

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) 繁殖毒性試験

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No.16)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: DBN ()

試験動物: Sprague-Dawley 系ラット、(Crj:CD(SD), SPF)、6 週齢、

1 群雌雄各 25 匹、投与開始時体重範囲; 雄 190~215 g、雌 135~160 g

投与期間: P 世代; 生後 6~15 週齢までの交配前 10 週間並びに妊娠分娩後 F₁ 児離乳時まで F₁ 世代; 離乳直後から交配までの 10 週間並びに妊娠分娩後 F₂ 児離乳時まで (1999 年 7 月 9 日~2000 年 8 月 8 日)

投与方法: 検体を粉末飼料に 40、200 及び 1000 ppm の濃度で混合し、検体混合飼料を調製し、動物に自由摂取させた。飼料は 2 週間に 1 回以上調製し、冷蔵庫に保管した。

投与量設定根拠: 本試験に先立って実施した予備試験の結果、500 ppm 及び 2500 ppm 投与群で肝臓重量増加、2500 ppm 投与群で体重増加抑制、摂餌量減少、腎臓重量増加がみられた。2500 ppm 投与群では哺育児の体重増加抑制傾向もみられた。従って本試験では最高用量を 1000 ppm に設定し、以下公比 5 で 200 及び 40 ppm とした。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡率; 全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認; 雌雄を 1 対 1 で最大 3 週間同居させ、膣栓又はスメア中の精子により交尾を確認した。交配が成立しなかった場合には、雌を交配能力の確認されている雄と最大 1 週間同居させた。

繁殖性に関する指標; 交配、妊娠及び分娩~哺育期間中の観察に基づき、次の指標を算出した。

交尾率 = (交尾成立動物数 / 同居動物数) × 100

受胎率 = (妊娠動物数 / 交尾成立動物数) × 100

出産率 = (生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

出生率 = (出產生児数 / 着床痕数) × 100

4 日生存率 = (生後 4 日生児数 / 出產生児数) × 100

離乳率 = (離乳児数 / 調整哺育児数) × 100

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。

体重；雄動物については試験期間中毎週 1 回体重を測定した。雌動物は、育成期間中は毎週 1 回、妊娠期間中は 4 回（妊娠 0 日、7 日、14 日及び 21 日）、哺育期間中は 5 回（分娩後 0 日、7 日、14 日、21 日及び 22 日）体重を測定した。哺育期間中の出生児は分娩後 0、4、7、14 及び 21 日に個別に測定した。

摂餌量；雄動物については試験期間中毎週 1 回摂餌量を測定した。雌動物については、分娩後 22 日を除いて、体重測定と同日に摂餌量を測定し、1 週間摂餌量を算出した。これに基づき平均 1 日摂餌量を算出した。また、食餌効率及び被検物質摂取量も算出した。

精子検査；P 世代及び F₁ 世代雄については精巣上体尾部から精子を採取し、形態観察を行うとともに、運動性の検査及び精子数検査を行った。

病理学的検査；P 世代及び F₁ 世代親動物は剖検時に詳細な肉眼的病理観察を行うとともに、雄及び自然分娩した雌動物の以下の臓器については重量を測定し、固定保存した。

脳、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子宮、精囊、前立腺、
精巣及び精巣上体

精巣及び精巣上体を除く上記の臓器並びに膣、下垂体及び異常部位を 10% 中性緩衝ホルマリン液中に固定した。精巣及び精巣上体（精子検査で不使用の側）についてはホルマリン・酢酸混合液中に固定した後、10% 中性緩衝ホルマリンで固定した。また、雌の着床痕数を記録した。

離乳児については、同腹児から雌雄各 1 匹を選び、脳、胸腺、脾臓、肝臓及び腎臓重量を測定し、異常部位とともに 10% 中性緩衝ホルマリン中に保存した。

産児が全例死亡した親動物、対照群及び 1000 ppm 投与群 P 及び F₁ 全例、妊娠 25 日に剖検した全例、離乳児のうち、剖検で異常のみられた部位について、ヘマトキシリン・エオシン（HE）染色標本作製後、病理組織学的検査を行った。また、糖質沈着の認められた一部肝臓については PAS 染色を行った。

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

表1 試験概要

世代	期 間	作 業 手 順	試 験 項 目
P	育成 (約 10 週)		体重、摂餌量測定
	交 配 (3 週)	雌雄 1 : 1 で交配、腔栓又はスメア中の精子で交尾を確認 (妊娠 0 日)	交配終了後、雄を屠殺剖検並びに病理学的検査、精子検査
	妊 娠 (3 週)		体重、摂餌量測定
	分 娩		分娩状況の観察 産児数、外姿異常の有無、性別
	哺 育 (3 週)		体重及び摂餌量測定
離 乳	継代用動物各母体雌雄 1 匹を選抜		母動物を屠殺剖検し、着床痕数を観察。高用量群及び対照群について病理組織学的検査を実施
F ₁	育成 (約 10 週)	P 世代に準ずる	P 世代に準ずる
	交 配 (3 週)		
	妊 娠 (3 週)		
	分 娩		
F ₂	哺 育 (3 週)	F ₁ 世代に準ずる	F ₁ 世代に準ずる
	離 乳		

試験結果：概要を次頁の表 2 に示した。

P 世代；

死亡及び一般状態；

雄では投与期間を通じて死亡は認められなかった。雌では哺育期間中に全児死亡動物が対照群、200 及び 1000 ppm 投与群で各 1 匹認められた。一般状態では投与量に関係なく外傷、痂皮、皮下腫瘍、脱毛等が少数に認められた。

体 重；雄では投与期間を通じて検体投与と関連する体重の変化は認められなかった。

雌では 1000 ppm 投与群で交配前投与期間中及び妊娠期間中に体重増加量の有意な低値又は低値傾向がみられた。また、哺育期間の 0 及び 7 日にも有意な低値を示したが、哺育 0～21 日の体重増加量は有意な高値を示した。

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。

摂餌量；雄では 1000 ppm 投与群で投与 7 日に摂餌量減少が認められたが、その後は対照群と同様であった。

雌では交配前投与期間中に 200 及び 1000 ppm 投与群で摂餌量の減少が認められた。妊娠期間中にもこの両群で摂餌量の減少がみられたが、両群の哺育期間中の摂餌量は対照群と差がなかった。

検体摂取量；

投与期間中の雌雄における検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)	平均検体摂取量 (mg/kg/日)			
	雄	雌		
	投与 7~70 日	育成期間	妊娠期間	哺育期間
40	2.7	3.0	2.7	5.8
200	13.2	14.8	13.2	31.3
1000	64.7	71.5	63.0	146.7

肉眼的病理検査；

雄では 1000 ppm 投与群 4 匹において肝臓肥大が観察された。

産児が全例死亡した雌では、肉眼的に異常は認められなかった。

自然分娩した雌でも 1000 ppm 投与群で 4 匹に肝臓肥大が観察された。

自然分娩がなく、妊娠 25 日に剖検した雌 3 匹ではいずれも着床痕が認められず、不妊と判断されたが、1000 ppm 投与群 1 匹で頭蓋骨骨折が認められた。

病理組織学的検査；

雄では小葉中心性肝細胞肥大が 40、200 及び 1000 ppm 投与群でそれぞれ 1、7 及び 19 匹にみられた。いずれも軽度な変化であり、退行性の変化もみられないことから、検体投与に対する適用性の変化と考えられ、200 ppm 投与群以上に検体投与の影響が示唆された。また、空胞変性が 200 及び 1000 ppm 投与群の 2 及び 7 匹にみられ、検体投与の影響が示唆された。腎尿細管好塩基化が対照群、40、200 及び 1000 ppm 投与群でそれぞれ 6、7、7 及び 17 匹にみられ、対照群と比較して 1000 ppm 投与群に検体投与の影響が認められたと判断した。肝臓の糖質沈着が 1000 ppm 投与群の 6 匹にみられたが、自然分娩した雌では対照群にも同様の変化が観察されたことから検体投与の影響とは考えなかった。

全児死亡した雌では脾臓の色素沈着、肝細胞肥大、腎臓の鈣質沈着及び子宮腺腔拡張が 1000 ppm 投与群に、甲状腺嚢後体遺残が対照群の 1 匹にみられたが、いずれも散发性又は単発性の発生もしくは対照群にも同様に発生が認められた所見であった。自然分娩した雌でも、肝細胞に肥大が 1000 ppm 投与群 17 匹にみられた。1000 ppm 投与群の不妊雌でも肝細胞肥大が 1 匹に観察された。

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。

臓器重量；雄では対照群と比べて 1000 ppm 投与群で肝臓及び腎臓並びに副腎の有意な重量増加がみられた。また、40 ppm 投与群で前立腺重量が有意に増加した。

雌では 200 ppm 以上の投与群で肝臓重量の有意な増加がみられ、1000 ppm では腎臓重量の増加もみられた。更に、1000 ppm 投与群では胸腺、副腎及び心臓重量の減少、200 ppm 投与群では脾臓重量の減少がみられた。

交尾及び受胎成績；

交尾は 2 週間の同居期間中に全例で成立し、交尾率は 100%であった。対照群、40 及び 1000 ppm 投与群で各 1 匹に不妊が認められ、各群の受胎率は 96.0~100%であった。性周期はいずれの投与群も 4.1 ~4.2 日であり、検体投与の影響はみられなかった。

精子検査；精子の活力、精子数、精子形態異常発現率には、いずれも検体投与の影響がみられなかった。

分娩時観察；妊娠期間、着床痕数、出産児数、出生児数、死亡児数、性比、出産率、分娩率及び出生率には検体投与の影響がみられなかった。

F₁世代；

死亡及び一般状態；

雄では投与期間を通じて死亡は認められなかった。雌では全産児死亡が対照群、40、200 及び 1000 ppm 投与群でそれぞれ 3、1、2 及び 2 匹認められた。一般状態では投与量に関係なく脱毛、外傷、痂皮、眼分泌物、歯異常、不正咬合及び尾の変形等が少数に認められた。

体重；雄では投与期間を通じて検体投与と関連する体重の変化は認められなかった。雌では 1000 ppm 投与群で交配前投与期間中及び妊娠期間中に体重増加量の有意な低値を示した。また、哺育期間の 0、7 及び 14 日にも体重が有意な低値を示したが、哺育 0~21 日の体重増加量は有意な高値を示した。

摂餌量；雄では投与期間を通じて検体投与による摂餌量の変化はみられなかった。

雌では交配前投与期間中に 1000 ppm 投与群で摂餌量の減少が認められた。妊娠期間中の摂餌量は各群とも対照群と差がなかったが、哺育期間中の 200 ppm 投与群の哺育 21 日の平均 1 日摂餌量が有意な高値を示した。

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。

検体摂取量；

投与期間中の雌雄における検体摂取量は次の通りであった。

投与量 (ppm)	平均検体摂取量 (mg/kg/日)			
	雄	雌		
	投与 7~70 日	育成期間	妊娠期間	哺育期間
40	3.9	4.2	2.9	5.6
200	20.1	21.0	14.1	29.6
1000	98.6	106.1	75.8	142.9

肉眼的病理検査；

雄では、肝臓の赤色斑が 200 及び 1000 ppm 投与群に各 1 及び 3 匹、腎臓の癒痕が 40、200 及び 1000 ppm 投与群に各 3、1 及び 3 匹観察された。

全産児が死亡した雌では 1000 ppm 投与群で卵巣嚢胞が 2 匹に、肝臓の黒色斑及び赤色斑、腎臓の腎盂拡張がそれぞれ 1 匹にみられた。

自然分娩した雌では 1000 ppm 投与群 7 匹に肝臓の肥大が認められた。

不妊動物では対照群及び 1000 ppm 投与群各 1 匹に子宮内腔拡張がみられた。

病理組織学的検査；

雄では小葉中心性肝細胞肥大が 1000 ppm 投与群 20 匹に、腎臓の尿細管好塩基化が対照群、40、200 及び 1000 ppm 投与群それぞれ 2、7、11 及び 15 匹に、腎臓の癒痕性線維化が 40、200 及び 1000 ppm 投与群それぞれ 3、3 及び 1 匹に認められた。これらの変化の内、対照群と比較して肝細胞肥大及び尿細管好塩基化の 200 ppm 投与群以上に検体投与の影響が示唆された。

全児死亡した雌では肝細胞肥大が 1000 ppm 投与群 2 匹に観察された。その他、胸腺の出血が 40 ppm 投与群 1 匹、肺のうっ血及び泡沫細胞集簇が対照群にそれぞれ 1 及び 2 匹、小腸の憩室が対照群 1 匹、肝臓のうっ血及び壊死が 1000 ppm 投与群にそれぞれ各 1 匹、腎臓の尿細管好塩基化及び腎盂拡張が 1000 ppm 投与群にそれぞれ各 1 匹、鉍質沈着が対照群、200 及び 1000 ppm 投与群にそれぞれ 3、1 及び 1 匹、卵巣嚢胞が 1000 ppm 投与群 2 匹、子宮の腺腔拡張が対照群、40 及び 1000 ppm 投与群にそれぞれ各 1 匹及び甲状腺の鰓後体遺残が 200 及び 1000 ppm 投与群にそれぞれ各 1 匹に観察された。

自然分娩した雌では肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が 200 及び 1000 ppm 投与群のそれぞれ 1 及び 19 匹に、壊死が 40、200 及び 1000 ppm 投与群でそれぞれ 1、2 及び 2 匹に、腎臓の鉍質沈着が対照群、40、200 及び 1000 ppm 投与群にそれぞれ 2、2、5 及び 10 匹に観察された。1000 ppm 投与群の腎臓の鉍物沈着は全児死亡の認められた対照群にも複数例観察されたことから、検体投与の影響とは考えなかった。また、P 世代雄にみられた肝細胞の空胞変性が 1000 ppm 投与群 2 匹に観察された。

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。

不妊雌でも、肝細胞肥大が 1000 ppm 投与群 2 匹に観察された。その他、腎臓の鉍質沈着が 40、200 及び 1000 ppm 投与群にそれぞれ各 1 匹、子宮の内腔拡張が 1000 ppm 投与群 1 匹、腺腔拡張が対照群、40、200 及び 1000 ppm 投与群にそれぞれ 1、1、3 及び 2 匹に観察された。

臓器重量；

雄では対照群と比べて 200 ppm 以上の投与群での肝臓及び 1000 ppm 投与群での腎臓の有意な重量増加がみられた。

雌では 200 ppm 以上の投与群で肝臓重量の有意な増加がみられ、1000 ppm 群では腎臓重量の増加もみられた。1000 ppm 投与群では卵巣、胸腺、脳、肺及び脾臓の重量減少がみられた。

交尾及び受胎成績；

交尾は 2 週間の同居期間中に、対照群及び 200 ppm 投与群各 1 組を除いて全例で成立し、交尾率は 95.7~100%であった。対照群、40、200 及び 1000 ppm 投与群で不妊がそれぞれ 1、1、3 及び 2 匹にみられた。受胎率は 87.0~95.8%であった。1 回目の交配で交尾が成立しなかった動物はいずれも 2 回目の交配で交尾が成立した。性周期はいずれの投与群も 4.1~4.2 日であり、検体投与の影響はみられなかった。

精子検査；精子の活力、運動精子率、精子数、精子形態異常発現率には、いずれも検体投与の影響がみられなかった。

出生児 (F₁ 及び F₂)；

F₁；

分娩時観察；妊娠期間、着床痕数、出産児数、出生児数、死亡児数、性比、出産率、分娩率及び出生率には検体投与の影響がみられなかった。出生児の外表検査で 200 ppm 投与群において矮小児 1 例観察された。

産児の生存率及び一般状態；

生後 4 日及び離乳時の産児生存率には検体投与の影響がみられなかった。また、検体投与に起因する症状の変化もみられなかった。

哺育児の体重；

哺育期間中の哺育児の体重には検体投与の影響がみられなかった。

生後発育分化；

包皮開裂及び臆開口完成率には検体投与の影響がみられなかった。

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

産児の肉眼的病理検査；

離乳時剖検では腎臓の嚢胞が対照群、40、200及び1000 ppm 投与群で雄ではそれぞれ5、8、7、14匹、雌ではそれぞれ5、9、11及び14匹に認められた。その他に検体投与と関連する所見はみられなかった。

離乳児の病理組織学的検査；

異常部位の組織学検査で、胸腺の委縮、肝臓の肝横隔膜結節及びヘルニア形成、腎臓の管腔拡張及び腎盂拡張がみられた。

離乳児の臓器重量；

1000 ppm 投与群雌雄で肝臓の重量増加がみられた。

F₂；

分娩時観察；40 ppm 投与群の平均出生児数、200 ppm 投与群の平均着床痕数、平均出産児数及び平均出生児数が対照群に比べ有意な高値を示した。その他、妊娠期間、死亡児数、性比、出産率、分娩率及び出生率には検体投与の影響がみられなかった。また出生児の外表検査で異常は1例もみられなかった。

産児の生存率及び一般状態；

1000 ppm 投与群の出生児の生後4日生存率が対照群に比べ雌では有意な低値を、雄では低値傾向を認めた。離乳率には有意な差は認められなかった。また、哺育期間中の一般状態に検体投与に起因する症状の変化はみられなかった。

哺育児の体重；

哺育期間中の哺育児の体重には検体投与の影響はみられなかった。

産児の肉眼的病理検査；

対照群に対し、検体投与群で発生の増減した所見は観察されなかった。

離乳児の病理組織学的検査；

異常部位の組織学的検査で、脾臓の線維化、肺の出血、好酸球浸潤及び肺泡／細気管支上皮過形成、肝臓の癒痕性線維化及び肝横隔膜結節、下顎腺の出血、腎臓の管腔拡張及び腎盂拡張、尾の浮腫、変形、潰瘍及び肉芽形成が観察された。

離乳児の臓器重量；

1000 ppm 投与群雌雄で肝臓の重量増加がみられた。また、1000 ppm 投与群雄の脾臓重量が対照群より有意に低かった。その他、40 ppm 投与群雌雄で肝臓の相対重量

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。

が有意な低値を示した。

以上の結果から、DBNのラットに2世代にわたる飼料混合経口投与により、1000 ppm 投与群において各世代雌雄に肝臓重量の増加及び肝細胞肥大が観察された。200 ppm 投与群でも程度は低いと同様な変化が認められることから、DBNの親動物に対する無毒性量は雌雄とも40 ppm (P世代雄 2.7 mg/kg/日、同雌 3.0 mg/kg/日、F₁世代雄 3.9 mg/kg/日、同雌 4.2 mg/kg/日)であると判断された。また、児動物に対する無毒性量は200 ppm (F₁世代雄 13.2 mg/kg/日、同雌 14.8 mg/kg/日、F₂世代雄 20.1 mg/kg/日、同雌 21.0 mg/kg/日)であると判断された。また、親世代の繁殖能に関しては、最高用量群である1000 ppm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。

表2. 試験結果の概要

世 代			親:P、児:F ₁				親:F ₁ 、児:F ₂						
投与量 (ppm)			0	40	200	1000	0	40	200	1000			
動物数	雄		25	25	25	25	23	22	24	23			
	雌		25	25	25	25	23	24	24	23			
死亡動物数	雄		0	0	0	0	0	0	0	0			
	雌		0	0	0	0	0	0	0	0			
親動物	体重推移 (g)	雄	育成期間	0週	203	203	203	202	49	51	49	48	
				5週	379	386	384	371	286	294	291	282	
				10週	456	462	460	441	430	438	435	413	
				17週	519	528	527	506	516	531	524	494	
		雌	育成期間	0週	148	148	148	148	46	48	47	45	
				5週	227	223	225	218	188	190	194	↓175	
				10週	257	253	246	↓242	246	248	255	↓227	
				妊娠期間	0日	263	261	253	250	254	257	264	↑235
			7日	289	289	275	↓272	279	284	291	↑259		
			14日	312	314	301	297	304	315	↑322	290		
			21日	391	393	383	369	378	398	↑407	364		
			哺育期間	0日	296	294	281	↓274	294	297	303	↓270	
	7日	303	299	290	↓287	299	304	310	↓274				
	14日	317	315	312	306	315	321	324	↑296				
	21日	301	298	292	296	298	303	301	291				
	22日	301	295	293	294	290	294	299	282				
	摂餌量推移 (g/日)	雄	育成期間	1週	21	21	21	↓19	11	11	11	11	
				5週	23	24	23	22	25	26	25	24	
				10週	23	24	23	23	26	26	27	25	
			雌	育成期間	1週	15	15	15	↓13	11	11	11	↓10
					5週	16	16	↑15	↓15	18	18	18	↑17
					10週	15	16	15	15	18	18	18	17
		妊娠期間	7日	20	20	↓18	↓18	20	21	21	20		
			14日	21	21	20	↓19	22	23	23	22		
21日			21	21	21	↓18	23	23	23	22			
哺育期間		7日	30	29	31	29	30	30	32	29			
		14日	46	46	48	44	45	44	48	42			
		21日	56	57	60	57	52	54	↑59	50			
検体摂取量	雄	育成期間	—	2.7	13.2	64.7	—	3.9	20.1	98.6			
		育成期間	—	3.0	14.8	71.5	—	4.2	21.0	106.1			
	雌	妊娠期間	—	2.7	13.2	63.0	—	2.9	14.1	75.8			
		哺育期間	—	5.8	31.3	146.7	—	5.6	29.6	142.9			

Dunnettの多重比較検定、Steelの検定： † P≤0.05、‡ P≤0.01

—：適用外、検体摂取量 (単位)：mg/kg/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。

(続き)

世 代		親 : P、児 : F ₁				親 : F ₁ 、児 : F ₂					
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000		
親 動物	雄	絶対重量g	肝 臓	17.61	17.69	18.68	↑22.42	17.20	18.37	↑19.21	↑22.77
		腎 臓	3.16	3.22	3.16	↑3.42	3.23	3.46	3.40	↑3.54	
		副 腎*	48	52	51	53	56	59	59	53	
		前立腺*	989	↑1152	1048	1025	870	970	951	919	
		対体重比g%	肝 臓	3.349	3.297	3.490	↑4.365	3.306	3.408	↑3.603	↑4.540
		腎 臓	0.603	0.603	0.594	↑0.668	0.624	0.643	0.638	↑0.707	
	雌	副 腎#	9.251	9.825	9.603	↑10.323	10.918	10.928	11.078	10.664	
		前立腺#	189.161	216.113	197.844	200.320	169.956	181.398	179.503	183.896	
		絶対重量g	脳	2.04	2.05	2.03	2.00	2.00	2.05	2.01	↑1.94
			胸 腺	141	135	123	↓108	176	163	160	↓121
			心 臓	1.06	1.04	1.01	↓0.99	1.05	1.08	1.08	0.99
			肺	1.12	1.10	1.12	1.10	1.10	1.15	1.10	↑1.03
肝 臓	13.78		13.23	14.69	↑18.10	11.88	12.43	↑13.89	↑17.01		
脾 臓	0.53		0.53	↓0.48	0.48	0.54	0.54	0.52	↓0.48		
腎 臓	2.24		2.23	2.14	2.34	2.26	2.38	2.37	2.39		
副 腎*	64		64	63	↓54	67	72	65	61		
卵 巢*	87	86	85	81	91	93	91	↓79			
対体重比	脳	0.680	0.695	0.692	0.683	0.693	0.700	0.675	0.697		
	胸 腺	46.671	45.648	41.952	↓36.900	60.992	55.342	53.160	↓43.067		
	心 臓	0.352	0.354	0.345	0.338	0.360	0.370	0.361	0.351		
	肺	0.374	0.374	0.381	0.374	0.379	0.394	0.369	0.369		
	肝 臓	4.581	4.482	↑5.012	↑6.160	4.081	4.226	↑4.633	↑6.035		
	脾 臓	0.177	0.179	0.164	0.165	0.185	0.183	0.172	0.169		
	腎 臓	0.745	0.755	0.730	↑0.798	0.781	0.811	0.793	↑0.851		
	副 腎#	21.358	21.657	21.362	↓18.266	23.018	24.514	21.811	21.530		
卵 巢#	28.975	29.034	29.137	27.580	31.386	31.575	30.364	↑28.331			
精子検査	運動精子率 (%)	79.1	↑72.4	75.8	74.0	72.3	67.7	71.0	70.7		
	精巢上体尾部精子 (×10 ⁶ /g)	1550.5	1711.5	1795.6	1732.9	1705.1	1677.7	1572.1	1807.9		
	形態異常精子 発現率 (%)	0.6	0.8	0.7	1.0	1.2	1.2	1.0	1.4		
繁殖成績	交配番数	25	25	25	25	23	24	24	23		
	交尾率 (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		
	受胎率 (%)	96.0	96.0	100.0	96.0	95.7	95.8	87.5	91.8		
	性周期 (日)	4.1	4.1	4.2	4.1	4.2	4.1	4.2	4.2		
	分娩雌数	24	24	25	24	22	23	21	21		
	妊娠期間 (日)	22.1	22.1	22.0	22.2	22.2	22.2	22.1	22.2		
	着床数	14.4	13.9	15.1	14.4	13.3	14.5	↑15.4	13.5		
	産児数	13.6	13.1	13.9	13.0	11.7	13.3	↑14.1	12.6		
	生存産児数	合計	13.5	13.1	13.9	13.0	11.7	13.3	↑14.1	12.5	
		雄	6.8	6.5	6.9	7.1	6.4	6.0	7.2	6.2	
		雌	6.8	6.6	7.0	5.9	5.3	↑7.2	6.9	6.3	
		性比	0.50	0.49	0.50	0.55	0.54	0.46	0.51	0.50	
死亡産児数	1	1				1		1			
出産率 (%)	94.8	94.4	91.9	88.9	89.4	92.3	91.5	93.5			

Dunnnettの多重比較検定、Steelの検定、Mann/WhitneyU検定、χ²検定：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01
* : mg, # : mg%、性比 (雄/合計)

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。

(続き)

世 代		親 : P、児 : F ₁				親 : F ₁ 、児 : F ₂					
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000		
親動物	繁殖成績	出生率	94.5	94.1	91.9	88.9	89.4	92.0	91.5	92.9	
		総生存産児数	306	311	333	311	257	305	296	263	
		外表異常児数			1		データなし				
		4日生存率(%)	雄	87.1	96.3	89.8	92.4	86.0	82.2	87.8	75.3
			雌	89.2	97.5	90.6	95.9	90.6	86.1	87.4	73.1
		離乳率(%)	雄	94.8	93.1	95.0	98.9	82.4	92.0	90.5	90.0
雌	91.7		99.0	96.0	97.8	83.3	90.9	89.5	86.8		

Mann/Whitney のU検定 : ↓ P ≤ 0.05

世 代		親 : P、児 : F ₁				親 : F ₁ 、児 : F ₂								
投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000					
親動物	産児発育	体重g	雄	0日	6.2	6.5	6.4	6.3	6.4	6.2	6.3	6.2		
				4日	8.9	9.1	9.0	9.0	8.3	8.5	8.6	8.3		
				7日	13.4	14.1	13.8	13.6	12.3	12.5	12.7	11.8		
				14日	27.5	28.6	28.2	26.3	24.9	25.1	26.9	22.6		
				21日	45.7	47.3	45.5	43.2	40.9	42.2	44.1	37.3		
			雌	0日	5.9	6.1	6.0	5.9	6.0	5.9	5.9	5.8		
				4日	8.4	8.8	8.6	8.5	8.0	8.2	8.0	7.9		
				7日	13.1	13.4	13.3	13.0	11.7	12.0	12.1	11.1		
				14日	26.1	26.9	27.1	25.2	23.8	24.2	25.7	21.3		
				21日	43.1	43.9	43.9	41.4	39.1	40.0	41.9	35.3		
		包皮開裂率(%)、38日		100	100	91.7	91.3	データなし						
		腔開口率(%)、38日		87.0	100	91.7	95.7	データなし						
		産動物	離乳児臓器重量	雄	肝臓	絶対重量g	2.16	2.13	2.12	2.25	1.92	1.79	1.96	1.89
						対体重比g%	4.230	4.116	4.247	↑4.746	4.195	↓3.854	4.053	↑4.597
脾臓	絶対重量g			0.24	0.24	0.24	0.22	0.21	0.21	0.24	↓0.17			
	対体重比g%			0.474	0.466	0.486	0.457	0.464	0.459	0.494	0.420			
雌	肝臓			絶対重量g	2.05	2.07	2.07	2.20	1.80	1.69	1.93	1.89		
				対体重比g%	4.345	4.247	4.344	↑4.818	4.261	↑3.931	4.254	↑4.770		

Dunnnettの多重比較検定、Steelの検定、 χ^2 検定 : ↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

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

(剖検所見) (親動物)

検査	性別	世代	親 : P				親 : F ₁				
		投与量 (ppm)	0	40	200	1000	0	40	200	1000	
剖検	雄	検査動物数	25	25	25	25	23	22	24	23	
		肺	結節	0	1	0	0				
			赤色斑	1	0	0	0	0	0	1	0
		小腸	憩室					0	0	0	1
			腫大	0	0	0	4				
		肝臓	結節、奇形					0	0	0	1
			赤色斑					0	0	1	3
		腹腔	腫瘍	1	0	0	0	0	0	1	0
			腎臓	黒色斑	0	0	0	1	0	1	1
		嚢胞		0	0	1	0	0	0	0	1
		腎盂拡張						0	0	2	1
		瘢痕		1	0	0	0	0	3	1	3
		黄色斑		0	0	0	1				
		腎石						0	0	1	0
		精巣	肥大					0	1	0	0
	小型						0	0	0	1	
	精巣上体	結節	1	0	0	0	1	0	0	0	
	精囊	萎縮					0	1	0	0	
	皮膚	痂皮	0	0	0	1					
	尾部	変形					0	0	1	0	
雌 (自然分娩)	検査動物数	23	24	24	23	19	22	19	19		
	脾臓	変形	1	0	0	0					
		胸腺	0	1	0	1					
	肺	黒色斑	0	0	1	0					
		褐色斑	0	1	0	0	1	0	0	0	
		赤色斑					0	0	0	1	
	胃	白色斑					0	0	0	1	
	盲腸	白色斑					0	0	1	0	
	肝臓	腫大	0	0	0	4	0	0	0	▲7	
		結節、奇形	0	0	1	0	0	0	1	2	
		褐色斑					0	0	0	1	
		横隔膜ヘルニア					0	0	0	1	
	腹腔	赤色斑	0	1	0	0	0	1	2	4	
		腫瘍	0	0	1	0					
	腎臓	嚢胞	0	0	1	2					
腎盂拡張						0	0	0	2		
	瘢痕					0	1	0	0		
卵巣	嚢胞	0	1	1	0	1	0	0	0		
子宮	内腔拡張	2	0	1	0						
脳	変形					0	0	0	1		
頭蓋骨	赤色斑					1	0	0	1		
肋骨	結節					0	1	1	0		
皮膚	痂皮	0	0	1	0						

空欄は検査せず

Fisher の正確確率検定 : ▲ P ≤ 0.01

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

(剖検所見) (児動物)

検査	性別	世代		児 : F ₁				児 : F ₂				
		投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000	
剖 検	雄	検査動物数		63	66	72	66	67	73	78	73	
		脾臓	変形					1	0	0	0	
		胸腺	萎縮	0	0	0	1					
		肺	赤色斑					0	1	0	0	
			肝臓	分葉異常	1	0	0	0				
				ヘルニア	0	0	0	1				
				結節、奇形	0	0	1	0	0	2	0	1
				萎縮					0	1	0	0
			白色斑					0	0	0	1	
			黄色斑					0	1	0	0	
		顎下腺	赤色斑					0	1	0	1	
			赤色					0	0	2	0	
		腎臓	嚢胞	5	8	7	†14	5	9	7	9	
			腎盂拡張	1	2	2	0	0	0	1	1	
	尾部	変形					0	0	0	2		
	雌	検査動物数		64	74	71	69	65	85	73	59	
		肺	褐色斑					0	0	1	0	
			赤色斑					0	1	0	0	
		肝臓	嚢胞	1	0	0	0					
			結節、奇形	0	0	1	0	0	3	0	1	
			結節					1	0	0	0	
			黒色斑					0	0	1	0	
白色斑							0	0	1	0		
赤色斑			1	0	0	0						
腎臓		嚢胞	5	9	11	†14	6	8	1	9		
		腎盂拡張	1	1	2	2	1	0	0	1		
尾部		変形	0	0	0	1	0	0	0	1		

空欄は検査せず

Fisherの正確確率検定 : † 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保土谷化学工業株式会社にある。

(病理組織所見) (親動物)

検査	性別	世代				親: P				親: F ₁			
		投与量 (ppm)		0	40	200	1000	0	40	200	1000		
病理組織所見	雄	検査動物数		25	25	25	25	23	22	24	23		
		肝臓	血管拡張					0	0	1	1		
			リンパ管拡張					1	0	0	0		
			空胞変性	0	0	2	↑7	0	0	0	2		
			糖原沈着	0	0	0	↑6						
			脂肪変化	1	2	5	1						
			肝細胞肥大	0	1	↑7	↑19	0	0	0	↑20		
			壊死	0	1	0	0						
			小肉芽腫	6	↑0	↑0	2	4	2	↑0	1		
			髓外造血	0	1	1	1	0	0	0	1		
			肝横隔膜面結節					0	0	0	1		
		腎臓	出血	0	1	2	1	0	0	1	0		
			尿細管、好塩基性	6	7	7	↑17	2	7	↑11	↑15		
			結石					0	0	1	0		
			硝子円柱	2	2	0	5	1	5	6	5		
			尿細管拡張	0	0	1	0	1	1	0	2		
			鉍質沈着					1	2	0	0		
			好酸性小体	2	2	2	4	0	0	1	2		
			リンパ球細胞浸潤	0	1	1	0	0	0	2	1		
			腎盂拡張					0	0	1	1		
	被膜肥厚		1	0	0	0							
	線維化、癒痕	0	0	0	1	0	3	3	1				
	検査動物数		25	0	0	25	23	0	0	23			
	精巣	精細管萎縮					2			3			
	精巣上体	精子肉芽腫	1			0							
	前立腺	無精子					0			1			
		内腔、細胞残屑	10			10	5			3			
		リンパ球細胞浸潤	7			4	5			8			
	雌	検査動物数		23	24	24	23	19	22	19	19		
		肝臓	糖原沈着	2	0	0	1						
			うっ血					0	0	0	1		
			空胞変性					0	0	0	2		
			肝細胞肥大	0	0	0	↑17	0	0	1	↑19		
			壊死	1	1	1	1	0	1	2	2		
			小肉芽腫	5	↑0	↑0	↑0	1	2	0	1		
			肝横隔膜面結節	0	0	1	0						
			ヘルニア					0	0	0	1		
			変異細胞巣					0	0	0	2		
			検査動物数		23	0	0	23	19	22	19	19	
		腎臓	嚢胞	0			1						
尿細管、好塩基性							0	1	1	0			
硝子円柱							0	1	0	0			
尿細管拡張			0			1							
鉍質沈着							2	2	5	↑10			
リンパ球細胞浸潤							1	0	1	0			

空欄は検査せず Fisher の正確確率検定: ↑↑ P ≤ 0.05, ↑ P ≤ 0.01

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

(続き) (病理組織所見) (親動物)

検査	性別	世代	親 : P				親 : F ₁				
		投与量 (ppm)	0	40	200	1000	0	40	200	1000	
病理組織所見	雌	検査動物数	23	0	0	23	19	22	19	19	
		腎臓	腎盂拡張					0	0	1	2
			被膜肥厚					0	1	0	0
			移行細胞過形成					0	0	1	0
	検査動物数	23	0	0	23	19	0	0	19		
	子宮	内腔拡張	4			0					
		卵巣嚢胞					1			0	
子宮腺拡張		22			21	19			16		

空欄は検査せず

(病理組織所見) (児動物)

検査	性別	世代	児 : F ₁				児 : F ₂				
		投与量 (ppm)	0	40	200	1000	0	40	200	1000	
病理組織所見	雄	検査動物数					1	0	0	0	
		脾臓	線維化					1			
			検査動物数	0	0	0	1				
		胸腺	萎縮				1				
			検査動物数					0	1	0	0
		肺	肺胞/気管支過形成						1		
			検査動物数	1	0	1	1	0	3	0	2
		肝臓	線維化、癒痕						1		1
			肝横隔膜面結節						2		1
			ヘルニア	0		0	1				
	顎下腺	検査動物数					0	1	2	1	
		出血						1	2	1	
	腎臓	検査動物数	6	10	8	14	5	9	8	10	
		尿細管拡張	3	8	6	13	5	9	5	9	
		腎盂拡張	1	1	1	0	0	0	1	1	
	尾部	検査動物数					0	0	0	2	
		浮腫								1	
		変形								1	
	雌	肺	潰瘍								1
			検査動物数					0	1	1	0
出血								1	1		
肝臓		細胞浸潤						1	0		
		検査動物数	2	0	1	0	1	3	2	1	
		線維化、癒痕					1	0	1	0	
腎臓		肝横隔膜面結節	0		1		0	3	0	1	
		検査動物数	6	9	13	15	7	8	1	10	
腎臓		尿細管拡張	4	8	11	13	6	8	1	10	
		腎盂拡張	1	0	2	2					
検査動物数					0	0	0	1			
尾部	肉芽								1		

空欄は検査せず

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。

(13) 催奇形性試験

1) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No.17)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: DBN ()

供試動物: Crj;CD(SD)系妊娠ラット (約 11 週齢)、1 群 25 匹、妊娠 0 日体重範囲 228~294 g

投与期間: 器官形成期 (妊娠 7 日~19 日) 13 日間投与 (1999 年 8 月 3 日~8 月 21 日)

投与方法: 雌を雄と 1:1 で一夜同居させ、膈垢中に精子が認められた動物を試験に用いた。精子確認日を妊娠 0 日とした。検体を 0.5% CMC-Na に懸濁し、0、20、60 及び 180 mg/kg の投与量で妊娠 7 日~19 日まで 13 日間毎日 1 回経口投与した。対照群には 0.5% CMC-Na を同様に投与した。

投与量設定根拠: 本試験実施前に妊娠動物を用いて実施した予備試験の結果、90 及び 270 mg/kg 投与群で摂餌量減少及び肝臓重量増加が認められた。270 mg/kg 投与群でみられた矮小児の発生などの所見は、いずれも自然発生性の変化と考えられ、投与の影響は認められなかった。本試験の最高投与量を母動物に影響が現れると予想される 90 と 270 mg/kg の中間の 180 mg/kg とした。

観察・検査項目:

親動物: 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、4 日及び 7 日以降帝王切開日まで毎日体重を測定した。摂餌量は妊娠 1、4、7、8、11、14、17 及び 20 日に前日からの 1 日摂取量を測定した。

妊娠 20 日に帝王切開し、母動物の肉眼的病理検査を行うとともに、妊娠の状態 (黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数) について観察した。また、各動物の肝臓、心臓、肺、脾臓、副腎、卵巣及び腎臓重量を測定した。これらの臓器は 10% 中性緩衝ホルマリン中に保存した。

生存胎児: 性別、体重及び外表異常の観察を行った後、同腹児の約半数の胎児についてブアン液で固定し、Wilson 法及び顕微解剖法で頭部、胸部及び腹部内臓の観察を行った。残りの半数の胎児についてはアルコール固定後、アリザリンレッド S 及びアリュウシヤンプルー8GS で骨格及び軟骨二重染色を行い、骨格奇形及び変異の有無並びに骨化状態を観察した。

試験結果: 概要を次表に示した。

親動物の妊娠期間を通じて死亡及び流産動物は認められず、DBN 投与に起因する一

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。

般状態の変化も認められなかった。180 mg/kg 投与群では体重増加量及び摂餌量の減少がみられ、肝臓の肥大及び重量増加も認められた。60 mg/kg 投与群でも肝臓の重量増加が認められた。

胎児に対する DBN 投与の影響はいずれの投与群にも認められなかった。

以上の結果から、DBN の母動物に対する影響として、180 mg/kg 投与群では体重及び摂餌量の減少及び肝臓の肥大、60 mg/kg 以上の投与群で肝臓重量の増加が認められ、母動物に対する無毒性量は 20 mg/kg と判断された。胎児に対する DBN 投与の影響は最高投与量群である 180 mg/kg 投与群でも認められず、胎児の発生及び発育に対する無毒性量は 180 mg/kg 以上と考えられた。また、最高投与量の 180 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。

投与群 (mg/kg/日)		0	20	60	180		
1群当り動物数 (匹)		25	25	25	25		
死亡数		0	0	0	0		
妊娠動物数		25	25	25	25		
一般状態	脱毛	1		3	3		
	眼分泌物			1			
体重推移	平均体重 (g)	妊娠0日	260	260	260	261	
		妊娠7日	287	290	293	292	
		妊娠14日	317	316	317	312	
		妊娠20日	391	390	389	386	
	体重増加量 (g)	妊娠0~7日	27	30	32	31	
		妊娠7~20日	103	101	96	↓94	
摂餌量	平均摂餌量 (g/日)	妊娠1日	23	23	23	24	
		妊娠8日	26	↓23	↓22	↓18	
		妊娠14日	25	25	27	25	
		妊娠20日	28	26	27	26	
	累積摂餌量 (g)	妊娠0~7日	74	75	78	77	
		妊娠8~20日	133	129	131	↓120	
肉眼的病理所見	肝臓	肥大				10	
		奇形結節				1	
	腎臓	腎盂拡張				1	
	卵巣	嚢胞				1	
	皮膚	被毛非薄化	1		1	3	
臓器重量	心臓	絶対重量 (g)	0.91	0.90	0.90	↓0.84	
		対体重比 (g%)	0.289	0.288	0.284	↓0.272	
	肝臓	絶対重量 (g)	15.23	15.39	↑16.65	↑19.54	
		対体重比 (g%)	4.808	4.932	↑5.269	↑6.281	
	脾臓	絶対重量 (g)	0.59	0.62	0.60	0.63	
		対体重比 (g%)	0.187	0.200	0.191	↑0.202	
	腎臓	絶対重量 (g)	1.91	1.86	1.91	1.97	
		対体重比 (g%)	0.603	0.597	0.604	↑0.634	
	着床所見	黄体数		18.0	17.5	17.5	18.2
		着床数		15.2	16.0	15.2	15.7
生存胎児数		合計	14.4	15.2	14.2	15.0	
		雄	8.0	7.2	7.3	7.7	
		雌	6.4	8.1	7.0	7.3	
		性比 (雄/胎児数)	0.56	0.47	0.51	0.51	
死亡吸収胚		早期吸収胚数	4.9	4.5	4.5	3.8	
		後期吸収胚数	0.3	0.0	0.8	0.6	
		死亡胎児数	0.0	0.0	0.8	0.3	

Dunnettの多重比較検定、Steelの検定又はMann-WhitneyのU検定、 χ^2 検定：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↑◆ $P \leq 0.01$

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

投与群 (mg/kg/日)			0	20	60	180
1群当り動物数 (匹)			25	25	25	25
重量	体重 (g)	雄	3.35	3.46	3.40	3.35
		雌	3.17	3.25	3.25	3.20
	胎盤 (mg)	雄	462	456	478	455
		雌	443	441	463	438
外表異常	検査胎児数		360	381	356	375
	無眼症			1		
	頭部変形			1		
	短吻					1
矮小胎児		1	1			
内臓検査	観察胎児数		173	185	174	184
	胸腺頸部残留		9	9	5	125
	左総頸動脈起始異常				1	
	動脈管遺残					1
	右鎖骨下動脈起始異常		1			1
	左臍帯動脈遺残			2	2	
	肝奇形結節					1
	肺分葉異常					1
	腎盂拡張		1		1	2
	尿管拡張					1
	無眼症		1	1		
	口蓋裂					1
完全内臓逆位					1	
骨格検査	観察胎児数		187	196	182	191
	化骨数	前肢末節骨数	9.2	19.6	9.1	9.4
		後肢末節骨数	3.4	15.5	3.8	3.1
		頸椎椎体数	0.1	0.2	0.1	0.0
	骨格異常	発現胎児数	34	27	24	18
		剣状突起分離	24	18	15	9
		肋軟骨分離	12	10	10	9
		肋軟骨結節				1
	骨格変異	胸椎椎体/肋軟骨	6	10	7	6
		舌骨未化骨	70	50	43	33
胸椎椎体未化骨		17	2	20	12	

Dunnett の多重比較検定、Steel の検定又は Mann-Whitney の U 検定 : †‡ P ≤ 0.05、‡ P ≤ 0.01

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

2) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No.18)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: DBN ()

供試動物: Kbl: NZW 系妊娠ウサギ (約 18 週齢)、1 群 22 匹、妊娠 0 日体重範囲 2.9~3.7 kg

投与期間: 器官形成期 (妊娠 6~28 日) 23 日間投与 (1999 年 8 月 16 日~9 月 27 日)

投与方法: 雌を雄と 1:1 で同居させ、交尾行動を確認後、膣垢中に精子の認められた動物を試験に用いた。精子確認日を妊娠 0 日とした。検体を 0.5%CMC-Na に懸濁し、0、10、30 及び 100 mg/kg の用量を妊娠 6~28 日まで 23 日間毎日 1 回経口投与した。対照群には 0.5%CMC-Na を同様に投与した。

投与量設定根拠:

本試験実施前に妊娠動物を用いて実施した予備試験では、180 mg/kg で死亡、体重増加抑制等が認められ、胎児の発育抑制もみられた。60 mg/kg でも体重及び摂餌量の低値が認められたが、胎児に対する影響は認められなかった。したがって本試験では最高用量を 100 mg/kg/日とした。

観察・検査項目:

親動物; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0 日から帝王切開まで 2~3 日間隔で 15 回体重を測定した。摂餌量は妊娠 2、4、6、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27 及び 29 日に前日からの 1 日摂餌量を測定した。

妊娠 29 日に帝王切開し、母動物の肉眼的病理検査を行うとともに、妊娠の状態 (黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数) について観察した。また、各動物の肝臓、心臓、肺、脾臓、副腎、卵巣及び腎臓重量を測定した。これらの臓器は 10%中性緩衝ホルマリン中に保存した。

生存胎児; 体重測定及び外表異常の観察を行った後、内部生殖器の形態及び位置から性別を判定した。その後、胸腹部を切開し、脈管系及び胸腹部器官を肉眼的に観察した後、これらの臓器を摘出して 10%中性緩衝ホルマリンに固定後、心臓及び腎臓の内部形態を観察した。同腹児の 1/2 の胎児について頭部を切断し、ブアン液に固定後、粗大切片を作成して観察した。胎児の骨格部分は、胸腹部臓器を摘出後、95%アルコールに固定、アリザリンレッド S 及び アリュウシヤンプルー 8GS で骨格及び軟骨二重染色を行い、透明骨格標本作製し、骨格奇形及び変異の有無並びに化骨状態を観察した。

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

試験結果：概要を次表に示した。

親動物では妊娠期間を通じて検体投与による死亡は認められなかったが、検体投与の二次的影響と思われる流産が 10、30 及び 100 mg/kg 投与群でそれぞれ 1、1 及び 7 匹に認められた。30 mg/kg 以上の投与群では体重及び摂餌量の減少が認められ、帝王切開時の肉眼的病理検査でも、肝臓及び腎臓重量の増加が認められた。100 mg/kg 投与群では肝臓及び心臓の淡色化や白色斑点が認められた。

胎児動物では、100 mg/kg 投与群で死亡胎児発現率が高く、矮小胎児の発現率も高かった。胎児の内臓では検体投与の影響は認められなかった。骨格検査では 100 mg/kg 投与群で恥骨の未化骨又は化骨遅延の発現率が有意に高かったが、矮小胎児の発現に伴う変化と考えられ、検体投与による二次的な影響と判断した。

以上の結果から、DBN の母動物に対する影響として、100 mg/kg 投与群では流産発現率の増加、体重及び摂餌量減少、肝臓及び腎臓重量増加、肝臓等の異常所見が認められ、30 mg/kg 投与群でも体重及び摂餌量減少、肝臓及び腎臓重量増加が認められ、DBN の母動物に対する無毒性量は 10 mg/kg/日であると考えられた。また、100 mg/kg 投与群では死亡胎児の発現率増加並びに胎児の発育抑制を示す矮小胎児発現率の増加が認められ、胎児に対する無毒性量は 30 mg/kg/日であると考えられた。また、最高投与量の 100 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。

投与群 (mg/kg/日)			0	10	30	100
1群当り動物数 (匹)			22	22	22	22
死亡数			2	1	1	2
帝王切開動物数			20	18	18	12
一般状態	脱毛				1	1
	外傷				1	
	血尿				1	3
	流産			1	1	7
	外陰部出血			1		5
	眼球混濁					1
	眼球腫大					1
体重・摂餌量の0日の動物数			22	20	20	21
体重推移	平均体重 (g)	妊娠0日	3317	3339	3309	3303
		妊娠6日	3526	3504	3519	3511
		妊娠17日	3664	3614	3577	↑3448
		妊娠29日	3755	3764	3715	3712
	体重増加量 (g)	妊娠0~6日	208	164	210	209
	妊娠6~29日	252	270	180	↓118	
摂餌量	平均摂餌量 (g/日)	妊娠2日	139	149	139	150
		妊娠6日	146	141	144	150
		妊娠17日	132	121	106	↓73
		妊娠29日	92	103	98	77
	累積摂餌量 (g)	妊娠0~6日	432	433	422	446
		妊娠7~29日	1411	1448	1330	↓1146
帝王切開・臓器重量の動物数			20	18	18	12
肉眼的病理所見 (帝王切開動物)	心臓	淡色化				1
	肺	黒色斑	1		1	
		褐色斑	16	17	14	9
	大腸	黒色斑				1
	肝臓	淡色化				1
	胆嚢	黒色斑				1
		変形	1			
	卵巣	卵管嚢胞	5	8	5	4
	眼球	腫大				1
		白色化				1
皮膚	潰瘍			1		
	皮毛菲薄				1	
臓器重量	肝臓(g)	絶対重量 (g)	77.75	81.60	84.79	↑93.43
		対体重比 (g%)	2.366	2.451	↑2.582	↑2.806
	腎臓(g)	絶対重量 (g)	14.04	14.61	15.10	↑15.74
		対体重比 (g%)	0.428	0.440	↑0.461	↑0.473**

Dunnett の多重検定、Steel の検定又は Mann-Whitney の U 検定 : †† P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

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

(続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100		
1群当り動物数 (匹)		22	22	22	22		
母動物	検査動物数		20	18	18	12	
	着床所見	黄体数	9.7	9.3	9.2	10.2	
		着床数	8.8	8.2	8.5	7.8	
		生存胎児数	合計	8.6	7.7	7.8	7.2
			雄	4.0	3.2	4.8	2.8
			雌	4.6	4.5	3.0	4.4
			性比 (雄/胎児数)	0.46	0.41	0.61	0.38
		死亡吸収胚 (%、平均発現率)	早期吸収胚率	0.0	1.2	0.0	0.8
	後期吸収胚率		2.9	2.7	5.1	0.0	
	死亡胎児率		0.0	1.9	12.9	↑7.4	
	重量	体重 (g)	雄	41.41	42.63	40.42	39.16
			雌	39.95	41.50	38.56	35.55
		胎盤 (mg)	雄	5539	5935	5481	5466
			雌	5122	5532	5108	4736
	生存胎児	外表異常	検査胎児数	171	138	140	86
倭小胎児					2	↑13	
内臓検査		観察胎児数	171	138	140	86	
		左総頸動脈起始異常	13	8	4	6	
		胸腺頸部遺残	14	9	12	3	
骨格検査		骨格異常	観察胎児数	171	138	140	86
			発現胎児数	32	26	15	17
			胸椎椎弓癒合		1		
			胸椎椎弓欠損	1			
			肋骨癒合	2	1		
			肋軟骨癒合				1
			肋軟骨分岐			1	
			肋骨分離	15	23	9	8
			肋骨結節	2			2
			過剰肋骨	1			
	胸骨核離開				1		
	剣状突起離開	14	2	5	6		
	骨格変異	13肋骨	135	105	114	74	
椎骨仙椎化		2	4	4	3		
第7肋軟骨胸骨未着		5		3	6		
胸椎椎体間の軟骨		1					
第12肋骨短小					1		
第1肋軟骨胸骨未着				1			
恥骨化骨不全	6	11	10	↑24			

Dunnettの多重検定、Steelの検定又はMann-WhitneyのU検定、 χ^2 検定：↑ $P \leq 0.05$ 、↑ $P \leq 0.01$

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

(14) 変異原性に関する試験

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.19)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体純度: DBN ()

試験方法: ヒスチジン要求型のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解し、予備試験の結果、試験菌株に対して生育阻害が認められなかった 5000 µg/0.1mL/プレート を最高用量とし、156.3～5000 µg/0.1mL/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。

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、各菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート) においても、いずれの菌株も復帰変異コロニー数は陰性対照群の 2 倍以上の増加を認めなかった。

なお、検体の沈殿は代謝活性化系の有無にかかわらず 2500 µg/プレート 以上で認められた。

一方、陽性対照として用いた AF2、Sodium azide、9-Aminoacridine 及び 2-Aminoanthracene ではそれぞれの復帰変異コロニー数はバックグラウンドデータの近似値であり、試験は適正な条件で実施された。

以上の結果により、検体は当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。

予備試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)		-	143	15	31	24	8
DBN	5	-	147	13	31	23	9
	10	-	149	13	32	25	8
	50	-	134	11	28	23	10
	100	-	136	11	28	26	6
	500	-	123	16	27	24	6
	1000	-	113	15	20	20	7
	5000 \uparrow	-	71	9	7	15	4
溶媒対照 (DMSO)		+	148	13	41	33	11
DBN	5	+	150	15	41	31	11
	10	+	144	11	42	37	10
	50	+	148	13	39	29	11
	100	+	155	12	35	31	13
	500	+	133	13	28	27	10
	1000	+	97	11	23	24	9
	5000 \uparrow	+	73	9	9	9	5
陽性 対照	S-9Mix (-)	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
		濃度($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数 /プレート	509	544	226	534	596
	S-9Mix (+)	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		濃度($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数 /プレート	1064	188	896	567	192

\uparrow : 検体の沈殿

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

SA : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

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

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 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	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)		-	132	10	32	22	8
DBN	156.3	-	134	11	35	19	13
	312.5	-	124	10	35	23	8
	625	-	125	10	34	22	9
	1250	-	90	13	28	22	9
	2500†	-	76	11	26	15	6
	5000†	-	64	11	13	14	6
溶媒対照 (DMSO)		+	138	14	36	33	14
DBN	156.3	+	133	14	38	31	12
	312.5	+	131	11	43	34	13
	625	+	139	9	36	35	15
	1250	+	120	10	33	32	12
	2500†	+	80	11	33	29	6
	5000†	+	70	11	8	19	6
陽性 対照	S-9Mix (-)	名 称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
		濃度($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数 /プレート	543	583	240	513	553
	S-9Mix (+)	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		濃度($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数 /プレート	1034	221	823	536	146

† : 検体の沈殿

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide

SA : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

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) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No.20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体純度: DBN ()

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の H17 (Rec⁺) 及び M45 (Rec⁻) を用い、DNA 修復試験のストリーク法 (直接法、代謝活性化法) により、DBN の DNA 傷害誘発活性を検定した。

検体は *N,N*-Dimethylformamide に溶解して用いた。

最高溶解濃度 5000 µg/40 µL/ディスクを最高用量として行った予備試験の結果、試験菌株に対して生育阻止帯を誘起しなかったため、本試験は 5000 µg/40 µL/ディスクを最高用量とし、以下公比 2 で希釈し 5 濃度を設定した。試験は 1 濃度につき 2 プレートで行った。

試験結果: 結果を次表に示した。

代謝活性化系の有無にかかわらず H17 及び M45 には生育阻止帯は認められなかった。一方、陰性対照物質である蛋白合成阻害作用を有する硫酸カナマイシンには、両菌株に対して同程度の生育阻害帯が認められ、また、DNA 損傷誘発作用を有するマイトマイシン C には、M45 に対する優先的な生育阻止帯が認められた。溶媒である *N,N*-Dimethylformamide には両菌株に対する生育阻止帯は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下における DBN の DNA 傷害誘発作用は陰性と判断された。

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。

1 回目試験 (代謝活性化系なし)

薬 物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{7} \cdot \text{ディスク}$)	判定	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照 (<i>N,N</i> -Dimethylformamide)	0	-	0	0	0
DBN	312.5	-	0	0	0
	625	-	0	0	0
	1250	-	0	0	0
	2500	-	0	0	0
	5000	-	0	0	0
陰性対照 (硫酸カナマイシン)	80	-	15.0	14.0	1.0
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.2	+	16.5	10.0	6.5

判定基準:阻止帯の差が 3 mm 以上の場合 (+)

2 回目試験 (代謝活性化系あり)

薬 物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{7} \cdot \text{ディスク}$)	判定	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
溶媒対照 (<i>N,N</i> -Dimethylformamide)	0	-	0	0	0
DBN	312.5	-	0	0	0
	625	-	0	0	0
	1250	-	0	0	0
	2500	-	0	0	0
	5000	-	0	0	0
陰性対照 (硫酸カナマイシン)	80	-	16.0	15.0	1.0
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.2	+	15.5	10.0	5.5

判定基準:阻止帯の差が 3 mm 以上の場合 (+)

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

3) 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.21)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体純度: DBN ()

試験方法: チャイニーズハムスターの継代培養した線維芽細胞 (CHL/IU) を用い、代謝活性化及び非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

試験前に行った検体の DMSO に対する溶解性が 50%より低かったため、1% CMC-Na 溶液を本検体の溶媒とした。

50%細胞増殖抑制濃度を求めるために 0.002~1.720 mg/mL の濃度で細胞増殖抑制試験を行った結果、染色体異常試験の設定濃度について最高用量を 1.720 mg/mL とし、以下公比 2 の 0.860 及び 0.430 mg/mL の 3 用量とした。

観察は各濃度において 200 個の分裂中期像について行った。

染色体異常の分類については、数的異常は倍数体、構造異常は染色分体あるいは染色体型ギャップ (g)、染色体型切断 (ctb)、染色体型交換 (cte)、染色体型切断 (csb)、染色体型交換 (cse)、及びその他 (o) に分類した。

試験の結果の判定に際し、異常を持つ細胞、即ち、ギャップを含めた構造異常及び数的異常の出現頻度 (%) をそれぞれ算出した。また、染色体異常をもつ細胞の出現頻度が陰性対照群と比較して明らかに上昇し、かつ、用量依存性が認められた場合、又は再現性のある単独な用量での明らかな上昇が認められた場合には陽性と判断した。

結果: 結果を次表に示した。

全ての培養系列について、構造異常及び数的異常を有する細胞の出現頻度は、0~1.0% 及び 0~0.5% で陰性対照群と差異はなかった。

なお、陰性対照群の染色体異常を有する細胞の出現頻度は無処理群とほぼ同程度であった。また、各陽性対照群では、それぞれ染色体の構造異常を有する細胞の顕著な増加が認められた。即ち、構造異常の出現率は S9 無添加及び添加で各々 15.5 及び 46.5% であった。数的異常細胞については、いずれの培養系列も 0~1.0% であった。

0.430、0.860 及び 1.720 mg/mL での細胞増殖率は S9 無添加の場合には各々 90、75 及び 45%、S9 添加の場合には各々 101、77 及び 57% であった。

以上の結果から、本剤はチャイニーズハムスター線維芽細胞 (CHL/IU 細胞) を用いた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。

薬物	濃度 (mg/mL)	観察細胞数	染色体構造異常を有する細胞数 (%)							数的異常 倍数体	総異常細胞数 (ギャップを除く)	総異常細胞数 (ギャップを含む)	細胞増殖率		
			ギャップ	染色分体型			染色体型		その他						
				g	ctb	cte	csb	cse		other	polyploid				
非 活 性 化	無処理対照	0	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5	1.0	—	
	陰性対照 (CMC)	0	200	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	100	
	DBN	0.430	200	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	98	
		0.860	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	72	
		1.720	200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	47	
	陽性対照 (MMC)	0.0001	200	2.5	14.0	31.0	1.0	3.5	0.0	0.5	43.0	43.5	43.5	—	
	以上 24 時間 処理														
	無処理対照	0	200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	—	
	陰性対照 (CMC)	0	200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	100	
	DBN	0.430	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	97	
0.860		200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	74		
1.720		200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	48		
陽性対照 (MMC)	0.0001	200	4.0	26.0	46.0	0.5	6.0	1.0	1.0	62.0	62.0	62.0	—		
以上 48 時間 処理															
活 性 化	S-9 (-)	無処理対照	0	200	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	—	
		陰性対照 (CMC)	0	200	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	100	
		DBN	0.430	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	90
			0.860	200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	75
			1.720	200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	0.5	45
	陽性対照 (MMC)	0.0001	200	0.5	5.0	12.0	0.5	1.0	0.0	0.0	15.0	15.5	15.5	—	
	S-9 (+)	無処理対照	0	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	—	
		陰性対照 (CMC)	0	200	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	100	
		DBN	0.430	200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	101	
			0.860	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	77
1.720			200	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.5	57	
陽性対照 (MMC)	0.02	200	1.0	10.0	38.5	0.5	5.0	1.0	0.5	46.0	46.5	46.5	—		
以上、短時間処理 (6時間処理、18時間回復)															

単位：%、—：適用外

CMC：1% Carboxymethyl cellulose sodium salt

MMC：Mitomycin C、B(a)P：Benzo(a)pyrene

注：DBN処理群に明らかな異常細胞増加が認められなかったため、統計検定実施せず

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。

3) マウスの骨髓細胞を用いた小核試験

(資料 No.22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体純度: DBN ()

試験動物: Crj:CD-1 (ICR)系雄性マウス、約 6 週齢、体重 29.8~35.7 g、各群 6 匹

試験方法: 検体を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し、625、1250 及び 2500 mg/kg の投与量で、単回腹腔内投与した。なお、陽性対照群としてマイトマイシン C (MMC) を、陰性対照群には、5% CMC-Na 溶液を同様に投与した。

投与後 24 時間に動物を頸椎脱臼により屠殺し、右大腿骨から骨髓標本を作製した。赤血球を多染性赤血球 (PCE) と正染性赤血球 (NCE) とに区別し、1 個体につき 1000 個の多染性赤血球を観察し、出現する小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) の数を測定して、出現頻度を求めた。

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

用量設定根拠: 検体を 0.5% CMC-Na 溶液に懸濁し、単回腹腔内投与した予備試験で、最高用量の 5000 mg/kg で死亡例が認められたので、本試験では 2500 mg/kg を最高用量とし、公比 2 の 1250 及び 625 mg/kg を設定した。

結果: 骨髓標本の観察結果を下表に示した。

薬物	投与量 (mg/kg)	観察動物数	MNPCE/PCE (平均値±標準偏差、%)	PCE/RBC (平均値±標準偏差、%)	判定
陰性対照 (CMC)	0	6	(0.17 ± 0.05)	(47.88 ± 2.16)	
検 体	625	6	(0.20 ± 0.06)	(49.45 ± 3.31)	-
	1250	6	(0.15 ± 0.05)	(48.72 ± 2.50)	-
	2500	6	(0.18 ± 0.08)	(48.08 ± 2.67)	-
陽性対照 (MMC)	2	6	(↑ 3.35 ± 0.59)	(45.82 ± 3.51)	+

Wilcoxon の順位和検定: ♣♣ P ≤ 0.01 (陰性対照群に対して)

MMC: Mitomycin C

検体のいずれの投与群においても、小核を有する多染性赤血球に、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群の MMC は陰性対照群と比較しては有意に増加し、試験は適正な条件化で実施された。

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。

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発する作用がなく、染色体異常誘発性は陰性と判断された。

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。

(15) 生体機能への影響に関する試験

1) DBNにおける一般薬理試験

(資料 No.23)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: DBN ()

試験期間: 2000 年 6 月 27 日~9 月 1 日

(1) 一般状態観察

マウスにおける一般状態

供試動物: Slc:ICR 系マウス、6 週齢、雄: 体重 27.3~30.0 g、1 群 5 匹

投与方法: 検体を 0.5% CMC·Na に懸濁させ、0、200、600 及び 2000 mg/kg を経口投与し、Irwin の多次元観察法を参考にして、投与前、投与後 15 分、30 分、60 分、120 分、180 分及び 24 時間に一般状態の観察を行った。

結果: 観察された状態及び発現数を下表に示した。

投与量 (mg/kg)	動物 数	状 態	投 与 後 時 間						
			投与前	15 分	30 分	60 分	120 分	180 分	24 時間
200	5	不穏行動	1	1					
		立 毛				1	1		
600	5	立 毛				3	3	1	
		眼瞼下垂			1	2	1	2	
		閉 眼					1		
2000	5	うずくまり			1				
		立 毛			3	4	2	1	
		眼瞼下垂			2	2	1	2	
		閉 眼				1	1		

投与後 24 時間では、いずれの投与群にも溶媒対照群と比較して特記すべき変化が認められなかった。また、200mg/kg 投与群において観察された不穏行動は投与前にも認められ、他の投与群では認められなかったことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

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

(2) 中枢神経系に対する作用

マウスにおける自発運動量の測定

供試動物：Slc:ICR系マウス、6週齢、雄：体重25.0～31.2g、1群8匹

投与方法：検体を0.5%CMC-Naに懸濁させ、0、200、600及び2000mg/kgを経口投与し、投与直後に動物を自発運動量測定装置に入れ、180分間継続して自発運動量を測定した。自発運動量は30分間毎に集計した。

結果：自発運動量計数値の推移を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	動物 数	投 与 後 時 間 (分)						
		投与前	0～30	30～60	60～90	90～120	120～150	150～180
0 (溶媒)	8	7015	5194	3278	1629	678	672	765
200	8	7232	3669	1425	686	482	1640	13694
600	8	7742	↑3013	↓1127	1159	1559	1075	251
2000	8	7405	↓1474	↑984	1203	1380	1706	1133

Dunnettの多重比較検定、Steelの検定：↑↓ P≤0.05、↓ P≤0.01 (対照群に対して有意差あり)

600mg/kg及び2000mg/kg投与群で投与後60分まで自発運動量の有意な低下が認められた。200mg/kg群の投与後150～180分に有意に高い値が認められたが、用量相関性はなく偶発性と判断した。

マウスにおける痙攣誘発作用

供試動物：Slc:ICR系マウス、6週齢、雄：体重26.2～29.1g、1群8匹

投与方法：検体を0.5%CMC-Naに懸濁させ、0、200、600及び2000mg/kgを経口投与し、投与後30分に両側の耳介から小動物用電撃刺激装置を用いて10mAの電流を0.8秒間通電し、後肢痙攣発現及び死亡の有無について観察した。

陽性対照群にはカフェイン150mg/kgを投与した。

電圧については不明である。

結果：各試験群の電撃刺激後の痙攣発現数及び死亡発現数を下表に示した。

投与量(mg/kg)	動物数	間代性痙攣	強直性屈曲痙攣	強直性伸展痙攣	死亡
0 (溶媒)	8	8	3	1	0
200	8	8	2	1	0
600	8	8	3	1	0
2000	8	8	2	0	0
陽性対照(カフェイン)150	8	6	7	↑7	↑7

Fisher直接確率の検定：↑ P≤0.01 (対照群に対して有意差あり)

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

検体投与群は溶媒対照群と比べて電撃痙攣発現数の差は認められなかった。
陽性対照群では強直性伸展痙攣及び死亡発現数が有意に多かった。

ラットにおける体温の測定

供試動物：Slc:SD系ラット、7週齢、雄：体重194～227g、1群6匹

投与方法：検体を0.5%CMC-Naに懸濁させ、0、200、600及び2000mg/kgを経口投与し、検体投与前、投与後30分、60分、120分、180分及び24時間に直腸体温を測定した。

結果：各試験群の平均体温の推移を下表に示した。

投与量 (mg/kg)	動物数	投与後時間					
		投与前	30分	60分	120分	180分	24時間
0 (溶媒)	6	37.3	37.7	37.3	37.1	37.0	37.5
200	6	37.3	37.5	37.4	37.2	36.7	37.8
600	6	37.3	37.6	37.5	36.3	↓35.5	37.7
2000	6	37.3	37.4	36.9	↓35.5	↓34.7	37.4

Dunnettの多重検定、Steelの検定：↓ $P \leq 0.01$ (対照群に対して有意差あり)

600mg/kg投与群の投与後180分に、2000mg/kg投与群の投与後120分及び180分に統計学的に有意な体温の低下が認められた。

しかし、投与後24時間には溶媒対照群との間に差は認められなかった。

(3) 腎臓機能に対する作用

ラットにおける尿量、尿中電解質及び尿比重（浸透圧）の測定

供試動物：Slc:SD系ラット、7週齢、雄：体重199～242g、1群6匹

投与方法：あらかじめ生理食塩液2.5mL/100gを経口投与した後、検体を0.5%CMC-Naに懸濁させ、0、200、600及び2000mg/kgを経口投与した。検体投与後直ちにラットを代謝ケージに個別に収容し、6時間採尿を行った。得られた尿について、尿量、浸透圧、電解質（Na⁺、K⁺、Cl⁻）を測定した。

結果：各群の尿量、電解質及び浸透圧の平均値を下表に示した。

200mg/kg以上の投与群で尿量及び電解質排泄量の有意な増加ないしは増加傾向、並びに浸透圧の低下又は低下傾向が認められた。

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。

投与量 (mg/kg)	動物数	尿量 (mL)	Na ⁺ (mmol/6hr)	K ⁺ (mmol/6hr)	Cl ⁻ (mmol/6hr)	浸透圧 (mOsm/kg)
0 (溶媒)	6	5.3	0.55	0.20	0.62	568
200	6	↑10.4	↑0.94	↑0.33	↑1.15	↓456
600	6	↑10.5	↑0.93	0.31	↑1.17	↓451
2000	6	↑8.9	0.75	0.27	↑0.94	496

Dunnettの多重検定、Steelの検定： †↓ P≤0.05、↑ P≤0.01 (対照群に対して有意差あり)

200 mg/kg 投与で腎機能に対する作用が認められたため、検体の投与量を下げて実施した再試験の結果を下表に示した。

投与量 (mg/kg)	動物数	尿量 (mL)	Na ⁺ (mmol/6hr)	K ⁺ (mmol/6hr)	Cl ⁻ (mmol/6hr)	浸透圧 (mOsm/kg)
0 (溶媒)	6	4.8	0.46	0.14	0.54	574
20	6	5.7	0.54	0.15	0.65	549
60	6	5.4	0.48	0.15	0.61	577
200	6	↑8.9	↑0.74	↑0.29	↑0.98	513

Dunnettの多重検定、Steelの検定：↑ P≤0.01 (対照群に対して有意差あり)

(4) 消化器系に対する作用

ACh、His 及び BaCl₂ 収縮に対する作用

供試動物：Std:Hartley系モルモット、6週齢、雄：体重 365~423 g、1群5匹

投与方法：モルモットから摘出した回腸標本を酸素 95%、炭酸ガス 5%混合ガスを通気した 37℃の Tyrode 液を満たした 10mL のマグナス槽中に懸垂させた。この標本に 1g の負荷を加え、標本の緊張が安定した後、ACh (3×10⁻⁶ M)、His (3×10⁻⁶ M) 及び BaCl₂ (3×10⁻³ M) を添加して標本を収縮させた。標本を洗浄した後、培養液に 3 濃度の検体を培養液に加え、5 分後に各収縮薬を添加して収縮の程度を測定した。収縮の程度は検体添加前の収縮薬による収縮力を 100 として表した。

結果：検体処理後の各収縮薬に対する回腸標本の平均収縮割合を下表に示した。

モルモット摘出回腸標本に対する検体の直接作用は認められなかった。また、ACh 及び His 収縮に対する検体の影響も認められなかった。BaCl₂ 収縮に対しては 2×10⁻⁶ g/mL の濃度で検体の有意な収縮抑制作用が認められた。

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。

濃度 (g/mL)	標本数	Ach ($3 \times 10^{-6}M$)	His ($3 \times 10^{-5}M$)	Ba ²⁺ ($3 \times 10^{-3}M$)
0 (溶媒)	5	97.4	97.9	103.7
2×10^{-7}	5	96.8	93.7	101.7
2×10^{-6}	5	94.9	95.8	97.2
2×10^{-5}	5	102.6	91.1	↓60.0

Dunnnett の多重検定、Steel の検定：↓ $P \leq 0.01$ (対照群に対して有意差あり)

ACh : acetylcholine

His : histamine

Ba²⁺ : barium chloride

小腸輸送能に対する作用

供試動物：Slc:ICR 系マウス、6 週齢、雄：体重 25.9~29.1 g、1 群 8 匹

投与方法：検体を 0.5% CMC-Na に懸濁させ、0、200、600 及び 2000 mg/kg を経口投与し、30 分後に活性炭素末懸濁剤 (5% 活性炭素 + 10% アラビアゴム) 0.1 mL を経口投与した。更に 30 分後にマウスを屠殺し、速やかに幽門から回腸末端部までを摘出、全長及び活性炭素末移動距離を測定して、移動率を算出した。陽性対照群にはアトロピン 300 mg/kg を投与した。

結果：各群の平均活性炭素末移動率を下表に示した。

検体投与群は溶媒対照群と比べ有意な差は認められなかった。

陽性対照群では有意な活性炭素末移動率の低下が認められた。

投与量 (mg/kg)	動物数	活性炭素末移動率 (%)
0 (溶媒)	8	55.9
200	8	46.7
600	8	45.8
2000	8	46.6
陽性対照 (アトロピン) 300	8	↓23.0

Dunnnett の多重比較検定、Steel の検定：↓ $P \leq 0.01$ (対照群に対して有意差あり)

(5) ラットの骨格筋に及ぼす作用

握力測定

供試動物：Slc:SD 系ラット、7 週齢、雄：体重 200~217 g、1 群 6 匹

投与方法：検体を 0.5% CMC-Na に懸濁させ、0、200、600 及び 2000 mg/kg を経口投与し、検体投与前、投与後 30 分、60 分、120 分及び 180 分にプッシュプルゲージで前肢及び後肢の握力をそれぞれ 2 回測定した。

結果：各群の平均握力 (g) の推移を次表に示した。

いずれの検体投与群においても、前肢握力は溶媒対照群と差はみられなかった。

後肢握力では 2000 mg/kg 投与群において、投与後 180 分に統計学的に有意な

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。

増加が認められた。

投与量 (mg/kg)	動物数		投 与 後 時 間				
			投与前	30分	60分	120分	180分
0 (溶媒)	6	前肢	603.4	630.5	717.2	635.7	628.3
		後肢	362.4	418.4	485.7	428.3	427.9
200	6	前肢	607.4	601.3	702.8	669.5	627.8
		後肢	395.5	465.0	445.2	386.8	424.3
600	6	前肢	596.3	651.8	596.2	572.9	573.4
		後肢	426.0	495.3	436.1	430.5	382.0
2000	6	前肢	591.7	708.1	729.5	665.7	640.8
		後肢	417.0	484.9	458.4	416.1	455.1

Dunnnettの多重検定、Steelの検定： † P≤0.05 (対照群に対して有意差あり)

(6) ラットの血液に対する作用

血液凝固能に対する作用

供試動物：Slc:SD系ラット、7週齢、雄：体重195～215g、1群6匹

投与方法：検体を0.5% CMC-Naに懸濁させ、0、200、600及び2000 mg/kgを経口投与し、30分後にエーテル麻酔下で腹部大動脈から3.13%クエン酸ナトリウム水溶液入り採血管に採血し、遠心分離により血漿を採取した。プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 及びフィブリノーゲン量を測定した。

結 果：各群の平均値を下表に示した。

いずれの検体投与群においても、血液凝固能の変化は認められなかった。

投与量 (mg/kg)	動物数	PT (sec)	APTT (sec)	フィブリノーゲン (mg/dL)
0 (溶媒)	6	15.18	25.03	243.0
200	6	15.50	25.45	240.8
600	6	14.55	24.52	246.7
2000	6	15.60	26.28	240.3

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

2) イヌを用いた呼吸循環器系に対する作用

(資料 No.24)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: DBN ()

供試動物: ビーグル犬、雄 3 匹、5 ヶ月齢、体重範囲 9.1~9.7 kg

試験期間: 2000 年 8 月 25 日~9 月 17 日

試験方法: 0.5% CMC-Na に懸濁した検体を無麻酔イヌに経口投与し、投与後 180 分間呼吸数、血圧、心拍数及び心電図の測定を行った。投与量は 0(溶媒)、200、600 及び 2000 mg/kg とし、最初に溶媒について試験を行った後、7 日間の間隔を置いて順次用量の低い方から 7 日間隔で試験を行った。

投与量設定根拠: 100、300 及び 1000 mg/kg の検体を単回経口投与した場合、検体投与の影響は認められず、また、同用量を 7 日間連続経口投与した場合、3 日目に 1000 mg/kg で死亡がみられたことから、本試験の最高用量を 2000 mg/kg とした。

試験結果: 各投与量における検体投与後 180 分の呼吸数、血圧、心拍数及び心電図 (PR 時間 QT 時間及び QRS 時間) を次表に示した。

いずれの投与群においても、血圧、心拍数及び心電図に対する作用は認められなかった。

すべての投与群において投与後 90 分の呼吸数に有意な減少が、また 200 及び 600 mg/kg 投与群の 30 分後、600 mg/kg の 45 分後の PR 時間に有意な短縮がみられたが、投与前の値に対する変化がみられないこと、用量相関性がないことなどから、検体投与の影響ではないと考えられた。

以上の結果から、DBN 原体は 2000 mg/kg までの単回経口投与では無麻酔イヌの呼吸・循環器系に影響を及ぼさないと考えられた。

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

検査項目	投与量 (mg/kg)	投与後時間 (分)							
		投与前	15	30	45	60	90	120	180
呼吸数 (回/分)	0	19	17	13	16	16	20	16	20
	200	18	14	14	11	12	↓11	24	18
	600	14	15	13	16	15	↓10	11	11
	2000	13	14	11	13	10	↓12	11	12
血圧 (mmHg)	0	116	117	114	117	118	118	108	111
	200	121	127	124	124	119	124	125	123
	600	123	128	126	126	124	124	115	115
	2000	111	116	118	114	114	110	108	112
心拍数 (回/分)	0	54	52	51	59	61	59	68	71
	200	63	61	68	68	69	70	71	80
	600	55	59	60	62	65	65	66	69
	2000	50	53	58	58	55	64	65	69
PR 時間 (msec)	0	116	126	122	116	111	107	102	101
	200	105	109	↓101	104	100	97	98	91
	600	114	111	↓107	↓100	101	98	107	96
	2000	123	118	112	110	110	107	104	103
QRS 時間 (msec)	0	38	37	40	39	41	39	41	38
	200	38	40	41	41	39	41	42	41
	600	40	42	42	43	41	44	37	40
	2000	39	41	41	39	41	42	42	40
QT 時間 (msec)	0	284	280	274	278	277	244	246	236
	200	276	265	254	252	249	247	241	234
	600	269	265	257	259	244	255	254	243
	2000	290	281	272	265	259	253	247	249

Dunnett の多重比較検定、Steel の検定： ↓ P ≤ 0.05、↓ P ≤ 0.01 (対照群に対して有意差あり)

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

DBNの「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	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	
一般状態	マウス	強制経口	0、200、600、2000	5	600	200	立毛、眼瞼下垂、うずくまり等が発現	
中枢神経系	自発運動量			マウス	8	600	200	600及び2000 mg/kgで自発運動量低下
	電撃痙攣			マウス	8		>2000	影響なし
	体温			ラット	6	600	200	600及び2000 mg/kgで体温低下
腎機能	尿・電解質排泄	ラット	強制経口	6	200	60	200 mg/kg以上で尿量、Na ⁺ 、Cl ⁻ 排泄量増加	
消化器系	摘出回腸収縮	モルモット	<i>in vitro</i> 0、 2×10^{-7} 2×10^{-6} 2×10^{-5} (g/ml)	5		$>2 \times 10^{-5}$ (g/ml)	検体の直接影響なし 2×10^{-5} g/mLでBaCl ₂ 誘発収縮の抑制	
	小腸輸送	マウス	強制経口	8		>2000	影響なし	
骨格筋	握力	ラット		6		>2000	影響なし	
血液	血液凝固能	ラット		6		>2000	影響なし	
呼吸循環器系	呼吸数	豚	強制経口	3		>2000	影響なし	
	血圧					>2000	影響なし	
	心拍数					>2000	影響なし	
	心電図					>2000	影響なし	

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

2. 製剤

イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

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: 2000 年

検体純度: イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

[組成]	イソウロン	: 1.0%
	DBN	: 3.0%
	DCMU	: 6.0%
	鉱物質微粉	: 90.0%

供試動物: Crl:(WI)BR 系 Wistar ラット、7~8 週齢、体重; 雄 271~312 g、雌 169~204 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 15 日間観察

試験方法: 用量固定法 (限界試験)

投与方法: 検体を水に懸濁させ、投与前に夜から絶食させた動物に、1 回強制経口投与した。

観察・検査項目: 一般状態及び生死を 15 日間観察した。体重は投与直前、投与後 2、3、4、8 及び 15 日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄ともに >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	嗜眠、立毛が 2 時間後からみられ、2 日後に消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

嗜眠、立毛が 2 時間後からみられたが、2 日後に消失した。また、体重が最初の 1 週間は減少したが、2 週の間ですべて回復した。

試験期間中、死亡例は認められなかった。また、剖検所見にも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。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 製剤 2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

[組成]	イソウロン	; 1.0%
	DBN	; 3.0%
	DCMU	; 6.0%
	鉱物質微粉	; 90.0%

供試動物: Crl:NMRI BR 系マウス、7~8 週齢、体重; 雄 28~35 g、雌 28~34 g、

1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 15 日間観察

試験方法: 用量固定法 (限界試験)

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁させ、投与前に約 4 時間絶食させた動物に、1 回強制経口投与した。

観察・検査項目: 一般状態及び生死を 15 日間観察した。体重は投与直前、投与後 2、3、4、8 及び 15 日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄ともに >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	嗜眠、立毛、円背位、眼瞼下垂が 2 時間後からみられ、3 日後に消失
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 5000

1 日目の雄全動物に嗜眠が、雌動物に嗜眠、円背位及び立毛が認められたが 3 日後には消失した。試験期間中死亡例は認められなかった。また、体重並びに剖検所見にも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) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. 製剤 3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

[組成]	イソウロン	; 1.0%
	DBN	; 3.0%
	DCMU	; 6.0%
	鉱物質微粉	; 90.0%

供試動物: Wistar 系 Crl:(WI)BR ラット、10 週齢、体重; 雄 362~396 g、雌 236~303 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 15 日間観察

投与方法: 検体を水で懸濁させ、刈毛した背部皮膚に 24 時間塗布した。

観察・検査項目: 一般状態及び生死を 15 日間観察した。体重は投与直前、投与後 8 及び 15 日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄ともに >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	発現例なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

投与 1 日目、2 日目に雌雄に流涙過多がみられた以外、試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに投与部位を含めた剖検所見にも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。

4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 製剤 4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

[組成]	イソウロン	; 1.0%
	DBN	; 3.0%
	DCMU	; 6.0%
	鉱物質微粉	; 90.0%

供試動物: New Zealand White 雄ウサギ、実験開始時 7~11 週齢、体重 1.34~1.9 1kg、
1 群雄 6 匹

試験期間: 72 時間観察

試験方法: 4 時間の半閉塞適用。検体 0.5 g を 0.3 mL の水で湿らせてから 2×3 cm の金属製パッチにのせ、刈毛した 6 匹の動物の片側脇腹に適用した。4 時間半閉塞貼付し、適用後皮膚に残った検体は水を用いて取り除いた。

観察項目: 検体除去後 1、24、48 時間及び 72 時間に貼付部位の刺激性変化 (紅斑・痂皮、浮腫) の有無を観察し、Draize 法の評価基準に従って採点した。

一般状態は 1 日 1 回観察した。また、体重は適用日 (適用前) に測定した。

結 果:

動物 番号	項 目	最高 評点	除去後時間 (時間)			
			1	24	48	72
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
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	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

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。

皮膚変化（皮膚刺激性、腐食性）、一般状態に異常は認められなかった。

以上の結果から、イソウロン・DBN・DCMU 粒剤の皮膚刺激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。

5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.製剤 5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度: イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

[組成]	イソウロン	; 1.0%
	DBN	; 3.0%
	DCMU	; 6.0%
	鉱物質微粉	; 90.0%

供試動物: New Zealand White 雄ウサギ、実験開始時 7~10 週齢、体重 1.40~1.93 kg、

非洗眼群; 1 群雄 6 匹、洗眼群; 1 群雄 3 匹

観察期間: 14 日間観察

投与方法: 検体約 87 mg (0.1 mL 容量) を、非洗眼群及び洗眼群の計 9 匹について片眼に適用した。洗眼群は適用 2~3 分後に約 50 mL の水道水で約 30 秒間洗眼した。なお、非適用眼は無処置対照眼又は洗眼対照眼とした。

観察項目: 適用 1、24、48、72 時間後及び 7 日後あるいは 14 日後まで角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し Draize 法の基準に従って採点した。一般状態は投与開始前に健康状態の検査を実施した。その後は試験期間を通じて観察した。また、体重は適用日 (適用前) に測定した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次表に示した。

非洗眼群:

投与後 1 時間の観察において、評点 1 の角膜混濁、虹彩の異常、結膜発赤、結膜浮腫及び分泌物が認められ、適用 24 時間後には角膜にフルオレセインの染色斑が 4/6 例に観察された。刺激反応は適用 14 日後には全て消失した。平均値の最大値は 19 であった。

洗眼群:

角膜混濁、虹彩の異常は認められず、結膜発赤、結膜浮腫及び分泌物が認められたが、適用 7 日後には全て消失した。平均値の最大値は 9.3 であり、洗眼効果が認められた。

なお、各試験群とも、一般状態に異常は認められなかった。

以上の結果から、イソウロン・DBN・DCMU 粒剤は角膜、虹彩及び結膜に影響がみられた。腐蝕性は認められず、眼を洗浄することにより損傷の程度が減少した。「軽度の刺激性あり」と判断され、洗眼により刺激性が軽減されるものと推察された。

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。

項目			最高 評点*	適用後時間 (時間)					
				1	24	48	72	7日	14日
動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	1	1	0	0	0	0
		面積	4	4	2	2	0	0	0
	虹彩		2	1	1	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	3	3	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0	0
		分泌物	3	1	2	1	1	0	0
動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	1	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0	0
		分泌物	3	1	2	1	1	0	0
動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	1	0	0	0	0	0
		面積	4	1	1	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0	0
		分泌物	3	2	2	1	1	0	0
動物 番号 4	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0	0
		分泌物	3	2	2	1	1	0	0
動物 番号 5	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0
		面積	4	1	1	1	0	0	0
	虹彩		2	1	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0	0
		分泌物	3	2	2	1	1	0	0
動物 番号 6	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	1	0	0	0	0
	虹彩		2	1	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	1	0	0
		分泌物	3	1	2	1	1	0	0
合計**			660	114	107	65	50	12	0
平均合計スコア			110	19	17.8	10.8	8.3	2	0.0

*: 判定基準の最高評点、 **: Draize 法による評価点

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

(続き)

項目		最高 評点*	適用後時間 (時間)						
			1	24	48	72	7日		
洗 眼 群	動物 番号 7	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0
		紅彩		2	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	0
			浮腫	4	2	1	0	0	0
			分泌物	3	1	1	0	0	0
	動物 番号 8	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0
		紅彩		2	2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
			浮腫	4	1	1	0	0	0
			分泌物	3	1	0	0	0	0
	動物 番号 9	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0
		紅彩		2	2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	0
			浮腫	4	2	1	1	1	0
			分泌物	3	1	1	1	0	0
	合計**			330	28	22	14	12	0
	平均合計スコア			110	9.3	7.3	4.7	4.00	0.0

* : 判定基準の最高評点、** : Draize 法による評価点

Draize 法

角膜混濁 (程度×面積×5) 最高 80

紅彩×5 最高 10

結膜 (発赤+浮腫+分泌物) × 2 最高 20

各群の平均合計スコアから Kay Calandra の分類により眼刺激性強度を分類

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 6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体純度: イソウロン・DBN・DCMU 粒剤

[組成]	イソウロン	; 1.0%
	DBN	; 3.0%
	DCMU	; 6.0%
	鉱物質微粉	; 90.0%

供試動物: Hartley 系雌モルモット、実験開始時 5 週齢、体重 299.0 ~ 346.76 g、

検体感作群; 10 匹、対照群 (陰性及び陽性); 各 5 匹

観察期間: 72 時間観察

試験方法: Maximization 法

投与量設定根拠: 先に行った皮膚刺激性試験結果及び試験指針に基づいて決定し、感作における経皮投与濃度は 2.5%、惹起濃度は 5% とした。

感 作: 1 回目感作では感作開始日 (0 日) にあらかじめ刈毛・剃毛した肩甲骨上の皮膚に、陰性対照、検体、陽性対照と FCA の混合物及び検体、陽性対照を予定部位に左右対称に 0.05 mL ずつ皮内注射した。2 回目感作では、6 日後に同部位を刈毛・剃毛後、10% SLS (ワセリン中) 0.5 mL を均一に塗布し、翌日、2×4 cm のリント布に各試料 0.2 mL 又は 0.2 g を塗布し 48 時間閉塞貼付した。

惹 起: 皮内感作 14 日後に、左右側胸部を刈毛・剃毛し、翌日、2×2 cm のリント布に各試料 0.1 mL 塗布し、脇腹に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目: 検体除去 48 及び 72 時間後に惹起部位の紅斑・痂皮及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、Magnusson & Kligman の基準により採点した。

結 果: 各観察時間において皮膚反応が認められた動物数及びその評点を下記に示す。

群	供試動物数	感作物質		惹起物質	感作反応動物数								平均評点		陽性感作率 (%)		
		皮内	経皮		48 時間				72 時間				48 時間	72 時間			
					皮膚反応評点												
					0	1	2	3	0	1	2	3					
検体	感作群	10	2.5%検体	2.5%検体	25%検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
	非感作群	5	注射用水	注射用水	25%検体	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照群	5	DNCB 0.1%	DNCB 0.1%	DNCB 0.01%	0	0	4	1	0	1	4	0	2.2	1.8	5	100	
	5			DNCB 0.1%	0	0	0	5	0	0	0	5	3.0	3.0	5	100	

DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene、感作陽性率 (%) = 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

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。

検体感作群及び非感作群の陽性率は0%であった。

一方、陽性対照群のDNCBは評点2～3の皮膚反応が認められた。

以上の結果から、イソウロン・DBN・DCMU粒剤の皮膚感作性はないと判断された。

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

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 1-1 GLP	動物 代謝	ラット	[吸収、分布、排泄] を を 0.5% CMC、Na、 0.5% Tween 80 に懸濁し、高 用量群には 100 mg/kg、低用 量群には 10 mg/kg を投与し た。	血漿中濃度は投与量に比例した濃 度上昇がみられなかった。 胆汁中排泄試験では投与量による 代謝、排泄パターンが異なることが 示唆された。	(2000年)	代 -8
			(血漿中濃度測定) 血漿中放射能濃度を測定し、 AUC ₀₋₁₆₈ を求め、168 時間以 降の AUC _{168-∞} を加えた AUC _{0-∞} を算出し、また、実 測値から C _{max} 及び t _{max} を求 めた。	10 mg/kg 投与群では速やかに上 昇し、0.5~0.75 時間に最高濃度に 到達したが、その後速やかに減衰 した。100 mg/kg 投与群でも速や かに上昇したが、その後同等の濃 度で推移し、減衰した。投与量に 比例した濃度上昇はみられず、最 高濃度は 10mg/kg 投与群の 3.3~ 5.3 倍であった。		
			(尿・糞・呼気中排泄測定) 投与後、糞・尿及び呼吸を採 取し、この試料中放射能濃度 を求めた。	両投与群とも排泄パターンに性差 及び用量差はなく、尿・糞中排泄 量を合わせた総排泄率は約 96% で あった。また、呼気中への排泄は 認められなかった。		
			(胆汁及び尿・糞中排泄率測 定) 胆管挿入ラットに被検物質 を投与後、胆汁は投与後 3、 6、12、24 及び 48 時間、糞 及び尿は 24 時間及び 48 時間 に放射能量を測定した。	10 mg/kg 投与群での消化管吸収 率は、93.9~98.5% であった。100 mg/kg 投与群では、投与量による 排泄パターンに差が認められ、消 化管吸収率は 75.0~75.5% であ った。		
			(組織内濃度・分布率測定) 低用量群及び高用量群の動 物を放血致死後組織を摘出 し、放射能濃度を測定し、ま た放射能投与量% を求めた。	両用量群とも、放射能は脂肪、肝 臓及び腎臓等に速やかに移行し た。投与 168 時間後では、大部分 の組織放射能濃度は検出限界以下 となり、残留性は認められなかつ 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。

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 1-2 GLP			[代謝物の測定] 資料番号代謝 1-1 において得られた試料について、HPLC 法を用いて代謝物の前処理及び定量法を推定代謝物標品と比較検討した。	主要代謝物：		代 17
代謝 1-3 GLP	動物 代謝	ラット	[糞尿及び胆汁中代謝物の構造推定] 資料番号代謝 1-1 において、投与量の 5%以上の排泄率で生成する代謝物の MS 分析による構造推定を行った。	以下の代謝物の存在が示唆された：	(2000 年)	代 35
代謝 1-4 GLP			[糞尿及び胆汁中代謝物の分析] 資料番号代謝 1-1 において得られた排泄物及び組織試料中の代謝物の分析を行った。	まとめ：尿中及び胆汁中に投与量の 5%を超える代謝物が検出されたが、未変化体は検出されなかった。糞中には投与量 5%を超える代謝物及び未変化体は検出されなかった。DBN は速やかに吸収され、肝臓で水酸化を受けた後、グルタチオン、硫酸もしくはグルクロン酸に抱合され、グルタチオン抱合体は主に胆汁中に排泄された後再吸収され、メルカプツール酸誘導体に代謝され尿中に排泄された。硫酸及びグルクロン酸抱合体は主に尿中に排泄された。		代 40

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。

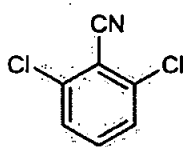
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	主な結果	試験場所 (報告年)	記載頁
代謝 2 省略	植物代謝			食品の用に供される農作物以外の農作物に使用される場合に該当するため試験省略		代 45
代謝 3 省略	土壌中動態	好氣的湛水土壌		水田において使用されないため試験省略		代 46
代謝 4 GLP	土壌中動態	好氣的土壌		をアセトンに溶解して非標識 DBN を加え実用処理量相当の 6 µg/g の割合で均一に土壌と混合し、この土壌を 25℃ の土壌分解装置内暗所で 6 ヶ月間培養した。	土壌中半減期 (DT ₅₀) は約 38 日、90%減衰期 (DT ₉₀) は約 290 日であった。主な代謝物は	(2000 年) 代 47
代謝 5 GLP	の土壌中動態	嫌氣的土壌	投与方法： 嫌氣土壌 [砂壤土 (pH 6.9)] に 6.56 mg/kg の割合で処理し、窒素ガスで還元状態を維持しながら、暗所下、25±2℃ でインキュベート	標準化合物： 試験採取： 処理 180 日後まで土壌を採取		(2002) 代 53
代謝 6 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℃の条件下で、5 日後の残留率をみた。	5 日後の平均残留率 pH = 4.0 : 97.8% pH = 7.0 : 97.4% pH = 9.0 : 92.4% 各 pH とも 25℃での半減期は 1 年以上と考えられる。	(2000 年)	代 57
代謝 7 GLP	水中光分解動態	自然水 緩衝液 (pH 5, 7, 9)	試験液として 1.04 mg/L に設定、を調製し、照射 7 日後まで経時的に分析した。暗対照区も設けた。	東京 (北緯 35 度) の春の太陽光換算の推定半減期： 自然水 (2.19 日) pH 5 緩衝液 (6.81 日) pH 7 緩衝液 (5.39 日) pH 9 緩衝液 (4.59 日) 暗対照区ではほとんど分解されなかった。	(2003)	代 59

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 9 GLP	の加水分解性	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℃の条件下で、5日後の残留率をみた。		(2001年)	代-67
代謝 10 GLP	の水中光分解性	滅菌した蒸留水	試験液として 5.00 mg/L にを調製し、光照射 30 日後まで経時的に分析した。暗対照区も設けた。		(2001年)	代-69
代謝 8 GLP	の土壌吸着性	4 土壌	濃度 : 0.04~5 mg/L 温度 : 25 ± 1℃		(2000年)	代-71
代謝 11 GLP	の土壌吸着性	4 土壌	濃度 : 1.00~50.0 mg/L 温度 : 25 ± 1℃		(2001年)	代-73

*東京(北緯 35 度)の春の太陽光換算の推定半減期は申請者が算出

<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	DBN	2,6-ジクロロベンゾニトリル (2,6-dichloroben-zonitril)	

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

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

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	

[標識位置の選定理由]

DBN はベンゼン環を有しており、これが代謝的に最も安定と考えられたことから、ベンゼン環の炭素を で均一標識した化合物（ベンゼン環標識 DBN）を各種代謝分解試験に使用した。

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) を用いたラットにおける吸収、分布及び排泄

(資料 No.代謝 1-1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物:

名称;

化学名;

構造式;

ロット番号;

放射化学的純度; %

比活性; 1.96 GBq/mmol (11.28 MBq/mgCi/mg)

標識位置の選定理由; 代謝分解経路の終末まで追跡できるように、DBN の基本骨格であるベンゼン環を標識位置とした。

非標識化合物:

名称; DBN (2,6-ジクロロベンゾニトリル)

化学名; 2,6-dichlorobenzonitrile

ロット番号;

純度; %

供試動物: Crj:CD(SD)BR 系ラット、8 週齢、1 群雌雄各 4 匹、体重範囲; 雄 262~324 g、
雌 184~239 g

試験期間: 1999 年 1 月 26 日~2000 年 5 月 29 日

試験方法:

試験群; 血漿中濃度測定試験 一高用量及び低用量投与群雌雄各 4 匹
尿、糞、呼気中排泄率測定試験 一高用量及び低用量投与群雌雄各 4 匹
胆汁及び尿、糞中排泄率測定試験 一高用量及び低用量投与群雌雄各 4 匹
組織内濃度、分布率測定試験 一高用量及び低用量投与群雌雄各 12 匹、
(投与後 3 時点について雌雄各 4 匹を使用)

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

投 与： 及び非標識 DBN を 0.5%CMC-Na、Tween 80 を含む水溶液に懸濁し、投与液を調製した。

低用量は 10 mg/kg、高用量は 100 mg/kg とし、単回強制経口投与した。

用量設定根拠；4 週間反復経口投与試験において有意な毒性学的変化のみられた 100 mg/kg を高用量とし、低用量はその 1/10 の 10 mg/kg とした。

血漿中濃度測定試験；

検体投与後 15 分～168 時間に 13 回、尾静脈から約 120 μ L を採取し、ヘパリン Na 処理したマイクロチューブに移して、遠心分離し、血漿 50 μ L を採取した。この血漿中放射能濃度を測定し、血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-168}) を求め、減衰相の傾きから算出した 168 時間以降の $AUC_{168-\infty}$ を加えた $AUC_{0-\infty}$ を算出した。また、実測値から最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び最高血漿中濃度到達時間 (t_{max}) を求めた。

尿、糞、呼気中排泄率測定；

検体投与後、動物を代謝ケージに個別に収容し、72 時間まで 24 時間間隔、以降 168 時間まで 48 時間間隔で糞・尿及び呼気を採取した。尿は投与後 6 時間及び 12 時間にも採取し、この試料中放射能濃度を求めた。また、この動物を組織内濃度・分布率測定に使用した。

胆汁及び尿、糞中排泄率測定；

胆管にカニューレを挿入したラットに検体を投与し、フリュームビンク装置を装着した上で個別に代謝ケージに収容した。胆汁は投与後 3、6、12、24 及び 48 時間に、糞及び尿は 24 時間及び 48 時間に採取し、放射能を測定した。48 時間の試料収集期間終了後、動物を放血致死させ、消化管及びその他のカーカス中放射能を個別に測定した。

組織内濃度、分布率測定、；

低用量群は投与後 1、24 及び 168 時間、高用量群は投与後 4、24 及び 168 時間後に動物を放血致死させ、以下の組織を摘出し、放射能濃度を測定した。

血液、血漿、大脳、小脳、下垂体、眼球、胸腺、顎下腺、甲状腺、心臓、肺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、膵臓、大腿筋、大腿骨、大腿骨骨髓、脂肪（腎臓周囲）、褐色脂肪、皮膚、腸間膜リンパ節、胃、小腸、大腸、胃内容物、小腸内容物、大腸内容物、前立腺、精巣、卵巣、子宮、カーカス（168 時間後ラットについて）

放射能の測定；

投与液、生体試料、洗浄液等の液体試料についてはシンチレーションカクテル (LSC) を加えて LSC にて放射能を測定した。糞及び消化管内容物試料についてはホモジ

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。

ナイザーで懸濁液とした上で組織溶解剤を加えて処理した後、LSCで放射エネルギーを測定した。組織については重量を測定し、組織溶解剤を加えて処理した後、放射エネルギーをLSCで測定した。カーカスは水酸化ナトリウム水溶液及びトルエンで溶解し、シンチレーションカクテルを加えてLSCで放射エネルギーを測定した。

試験結果：

吸収・排泄

血漿中濃度推移：

各群の血漿中放射能濃度推移並びに最高濃度到達時間 (t_{max})、最高濃度 (C_{max})、濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) 及び消失半減期 ($t_{1/2}$) を下表に示した。

時間 (hr)	放射能濃度 (µg equivalent of DBN/mL)			
	10 mg/kg		100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0.25	1.97	2.35	5.4	4.3
0.5	2.98	4.01	10.6	7.6
1	9.10	3.70	14.3	9.8
2	2.29	2.89	15.3	11.8
4	1.23	1.38	15.4	12.4
6	0.68	0.97	14.7	12.4
8	0.54	0.66	14.2	11.6
12	0.30	0.36	9.8	10.0
24	0.06	0.10	1.3	1.9
48	ND	0.07	ND	0.4
72	ND	ND	ND	ND
120	ND	ND	ND	ND
168	ND	ND	ND	ND
t_{max}	0.75	0.50	6.0	6.5
C_{max} (µg eq/mL)	3.23	4.01	17.0	13.4
$AUC_{0-\infty}$ (µg·hr/mL)	15.92	22.10	242.6	236.3
$t_{1/2}$ (hr)	4.99	5.69	4.23	9.42

ND：検出せず

の経口投与後、10 mg/kg 投与群では血漿中放射能濃度が速やかに上昇し、0.5~0.75 時間に最高濃度に到達し、DBNは消化管から速やかに吸収されることが示唆された。その後、雌雄とも24時間までは5~5.7時間の半減期で速やかに減衰し、末梢組織への移行及び排泄が速やかであることが推察された。雌は24時間以後、減衰が速やかとなり、二相性の推移が認められたが残留傾向は示されなかった。

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。

100 mg/kg 投与群でも血漿中濃度は速やかに上昇したが、1~2 時間以降 8 時間までは同等の濃度で推移し、その後 4.2~9.4 時間の半減期で減衰した。最高濃度は 10 mg/kg 投与群の 3.3~5.3 倍にとどまり、投与量に比例した濃度上昇がみられなかった。

尿、糞、呼気中排泄；

各群の糞尿中累積放射能排泄量の投与量に対する比率を下表に示した。

10 mg/kg 及び 100 mg/kg 投与群とも、
の経口投与後の放射能の糞尿中排泄パターンに性差及び用量差が認められず、ケージ洗浄液を含めた尿中排泄率は投与放射能の 74~80% が尿中であり、糞中排泄量を合わせた総排泄率は約 96% であった。主要排泄経路は尿中であり、血漿中濃度の速やかな低下に排泄も寄与していることが示唆された。また、呼気中への排泄は認められなかった。

性別	時間	累積放射能排泄量 (投与量%)									
		10 mg/kg					100 mg/kg				
		尿	糞	呼気	ケージ 洗浄液	合計	尿	糞	呼気	ケージ 洗浄液	合計
雄	0-6	33.7	-	-	1.7	34.5	13.0	-	-	0.8	13.7
	-12	65.5	-	-	2.9	68.4	35.0	-	-	2.2	37.1
	-24	74.9	16.2	<0.1	3.1	94.3	74.0	10.8	<0.1	2.8	87.6
	-48	75.6	17.2	<0.1	3.2	96.1	76.8	15.4	<0.1	2.8	95.1
	-72	75.8	17.4	<0.1	3.2	96.4	77.0	15.7	<0.1	2.8	95.5
	-120	75.9	17.5	<0.1	3.2	96.6	77.1	15.7	<0.1	2.9	95.7
	-168	76.0	17.5	<0.1	3.2	96.8	77.2	15.8	<0.1	2.9	95.9
雌	0-6	49.3	-	-	3.6	52.9	9.5	-	-	1.9	11.4
	-12	70.4	-	-	4.1	74.5	27.2	-	-	5.3	32.6
	-24	74.1	14.0	<0.1	4.2	92.4	60.0	10.1	<0.1	6.9	77.0
	-48	74.8	16.6	<0.1	4.2	95.6	66.0	20.7	<0.1	7.1	93.7
	-72	74.9	17.0	<0.1	4.2	96.2	66.4	22.0	<0.1	7.1	95.5
	-120	75.1	17.1	<0.1	4.2	96.4	66.6	22.2	<0.1	7.1	96.0
	-168	75.1	17.2	<0.1	4.2	96.5	66.8	22.2	<0.1	7.2	96.2

-: 測定せず

胆汁及び尿、糞中排泄；

各群の胆管結紮ラットにおける糞、尿及び胆汁中累積放射能排泄量の投与量に対する比率を次表に示した。

10 mg/kg 投与群では、胆管結紮ラットの
の単回経口投与後の消化管吸収を受けた放射能の主要排泄経路は胆汁中 (69~83%) であり、無処置ラットでは尿中への排泄が主要な経路であることから、胆汁を介して消化管内に分泌された放射能が再吸収される腸管循環の存在が示唆された。糞中に排泄された未吸収の放射能量を差し

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。

引いた消化管吸収率は雄が 93.9%、雌が 98.5%であった。100 mg/kg 投与群でも胆汁中への排泄が認められたが、雌雄とも尿中への排泄率を下回っており、投与量により排泄パターンが異なる可能性が推測された。消化管吸収率は雌が 75.0%、雄が 75.5%であった。消化管内に約 20%の放射能が残留し、胆汁を体外に導出したことによる動態の変化と考えられた。

性別	時間	累積放射能排泄量 (投与量%)									
		10 mg/kg					100 mg/kg				
		尿	糞	胆汁	ケージ洗淨液	合計	尿	糞	胆汁	ケージ洗淨液	合計
雄	0-3	—	—	27.0	—	27.0	—	—	1.8	—	1.8
	-6	—	—	48.6	—	48.6	—	—	4.6	—	4.6
	-12	—	—	77.8	—	77.8	—	—	11.9	—	11.9
	-24	22.6	6.0	82.0	1.5	112.1	20.8	1.0	25.4	4.5	61.8
	-48	23.0	6.1	82.6	1.6	113.3	35.3	1.4	30.4	6.1	73.2
	腸管残留量					<0.1					23.1
	体内残留量					0.4					1.2
	合計					113.7					97.5
雌	0-3	—	—	20.8	—	20.8	—	—	0.6	—	0.6
	-6	—	—	42.5	—	42.5	—	—	2.7	—	2.7
	-12	—	—	60.2	—	60.2	—	—	11.7	—	11.7
	-24	29.5	0.6	68.4	2.3	100.7	31.0	0.3	22.8	4.2	58.3
	-48	30.0	0.8	68.8	2.4	102.1	32.5	0.6	26.3	4.7	64.0
	腸管残留量					0.7					24.4
	体内残留量					0.7					1.8
	合計					103.5					93.3

—: 測定せず

胆汁及び尿・糞中排泄率測定試験；

組織内濃度、分布；

各群の臓器、組織中放射能推移及び投与放射能に対する比率 (%) を次表に示した。

両用量群とも、吸収された放射能は速やかに脂肪、肝臓及び腎臓等に移行し、投与後初期段階においては脂肪組織中放射能濃度が顕著に高かった。その後、排泄に伴ってこれらの組織中放射能濃度は速やかに減衰し、168 時間後では肝臓及び腎臓に極めて少量の放射能が認められるものの、大部分の組織中放射能濃度は検出限界以下となり、残留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。

投与量	組織	放射能濃度 (µg equivalent of DBN/g or mL)					
		雄			雌		
		1時間	24時間	168時間	1時間	24時間	168時間
10 mg/kg	血液	2.10 (1.46)	0.06 (0.04)	0.02 (0.02)	2.71 (1.88)	0.12 (0.09)	0.02 (0.02)
	血漿	2.92 (1.16)	0.06 (0.02)	ND (ND)	3.46 (1.37)	0.13 (0.06)	ND (ND)
	大脳	1.67 (0.09)	0.03 (<0.01)	ND (ND)	2.33 (0.16)	0.07 (<0.01)	ND (ND)
	小脳	1.63 (0.02)	0.03 (<0.01)	ND (ND)	2.10 (0.03)	0.08 (<0.01)	ND (ND)
	下垂体	1.9 (<0.01)	ND (<0.01)	ND (ND)	2.9 (<0.01)	ND (<0.01)	ND (ND)
	眼球	0.547 (<0.01)	0.043 (<0.01)	ND (ND)	0.717 (<0.01)	ND (<0.01)	ND (ND)
	顎下腺	1.80 (0.03)	0.04 (<0.01)	ND (ND)	2.34 (0.04)	0.10 (<0.01)	ND (ND)
	甲状腺	2.3 (<0.01)	ND (<0.01)	ND (ND)	3.1 (<0.01)	ND (<0.01)	ND (ND)
	胸腺	1.12 (0.02)	0.03 (<0.01)	ND (ND)	1.58 (0.04)	0.06 (<0.01)	ND (ND)
	肺	2.23 (0.09)	0.11 (<0.01)	0.03 (<0.01)	2.68 (0.12)	0.16 (<0.01)	0.03 (<0.01)
	心臓	1.86 (0.06)	0.04 (<0.01)	ND (ND)	2.39 (0.07)	0.09 (<0.01)	ND (ND)
	肝臓	7.91 (2.47)	0.64 (0.33)	0.18 (0.09)	9.59 (3.04)	0.67 (0.37)	0.16 (0.08)
	腎臓	13.9 (1.11)	0.34 (0.03)	0.06 (<0.01)	12.8 (1.01)	0.55 (0.05)	0.07 (<0.01)
	副腎	4.03 (<0.01)	0.06 (<0.01)	ND (ND)	6.37 (0.02)	0.13 (<0.01)	ND (ND)
	脾臓	1.05 (0.02)	0.03 (<0.01)	ND (ND)	1.39 (0.03)	0.07 (<0.01)	ND (ND)
	膵臓	3.00 (0.08)	0.04 (<0.01)	ND (ND)	3.18 (0.12)	0.09 (<0.01)	ND (ND)
	大腿筋	0.87	0.02	ND	1.23	0.06	ND
	大腿骨	0.19	ND	ND	0.24	0.03	ND
	大腿骨骨髓	13.2	ND	ND	1.8	ND	ND
	腸管膜リンパ節	3.07 (0.01)	ND (<0.01)	ND (ND)	4.80 (0.02)	0.09 (<0.01)	ND (ND)
	褐色脂肪	16.6 (0.08)	0.06 (<0.01)	ND (ND)	19.3 (0.08)	0.13 (<0.01)	ND (ND)
	腎臓周囲脂肪	24.7	0.05	ND	37.2	0.12	ND

器官・組織中放射能濃度、()内は放射能投与量%

ND: 検出せず、-: 分析せず

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。

(続き)

投与量	組織	放射能濃度 (µg equivalent of DBN/g or mL)					
		雄			雌		
		1時間	24時間	168時間	1時間	24時間	168時間
10 mg/kg	皮膚	3.61	0.12	0.06	5.34	0.18	0.06
	精巣/卵巣	0.91	0.03	ND	4.63	0.10	ND
		(0.09)	(<0.01)	(ND)	(0.02)	(<0.01)	(ND)
	前立腺/子宮	2.193	0.050	ND	1.79	0.08	ND
		(0.02)	(<0.01)	(ND)	(0.03)	(<0.01)	(ND)
	胃	26.5	0.04	ND	20.3	0.10	ND
		(1.38)	(<0.01)	(ND)	(1.14)	(<0.01)	(ND)
	小腸	15.3	0.12	ND	18.4	0.26	ND
		(2.92)	(0.03)	(ND)	(3.90)	(0.06)	(ND)
	大腸	1.94	0.16	ND	1.93	0.47	ND
		(0.18)	(0.02)	(ND)	(0.21)	(0.05)	(ND)
胃内容物	26.94	0.09	ND	8.08	0.11	ND	
小腸内容物	13.06	0.21	ND	16.24	0.52	ND	
大腸内容物	0.13	0.39	ND	0.16	1.29	ND	
カーカス	—	—	(0.17)	—	—	(0.15)	

器官・組織中放射能濃度、() 内は放射能投与量%

ND: 検出せず、—: 分析せず

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。

投与量	組織	放射能濃度 (µg equivalent of DBN/g or mL)					
		雄			雌		
		4 時間	24 時間	168 時間	4 時間	24 時間	168 時間
100 mg/kg	血液	10.4	1.3	ND	12.3	3.3	ND
		(0.70)	(<0.10)	(ND)	(0.82)	(0.24)	(ND)
	血漿	11.6	1.9	ND	11.6	5.1	ND
		(0.44)	(0.08)	(ND)	(0.44)	(0.21)	(ND)
	大脳	10.8	0.5	ND	13.6	1.4	ND
		(0.06)	(<0.01)	(ND)	(0.09)	(<0.01)	(ND)
	小脳	9.8	0.5	ND	12.2	1.3	ND
		(0.01)	(<0.01)	(ND)	(0.02)	(<0.01)	(ND)
	下垂体	10	ND	ND	11.0	ND	ND
		(<0.01)	(<0.01)	(ND)	(<0.01)	(<0.01)	(ND)
	眼球	3.47	0.57	ND	4.09	1.05	ND
		(<0.01)	(<0.01)	(ND)	(<0.01)	(<0.01)	(ND)
	顎下腺	10.6	0.8	ND	12.7	1.8	ND
		(0.02)	(<0.01)	(ND)	(0.02)	(<0.01)	(ND)
	甲状腺	16	ND	ND	15	2	ND
		(<0.01)	(ND)	(ND)	(<0.01)	(<0.01)	(ND)
	胸腺	8.9	0.5	ND	6.7	1.1	ND
		(0.02)	(<0.01)	(ND)	(0.02)	(<0.01)	(ND)
	肺	12.9	1.5	0.2	12.1	3.1	ND
		(0.05)	(<0.01)	(<0.01)	(0.05)	(0.01)	(ND)
	心臓	18.5	0.8	ND	12.6	2.1	ND
		(0.06)	(<0.01)	(ND)	(0.04)	(<0.01)	(ND)
	肝臓	37.6	7.2	1.4	44.7	12.2	1.5
(1.10)		(0.39)	(0.07)	(1.39)	(0.61)	(0.06)	
腎臓	32.3	10.7	0.6	33.3	21.8	1.2	
	(0.25)	(0.09)	(<0.01)	(0.27)	(0.18)	(<0.01)	
副腎	24.1	1.2	ND	31.0	3.6	ND	
	(<0.01)	(<0.01)	(ND)	(<0.01)	(<0.01)	(ND)	
脾臓	7.0	0.7	ND	8.0	1.2	ND	
	(0.01)	(<0.01)	(ND)	(0.02)	(<0.01)	(ND)	
膵臓	16.0	0.9	ND	17.9	3.3	ND	
	(0.05)	(<0.01)	(ND)	(0.07)	(0.01)	(ND)	
大腿筋	5.8	0.4	ND	7.3	0.9	ND	
大腿骨	1.3	0.4	ND	1.5	0.4	ND	
大腿骨骨髓	9	ND	ND	8	ND	ND	
腸管膜リンパ節	31.3	1.3	ND	29.5	3.9	ND	
	(0.01)	(<0.01)	(ND)	(0.01)	(<0.01)	(ND)	
褐色脂肪	134	2.2	ND	103	10.9	ND	
	(0.08)	(<0.01)	(ND)	(0.05)	(<0.01)	(ND)	
腎臓周囲脂肪	254	5.8	ND	258	24.4	ND	

器官・組織中放射能濃度、() 内は放射能投与量%

ND: 検出せず、-: 分析せず

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。

(続き)

投与量	組織	放射能濃度 (µg equivalent of DBN/g or mL)					
		雄			雌		
		4 時間	24 時間	168 時間	4 時間	24 時間	168 時間
100 mg/kg	皮膚	23.8	2.8	0.9	25.6	4.5	0.5
	精巣/卵巣	5.6	0.6	ND	30.0	3.8	ND
		(0.05)	(<0.01)	(ND)	(0.02)	(<0.01)	(ND)
	前立腺/子宮	10.8	0.89	ND	9.3	2.2	ND
		(0.01)	(<0.01)	(ND)	(0.01)	(<0.01)	(ND)
	胃	190	4.3	ND	115	5.9	ND
		(0.95)	(0.02)	(ND)	(0.63)	(0.03)	(ND)
	小腸	107	10.2	ND	106	22.5	ND
		(2.14)	(0.21)	(ND)	(2.14)	(0.44)	(ND)
	大腸	11.8	13.8	ND	22.1	16.0	ND
		(0.11)	(0.12)	(ND)	(0.22)	(0.17)	(ND)
胃内容物	43.17	1.02	ND	18.89	1.25	ND	
小腸内容物	11.21	1.67	ND	14.21	4.58	ND	
大腸内容物	0.34	3.29	0.01	3.93	8.39	0.01	
カーカス	—	—	(0.29)	—	—	(0.28)	

器官・組織中放射能濃度、() 内は放射能投与量%

ND: 検出せず、—: 分析せず

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。

- 2) を用いたラットにおける糞尿及び胆汁中代謝物(代謝物の前処理及び定量法検討)と測定

(資料 No.代謝 1-2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物:

名称;
化学名;
構造式;

ロット番号;

放射化学的純度; %

比活性; 1.96 GBq/mmol (11.28 MBq/mguCi/mg)

標識位置の選定理由; 代謝分解経路の終末まで追跡できるように、DBN の基本骨格であるベンゼン環を標識位置とした。

非標識化合物:

名称; DBN (2,6-ジクロロベンズニトリル)

化学名; 2,6-dichlorobenzonitrile

ロット番号;

純度; %

供試動物: Crj:CD(SD)BR 系ラット、8 週齢、1 群雌雄各 4 例、体重範囲; 雄 262~324 g、雌 184~239 g

試験期間: 1999 年 4 月 1 日~2000 年 5 月 23 日

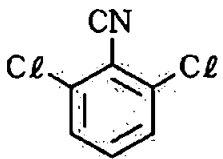
試験方法: ラットにおける吸収、分布及び排泄試験(資料番号 代謝 1-1)において得られた 10 mg/kg 投与群の以下の試料について、HPLC 法で推定代謝物標品と比較した。試料は -20℃で保管されたものを使用した。

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。

[対象試料]

群番号	試料	性	採取時間 (hr)	動物数
1	尿・糞中排泄試験	雄	0~24	4
2		雌		4
3		雄		4
4		雌		4
5	胆汁及び尿・糞中排泄試験	雄	0~12	4
6		雌		4

[推定代謝物標品]

ロット番号	化学名	構造式
	2,6-dichlorobenzonitrile (DBN)	

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。

試験方法及び試験結果：

前処理（尿）；試料にエタノールを加えて抽出し、上清及び水に再溶解した沈殿中放射エネルギーを測定した。また、試料の pH を 1N 塩酸で 2 に調整し、ジエチルエーテルで抽出、上清及び水に再溶解した沈殿中放射エネルギーを測定した。

結果は以下の通りであった。

エタノールでの抽出率は 95% を超えていることから、前処理にはエタノール抽出法を採用することにした。

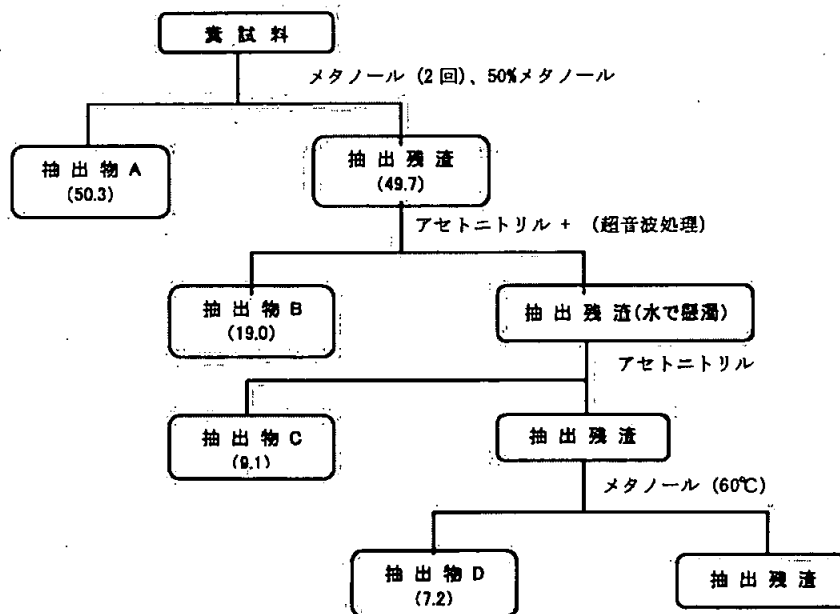
抽出溶媒	群番号	放射エネルギー (%)	
		抽出液	抽出残渣
エタノール	1	97.4	2.6
	2	98.0	2.0
ジエチルエーテル	1	41.9	58.1
	2	62.3	37.7

前処理（糞）；

溶液試料については液体シンチレーター（ACS II）を加えて放射エネルギーを測定した。沈殿物については組織溶解液（バイオメリット）を加えて溶解槽（50℃）で溶解した後、液体シンチレーター（ハイオニックフロー）を加えて放射エネルギーを測定した。

検討した抽出法及び抽出結果は次の通りであった（数値は放射能回収率を示す）。

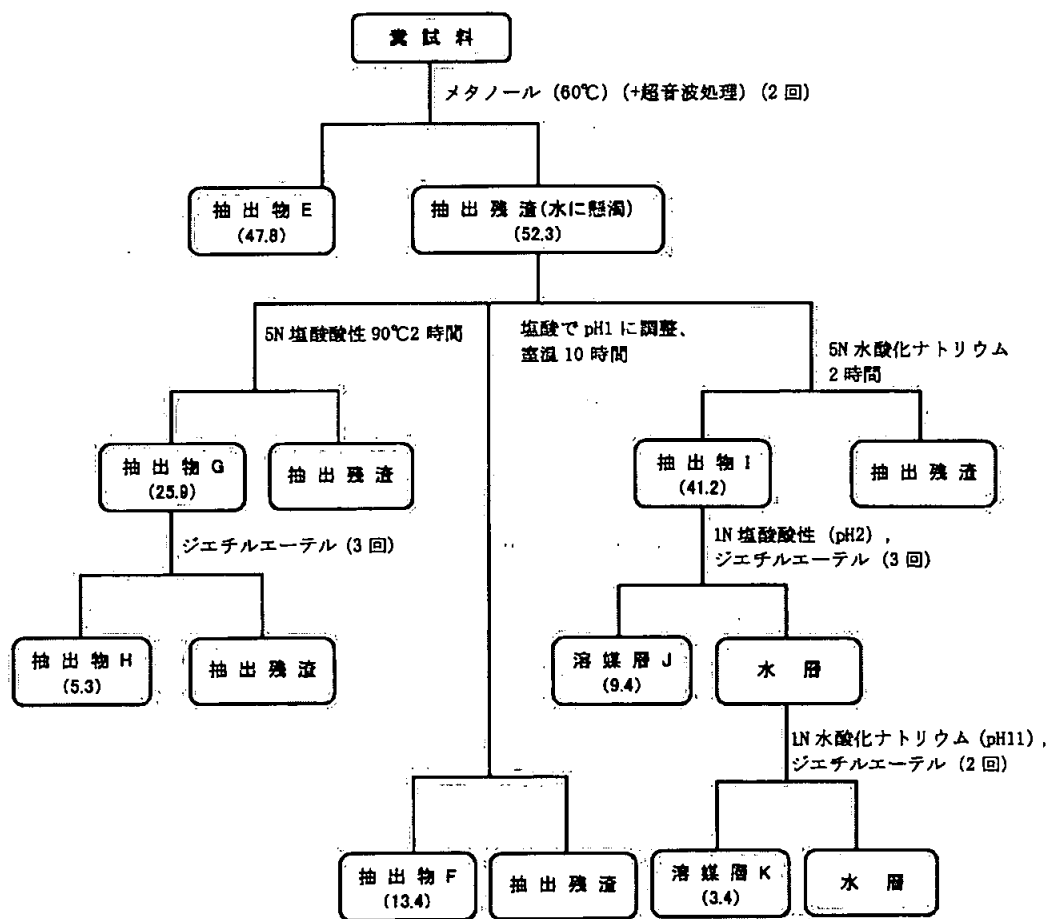
検討 1~3



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

メタノール抽出での回収率は約 50%であった。メタノール抽出残渣のアセトニトリル抽出後、その残渣について 60℃メタノール抽出を行ったが、抽出率の向上は認められなかった。

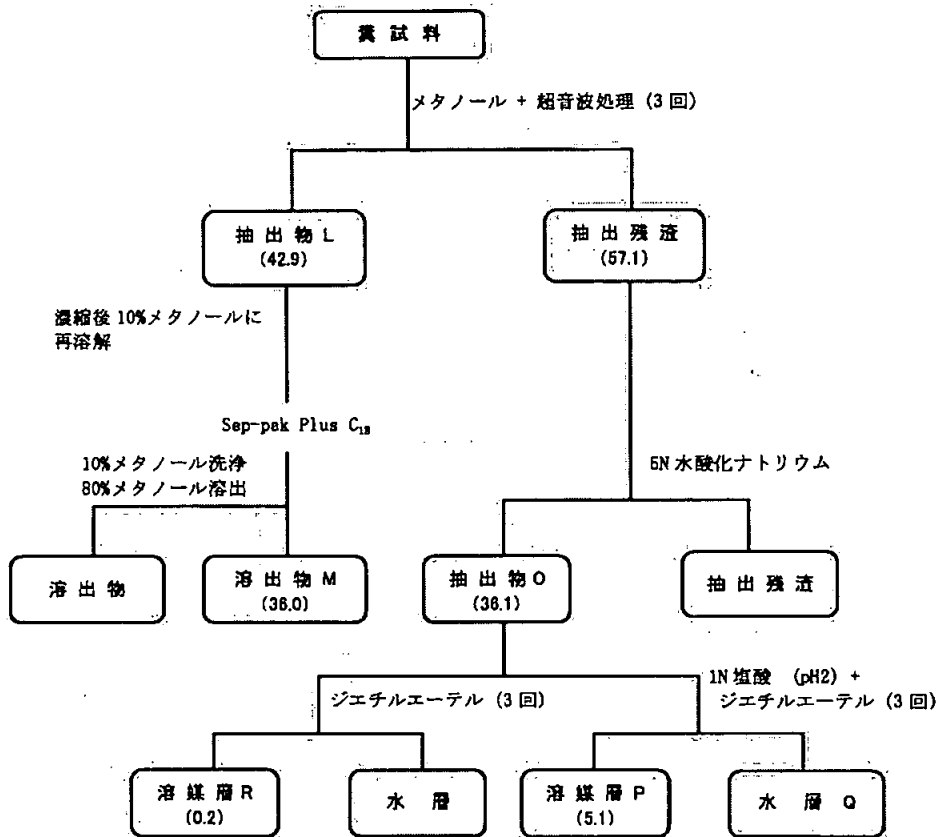
検出 4~7



酸性水抽出、酸性熱水抽出での酸性溶液への放射能移行率は低かった。アルカリ条件での放射能の移行率は高かったが、その後の有機溶媒での回収が難しく、総回収率は改善されなかった。

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。

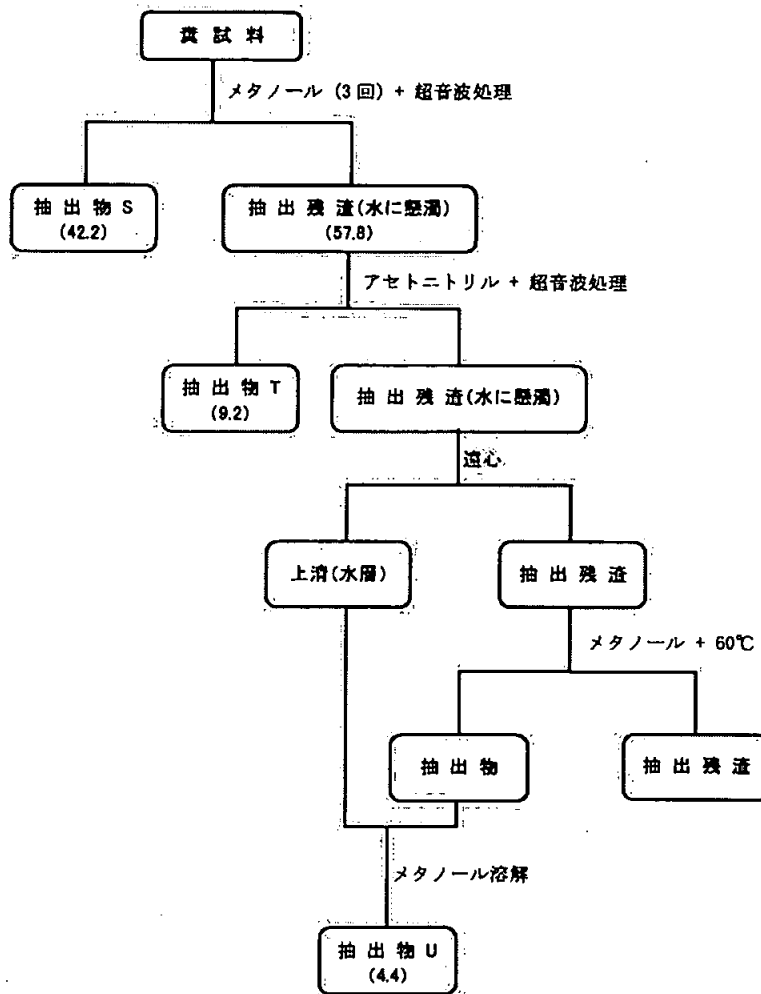
検討 8~10



メタノール抽出後、Sep-pak plus C18カートリッジによる抽出物の精製を行ったところ、洗浄液中に放射能が高い割合で溶出するため、精製法としては適切ではなかった。試料のメタノール抽出後、再度アルカリ条件下で抽出を行ったが、放射能の回収は不十分であった。

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。

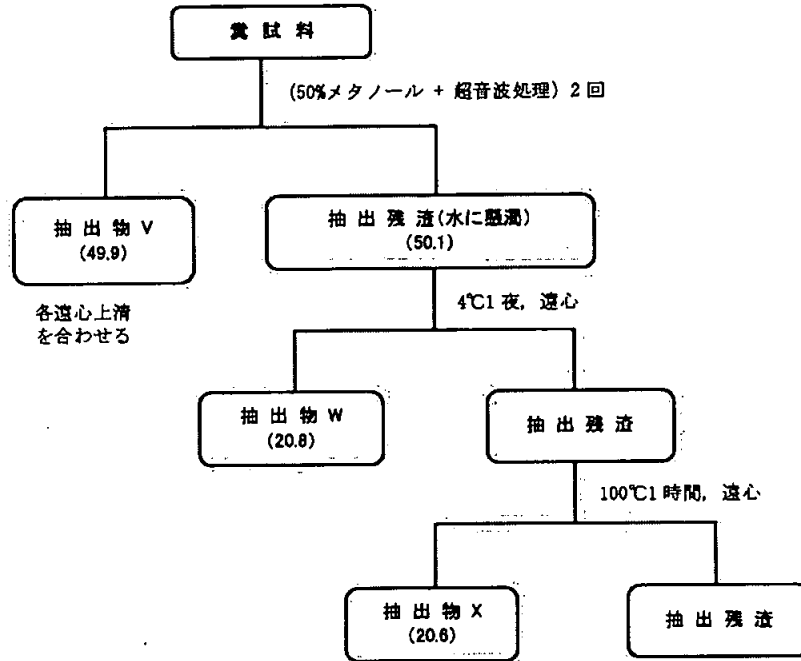
検討 11



メタノール抽出残渣のアセトニトリル抽出及び 60℃メタノール抽出を連続的に行ったが、放射能の総回収率は 55%程度にとどまった。

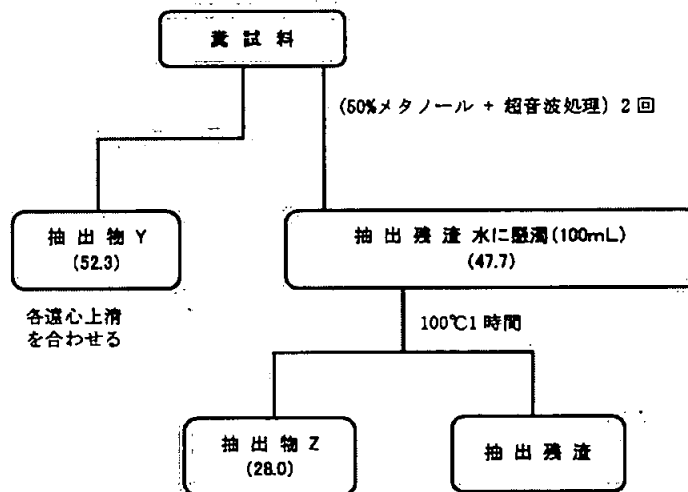
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は保土谷化学工業株式会社にある。

検討 12



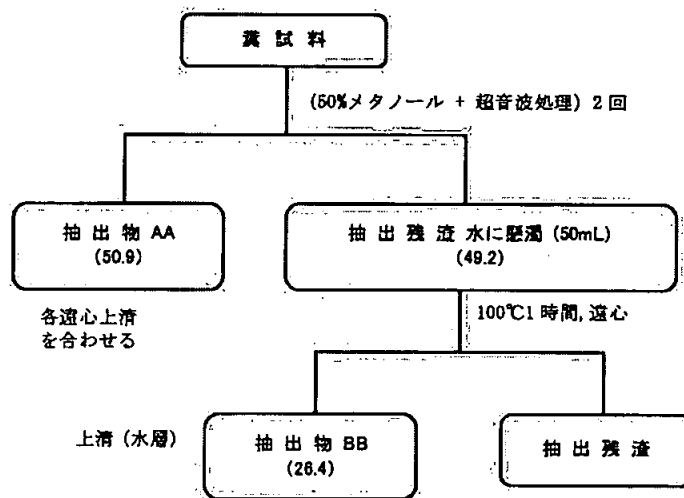
メタノール抽出後、水抽出及び熱水抽出を行ったところ、熱水での抽出残渣からの放射能抽出率は 66.1~74.8%と高かった。

検討 13



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。

検討 14



メタノール抽出残渣の熱水抽出を抽出に使用する水の容量によって比較したところ (検討 13・熱水容量 100 mL、及び 14・熱水容量 50 mL)、放射能の総回収率は 78.5 ~ 82.1% 及び 73.7 ~ 80.8% であった。この差が 5% 未満であったことから、熱水の容量を 50 mL とした。

前処理 (胆汁) ; すべての試料について、液体シンチレーター ACS II を添加して放射エネルギーを測定した。

- 検討 1 ; 試料を Sep-pak plus Env. C₁₈ カートリッジに負荷し、水で洗浄した後、80%メタノールで溶出し、放射エネルギーを測定した。

群番号	放射能回収率 (%)	
	80%メタノール抽出	10%メタノール洗浄水
5	78.4	21.6
6	69.4	30.6

Sep-pak Plus Env. C₁₈ カートリッジによる精製では 80%メタノール中の放射能回収率は 69.4 ~ 78.4% と低かった。

- 検討 2 ; 試料にエタノールを加えて冷凍庫 (-19℃) 中で 1 昼夜静置して放射エネルギーの抽出を行い、溶媒層及び沈殿層中放射エネルギーを測定した。

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

群番号	放射能回収率 (%)	
	エタノール抽出	抽出残渣
5	72.2	27.8
6	73.3	26.7

エタノール抽出による放射能回収率は 72.2~73.3%であり、検討 1 と比べて改善はみられなかった。

検討 3 ; 試料に 5 N の塩酸を加え、遠心分離して上清を Sep-pak Plus Env. C₁₈ カートリッジに負荷し、水で洗浄した後、80%メタノールで溶出し、放射能量を測定した。

群番号	放射能回収率 (%)	
	80%メタノール抽出 (酸性条件)	10%メタノール洗浄水 (酸性条件)
5	99.7	0.3
6	99.5	0.5

胆汁試料を塩酸で酸性にした後、Sep-pak Plus Env. C₁₈ カートリッジによる精製を行ったところ、99.5~99.7%と高い回収率が得られた。前処理としてこの方法を採用した。

HPLC 条件 ; 以下の条件における代謝物の分析を行った。

カラム : Inertsil ODS-2、内径 4.6 mm×長さ 250 mm

移動相 : A 液 0.1%TFA 含有アセトニトリル

B 液 0.1%TEA 含有水

グラジエント : 0~30分 A 液 20~50% (リニアグラジエント)

プログラム : 30~40分 A 液 50~90% (リニアグラジエント)

40~45分 A 液 90%

カラム温度 : 40℃

流速 : 1 mL/min

検出器 : UV (254nm) 及び ¹⁴C

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： 経口投与ラットの0~48時間の糞、尿中代謝物の分析結果を下表に示した。

代謝物 ピーク 番号	略 号*	保持 時間 (分)								
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										
21										
22										
23										
24										
25										
26										
27										
28										
29										
30										
31										
32										
抽出残渣										
合計										

ND：検出せず

*：資料 No.代謝 1-3 及び 1-4 の代謝物構造推定予備結果を参照

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。

胆管結紮ラットにおける0～48時間の胆汁及び尿中代謝物の分析結果を下表に示した。

代謝物 ピーク 番号	略 号*	保持 時間 (分)								
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										
21										
22										
23										
24										
25										
26										
27										
28										
29										
30										
31										
32										
抽出残渣										
合計										

- : <0.1%

ND : 検出せず

* : 資料 No.代謝 1-3 及び 1-4 の代謝物構造推定予備結果を参照

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。

経口投与後 1 時間 (10 mg/kg 投与群) 又は 4 時間 (100 mg/kg 投与群) における血漿中代謝物分析結果を下表に示した。

代謝物 ピーク 番号	略 号*	保 持 時 間 (分)				
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
抽 出 残 渣						
合 計						

- : <0.1%

ND : 検出せず

* : 資料 No.代謝 1-3 及び 1-4 の代謝物構造推定予備結果を参照

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。

経口投与後 1 時間 (10 mg/kg 投与群) 又は 4 時間 (100 mg/kg 投与群) における肺、肝臓、腎臓及び脂肪中代謝物分析結果を下表に示した。

代謝物 ピーク 番号	略 号*												
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
11													
12													
13													
14													
15													
16													
17													
18													
19													
20													
21													
22													
23													
24													
25													
26													
27													
28													
29													
30													
31													
32													
抽出残渣													
合計													

ND: 検出せず

*: 資料 No.代謝 1-3 及び 1-4 の代謝物構造推定予備結果を参照

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。

代謝物の同定；

HPLCによる同定；

推定代謝物標品と各試料の代表的な群の HPLC によるコ・クロマトグラフィーにより、

GC/MS による同定；

HPLC にて

以上の結果から、

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。

4E-34

⇒ : 主代謝経路 * : 標識位置
→ : その他の代謝経路 [] : 推定化合物 ☒ : DBN のラットにおける推定代謝経路
⋯→ : 推定代謝経路