

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

3) イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験 (資料 T-3.3)

試験機関：株式会社 化合物安全性研究所
[GLP 対応]

報告書作成年：2015 年

検体純度：ポリオキシシロキサン D 亜鉛塩原体

供試動物：Marshall beagle、1 群雌雄各 4 匹、投与開始時 6 カ月齢

投与期間：52 週間（雄；2013 年 11 月 27 日～2014 年 11 月 26 日）
（雌；2013 年 11 月 28 日～2014 年 11 月 27 日）

投与方法：検体を 0、1000、6000 及び 36000 ppm の濃度で基礎飼料に混入し、52 週間にわたって毎日摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に 1 回、投与期間中は 4 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；全動物を対象として、一般状態と死亡の有無を毎日観察した。
いずれの投与群においても、雌雄ともに死亡は認められず、一般状態にも異常は観察されなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前に 1 回及び投与期間中は毎週 1 回、全動物を対象として、以下の項目に関する観察をスコアリング基準を用いて行なった。

ホームケージ：活動性、体位・姿勢、異常行動・常同行動、振戦、痙攣（間代性・強直性）

ケージからの取り出し易さ：社交性（友好的、無関心、攻撃的）

オープンフィールド：活動性（探索行動を含む）、体位・姿勢、異常行動・常同行動、振戦、痙攣、歩行状態（運動協調性を含む）、呼吸状態、皮膚・被毛の状態（立毛など）、眼球の状態、眼瞼の状態（閉鎖の有無）、瞳孔の状態（散瞳、縮瞳）、流涙、流涎、分泌物（眼、耳孔、鼻孔、腔などからの分泌物）、眼球結膜・口腔粘膜の状態（貧血、充血）、異常発声、排便、排尿、鋭い音に対する反応、接触刺激に対する反応

触診：外皮（指間・趾間部の腫脹、爪の異常）、筋肉（発達、緊張度）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

投与期間を通じて、いずれの投与群においても雌雄ともに対照群と比較してスコアが有意に変動した観察項目は認められなかった。

体重変化；投与開始前に1回及び投与1～13週までは毎週1回、その後は4週間に1回の頻度で全動物を対象として体重を測定した。

投与期間を通じて、いずれの投与群においても雌雄ともに対照群と比較して有意差はなく、顕著な体重変化を示す動物も認められなかった。

摂餌量；投与開始前に1回及び投与期間中は毎日、全動物を対象として摂餌量を測定した。

投与期間を通じて、いずれの投与群においても雌雄ともに対照群と比較して有意差はなく、ほぼ同様に推移した。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/day) は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		1000	6000	36000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	32.1	186	1063
	雌	32.7	191	1112

血液学的検査；投与開始前ならびに投与13、26及び52週時に、全動物を対象として16時間以上の絶食下で橈側皮静脈から採血し、以下の項目に関する血液学的検査を行なった。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数、網赤血球数、白血球数、白血球分画：好中球、好酸球、好塩基球、単球、リンパ球、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目及び検査週		性別及び投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		1000	6000	36000	1000	6000	36000
MCV	開始前	106	101	104	100	101	103
	13 週	↑106	102	↑106	100	102	104
	26 週	107	102	105	101	102	104
	52 週	↑106	101	106	101	101	104
MCH	開始前	104	100	103	100	102	103
	13 週	↑106	103	↑104	100	102	102
	26 週	↑105	101	102	100	101	100
	52 週	↑105	101	103	99	99	101
APTT	開始前	100	100	100	95	94	95
	13 週	97	98	96	98	↓94	↓95
	26 週	99	100	98	99	93	92
	52 週	100	99	103	97	99	96

Dunnett 検定：↑↓ P<0.05、↑↓ P<0.01

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

MCV が投与 13 週時に 1000 及び 36000 ppm 群の雄で、また投与 52 週時に 1000 ppm 群の雄で有意に増加した。両群の値は同様であり、一方 6000 ppm 群の値はいずれの週でも対照群と同様であることから、MCV の変化は用量とは関連のない偶発的な変化と考えられた。

MCH が投与 13 週時に 1000 及び 36000 ppm 群の雄で、また投与 26 と 52 週時に 1000 ppm 群の雄で有意に増加した。これらの変化は用量に依存していないことから、検体投与とは関連のない変化と考えられた。

APTT が投与 13 週時に 6000 及び 36000 ppm 群の雌で有意に低下した。これらの変化はいずれも背景データの範囲（5～10 カ月齢：9.8～12.6 秒）内であったことから、検体投与とは関連のない変化と考えられた。

血液生化学的検査；投与開始前ならびに投与 13、26 及び 52 週時に、全動物を対象として 16 時間以上の絶食下で橈側皮静脈から採血し、以下の項目に関する血液生化学的検査を行なった。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン (Crea)、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、総蛋白、蛋白分画 (%) (アルブミン、 α 1-グロブリン、 α 2-グロブリン (α 2-Globlin)、 α 3-グロブリン、 β -グロブリン、 γ -グロブリン)、A/G 比、アルブミン (Albumin)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目及び検査週		性別及び投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		1000	6000	36000	1000	6000	36000
ALT	開始前	137	103	129	117	117	105
	13 週	127	125	↑152	95	108	108
	26 週	121	112	↑132	101	113	103
	52 週	67	85	109	88	106	104
Ca	開始前	98	99	101	99	100	100
	13 週	98	99	103	98	101	101
	26 週	99	100	↑106	97	100	100
	52 週	98	99	↑106	97	100	105
Albumin	開始前	98	102	103	99	101	98
	13 週	105	104	109	93	100	97
	26 週	102	101	↑109	91	95	97
	52 週	98	99	↑107	94	99	99
α2-Globlin	開始前	100	100	99	94	99	99
	13 週	101	101	103	105	107	110
	26 週	101	101	103	100	101	103
	52 週	95	100	101	100	99	↑125
Crea	開始前	108	114	103	99	99	103
	13 週	111	↑118	112	94	98	102
	26 週	107	110	108	106	106	111
	52 週	108	114	108	98	102	101
IP	開始前	91	96	94	97	98	101
	13 週	93	96	93	101	107	106
	26 週	93	100	104	101	↑118	105
	52 週	90	92	103	106	115	114

Dunnett 検定：↑↓ P<0.05、↑↑ P<0.01

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

ALT が投与 13 及び 26 週時に 36000 ppm 群の雄において有意に増加したが、背景データの範囲（5～10 カ月齢：14～53 IU/L、11 カ月齢以上：12～57 IU/L）内であったことから検体投与とは関連のない偶発的変化と考えられた。

Ca が投与 26 及び 52 週時に 36000 ppm 群の雄において有意に増加した。この変化では背景データの範囲（11 カ月齢以上：9.3～11.1 mg/dL）をわずかに逸脱する個体が認められたものの、尿検査及び腎臓の病理組織学的検査において関連する変化がなかったことから、検体投与とは関連のない偶発的変化と考えられた。

Albumin が投与 26 及び 52 週時に 36000 ppm 群の雄において有意に増加したが、Albumin 分画及び A/G には有意差がないことから検体投与とは関連のない偶発的変化と考えられた。

α2-Globlin が投与 52 週時に 36000 ppm 群の雌において有意に増加した。この変化では、背景データの範囲（11 カ月齢以上：3.5～6.0%）をわずかに逸脱する個体が認められたものの、その他の蛋白、尿検査及び腎臓等の病理組織学的検査におい

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

て関連する変化がなかったことから、検体投与とは関連のない偶発的变化と考えられた。

Crea が投与 13 週時に 6000 ppm 群の雄で、IP が投与 26 週時に 6000 ppm 群の雌で有意に増加した。これらの変化では、それぞれの背景データの範囲（Crea、5～10 カ月齢：0.37～0.66 mg/dL、IP、11 カ月齢以上：2.9～4.8 mg/dL）をわずかに逸脱する個体が認められたものの、36000 ppm 群では有意差がなく用量に関連した変化ではないことから、検体投与とは関連のない偶発的变化と考えられた。

尿検査；投与開始前ならびに投与 13、26 及び 52 週時に全動物を対象として、以下の項目に関する尿検査を行なった。

pH、蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、沈渣
尿量、比重

各検査時期において、いずれの検査項目についても雌雄ともに対照群と比較して有意差は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前ならびに投与 13 及び 52 週時に全動物を対象として、眼科学的検査を行った。前眼部を肉眼的ならびにスリットランプを用いて観察し、中間透光体はスリットランプ、眼底部は眼底カメラを用いて検査した。

いずれの検査時期においても異常は認められなかった。

臓器重量；52 週間投与終了後に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、相対重量も算出した。

肝臓（胆嚢を含む）、腎臓（両側）、副腎（両側）、脾臓、心臓、肺、胸腺、脳（大脳及び小脳）、甲状腺（上皮小体を含む）、下垂体、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

臓器名	投与量 (ppm)		
	1000	6000	36000
卵巣 (絶対重量)	↑173	112	131

Dunnett 検定 : $\uparrow\downarrow P<0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

1000 ppm 群の雌では、卵巣の絶対重量が有意に増加したが、用量に関連していないことから毒性を示唆する変化ではないと考えられた。

肉眼的病理検査 ; 52 週間投与終了後に全動物を対象として、剖検を行った。

36000 ppm 群の雄の 1 例に精巣上体の小型が観察され、病理組織学的検査では軽微な精液瘤が認められた。この変化はヒトでも見られ、原因として外傷や炎症による可能性もあるとされている。本変化はその発生頻度から検体投与とは関連のない偶発的变化と考えられた。この他では、いずれの投与群の雌雄においても、対照群と比較してその発生頻度に有意差のある病変は認められなかった。

病理組織学的検査 ; 肉眼的病理検査を実施した全動物を対象として、以下の臓器・組織について病理標本作製し、病理組織学的検査を行なった。

脳 (大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄 (頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経 (筋肉に近い部分)、下垂体、胸腺、甲状腺及び上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓 (胸骨及び大腿骨)、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、心臓、胸部大動脈、舌、咽頭、唾液腺 (下顎腺及び耳下腺)、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺及び気管支、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮 (角部、体部及び頸管部)、膺、眼球 (網膜及び視神経を含む)、涙腺、骨格筋 (下腿三頭筋)、皮膚、乳腺及び肉眼的異常部位

いずれの投与群の雌雄においても、対照群と比較してその発生頻度に有意差のある病変は認められなかった。

雌では、甲状腺の C 細胞過形成が 1000、6000 及び 36000 ppm 群でそれぞれ 2、1 及び 2 例に認められた。この変化は雄では、対照、1000、6000 及び 36000 ppm 群でそれぞれ 2、4、1 及び 2 例に認められており、ポリオキシン複合体のイヌにおける 1 年間反復経口投与毒性試験においては対照群の雌でも 4 例中 1 例に認められていることから、検体投与とは関連のない自然発生性の変化と考えられた。

本検体のイヌを用いた飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験では、雌雄ともに投与期間を通じて検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上のことから、本検体は 36000 ppm (1000 mg/kg/day 相当量) の高用量においてもビーグル犬に対して毒性兆候を示さず、本試験において無毒性量は雌雄ともに 36000 ppm (雄 : 1063 mg/kg/day、雌 : 1112 mg/kg/day) 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科研製薬（株）にある。

(6) 繁殖毒性及び催奇形性

1) ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料 T-4.1)

試験機関：日本大学医学部

報告書作成年：1976年

検体の純度：ポリオキシンD亜鉛塩原体

供試動物： Wistar ラット、一群雌雄各30匹（但し、P世代の投与群は雌雄各35匹）
投与開始時6週齢、平均体重；雄 88.0～90.2 g、雌 80.7～81.5 g

投与期間： P世代；投与開始（6週齢）からF_{1b}離乳時まで
F₁世代；離乳時（4週齢）からF_{2b}離乳時まで
F₂世代；離乳時（4週齢）から20週齢まで
（1973年2月～1974年12月）

投与方法： 検体を0、0.01及び1%の濃度で粉末飼料に添加して固型飼料としたものを、試験期間を通して自由に摂取させた。

用量設定根拠：

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1に示す。

①繁殖性に及ぼす影響

親動物：

一般状態及び死亡率；全試験期間を通して、全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重及び摂餌量；交配前投与期間（生育期間：P世代で6～20週齢、F₁及びF₂世代で4～20週齢）中は雌雄の体重を週1回測定し、繁殖期間中は雌の体重を妊娠0日から19日まで毎日測定した。摂餌量は雌雄とも生育期間中に1匹当たりの1週間の摂餌量（g/rat/week）として算出した。

食餌効率；生育期間中の雌雄について、週ごとに次の式から食餌効率を算出した。

$$\text{食餌効率} = \text{体重増加量 (g)} / \text{摂餌量 (g)}$$

検体摂取量；生育期間中の雌雄について、体重と摂餌量に基づき、平均検体摂取量^{注1}（mg/kg/day）を算出した。

[申請者注1：

]

交配及び妊娠の確認；20週齢に達した同群の雌雄を、兄妹交配を避けて1対1で交配し、臍垢

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

中の精子を確認した日を妊娠0日とした。妊娠の確認は分娩の有無によって行った。

第1産目（F_{1a}及びF_{2a}）では児動物を生後3週で離乳後屠殺した。休養期間をおいた後再び交配し、第2産目（F_{1b}及びF_{2b}）では、妊娠動物のうちP世代で一群5腹、F₁世代で一群10腹を妊娠19日に開腹して出生前の胎児の催奇形性検査に、残りは出産させて、P世代で一群5腹、F₁世代で一群9～11腹を児動物の観察に、他を継代用にあてた。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び分娩の観察に基づき、次の指標を算出した。

交尾率（%）＝（交尾動物数/交配動物数）×100

妊娠率（%）＝（妊娠母体数/交尾動物数）×100

出産率（%）＝（出産母体数/妊娠母体数）×100

哺育率（%）＝（哺育母体数/出産母体数）×100

妊娠期間＝交尾確認日（妊娠0日）から分娩日までの日数

児動物（第2産児）：

一般状態；哺育期間中、全児動物の一般状態及び死亡の有無を観察した。

産児数； 生後0週（出産日）、1、2及び3週（離乳時）に生存児数、死亡児数を調べた。

性比； 出産日に児動物の性別判定を行い、群ごとに性比（雄/雌）を求めた。

体重； 生後0、1、2及び3週に児動物の体重を測定した。

離乳率； 各腹ごとに離乳率を次の式から算出し、群平均値を求めた。

離乳率（%）＝（離乳児数/出産日生存産児数）×100

生後発育；生後発育の状態を観察するとともに、一般行動、瞳孔反射、聴覚、痛覚、平衡感覚等の機能を検査した。

②催奇形性検査

母体； 第2産児（F_{1b}及びF_{2b}）について、妊娠19日に帝王切開し、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎仔； 性別判定、体重測定、外表異常の有無の検査の後、骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。胸骨核及び第13肋骨の骨化の状態並びに尾椎骨化核数を骨化進行度の指標とした。

結果；概要を表2に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

①繁殖性に及ぼす影響

親動物：

一般状態及び死亡；試験期間中、死亡動物又は途中切迫殺動物はなかった。いずれの投与群においても検体投与に関連した臨床所見は認められなかった。

体重； 1%投与群のF₂雄において、9週齢時の平均体重にのみ統計学的に有意な高値がみられたが、それ以外にはいずれの投与群の体重値及び体重増加量にも対照群との間で差は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；いずれの世代においても、各投与群の摂餌量及び食餌効率に、対照群との間で差は認められなかった。

繁殖成績；交尾率、妊娠率、出産率、哺育率及び妊娠期間に検体投与による影響は認められなかった。

児動物：

一般状態；いずれの世代においても、各投与群の一般状態に、対照群との間で差は認められなかった。外表異常として、対照群のF_{1b}児動物で尾異常が3例（1腹）に観察された。1%投与群のF_{1b}児動物で片眼半開が2例（1腹）に観察されたが、1腹のみの発現であり、F_{2b}児動物では異常は認められなかったことから、検体投与とは関連のないものと考えられた。

出産児数；いずれの世代においても、各投与群の1腹当たりの平均出産児数に、対照群との間で差は認められなかった。

性比； いずれの世代においても、各投与群の性比に影響は認められなかった。

体重； 1%投与群のF_{1b}児動物において、生後0週の平均体重が対照群に比べて有意に低かったが、生後1週では有意な高値を示したことから、F_{2b}児動物では差は認められなかったことから、これらの変化は検体投与とは関連のないものと考えられた。

離乳率； いずれの世代においても、各投与群の離乳率に影響は認められなかった。

生後発育；いずれの世代においても、各投与群の児動物の生後の発育、一般行動及び諸機能に異常はみられず、対照群との間で差は認められなかった。

②催奇形性検査

母動物； いずれの世代においても、各投与群の着床数、生存胎児数、吸収死亡胚数に検体投与の影響は認められなかった。

胎児； いずれの世代においても、各投与群の性比に影響は認められなかった。1%投与群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

のF_{1b}胎児において、胎児重量が対照群に比べて有意な低値を示したが、同群のF_{2b}胎児では差は認められず、再現性はみられなかった。外表異常として、0.01%投与群のF_{2b}胎児で左後肢チアノーゼ様変化が1例、1%投与群のF_{2b}胎児で発育不全が1例、骨格変異として対照群のF_{2b}胎児で第14肋骨が1例観察されたが、検体投与の影響によると考えられる奇形及び変異は認められなかった。骨化進行度においても、対照群と投与群の間で差は認められなかった。

以上の結果より、ラットに2世代にわたって本検体を飼料中に混入して投与した場合、高用量である1%投与群でも一般毒性、繁殖毒性及び催奇形性は認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は親動物、児動物及び胎児に対して1% (P雄: 729 mg/kg/day、

P雌: 749 mg/kg/day、

F₁雄: 824 mg/kg/day、

F₁雌: 837 mg/kg/day、

F₂雄: 812 mg/kg/day、

F₂雌: 880 mg/kg/day、

であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

表 1. 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (6~20 週齢の 14 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。 交尾は膣垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)	体重、摂餌量を週 1 回測定
	交配 (第 1 産目、F _{1a})		F _{1a} は生後 3 週間で離乳後と殺
	妊娠 (3 週間) 出産 哺育 (3 週間) 離乳		
	交配 (第 2 産目、F _{1b})		
	妊娠 (3 週間)		妊娠 0~19 日に体重を毎日測定 催奇形性検査
	出産		出産状況の観察 生産児数、死産児数、外表異常及び性別検査
F ₁	哺育 (3 週間)	同腹児数の調整せず	生後 0、1、2 及び 3 週に生存児数、死亡児数 観察、児動物の体重測定
	離乳	F ₁ 世代の各群雌雄各 30 匹を継代用の腹から選抜	(P 世代に準ずる)
	生育 (4~20 週齢までの 16 週間)		
	交配 (第 1 産目、F _{2a})	(P 世代に準ずるが 兄妹交配を避けた)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間) 出産 哺育 (3 週間) 離乳	(P 世代に準ずるが 兄妹交配を避けた)	(P 世代に準ずる)
	交配 (第 2 産目、F _{2b})		(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間)		(P 世代に準ずる)
	出産	(P 世代に準ずる)	
哺育 (3 週間)	(P 世代に準ずる)		
離乳	(F ₁ 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)	
F ₂	生育 (4~20 週齢までの 16 週間)	(F ₁ 世代に準ずる)	(F ₁ 世代に準ずる)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

表2. 結果の概要

世代		親動物:P、児動物:F _B			親動物:F ₁ 、児動物:F ₃			親動物:F ₂ (生育期のみ)				
投与量 (%)		0	0.01	1	0	0.01	1	0	0.01	1		
動物数 (雄/雌)		30/30	35/35	35/35	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30		
親動物	一般状態	異常なし			異常なし			異常なし				
	死亡率 (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	生育期	体重増加量 ^a	雄	227.5	224.6	233.7	247.6	248.0	238.6	244.0	237.5	247.8
			雌	121.6	120.4	125.0	141.5	136.8	145.5	127.4	131.2	128.6
		摂餌量 ^b	雄	1438	1445	1501	1582	1557	1550	1629	1552	1581
			雌	1144	1173	1160	1299	1229	1280	1255	1227	1183
		平均食餌効率 ^c	雄	0.158	0.155	0.156	0.157	0.159	0.154	0.150	0.153	0.157
			雌	0.106	0.103	0.109	0.109	0.111	0.114	0.101	0.107	0.109
	平均検体摂取量 ^d	雄		7.06	729		7.85	824		8.29	812	
		雌		7.55	749		8.04	837		9.18	880	
	繁殖期 ^e	妊娠期間中の体重増加量 ^e	63.0	61.0	63.2	63.4	65.5	69.6				
		交尾率 (%)	100	96.4	100	95.8	95.8	96.2				
		妊娠率 (%)	87.5	92.6	89.3	87.0	87.0	92.0				
		出産率 (%)	95.2	100	100	95.0	100	95.7				
		哺育率 (%)	100	96.0	100	100	100	95.4				
		妊娠期間 (日)	20.9	21.1	21.0	21.2	20.9	21.3				
	児動物	検査腹数	5	5	5	9	10	11				
		平均出産児数	8.0	7.8	8.6	9.2	10.5	10.4				
死産児数		0	0	0	1	0	0					
性比 (雄/雌)		0.90	1.05	0.72	0.84	0.88	0.9					
平均体重 (g)		生後0週	5.22	5.04	↓4.71	4.76	4.82	4.73				
		生後1週	11.37	11.36	↑12.24	11.01	11.04	11.28				
		生後2週	21.53	21.48	21.74	19.61	19.05	20.14				
		生後3週	32.26	32.51	31.05	30.13	29.30	31.36				
離乳率 (%)		97.5	100	95.3	93.9	93.3	100					
外表異常例数												
尾異常<腹数>	3<1>	0	0	0	0	0						
片眼半開<腹数>	0	0	2<1>	0	0	0						
胎児	検査腹数	5	5	5	10	10	10					
	平均着床数	7.8	7.6	8.0	9.9	9.4	10.8					
	平均生存胎児数	7.6	7.2	8.0	9.5	9.0	10.6					
	吸収死亡胚数	1	2	0	4	4	2					
	性比 (雄/雌)	1.11	1.12	1.35	0.83	1.14	1.59					
	平均体重 (g)	3.97	3.94	↓3.73	3.17	3.16	3.21					
	奇形学的検査											
	検査胎児数	38	36	40	95	90	106					
	外表異常例数											
	左後肢チアノーゼ様<腹数>	0	0	0	0	1<1>	0					
	発育不全<腹数>	0	0	0	0	0	1<1>					
骨格異常例数												
第14肋骨	0	0	0	1<1>	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科研製薬（株）にある。

世代		親動物:P、児動物:F _b			親動物:F ₁ 、児動物:F ₃			親動物:F ₂ (生育期のみ)
胎児	骨化進行度	胸骨核骨化不全 (%)	22 (57.9)	23 (63.9)	31 (77.5)	76 (80)	81 (90)	76 (71.7)
		第13肋骨骨化不全	0	0	0	0	1	1
		平均尾椎骨化核数	6.5	6.2	6.1	5.1	4.6	4.8

Student の t 検定 ↑↓ : p<0.05 ↑↑↓ : p<0.01

^a : P 親動物では 6~20 週の増加量 (g)、他は 4~20 週の増加量 (g)

^b : P 親動物では 6~20 週の総摂餌量 (g/rat)、他は 4~20 週の総摂餌量 (g/rat)

^c : P 親動物では 6~20 週、他は 4~20 週の平均値

^d : 生育期間における平均検体摂取量 (mg/kg/day)

^e : 妊娠 0~19 日の体重増加量 (g)

^f : 第 2 産目の成績

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

2) ポリオキシシン D 亜鉛塩のラットにおける催奇形性試験 (資料 T-4.2)

試験機関：株式会社化合物安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2011 年

検体の純度：ポリオキシシン D 亜鉛塩原体()

供試動物： BrlHan : WIST@Jc1 (GALAS) ラット、1 群雌 24 匹
週齢；11 週齢、体重；183~231 g

投与期間： 妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間

投与方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液 (0.5%CMC-Na) に溶解させ、0、100、300 及び 1000 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 19 日（膣栓または膣垢中に精子を認めた日を妊娠 0 日とした）までの 14 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とし、各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。対照群の動物には 0.5%CMC-Na を同様に投与した。

[用量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物； 投与期間中は 1 日 2 回（投与前及び投与後）、投与開始前の期間及び剖検日は 1 日 1 回の頻度で、動物の生死及び一般状態を観察した。体重を妊娠 0 日、3 日及び妊娠 6 日から 20 日までの間は毎日測定した。妊娠 3 日から 20 日までの各測定日の体重値から妊娠 0 日の体重値を減じて体重増加量を算出した。加えて妊娠 6~20 日の体重増加量を求めた。また、妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じて補正体重を算出した。摂餌量は、妊娠 0~3、3~6、6~9、9~12、12~15、15~18、18~20 日に測定した。妊娠 20 日に母動物を安楽死させて外表、内臓及び子宮内容物の検査を含む肉眼的病理検査を行った。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、着床位置、生存胎児及び胚・胎児死亡数を検査した。また、胎盤重量を測定した。

生存胎児； 生存胎児全例を対象として、胎児体重測定、性別の判定及び外表検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

外表検査終了後の胎児は安楽死させた後、1 腹の約半数について内臓検査を、残りの約半数について骨格検査を行った。

結果： 概要を表 1（母動物の所見）及び表 2（胎児の所見）に示す。

母動物に対する影響

一般状態； 試験期間中、いずれの試験群においても異常は観察されなかった。

体重； 母動物の体重及び補正体重には、いずれの投与群においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。体重増加量については、1000 mg/kg/day 投与群で妊娠 0～17、0～20 及び 6～20 日に有意な高値がみられたが、高値であることから毒性影響とは考えられなかった。

摂餌量； 母動物の摂餌量には、100 mg/kg/day 投与群では対照群と比較して有意な差は認められなかった。300 mg/kg/day 投与群では妊娠 3～6 日に、1000 mg/kg/day 投与群では妊娠 15～18 日に有意な高値がみられたが、高値であり、一過性の変化であったことから、検体投与とは関係のない変化と考えられた。

着床所見； 妊娠子宮重量、妊娠黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚・胎児数、胎児生存率 [(生存胎児数/着床数) × 100]、胚・胎児死亡率 [(死亡胚・胎児数/着床数) × 100] 及び胎盤重量には、いずれの投与群においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。着床率 [(着床数/黄体数) × 100] において、300 mg/kg/day 投与群で有意な高値がみられたが、高値であることと用量相関性がみられないことから偶発的変動と考えられた。

肉眼的病理所見； 腎盂拡張が対照群、100 及び 300 mg/kg/day 投与群でそれぞれ 4、4 及び 5 例に、腎盂内微細白色顆粒が対照群及び 100 mg/kg/day 投与群でそれぞれ 3 及び 1 例にみられた。また、甲状腺の肥大が対照群及び 1000 mg/kg/day 投与群で各 1 例にみられた。これらの所見は対照群でも認められるか、または発生頻度が低かったことから、検体投与に関連のない変化と考えられた。一方、1000 mg/kg/day 投与群では、胃の境界縁肥厚が 20 例にみられ、検体に刺激性があるものと推察され、検体投与に関連する変化と考えられた。[申請者注：

]

胎児に対する影響

体重； 雌雄の胎児体重には、いずれの投与群においても対照群の値と比較して有意な

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

差は認められなかった。

性比； 胎児の性比には、いずれの投与群においても対照群と比較して有意な差は認められなかった。

胎児検査； 外表検査では、対照群及び 300 mg/kg/day 投与群で矮小体がそれぞれ 2 及び 1 例観察されたが、対照群にもみられていることから、検体投与に関連のない変化と考えられた。また、100 mg/kg/day 投与群で臍帯ヘルニアが 1 例に観察されたが、1 例のみの発生であることから、検体投与に関連のない変化と考えられた。

内臓検査では、いずれの投与群にも奇形は観察されなかった。内臓変異として、胸腺頸部残留、腎盂拡張及び左側臍動脈が各試験群で散見されたが、いずれの変異の出現頻度にも投与群と対照群の間に有意な差は認められなかったことから、検体投与との関連性はないと考えられた。

骨格検査では、対照群で頸椎椎体分離が 1 例、肩甲骨、橈骨及び尺骨の屈曲が 1 例、300 mg/kg/day 投与群で頸椎椎体分離が 1 例、頸椎椎体癒合が 2 例、1000 mg/kg/day 投与群で頸椎椎体分離が 1 例、頸椎椎体癒合が 1 例に観察された。しかし、これらの骨格奇形の胎児出現率または腹の頻度には、対照群と比較して有意な差は認められなかったことから、検体投与と関連のない変化と考えられた。

骨格変異として、腰肋、第 14 肋骨、仙椎の腰椎化、波状肋骨等が対照群を含む各試験群で散見された。これらの変異のうち、100 mg/kg/day 投与群で第 14 肋骨の胎児出現率及び腹の頻度に有意な低値がみられたが、低値であることと用量相関性がみられないことから、検体投与との関連性はないと考えられた。その他の変異の出現頻度には対照群と比較して有意な差は認められなかった。胎児の骨化進行度については、いずれの骨の骨化数にも投与群と対照群の間に有意な差はみられず、検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、本検体の 1000 mg/kg/day の用量は、ラットの母動物の胃に境界縁肥厚を発現させるが、妊娠の維持または胎児の生存、成長及び分化に影響を及ぼさないと考えられた。したがって、本試験条件下における無毒性量は、ラットの母動物に対して 300 mg/kg/day、

であり、胎児に対して 1000 mg/kg/day、

であると考えられる。また、本検体は 1000 mg/kg/day を妊娠ラットに投与しても胎児に対し催奇形性を示さないものと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

表 1. 結果の概要—母動物

投与群 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	
一群当たりの交配雌数		24	24	24	24	
妊娠雌数		23	24	24	24	
臨床所見		異常所見なし				
体重 (g) ¹⁾	投与前	妊娠 0 日	218.7	219.3	218.8	219.0
		妊娠 3 日	234.3	234.3	233.1	233.4
	投与 期間中	妊娠 6 日	244.6	243.5	244.9	243.4
		妊娠 7 日	249.6	247.4	248.6	248.2
		妊娠 8 日	252.2	251.3	252.9	252.5
		妊娠 9 日	255.3	255.0	257.0	256.8
		妊娠 10 日	260.1	259.6	261.5	260.1
		妊娠 11 日	265.1	264.7	267.3	266.8
		妊娠 12 日	269.1	268.5	273.0	272.0
		妊娠 13 日	271.8	270.7	275.8	276.6
		妊娠 14 日	276.7	276.1	280.3	281.7
		妊娠 15 日	283.3	284.3	287.1	288.5
		妊娠 16 日	292.3	294.0	296.5	298.7
		妊娠 17 日	303.4	305.7	307.7	311.6
		妊娠 18 日	315.4	318.5	320.6	324.6
		妊娠 19 日	326.7	331.3	333.5	336.8
		妊娠 20 日	340.6	345.9	350.4	353.0
補正体重		284.0	285.3	286.5	291.1	
体重増加量 ¹⁾			有意差なし	有意差なし	妊娠 0-17 ↑d 妊娠 0-20 ↑d 妊娠 6-20 ↑d	
摂餌量 (g/day) ¹⁾	投与前	妊娠 0-3 日	17.30	17.71	17.97	17.75
		妊娠 3-6 日	20.40	20.65	21.79↑d	20.71
	投与 期間中	妊娠 6-9 日	21.79	21.82	22.46	22.20
		妊娠 9-12 日	22.98	22.83	24.30	23.72
		妊娠 12-15 日	22.41	22.98	23.19	24.06
		妊娠 15-18 日	24.67	25.12	24.77	26.39↑d
		妊娠 18-20 日	24.35	24.88	25.73	25.65
妊娠子宮重量 (g) ¹⁾		56.6	60.7	63.9	61.8	
着床 所見 ¹⁾	検査腹数		23	24	24	24
	黄体数		13.1	13.3	13.7	13.5
	着床数		12.0	12.5	13.2	12.8
	着床率 (%)		90.0	93.0	95.6↑w	94.8
	早期吸収胚数 ²⁾		0.6	0.5	0.6	0.6
	後期死亡胎児数 ³⁾		0.1	0.0	0.0	0.0
	胚・胎児死亡率 (%)		4.9	4.4	4.5	4.9
	生存胎児数		11.3	12.0	12.5	12.2
	胎児生存率 (%)		95.1	95.6	95.5	95.1
胎盤重量 (g)		0.438	0.422	0.423	0.421	
肉眼的 病理所見 (例数)	甲状腺肥大		1	0	0	1
	胃境界縁肥厚		0	0	0	20↑f
	腎盂拡張		4	4	5	0↓f
	腎盂内微細白色顆粒		3	1	0	0

¹⁾ : 群平均値、²⁾ : 着床痕及び胎盤遺残、³⁾ : 浸軟胎児及び死亡胎児

Dunnnett の多重比較検定 ↑d↓d : p ≤ 0.05 ↑d↓d : p ≤ 0.01、

Wilcoxon の順位和検定 ↑w↓w : p ≤ 0.05 ↑w↓w : p ≤ 0.01 ↑ : p ≤ 0.01、

Fisher 直接確率計算法 ↑f↓f p ≤ 0.05 ↑f↓f p ≤ 0.01 (申請者実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製菓（株）にある。

表2. 結果の概要—胎児

投与群 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	
検査胎児数 (腹数)		261 (23)	288 (24)	301 (24)	293 (24)	
群平均体重 (g)	雄	3.318 ¹⁾	3.432	3.437	3.375	
	雌	3.123 ¹⁾	3.221 ²⁾	3.256	3.225	
性比 (雄%)		46.4	51.0	41.3	49.3	
外表検査	検査胎児数 (腹数)	261 (23)	288 (24)	301 (24)	293 (24)	
	奇形	奇形胎児数 (奇形胎児所有腹数)	2 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		矮小体	2 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		臍帯ヘルニア	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓検査	検査胎児数 (腹数)	124 (23)	139 (24)	144 (24)	140 (24)	
	奇形	奇形胎児数 (奇形胎児所有腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		変異胎児数 (変異胎児所有腹数)	21 (14)	19 (9)	18 (13)	31 (15)
	変異	胸腺頸部残留	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		左側臍動脈	20 (14)	18 (9)	18 (13)	30 (15)
		腎盂拡張	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
骨格検査	検査胎児数 (腹数)	137 (23)	149 (24)	157 (24)	153 (24)	
	奇形	奇形胎児数 (奇形胎児所有腹数)	2 (2)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
		頸椎椎体分離	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		頸椎椎体癒合	0 (0)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
		肩甲骨、橈骨 及び尺骨屈曲	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	変異	変異胎児数 (変異胎児所有腹数)	79 (22)	82 (24)	71 (23)	72 (21)
		胸椎椎体骨化核分離	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		胸椎椎体未骨化	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		第14肋骨	11 (7)	3 \downarrow w (1 \downarrow f)	5 (4)	3 (3)
		7腰椎	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		仙椎の腰椎化	7 (5)	5 (4)	4 (4)	4 (3)
		頸肋	1 (1)	4 (3)	0 (0)	4 (3)
		腰肋	63 (21)	74 (23)	65 (22)	64 (20)
		波状肋骨	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		胸骨分節非対称	1 (1)	4 (4)	0 (0)	1 (1)
		胸骨分節分離	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
		骨化進行度 ³⁾	頸椎椎体	3.68	3.79	4.09
	胸椎椎体		13.06	13.03	13.06	13.02
	腰椎椎体		6.00	6.00	6.00	6.00
	仙尾椎椎体		7.50	7.65	7.68	7.67
胸骨分節	5.69		5.80	5.65	5.87	
中手骨 - 右側	2.91		3.15	3.07	3.16	
中手骨 - 左側	2.95		3.14	3.05	3.19	
中足骨 - 右側	3.73		3.93	3.87	3.98	
中足骨 - 左側	3.74	3.94	3.86	4.00		

1) : 生存胎児が雄のみまたは雌のみの腹が1例ずつあったため、検査腹数は22。

2) : 生存胎児が雄のみの腹が1例あったため、検査腹数は23。

3) : 群平均骨化数 (1腹の平均値を標本単位とした。)

Wilcoxon の順位和検定 \uparrow w \downarrow w : $p \leq 0.05$ \uparrow w \downarrow w : $p \leq 0.01$ \uparrow : $p \leq 0.01$ 、

Fisher 直接確率計算法 \uparrow f \downarrow f $p \leq 0.05$ \uparrow f \downarrow f $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 T-4.3)

試験機関：動物繁殖研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：ポリオキシシロキサン D 亜鉛塩原体

供試動物：日本白色種ウサギ (JW-NIBS)、6 カ月齢、一群雌 18 匹

投与期間：妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間

(試験実施期間：1990 年 7 月 11 日～12 月 14 日)

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、50、200 及び 800 mg/kg/day の用量で、妊娠 6 日から 18 日 (交尾確認日の翌日を妊娠 0 日とした) までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には溶媒を同様に投与した。投与容量は、妊娠 6 日の体重に基づいて算出し (体重 1 kg 当り 5 mL)、投与期間中は一定とした。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、3、6、9、12、15、18、23 及び 28 日に体重を測定した。また、妊娠 0～3、3～6、6～9、9～12、12～15、15～18、18～23 及び 23～28 日における体重増加量を算出した。摂餌量は妊娠 0 日から 28 日まで毎日測定した。妊娠 28 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎仔数を検査した。

生存胎仔；性別、体重及び外表異常の観察を行った。内臓異常の有無を検査した後、骨格標本を作製し、骨格異常及び変異の有無並びに骨化進行度について検査した。

結果： 概要を表 1 に示す。

母動物に対する影響；一般状態には投与による影響は認められなかった。800 mg/kg/day 投与群の母動物 1 例に死亡がみられたが、剖検結果より排尿障害又は膀胱炎が考えられ、薬物との関連はなく偶発的であると判断した。800 mg/kg/day 投与群では、投与初期に体重減少がみられ、統計学的に有意ではなかったが、投与開始時期と一致していることから、検体投与による影響であると考えられた。この体重減少はその後回復傾向

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

にあることから、軽度なものであると思われた。摂餌量には検体投与による影響は認められなかった。着床所見及び剖検所見にも検体投与による影響は認められなかった。

胎児に対する影響；胎児の体重及び性比に検体投与の影響は認められなかった。胎児の内臓検査では異常は認められなかった。外表及び骨格検査において、対照群を含む各群に認められた異常又は変異については、用量に関連した発生頻度の増加は認められず、統計学的な有意差も認められなかったことから、検体投与との関連性はないと判断した。各投与群の頭蓋骨完全骨化頻度、胸骨分節骨化数、中手骨骨化数、中足骨骨化数及び仙椎・尾椎骨化数には対照群との間で統計学的な有意差はみられず、骨化進行度にも検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本検体をウサギの妊娠 6～18 日に投与した場合、800 mg/kg/day では投与初期に母動物の体重に軽度の減少がみられたが、胎児には検体投与の影響は認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は母動物で 200 mg/kg/day、胎児で 800 mg/kg/day、であり、本検体は最高用量の 800 mg/kg/day でも催奇形作用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科研製薬（株）にある。

表 1. 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)	0	50	200	800		
1 群当り動物数	18	18	18	18		
母動物	妊娠動物数	18	17	17	16	
	一般状態 (例数)	下痢・軟便 (1)	異常なし	異常なし	下痢・軟便 (5)	
	死亡数	0	0	0	1	
	流早産動物数	2	0	3	1	
	体重		ns	ns	ns	
	体重増加量		ns	ns	妊娠 6~9 日 減少傾向	
	摂餌量		ns	ns	影響なし	
	着床所見	検査動物数	16	17	14	14
		黄体数 ^a	9.6±2.1	9.7±2.1	9.1±1.8	8.6±1.5
		着床数 ^a	8.9±2.3	8.0±2.5	7.6±2.7	6.7±1.9
着床率 (%) ^b		92.3	82.7	82.1	79.3	
生存胎仔数 ^a		7.5±2.8	6.9±2.3	6.9±2.8	5.7±2.8	
胚・胎児死亡率 (%)		17.7	12.0	12.3	22.4	
胎児	検査胎仔数 (腹数)	120 (16)	118 (17)	96 (14)	80 (14)	
	体重 (g) ^a	雄	39.6±4.7	42.8±7.2	43.6±5.9	40.8±6.2
		雌	39.4±5.5	42.6±6.0	40.2±4.5	40.0±6.1
	性比 (雄/雌)	1.18 (65/55)	1.36 (68/50)	1.04 (49/47)	1.16 (43/37)	
	外表異常胎児数 (腹数)	1 (1)	0	0	1 (1)	
	腰部の脊椎裂	1 (1)	0	0	0	
	無頭	0	0	0	1 (1)	
	内臓異常胎児数 (腹数)	0	0	0	0	
	骨格異常胎児数 (腹数)	4 (4)	2 (1)	2 (2)	5 (5)	
	前頭骨低形成	0	1 (1)	0	0	
	頭頂骨低形成	0	0	1 (1)	1 (1)	
	無頭蓋	0	0	0	1 (1) ^c	
	胸骨核癒合	2 (2)	1 (1)	1 (1)	3 (3)	
	胸椎椎体の低形成及び癒合	1 (1)	0	0	0	
	尾椎椎体癒合	0	0	0	1 (1)	
	二分脊椎	1 (1) ^d	0	0	0	
	骨格変異胎児数 (腹数) ^e	3 (3)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	
	胸骨核非対称	2 (2)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	
	胸椎椎体分離	1 (1)	0	0	0	
	25 仙椎前椎骨数 [*]	1 (1)	1 (1)	0	0	
	27 仙椎前椎骨数 [*]	8 (4)	2 (2)	0	3 (3)	
13 肋骨 [*]	9 (5)	3 (2)	4 (2)	4 (4)		

ns: 統計学的有意差なし

^a: 平均±SD

^b: (着床数/妊娠黄体数) × 100

^c: 無頭の胎児

^d: 脊椎裂の胎児

^e: 報告書には仙椎前椎骨数及び肋骨数の変異(*)を有する胎児数(腹数)は記載されていたが、これらの変異を含めた1腹当たりの骨格変異胎児数は記載されていなかったため、数値は*印の変異を除いたものである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

(6) 変異原性

1) ポリオキシシンD亜鉛塩の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 T-5.1)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所

報告書作成年 : 1976年

i) 細菌を用いた復帰変異試験

検体の純度 : ポリオキシシンD亜鉛塩原体

ポリオキシシンDと硫酸亜鉛の1:1(モル比)混合物(原体が水に不溶のため)

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1536、TA1537、TA1538) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2^{hcr+}、WP2^{hcr-}) を用い、薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) 非存在下、2日間37°Cで培養して変異原性を検定した。検体は水に溶解し、1000、5000及び10000 µg/プレートの3濃度で、2回繰り返して試験を実施した。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示す。

検体には、溶媒対照と比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、β-プロピオラクトン、9-アミノアクリジン及びNBTでは、溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

回数	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	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			
			WP2 her^+	WP2 her^-	TA1535	TA1536	TA1537	TA1538	
1回目	溶媒対照 (H_2O)		29	30	8	0	4	20	
			37	41	12	0	4	21	
	検体	1000		51	42	24	0	12	25
				56	43	--	0	--	34
		5000		44	32	22	0	12	17
				52	41	--	0	12	30
		10000		40	38	19	0	7	23
				51	46	19	0	5	24
	陽性対照	AF-2	0.25	/	978 1084	/	/	/	/
			5	636 724	/	/	/	/	/
		β -プロピオ ラクトン	50	/	/	476 518	/	/	/
		9-アミノアクリ ジン	100	/	/	/	/	1080 1671	/
NBT		50	/	/	/	/	/	>3000 >3000	
2回目	溶媒対照 (H_2O)		47	43	48	0	7	21	
			51	49	59	0	11	27	
	検体	1000		34	32	23	0	12	28
				39	35	27	1	14	19
		5000		43	26	33	0	16	19
				51	38	46	2	21	20
		10000		37	35	46	0	14	20
				52	45	52	1	22	32
	陽性対照	AF-2	0.25	/	820 876	/	/	/	/
			5	696 773	/	/	/	/	/
		β -プロピオ ラクトン	50	/	/	1002 1050	/	/	/
		9-アミノアクリ ジン	100	/	/	/	/	>1000 1230	/
NBT		50	/	/	/	/	/	>3000 >3000	

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NBT : 2,4-ジニトロフェニルチオンアネート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

ii) 代謝活性化試験

検体の純度：ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

ポリオキシシン D と硫酸亜鉛の 1:1（モル比）混合物（原体が不溶のため）

試験方法：i) と同菌株を用い、ラット肝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、100及び1000 µg/プレートの濃度で変異原性を検定した。

試験結果：結果を下表に示す。

検体では代謝活性化系存在下においても、溶媒対照に比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた2-アミノアントラセンは、代謝活性化系においてTA1535、TA1537、TA1538株に著明な復帰変異を誘起した。

薬物	濃度 (µg/ プレート)	S-9 Mix	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		
			WP2 hcr +	WP2 hcr -	TA1535	TA1536	TA1537	TA1538
検体	100	-	23 35	24 32	19 22	0 6	1 5	7 11
	1000	-	17 25	20 27	19 20	0 0	3 5	11 17
溶媒対照 (H ₂ O)		+	12 9	12 20	9 15	1 0	4 9	15 15
検体	100	+	15 11	8 19	13 15	1 1	5 6	22 20
	1000	+	13 18	24 15	11 9	1 3	7 13	15 19
2-アミノ アントラセン	20	-	/	/	15 24	/	12 14	15 19
AF-2	0.25	-	/	1808 1907	/	/	/	/
	5	-	735 758	/	/	/	/	/
2-アミノ アントラセン	20	+	/	/	472 507	/	260 313	6284 5980

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

以上 i) 及び ii) の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を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科研製薬（株）にある。

2) ポリオキシシン D 亜鉛塩の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 T-5.2)
試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成年 : 1993 年

検体の純度 : ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *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、プレート法にて変異原性を検定した。
検体は EDTA 溶液に溶解し、156~5000 µg/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は 2 枚のプレートで実施した。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

S-9 Mix の有無にかかわらず、検体処理群の復帰突然変異コロニー数において、溶媒対照の 2 倍以上に増加した試験菌株が認められたが、これらは溶媒対照の値が低かったことによる変化であると判断され、検体投与の影響ではないと判断された。

[申請者注 :

]

一方、陽性対照として用いた ENNG、2-NF、9-AA、B(a)P、2-AA では、明らかな復帰突然変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を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科研製薬（株）にある。

(表中の数値は2つのプレートの平均値)

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		
			WP2 <i>uvrA</i>	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
溶媒対照 (1/20M EDTA)		-	17	101	4	16	1	
検 体	156		16	97	9	13	2	
	313		20	111	8	18	3	
	625		22	107	7	24	5	
	1250		23	117	10	20	5	
	2500		27	141	12	28	5	
5000	35		168	11	34	7		
溶媒対照 (1/20M EDTA)		+	10	96	8	16	2	
検 体	156		15	105	9	27	4	
	313		18	123	10	22	3	
	625		19	108	14	27	6	
	1250		21	113	10	29	4	
	2500		27	134	12	39	7	
5000	34		194	19	36	20		
溶媒対照 (DMSO)		-	30	83	6	13	7	
陽性対照	ENNG		2	625	380	95		
	2-NF		3				345	
	9-AA		5				558	
	9-AA		1					
9-AA	80							
溶媒対照 (DMSO)		+	24	92	12	26	12	
陽性対照	B(a)P		5		1113		332	68
	2-AA		2			445		
2-AA	20		514					

注) EDTA : エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム
DMSO : ジメチルスルホキシド
ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
2-NF : 2-ニトロフルオレン
9-AA : 9-アミノアクリジン
B(a)P : ベンツピレン
2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

3) ポリオキシシン D 亜鉛塩の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 T-5.3)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成年 : 2010 年

検体の純度 : ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *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、プレインキュベーション法により変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に懸濁し、本試験 I では 61.7~5000 µg/プレート、本試験 II では 313~5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。試験は 2 回実施し、各濃度につき 3 枚のプレートで行った。

用量設定根拠 ;

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

本試験 I 及び本試験 II において、検体では、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株にも溶媒対照群に比べ 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、9-AA、2-AA では、溶媒対照群の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を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科研製薬（株）にある。

本試験 I

(表中の数値は3つのプレートの平均値)

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	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)			168	8	24	21	6	
検体	61.7	-	143	10	19	23	3	
	185		162	6	14	24	7	
	556		173	8	24	21	5	
	1667		162	9	20	25	10	
	5000		170	14	20	34	11	
溶媒対照 (DMSO)			142	8	23	30	12	
検体	61.7	+	137	7	25	29	19	
	185		128	6	19	28	15	
	556		144	6	30	37	18	
	1667		140	11	22	32	20	
	5000		142	13	29	44	21	
陽性 対照	AF-2	-	0.01	678		212		
			0.1				335	
	NaN ₃		0.5		483			
	9-AA		80				703	
	2-AA		0.5	+				249
			1		605			
			2			129		82
			10				206	

注) AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

本試験 II

(表中の数値は3つのプレートの平均値)

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	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)			149	10	21	12	5	
検体	313	-	142	9	24	16	4	
	625		141	8	22	16	4	
	1250		160	10	27	18	3	
	2500		150	5	23	15	6	
	5000		157	10	25	18	9	
溶媒対照 (DMSO)			137	7	22	17	11	
検体	313	+	141	7	30	19	17	
	625		130	6	28	24	15	
	1250		148	8	27	24	18	
	2500		146	8	24	26	20	
	5000		151	12	30	28	16	
陽性 対照	AF-2	-	0.01	590		218		
			0.1			389		
	NaN ₃		0.5		478			
	9-AA		80				690	
	2-AA		0.5	+				267
			1		584			
			2			117		82
			10				184	

注) AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

4) ポリオキシンド亜鉛塩の宿主経路試験

(資料 T-5.4)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所

報告書作成年 : 1976年

検体の純度 : ポリオキシンド亜鉛塩原体

試験方法 : ICR系雄マウス (7週齢、体重 32.1 ± 1.6 g) 6及び4匹にそれぞれ、検体1000及び2500 mg/kgを2回、強制経口投与した。陽性対照群 (6匹) にはジメチルニトロソアミン (DMN) 50 mg/kgを1回経口投与した。検体最終投与直後に *S. typhimurium* ヒスチジン要求性株G-46をこのマウスの腹腔内に投与し、3時間後に腹腔内より回収した菌液を用いて変異原性を検定した。また1000、5000、10000 µg/プレートの濃度で、G-46株を用いた *in vitro* 復帰変異試験も実施した。

用量設定根拠 ;

試験結果 : 結果を次表に示す。

G-46株を用いた *in vitro* における復帰変異試験の結果は陰性であった。

また、宿主経路試験においても検体は、溶媒対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群として用いたDMN投与群は、溶媒対照群と比較して著明な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を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科研製薬（株）にある。

S. typhimurium G-46を用いた復帰突然変異試験結果

薬物		検体				β -プロピオラクトン
濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)		0	1000	5000	10000	1000
復帰変異コロニー数/プレート	1	1	2	3	2	179
	2	2	6	4	5	185

マウスを用いた宿主経由試験結果

群	総投与量 (mg/kg)	復帰変異菌数 (個/mL)	生存菌数 ($\times 10^{-8}/\text{mL}$)	復帰変異菌数 ($/10^8$ 生存菌数)	平均値 \pm S. D.
溶媒対照 (H_2O)		10.83	33.3	0.33	0.35 \pm 0.17
		15.00	49.3	0.30	
		14.17	38.4	0.37	
		25.83	42.3	0.61	
		7.50	51.5	0.15	
検体	1000x2	12.50	30.7	0.41	0.36 \pm 0.14
		10.00	39.2	0.26	
		9.17	14.6	0.63	
		16.67	56.5	0.30	
		9.17	35.5	0.26	
	2500x2	13.33	42.1	0.32	
		19.17	28.1	0.68	0.56 \pm 0.20
		18.33	24.8	0.74	
		12.50	23.6	0.53	
		8.33	28.3	0.29	
陽性対照 (DMN)	50	2440.00	40.5	60.25	
		3636.67	42.3	85.97	
		5040.00	52.4	96.18	
		5723.33	51.0	112.22	
		5280.00	49.6	106.45	
		5273.33	47.6	110.78	

Studentのt検定 ***: $p < 0.001$

DMN: ジメチルニトロアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

5) ポリオキシシン D 亜鉛塩の DNA 損傷誘発性試験 (Rec-assay) (資料 T-5.5)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所

報告書作成年 : 1976 年

検体の純度 : ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

ポリオキシシン D と硫酸亜鉛の 1:1 (モル比) 混合物 (原体が水に不溶のため)

試験方法 : DNA への損傷の誘起性を調べるために、*Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用いて、Rec-assay 法にて検定した。検体は水に溶解して用いた。本試験は 2 回繰り返し実施した。

試験結果 : 結果を下表に示す。

回数	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
1 回目	溶媒対照 (H_2O)		0	0	0
	検体	200	<1	0	<1
		1000	1	0	1
		2000	2	<1	<2
マイトマイシン C	0.1	9	0	9	
2 回目	溶媒対照 (H_2O)		0	0	0
	検体	200	0	0	0
		1000	<1	0	<1
		2000	1	<1	<1
マイトマイシン C	0.1	8	0	8	

検体は H-17 株、M-45 株の間にほとんど生育阻止の差を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両株の間に著明な生育阻止の差を認めた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷誘発性を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科研製薬（株）にある。

6) ポリオキシシン D 亜鉛塩のチャイニーズハムスター線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(資料 T-5.6)

試験機関：科研製薬株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

検体の純度：ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

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 細胞）を用い、代謝活性化及び非活性化による染色体異常誘発性を検定した。

検体を 0.1N HCl に溶解して 0.55 mg/mL 溶液を調製し、生理食塩液で希釈して各濃度の処理溶液とした。1 濃度につき 2 枚のプレートに処理した。

プレートあたり 50 個、各濃度で 100 個の分裂中期像を観察して染色体の構造異常をギャップ (g)、切断 (b)、交換 (e)、リング形成 (r) 及び断片化 (f) に分類し、計測した。

異常を有する細胞の出現頻度は 5%未満を陰性、5～10%を疑陽性、10～20%を陽性、20～50%を中等度陽性、50%以上を強陽性とした。

用量設定根拠；

試験結果：結果を次表に示した。

染色体異常を示す分裂中期細胞の発現頻度は、代謝活性化系非存在下 24 時間処理において、最高濃度の 0.05 mg/mL 検体処理群で溶媒対照と比較して有意差の認められない軽度な増加を示した。48 時間処理においては、増加は認められなかったが、これは、細胞毒性により細胞が死滅したためと思われる。代謝活性化系存在下においても、最高濃度処理群に有意差はないが染色体異常を示す分裂中期細胞の増加が認められた。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では処理時間に相関し、染色体異常細胞が有意に増加した ($p < 0.05$)。また、代謝活性化法において陽性対照として用いたベンツピレン処理でも染色体異常細胞の著明な増加がみられた ($p < 0.05$)。

以上の結果から、本検体は CHL 細胞を用いた本試験条件下の *in vitro* 染色体異常試験において、軽度の染色体異常誘発性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

薬物	濃度 (mg/mL)	処理 時間 (h)	観 察 細 胞 数	S-9 Mix の 有 無	染色体異常細胞					出現 頻度 (%)	倍数体 細胞の 出現頻度 (%)	評価 ²⁾	
					型別細胞数 ¹⁾								
					g	b	e	r	f				
溶媒対照													
(0.1N-HCl)		24	100	-	1	0	0	0	0	1	3	-	
(生理食塩液 ³⁾)		24	100	-	0	0	1	0	0	1	3	-	
検体	0.005	24	100	-	1	2	0	0	0	2	2	-	
	0.01	24	100	-	0	0	1	0	0	1	3	-	
	0.02	24	100	-	0	1	1	0	0	1	0	-	
	0.05	24	100	-	1	1	4	0	0	6	1	±	
陽性対照 (マイマイシン C)		0.0002	24	100	-	6	7	15	1	0	26*	3	++
溶媒対照													
(0.1N-HCl)		48	100	-	1	1	0	0	0	1	0	-	
(生理食塩液 ³⁾)		48	100	-	1	0	2	0	0	3	1	-	
検体	0.005	48	100	-	1	0	0	0	0	1	5	-	
	0.01	48	100	-	0	1	1	0	0	2	6	-	
	0.02	48	100	-	1	1	1	0	0	2	3	-	
	0.05	48	100	-	0	2	3	0	0	4	1	-	
陽性対照 (マイマイシン C)		0.0002	48	100	-	6	18	39	2	0	54*	1	+++
溶媒対照													
(0.1N-HCl)		6	100	+	2	1	0	0	0	3	2	-	
(生理食塩液)		6	100	+	0	1	1	0	0	2	2	-	
検体	0.005	6	100	+	0	0	1	0	0	1	3	-	
	0.01	6	100	+	0	1	3	0	0	3	1	-	
	0.02	6	100	+	3	2	3	0	0	5	4	-	
	0.05	6	100	+	1	5	5	0	0	8	3	±	
溶媒対照 ⁴⁾ (DMSO)		6	100	+	1	1	2	0	0	4	5	-	
陽性対照 (ベンツピレン)		0.04	6	100	+	1	8	27	3	0	35*	1	++

1) g: ギャップ、 b: 切断、 e: 交換、 r: リング形成、 f: 断片化

2) -: 陰性、 ±: 疑陽性、 ++: 中等度陽性、 +++: 強陽性

3) マイマイシン C に対する溶媒対照

4) ベンツピレンに対する溶媒対照

χ^2 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科研製薬（株）にある。

7) ポリオキシシン D 亜鉛塩の CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 T-5.7)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2010 年

検体の純度 : ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

試験方法 : チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 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。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に懸濁し、1 濃度につき 2 枚のプレートに処理した。

観察はプレートあたり 100 個、用量あたり 200 個の分裂中期像について行った。

用量設定根拠 ;

試験結果 : 結果を次表に示した。

短時間処理法の非代謝活性化系では 186 及び 260 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で、代謝活性化系では 1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で溶媒対照に比べ構造的染色体異常を示す分裂中期細胞数が有意に増加した。24 時間連続処理では 133 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で、溶媒対照に比べ構造的染色体異常を示す分裂中期細胞数が有意に増加した。これら増加には統計学的に有意な用量相関が認められた。

陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びベンツ [a] ピレンは、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。

以上の結果から、チャイニーズハムスター肺由来の CHL/IU 細胞株を用いた本実験条件下において、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、染色体異常誘発性を有するものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間 (h)	観察 細胞 数	S-9 Mix の有無	倍 数 体 細 胞 数	染色体異常を有する細胞数									細胞 増殖 率(%)
						Gap	染色 分体型		染色体 型		断 片 化	そ の 他	合計		
							g	切 断	交 換	切 断			交 換	+ g	
溶媒対照 (DMSO)	1%	6	200	-	1	2	0	1	0	0	0	0	3	1	100
検体	67.7	6	200	-	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	94
	94.8	6	200	-	1	0	2	1	0	0	0	0	3	3	88
	133	6	200	-	1	1	1	3	0	0	0	0	5	4	81
	186	6	200	-	6	6	7	27	1	0	0	0	35	29***	59
	260	6	200	-	4	3	4	15	0	0	0	0	17	15***	38
陽性対照 (MMC)	0.1	6	200	-	1	3	14	28	0	0	0	0	41	38***	87
溶媒対照 (DMSO)	1%	6	200	+	1	3	0	0	1	0	0	0	4	1	100
検体	19.8	6	200	+	0	5	0	0	0	0	0	0	5	0	88
	59.3	6	200	+	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	85
	178	6	200	+	0	0	0	1	2	0	0	0	3	3	81
	533 [†]	6	200	+	0	0	1	1	0	0	0	0	2	2	66
	1600 [†]	6	200	+	2	1	6	17	1	0	0	0	20	19***	31
陽性対照 B[a]P	40	6	200	+	0	10	13	62	3	0	0	0	74	67***	57
溶媒対照 (DMSO)	1%	24	200	-	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	100
検体	34.5	24	200	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	93
	48.3	24	200	-	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	83
	67.7	24	200	-	1	1	0	0	1	0	0	0	2	1	69
	94.8	24	200	-	1	1	0	1	1	0	0	0	3	2	58
	133	24	200	-	2	3	7	13	1	0	0	0	17	16***	38
陽性対照 (MMC)	0.1	24	200	-	1	0	21	66	3	0	0	0	77	77***	96

[†]：検体の析出が観察された。

MMC：マイトマイシンC

B[a]P：ベンツ[a]ピレン

g：ギャップ

+g：ギャップを含む

-g：ギャップを含まない

χ^2 検定 ***： $p \leq 0.001$

検体による構造的染色体異常を有する細胞の増加には、統計学的に有意な用量相関が認められた
(Cochran-Armitage trend test, $p \leq 0.001$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

8) ポリオキシシン D 亜鉛塩のマウスを用いた小核試験 (資料 T-5.8)

試験機関 : 財団法人残留農薬研究所
[GLP 対応]

報告書作成年 : 2003 年

検体純度 : ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

供試動物 : ICR 系 SPF マウス (Cr1j:CD1)

7 週齢、体重 雄 30.2~37.5 g (平均 33.2 g) 一群 雄 5 匹

試験方法: 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、500、1000 及び 2000 mg/kg の 3 用量で、強制的に 1 回経口投与した。なお、陽性対照群にはマイトマイシン C を、陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を 1 回経口投与した。

投与 24 時間後に検体各用量群、陰性対照群及び陽性対照群の各 5 例の動物を、投与 48 時間後に検体最高用量 (2000 mg/kg) 群及び溶媒対照群の各 5 例の動物を屠殺した。各動物から両側大腿骨の骨髓を採取してスライドガラス上に塗抹し、メタノールで固定後、3%ギムザ液で染色し骨髓塗抹標本を作製した。

各標本について、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。また、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を計数した。

用量設定根拠 :

試験結果 : 骨髓塗抹標本の観察結果を次表に示した。

投与 24 時間後において、いずれの用量群でも陰性対照群と比べて小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。また、投与 48 時間後においても、最高用量群で有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。また、多染性赤血球の割合に有意な減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与 用量 (mg/kg)	性	観 察 動物数	MNPCE/PCE (%)		PCE/(PCE+NCE) (%)	
					平均値±SD	S ^K	平均値±SD	S ^K
24	陰性対照 (0.5%メチルセルロース)	0	雄	5	0.17±0.13	—	61.5±2.4	—
	検体	500	雄	5	0.17±0.12	N. S.	60.0±5.8	N. S.
		1000	雄	5	0.25±0.13	N. S.	66.0±3.5	N. S.
		2000	雄	5	0.06±0.07	N. S.	61.6±5.1	N. S.
	陽性対照 (マイトマイシン C)	10	雄	5	5.94±1.73	***	53.0±8.4	*
48	陰性対照 (0.5%メチルセルロース)	0	雄	5	0.14±0.05	—	61.7±6.7	—
	検体	2000	雄	5	0.16±0.04	N. S.	53.9±5.4	N. S.

S^K : Kastenbaum-Bowman またはカイ二乗検定による統計解析

S^K : Wilcoxon の順位和検定による統計解析

N. S. : 陰性対照群と比べて有意差なし (p>0.05)

* : 陰性対照群と比べて有意差あり (p≤0.05)

*** : 陰性対照群と比べて有意差あり (p≤0.001)

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球数

PCE : 多染性赤血球数

NCE : 正染性赤血球数

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せず、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科研製薬（株）にある。

チャイニーズハムスター培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（HPRT 試験） （資料 T-5.9）

試験機関 : TOXI-COOP ZRT. (ハンガリー)
[GLP 対応]

報告書作成年 : 2016 年

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター培養細胞 CHO-K1 を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で X 染色体上の *hprt* 遺伝子における突然変異誘発性を検索した。

検体はハム F12 液体培地に溶解させ、125~2000 µg/mL の範囲の 5 濃度で 5 時間処理した。処理終了から 19 時間後に細胞を回収し、その一部を 200 細胞/プレートで 3 プレート/濃度に播種した (Day 1 コロニー形成率)。8 日間の発現期間を設けた後、細胞を回収し、200 細胞/プレートで 3 プレート/濃度に播種した (Day 8 コロニー形成率)。また、突然変異頻度を求めるため 6-チオグアニンを加えて 2×10^5 細胞/プレートで 5 プレート/濃度に播種した。コロニー数はすべて播種 6 日後にカウントした。各濃度 2 反復とし、独立した試験を 2 回実施した。

用量設定根拠 ;

試験結果 : 結果を次表に示す。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの濃度においても溶媒対照群に比べて統計学的に有意な突然変異頻度の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンサルホネートやジメチルベンゾ[a]アントラセンでは、統計学的に有意な突然変異頻度の増加が認められた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で、哺乳類培養細胞において突然変異誘発性を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科研製薬（株）にある。

試験結果（代謝活性化系非存在下、-S9 mix）

系列	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	Day 1 コロニ ー形成率 (%)	相対細胞増 殖率 (%)	変異コロニ ー合計数 ^a	Day 8 コロニ ー形成率 (%)	突然変異頻 度 ($\times 10^{-6}$)
1	溶媒対照 (DMSO)	—	102	100	6	101	5.94
	検体	125	101	101	4	102	3.92
		250	102	100	4	101	3.96
		500	102	100	4	100	4.00
		1000	100	99	4	100	4.00
		2000	86	96	4	97	4.12
	陽性対照 (EMS)	1	29	64	1035	65	1592.31**
2	溶媒対照 (DMSO)	—	101	100	5	101	4.95
	検体	125	100	99	4	100	4.00
		250	101	100	4	100	4.00
		500	101	99	4	100	4.00
		1000	99	99	4	100	4.00
		2000	86	98	4	99	4.04
	陽性対照 (EMS)	1	29	65	1064	65	1636.92**
3	溶媒対照 (DMSO)	—	101	100	5	101	4.95
	検体	125	102	100	4	101	3.96
		250	102	99	4	101	3.96
		500	100	100	5	102	4.90
		1000	99	100	4	101	3.96
		2000	86	98	5	99	5.05
	陽性対照 (EMS)	1	28	65	1036	66	1569.70**
4	溶媒対照 (DMSO)	—	101	100	5	100	5.00
	検体	125	101	100	4	100	4.00
		250	100	99	4	99	4.04
		500	100	100	4	100	4.00
		1000	99	100	4	100	4.00
		2000	86	98	4	98	4.08
	陽性対照 (EMS)	1	28	64	1059	65	1629.23**

EMS：エチルメタンサルホネート

**：溶媒対照および背景値に対して統計学的に有意 ($p < 0.01$)

a：5枚のプレート上に認められた変異コロニーの合計数

n = 2で2回試験を行い、各濃度あたり4系列のデータを得た。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

試験結果（代謝活性化系存在下、+S9 mix）

系列	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Day 1 コロニ ー形成率 (%)	相対細胞増 殖率 (%)	変異コロニ ー合計数 ^a	Day 8 コロニ ー形成率 (%)	突然変異頻 度($\times 10^{-6}$)
1	溶媒対照 (DMSO)	—	99	100	6	102	5.88
	検体	125	98	99	4	101	3.97
		250	98	100	5	101	4.95
		500	98	99	4	100	4.00
		1000	97	98	4	99	4.04
		2000	84	97	7	98	7.14
陽性対照 (DMBA)	20	62	76	581	77	754.55**	
2	溶媒対照 (DMSO)	—	99	100	5	101	4.95
	検体	125	98	99	4	100	4.00
		250	98	99	5	100	5.00
		500	99	99	4	101	3.96
		1000	97	98	4	99	4.04
		2000	85	98	7	99	7.07
陽性対照 (DMBA)	20	62	75	596	76	784.21**	
3	溶媒対照 (DMSO)	—	100	100	5	102	4.90
	検体	125	99	100	4	101	3.96
		250	99	99	4	101	3.96
		500	99	99	5	100	5.00
		1000	98	99	4	101	3.96
		2000	84	98	5	100	5.00
陽性対照 (DMBA)	20	63	76	587	78	752.56**	
4	溶媒対照 (DMSO)	—	100	100	5	101	4.95
	検体	125	99	99	5	100	5.00
		250	99	99	4	100	4.00
		500	99	100	4	100	4.00
		1000	98	99	4	100	4.00
		2000	84	99	5	99	5.05
陽性対照 (DMBA)	20	64	76	577	76	759.21**	

DMBA：ジメチルベンゾ[a]アントラセン

**：溶媒対照および背景値に対して統計学的に有意 ($p < 0.01$)

a：5枚のプレート上に認められた変異コロニーの合計数

n = 2で2回試験を行い、各濃度あたり4系列のデータを得た。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

(7) 生体機能影響

生体機能への影響に関する試験

(資料 T-6.1)

試験機関 : 日本大学医学部薬理学教室

報告書作成年 : 1976年

検体の純度 : ポリオキシシン D 亜鉛塩原体

1 中枢神経系に対する作用

1) マウスにおける催眠延長作用

供試動物 : dd系マウス 体重約 18 g、1群雄 10匹 (対照群では 20匹)

投与方法 : メチルヘキサピタールナトリウム 80 mg/kg の腹腔内投与群を対照として、検体 1、5、10、50 および 100 mg/kg を併用した時の催眠延長作用の有無を検討した。

結果 ; メチルヘキサピタールナトリウム 80 mg/kg (i. p.) の単独投与では 30.8 分の催眠時間であったが 1、5、10、50 及び 100 mg/kg 併用群ではそれぞれ 39.0、32.8、33.9、32.0、37.5 分でいずれの併用群とも延長は認められなかった。

2) マウスの抗痙攣作用

供試動物 : dd系マウス 体重約 20 g、1群雄 5匹 (対照群では 10匹)

投与方法 : ピクロトキシシン 4.2 mg/kg あるいはペンテトラゾール 70 mg/kg を皮下投与して痙攣をおこさせ、前者の場合は 7~8 分、後者の場合は 1~2 分後に検体 1、5、10、50 及び 100 mg/kg を腹腔内投与し痙攣及び死亡に対する抑制作用を検討した。

結果 : ピクロトキシシン投与により 10 例全例に痙攣が、また死亡は 7 例に発現したが、検体によるこれらの痙攣及び死亡の抑制は 100 mg/kg 投与群でも見られなかった。またペンテトラゾール投与により 10 例全例に痙攣が発現したが、検体による痙攣の抑制は 100 mg/kg 投与群でも見られなかった。

3) マウスの熱板法によるモルヒネの鎮痛効果に及ぼす影響

供試動物 : ICR系マウス 体重約 20 g、1群雄 10匹 (対照群では 20匹)

投与方法 : 検体 1、5、10、50 及び 100 mg/kg を腹腔内投与 30 分後にモルヒネ 5 mg/kg を皮下投与して、モルヒネの鎮痛作用に及ぼす影響を熱板法により経時的に測定した。

結果 : モルヒネ単独投与 20~30 分経過後に反応時間の最大値 15~16 秒が得られた。検体との併用投与でもモルヒネの反応時間に有意な変化は見られず、検体には鎮痛作用が無いと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

4) ウサギの脳波に対する影響

供試動物：ウサギ 体重 2.5～3.0 kg 雄雌

投与方法：麻酔下のウサギを固定して手術し、電極を埋め込み、術後1週間してから、無麻酔下で検体1、5、10、50及び100 mg/kgを耳静脈内に投与し、直後より120分間脳波を測定した。

結果：1 mg/kg 投与により20 cps 紡錘波が出現した。60分後では2～3 cps の徐波成分が増し、15～20 cps の紡錘波の出現頻度も増加し、抑制状態がみられた。投与後、ウサギは目をあけたままじっとしており、徐波成分が増した60分後には目を半分閉じて寝そべっていた。120分後でも寝そべった状態であった。5、10、20 mg/kgでも同様の経過を示し、紡錘波と徐波成分が増加し、抑制状態が強くみられた。50、100 mg/kg では2～3 cps の徐波と20 cps の紡錘波は出現したが抑制状態は強化されなかった。

5) ラットの直腸温に及ぼす作用

供試動物：ウイスター系ラット 体重約280 g、1群5匹

投与方法：検体50及び100 mg/kgを腹腔内投与し、投与後5、10、20、30、60、90、120、150及び180分に、直腸温を測定した。

結果：50、100 mg/kg 投与により両群とも投与後60分まで直腸温が下る傾向を示したが、生理食塩液投与の対照群に比して有意な差は認められなかった。

6) マウスの自発運動に及ぼす影響

供試動物：dd系マウス 体重約20 g、1群雄5匹

投与方法：検体5、10、20及び40 mg/kgを腹腔内投与し自発運動記録装置により行動変化を媒煙紙上に描記させた。

結果：5、10 mg/kg 投与群では行動に変化を認めなかったが、20 mg/kg 投与群で投与40～60分後に運動量がやや減少し、40 mg/kg 投与群では30分以後に鎮静状態になって運動が見られなくなり、80分後もその状態が持続した。

2 呼吸及び循環器系に対する作用

1) イヌの呼吸、血圧、血流量及び心電図に対する効果

供試動物：雑種成犬 体重約10 kg 雄雌

投与方法：検体5、10、20及び50 mg/kgを左大伏在静脈注に挿入したカテーテルより液量を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

0.5 mL に調整して投与した場合の呼吸、血圧、血流量及び心電図の変化を 4 チャンネルポリグラフにより同時記録した。

結 果：50 mg/kg で軽度の呼吸抑制と血度の血流量増加が認められた。血圧の一過性の下降が 10 mg/kg 以上の投与群でみられ、これに伴い呼吸振幅の減少がみられたが間もなく回復した。

心電図はいずれの投与群でも明らかな変化はみられなかった。

3 摘出臓器に対する作用

1) ウサギの気管に対する作用

供試動物：ウサギ 体重約 2 kg 雄

投与方法：約 4 cm の気管標本をマグヌス法に従って 50 mL のマグヌス管中に懸垂し、検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 及び 5×10^{-4} g/mL の気管に対する作用をヘーベルを介して媒煙紙上に描記させた。

また、アセチルコリンに対する検体の拮抗作用の有無を調べた。

結 果： 10^{-6} ～ 5×10^{-4} g/mL の濃度範囲ではいずれの濃度においても気管に対して何ら作用を示さなかった。またアセチルコリンによる気管の収縮に対しても 5×10^{-6} ～ 5×10^{-4} g/mL の濃度範囲で拮抗作用を示さなかった。

2) ウサギの血管に対する作用

供試動物：ウサギ 体重約 2 kg 雄

投与方法：約 2 cm の胸部下行大動脈標本をマグヌス法に従って 50 mL のマグヌス管中に懸垂し検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 及び 5×10^{-4} g/mL の血管に対する作用を調べた。また、アドレナリンに対する検体の拮抗作用の有無を調べた。

結 果： 10^{-6} ～ 5×10^{-4} g/mL の濃度範囲ではいずれの濃度においても血管に対して何ら作用を示さなかった。またアドレナリンによる血管の収縮に対しても 10^{-5} および 10^{-4} g/mL の濃度で拮抗作用を示さなかった。

3) カエルの下肢灌流に対する効果 (Laewen-Trendelenburg 法)

供試動物：食用ガエル

投与方法：ガマ下肢灌流法に準じて食用ガエルを断頭し脊髄を破壊後、下肢灌流を行った。静脈カニューレから滴下する灌流液の滴数を 30～40 滴/分になる様に調節し、滴数が一定になったとき、検体 1、10、50 及び 100 μ g を投与して灌流液の滴数を 20 分間測定した。

結 果：1～100 μ g の投与ではカエルの下肢血管に対してほとんど影響を及ぼさなかった。

4) モルモットの心房に対する作用

供試動物：モルモット 体重約 300 g 雄

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

投与方法：心房の両心耳をセルフィンにつなぎマグヌス法に従ってマグヌス管中に懸垂して
検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4} および 10^{-3} g/mL の心房収縮に対
する作用をFDピックアップを介してポリグラフ上に記録した。

結 果： $10^{-6} \sim 10^{-4}$ g/mL の濃度では心房の収縮に対し作用は認められなかったが 5×10^{-4}
g/mL から収縮が軽度に抑制された。

5) ウサギの胃に対する作用

○胃輪状筋

供試動物：ウサギ 体重約2 kg 雄

投与方法：胃を輪切りにした切片を作り、マグヌス法に従って 37°C のタイロード液を満した
100 mL のマグヌス管にその約 2 cm を懸垂してアセチルコリンによる筋収縮に
対しての検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4} および 10^{-3} g/mL の拮抗
作用の有無を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/mL の濃度範囲ではいずれの濃度においてもアセチルコリンによる収
縮に対し何ら影響を及ぼさなかった。

○胃縦状筋

供試動物：ウサギ 体重約 2 kg 雄

投与方法：胃を摘出して縦切りにした切片を作り、輪状筋の場合と同様にアセチルコリン
 10^{-6} g/mL による筋収縮に対しての検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4}
および 10^{-3} g/mL の拮抗作用の有無を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/mL の濃度範囲ではアセチルコリンによる筋収縮に対していずれの濃
度においても何ら影響を及ぼさなかった。

6) ウサギの腸管に対する作用

供試動物：ウサギ 体重約 2 kg 雄

投与方法：約 2 cm の回腸標本をマグヌス法に従って、 37°C のタイロード液を満した 100 mL
のマグヌス管中に懸垂し、検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4} および
 10^{-3} g/mL の回腸の自発運動に対する作用を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/mL の濃度範囲ではいずれの濃度においても回腸の自発運動に対して
殆ど作用を示さなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

7) ラットの子宮に対する作用

○子宮

供試動物：ラット 体重約 200 g 雌

投与方法：子宮角を摘出し、その約 2 cm をマグヌス法に従って 37°C のリンゲル液中で、検体 10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} および 10^{-4} g/mL の子宮収縮に対する作用を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 10^{-1}$ g/mL の濃度範囲ではいずれの濃度においても子宮の運動律動、収縮幅および緊張ともに明らかな変化が見られなかった。

○妊娠子宮

供試動物：妊娠ラット 体重約 250 g 雌

投与方法：子宮角を摘出して非妊娠の子宮と同様に検体の妊娠子宮収縮に対する作用を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 5 \times 10^{-5}$ g/mL の濃度範囲では明らかな変化は認められなかったが、 10^{-4} g/mL では軽度の収縮幅および緊張の低下が認められた。

8) ウサギの膀胱に対する作用

供試動物：ウサギ 体重約 2 kg 雄

投与方法：縦切開して約 2 cm の膀胱標本を作製し、マグヌス法に従い 50 mL のマグヌス管に懸垂して検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} および 2×10^{-4} g/mL の膀胱収縮に対する作用を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 2 \times 10^{-4}$ g/mL の濃度範囲ではいずれの濃度においても膀胱に対して何ら作用を示さなかった。

9) ウサギの結腸に対する作用

供試動物：ウサギ 体重約 2 kg 雄

投与方法：結腸を摘出し、その約 2 cm を用いてマグヌス法に従って 34°C のタイロード液中で検体 10^{-6} 、 5×10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} 、 10^{-4} 、 5×10^{-4} および 10^{-3} g/mL の結腸収縮に対する作用を調べた。

また、アセチルコリン、アトロピン、ヒスタミン、アドレナリンおよびセロトニンに対する拮抗作用を調べた。

結 果： $10^{-6} \sim 10^{-3}$ g/mL の濃度範囲では、いずれの濃度においても結腸に対して明らかな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

作用は認められなかった。

アセチルコリン、アトロピン、ヒスタミン、アドレナリン及びセロトニンによる結腸の反応に対して 5×10^{-4} g/mL の濃度でいずれもほとんど拮抗作用を示さなかった。

4 運動神経系及び骨格筋に対する作用

1) ネコの前脛骨筋に対する作用

供試動物：ネコ 体重約 2.5 kg 雄雌

投与方法：麻酔後、前脛骨筋、深腓骨神経を露出させ、深腓骨神経の電気刺激による前脛骨筋の収縮を検体 1、2、5、10、20 および 50 mg/kg を静脈内に投与し測定した。

結果：1～50 mg/kg 投与により、神経の電気刺激による前脛骨筋の収縮はほとんど影響を受けなかった。

2) カエルの腹直筋に対する作用

供試動物：カエル

投与方法：腹直筋を摘出し、リンゲル液 10 mL を満たした水槽に懸垂した。検体 10^{-6} 、 10^{-5} 、 5×10^{-5} および 10^{-4} g/mL のアセチルコリンによって起こる筋収縮に対する拮抗作用を調べた。

結果：アセチルコリン投与による腹直筋の収縮は、 10^{-6} ～ 10^{-1} g/mL のいずれの濃度でも拮抗作用を受けなかった。

5 胆汁分泌に対する作用

1) ラットの胆汁分泌に対する作用

供試動物：ウイスター系ラット 体重約 230 g、1群5匹 雄

投与方法：麻酔後、輸胆管の十二指腸に近接した部位を結紮し、その上部に毛細管カニューレを装着した。検体 10、50 および 100 mg/kg を経口投与し、直後から 4 時間にわたり目盛付スピッツ管で胆汁の採取量を測定した。

結果：10～100 mg/kg 投与では、いずれの投与群においても胆汁分泌量に対する著しい影響は認められなかった。

以上のように、本検体の生体機能に及ぼす試験に関して、ラット、マウス並びにその他の動物を用いて検討した結果、脳波において雌雄のウサギで 1 mg/kg 以上、自発運動においてマウスに 20 mg/kg、雌雄のイヌにおいて呼吸及び血圧が 10 mg/kg 以上の投与量、血流量が 50 mg/kg の投与

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

量において影響がみられた。さらにモルモットの心房、ラットの妊娠子宮に対しても軽度な影響が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

1. 中枢神経系

試験項目 (試験動物)	動物種	投与経路	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
催眠延長作用	マウス	腹腔内	1, 5, 10, 50, 100	雄 10	—	100	作用なし
抗痙攣作用	マウス	腹腔内	0, 1, 5, 10, 50, 100	雄 5	—	100	作用なし ピクロトキシンによる 死亡:7/10例
モルヒネの鎮痛 効果〔熱板法〕	マウス	腹腔内	1, 5, 10, 50, 100	雄 10	—	100	作用なし
脳波	ウサギ	耳静脈内	0, 1, 5, 10, 20, 50, 100	雌雄	1	—	各群ともに主波に混 じって約20 cpsの紡 錘波及び2~3 cpsの 徐波成分が出現し、1 ~20 mg/kgには寝そ べり状態（抑制状態） が認められたが、50 mg/kg以上では抑制状 態は強化されなかつ た。
直腸温 〔Magnus法〕	ラット	腹腔内	0, 50, 100	5	50	—	投与60分後まで直腸 温の低下が認められ たが、対照群にも同様 の傾向が認められ、薬 物投与による影響で はないとされた。
自発運動	マウス	腹腔内	5, 10, 20, 40	雄 5	20	10	20 mg/kg:投与40~60 分後に運動量減少。 40 mg/kg:投与30分以 後に鎮静状態になり、 運動が認められなく なり、80分後も持続。

2. 呼吸、循環器系

試験項目 (試験動物)	動物種	投与経路	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
呼吸	イヌ	静脈内	5, 10, 20, 50	雌雄	10	5	10 mg/kg以上:呼吸振幅 の減少
血圧	イヌ				10	5	10 mg/kg 以上:一過性 の下降
血流量	イヌ				50	20	軽度の血流量増加
心電図	イヌ				—	50	作用なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

3. 摘出臓器に対する作用

試験臓器 (試験動物)	動物種	投与経路	投与量 (g/mL)	動物数 /群	作用量 (g/mL)	無作用量 (g/mL)	結果の概要
気管 〔Magnus法によるアセチルコリン拮抗作用〕	ウサギ	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 5 \times 10^{-4}$	雄	—	5×10^{-4}	気管に対する作用:作用なし
					—	5×10^{-4}	アセチルコリン拮抗作用:作用なし
1. 大動脈 〔Magnus法によるアドレナリン拮抗作用〕	ウサギ	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 5 \times 10^{-4}$	雄	—	5×10^{-4}	血管に対する作用:作用なし
					—	10^{-4}	アドレナリン拮抗作用:作用なし
2. 下肢血管 〔Laewen-Trendelen-burg法〕	食用 ガエル	静脈カニ ューレ挿 入	1, 10, 50, 100 μ g	—	—	100 μ g	ほとんど作用なし
心房 〔Magnus法〕	モルモ ット	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 5 \times 10^{-4}$ 10^{-3}	雄	5×10^{-4}	10^{-4}	5×10^{-4} mg/kg以上:軽度
胃							
1. 胃輪状筋 〔Magnus法によるアセチルコリン拮抗作用〕	ウサギ	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 5 \times 10^{-4}$ 10^{-3}	雄	—	10^{-3}	作用なし
2. 胃縦走筋 〔Magnus法によるアセチルコリン拮抗作用〕	ウサギ	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 5 \times 10^{-4}$ 10^{-3}	雄	—	10^{-3}	作用なし
腸管 〔Magnus法〕	ウサギ	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 5 \times 10^{-4}$ 10^{-3}	雄	—	10^{-3}	ほとんど作用なし
子宮							
1. 子宮 〔Magnus法〕	ラット	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, 10^{-4}	雌	—	10^{-4}	明らかな作用なし
2. 妊娠子宮 〔Magnus法〕	妊娠 ラット	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, 10^{-4}	雌	10^{-4}	5×10^{-5}	軽度の収縮幅及び緊張の低下
膀胱 〔Magnus法〕	ウサギ	—	$10^{-6}, 5 \times 10^{-6}$ $10^{-5}, 5 \times 10^{-5}$, $10^{-4}, 2 \times 10^{-4}$	雄	—	2×10^{-4}	

(次頁に続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

試験臓器 (試験動物)	動物種	投与経路	投与量 (g/mL)	動物数 /群	作用量 (g/mL)	無作用量 (g/mL)	結果の概要
結腸 〔Magnus法によるアセチルコリン、アトロピン、ヒスタミン、アドレナリン及びピセロトニン拮抗作用〕	ウサギ	—	10 ⁻⁶ , 5×10 ⁻⁶	雄	—	10 ⁻³	結腸に対する作用：明らかな作用なし
			10 ⁻⁵ , 5×10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ , 5×10 ⁻⁴ 10 ⁻³		—	10 ⁻³	アセチルコリン等拮抗作用：ほとんど作用なし

4. 運動神経系及び骨格筋に対する作用

試験臓器 (試験動物)	動物種	投与経路	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
前脛骨筋 〔麻酔下、神経の電気刺激に対する作用〕	ネコ	静脈内	1, 2, 5, 10, 20, 50	雌雄	—	50	ほとんど作用なし
腹直筋 〔アセチルコリン拮抗作用〕	カエル	—	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 5×10 ⁻⁵ , 10 ⁻¹ g/mL	—	—	10 ⁻¹ g/mL	作用なし

5. 胆汁分泌に対する作用

試験項目 (試験動物)	動物種	投与経路	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
胆汁分泌 〔麻酔下、カニユーレ装着による胆汁分泌量の測定〕	ラット	経口	0, 10, 50, 100	雄 5	—	100	著しい作用なし

注) 各試験項目における溶媒ならびに動物数/群の空欄部分については、試験報告書中に記載がないため無記入あるいは性別のみの記載とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

(8) その他

マウスを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与免疫毒性試験 (資料 T-7.1)

試験機関：WIL Research Laboratories, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体の純度：

供試動物：ICR マウス (Cr1:CD*1(ICR))、1 群雌 10 匹、投与開始時約 7 週齢

体重 21.6~28.3 g

投与期間：28 日間 (2006 年 6 月 19 日~2006 年 7 月 17 日)

投与方法：検体を 0、400、4000 および 40000 ppm の濃度で飼料に混入し、28 日間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料はほぼ週 1 回調製した。

一方、陽性対照群には基礎飼料を給餌し、投与 24~27 日に陽性対照物質 (シクロホスファミド) を 50 mg/kg/day で腹腔内投与した。

感作:投与 24 日に全動物を対象として、0.2 mL の HEPES 含有 Earle's Balanced Salt Solution 中に懸濁した 1×10^8 個のヒツジ赤血球 (sheep red blood cell, sRBC) を尾静脈から静脈内投与または腹腔内投与した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。さらに、詳細な身体検査を週 1 回行った。

検体投与に関連した死亡例または症状はなかった。

陽性対照群の 1 例が投与 20 日に死亡した。当該動物は陽性対照物質の投与開始前に死亡したことから、偶発的な死亡例であると考えられた。

体重変化；全生存動物の体重を週 2 回測定し、各期間の体重増加量を算出した。

検体または陽性対照物質投与による影響はなかった。

摂餌量；全生存動物の摂餌量を毎週測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示す。

検査 時期	検体の投与量 (ppm)		
	400	4000	40000
14~21 日	↑125	↑125	

Dunnett 検定 ↑↓: $p < 0.05$

表中の数値は対照群を 100 とした時の割合 (%)

検体の 400 および 4000 ppm 群で摂餌量の有意な増加が認められた。しかし、用量依存性がないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。したがって、検体または陽性対照物質投与による影響はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

検体の投与量 (ppm)	400	4000	40000
検体摂取量 (mg/kg/day)	86.0	831.5	8034.2

臓器重量；投与終了後に全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重量比も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣および卵管、脾臓、胸腺

検体投与による影響はなかった。

陽性対照群で胸腺および脾臓重量が減少した。

肉眼的病理検査；途中死亡動物および投与終了後の全生存動物を検査した。

検体投与に関連した肉眼的変化はなかった。

陽性対照群で脾臓および胸腺の小型化が認められ、これらの臓器重量の減少と関連していた。

脾臓抗体産生細胞の測定；投与終了後に全生存動物から脾臓を採取し、Jerne プラーク法¹⁾の変法により sRBC 特異的 IgM 抗体産生細胞 (antibody-forming cell, AFC) 数を測定した。測定結果は脾臓あたりの細胞数、特異活性 (IgM AFC/脾臓細胞 10^6 個) および総脾臓活性 (IgM AFC/脾臓) で表示した。

T 依存性抗原の sRBC に対する IgM 抗体産生細胞反応について、特異活性または総脾臓活性のいずれについても、検体投与による影響は認められなかった。陽性対照群で脾臓細胞数、特異活性および総脾臓活性が有意に減少した。以上のように、陽性対照群に認められた変化は免疫抑制剤投与により予想される免疫学的影響であり、本試験で実施した試験方法の信頼性を保証する結果であった。

以上の結果から、本検体のマウスを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与脾臓抗体産生試験において、いずれの投与群でも毒性影響が認められなかったことから、無毒性量は 40000 ppm (8034.2 mg/kg/day) であると判断される。また、最高投与量の 40000 ppm でも、T 依存性抗原の sRBC に対する液性免疫反応に影響を及ぼさないと判断される。

参考文献

1) Jerne, N.K.; Nordin, A.A.; Henry, C. The Agar Plaque Technique for Recognizing Antibody-Producing Cell. In *Cell Bound Antibodies*, Amos, B., Koprowski, H., Eds.; Wistar Institute Press: Philadelphia, PA, 1963.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

細菌に対する影響試験

(資料 T-8.1)

試験機関 : 株式会社三菱化学ビーシーエル

報告書作成年 : 2004 年

ポリオキシシン D、ポリオキシシン B 及び

の各種細菌に対する抗菌力測定試験

試験方法 : 日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法で、好気性菌10種、嫌気性菌3種及び抗酸菌1種に対するポリオキシシンD、ポリオキシシンB及びの最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。

濃度設定根拠 : 日本化学療法学会標準法に準じた寒天平板希釈法で、400~0.025 µg/mL (2倍希釈系列) の検体濃度を設定した。

試験結果 : 本試験の結果を次表に示す。

各種の細菌株に対するポリオキシシンD、ポリオキシシンB及びのMIC値はすべて>400 µg/mLであった。

表 各種細菌に対する抗菌力測定試験成績

MIC : µg/mL

菌種	菌株名	ポリオキシシンD	ポリオキシシンB
好気性菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	>400	>400
	<i>Enterococcus faecalis</i>	>400	>400
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	>400	>400
	<i>Bacillus subtilis</i>	>400	>400
	<i>Escherichia coli</i>	>400	>400
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	>400	>400
	<i>Serratia marcescens</i>	>400	>400
	<i>Salmonella enteritidis</i>	>400	>400
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	>400	>400
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>400	>400
嫌気性菌	<i>Clostridium perfringens</i>	>400	>400
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	>400	>400
抗酸菌	<i>Bacteroides fragilis</i>	>400	>400
	<i>Mycobacterium avium</i>	>400	>400

(申請者注)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

細菌に対する影響試験

(資料 T-8.2)

試験機関：一般財団法人生物科学安全研究所

報告書作成年：2016年

ポリオキシシンD亜鉛塩原体の腸内細菌に対する影響試験

検体の純度：

試験方法：VICH GL36（微生物学的ADI設定の一般的アプローチ）において、微生物学的ADI設定のための最小発育阻止濃度（MIC）試験での使用が推奨されている腸内細菌株（通性嫌気性菌2種及び偏性嫌気性菌8種）に対するポリオキシシンD亜鉛塩原体のMICを測定した。通性嫌気性菌はCLSI M100-S21、偏性嫌気性菌はCLSI M11-A8の寒天平板希釈法に従って実施した。

濃度設定根拠：

試験結果：本試験の結果（ ）を次表に示す。

各種の腸内細菌株に対するポリオキシシンD亜鉛塩原体のMIC値はすべて、本試験では>128 µg/mL（ ）であった。

表 薬剤感受性試験成績

菌種	菌名	株数	ポリオキシシンD亜鉛塩（単位：µg/mL）	
			0.063～128	MIC (µg/mL)
通性嫌気性菌	<i>Escherichia coli</i>	1	+	>128
	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	+	>128
偏性嫌気性菌	<i>Bacteroides fragilis</i>	1	+	>128
	<i>Bifidobacterium animalis</i>	1	+	>128
	<i>Clostridium sporogenes</i>	1	+	>128
	<i>Collinsella aerofaciens</i>	1	+	>128
	<i>Eggerthella lenta</i>	1	+	>128
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	+	>128
	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1	+	>128
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1	+	>128

(申請者注)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

2. 製剤

(1) 2.25%水和剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 TF-1.1)

試験機関 : 科研製薬株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1988年

検体の純度 : 2.25%水和剤

〔組成〕 ポリオキシンド亜鉛塩	2.25 %
(ポリオキシンドとして	20,000 PsDu/g)
鋳物質微粉、界面活性剤等	97.75 %

供試動物 : Wistar系ラット、6週齢、体重 ; 雄 141~156g、雌 113~121g、1群雌雄各6匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体は10mL/kgの投与容量となるようマグネティックスターラーを用いて蒸留水に懸濁し、胃ゾンデを用いて強制1回経口投与した。動物は投与前日の夕刻から投与終了時まで絶食とした。

観察・検査項目 : 一般状態ならびに生死を14日間観察し、投与前、投与後1、2、3、7及び14日の午前中に体重を測定した。供試した動物全例を剖検した。

結 果 :

投与方法	経口
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	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	投与後3時間に発現 投与後6時間に消失
毒性徴候の認められなかった最高用量 (mg/kg)	雌雄 5000>
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

一般状態の変化として雄5例、雌2例に投与後3時間で下痢がみられたのみで、投与後6時間以降は観察期間終了時まで異常は全く認められなかった。雌雄とも死亡例は認められず、体重はほぼ順調に増加した。解剖においても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科研製薬（株）にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 TF-1.2)

試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1988年

検体の純度 : 2.25% 水和剤

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	2.25 %
(ポリオキシシンDとして)	20,000 PsDu/g)
鉍物質微粉・界面活性剤等	97.75 %

供試動物 : Jc1:ICR系マウス、6週齢、体重 ; 雄28~32g、雌25~27g、1群雌雄各6匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体は10mL/kgの投与容量となるようマグネティックスターラーを用いて蒸留水に懸濁し、胃ゾンデで強制1回経口投与した。動物は投与前日の夕刻から投与終了時まで絶食とした。

観察・検査項目 : 一般状態ならびに生死を14日間観察し、投与前、投与後1、2、3、7及び14日の午前中に体重を測定した。供試した動物全例を剖検した。

結 果 :

投与方法	経口
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	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	投与後3時間に発現 投与後6時間に消失
毒性徴候の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	5000>
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

一般状態の変化として雄の1例に投与後3時間で下痢が見られたのみで、投与後6時間以降は観察期間終了時まで異常は全く認められなかった。雌雄とも死亡例は認められず、体重はほぼ順調に推移した。剖検においても検体投与に起因すると考えられる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科研製薬（株）にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 TF-1.3)

試験機関 : 科研製薬株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1988年

検体の純度 : 2.25% 水和剤

[組成] ポリオキシシンD 亜鉛塩 2.25 %
(ポリオキシシンDとして 20,000 PsDu/g)
鉍物質微粉、界面活性剤等 97.75 %

供試動物 : Slc:SD系ラット、雄8週齢、雌13週齢、
体重 ; 雄 253~272g、雌 218~253g、1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体を蒸留水で湿らせたベンコット(4x5cm) に体重相当量のをせ、さらに蒸留水を加え十分湿らせてから、あらかじめ除毛したラット背部に24時間単回貼付した。

観察・検査項目 : 一般状態ならびに生死を14日間観察し、投与前、投与後1、2、3、7及び14日の午前中に体重を測定した。試験終了時に全例について局所を含めて剖検した。

結 果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >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	投与後30分~投与後2日から発現 投与後4日~投与後7日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	2000>
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

一般状態の変化として雄雌とも眼または鼻周囲の血様痂皮及び涙眼等が認められたが、これらの所見は対照群にも同様に認められたことから経皮投与における絆創膏及びネックス装着等によるストレスの影響と思われた。この他、検体投与群では投与後1日より投与部位の紅斑、投与後2日より投与部位の痂皮形成が認められたが投与後6日には消失した。

雌雄とも死亡例は認められず、体重推移及び剖検では雌雄とも検体投与の影響と考えられる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科研製薬（株）にある。

4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 TF-1.4)

試験機関 : ハンチントン リサーチ センター

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体の純度 : 2.25% 水和剤

[組成] ポリオキシシンD 亜鉛塩	2.25 %
(ポリオキシシンDとして	20,000 PsDu/g)
鉍物質微粉、界面活性剤等	97.75 %

供試動物 : ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、10~13週齢、体重; 2.2~2.9 kg、
1群 6匹

観察期間 : 3日間

投与方法 : 検体0.5gを刈毛した動物の背中の皮膚(2.5cm四方)に蒸留水0.5mLで湿らせて塗布した。塗布時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水を用いて拭き取った。

観察・検査項目 : 塗布終了後30分、1、2及び3日後に塗布部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、農林水産省のガイドラインに従って採点した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は、以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			30分	1日	2日	3日
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
平均	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

いずれの動物においても薬剤処理による刺激反応は認められなかった。

以上の結果から、2.25%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと思われる。

[申請者注:

]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

5) ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 TF-1.5)

試験機関 : ハチドブ リサーチ センター

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体の純度 : 2.25% 水和剤

[組成] ポリオキシシンD 亜鉛塩 : 2.25 %

(ポリオキシシンDとして 20,000 PsDu/g)

鉍物質微粉、界面活性剤等 : 97.75%

供試動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、11~16週齢、体重 ; 2.4~4.0 kg、
洗眼群 ; 雄2匹、雌1匹、非洗眼群 ; 雌6匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体60 mg (0.1mL相当重量) を各動物の下眼瞼内側に投与し、両眼瞼を
緩やかに合わせ約1秒保持した。もう一方の眼は無処置とし対照とした。
洗眼群では投与約2分後に水で30秒間洗眼した。

観察・検査項目 : 投与後1時間、1、2、3、4、7及び14日後に角膜、虹彩、結膜の刺激
性変化を観察し、農林水産省のガイドライン(59農蚕第4200号、1985年)
に従って採点した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目			最高 評点	適用後時間							
				1時間	1日	2日	3日	4日	7日	14日	
非洗 眼群	動物 番号 1	角膜		4	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	0	
			浮腫	4	2	1	1	1	0	0	
	動物 番号 2	角膜		4	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	0
			浮腫	4	1	2	2	1	1	1	0
	動物 番号 3	角膜		4	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	
			浮腫	4	2	1	1	1	0	0	
	動物 番号 4	角膜		4	0	0	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	
			浮腫	4	1	1	1	1	1	0	
	動物 番号 5	角膜		4	*1	2	2	2	1	0	0
		虹彩		2	0	0	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2*2	2*2	2*2	2	1	0
浮腫			4	1	2	2	2	1	0	0	
動物 番号 6	角膜		4	0	0	0	0	0			
	虹彩		2	0	0	0	0	0			
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	0			
		浮腫	4	2	1	1	1	0			
合計			78	15*3	19	20	18	11	3	0	
平均			13	2.5*3	3.2	3.3	3.0	1.8	0.6*1	0	
洗眼群 3匹平均	角膜		4	0	0	0	0	0	0		
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1.0	1.7	1.0	0.3	0.3	0		
		浮腫	4	2.0	0.7	0	0.3	0.3	0		
	合計			39	9	7	3	2	2	0	
	平均			13	3.0	2.4	1.0	0.7	0.7	0	

*1:角膜のくもり *2:眼瞼の白色化 *3:*1は除く *4:5匹の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

非洗眼群では6匹のうち、5匹が陽性反応を示した。1匹で一時的な角膜混濁、虹彩の炎症がみられた他、3匹で結膜のび慢性深紅色化、5匹で眼瞼の部分的な外反を伴う明らかな腫脹が認められた。投与後4日（1匹）、7日（3匹）、14日（2匹）には正常に回復した。

洗眼群では眼瞼の部分的な外反を伴う明らかな腫脹、結膜のび慢性深紅色化の症状がみられ、3匹すべてが陽性反応を示した。これらの変化は3日（2匹）、7日（1匹）には回復した。

以上の結果から、ポリオキシンド亜鉛塩2.25%水和剤はウサギの眼粘膜に対し、刺激性が有ると評価された。投与2分後の洗眼効果がわずかに認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 TF-1.6)

試験機関 : 科研製薬株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991年

検体の純度 : 2.25% 水和剤

[組成] ポリオキシシンD 亜鉛塩	2.25 %
(ポリオキシシンDとして	20,000 PsDu/g)
鉍物質微粉、界面活性剤等	97.75 %

供試動物 : Std:Hartley系雄性モルモット、5週齢、体重 ; 315~358g

一群10匹、3群 (検体投与、陽性対照、陰性対照)

観察期間 : 惹起終了後72時間観察

試験方法 : Closed Epicutaneous Test法(Buehler法改変)

投与量設定根拠 ;

感 作 ; 剪毛した動物の頸背部に検体投与群には検体50mg (検体の33.3%(W/W) 水懸濁液150mg) を、①、②それぞれ塗布したろ紙を48時間閉塞貼布して1回の感作とした。感作は1週間に3回、計6回行った。

①陽性対照群 : 2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)の0.1%ワセリン軟膏50mg

②陰性対照群 : ワセリン50mg

惹 起 ; 最終感作2週間後、剪毛した動物の側腹部に検体投与群では検体20mg (検体の33.3%(W/W)水懸濁液60mg) を、陽性対照群ではDNCBの1%ワセリン軟膏20mgを、陰性対照群では検体20mgおよびDNCB 20mgを感作と同様に48時間閉塞貼布して皮膚反応を誘発した。

観察・検査項目 : 惹起後24、48時間後および72時間後に皮膚反応の大きさとその程度を観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

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	皮膚反応	感作反応動物数															陽性率 (%)					
					24 時間					48 時間					72 時間										
					皮膚反応評点					皮膚反応評点					皮膚反応評点										
					0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計	24 時間	48 時間	72 時間
検体	33.3% 検体	33.3% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0	0
				浮腫	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	0	0	0
	蒸留水	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0	0	
			浮腫	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	0	0	0	
陽性対照	0.1% DNCB	1% DNCB	10	紅斑	0	1	6	0	3	10/10	0	0	3	0	7	10/10	0	1	2	1	6	10/10	100	100	100
				浮腫	10	0	0	0	-	0/10	7	3	0	0	-	3/10	7	2	1	0	-	3/10	0	30	30
	ワセリン	10	紅斑	7	3	0	0	0	3/10	9	1	0	0	0	1/10	10	0	0	0	0	0/10	30	10	0	
			浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0	0	
陰性対照	ワセリン	33.3% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0	0
				浮腫	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	0	0	0
	1% DNCB	10	紅斑	5	4	1	0	0	5/10	7	3	0	0	0	3/10	10	0	0	0	0	0/10	50	30	0	
			浮腫	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	10	0	0	0	-	0/10	0	0	0	

検体投与群では皮膚反応は全例の動物に認められなかった。陽性対照群では軽度な浮腫と痂皮形成が全例に認められた。陰性対照群では検体を塗布した皮膚において皮膚反応は認められなかった。しかし、DNCBを塗布した皮膚では軽度あるいは明らかな紅斑が5/10例に認められた。これは、陽性対照群におけるDNCBの皮膚反応とは明らかに異なっていた。

以上の結果から、2.25%水和剤の皮膚感作性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

(2) 0.55%エアゾル

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 TF-2.1)

試験機関 : 科研製薬株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993年

検体の純度 : 0.55%エアゾル

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	0.55 %
(ポリオキシシンDとして)	4,900 PsDu/g)
溶剤、噴射剤等	99.45 %

供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5週齢、体重 ; 雄 132~141g、雌 113~124g、1群雌雄各6匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体は5mL/kg (5100mg/kgに相当) を胃ゾンデを用いて強制1回経口投与した。
投与前日から18時間絶食とした。

検 体 : ポリオキシシンエアゾルはスプレー型 (ガスを含有する) 製剤 (本検体) であり、本検体を正確に採取し動物に投与することは困難であると考えられた。そこで、本試験では製剤成分からガス成分を除いて調整された原液 (ポリオキシシンエアゾルガス抜き) を検体とし、白試料 (ポリオキシシンD亜鉛塩を含まない原液) を対照物質として使用した。

観察・検査項目 : 一般状態ならびに生死を14日間観察し、投与前、投与後1、3、7、10及び14日の午前中に体重を測定した。供試した動物全例を剖検した。

結 果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5100
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >5100
死亡開始時間及び終了時間	投与後4日にのみ雄1例
症状発現時間及び消失時間	投与後1時間に発現 投与2日に消失
毒性徴候の認められなかった最高用量 (mg/kg)	5100>
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄 5100で1例死亡 雌 5100で死亡例認めず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

一般状態では雄1例が投与後1時間に洗眼、流涎、鼻汁分泌および呼吸数増加が、投与後3時間以降に立毛、投与後3日には腹部膨大および耳介蒼白が加わり投与後4日に死亡した。死因は、胃内で凝塊形成された検体中の塗料成分が、胃壁を傷害し、それにより食欲不振を招き衰弱死したものと推察された。

生存例では投与後3時間よりよろめき歩行と立毛が観察されたが、投与翌日にこれら症状は消失し、糞中に検体と思われる白色物の混入および体重増加抑制が認められた。投与後3日以降体重は順調に増加した。その他、病理学的所見において特記すべき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科研製薬（株）にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 TF-2.2)

試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成年 : 1993年

検体の純度 : 0.55%エアゾル

[組成] ポリオキシシンド亜鉛塩	0.55 %
(ポリオキシシンドとして	4,900 PsDu/g)
溶剤、噴射剤等	99.45 %

供試動物 : Jc1:ICR系SPFマウス、5週齢、体重; 雄 28~31g、雌 24~27g、1群雌雄各6匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体は5mL/kg (5100mg/kgに相当) を胃ゾンデを用いて強制1回経口投与した。
投与前日から18時間絶食とした。

検体 : ポリオキシシニアゾルはスプレー型 (ガスを含む) 製剤 (本検体) であり、本検体を正確に採取し動物に投与することは困難であると考えられた。そこで、本試験では製剤成分からガス成分を除いて調整された原液 (ポリオキシシニアゾルガス抜き) を検体とし、白試料 (ポリオキシシンド亜鉛塩を含まない原液) を対照物質として使用した。

観察・検査項目 : 一般状態ならびに生死を14日間観察し、投与前、投与後1、3、7、10及び14日の午前中に体重を測定した。供試した動物全例を剖検した。

結 果 :

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5100
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >5100
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	異常例なし
毒性徴候の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	>5100
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5100

一般状態、体重推移および剖検所見において特記すべき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科研製薬（株）にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 TF-2.3)

試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成年 : 1993年

検体の純度 : 0.55%エアゾル

[組成] ポリオキシンド亜鉛塩	0.55 %
(ポリオキシンドとして	4,900 PsDu/g)
溶剤、噴射剤等	99.45 %

供試動物 : Crj:CD(SD)系ラット、7週齢、体重; 雄 227~246g、雌 151~169g、1群雌雄各6匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : ガーゼ (4x5cm) に2mL/kg (2040mg/kgに相当) を均一に塗布し、あらかじめ除毛したラット背部に24時間閉鎖貼付した。投与終了後、塗布部位の検体を微温湯で湿らせたガーゼを用いて取り除いた。

検体 : ポリオキシニアゾルはスプレー型 (ガスを含有する) 製剤 (本検体) であり、本検体を正確に採取し動物に投与することは困難であると考えられた。そこで、本試験では製剤成分からガス成分を除いて調整された原液 (ポリオキシニアゾルガス抜き) を検体とし、白試料 (ポリオキシンド亜鉛塩を含まない原液) を対照物質として使用した。

観察・検査項目 : 一般状態ならびに生死を14日間観察し、投与前、投与後1、3、7、10及び14日の午前中に体重を測定した。供試した動物全例を剖検した。

結果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2040
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >2040
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	検体投与に関連した異常例なし
毒性徴候の認められなかった 最高用量(mg/kg)	>2040
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2040

一般状態、体重推移および剖検所見において特記すべき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科研製薬（株）にある。

4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 TF-2.4)

試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993年

検体の純度 : 0.55%エアゾル

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	0.55 %
(ポリオキシシンDとして	4,900 PsDu/g)
溶剤、噴射剤等	99.45 %

供試動物 : ニュージーランドホワイト種雌性ウサギ、17週齢、体重 ; 3.01~3.52 kg、
1群6匹、3剤（白試料、原液、SLS）

観察期間 : 13日間

投与方法 : 投与前日に背部被毛を剪毛し、脊柱を中心に左右3カ所ずつ計6カ所2.5×2.5cmを塗布部位とした。その内、動物の頭部から尾部に向かって右、左、右の3カ所を選び、スコッチテープで角膜層を剥離して擦傷皮膚を作成し、その他3カ所は健常皮膚とした。検体0.5mLをリント布（2.5cm四方）に均一に塗布し、投与前日に刈毛した背面皮膚に4時間閉塞貼付した。投与4時間後にリント布を取り除き、消毒用エタノールで投与部位を清拭した。

検 体 : ポリオキシシンエアゾルはスプレー型（ガス含有する）製剤であり、本剤を正確に採取し動物に投与することは困難であると考えられた。そこで、本試験では製剤成分からガス成分を除いて調整された原液（ポリオキシシンエアゾルガス抜き）を検体とし、白試料（ポリオキシシンD亜鉛塩を含まない原液）を対照物質に、1%ラウリル硫酸ナトリウム水溶液（SLS）を陽性対照物質として使用した

観察・検査項目 : 検体除去後1、24、48、72時間目および、刺激反応がすべて消失した13日目まで1日1回皮膚の観察を行った。

判定は、農林水産省ガイドライン（59農蚕第4200号、1985年）の皮膚反応の評価に従って紅斑、痂皮および浮腫について反応の程度を評価した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

結 果 :

1) 検体：健常皮膚群

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間													
			時間				日									
			1	24	48	72	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	紅斑・痂皮	4	0	2	2	2	2	1	4	4	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	2	2	4	4	4	4	4	2	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	1	2	3	3	4	4	4	4	4	4	2	1	0
	浮腫	4	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	2	2	2	3	4	4	4	4	2	1	0	0	0
	浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	1	1	1	1	2	2	1	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	1	2	4	4	4	4	4	2	1	0	0	0	0
	浮腫	4	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.3	1.5	1.8	2.7	2.8	3.2	3.7	3.5	2.3	1.2	0.8	0.3	0.2	0
	浮腫	4	0.3	0.7	0.8	1.0	1.0	0.2	0.2	0	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	2	9	11	16	17	19	22	21	14	7	5	2	1	0
	浮腫	24	2	4	5	6	6	1	1	0	0	0	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科研製薬（株）にある。

2) 検体：擦傷皮膚群

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間													
			時間				日									
			1	24	48	72	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	紅斑・痂皮	4	1	2	2	3	3	4	4	4	4	1	1	0	0	0
	浮腫	4	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	2	2	4	4	4	4	4	4	2	1	0	0	0
	浮腫	4	1	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	2	2	3	3	4	4	4	4	4	4	4	1	0
	浮腫	4	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	0	1	1	2	2	2	4	4	4	2	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	1	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	1	2	2	4	4	4	4	4	2	1	0	0	0	0
	浮腫	4	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.7	1.7	1.7	3.0	3.0	3.3	3.7	3.5	3.2	1.7	1.2	0.7	0.2	0
	浮腫	4	0.7	0.8	0.8	1.0	1.2	0.2	0.2	0.2	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	4	10	10	18	18	20	22	21	19	10	7	4	1	0
	浮腫	24	4	5	5	6	7	1	1	1	0	0	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科研製薬（株）にある。

3) 対照物質：白試料

試験群	項目	最高 評点	暴露後時間													
			時間				日									
			1	24	48	72	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
健全皮膚 (6匹平均)	紅斑・痂皮	4	0.7	1.2	1.8	2.5	3.0	3.8	4.0	4.0	3.3	1.0	0.5	0	0	0
	浮腫	4	0.2	0.5	0.8	1.0	1.0	0.2	0.2	0.2	0	0	0	0	0	0
擦傷皮膚 (6匹平均)	紅斑・痂皮	4	1.0	1.3	1.8	2.7	2.8	3.7	4.0	3.7	3.0	0.8	0.3	0	0	0
	浮腫	4	0.7	0.7	0.8	1.2	1.2	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0

4) 陽性対照：SLS

試験群	項目	最高 評点	暴露後時間													
			時間				日									
			1	24	48	72	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
健全皮膚 (6匹平均)	紅斑・痂皮	4	0.7	1.0	1.2	2.0	2.3	2.0	1.2	0.3	0.2	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
擦傷皮膚 (6匹平均)	紅斑・痂皮	4	0.8	1.5	1.3	2.8	2.8	2.0	1.2	0.3	0.2	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0.5	1.2	0.7	0.7	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0

検体については健全皮膚群で検体除去後1時間より非常に軽度な紅斑からはっきりした紅斑および浮腫が認められ、除去6日後をピークに痂皮形成が全例に認められた。しかし、これらの変化は日数経過とともに漸次軽減し、除去後13日後には全て消失した。

擦傷皮膚群では検体除去後1時間のみ健全皮膚群に比べ出現例数が多かったものの、それ以後は健全皮膚群と同様の変化が認められた。

白試料群では検体群と同様な変化が認められ、除去11日にはすべて消失した。

SLS群では除去72時間及び4日をピークとする検体投与と同様の変化が認められ、除去9日にはすべて消失した。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して、可逆性の刺激性変化が認められたが、これら刺激性変化は有効成分であるポリオキシンド亜鉛塩の特異的なものではなく、補助成分によるものであると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

5) ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 TF-2.5)

試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成年 : 1993年

検体の純度 : 0.55%エアゾル

[組成] ポリオキシンド亜鉛塩	0.55 %
(ポリオキシンドとして	4,900 PsDu/g)
溶剤、噴射剤等	99.45 %

供試動物 : ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、15週齢、体重 ; 2.43~2.68 kg
2群 (洗眼群 ; 3匹、非洗眼群 ; 6匹)
3剤 (白試料、原液、ポリオキシンドエアゾル)

観察期間 : 6日間

投与方法 : 各剤とも9匹の左目に白試料および原液は0.1mLを、ポリオキシンドエアゾルは眼前方10cmの距離から約1秒間噴射し、両眼瞼を合わせ約1秒保持した。もう一方の眼は無処置とし対照とした。洗眼群では投与2~3分後に水で洗眼した。

検体 : ポリオキシンドエアゾルを検体とし、原液 (ポリオキシンドエアゾルガス抜き) 及び白試料 (ポリオキシンド亜鉛塩を含まない原液) を対照物質として使用した。

観察・検査項目 : 投与後1時間、1、2、3、4、5及び6日後まで毎日1回角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農林水産省ガイドライン (59農蚕第4200号、1985年) に従って採点した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

1) 検体

項目		最高 評点	適用後時間								
			1時間	1日	2日	3日	4日	5日	6日		
非洗 眼群	動物 番号 501	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 502	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	2	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 503	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 504	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 505	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0
動物 番号 506	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0		
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	
合計		78	8	2	2	2	1	0	0		
平均		13	1.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0	0		
洗眼群 3匹平均	角膜		4	0	0	0	0	0	0		
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1.0	0	0	0	0	0		
		浮腫	4	0.3	0	0	0	0	0		
	合計		39	4	0	0	0	0	0		
	平均		13	1.3	0	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科研製薬（株）にある。

2) 原液

項目		最高 評点	適用後時間								
			1時間	1日	2日	3日	4日	5日	6日		
非洗 眼群	動物 番号 301	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0	0
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0
	動物 番号 302	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	1	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 303	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 304	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 305	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	1	1	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0	
動物 番号 306	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0		
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	1	0	
		浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0	
合計		78	12	7	4	4	4	4	2	0	
平均		13	2.0	1.2	0.7	0.7	0.7	0.7	0.3	0	
洗眼群 3匹平均	角膜	4	0	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.3	0
		浮腫	4	1.0	0.7	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0
	合計		39	6	5	4	4	4	4	2	0
	平均合計		13	2.0	1.7	1.3	1.3	1.3	1.3	0.6	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科研製薬（株）にある。

3) 白試料

項目		最高 評点	適用後時間							
			1時間	1日	2日	3日	4日	5日	6日	
非洗眼群 6匹平均	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	0.8	0.8	0.5	0.3	0.2	0
		浮腫	4	0.8	0.5	0.2	0.2	0	0	0
	合計	39	11	8	6	4	2	1	0	
	平均	13	1.8	1.3	1.0	0.7	0.3	0.2	0	
洗眼群 3匹平均	角膜	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	1.0	1.0	0.7	0.3	0
		浮腫	4	1.0	0.7	0.3	0	0	0	0
	合計	78	6	5	4	3	2	1	0	
	平均	13	2.0	1.7	1.3	1.0	0.7	0.3	0	

白試料および原液の非洗眼群では、結膜充血および結膜浮腫が投与後1時間から投与後5日までに認められたが、陽性効果を示す個体はほとんどなく軽度な変化であった。両剤とも洗眼群では非洗眼群と同様の反応を示したことから、洗眼効果は認められなかった。一方、本検体の非洗眼群では白試料および原液と同様の変化が認められたが、出現頻度が少なく消失時間も速かった。また、洗眼群では非洗眼群に比べ回復が速いことから、洗眼効果が認められた。

以上の結果から、本検体のウサギの眼に対する刺激性は軽度なものと思われ、直ちに多量の水等による洗眼操作処置でその回復性は早まるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 TF-2.6)

試験機関 : 科研製薬株式会社
[GLP 対応]
報告書作成年 : 1993年

検体の純度 : 0.55%エアゾル

[組成] ポリオキシシンド亜鉛塩	0.55 %
(ポリオキシシンドとして	4,900 PsDu/g)
溶剤、噴射剤等	99.45 %

供試動物 : Std:Hartley系モルモット、5週齢、体重 ; 282~348g、一群 雄10匹
4群 (白試料感作群、原液感作群、DNCB感作群、ワセリン感作群)

観察期間 : 惹起終了後72時間観察

試験方法 : Closed Epicutaneous Test法 (Buehler法)

被験物質 ; ポリオキシシエンエアゾルはスプレー型 (ガスを含む) 製剤 (本検体) であり、本検体を正確に採取し動物に塗布 (投与) することは困難であると考えられた。そこで、本試験では製剤成分からガス成分を除いて調製された原液 (ポリオキシシエンエアゾルガス抜き) を検体とし、白試料 (ポリオキシシンド亜鉛塩を含まない原液) を対照物質として使用した

投与量設定根拠 ;

感 作 ; 剪毛した動物の頸背部に検体あるいは白試料50 μ Lを塗布したろ紙を48時間閉塞貼布して1回感作した。感作は1週間に3回、計6回行った。陽性対照群には2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)の0.1%ワセリン軟膏50mgを貼布した。また、陰性対照群にはワセリン50mgを同様に貼布した。

惹 起 ; 最終感作2週間後、白試料感作群および検体感作群では剪毛した動物の側腹部に原液と白試料20 μ Lを感作と同様に48時間閉塞貼布して皮膚反応を誘発した。陽性対照群あるいは陰性対照群には、DNCBの1%ワセリン軟膏20mgを同様に貼布した。

観察・検査項目 : 惹起後24、48時間後および72時間後に皮膚反応の大きさとその程度を観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

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	皮膚反応	感作反応動物数															陽性率 (%)					
					24 時間					48 時間					72 時間										
					皮膚反応評点					計	皮膚反応評点					計	皮膚反応評点					計			
					0	1	2	3	4		0	1	2	3	4		0	1	2	3	4				
感作	惹起																24 時間	48 時間	72 時間						
検体	検体	検体	10	紅斑	0	2	6	2	0	10/10	0	4	5	0	1	10/10	4	5	0	0	1	6/10	100	100	60
				浮腫	10	0	0	0		0/10	10	0	0	0		0/10	10	0	0	0		0/10			
白試料	白試料	検体	10	紅斑	3	4	3	0	0	7/10	1	5	4	0	0	9/10	7	3	0	0	0	3/10	70	90	30
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10			
陰性対照	0.1% ワセリン	1% DNCB	10	紅斑	5	3	2	0	0	5/10	6	3	0	0	1	4/10	8	2	0	0	0	2/10	50	40	20
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10			
陽性対照	0.1% DNCB	1% DNCB	10	紅斑	1	1	3	3	2	9/10	0	1	1	0	8	10/10	0	1	0	0	9	10/10	90	100	100
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	9	1	0	0	0	0/10	7	3	0	0	0	0/10			

白試料感作群における検体誘発部位では評点2までの反応が認められた。一方、検体感作群における検体誘発部位では白試料感作群よりも強い反応（評点3ないし4）が2例に認められた。

ワセリン感作群におけるDNCB誘発部位では評点2までの反応が認められた。一方、DNCB感作群ではDNCB誘発部位ではワセリン感作群よりも強い反応（評点3および4）が9例認められた。

以上の結果から、本検体は皮膚感作性を示す可能性を有する事が考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

(3) 11.25%水和剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 TF-3.1)

試験機関: 株式会社ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度: 11.25%水和剤

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	11.25 %
(ポリオキシシンDとして)	100,000 PsDu/g)
界面活性剤等	88.75 %

供試動物 : Cri:CD(SD)系ラット、7週齢、投与前体重; 雄 237~272g、雌 146~171g
1群雌雄各5匹

観察期間 : 14日間

投与方法 : 投与群ごとに濃度を変えて蒸留水に懸濁調整した検体を20mL/kgの投与容量にて1回経口投与した。動物を投与前約16時間から投与前6時間まで絶食させた。

観察・検査項目: 一般状態及び生死を14日間観察し、投与直後、投与後1、2、3、7、10及び14日に体重測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検した。

結 果 :

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0, 2500, 5000, 7500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄: 4916 (4297~5624) 雌: 4404 (3850~5039)
死亡開始時間及び終了時間	投与後1時間から開始 投与後1日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後5分から発現 投与後1日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2500

7500mg/kg群で投与後1時間から1日にかけて雌雄全例が、5000mg/kg群で投与後1日に雄2例及び

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

雌3例が死亡した。

一般状態の変化として、7500mg/kg群の雌雄全例に投与5分後から自発運動の減少あるいは腹臥及び軟便が、少数例に呼吸数の減少が認められた。5000mg/kg群では雌雄全例に投与後15分から自発運動の減少が、少数例に軟便が認められたが、これらの症状は投与後1日までに消失した。2500mg/kg群では異常は認められなかった。

体重は、5000mg/kg群の雌雄で投与後1日に減少が認められたが、その後ほぼ順調に増加した。2500mg/kg群では順調な増加を示した。

剖検では、投与後1日に死亡発見された雌雄に肺の暗赤色化が認められたが、その他の死亡動物及び生存動物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科研製薬（株）にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 TF-3.2)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度：11.25%水和剤

〔組成〕 ポリオキシシンD亜鉛塩	11.25 %
(ポリオキシシンDとして	100,000 PsDu/g)
界面活性剤等	88.75 %

供試動物：ICR (Crj:CD-1)系マウス、7週齢、投与前体重；雄27.7～31.5g、雌20.8～24.2g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：投与群ごとに濃度を変えて蒸留水に懸濁調製した検体を20mL/kgの投与容量にて1回経口投与した。動物を投与前約16時間から投与後6時間まで絶食させた。

観察・検査項目：一般状態及び生死を14日間観察し、投与直後、投与1、2、3、7、10及び14日後に体重測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について剖検した。

結 果：

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄 0, 2500, 5000, 7500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：4916 (4297～5624) 雌：3946 (3536～4404)
死亡開始時間及び終了時間	投与後30分から開始 投与後1日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後15分から発現 投与後1日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2500

7500mg/kg群で投与後30分から2時間にかけて雌雄全例が、5000mg/kg群で投与後6時間から1日にかけて雄2例及び雌4例が死亡した。

一般状態の変化としては、7500mg/kg群の雌雄全例に投与後15分から自発運動の減少あるいは腹

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

臥及び呼吸数の減少が認められた。5000mg/kg群では投与後15分から、雄4例及び雌全例に自発運動の減少あるいは腹臥が、雌雄各1例に呼吸数の減少が認められた他、軟便も散見されたが、これらの症状は投与後1日までに消失した。2500mg/kg群では異常は認められなかった。

体重では、5000mg/kg群の雌において投与1日後に増加抑制が認められたが、その後はほぼ順調に増加した。2500mg/kg群では順調な増加を示した。

剖検では、投与後1日に死亡発見された雌雄に肺の暗赤色化が認められたが、その他の死亡動物及び全生存動物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科研製薬（株）にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 TF-3.3)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度：11.25%水和剤

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	11.25 %
(ポリオキシシンDとして	100,000 PsDu/g)
界面活性剤等	88.75 %

供試動物：Cri:CD(SD)系ラット

7週齢、投与前体重；雄 255～277g、雌 156～171g、1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：粉砕した検体2000mg/kg相当をポリエチレンフィルムで裏打ちしたガーゼにのせ、蒸留水で湿らせ、投与前日に刈毛した背部皮膚(5x6cm)に24時間閉塞貼付した。貼付終了後、残存した検体をガーゼで除去した。

観察・検査項目：一般状態及び生死を14日間観察し、検体投与直前、投与後1、2、3、7、10及び14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物を剖検した。

結果：

投与経路	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 >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	異常例なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

一般状態、体重変化及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に刺激性変化及びその他の異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

4) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 TF-3.4)

試験機関: 株式会社ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度: 11.25%水和剤

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	11.25 %
(ポリオキシシンDとして	100,000 PsDu/g)
界面活性剤等	88.75 %

供試動物 : 日本白色種ウサギ、15週齢、体重; 2.60~3.10 kg、1群雄6匹

観察期間 : 4日間

投与方法 : 微粉末にした検体0.5gをリント布(2.5cm四方)に塗布し注射用水0.5mLで湿らせ、投与前日に刈毛、剃毛した背部皮膚2区画のうち1区画に4時間閉塞貼付した。残りの1区画は陰性対照とした。貼付終了後、残存した検体を注射用水で湿らせた脱脂綿で除去した。

観察・検査項目: 塗布終了1、24、48及び72時間後に刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、農林水産省ガイドライン(59農蚕第4200号、1985年)に従って採点后、Draize法を基に評価した。あわせて一般状態を観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

結果：観察した刺激性変化の採点は、以下の表のとおりである。

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
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
平均	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

皮膚刺激性変化は検体投与部位、陰性対照部位ともに認められなかった。一般状態に検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して刺激性が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科研製薬（株）にある。

5) ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 TF-3.5)

試験機関: 株式会社ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度: 11.25%水和剤

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	11.25 %
(ポリオキシシンDとして)	100,000 PsDu/g)
界面活性剤等	88.75 %

供試動物 : 日本白色種雌性ウサギ

15週齢、体重; 2.64~2.96 kg、非洗眼群; 6匹、洗眼群; 3匹

観察期間 : 4日間

投与方法 : 微粉末にした検体0.1gを左眼に投与した。6匹については洗眼しなかった。
3匹は投与2~3分後に微温湯で洗眼した。

観察・検査項目: 投与1、24、48、72時間後及び4日後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点后、Kay & Calandraの方法に従って評価した。投与後6時間までは頻回に、その後は1日1回検眼時に眼におけるその他の反応および一般状態を観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目				最高 評点	適用後時間					
					1	24	48	72	96	
非洗 眼群	動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	1	0	0	
			浮腫	4	2	1	1	0	0	
			分泌物	3	2	1	1	0	0	
	動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	1	0	0	0	
			面積	4	0	1	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	0	0	0	
			浮腫	4	2	1	1	0	0	
			分泌物	3	2	2	1	0	0	
	動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	1	0	0	
			浮腫	4	2	1	1	0	0	
			分泌物	3	2	1	0	0	0	
	動物 番号 4	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	0	
			浮腫	4	2	1	1	0	0	
			分泌物	3	2	2	1	1	0	
動物 番号 5	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0		
		面積	4	0	0	0	0	0		
	虹彩			2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0		
		浮腫	4	2	1	1	0	0		
		分泌物	3	1	1	1	0	0		
動物 番号 6	角膜 混濁	程度	4	1	1	0	0	0		
		面積	4	1	1	0	0	0		
	虹彩			2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	0		
		浮腫	4	3	1	1	0	0		
		分泌物	3	2	2	1	1	0		
合計*				660	65	62	32	8	0	
平均				110	10.8	10.3	5.3	1.3	0	
洗眼群 3匹平均	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0		
		面積	4	0	0	0	0	0		
	虹彩			2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	1.0	0	0	0		
		浮腫	4	2.0	1.0	0	0	0		
		分泌物	3	1.0	0.3	0	0	0		
合計*				110	8.0	4.7	0	0	0	

* Draize法による計算値：角膜混濁(程度×面積×5)+虹彩(評点×5)+結膜{(発赤+浮腫+分泌物)×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科研製薬（株）にある。

非洗眼群では、結膜の発赤、浮腫及び眼脂分泌のほか、一部の動物に角膜混濁が認められたが、投与4日後までに反応は全て消失した。その他の変化としては、全例に投与直後から6時間後まで閉眼が観察されたが24時間では消失した。得られた合計点の平均値の最大値(MMTS)は投与後1時間に認められた。

一方、洗眼群では、結膜の発赤、浮腫、眼脂分泌が認められたがその程度は非洗眼群に比べて弱く、投与48時間後までに反応は全て消失したことから、洗眼効果を示すものと考えられた。

一般状態に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対して軽度の刺激性を有すると判断された。なお、洗眼によりその程度は軽減するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

6) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 TF-3.6)

試験機関: 株式会社ボゾリサーチセンター

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度: 11.25%水和剤

[組成] ポリオキシシンD亜鉛塩	11.25 %
(ポリオキシシンDとして	100,000 PsDu/g)
界面活性剤等	88.75 %

供試動物 : Hartley系雌性モルモット、5~6週齢、体重; 355~451g
4群 (検体感作群、非感作群 各20、陽性対照物質の感作群、非感作群)

観察期間 : 惹起終了後48時間観察

試験方法 : Buehler法

投与量設定根拠;

感 作 ; 検体の50%懸濁液0.2mLをパッチ (直径2.5cm) に塗布し、投与前に刈毛、剃毛した左側胴部に7日おきに計3回それぞれ6時間閉塞貼付した。陽性対照群にはオリーブ油を媒体とした1%DNCB溶液0.2mLを用いて同様に感作を行った。

惹 起 ; 最終感作後14日後、検体の感作群、非感作群とも右側胴部に感作群と同様に検体の50%懸濁液0.2mLを6時間閉塞貼付した。陽性対照物質の感作群、非感作群には0.25%DNCB溶液0.2mLを用いて同様に惹起を行った。

観察・検査項目: 惹起終了24及び48時間後に貼付部位の紅斑・痂皮及び浮腫の程度を肉眼的に観察し、Draizeの基準に従い採点した。あわせて1日1回一般状態の観察を行った。また、初回感作日、最終感作日、惹起日及び惹起終了48時間後に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

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								陽性率 (%)								
			皮膚反応	24 時間後					48 時間後										
				皮膚反応評点					計	皮膚反応評点					計				
				0	1	2	3	4		0	1	2	3	4		24 時間	48 時間		
検体	50% 検体	50% 検体	20	紅斑・痂皮	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0
				浮腫	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0	0/20	0
	注射用水	50% 検体	20	紅斑・痂皮	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0
				浮腫	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0
陽性対照	0.1% DNCB	2.5% DNCB	10	紅斑・痂皮	0	10	0	0	0	0	10/10	2	8	0	0	0	8/10	100	80
				浮腫	10	0	0	0	0	0	0/10	20	0	0	0	0	0/10	0	0
	オリーブ油	2.5% DNCB	10	紅斑・痂皮	10	0	0	0	0	0	0/10	20	0	0	0	0	0/10	0	0
				浮腫	10	0	0	0	0	0	0/10	20	0	0	0	0	0/10	0	0

検体の感作群において、全例に皮膚反応は認められず感作率陽性率は0%であった。一方、陽性対照物質感作群では明瞭な皮膚反応が認められ、感作陽性率は24時間後で100%、48時間後で80%であった。

一般状態及び体重変化に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

(代謝分解試験一覧表)

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																																		
M-1.1 (GLP)	動物代謝に関する試験 検体：ポリオキシシンD	ラット 雌雄	試験項目：血中キネティクス 試験方法：経口単回投与 用量：10、1000 mg/kg 血液を投与後 0.5、1、2、3、6、10、24、48、72、96 時間で採取。血漿を調製した。	血漿中の薬物動態パラメーターを以下に示す。 Tmax：0.667～1.33 時間 Cmax：低用量；0.1 µg eq./mL、 高用量；7.5～9.8µg eq./mL AUC：低用量；0.327～0.406µg eq·hr/mL 高用量；21.7～27.0µg eq·hr/mL T _{1/2} ：1.59～2.57 時間 Cmax 及び AUC は用量にほぼ比例し、消失パターンに雌雄間の差はなかった。	三菱化学 メデイエ ンス(株) 熊本 研究所 (2011 年)	M-8																																		
			試験項目：排泄バランス 試験方法：経口単回投与 用量；10、1000 mg/kg 尿、糞、呼気、ケージ洗液を経時的に採取、試験終了時にカーカスを採取。 採取時点： 尿；投与後 0-10、10-24、 24-48、48-72、72-96 時間 糞；投与後 0-24、24-48、 48-72、72-96 時間 呼気；投与後 0-24 時間 ケージ洗液；投与後 24、48、 72、96 時間 カーカス；投与後 96 時間	ラットに経口投与された[]ポリオキシシンDは、用量及び性に係らず、投与後 48 時間までにはほぼ終了し、投与後 96 時間までの尿及び糞中にそれぞれ 2.0～2.7% AD 及び 91.8～94.1% AD が排泄され、主要排泄経路は糞であった。呼気中への排泄率は僅かであった。投与後 96 時間後のカーカス中放射能は 0.1% AD 以下であったことから、体内への放射能の残留は低かった。また消化管吸収率は 2.0～2.8% であり、投与された放射能はほとんど吸収されなかった。 尿中に検出された放射性成分は 及びポリオキシシンDであり、何れもであった。 糞中に検出された放射性成分は 、ポリオキシシンD (1.5～33.0% AD) 及び であった。																																				
			試験項目：組織分布 試験方法：経口単回投与 用量：10、1000 mg/kg 臓器・組織を投与後 1 時間後に採取。	経口投与後 1 時間における組織中の放射能の分布に用量差及び性差は認められなかった。消化管を除く組織中の放射能濃度は であった。 血漿、肝臓及び腎臓中に が認められたが であった。																																				
M-2.1 (GLP)	植物代謝に関する試験 検体：ポリオキシシンD	ブドウ (巨峰)	試験方法： []ポリオキシシンDを 250 g a. i./ha 相当濃度で 3 回(最終収穫前 50、40、30 日)にブドウ樹に散布した。最終散布後 1、14、30 日に果実を、最終散布後 30 日に葉試料を採取した。	放射性総残留物(TRR)のレベル及び放射能の分布を下表に示す。 <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">採取</th> <th colspan="3">果実</th> <th>葉</th> </tr> <tr> <th>1 日</th> <th>14 日</th> <th>30 日</th> <th>30 日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TRR</td> <td>0.520 (100)</td> <td>0.538 (100)</td> <td>0.495 (100)</td> <td>20.7 (100)</td> </tr> <tr> <td>表面 洗浄液</td> <td>0.439 (84.0)</td> <td>0.411 (76.6)</td> <td>0.311 (63.0)</td> <td>14.9 (71.2)</td> </tr> <tr> <td>洗浄後 果実</td> <td>0.081 (16.0)</td> <td>0.127 (23.4)</td> <td>0.184 (37.0)</td> <td>5.77 (28.8)</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>0.062 (12.2)</td> <td>0.082 (14.9)</td> <td>0.120 (24.1)</td> <td>3.82 (19.0)</td> </tr> <tr> <td>残渣</td> <td>0.019 (3.7)</td> <td>0.045 (8.5)</td> <td>0.064 (12.9)</td> <td>1.95 (9.8)</td> </tr> </tbody> </table> <p>上段：ppm、() 内数値：%TRR。</p>	採取	果実			葉	1 日	14 日	30 日	30 日	TRR	0.520 (100)	0.538 (100)	0.495 (100)	20.7 (100)	表面 洗浄液	0.439 (84.0)	0.411 (76.6)	0.311 (63.0)	14.9 (71.2)	洗浄後 果実	0.081 (16.0)	0.127 (23.4)	0.184 (37.0)	5.77 (28.8)	抽出液	0.062 (12.2)	0.082 (14.9)	0.120 (24.1)	3.82 (19.0)	残渣	0.019 (3.7)	0.045 (8.5)	0.064 (12.9)	1.95 (9.8)	財団法人 残留農薬 研究所 (2007 年)	M-19
採取	果実			葉																																				
	1 日	14 日	30 日	30 日																																				
TRR	0.520 (100)	0.538 (100)	0.495 (100)	20.7 (100)																																				
表面 洗浄液	0.439 (84.0)	0.411 (76.6)	0.311 (63.0)	14.9 (71.2)																																				
洗浄後 果実	0.081 (16.0)	0.127 (23.4)	0.184 (37.0)	5.77 (28.8)																																				
抽出液	0.062 (12.2)	0.082 (14.9)	0.120 (24.1)	3.82 (19.0)																																				
残渣	0.019 (3.7)	0.045 (8.5)	0.064 (12.9)	1.95 (9.8)																																				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																																																																		
			<p>果実試料は、水で洗浄後、均質化し、一部試料を水で抽出、抽出液と抽出残渣に分画した。抽出液は固相カラムで放射性成分を分画した。洗浄液及び抽出液を LSC 及び HPLC 測定した。抽出残渣は、燃焼後 LSC 測定した。</p> <p>葉試料は細切後、水で洗浄した。洗浄後の葉試料は、果実試料と同様に処理した。ただし、抽出液の固相カラムによる分画は行わなかった。</p> <p>放射性成分の同定/特徴付けは、HPLC 及び TLC コロマトグラフィー並びに LC/MS/MS により行った。抽出残渣中の放射性成分は化学的抽出法により特徴付けした。</p>	<p>ブドウ果実の TRR は、1、14、30 日後でそれぞれ 0.520、0.538、0.495 ppm であった。</p> <p>果実に残留する放射能は水による表面洗浄で 63.0~84.0% TRR が回収されたが、経時的に減少した。洗浄後の果実から放射能は水で比較的効率良く抽出 (12.2~24.1% TRR) され、抽出残渣は 3.7~12.9% TRR であった。抽出液は C18 固相カラムで水溶性画分と極性画分に分画し、放射能の大部分 (10.0~16.8% TRR) は極性画分に認められた。</p> <p>ブドウ葉の TRR は 20.7 ppm であった。果実と同様に表面洗浄液に、71.2% TRR が、抽出液に 19.0% TRR が回収された。</p> <p>果実極性画分及び葉抽出液画分中で同定された放射性成分はポリオキシシン D 及び β であり、極性画分及び抽出液中にも検出されたが、何れも β であった。</p>																																																																				
M-2.2 (GLP)	<p>植物代謝に関する試験</p> <p>検体：ポリオキシシン D</p>	レタス (キングクラウン)	<p>試験方法： [] ポリオキシシン D を 300 g a. i. /ha 相当濃度で 3 回 (最終収穫前 28、21、14 日) にレタスに散布した。最終散布後 7、14 日にレタスを採取した。</p> <p>レタス全体の試料を結球部と外葉部に分け、結球部は、細断、粉碎して分析試料を調製した。外葉部は細断、水で浸漬洗浄後、表面洗浄液と洗浄後外葉部に分画した。洗浄後外葉部は粉碎して分析試料を調製した。</p> <p>分析試料は水で抽出後、抽出液と抽出残渣に分画した。洗浄液及び抽出液は LSC 及び HPLC 測定、抽出残渣は燃焼後 LSC 測定した。</p> <p>放射性成分の特徴付けは HPLC 及び TLC コロマトグラフィーで行った。</p>	<p>放射性総残留物 (TRR) のレベル及び放射能の分布を下表に示す。</p> <table border="1" data-bbox="790 1122 1204 1530"> <thead> <tr> <th colspan="2"></th> <th colspan="4">レタス全体 (外葉部+結球部)</th> </tr> <tr> <th colspan="2"></th> <th colspan="2">7 日</th> <th colspan="2">14 日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>採取</td> <td></td> <td colspan="2">7 日</td> <td colspan="2">14 日</td> </tr> <tr> <td>TRR</td> <td></td> <td colspan="2">2.516 (100)</td> <td colspan="2">1.996 (100)</td> </tr> <tr> <td>画分</td> <td></td> <th colspan="2">外葉部</th> <th colspan="2">結球部</th> </tr> <tr> <td>採取</td> <td></td> <td>7 日</td> <td>14 日</td> <td>7 日</td> <td>14 日</td> </tr> <tr> <td>放射性残留物</td> <td></td> <td>2.49 (99.0)</td> <td>1.89 (94.7)</td> <td>0.025 (1.0)</td> <td>0.107 (5.3)</td> </tr> <tr> <td>表面洗浄液</td> <td></td> <td>2.15 (85.4)</td> <td>1.58 (79.3)</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>洗浄後外葉部</td> <td></td> <td>0.343 (13.6)</td> <td>0.307 (15.4)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td></td> <td>0.251 (10.0)</td> <td>0.227 (11.4)</td> <td>0.023 (0.9)</td> <td>0.100 (5.0)</td> </tr> <tr> <td>残渣</td> <td></td> <td>0.093 (3.7)</td> <td>0.081 (4.0)</td> <td>0.002 (0.1)</td> <td>0.007 (0.3)</td> </tr> </tbody> </table> <p>上段：ppm、() 内数値：%TRR。</p> <p>レタス全体の TRR は 7、14 日後でそれぞれ 2.516、1.996 ppm であった。7、14 日後の放射性残留物は、それぞれ外葉部で 2.49~1.89 ppm、結球部で 0.025~0.107 ppm であった。外葉部に残留する放射能は水による表面洗浄で 79.3~85.4% TRR が回収された。洗浄後の外葉部から放射能は水で比較的効率良く抽出 (10.0~11.4% TRR) され、抽出残渣は 3.7~4.0% TRR であった。結球部に残留する放射能も水で効率良く抽出 (0.9~5.0% TRR) され、抽出残渣は 0.1~0.3% TRR であった。</p> <p>表面洗浄液及び抽出液中でポリオキシシン D 及び β が同定された。</p>			レタス全体 (外葉部+結球部)						7 日		14 日		採取		7 日		14 日		TRR		2.516 (100)		1.996 (100)		画分		外葉部		結球部		採取		7 日	14 日	7 日	14 日	放射性残留物		2.49 (99.0)	1.89 (94.7)	0.025 (1.0)	0.107 (5.3)	表面洗浄液		2.15 (85.4)	1.58 (79.3)	-	-	洗浄後外葉部		0.343 (13.6)	0.307 (15.4)			抽出液		0.251 (10.0)	0.227 (11.4)	0.023 (0.9)	0.100 (5.0)	残渣		0.093 (3.7)	0.081 (4.0)	0.002 (0.1)	0.007 (0.3)	財団法人 残留農薬 研究所 (2008 年)	M-28
		レタス全体 (外葉部+結球部)																																																																						
		7 日		14 日																																																																				
採取		7 日		14 日																																																																				
TRR		2.516 (100)		1.996 (100)																																																																				
画分		外葉部		結球部																																																																				
採取		7 日	14 日	7 日	14 日																																																																			
放射性残留物		2.49 (99.0)	1.89 (94.7)	0.025 (1.0)	0.107 (5.3)																																																																			
表面洗浄液		2.15 (85.4)	1.58 (79.3)	-	-																																																																			
洗浄後外葉部		0.343 (13.6)	0.307 (15.4)																																																																					
抽出液		0.251 (10.0)	0.227 (11.4)	0.023 (0.9)	0.100 (5.0)																																																																			
残渣		0.093 (3.7)	0.081 (4.0)	0.002 (0.1)	0.007 (0.3)																																																																			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																																												
				ポリオキシシン D は表面洗浄液 (18.8~29.6% TRR) にのみ検出され、 に認められた。																																														
M-2.3 (GLP)	植物代謝に関する試験 検体：ポリオキシシン D	トマト (Bush Early Girl Hybrid)	試験方法： []ポリオキシシン D を 100 g a. i. /ha 相当濃度で 3 回 (最終収穫前 15、8、1 日) にトマトに散布した。最終散布後 1、7、14 日に成熟果実を、最終散布後 14 日に茎葉部試料を採取した。 果実試料は、水で洗浄後、均質化し、遠心分離してジュースと搾りかすに分画し、搾りかすは均質化した。14 日後収穫の搾りかす試料は、水及び水：塩酸 (100:1) 混液で抽出して、各抽出液と抽出残渣に分画した。 葉部試料は均質化後、水で洗浄し、洗浄後の葉部試料を果実搾りかす 14 日後試料と同様に処理した。洗浄液及び抽出液は LSC 測定、搾りかす及び抽出残渣は燃焼後 LSC 測定した。 さらに、各水抽出液、ジュース及び表面洗浄液は、固相カラムで精製後 HPLC 分析した。 放射性成分の同定/特徴付けは、HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーにより行った。	放射性総残留物 (TRR) のレベル及び放射能の分布を下表に示す。 <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">採取</th> <th colspan="3">果実</th> <th>葉</th> </tr> <tr> <th>1 日</th> <th>7 日</th> <th>14 日</th> <th>14 日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>TRR</td> <td>0.138 (100)</td> <td>0.099 (100)</td> <td>0.103 (100)</td> <td>3.078 (100)</td> </tr> <tr> <td>表面 (水) 洗浄液</td> <td>0.133 (96.0)</td> <td>0.093 (93.9)</td> <td>0.091 (87.7)</td> <td>2.330 (75.7)</td> </tr> <tr> <td>ジュース</td> <td>0.003 (2.4)</td> <td>0.004 (4.0)</td> <td>0.007 (6.9)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>搾りかす</td> <td>0.002 (1.6)</td> <td>0.002 (2.1)</td> <td>0.006 (5.4)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>100%水抽出液</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.004 (4.1)</td> <td>0.465 (15.1)</td> </tr> <tr> <td>水:塩酸抽出液</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.001 (0.5)</td> <td>0.094 (3.1)</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>0.001 (0.8)</td> <td>0.190 (6.2)</td> </tr> </tbody> </table> 上段：ppm、() 内数値：%TRR。 -:分析せず。 トマト果実の TRR は、1、7、14 日後でそれぞれ 0.138、0.099、0.103 ppm であった。 果実に残留する放射能は水による表面洗浄で 87.7~96.0% TRR が回収された。ジュース及び搾りかす中の放射性残留物は 6.9% TRR 以下であった。 14 日後の葉試料の TRR は 3.078 ppm であった。水洗浄液中に 75.7% TRR が回収された。洗浄後の葉試料から、水で 15.1% TRR、水塩酸混液で 3.1% TRR が抽出され、抽出残渣中の残留物は、6.2% TRR であった。 洗浄液、ジュース及び 100%水抽出液中でポリオキシシン D 及び が同定された。ポリオキシシン D は果実では表面洗浄液 (70.9% TRR) のみ、葉部では水洗浄液 (52.2% TRR) と 100%水抽出液 (10.9% TRR) に認められた。 は全画分に検出されたが、であった。	採取	果実			葉	1 日	7 日	14 日	14 日	TRR	0.138 (100)	0.099 (100)	0.103 (100)	3.078 (100)	表面 (水) 洗浄液	0.133 (96.0)	0.093 (93.9)	0.091 (87.7)	2.330 (75.7)	ジュース	0.003 (2.4)	0.004 (4.0)	0.007 (6.9)	-	搾りかす	0.002 (1.6)	0.002 (2.1)	0.006 (5.4)	-	100%水抽出液	-	-	0.004 (4.1)	0.465 (15.1)	水:塩酸抽出液	-	-	0.001 (0.5)	0.094 (3.1)	抽出残渣	-	-	0.001 (0.8)	0.190 (6.2)	Ricerca Biosciences, LLC (2008年)	M-35
採取	果実			葉																																														
	1 日	7 日	14 日	14 日																																														
TRR	0.138 (100)	0.099 (100)	0.103 (100)	3.078 (100)																																														
表面 (水) 洗浄液	0.133 (96.0)	0.093 (93.9)	0.091 (87.7)	2.330 (75.7)																																														
ジュース	0.003 (2.4)	0.004 (4.0)	0.007 (6.9)	-																																														
搾りかす	0.002 (1.6)	0.002 (2.1)	0.006 (5.4)	-																																														
100%水抽出液	-	-	0.004 (4.1)	0.465 (15.1)																																														
水:塩酸抽出液	-	-	0.001 (0.5)	0.094 (3.1)																																														
抽出残渣	-	-	0.001 (0.8)	0.190 (6.2)																																														
M-3.1 (GLP)	土壌中動態に関する試験 検体：ポリオキシシン D	畑地土壌 (埼玉県農林総合研究センター園芸研究所)	試験方法： []ポリオキシシン D を 0.6 ppm/乾土 (600 g a. i. /ha に基づく) で処理した。 非滅菌土壌及び滅菌土壌を用いて試験した。乾土約 34.5 g を入れた土壌容器はデシケーターに入れ、デシケーターには揮発性物質捕集装置を接続し、25±2°C、暗所で好氣的条件下、最大 90 日間インキュベートした。経時的に土壌及び捕集液を採取した。なお、滅菌土壌では、揮発性物質捕集装置は接続しなかった。	非滅菌土壌：総平均物質収率は 97.3% であった。抽出性放射能は 0 日後の 90.7% AR から経時的に減少し、90 日後では 27.8% AR となった。それに伴い、結合残留物及び CO ₂ が増加し、それぞれ最大 21.6% AR (60 日後) 及び 54.0% AR (90 日後) となった。 土壌抽出液中で、ポリオキシシン D、 が同定された。ポリオキシシン D は 0 日後の 88.0% AR から経時的に減少し、90 日後では 1.8% AR となった。 は 0 日後の から 14 日後に となり、その後 90 日後には に減少した。 は 2 日後から検出されたが、であった。	Ricerca Biosciences, LLC (2009年)	M-44																																												

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																	
			<p>土壌試料は 10 mM KH₂PO₄/5 mM EDTA で抽出し、抽出液と残渣に分画した。</p> <p>液体試料は LSC 測定、固形物試料は燃焼後 LSC 測定した。</p> <p>抽出液中の放射性成分は HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーにより、抽出残渣中の放射性成分は腐植分画法により特徴付けた。</p>	<p>滅菌土壌：総平均物質収率は 98.8% であった。抽出性放射能は 0 日後の 92.5% AR から経時的に減少し、30 日後では 77.1% AR であった。それに伴い、結合残留物が増加し、最大 19.5% AR (30 日後) となった。</p> <p>土壌抽出液中で、ポリオキシシン D、 が 同定された。ポリオキシシン D は 0 日後の 92.5% AR から経時的に減少し、30 日後では 64.8% AR となった。</p> <p>。</p> <p>ポリオキシシン D 及び の 半減期及び DT₉₀ 値を下表に示す。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">土壌</th> <th colspan="2">ポリオキシシン D</th> </tr> <tr> <th>DT₅₀ (日)</th> <th>DT₉₀ (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>非滅菌</td> <td>15.9</td> <td>52.9</td> </tr> <tr> <td>滅菌</td> <td>59.2</td> <td>196.8</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	ポリオキシシン D		DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	非滅菌	15.9	52.9	滅菌	59.2	196.8								
土壌	ポリオキシシン D																						
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)																					
非滅菌	15.9	52.9																					
滅菌	59.2	196.8																					
M-3.2 (GLP)	水中動態に関する試験 (1)加水分解動態試験 検体：ポリオキシシン D	緩衝液 (0.01 M pH 4.0、 pH 5.0、 pH 7.0、 pH 9.0)	<p>試験方法： []ポリオキシシン D を 1.0 µg/mL となるように各滅菌緩衝液に添加し、25±0.1°C の暗所で最大 30 日間インキュベートした。</p> <p>試験溶液を経時的に採取し、放射能及び分布を LSC 及び HPLC 分析して求めた。</p> <p>試験液中の放射性成分は HPLC 及び TLC コクロマトグラフィー並びに LC/MS/MS により特徴付けた。</p>	<p>滅菌 pH 4.0、pH 5.0、pH 7.0 及び pH 9.0 加水分解試料の物質収率は 97.3~101.9% AR であった。</p> <p>滅菌 pH 4.0 及び pH 5.0 の加水分解試料中で、ポリオキシシン D 及び が同定された。ポリオキシシン D は経時的に減少した (pH 4.0 : 95.7→89.1% AR、pH 5.0 : 95.6→85.2% AR)。 は 0 日後から検出されたが、 であった。</p> <p>滅菌 pH 7.0 及び pH 9.0 の加水分解試料中で、ポリオキシシン D、 が同定された。ポリオキシシン D は経時的に減少した (pH 7.0 : 95.0→51.0% AR、pH 9.0 : 95.4→9.1% AR)。 検出された代謝物は、pH 7.0 では であり、pH 9.0 では であった。</p> <p>ポリオキシシン D の半減期及び DT₉₀ 値を下表に示す。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">緩衝液</th> <th colspan="2">ポリオキシシン D</th> </tr> <tr> <th>DT₅₀ (日)</th> <th>DT₉₀ (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>pH 4.0</td> <td>301.3</td> <td>1001.3</td> </tr> <tr> <td>pH 5.0</td> <td>231.0</td> <td>767.7</td> </tr> <tr> <td>pH 7.0</td> <td>32.5</td> <td>108.1</td> </tr> <tr> <td>pH 9.0</td> <td>9.1</td> <td>30.1</td> </tr> </tbody> </table>	緩衝液	ポリオキシシン D		DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	pH 4.0	301.3	1001.3	pH 5.0	231.0	767.7	pH 7.0	32.5	108.1	pH 9.0	9.1	30.1	Ricerca Biosciences, LLC (2009 年)	M-55
緩衝液	ポリオキシシン D																						
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)																					
pH 4.0	301.3	1001.3																					
pH 5.0	231.0	767.7																					
pH 7.0	32.5	108.1																					
pH 9.0	9.1	30.1																					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

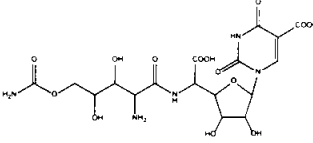
資料No.	試験の種類	供試動物 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																														
M-3.3 (GLP)	水中動態に 関する試験 (2)水中 光分解動態 試験 検体：ポリ オキシンド	自然水 (池水) 緩衝液 (0.01 M pH 5.0、 pH 7.0 pH 9.0)	試験方法： []ポリオキシンドを 1.0 μg/mL となるように緩衝液 及び自然水に添加し、キセノ ン光を用い、25±1°Cで37.42 W/m ² (300~400 nm)の光強度 で最大 11 日間連続照射し た。また、暗所対照区試料も 暗所で同様にインキュベー トした。経時的に試料を採取 して放射能を測定し、放射性 成分は HPLC で定量した。さ らに HPLC 及び TLC コクロマ トグラフィー並びに LC/MS/MS により放射性成分 を同定した。 また、ポリオキシンドの量 子収率を化学光量計（パ ラニトロアセトフェノン (PNAP) /ピリジン）を用いて測定し た。	<p>自然水及び緩衝液光分解試料の物質収 支は照射区では 92.3~102.8%であり、暗 所対照区では 93.8~103.8%であった。 照射区試料中でポリオキシンド、 が同 定された。</p> <p>ポリオキシンドは自然水では 0 日の 93.4% AR から 1 日後に 13.5% AR となり、 2~11 日後まで検出されなかった。緩衝液 では 0 日の 95.8~98.0% AR から 7 日後に 1.9~36.9% AR となり、11 日後では pH5.0 試料にのみ検出された (12.6% AR)。</p> <p>暗所対照区試料中でポリオキシンド、 が同定された。そのうち、 においてのみ検出された。 ポリオキシンドは自然水では 0 日の 93.4% AR から 11 日後に 68.8% AR とな った。緩衝液では 0 日の 95.8~98.0% AR か ら 11 日後に 24.3~94.5% AR となった。 自然水及び pH 5.0 並びに 7.0 試料で検 出されたその他の分解物は何れも 10% AR 未満であった。 pH 9.0 試料中で 分解 物は であり、それぞれ が検出された。 キセノン光下におけるポリオキシンドの 半減期及び DT₉₀ 値を下表に示す。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>照射区</th> <th>DT₅₀(日)</th> <th>DT₉₀(日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>自然水</td> <td>0.4</td> <td>1.2</td> </tr> <tr> <td>pH 5.0 緩衝液</td> <td>4.0</td> <td>13.2</td> </tr> <tr> <td>pH 7.0 緩衝液</td> <td>2.3</td> <td>7.6</td> </tr> <tr> <td>pH 9.0 緩衝液</td> <td>1.3</td> <td>4.2</td> </tr> <tr> <th>暗所対照区</th> <th>DT₅₀(日)</th> <th>DT₉₀(日)</th> </tr> <tr> <td>自然水</td> <td>26.6</td> <td>88.2</td> </tr> <tr> <td>pH 5.0 緩衝液</td> <td>330</td> <td>1097</td> </tr> <tr> <td>pH 7.0 緩衝液</td> <td>47.5</td> <td>157.7</td> </tr> <tr> <td>pH 9.0 緩衝液</td> <td>6.0</td> <td>19.9</td> </tr> </tbody> </table>	照射区	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	自然水	0.4	1.2	pH 5.0 緩衝液	4.0	13.2	pH 7.0 緩衝液	2.3	7.6	pH 9.0 緩衝液	1.3	4.2	暗所対照区	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	自然水	26.6	88.2	pH 5.0 緩衝液	330	1097	pH 7.0 緩衝液	47.5	157.7	pH 9.0 緩衝液	6.0	19.9	Ricerca Bioscienc es, LLC (2009年)	M-69
照射区	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)																																		
自然水	0.4	1.2																																		
pH 5.0 緩衝液	4.0	13.2																																		
pH 7.0 緩衝液	2.3	7.6																																		
pH 9.0 緩衝液	1.3	4.2																																		
暗所対照区	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)																																		
自然水	26.6	88.2																																		
pH 5.0 緩衝液	330	1097																																		
pH 7.0 緩衝液	47.5	157.7																																		
pH 9.0 緩衝液	6.0	19.9																																		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																									
				<p>春の東京におけるポリオキシン D の半減期及び DT₅₀ 値を下表に示す（報告書記載の内容）。</p> <table border="1" data-bbox="790 487 1189 630"> <thead> <tr> <th>照射区</th> <th>DT₅₀ (日)</th> <th>DT₉₀ (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>自然水</td> <td>1.6</td> <td>5.5</td> </tr> <tr> <td>pH 5.0 緩衝液</td> <td>18.3</td> <td>60.9</td> </tr> <tr> <td>pH 7.0 緩衝液</td> <td>9.3</td> <td>30.8</td> </tr> <tr> <td>pH 9.0 緩衝液</td> <td>3.4</td> <td>11.2</td> </tr> </tbody> </table> <p>さらに「平成 13 年 10 月 10 日付け 13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知」の水中光分解動態試験（2-6-2）に記載されている換算方法に基づいて算定した東京春季太陽光換算の半減期を下表に示す。算定は申請者が実施した。</p> <table border="1" data-bbox="790 816 1109 959"> <thead> <tr> <th>照射区</th> <th>DT₅₀ (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>自然水</td> <td>1.9</td> </tr> <tr> <td>pH 5.0 緩衝液</td> <td>19.2</td> </tr> <tr> <td>pH 7.0 緩衝液</td> <td>11.0</td> </tr> <tr> <td>pH 9.0 緩衝液</td> <td>6.3</td> </tr> </tbody> </table> <p>また滅菌 pH 5.0、pH 7.0 及び pH 9.0 緩衝液中及び自然水中のポリオキシン D の量子収率はそれぞれ 0.0064、0.0092、0.0081 及び 0.0087 であった。</p>	照射区	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	自然水	1.6	5.5	pH 5.0 緩衝液	18.3	60.9	pH 7.0 緩衝液	9.3	30.8	pH 9.0 緩衝液	3.4	11.2	照射区	DT ₅₀ (日)	自然水	1.9	pH 5.0 緩衝液	19.2	pH 7.0 緩衝液	11.0	pH 9.0 緩衝液	6.3		
照射区	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)																													
自然水	1.6	5.5																													
pH 5.0 緩衝液	18.3	60.9																													
pH 7.0 緩衝液	9.3	30.8																													
pH 9.0 緩衝液	3.4	11.2																													
照射区	DT ₅₀ (日)																														
自然水	1.9																														
pH 5.0 緩衝液	19.2																														
pH 7.0 緩衝液	11.0																														
pH 9.0 緩衝液	6.3																														

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）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	ポリオキシシン D (PolyD)	5-(2-amino-5- <i>O</i> -carbamoyl-2-deoxy-L-xylonamido)-1-(5-carboxy-1,2,3,4-tetrahydro-2,4-dioxypyrimidinyl)-1,5-dideoxy- β -D-allofuranuronic acid	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

1. 動物代謝に関する試験

[]ポリオキシシンDを用いたラット体内における代謝試験 (資料 M-1.1)

試験機関：三菱化学メディエンス株式会社
熊本研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

供試標識化合物：

構造式；

！

* = の標識位置

化学名； 5-(2-amino-5-*O*-carbamoyl-2-deoxy-L-xylonamido)-1-(5-carboxy-1,2,3,4-tetrahydro-2,4-dioxypyrimidinyl)-1,5-dideoxy- β -D-allofuranuronic acid

標識化合物名； []ポリオキシシンD

ロット番号； CP-3717

放射化学的純度；

比放射能；

標識位置の設定理由：ポリオキシシンDの分子内で安定な位置であり、代謝及び分解後の挙動を正しく評価できるため。

供試動物：

系統；SD系 (Cr1:CD (SD)) 雌雄ラット、投与時週齢；8週齢、

投与時体重；雄 238.7~268.4g、雌 180.6~200.1g

飼育環境：入手後安楽死させるまで井戸水及びラット飼育用固形飼料を自由に摂取させ、下記環境の動物室で飼育した。検疫期間は6日であり、その後馴化飼育した。

温度 24°C (実測値；23.0~27.0°C)、湿度 55% (実測値；45.8~59.9%)、明暗サイクル 12時間 (7時点灯、19時消灯)、新鮮空気換気回数 10~25回/時。

ケージ：検疫・馴化飼育期間中はステンレススチール製ケージで群飼育した。投与後のすべての各個体はガラス製代謝ケージに個別別に収容して無拘束飼育した。

試験方法：

投与；投与前 16~18時間から絶食させたラットに単回強制経口投与し、投与後4時間まで絶食させた。投与液は、[]ポリオキシシンDを非放射性ポリオキシシンD (

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

）で放射能希釈し、蒸留水に溶解して調製した。

低用量は、10 mg/kg、高用量は1000 mg/kgとした。

用量設定根拠；

試験群及び検討項目：検討項目及び試験群を下表に示す。

用量 (mg/kg)	回数・ 経路	動物数	検討項目	試料採取時点 (時間)
10	単回 経口	雌雄 各3匹	血漿中 放射能濃度	投与後 0.5、1、2、3、6、10、24、48、72、 96
1000				
10	単回 経口	雌雄 各3匹	排泄 バランス	尿：投与後 0-10、10-24、24-48、48-72、 72-96 糞：投与後 0-24、24-48、48-72、72-96 呼気：投与後 0-24 ケージ洗液：投与後 24、48、72、96
1000		雄3匹		
10	単回 経口	雌雄 各3匹	組織中 放射能濃度	投与後 1
1000		雄3匹		

試料の採取：

(1) 血漿中放射能濃度測定試験

血液試料をラットの尾静脈からヘパリン処理ガラスキャピラリーで採取。

血液試料を遠心分離して血漿試料を調製した。

(2) 排泄バランス試験

尿、糞、呼気及びケージ洗液を採取した。

尿及び糞は代謝ケージにより、氷冷下で個別採取した。呼気中の放射性物質は排気を二酸化炭素吸収剤（メチルセロソルブ/モノエタノールアミン）に導入して捕集した。ケージ洗液は試料採取後に精製水でケージ内を洗浄し、ケージ洗浄液を回収した。投与後 96 時間の採取では、精製水で洗浄後、メタノールでも洗浄してその洗液も採取し、水洗浄液と合わせた。投与後 96 時間の全試料採取後に、動物を安楽死させ、2 mol/L KOH 溶液で溶解後、動物体内の残存放射能を測定した。

(3) 組織中放射能濃度測定試験

ラットを 2%イソフルラン吸入麻酔下で、開腹、後大静脈腹部から採血後、腹部大

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

動脈を切断放血により安楽死させ、以下の組織を摘出した。

大脳、小脳、脊髄、脳下垂体、眼球、ハーダー腺、顎下腺、腸間膜リンパ節、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、膵臓、前立腺、精巣、精巣上体、精嚢、皮膚（腰部）、骨格筋（大腿筋）、大腿骨、骨髄（大腿骨）、白色脂肪（腎周囲）、褐色脂肪（背部皮下）、膀胱、胃、小腸、大腸（盲腸を含む）、胃内容物、小腸内容物、大腸内容物（盲腸内容物を含む）、卵巣、子宮

血液試料は放射能及びヘマトクリット値の測定と遠心分離して血漿試料の調製を行った。各消化管から生理食塩液で内容物を洗い出し、消化管内容物とした。

分析方法：

(1) 放射能測定

尿、呼気捕集液、ケージ洗液及び血漿試料の一部を直接、液体シンチレーション計数（LSC）で、放射能測定した。糞及び消化管内容物は、各々精製水及び生理食塩液でホモジナイズしてその一部を、血液はその一部を、臓器・組織は、全量又は細切したものの一部を、それぞれ燃焼処理後、LSC法で放射能を測定した。カーカスは可溶化後、LSCで測定した。

(2) 代謝物の同定及び定量

1) 分析試料の調製

雌雄ラットの血漿、肝臓、腎臓、尿及び糞（ホモジネート）中の代謝物を調査した。血漿、肝臓、腎臓試料は3個体分を等量混合し、尿及び糞ホモジネートは3個体分を重量比に応じて混合して分析用試料を調製した。血漿分析試料は一部を直接LSC測定して放射能を測定した。肝臓及び腎臓分析試料の一部に精製水（2倍量）を加えてホモジナイズし、ホモジネートを調製、酸化燃焼後LSCにより放射能測定した。

2) 代謝物の定量及び特徴付け

各分析用試料について以下に示す前処理を行ったのち、HPLC分析して各試料中の放射性代謝物をHPLC-RADあるいはHPLC-溶出液画分の分取-LSC測定により定量した。また参照標準品とのHPLCコクロマトグラフィーにより、代謝物の同定/特徴付けを行った。さらに、尿及び糞中の主要代謝物をHPLCで単離し、HPLC/MSⁿで同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

前処理方法；

結 果：

1. 吸収・排泄

(1) 血漿中濃度推移

血漿中濃度及び薬物動態パラメーターを表 1 に示す。

血漿中の放射能濃度は、投与後 0.667～1.33 時間 (t_{max}) で最高値 (C_{max} ：低用量で 0.1 $\mu\text{g eq. /mL}$ 、高用量で 7.5～9.8 $\mu\text{g eq. /mL}$) に達したのち、1.59～2.57 時間の半減期で速やかに低下し、24 時間後以降は検出されなかった。 C_{max} 及び最終測定時間までの血漿中濃度曲線下面積 (AUC_{0-t}) はほぼ用量比に応じて増加し、放射能の血漿中濃度推移、 C_{max} 及び AUC_{0-t} に大きな性差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

表 1. 血漿中放射能濃度 ($\mu\text{g eq. / mL}$) の推移

時間 (h)	血漿			
	低用量 (10 mg/kg)		高用量 (1000 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌
0.5	0.0823	0.0951	9.21	6.52
1	0.0942	0.101	8.41	7.50
2	0.0911	0.0764	4.61	4.38
3	0.0590	0.0574	2.65	3.06
6	0.0195	ND	ND	ND
10	0.0189	ND	2.48	1.90
24	ND	ND	ND	ND
48	ND	ND	ND	ND
72	ND	ND	ND	ND
96	ND	ND	ND	ND
C_{max} ($\mu\text{g eq. / mL}$)	0.0975	0.104	9.84	7.50
t_{max} (h)	1.33	0.667	0.833	0.833
$t_{1/2}$ (h)	2.57	2.56	2.04	1.59
$\text{AUC}_{0-10\text{h}}$ ($\mu\text{g eq.} \cdot \text{h/mL}$)	0.427	0.375	28.6	23.2
AUC_{0-t} ($\mu\text{g eq.} \cdot \text{h/mL}$)	0.406	0.327	27.0	21.7

表中数値は3匹の平均値、 $t_{1/2}$: 半減期、ND: 検出せず。

(2) 排泄

尿、糞及び呼気への放射能の排泄率を表2及び3に示す。

放射能の排泄は投与後48時間までにはほぼ終了し、投与後96時間までの尿及び糞中にそれぞれ2.0~2.7%及び91.8~94.1%が排泄され、主要排泄経路は糞であった。呼気中への排泄率は僅かであった。投与後96時間後のカーカス中放射能は投与量の0.1%以下であったことから、体内への放射能の残留は低かった。これらの排泄結果に用量差及び性差は認められなかった。

表 2. 10 mg/kg 群における放射能の排泄 (投与量%)

時間 (h)	低用量 (10 mg/kg)									
	雄					雌				
	尿	糞	呼気	ケージ洗液	回収率	尿	糞	呼気	ケージ洗液	回収率
0-10	2.2	-	-	-	2.2	2.1	-	-	-	2.1
-24	2.6	86.5	0.1	<0.1	89.1	2.7	82.9	0.1	0.1	85.8
-48	2.6	93.9	-	<0.1	96.6	2.7	93.0	-	0.1	95.9
-72	2.6	94.1	-	<0.1	96.8	2.7	93.3	-	0.1	96.2
-96	2.6	94.1	-	<0.1	96.9	2.7	93.4	-	0.1	96.3
カーカス	0.1					0.1				
総回収率	97.0					96.4				

表中数値は累積放射能 (3匹の平均値)。-: 測定せず。<0.1: 0.1%未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

表 3. 1000 mg/kg 群における放射能の排泄(投与量%)

時間 (h)	高用量 (1000 mg/kg)				
	雄				
	尿	糞	呼気	ケージ洗液	回収率
0-10	1.2	-	-	-	1.2
-24	1.9	80.4	<0.1	0.7	83.0
-48	2.0	90.9	-	0.7	93.7
-72	2.0	91.7	-	0.7	94.5
-96	2.0	91.8	-	0.8	94.7
カーカス	ND				
総回収率	94.7				

表中数値は累積放射能 (3 匹の平均値)。

ND: 検出せず。- : 測定せず。<0.1 : 0.1%未満

(3) 吸収率

類縁化合物であるポリオキシシン B のラット代謝試験では、胆汁排泄は無視できるレベルであり、このことからポリオキシシン類の代謝動態に胆汁排泄の寄与は高くはないことが推察された。すなわち、ポリオキシシン類の体内吸収率は尿および呼気中排泄率より推測可能であると考えられることから、ポリオキシシン D における吸収率は 10 mg/kg 群で 2.7~2.8%、1000 mg/kg 群で 2.0%と予測され、投与された放射能はほとんど吸収されないと考えられた。

2. 体内分布

投与後 1 時間における組織中放射能測定結果を表 4~5 に、血球移行率を表 6 に示す。投与後 1 時間における組織中の放射能の総回収率は投与量の 88.9~92.0%であった。消化管を除いた組織中放射能は、腸間膜リンパ節及び腎臓が他の組織と比べ比較の高い濃度 (10 mg/kg 群 ; 0.138~2.87 $\mu\text{g eq./g}$ 対血漿比 1.8~34.3、1000 mg/kg 群 ; 141~199 $\mu\text{g eq./g}$ 対血漿比 21.5~30.5) であったが、その投与量に対する比率は 0.1%以下であった。また、血球への移行率は低用量群で 3.9~4.9%、高用量群で 1.3%であった。なお、これらの組織中の放射能の分布に用量差及び性差は認められなかった。

表 4. 投与後 1 時間における組織中放射能の分布 ($\mu\text{g eq./mL}$, g)

組織	低用量 (10 mg/kg)		高用量 (1000 mg/kg)
	雄	雌	雄
血漿	0.0757	0.0930	6.57
血液	0.0468 (0.6)	0.0585 (0.6)	3.99 (0.6)
大脳	ND	ND	ND
小脳	ND	ND	ND
脊髄	ND	ND	ND
脳下垂体	ND	ND	ND
眼球	0.0130 (0.3)	ND	ND
ハーダー腺	0.00980 (0.2)	ND	ND
顎下腺	0.0131 (0.3)	ND	ND

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

組織	低用量 (10 mg/kg)		高用量 (1000 mg/kg)
	雄	雌	雄
腸間膜リンパ節	0.138 (1.8)	2.87 (34.3)	199 (30.5)
甲状腺	ND	ND	ND
胸腺	ND	ND	ND
心臓	0.0389 (0.5)	0.0156 (0.2)	2.26 (0.4)
肺	0.0431 (0.6)	0.0515 (0.6)	4.55 (0.7)
肝臓	0.176 (2.4)	0.156 (1.7)	19.4 (3.0)
副腎	ND	ND	ND
腎臓	1.17 (15.6)	1.09 (11.8)	141 (21.5)
脾臓	0.0119 (0.2)	0.0208 (0.4)	2.51 (0.4)
膵臓	0.0233 (0.3)	0.407 (4.6)	86.2 (13.2)
前立腺	ND	/	6.73 (1.5)
精巣	ND		ND
精巣上部	0.0220 (0.3)		ND
精嚢	0.0147 (0.2)		1.93 (0.5)
皮膚	0.0380 (0.5)		0.0424 (0.5)
骨格筋	ND	ND	ND
大腿骨	0.122 (1.7)	0.0955 (1.1)	9.65 (1.5)
骨髄	ND	ND	ND
白色脂肪	ND	ND	ND
褐色脂肪	ND	ND	ND
膀胱	0.200 (2.6)	0.142 (1.6)	55.1 (8.3)
胃	1.86 (25.9)	2.92 (32.6)	864 (132.4)
小腸	49.3 (576.1)	116 (1112.9)	4590 (696.2)
大腸	60.2 (931.9)	7.34 (76.5)	1290 (198.1)
卵巣	/	0.0483 (0.7)	/
子宮		0.502 (5.3)	

表中数値は3匹の平均値。()の値は対血漿比。

ND: 検出せず。

表 5. 投与後1時間における組織中放射能の分布 (投与量%)

組織	低用量 (10 mg/kg)		高用量 (1000 mg/kg)
	雄	雌	雄
血漿	<0.1	<0.1	<0.1
血液	<0.1	<0.1	<0.1
大脳	ND	ND	ND
小脳	ND	ND	ND
脳下垂体	ND	ND	ND
眼球	<0.1	ND	ND
ハーパー腺	<0.1	ND	ND
顎下腺	<0.1	ND	ND
甲状腺	ND	ND	ND
胸腺	ND	ND	ND
心臓	<0.1	<0.1	<0.1
肺	<0.1	<0.1	<0.1
肝臓	<0.1	<0.1	0.1
副腎	ND	ND	ND
腎臓	0.1	0.1	0.1
脾臓	<0.1	<0.1	<0.1
膵臓	<0.1	<0.1	<0.1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

組織	低用量 (10 mg/kg)		高用量 (1000 mg/kg)
	雄	雌	雄
前立腺	ND	/	<0.1
精巣	ND		ND
精巣上体	<0.1		ND
精嚢	<0.1		<0.1
皮膚	0.1	0.1	0.1
骨格筋	ND	ND	ND
白色脂肪	ND	ND	ND
膀胱	<0.1	<0.1	<0.1
胃	0.1	0.1	0.4
小腸	6.1	15.4	5.6
大腸	4.2	0.6	0.9
胃内容物	0.6	0.7	3.8
小腸内容物	80.5	72.7	67.7
大腸内容物	0.3	0.5	10.2
卵巣	/	<0.1	/
子宮		<0.1	
総回収率	92.0	90.2	88.9

表中数値は3匹の平均値。ND: 検出せず。

表 6. 投与後1時間における血球への移行率

	低用量 (10 mg/kg)		高用量 (1000 mg/kg)
	雄	雌	雄
移行率 (%)	4.9	3.9	1.3

$$\text{血球移行率} = \{1 - C_p / C_b \times (100 - H_t) / 100\} \times 100$$

C_p : 血漿中放射能濃度、 C_b : 血液中放射能濃度、 H_t : Hct 値

3. 代謝

(1) 放射性代謝物の分布

尿、糞、血漿、肝臓及び腎臓中の放射性代謝物の組成確認及びコクロマトグラフィー及びLC/MSあるいはLC/MS/MSにより同定及び特徴付けを行った結果を表7~8に示す。

表 7-1. 尿及び糞中放射性成分の分布(試料中%)

放射性成分	低用量 (10 mg/kg)				高用量 (1000 mg/kg)		
	雄		雌		雄		
	尿	糞	尿	糞	尿	糞	
M1							
M2							
M3							
M4							
M5	ホリキシ D(A)	13.7	1.7	13.8	5.1	33.6	41.1
前処理回収率		-	80.6	-	82.1	-	85.6

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科研製薬（株）にある。

表 7-2. 尿及び糞中放射性成分の分布 (投与量%)

放射性成分		低用量 (10 mg/kg)				高用量 (1000 mg/kg)	
		雄		雌		雄	
		尿	糞	尿	糞	尿	糞
M1							
M2							
M3							
M4							
M5	ポリオキシシン D(A)	0.4	1.5	0.4	4.2	0.6	33.0
計		2.6	86.5	2.7	82.9	1.9	80.4

ND: 検出せず。

表 8-1. 血漿、肝臓及び腎臓中放射性成分の分布 (試料中%)

放射性成分		低用量 (10 mg/kg)						高用量 (1000 mg/kg)		
		雄			雌			雄		
		血漿	肝臓	腎臓	血漿	肝臓	腎臓	血漿	肝臓	腎臓
M1										
M2										
M3										
M4										
M5	ポリオキシシン D(A)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
前処理回収率		88.5	95.8	94.6	92.5	90.4	94.7	90.3	91.2	94.0

ND: 検出せず。

表 8-2. 血漿、肝臓及び腎臓中放射性成分の分布 ($\mu\text{g eq. / mL, g}$)

放射性成分		低用量 (10 mg/kg)						高用量 (1000 mg/kg)		
		雄			雌			雄		
		血漿	肝臓	腎臓	血漿	肝臓	腎臓	血漿	肝臓	腎臓
M1										
M2										
M3										
M4										
M5	ポリオキシシン D(A)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
計		0.0757	0.176	1.17	0.0930	0.156	1.09	6.57	19.4	141

ND: 検出せず。

尿中には3種類の放射性成分が検出され、及びポリオキシシン D と同定された。主要成分は であり、尿中放射能の であつた。及びポリオキシシン D はそれぞれ尿中放射能の で あつた。なお、いずれの成分も投与量の であつた。糞中には5種類の放射性成分が検出され、そのうち 及びポリオキシシン D と同定された。主要成分は であり、10 mg/kg 群では糞中放射能の であり、1000 mg/kg 群では糞中放射能の であつた。ポリオキシシン D は 10 mg/kg 群では糞中放射能の 1.7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は科研製薬（株）にある。

～5.1% (1.5～4.2% AD) であり、1000 mg/kg 群では糞中放射能の 41.1% (33.0% AD) が検出された。その他の成分はいずれも糞中放射能の であった。血漿、肝臓及び腎臓中には2種類の放射性成分が検出され、と同定され、ポリオキシシン D は検出されなかった。主要成分は、血漿及び腎臓では であり、それぞれ試料中放射能の であつた。一方、肝臓中では が主要成分であり、肝臓中放射能の であつた。

(2) ポリオキシシン D、 の LC/MS 及び LC/MS/MS による同定

ポリオキシシン D、 参照標準品の LC/MS 及び LC/MS/MS 測定結果を下表に示す。各放射性成分は、HPLC により単離し、LC/MS 及び LC/MS/MS 測定し、得られたスペクトル及び保持時間が対応する参照標準品と一致することによって同定した。

化合物	保持時間 (分)	[M-H] ⁻ (m/z)	プロダクトイオン (m/z)
ポリオキシシン D	3.83	520.0	155.1, 217.3, 304.3, 364.2, 433.3

以上の結果より、ポリオキシシン D の吸収率は低く、ほとんど吸収されずに糞中に排泄された。ポリオキシシン D は消化管内もしくは吸収後に速やかに に代謝された。吸収された放射能は尿中に主に として排泄され、組織中への残留は認められなかった。また、吸収、分布、代謝及び排泄に用量差又は性差は認められなかった。ポリオキシシン D の推定代謝経路を図 1 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科研製薬（株）にある。

図 1. ポリオキシンDのラットにおける推定代謝経路