	1	0	0	1	—			
	200	200	1		0		0		0	0	0	0	1	—			
	400	NM	/		/		/		/	/	/	/	/	/			
陽性対照 (MMC)	0.05	200	45		56		0		0	2	0	0	2	++			
無処理対照	—	6 時間	24 時間		200		(+)		1	0	0	0	1	0	0	—	
溶媒対照 (CMC)	—				200				0	0	0	0	0	0	0	0	—
IPC	313				200				1	0	0	0	0	0	0	0	—
	625			200	0	0		0	0	1	0	0	0	—			
	1250			200	1	0		0	0	1	0	0	1	—			
	2500			NM	/	/		/	/	/	/	/	/	/			
陽性対照 (DMN)	400			200	1	0		0	0	2	0	0	2	—			
無処理対照	—			200	0	0		0	0	2	0	0	1	—			
溶媒対照 (CMC)	—			200	0	0		0	0	0	0	0	0	—			
IPC	313			200	1	0		0	0	0	0	0	0	—			
	625	200	1	0	0	0	1	0	0	1	—						
	1250	200	1	0	0	0	0	0	0	0	—						
	2500	NM	/	/	/	/	/	/	/	/	/						
陽性対照 (DMN)	400	200	70	89	0	0	3	0	0	0	+++						

統計解析は未実施

染色体の構造異常〔染色体分型切断 (ctb)、染色体分型交換 (cte)、染色体型切断 (csb)、染色体分型交換 (cse)、ギャップ (g)、その他 (other)〕、及び数的異常 (倍数体-polyploid)

NM：毒性により分裂中期像が観察されなかった。

注) CMC：カルボキシメチルセルロースナトリウム

MMC：マイトマイシン C

DMN：N-ニトロソジメチルアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

3) マウスを用いた小核試験

(資料 No.28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検体純度： %

供試動物：NMRI BR 系マウス（6 週齢、体重 $31.4 \pm 0.9 \sim 32.6 \pm 2.3$ g） 1 群雄各 5 匹

試験方法：検体をコーンオイルに懸濁した後、超音波処理して溶解し、500、1000、2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。なお、対照群にはコーンオイルを投与した。

投与後 24 または 48 時間目に動物を頸椎脱臼により屠殺し、各個体の両大腿骨から骨髓標本を作製し、赤血球を多染性赤血球と正染性赤血球とに区別し、1 個体につき 2000 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測定して、発現頻度を求めた。

また、同じ標本から総赤血球 1000 個当たりの多染性赤血球を測定し、その比率を求めた。

陽性対照として、シクロホスファミドの 50 mg/kg の用量を単回経口投与し、投与後 48 時間目に屠殺し、骨髓塗抹標本を作製した。

投与量設定根拠：雄 3 匹に 2000 mg/kg を投与した結果を基に、2000 mg/kg を最高用量に 1000 mg/kg を中用量、500 mg/kg を低用量とした。

結果：骨髓検査の観察結果を表に示した。

検体投与群の小核を有する多染性赤血球及び正染性赤血球に対する多染性赤血球の出現頻度は、溶媒対照群と比較して有意な増加を認めなかった。

一方、陽性対照群の小核を有する多染性赤血球の発現頻度には、有意な増加が認められた。

観察結果：

採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	動物数	MNPCE/PCE (%) (平均値±SD)	PCE/RBC (%) (平均値±SD)
24	溶媒対照	-	5	1.0 ± 0.7	1.00 ± 0.03
	検体	2000	5	1.8 ± 0.8	1.00 ± 0.05
		1000	5	0.6 ± 0.9	1.01 ± 0.03
		500	5	1.0 ± 1.2	1.03 ± 0.01
48	検体	2000	5	1.4 ± 1.7	1.04 ± 0.03
	陽性対照(CPA)	50	5	$25.2 \pm 10.4^{**}$	0.31 ± 0.07

Wilcoxon Rank Sum Test : ** : p=0.01、値は平均値

CPA : シクロホスファミド

PCE : 多染性赤血球、MNPCE/ : 小核を有する多染性赤血球、RBC : 正染性赤血球

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

以上の結果から、本試験条件下において検体のマウス骨髄多染性赤血球に小核誘発作用がなく、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

(14) 生体機能への影響に関する試験

IPCにおける薬理試験

(資料 No.29)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992年

検体の純度： %

1) 中枢神経系に対する作用

① マウスにおける一般状態

供試動物：ICR系マウス、5週齢、体重：22.8～27.6g、1群雄6匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し150、500及び1500 mg/kgを0.1 ml/10gの割合で強制経口投与し、投与後30分、1、2、4及び6時間目にIrwinの多元観察法に基づき一般状態を観察した。

結果；1500 mg/kg群では自発運動、反応性の低下等が投与直後から2時間目まで認められ、投与後1～2時間目に3匹に体温の軽度低下が認められたが、投与後4時間目には回復した。

500及び150 mg/kg群では変化は認められなかった。

② マウスにおけるヘキソバルビタール睡眠増強作用

供試動物；ICR系マウス、5週齢、体重：25.7～27.9g、1群雄6匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し150、500及び1500 mg/kgを0.1 ml/10gの割合で強制経口投与し、60分後にヘキソバルビタールナトリウム (100 mg/kg) を腹腔内投与した。正向反射の消失を指標として睡眠時間を測定した。

結果；いずれの投与群でも睡眠時間に変化は認められず、ヘキソバルビタールに対する増強作用は認められなかった。

③ ラットの正常体温に対する作用

供試動物；SD系ラット、7週齢、体重：217～253g、1群雄6匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し150、500及び1500 mg/kgを1 ml/100gの割合で強制経口投与し、投与後0.5、1、2、4及び6時間目まで直腸温を測定した。

結果；1500 mg/kg群では投与直後から6時間目まで、500 mg/kg群では投与後2時間目に直腸温の低下が認められた。150 mg/kg群では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保土谷化学工業株式会社にある。

④ ウサギの自発脳波に対する作用

供試動物；日本白色ウサギ、体重：2.3～2.9kg、1群雄3匹

投与方法；ペントバルビタール麻酔下でウサギの頭皮を切開し、前頭部、頭頂部及び後頭部の硬膜上に電極を植え込む手術を行ない、術後3日以上経過した後試験に供した。試験時にはウサギをウレタン麻酔、腹位に固定し、運動野、感覚野及び視覚野の皮質表面脳波を電極により導出した。

脳波が安定した後に検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し150、500及び1500 mg/kg を10 ml/kg の割合で強制経口投与し、投与前、投与後15、30分、1、2及び3時間まで各時点で5分間脳波を測定した。

結 果；いずれの投与群でも対照群と比較し異常な脳波は認められなかった。

2) 呼吸、循環器系に対する作用

供試動物；日本白色ウサギ、体重：2.4～3.0 kg、1群雄3匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し150、500及び1500 mg/kg をウレタン麻酔したウサギの十二指腸内に挿入したカテーテルを用いて投与し、呼吸数、血圧、血流量、心拍数及び心電図を投与後0.25、0.5、1、2及び3時間目まで測定した。

結 果；1500 mg/kg 群では投与後1時間目に呼吸数の有意な増加、150 mg/kg 群では投与後15分後に血圧の有意な低下が認められたが、いずれも著名な影響ではなかった。その他にも特に変化は認められなかった。

3) 自律神経系に対する作用

① マウスの瞳孔径に対する作用

供試動物；ICR系マウス、5週齢、体重：23.0～28.7 g、1群雄6匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁し150、500及び1500 mg/kg を0.1 ml/10 g の割合で強制経口投与し、投与後0.5、1、2及び4時間目まで両眼の瞳孔径を測定した。

結 果；いずれの投与群にも変化は認められなかった。

② 摘出回腸に対する作用

供試動物；Hartley系モルモット、体重：406～421 g、1群雄5匹

投与方法；摘出した回腸標本はTyrode液10 mlを満たした標本槽に懸垂し、アセチルコリン 10^{-7} g/mlまたはヒスタミン 10^{-7} g/mlにより惹起した収縮反応に対して検体をDMSOに溶解し 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mlの最終濃度で3分間前処理した場合のアセチルコリン及びヒスタミンによる収縮に対する作用を測定した。

結 果；検体はアセチルコリンおよびヒスタミンによる収縮反応に対し濃度依存性に拮抗作用を有し、アセチルコリンでは 10^{-4} g/mlで、ヒスタミンでは 10^{-5} 及び 10^{-4} g/

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

mlで溶媒対照に比べ有意差が認められた。

③ ラット摘出輸精管に対するノルアドレナリン拮抗作用

供試動物；SD系ラット、7週齢、体重：273～300g、1群雄5匹

投与方法；摘出した輸精管をTyrode液10mlで満たし標本槽に0.5gの静止張力をかけ懸垂し、電気刺激及びノルアドレナリンによる収縮反応に対して検体をDMSOに溶解し 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mlの最終濃度で3分間前処理した場合の作用を測定した。

結果；検体はノルアドレナリンによる収縮反応に対し濃度依存性に拮抗作用を有し、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mlで溶媒対照に比べ有意差が認められた。

④ ラット摘出妊娠子宮に対する作用

供試動物；SD系ラット、11～12週齢（9週齢で交配し妊娠9～11日目）、

体重：252～277g、1群雌5匹

投与方法；摘出した子宮標本はLocke-Ringer液10mlを満した標本槽に0.5gの静止張力をかけ懸垂し、検体をDMSOに溶解し 10^{-6} 、 10^{-5} 及び 10^{-4} g/mlの最終濃度で前処理した場合の子宮の自発収縮変化を記録した。

結果；検体 10^{-4} g/mlでは自発運動は抑制され溶媒対照に比べ有意差が認められた。その他の濃度では、変化は認められなかった。

4) 消化器に対する作用

マウスの胃腸管輸送能

試験動物；ICR系マウス、5週齢、体重：24.5～28.2g、1群雄6匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁し150、500及び1500mg/kgを0.1ml/10gの割合で強制経口投与し、1時間後に10%アラビアゴム水溶液に懸濁した5%炭末液を0.1ml/10gの割合で強制経口投与した。炭末投与後20分に動物を屠殺し、消化管全体を摘出して幽門部から活性炭の先端までの長さを測定し、腸全体の長さに対する割合（%）を求めた。

結果；検体投与群では腸管運動性に対する影響は認められなかった。

5) 骨格筋

ウサギの坐骨神経・脛骨筋接合部に対する作用

供試動物；日本白色ウサギ、体重：2.0～3.0kg、1群雄3匹

投与方法；動物をウレタン麻酔下で固定し、坐骨神経および脛骨筋を露出させ、交互に電気刺激を与え、脛骨筋の収縮を記録した。検体は0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁し150、500及び1500mg/kgを十二指腸内に挿入したカテーテルにより投与し、投与後0.25、0.5、1、2及び3時間目まで測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

結 果；検体投与による影響は認められなかった。

6) ラットの血液に対する作用

① 血液凝固に対する作用

供試動物；SD系ラット、7週齢、体重：218～239g、1群雄6匹

投与方法；検体を0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁し150、500及び1500 mg/kgを1 ml/100 gの割合で強制経口投与し、60分後にエーテル麻酔下で腹部大動脈から採血し、3.8%クエン酸ナトリウム液を血液9に対して1の割合で添加し、遠心分離した。その血漿についてプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果；いずれの投与群もプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間に影響は認められず、血液凝固系に変化は認められなかった。

② 溶血に対する作用

供試動物；SD系ラット、7週齢、体重：263～287g、1群雄6匹

投与方法；エーテル麻酔下で頸静脈から採血し、ヘパリン処理後、遠心分離し赤血球を分取した。生理食塩液を加え2%赤血球浮遊液を調製した。生理食塩液に検体を0.01、0.1及び1.0%(w/v)の濃度に懸濁し、この懸濁液5 mlに0.2 mlの赤血球浮遊液を添加し、37度で30分間加温した後、波長540 nmで吸光度を測定し、溶血率を算出した。

結 果；1.0%の濃度において溶血率に有意差が認められ、中程度の溶血が観察された。

7) ラットの腎機能に対する影響

供試動物；SD系ラット、7週齢、体重：238～284g、1群雄6匹

投与方法；生理食塩液（25ml/kg）を強制経口投与し、その後検体を0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁し150、500及び1500 mg/kgをの割合で強制経口投与した。投与後0.5、1、2、4及び6時間目に尿量を測定し、6時間目の蓄尿を用いてNa、K及びClイオンを定量した。

結 果；1500 mg/kg群で尿量または電解質排泄の減少が認められた。その他の群では変化は認められなかった。

以上の結果、一般症状（自発運動の減少）、並びに尿量及び電解質排泄量の減少等の腎臓への作用が1500 mg/kg群、体温の低下が500 mg/kg以上の群から認められた。また、摘出臓器標本では、収縮抑制作用が妊娠子宮で 10^{-4} g/ml群、回腸及び輸精管で 10^{-5} g/ml以上の群から認められた。他に、血液溶血反応が1.0%群で認められた。

中枢神経系の睡眠及び脳波、呼吸・循環器、瞳孔径、胃腸管輸送能、神経筋接合部、血液凝固には1500 mg/kg投与でも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保土谷化学工業株式会社にある。

〔申請者注〕本試験は片性のみで実施していることから、ARfD 評価にはデータ不足のため
利用できないと考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

IPC の生体機能に及ぼす影響に関する試験の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	一般症状 (Irwin 法)	マウス	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	1500	500	1500 mg/kg で自発運動の減少
	睡眠	マウス	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	> 1500	1500	影響なし
	体温	ラット	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	500	150	1500, 500 mg/kg で体温低下
	脳波	ウサギ	強制経口 (麻酔下) (CMC)	150, 500, 1500	雄 3	> 1500	1500	影響なし
呼吸循環器系	呼吸、 血圧、心拍数、 血流量 及び心電図	ウサギ	十二指腸 (麻酔下) (CMC)	150, 500, 1500	雄 3	> 1500	1500	影響なし
自律神経・平滑筋	瞳孔径	マウス	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	> 1500	1500	影響なし
	摘出回腸	モルモット	<i>in vitro</i>	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml	雄 5	10^{-5} g/ml	10^{-6} g/ml	アセチルコリンでは 10^{-4} 、 ヒスタミンでは 10^{-5} g/ml 以上で収縮抑制
	摘出輸精管	ラット	<i>in vitro</i>	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml	雄 5	10^{-5} g/ml	10^{-6} g/ml	10^{-5} , 10^{-4} g/ml で抑制
	摘出妊娠子宮	ラット	<i>in vitro</i>	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/ml	雌 5	10^{-4} g/ml	10^{-5} g/ml	10^{-4} g/ml で抑制
消化器系	胃腸管輸送能	マウス	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	> 1500	1500	影響なし
骨格筋系	神経筋接合部 (坐骨神経 脛骨筋)	ウサギ	十二指腸 (CMC)	150, 500, 1500	雄 3	> 1500	1500	影響なし
血液	凝固	ラット	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	> 1500	1500	影響なし
	溶血	ラット	<i>in vitro</i>	0.01, 0.1, 1.0 %	雄 6	1.0%	0.1%	1.0%濃度群で溶血
腎臓	尿量及び 電解質	ラット	強制経口 (CMC)	150, 500, 1500	雄 6	1500	500	1500 mg/kg で尿量、 電解質排泄の減少

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2. 製剤

IPC 45.8%乳剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.製剤 1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度: IPC 45.8%乳剤

組成 IPC 原体 45.8%
有機溶剤、乳化剤 54.2%

供試動物: SD 系ラット、6 週齢、体重: 雄 140.2~154.8 g、雌 122.5~138.5 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 検体をそのまま強制経口投与した。投与前に約 17 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与日、投与後 1、3、5、7 及び
14 日目に測定した。試験終了時に全生存動物について組織の肉眼病理検査を行い、
また一部の動物について病理組織学的検査を実施した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 2959、3846、5000、6500、8450
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 5404 (4367~6838) 雌 4610 (3849~5525)
死亡開始時間及び終了時間	開始: 投与後 1 日 終了: 投与後 3 日
症状発現時間及び消失時間	発現: 投与後 7 分 消失: 投与後 2 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2959

中毒症状としては、雌雄ともに自発運動の減少、腹臥ないし側臥位、呼吸粗大が認められた。

死亡例の剖検及び病理組織学的検査では、肺のうっ血及び水腫、小葉周辺性肝細胞空胞化、肝細胞混濁腫脹、胃粘膜びらん及び粘膜壊死が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 製剤 2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度: IPC 45.8% 乳剤

組成 IPC 原体 45.8%

有機溶剤、乳化剤 54.2%

供試動物: SD 系ラット、8 週齢、体重: 雄 280.2~306.3 g、雌 186.0~210.5 g、

1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 検体をそのまま用い、刈毛した背部皮膚に 24 時間塗布した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を処理日、処理後 1、3、5、7 及び 14 日目に測定した。試験終了時に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。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
症状発現時間及び消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

剖検所見においても、処理部位の変化を含め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保土谷化学工業株式会社にある。

3) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 製剤 3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度: IPC 45.8% 乳剤

組成 IPC 原体 45.8%

有機溶剤、乳化剤 54.2%

供試動物: New Zealand White ウサギ、7ヶ月齢、体重: 3.84~4.18kg、1群雄6匹

観察期間: 9日間

投与方法: 剃毛した動物の背部皮膚を4箇所に分け、各2箇所を擦過及び非擦過部位とした。擦過及び非擦過部位の各1箇所にリント布に塗布した検体 0.5 ml を4時間貼付した。残り2箇所にはリント布のみ貼付した。除去時に精製水に浸した脱脂綿で適用部位を拭き取った。

観察項目: パッチ除去後30分、1、24、48及び72時間、4、5、6、7、8及び9日に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化は以下のとおりであった。

健全皮膚

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間										
			30分	1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	6日	7日	8日	9日
1	紅斑・痂皮	4	0	0	1	1	4*	4*	4*	0**	-	-	-
	浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0	0	-	-	-
2	紅斑・痂皮	4	0	0	2	4*	4*	4*	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	-
3	紅斑・痂皮	4	1	1	2	2	3	3	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	1	2	2	2	3	3	2	0	0	-
4	紅斑・痂皮	4	0	0	2	2	2	4*	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	2	2	2	2	1	1	1	0	0	-
5	紅斑・痂皮	4	0	0	2	2	2	4*	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	2	2	2	2	1	1	1	0	0	-
6	紅斑・痂皮	4	0	0	2	2	2	4*	4*	4*	4*	0**	0
	浮腫	4	1	1	2	2	2	1	1	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	1	1	11	13	17	23	24	20	20	0	-
	浮腫	24	5	8	11	9	9	6	6	4	0	-	-
平均	紅斑・痂皮	4	0.2	0.2	1.8	2.2	2.8	3.8	4.0	3.3	3.3	0	-
	浮腫	4	0.8	1.3	1.8	1.5	1.5	1.0	1.0	0.7	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保土谷化学工業株式会社にある。

損傷皮膚

動物 番号	項目	最高 評点	暴 露 後 時 間										
			30 分	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4日	5日	6日	7日	8日	9日
1	紅斑・痂皮	4	0	0	1	1	4*	4*	4*	0**	-	-	-
	浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0	0	-	-	-
2	紅斑・痂皮	4	0	0	2	4*	4*	4*	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	-
3	紅斑・痂皮	4	1	1	2	2	3	3	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	-
4	紅斑・痂皮	4	0	0	2	2	2	4*	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	1	2	2	2	1	1	1	0	0	-
5	紅斑・痂皮	4	0	0	2	2	2	4*	4*	4*	4*	0**	-
	浮腫	4	1	2	2	2	2	1	1	1	0	0	-
6	紅斑・痂皮	4	0	0	2	2	2	4*	4*	4*	4*	4*	0**
	浮腫	4	1	1	2	2	2	1	1	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	1	1	11	13	17	23	24	20	20	4	0
	浮腫	24	6	7	11	9	9	5	5	4	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.2	0.2	1.8	2.2	2.8	3.8	4.0	3.3	3.3	0.7	0
	浮腫	4	1.0	1.2	1.8	1.5	1.5	0.8	0.8	0.7	0	0	0

*：痂皮形成、**：痂皮剥離、-：観察せず

検体処理部位では、擦過及び非擦過部位ともほぼ同等の反応を示し、紅斑・痂皮が7～8日後まで、浮腫が6日後まで認められた。

皮膚反応が検体除去後に強くなっていること、擦過の有無による反応に差がないことから、検体は皮膚に浸透して刺激を引き起こしていると考えられた。

対照部位では、擦過及び非擦過部位ともに皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、IPC 45.8%乳剤はウサギの皮膚に対して、中等度の刺激性があるものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

4) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.製剤 4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：IPC 45.8%乳剤

組成 IPC 原体 45.8%
有機溶剤、乳化剤 54.2%

供試動物：New Zealand White ウサギ、7ヶ月齢、体重：3.66~4.19kg、雄、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：非洗眼群；4日間、洗眼群；3日間

投与方法：検体 0.1 ml を 9 匹のウサギの左眼に適用し、6 匹は適用後洗浄せず（非洗浄群）、3 匹は適用 2~3 分後に 200 ml の微温等で 1 分間洗浄した（洗浄群）。右眼は無処置対照とした。

観察項目：非洗眼群及び洗眼群とも検体適用後 1、24、48、72 及び 96 時間目に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインの判定基準に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化は以下のとおりである。

項目	最高 評点	適用後時間						
		1時間	24時間	48時間	72時間	96時間		
非洗眼群	動物 番号 1	角 膜	4	0	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	1	0	0	0
		結膜発赤	3	1	2	1	1	0
		結膜浮腫	4	0	1	0	0	0
	動物 番号 2	角 膜	4	0	0	0	0	-
		虹 彩	2	0	0	0	0	-
		結膜発赤	3	1	1	1	0	-
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	-
	動物 番号 3	角 膜	4	0	0	0	0	-
		虹 彩	2	0	1	0	0	-
		結膜発赤	3	1	1	1	0	-
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	-
	動物 番号 4	角 膜	4	0	1	1	0	0
		虹 彩	2	0	1	0	0	0
		結膜発赤	3	1	1	1	1	0
		結膜浮腫	4	0	1	1	0	0

-：観察せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

(表の続き)

項 目		最高 評点	適 用 後 時 間					
			1 時 間	24 時 間	48 時 間	72 時 間	96 時 間	
非 洗 眼 群	動物 番号 5	角 膜	4	0	0	0	0	-
		虹 彩	2	0	0	0	0	-
		結膜発赤	3	1	1	0	0	-
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	-
	動物 番号 6	角 膜	4	0	0	0	0	-
		虹 彩	2	0	0	0	0	-
		結膜発赤	3	1	1	1	0	-
		結膜浮腫	4	0	0	0	0	-
	合 計							
	平均	角 膜	4	0	0.2	0.2	0	0
		虹 彩	2	0	0.5	0	0	0
		結膜発赤	3	1.0	1.2	0.8	0.3	0
結膜浮腫		4	0	0.3	0.2	0	0	
洗 眼 群 (3 匹平均)	角 膜	4	0	0	0	0	-	
	虹 彩	2	0	0	0	0	-	
	結膜発赤	3	1.0	1.0	0.3	0	-	
	結膜浮腫	4	0	0	0	0	-	
	合 計							

- : 観察せず

非洗眼群では 6 匹全例に結膜の発赤が認められた。また、角膜混濁、虹彩の充血及び結膜の浮腫が数匹に認められたが、72 時間後には全て消失した。

洗眼群では 3 匹全例に結膜の発赤が認められたが、72 時間後に全て消失した。角膜及び虹彩の刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、IPC45.8%乳剤はウサギの眼粘膜に対して、軽度の刺激性があるものと判断された。なお、洗眼により刺激性の軽減効果が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

5) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 No. 製剤 5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度: IPC 45.8% 乳剤

組成 IPC 原体 45.8%

有機溶剤、乳化剤 54.2%

供試動物: Hartley 系モルモット、6 週齢、体重 370.4~399.7 g、雌、1 群各 20 匹、
陽性対照群 1 群各 10 匹

観察期間: 48 時間観察

試験方法: Maximization 法

なお、陽性対照には 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) を用いた。

投与量設定根拠; 予備試験を行った結果、本試験の感作では皮膚反応が軽度に認められた最大濃度である皮下投与で 5% 溶液、経皮投与では 25% 軟膏を使用した。惹起では 25% 軟膏を用いた。

感作 1; 刈毛した動物の背部皮膚左右に以下の溶液 0.05 ml を皮内注射した。

注射部位	検体処理群	対照群	陽性対照群
1	検体 5% 生理食塩液	FCA	0.1% DNCB 溶液
2	FCA/10% 検体懸濁液 の 50/50 溶液	FCA/生理食塩水の 50/50 溶液	FCA/0.1% DNCB の 50/50 溶液
3	FCA	生理食塩水	FCA

FCA: Freund's complete adjuvant

感作 2; 感作 1 から 6 日後に検体処理群の背部を再度刈毛し、翌 7 日目に検体処理群では検体 25% 白色ワセリン軟膏 250 mg、対照群に生理食塩水混合白色ワセリン、陽性対照群では 1% DNCB 混合白色ワセリンを塗布したリント布 (2 cm × 4 cm) を貼付し、48 時間閉塞固定した。

惹起; 最終感作後 14 日目に動物の左右腹側部を刈毛 (5 cm × 5 cm) し、左腹側部には検体処理群では検体 25% 白色ワセリン軟膏、対照群では生理食塩水混合白色ワセリン軟膏、陽性対照群では DNCB 0.01% 混合白色ワセリン軟膏各 250 mg を塗布したリント布 (2 cm × 2 cm) を貼付し、24 時間閉塞固定した。左腹側部は各群とも白色ワセリン軟膏を同様に処理した。

観察項目: 惹起暴露終了後 24 及び 48 時間目に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

察した。また、以下の判定基準に従って、皮膚反応を評価した。

判定基準

- 0 なし
- 1 軽度の紅斑
- 2 軽度でまばらな紅斑が継続
- 3 重度の紅斑及び浮腫

結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群				供試動物数	感作反応動物数								陽性率			
					24 時間後				48 時間後				24 時間	48 時間		
感作 1	感作 2	惹起	皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計				
			0	1	2	3		0	1	2	3					
検体	5% 検体	25% 検体	25% 検体	19	18	1	0	0	1/19	19	0	0	0	0/19	5%	0%
	5% 検体	25% 検体	溶媒	19	18	1	0	0	1/19	19	0	0	0	0/19	5%	0%
対照	溶媒	25% 溶媒	25% 溶媒	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0%	0%
	溶媒	25% 溶媒	溶媒	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0%	0%
陽性対照	0.1% DNCB	1% DNCB	0.01% DNCB	10	0	0	0	10	10/10	0	0	2	8	10/10	100%	100%
	0.1% DNCB	1% DNCB	溶媒	10	10	0	0	0	10/10	10	0	0	0	10/10	0%	0%

検体処理群において、検体惹起の 24 時間後に 1 例軽度な紅斑がみられたが、これは溶媒（白色ワセリン）誘発側にも認められたことから、被験物質による影響とは考え難く、閉鎖塗布によるものと思われた。

一方、陽性対照群では、全例に強度の紅斑が認められた。

なお、検体処理群の 1 匹は不慮の事故により死亡した。

以上の結果から、IPC 45.8%乳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保土谷化学工業株式会社にある。

IPC 50%乳剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.製剤 6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体の純度: IPC 50%乳剤

組成 IPC 原体 50.0%
水、乳化剤、有機溶剤等 50.0%

供試動物: Wistar 系ラット、6 週齢、体重: 雄 169~178 g、雌 132~151 g、
1 群雌雄各 3 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 検体をそのまま強制経口投与した。投与前に約 20 時間絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与後 7 及び 14 日目に測定した。試験終了時に全生存動物の組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 5000 雌 > 5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	発現: 投与 2 時間後 消失: 投与後 2 日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

死亡例及び中毒症状ともに認められなかった。

投与当日に嗜眠が全動物に、また投与 4 時間後に円背位が全ての雌に認められたが、以降異常はみられなかった。

剖検所見に異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.製剤 7)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体の純度: IPC 50%乳剤

組成 IPC 原体 50.0%
水、乳化剤、有機溶剤等 50.0%

供試動物: Wistar 系ラット、8 週齢、体重: 雄 243~306 g、雌 195~213 g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 検体をそのまま用い、刈毛した背部皮膚に 24 時間塗布した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を処理直前、処理後 7 及び 14 日目に測定した。試験終了時に全生存動物の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

中毒症状および死亡例は認められなかった。

なお、雄 1 例で投与当日に下痢が認められたが、以降は回復した。

処理部位の皮膚に紅斑、鱗屑及び痂皮が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

3) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.製剤 8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体の純度：IPC 50%乳剤

組成 IPC 原体 50.0%
水、乳化剤、有機溶剤等 50.0%

供試動物：New Zealand White ウサギ、8~10 週齢、体重：1.91~1.97 kg、1 群雄 3 匹

観察期間：21 日間

投与方法：動物の背部皮膚を剃毛し、腹側部に金属パッチ (2×3 cm) に塗布した検体 0.5 ml を 4 時間貼付し、伸縮テープで閉塞固定した。除去時に水で適用部位を洗浄した。

観察項目：パッチ除去後 1、24、48 及び 72 時間目、7、14 及び 21 日目に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize の判定基準に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化は以下のとおりであった。

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	14 日	21 日
1	紅斑・痂皮	4	2	2	3	3	4	2	0
	浮腫	4	2	3	4	4	—	0	0
2	紅斑・痂皮	4	2	3	3	4	4	0	0
	浮腫	4	2	3	4	3	—	0	0
3	紅斑・痂皮	4	2	3	3	4	4	2	0
	浮腫	4	2	3	4	3	—	1	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	8	9	11	12	4	0
	浮腫	24	6	9	12	10	—	1	0
平均	紅斑・痂皮	4	2.0	2.7	3.0	3.7	4.0	1.3	0
	浮腫	4	2.0	3.0	4.0	3.3	—	0.3	0

—：皮膚の亀裂がみられ評価出来ず

処理部位では重度の紅斑・痂皮及び浮腫が 7 日目まで認められた。7 日目では 3 匹とも皮膚に亀裂がみられ、浮腫の評価ができなかった。14 日目では反応は減少し 21 日目には回復した。

以上の結果から、IPC 50%乳剤はウサギの皮膚に対して、強い刺激性があるものと思われる。なお、腐食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保土谷化学工業株式会社にある。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験 (0.4%希釈液)

(資料 No.製剤 9)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体の純度: IPC 50%乳剤

組成 IPC 原体 50.0%

水、乳化剤、有機溶剤等 50.0%

供試動物: New Zealand White ウサギ、8~10 週齢、体重: 1.91~1.97 kg、1 群雄 3 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 動物の背部皮膚を剃毛し、腹側部に金属パッチ (2×3 cm) に塗布した検体希釈液 (水で 0.4% (w/w) に希釈、実用最高濃度の希釈液) 0.5 ml を 4 時間貼付し、伸縮テープで閉塞固定した。除去時に水で適用部位を洗浄した。

観察項目: パッチ除去後 1、24、48 及び 72 時間目に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize の判定基準に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化は以下のとおりであった。

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

処理部位にはいずれの変化も認められなかった。

以上の結果から、IPC 50%乳剤の 0.4%希釈液 (実用最高濃度の希釈液) はウサギの皮膚に対して、刺激性はないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験 (0.4%希釈液)

(資料 No.製剤 10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体の純度: IPC 50%乳剤

組成 IPC 原体 50.0%

水、乳化剤、有機溶剤等 50.0%

試験動物: New Zealand White ウサギ、7~9 週齢、体重: 1.53~1.69 kg、1 群雄 3 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 検体を水で 0.4% (w/w) に希釈し (実用最高濃度の希釈液)、0.1 ml を 3 匹のウサギの左眼に適用した。洗眼はしなかった。右眼は無処置対照とした。

観察項目: 検体適用後 1、24、48 及び 72 時間目に刺激性変化について Draize の判定基準に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化は以下のとおりであった。

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 1	角 膜	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
		結膜発赤	3	0	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 2	角 膜	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
		結膜発赤	3	0	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 3	角 膜	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
		結膜発赤	3	0	0	0	0
		結膜浮腫	4	0	0	0	0
合 計			0	0	0	0	
平均	角 膜	4	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結膜発赤	3	0	0	0	0	
	結膜浮腫	4	0	0	0	0	

眼にいずれの異常も認められなかった。

以上の結果から、IPC 50%乳剤の 0.4%希釈液 (実用最高濃度の希釈液) はウサギの眼粘膜に対して、刺激性はないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

6) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 No.製剤 11)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体の純度: IPC 50%乳剤

組成 IPC 原体 50.0%
水、乳化剤、有機溶剤等 50.0%

供試動物: Dunking-Hartley 系モルモット、約 7 週齢、体重 348~486 g、雄、1 群 20 匹、
非感作群 10 匹

観察期間: 48 時間観察

試験方法: Maximization 法

投与量設定根拠: 予備試験を行った結果、本試験において皮膚感作では 0.5%、経皮投与では 100%、惹起では 100%の濃度の検体を用いた。

感作 1: 刈毛した動物の背部皮膚左右に以下の溶液 0.1 ml を皮内注射した。

注射部位	検体処理群	対照群
A	FCA/注射用蒸留水の 50/50 溶液	FCA/注射用蒸留水の 50/50 溶液
B	0.5%検体	注射用蒸留水
C	FCA/1%検体の 50/50 溶液	FCA/注射用蒸留水の 50/50 溶液

FCA: Freund's complete adjuvant

感作 2: 感作 1 から 6 日後に検体処理群の背部を再度刈毛し、7 日目に 10%ドデシルナトリウムを処理し、翌日 100%濃度の検体を 0.5 ml、対照群には注射用蒸留水を塗布したパッチ (2cm x 3cm) を貼付し、48 時間閉塞固定した。

惹起: 最終感作後 14 日目に動物の腹側部を刈毛し、検体処理群では検体 100%、対照群では注射用蒸留水を各 0.1 ml 塗布したパッチを貼付し、24 時間閉塞固定した。

観察項目: 惹起暴露終了後 24 及び 48 時間目に以下の Magnusson & Kligman の判定基準に従って、皮膚反応を評価した。

判定基準

- 0 なし
- 1 軽度の紅斑
- 2 中等度で癒合性な紅斑
- 3 中等度の紅斑及び浮腫
- 4 重度の紅斑及び浮腫

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

結果：皮膚感作性反応は以下の通りであった。

群	感作1 感作2 惹起			供試動物数	感作反応動物数								陽性率					
					24時間後				48時間後				24時間	48時間				
					皮膚反応評点					皮膚反応評点								
0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計							
検体	0.5% 検体	100% 検体	100% 検体	20	7	13	0	0	0	13/20	4	14	2	0	0	16/20	65%	80%
対照	溶媒	溶媒	100% 検体	10	7	3	0	0	0	3/10	9	1	0	0	0	1/10	30%	10%
陽性 対照 *	20% HCA	85% HCA	20% HCA	10	5	3	1	1	0	5/10	5	4	1	0	0	5/10	50%	50%
	20% HCA	85% HCA	溶媒	10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0%	0%
	溶媒	溶媒	20% HCA	5	5	0	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0	0/5	0%	0%
	溶媒	溶媒	溶媒	5	5	0	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0	0/5	0%	0%

* 定期的に実施した陽性対照試験の結果（実施年月日：2002年3~4月）

HCA：alpha-hexylcinnamaldehyde

検体処理群及び対照群の動物に評点1ないし2の皮膚反応が認められた。

なお、対照群に認められた反応はドデシルナトリウムによるものと考えられ、検体処理群に認められた反応を比較し、対照群と同様な反応を示した例を除くと、感作性は8例（40%）に認められたと考えられた。

一方、陽性対照物質としてHCAの20%濃度を用いた陽性対照の試験では、50%の陽性率を示したことから、試験の信頼性は問題ないと考えられる。

以上の結果から、IPC 50%乳剤は皮膚感作性を誘発すると判断する。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 1 (GLP)	動物代謝 (その1)	ラット	<p>供試標識化合物： ベータ-システラミド標識 IPC</p> <p>投与方法： 単回強制経口投与 5 mg/kg (低用量) 反復強制経口投与 5 mg/kg (非標識体を 14 日間投与後、15 日目に標識体を 1 回投与) 単回強制経口投与 200 mg/kg (高用量) 単回静脈内投与 0.5 mg/kg</p>	<p>排泄： 投与方法または性によって差無し。 尿中： 投与後 1 日以内：82.28～92.34% 投与後 7 日間：88.79～96.55% 糞中： 投与後 7 日間：4.22～7.27%</p> <p>組織分布： 低用量単回経口投与および反復経口投与： 各組織とも 0.05 µg/g 以下 高用量単回経口投与： 血液：雄 1.49 µg/g 雌 2.21 µg/g 肝臓：雄 0.58 µg/g 雌 0.69 µg/g 脾臓：雌 0.83 µg/g 単回静脈内投与：未検出</p> <p>代謝： 投与方法または性によって差無し。 尿中：13 個の代謝物同定 その他 10%以下の同定代謝物： 糞中：7 個の代謝物同定</p>	(1991 年)	代-11

網掛けは、前回抄録提出時 (1994 年 8 月) 以降に新たに提出した資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 2	動物 代謝 (その2)	ラット	強制腹腔内投与 3.3 mg/ラット 1回 (4日間の ¹⁴ C 排泄量)	<p>標識</p> <ul style="list-style-type: none"> ・尿：87.6 ± 4.4% ・糞：0.2 ± 0.2% <p>標識</p> <ul style="list-style-type: none"> ・尿：51.1 ± 0.9% ・糞：0.7 ± 0.7% ・呼気：16.6% ・尿中代謝物として次の3種を検出 	文献引用： 試験機関：	代-20
			強制経口投与 3.5 mg/ラット 1回 (4日間の ¹⁴ C 排泄量)	<p>標識</p> <ul style="list-style-type: none"> ・尿：83.8 ± 2.5% ・糞：4.5 ± 1.4% <p>標識</p> <ul style="list-style-type: none"> ・尿：46.7 ± 3.8% ・糞：3.2 ± 1.1% ・呼気：19.9% 		
			ネオマイシン処理 強制経口投与 3.5 mg/ラット 1回 (4日間の ¹⁴ C 排泄量)	<p>標識</p> <ul style="list-style-type: none"> ・尿：73.0 ± 4.3% ・糞：10.3 ± 3.2% <p>標識</p> <ul style="list-style-type: none"> ・尿：42.8 ± 5.4% ・糞：9.2 ± 2.7% ・呼気：14.0% 		
			胆汁排泄検討用 強制腹腔内投与 1 mg/ラット 1回 (6時間後の 胆汁中 ¹⁴ C 量)	<p>標識</p> <p>39.8%</p> <p>標識</p> <p>38.4 ± 5.5%</p>		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 3	動物 代謝 (その3)	ラット	代謝物質同定用 強制経口投与 250~300 mg/kg 1回	尿の酸性加水分解 ・代謝物として次の2種を検出 尿の酸素分解 ・TLC で分離後検出された代謝物は次の通り	文献引用: 試験機関:	代-26
			排泄生成物の定量用 強制経口投与 17、100、250 mg/kg 1回	尿中への排泄 次の3種の代謝物について定量分析を実施 ・17 mg/kg 投与の排出率 (%) [J] [F] [E] ・100 mg/kg 投与の排出率 (%) [J] [F] [E] ・250 mg/kg 投与の排出率 (%) [J] [F] [E]		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 4	植物 代謝	大豆	<u>水耕栽培</u> 標識 IPC 1 ppm 相当 (4.7×10^{-6} M) 大豆 2 本 (8 日、16 日後採取)	次の代謝物を検出 ・ 16 日後の代謝物% 未変化 CI-IPC : 10% 代謝物 [K] : " [B] : " [I] :	文献引用 : 試験機関 :	代-32
			<u>土壌栽培</u> 標識 IPC 2 Lb/エーカー担当 ($6.7 \mu\text{Ci}/\text{ft}^2$) 35 日後採取	・ CI-IPC [A] 土壌残留量 0.03 ppm ・ 代謝物 [I] の残留量 ・ 大豆中の代謝物% 代謝物 [K]+ [B] : " [I] : その他の不純物 (対処理量)		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁																																													
代謝 5 (GLP)	植物代謝	春コムギ	<p>放射性標識 IPC を BBCH 発育段階 14 の植物に、約 0.7 kg/ha (通常量) および約 1.4 kg/ha (2 倍量) で散布処理した後、野外において栽培。</p> <p>成熟期 (BBCH 発育段階 97~99、処理後 102 日) に収穫し、種子および藁に分けて分析。</p>	<p>総残留放射能</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処理量 (kg/ha)</th> <th colspan="2">残留放射能濃度 (mg eq/kg)</th> </tr> <tr> <th>種子</th> <th>藁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.7</td> <td>0.0126</td> <td>0.1757</td> </tr> <tr> <td>1.4</td> <td>0.0326</td> <td>0.3162</td> </tr> </tbody> </table> <p>種子中に検出 (同定) された代謝物</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">化合物</th> <th colspan="2">%TRR (mg eq/kg)</th> </tr> <tr> <th>0.7 kg/ha</th> <th>1.4 kg/ha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> </tbody> </table> <p>NA: 分析せず</p> <p>藁中に検出 (同定) された代謝物</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">化合物</th> <th colspan="2">%TRR (mg eq/kg)</th> </tr> <tr> <th>0.7 kg/ha</th> <th>1.4 kg/ha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> </tbody> </table>	処理量 (kg/ha)	残留放射能濃度 (mg eq/kg)		種子	藁	0.7	0.0126	0.1757	1.4	0.0326	0.3162	化合物	%TRR (mg eq/kg)		0.7 kg/ha	1.4 kg/ha	化合物	%TRR (mg eq/kg)		0.7 kg/ha	1.4 kg/ha	(2006 年)	代-37
処理量 (kg/ha)	残留放射能濃度 (mg eq/kg)																																																		
	種子	藁																																																	
0.7	0.0126	0.1757																																																	
1.4	0.0326	0.3162																																																	
化合物	%TRR (mg eq/kg)																																																		
	0.7 kg/ha	1.4 kg/ha																																																	
...																																																	
...																																																	
...																																																	
...																																																	
化合物	%TRR (mg eq/kg)																																																		
	0.7 kg/ha	1.4 kg/ha																																																	
...																																																	
...																																																	
...																																																	
...																																																	

網掛けは、前回抄録提出時 (1994 年 8 月) 以降に新たに提出した資料

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁																															
代謝 6 (GLP)	植物代謝	タマネギ	<p>放射性標識 IPC を、植え付けし定着した後に、約 1.3 kg/ha (通常量) および約 2.7 kg/ha (2 倍量) で散布処理し、野外の囲いの中で栽培。</p> <p>成熟期 (BBCH 発育段階 48~49、処理後 97 日) に収穫し、タマネギ (鱗茎) および葉部に分画して分析。</p>	<p>総残留放射能</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処理量 (kg/ha)</th> <th colspan="2">残留放射能濃度 (mg eq/kg)</th> </tr> <tr> <th>タネ</th> <th>葉部</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.3</td> <td>0.014</td> <td>0.031</td> </tr> <tr> <td>2.7</td> <td>0.105</td> <td>1.002</td> </tr> </tbody> </table> <p>2 倍量処理のタマネギおよび葉部において検出された代謝物 (HPLC 分析)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">化合物</th> <th colspan="2">%TRR (mg eq/kg)</th> </tr> <tr> <th>タネ</th> <th>葉部</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>...</td> <td>...</td> <td>...</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND: 検出されず</p>	処理量 (kg/ha)	残留放射能濃度 (mg eq/kg)		タネ	葉部	1.3	0.014	0.031	2.7	0.105	1.002	化合物	%TRR (mg eq/kg)		タネ	葉部	(2006 年)	代-43
処理量 (kg/ha)	残留放射能濃度 (mg eq/kg)																																				
	タネ	葉部																																			
1.3	0.014	0.031																																			
2.7	0.105	1.002																																			
化合物	%TRR (mg eq/kg)																																				
	タネ	葉部																																			
...																																			
...																																			
...																																			
...																																			
...																																			
代謝 7 (GLP)	植物代謝	キャベツ	<p>放射性標識 IPC を、植え付けし定着した後に、約 1.3 kg/ha (通常量) および約 2.7 kg/ha (2 倍量) で散布処理し、野外の囲いの中で栽培。</p> <p>成熟期 (BBCH 発育段階 49、処理後 107 日) にキャベツを収穫し分析。</p>	<p>総残留放射能</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>処理量 (kg/ha)</th> <th>残留放射能濃度 (mg eq/kg)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.3</td> <td>0.023</td> </tr> <tr> <td>2.7</td> <td>0.031</td> </tr> </tbody> </table> <p>通常量処理のキャベツにおける抽出性放射能の分布</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>%TRR (mg eq/kg)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cl-IPC</td> <td>2.0 (<0.001)</td> </tr> <tr> <td>非保持成分/原点</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>その他の代謝物の合計</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>その他の放射能</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>精製中の消失分</td> <td>...</td> </tr> <tr> <td>合計</td> <td>58.8 (0.013)</td> </tr> </tbody> </table>	処理量 (kg/ha)	残留放射能濃度 (mg eq/kg)	1.3	0.023	2.7	0.031	画分	%TRR (mg eq/kg)	Cl-IPC	2.0 (<0.001)	非保持成分/原点	...	その他の代謝物の合計	...	その他の放射能	...	精製中の消失分	...	合計	58.8 (0.013)	(2006 年)	代-51											
処理量 (kg/ha)	残留放射能濃度 (mg eq/kg)																																				
1.3	0.023																																				
2.7	0.031																																				
画分	%TRR (mg eq/kg)																																				
Cl-IPC	2.0 (<0.001)																																				
非保持成分/原点	...																																				
その他の代謝物の合計	...																																				
その他の放射能	...																																				
精製中の消失分	...																																				
合計	58.8 (0.013)																																				

網掛けは、前回抄録提出時 (1994 年 8 月) 以降に新たに提出した資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 8	土壌中動態	好氣的湛水土壌	水田において使用されないため試験省略			代-56
代謝 9 (GLP)	土壌中動態 (IPCの好氣的土壌代謝)	埴壤土 (日本の土壌)	<p>標識 IPC を約 4.2 mg/kg (乾土) の濃度で処理。</p> <p>処理後 61 日間、25°C の暗所にインキュベート。</p> <p>揮発性放射能および土壌中放射能を経時的に分析。</p>	<p>試験期間中の物質収支 93.0~97.9%</p> <p>検出された代謝物 (処理量に対する最大検出量)</p> <p>14日後</p> <p>61日後</p> <p>消失半減期 (DT50)</p> <p>11日</p> <p>25日</p>	(2006年)	代-57
代謝 10	土壌中動態	Pseudomonas striata Chester (土壌微生物)	<p>酵素反応</p> <p>IPC と酵素を培養し、生成物を電気的に測定</p> <p>反応性生物の分析</p> <p>標識 IPC の 1.0 μCi を酵素と共に培養 TLC 及び GC にて分析</p>	<p>生成物の量は</p> <p>① 30分までは時間と相関あり</p> <p>② 酵素が 2.0 mg までは、酵素濃度と相関あり</p> <p>反応生成物は、と確認</p>	<p>文献引用:</p> <p>試験機関:</p>	代-63
代謝 11	土壌中動態	嫌氣的土壌	好氣的土壌中動態試験において、有効成分等の半減期が 100 日を超えなかったため試験省略			代-66
代謝 12 (GLP)	加水分解性	緩衝液 pH 4.0, 7.0, 9.0	試験液 5.00 mg/L を調製し、遮光、50 ± 1°C の条件下で、5 日後の残留率をみた。	<p>5 日後の平均残留率</p> <p>pH = 4.0 : 102%</p> <p>pH = 7.0 : 102%</p> <p>pH = 9.0 : 101%</p> <p>各 pH とも 25°C での半減期は 1 年以上と考えられる。</p>	(2000年)	代-67
代謝 13 (GLP)	水中光分解動態	自然水 緩衝液 (pH 5, 7, 9)	試験液として最終濃度約 1 μg/mL の ¹⁴ C-IPC を調製し、光照射 15 日後まで経時的に分析した。暗対照区も設けた。	<p>半減期:</p> <p>自然水 (154 日)</p> <p>pH 5 緩衝液 (167 日)</p> <p>pH 7 緩衝液 (187 日)</p> <p>pH 9 緩衝液 (125 日)</p> <p>暗対照区ではほとんど分解されなかった。</p> <p>検出された分解物は OH-IPC [L] で光照射区のみを検出された。</p>	(2005年)	代-69
代謝 14 (GLP)	土壌吸着性	4 土壌	濃度: 0.04~5 mg/L 温度: 25 ± 1°C	<p>$K_{Fadsoc} = 282 \sim 666$</p> <p>$K_{Fads} = 4.13 \sim 32.4$</p>	(2000年)	代-79
代謝 15 (GLP)	生物濃縮性	魚類 (コイ)	化審法テストガイドライン	<p>BCF_{ss}</p> <p>試験濃度 0.0020 mg/L : 42.5~58 (平均 57.2)</p> <p>試験濃度 0.020 mg/L : 37~58.5 (平均 39.3)</p>	(2008年)	代-81

網掛けは、前回抄録提出時 (1994 年 8 月) 以降に新たに提出した資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	IPC (Cl-IPC)	イソプロピル 3-クロロカルバネート	
B	動物 植物			
C	動物			
D	動物			
E	動物			
F	動物			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
G	動物			
H	動物			
I	植物			
J	動物 土壌			
K	植物			
L	水中光			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

<標識化合物一覧表>

名称	^{14}C 標識位置 (*)
標識 IPC	
標識 IPC	

[標識位置の選定理由]

IPCは を有しており、これが代謝的に最も安定と考えられたことから、
の炭素を ^{14}C で均一標識した化合物 (標識 IPC) を各種代謝分解試験に使用し
た。また が開裂した場合に の挙動を追跡するために、
炭素を ^{14}C で標識した化合物 (標識 IPC) も一部の試験に使
用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

1. 動物代謝試験

1) ^{14}C 標識 IPC を用いたラット体内における代謝試験 (その 1)

(資料 No.代謝 1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

供試標識化合物: 標識 IPC

化学構造式:

*: ^{14}C 標識位置

化学名: イソプロピル N-(3-クロロフェニル)カーバメート

比放射能: mCi/mmol

放射化学的純度: % (HPLC)、 % (二次元 TLC)

供試動物: Sprague-Dawley 系 (CrI:CD(SD)BR) ラット

入手時: 6~10 週齢、体重: 150~250 g

ラットは投与前に少なくとも約 1 週間隔離し検疫を行った。

試験方法:

投与液の調製: 標識 IPC に非標識体 (純度 %) を添加して同位体希釈し、溶媒除去後、経口投与用はコーン油、静脈内投与用は生理食塩水 (蒸留水を用いて調製した 0.9%NaCl 水溶液) に溶解して投与液を調製した。静脈内投与用の投与液は、3 分間超音波処理した後、濾過した。反復投与用の非標識体投与液は 1 週間分を調製して冷蔵保存した。

投与方法および試料採取: 予備試験では、4 種類の投与量で単回経口投与した。本試験では、低用量の単回経口投与 (SOLD)、反復経口投与 (MOLD)、高用量の単回経口投与 (SOHD)、静脈内投与 (IV) および対照群を設定した。経口投与では、挿管針を用いて強制経口投与し、静脈内投与では、頸静脈に直接投与した。尿および糞を次表に示した時間間隔で採取した。尿試料にはケージ洗浄液も含めた。投与 7 日後に動物を屠殺して、組織および器官を採取した。詳細を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

試験群	用量# (mg/kg)	投与回数と 経路	動物数 雄/雌	採取試料	糞尿の 採取時間
予備 試験	5、100、 300、500	単回経口	2/2	尿、糞、呼気**	24、48、72時間
SOLD	5	単回経口	5/5	尿、糞、脳、心臓、肺、肝臓、 腎臓、皮膚、膵臓、筋肉、骨、 脾臓、脂肪、血液、血漿、屍体、 雄のみ：精巣、前立腺、精囊 雌のみ：子宮、卵巣	4、8、12、24、36、 48、72、96、120、 144、168時間
MOLD	5	反復経口*	5/5		
SOHD	200	単回経口	5/5		
IV	0.5	単回静脈内	5/5		
対照	0	単回経口	2/2		

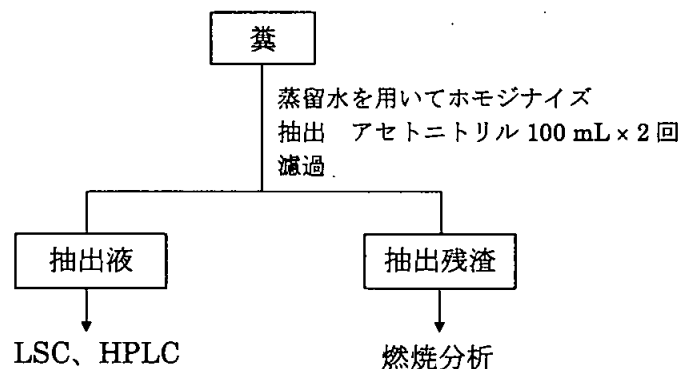
#： 用量設定根拠：不明

*： 非標識体を1日1回14日間投与後、15日目に標識体を1回投与した。

**： 予備試験の5 mg/kg投与群でのみ、0.1 N KOHを用いて、呼気を48時間捕集した。

分析方法：尿は濾過後、血漿は直接、LSC分析に供して放射エネルギーを測定した。糞、血液および組織は燃焼分析により放射エネルギーを測定した。投与後1日間の尿および糞について代謝物同定を実施した。尿試料は濾過後、糞試料は下記のスキームのように抽出した後、HPLC分析により代謝物を定量および同定した。またTLCを用いて主要代謝物の同定確認も行った。

予備試験の500 mg/kg投与群の尿から単離した代謝物は、質量分析により同定して、放射性代謝物標品として本試験で使用した。



試験結果：

予備試験：5 mg/kg投与群で、投与後2日間捕集した呼気中¹⁴CO₂は微量（0.02%TAR以下）（%TAR：投与量に対する割合）であったため、本試験では呼気の捕集を実施しなかった。また、100 mg/kg以上の投与量において代謝が類似していたことから、本試験の高用量単回経口投与群の投与量として、100 mg/kgより高濃度が適していると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

本試験：

排泄：本試験での投与放射能の尿および糞中排泄率の経時変化を表 1 に示す。IPC は、経口投与および静脈内投与の両方で、主として尿中に排泄され、糞中排泄量は少量であった。尿中には、投与後 1 日以内に 82.28～92.34% TAR が排泄された。さらに、2 日目に約 3～5% TAR、3 日目に約 0.3～1.2% TAR が排泄され、投与後 7 日間に合計 88.79～96.55% TAR が排泄された。糞中でも、大部分は投与後 1 日以内に排泄され、投与後 7 日間に合計 4.22～7.27% TAR が排泄された。投与方法または性によって、排泄に大きな差はなかった。

吸収*：単回投与（低用量、高用量）および反復投与群において、糞中への排泄量が少なく、また呼気中への排泄量も微量であったため、経口投与後の体内吸収率はほぼ尿中への排泄率と一致すると考えられることから、これら投与群における体内吸収率はいずれも 90% 以上と推定された。

組織分布：投与 7 日後の組織中放射能濃度を表 2 に示す。低用量では単回および反復経口投与ともに、各組織中放射能濃度は 0.05 $\mu\text{g/g}$ 以下であり、静脈内投与群では、放射能が検出されなかった。高用量単回経口投与群では、他の投与群より高い残留量が示され、血液中で最大であり、雄および雌についてそれぞれ 1.49 $\mu\text{g/g}$ および 2.21 $\mu\text{g/g}$ であった。次いで、雌の脾臓および肝臓でそれぞれ 0.83 $\mu\text{g/g}$ および 0.69 $\mu\text{g/g}$ 、雄の肝臓で 0.58 $\mu\text{g/g}$ が検出された。

代謝：投与後 1 日間の代謝物分布を、尿および糞について、それぞれ表 3 および表 4 に示す。尿および糞中の代謝物プロファイルは、投与方法または性によって大差はなかった。親化合物は、一部の糞試料でのみ極少量（最大 1.77% TAR、高用量単回経口投与群の雌）が検出され、尿中では検出されなかった。尿中では、13 個の代謝物が同定され、尿中代謝物の大部分が、

、および であり、約 58～70% TAR を占めた。尿中の主要な遊離代謝物は であった。10% TAR を超えたのは、 、および の 3 つであった。 は、32.95% TAR（低用量単回経口投与群の雄）～46.29% TAR（高用量単回経口投与群の雌）の範囲であった。 は、8.89% TAR（高用量単回経口投与群の雌）～19.25% TAR（静脈内投与群の雄）であった。 は、6.14% TAR（低用量単回経口投与群の雌）～16.00% TAR（反復経口投与群の雌）であった。他に微量代謝物として、 (0.37～6.22% TAR)、

* 申請者注：報告書に体内吸収率に関する記載がなかったため、申請者が作成した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

(0~2.00% TAR)、 (0~2.29% TAR)、
(0.40~1.59% TAR)、 (0.49~2.78% TAR)、
(0~5.60% TAR)、
(3.13~8.11% TAR)、 (0~1.53% TAR)、
および (0~4.31% TAR)、 および (1.73
~6.13% TAR) が検出された。
糞中代謝物は大部分が遊離代謝物であり、 および 1.25~2.67% TAR
の範囲であった。他に、
、 および が同定された。

推定代謝経路：推定代謝経路を図 1 に示す。3 つの主要経路が推定され、第 1 の主要経路は、
での水酸化と、それに続く であった。一部
は、 後に、 が酸化され、 した。第 2 の
主要経路では、 が酸化されて が生成し、それに続
き が生成した。第 3 の主要経路は、 による
の生成であり、続いて が された後、 されるかまたは
後に された。 は主として尿に排泄され、組織内蓄積は最
小限であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

表 1 投与放射能の尿および糞中排泄率の経時変化（投与量に対する割合（%TAR））

投与群	性別	試料	投与後経過時間（時間）				回収率	合計
			0～24	24～48	48～72	72～168		
低用量 単回経口	雄	尿	89.06	2.88	0.46	0.72	93.12	100.31
		糞	5.16	1.54	0.23	0.26	7.19	
	雌	尿	83.76	4.07	1.01	1.67	90.51	95.90
		糞	3.05	1.51	0.34	0.49	5.39	
反復経口	雄	尿	92.34	2.76	0.53	0.92	96.55	101.67
		糞	4.00	0.79	0.11	0.22	5.12	
	雌	尿	87.17	4.58	0.87	0.98	93.60	98.49
		糞	3.33	1.09	0.26	0.21	4.89	
高用量 単回経口	雄	尿	90.97	3.37	0.55	0.91	95.80	102.34
		糞	5.19	1.01	0.17	0.17	6.54	
	雌	尿	82.28	5.37	1.15	1.49	90.29	97.56
		糞	4.25	2.25	0.44	0.33	7.27	
静脈内	雄	尿	84.88	2.95	0.40	0.56	88.79	93.10
		糞	3.03	0.71	0.28	0.29	4.31	
	雌	尿	86.90	2.82	0.33	0.63	90.68	94.90
		糞	3.02	0.57	0.27	0.36	4.22	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

表 2 投与 7 日後の組織中放射能濃度 (μg/g 組織、IPC 換算濃度)

組織	低用量単回経口		反復経口		高用量単回経口		静脈内	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
心臓	0.01	0.00	0.00	0.01	0.18	0.25	0.00	0.00
肺	0.01	0.01	0.01	0.01	0.22	0.36	0.00	0.00
肝臓	0.02	0.02	0.01	0.02	0.58	0.69	0.00	0.00
腎臓	0.01	0.01	0.00	0.01	0.15	0.30	0.00	0.00
皮膚	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00
膵臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
筋肉	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.01	0.02	0.01	0.02	0.47	0.83	0.00	0.00
脂肪	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
血液	0.04	0.05	0.04	0.05	1.49	2.21	0.00	0.00
血漿	0.00	0.00	0.00	0.01	0.11	0.17	0.00	0.00
屍体	0.01	0.02	0.01	0.02	0.21	0.89	0.00	0.00
精巣	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA
前立腺	0.00	NA	0.00	NA	0.05	NA	0.00	NA
精囊	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA
子宮	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00
卵巣	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.03	NA	0.00

NA : 適用なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

表3 投与後1日間の尿中における代謝物分布（投与量に対する割合（%TAR））

代謝物	低用量単回経口		反復経口		高用量単回経口		静脈内	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
合計	89.05	83.77	92.35	87.17	90.96	82.29	84.89	86.90

ND：検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

表 4 投与後 1 日間の糞中における代謝物分布（投与量に対する割合（%TAR））

抽出画分／代謝物	低用量単回経口		反復経口		高用量単回経口		静脈内	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
IPC [A]	ND	0.36	0.21	ND	0.11	1.77	ND	ND
抽出残渣	1.44	0.97	1.03	0.93	1.43	0.83	0.93	0.89
合計	5.16	3.05	4.00	3.33	5.19	4.25	3.03	3.02

ND：検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

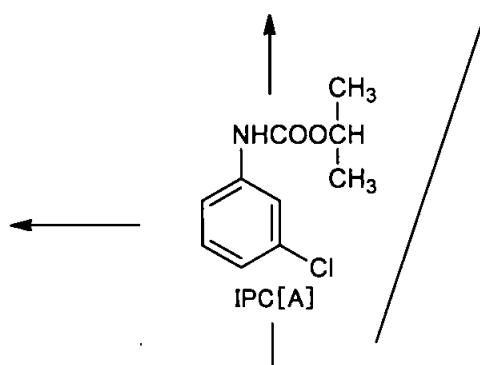


図 1 IPC のラットにおける推定代謝経路*

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

2) ^{14}C 標識 IPC を用いたラット体内における代謝試験 (その 2)

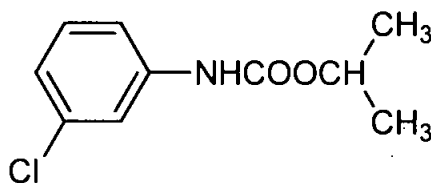
(資料 No.代謝 2)

文献名 : 、163-170、1972 年

(試験機関:)

供試標識化合物

(1) IPC {イソプロピル N-(3-クロロフェニル)カーバメート}



(2) ^{14}C 標識 IPC

名 称	構造式 (* 標識部位)	比放射能
標識 IPC		d.p.m/mg
標識 IPC		d.p.m/mg

d.p.m : Disintegration per minutes

供試動物

ウィスター系ラット雄 (平均体重約 250 g)

実験方法

(1) 投 与

腹腔内投与では、50%水溶性エタノールに溶かした IPC を 0.5 mL (3.3 mg/ラット)、経口投与では、メチルセルロースに懸濁した IPC を 1.0 mL (3.5 mg/ラット)、各々投与した。

尿、糞と二酸化炭素は、投与後 4 日間にわたり採取した。また、呼気中の放射能は 20%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

NaOH 溶液にトラップした。

胆汁採取試験では、50%水溶性エタノールに溶かした IPC を 0.1 mL (1.0 mg/ラット) 投与した。

また、IPC の 構造が腸内におけるネオマイシン感受性細菌叢により
加水分解を受け、放射性 あるいはその代謝物に分解されるか確かめるため
に、ネオマイシン投与群を設けた。IPC 経口投与の 24 時間前に、水に溶かしたネオマイシン硫酸塩 0.5 mL (50 mg/ラット) を投与した。また、同処理群の飲水中に 1%ネオマイシン硫酸塩を混入させて与えた。

標識	投与方法	投与量 (mg/ラット)	動物数	検討項目	資料採取時間 (時間)
標識 及び 標識	腹腔内	3.3	雄 6 匹	排泄 及び 代謝物同定	尿 : 24, 48, 72, 96 糞 : 96 呼気 : 96*
	経口	3.5	雄 6 匹		
	ネオマイシン 処理	3.5	雄 3 匹		

*各投与群とも 標識のみ実施

(2) 尿中代謝物の分析方法

は、トリメチルシリル化-GC 法により
測定した。内部標準物質には、4-フェニルフェノールを用い、加水分解は 1 M-HCl で 2 時間還流して行った。

(3) *in vitro* でのカーバメートの加水分解

雄ウイスター系ラットを頸部切断で屠殺し、腎臓と肝臓を 1.15%の冷した NaCl 溶液を入れた試験管に移した。そこに 2 倍容の 1.15%NaCl 溶液を加え、0~5℃でホモジェナイズし、30 分間遠心分離し、表層部分を培養した。

酵素誘導実験として、ラットにフェノバルビトンナトリウムを 80 mg/kg で 4 日間投与し、最終投与から 24 時間後に屠殺した。

類の加水分解は、
と 2.0 mL ホモジネートとの反応について、49 mM のリン酸緩衝液 (pH = 7.4) あるいは、71 mM のトリス緩衝液 (pH = 8.5) 中で行った。培養混合物の最終容量は 7.0 mL とし、培養は 37℃で 2 時間、空気あるいは窒素気流下で振とうして行った。

結 果

(1) 排泄放射能

標識 IPC と、 標識 IPC を処理した後の、尿・糞あるいは呼気への
放射能の排泄については、表-1、-2 の通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

表-1 標識 IPC の尿・糞への排泄

投与方法	投与量 (mg/ ラット)	ラット 匹数	回収率 (対処理量%)					
			尿					糞
			0~24 h	24~48 h	48~72 h	72~96 h	計	0~96 h
腹腔内	3.3	6	60.6 ± 12.5	19.2 ± 4.7	6.2 ± 5.0	1.4 ± 0.8	87.6 ± 4.4	0.2 ± 0.2
経口	3.5	6	77.6 ± 3.5	5.2 ± 3.9	0.8 ± 0.2	0.3 ± 0.1	83.8 ± 2.5	4.5 ± 1.4
ネオマイシン 処理	3.5	3	69.5 ± 3.3	2.8 ± 1.2	0.6 ± 0.1	0.2 ± 0.3	73.0 ± 4.3	10.3 ± 3.2

表-2 標識 IPC の尿・糞への排泄

投与方法	投与量 (mg/ ラット)	ラット 匹数	回収率 (対処理量%)						
			尿					呼気	糞
			0~24 h	24~48 h	48~72 h	72~96 h	計	0~96 h	0~96 h
腹腔内	3.3	6	43.8 ± 4.3	5.7 ± 3.9	1.3 ± 0.4	0.2 ± 0.4	51.1 ± 0.9	16.6	0.7 ± 0.7
経口	3.5	6	43.6 ± 1.6	2.6 ± 2.2	0.34 ± 0.07	0.19 ± 0.09	46.7 ± 3.8	19.9	3.2 ± 1.1
ネオマイシン 処理	3.5	3	38.5 ± 6.7	3.2 ± 1.4	0.68 ± 0.04	0.47 ± 0.11	42.8 ± 5.4	14.0	9.2 ± 2.7

- 1) 標識 IPC 処理の経口投与では、尿中放射能の大部分は、24 時間以内に排泄されたが、腹腔内投与ではわずかに遅かった。
- 2) 標識 IPC 処理の放射能の約 85%は、両投与方法ともに投与後 4 日の間に尿中に排泄された。
糞への排泄については、腹腔内投与ではほとんど認められなかったが、経口投与では約 4%が検出された。
- 3) 標識 IPC 処理の尿中排泄総放射能は、4 日間で両投与方法共に約 50%であった。
糞への排泄は、経口投与で約 3%、腹腔内投与では約 1%であった。呼気中からは、処理放射能の約 18%が検出された。
- 4) 標識化 IPC を投与する 24 時間前にネオマイシン処理したラットの放射能排泄を調べた結果、尿あるいは呼気中の総放射能の値は、ネオマイシン未処理のラットに比べネオマイシン処理ラットの方が吸収がわずかに少ないだけであり、両者に大差がないことがわかった。
しかし、糞への排泄はネオマイシン処理ラットの方が、排泄放射能は増加していた。
以上のことから、腸内細菌叢による IPC 加水分解の可能性は否定された。
- 5) 腹腔内投与した後にわずかではあるが糞への排泄がみられたことから、胆汁中の放射能について検討した。

1 群 3 匹のラットに、標識 IPC あるいは 標識 IPC 1 mg を腹腔内投与した結果、6 時間後の胆汁中の放射能は処理量の各々 38.4% ± 5.5% (標

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

識)、39.8% (標識) であった。

(2) 代謝物

標識 IPC 処理後の尿の TLC 分析結果、並びに尿の酸加水分解物の GC 分析結果については、それぞれ表-3、-4 の通りである。

表-3 標識 IPC 処理後の尿の TLC 分析結果

代謝物	Rf	投与放射能に対する回収率 (%)
代謝物 B		
代謝物 C		
代謝物 D		
未同定		

表-4 尿の酸加水分解物の GC 分析結果

代謝物	保持時間 (分)	投与放射能に対する回収率 (%)	
		経口投与	腹腔内投与
代謝物 A			
代謝物 B			
代謝物 K			

N.D.: not detected

- 1) 標識 IPC 投与ラットの尿を酵素分解すると、処理放射能の 91% がエーテル抽出化合物になった。
一方、酸による加水分解では、エーテルで抽出された化合物は、処理放射能の 54% でしかなかった。
- 2) 標識 IPC 投与ラットの尿を酸で加水分解し、そのエーテル抽出物をシリカゲルの TLC にて分析した (表-3)。
クロロホルム/エタノール = 97/3 (v/v) にて展開した結果、最大放射能のピーク (Rf = 0.83) は処理放射能の 81% であり、このピークは標準品の Rf 値よりであった。
他に、3 つのピークが検出され (Rf = 0.03、0.17、0.57) これらの放射能は処理放射能の約 6% であった。3 つのうち 2 つのピークは代謝物と思われるが、3 つ目のピークは不明であった。
- 3) 尿の酸加水分解物のうち処理放射能の 5% 以上を含むものを GC 分析した (表-4)。
その結果、 として、経口投与では $34.1 \pm 4.2\%$ 、腹腔内投与では $30.5 \pm 3.8\%$ が各々検出されたが、一方未変化の CI-IPC [A] あるいは は検出されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

- 4) 胆汁排泄試験において、酸加水分解の試料を放射能分析したところ、6 時間後の胆汁中に $27.5 \pm 3.9\%$ 検出された。

まとめ

IPC の尿中排泄の検討から、ラットにおいては加水分解が重要な代謝反応であることがわかった。経口あるいは腹腔内投与の約 37% が加水分解であった。

腹腔内投与後の糞への排泄から、その割合は低いけれども胆汁排泄が起こっていることが示唆された。

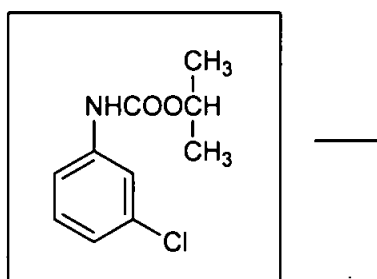
腹腔内投与では、IPC は経口投与よりも毒性が強くなると思われるが、(Joint FAO/WHO Committee, 1965 年) 今回の研究においては、試験期間中の死亡は認められなかった。経口投与後の糞への排泄は、投与量の約 3~4% であった。

標識 IPC を投与したラット尿中の主代謝物は Cl-IPC [A] であった。他には 1 つの未知物質と代謝物の Cl-IPC [A] と Cl-IPC [B] であった。

酸で加水分解した尿中に、未変化 Cl-IPC [A] あるいは Cl-IPC [B] が検出されなかったことから、代謝物 Cl-IPC [A] が徐々に化学的に加水分解されることにより、あるいは水酸化に続く Cl-IPC [A] の生物学的な加水分解により、資料 No. 代謝 3 によって推定された様に Cl-IPC [A] と Cl-IPC [B] が生成したと考えられた。

今回のデータと、17 mg/kg で経口投与された西独の労働者から得られたデータ (資料 No. 代謝 3 の補足資料*) を合わせると、IPC の代謝経路は、図 1 のようになる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。



親化合物: Cl-IPC[A]

図1 IPCのラットにおける想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

3) 非標識 IPC を用いたラット体内における代謝試験 (その 3)

(資料 No.代謝 3)

文献名 :

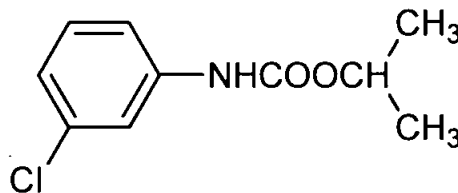
、277-288、1970 年

(試験機関 :

)

供試化合物

非標識 IPC {イソプロピル N-(3-クロロフェニル)カーバメート}



供試動物

アルビノラット雄 (平均体重 : 200~250 g)

実験方法

(1) 投 与

実験動物は尿と便を別々に分けて採取できる物質代謝ケージ中で飼育した。飼料としてアルトロミン R (Altromin GmbH) を使用した。IPC の代謝物質単離のために、一群 4 匹のラットに IPC を 250~300 mg/kg 体重の投与量で、食道ゾンデを用いて単回経口投与した。

排泄生成物の定量分析のため、一群 4 匹のラットに 17、100、250 mg/kg 体重の投与量で単回経口投与した。

採取された尿は遠心分離し、濾過してから次の処理を行うまで凍結保存した。

なお、酵素分解後の単離については 38 匹のラットを用い、250 mg/kg 体重の投与量で単回経口投与処理後サンプリングした。

(2) 分析方法

① 薄層クロマトグラフィー

薄層クロマトグラフィーによる分離は、シリカゲル PF₂₅₄ の薄層 (E. Merk AG、ダルムスタット) で行った。(標本分離用層圧 0.5 mm、分析用層圧 0.2 mm、プレートの活性化 120°C で 30 分、塩化カルシウムを用いた乾燥器内に保存、展開は 22 × 22 × 10 cm の大きさのガラス室で実施、室の壁は濾紙で覆った)。

展開液として次の溶媒系を使用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

- | | |
|-------------------------|--------------|
| 1. クロロホルム／エタノール | 97 : 3 |
| 2. クロロホルム／エタノール | 90 : 10 |
| 3. クロロホルム／エタノール／氷醋酸 | 90 : 5 : 5 |
| 4. シクロヘキサン／醋酸エチルエステル | 1 : 1 |
| 5. シクロヘキサン／醋酸エチルエステル | 25 : 75 |
| 6. シクロヘキサン／醋酸エチルエステル | 90 : 10 |
| 7. 醋酸エチルエステル／イソプロパノール／水 | 65 : 24 : 12 |
| 8. クロロホルム／エタノール／醋酸 | 75 : 20 : 5 |

② の測定

この測定は Ridem & Hopkins (1961) の方法に準拠した。採取した尿の一定部分を 10 ml の 10% 水酸化ナトリウム溶液を加えた熱湯浴中で加水分解した。加水分解生成物から水蒸気蒸留で を分離し、非色法によって測定した (ジアゾ化、N-ナフチル-1-エチレンジアミンでカップリングしてその際の呈色を 550 nm で測定)。この方法で、ほとんどが結合型で存在する の全含量が得られた。遊離した の割合は、希釈した尿を事前に加水分解せずに直接、水蒸気蒸留して測定した。

(3) 標準物質の合成

標準物質の合成方法を以下の表に示す。

標準物質	合成方法	備考
2-アミノ-4-クロロフェノール		融点 139~141°C
6-アミノ-2-クロロフェノール		融点 80~81°C
4-アミノ-2-クロロフェノール		融点 150~152°C
2-アセチルアミノ-4-クロロフェノール		融点 184~186°C
4-アセチルアミノ-2-クロロフェノール		融点 144~146°C
1-カルボキシエチル-N-(3-クロロフェニル)カーバメート		融点 122~124°C
6-アセチルアミノ-2-クロロフェノール		融点 126~127°C 分析 : 51.77% C、4.34% H、7.55% N が計算値、51.66% C、4.29% H、7.59% N が測定値
イソプロピル-N-(3-クロロ-4-ヒドロキシフェニル)カーバメート		融点 122~124°C (エタノール/水、ベンゼン/石油エーテル) 分析 : 52.30% C、5.27% H、6.10% N が計算値、52.25% C、5.19% H、6.09% N が測定値

結 果

(1) 代謝物質の単離・同定

① 酸性加水分解後の単離

ラットの尿の酸性加水分解と、加水分解終了後に生成された抽出物の薄層クロマトグラフィーによる分離は、Böhme & Grunou の報告（1969 年）において記載された方法で行った。この結果、が単離された。

② 酵素分解後の単離

IPC を 250 mg/kg 体重の投与量で投与し、24 時間中に採取した 38 匹のラットの尿を短時間沸騰するまで加熱し、冷却してから、 β -グルクロニダーゼ/アリルスルファターゼ (C. F. Boehringer & Sohne GmbH、マンハイム) で酵素分解を行った（培養期間 pH 4.5 で 24 時間、さらに pH 5.5 で 24 時間、培養温度 37°C）。その後、尿を数回、酢酸エチルエステルで抽出し、抽出物を真空中で濃縮した後、展開液 1 中において薄層クロマトグラフィーで分離し（展開距離 15 cm、3 度展開）、帯域 1 (0.5~1.5 cm)、2 (1.5~4 cm)、3 (4~10 cm)、4 (10~12.5 cm) を削り取り、メタノールで抽出した。
各帯域から同定された物質は以下の通りである。

帯域 1

帯域 2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

帯域 2

帯域 3

帯域 4

(2) 代謝物の定量分析

に由来する代謝産物を 24 時間測定した腎臓からの総排泄量は、それぞれの投与量において、経口投与した IPC の 60-80 %に達した (下表参照)。

表 IPC 経口投与後 24 時間以内の各代謝物のラット尿中の排泄

投薬量 (mg/kg)	排出量 (投与した薬量に対する%)		
17			
100			
250			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

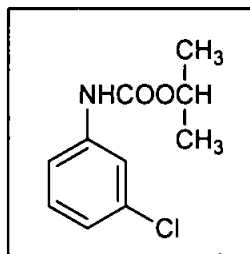
まとめ

ラットにおける IPC の代謝反応としては、芳香族 *p*-位における
加水分解、
IPC の
れる。
の酸化が挙げられる。
により、主代謝産物である
へと代謝さ

の加水分解は、直接 IPC においても、あるいは
生じた代謝物においてもみられる。IPC の
中間的に形成され、続いて
へと代謝される。また、IPC の
生成、これに引き続く
によって、
によって
が
や
の
へと代謝される。

以上のことから、ラットにおける IPC の代謝経路は図 1 のようになる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。



親化合物
Cl-IPC[A]

図1 IPCのラットにおける想定代謝経路

* 単離されなかった推定代謝化合物を示す。