

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

9. 生体の機能への影響に関する試験

フェンアミドンの一般薬理試験

(資料No. 10)

試験機関：食品農医薬品安全性評価センター
報告書作成年：2000年

検体の純度：

用量設定根拠：

1. 中枢神経系に及ぼす影響

1) マウスの一般症状 (Irwin)

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重26.6～33.1g、1群雄5匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与前及び投与後15、30、60、120、180分及び24時間に、Irwinの多元観察法を参考にして一般症状を観察した。観察項目は次のとおりである。

自発運動（抑制、亢進）、運動機能（異常歩行、伏臥位、筋弛緩、受動性、カタプレシー）、中枢興奮（振戦、痙攣、攣縮）、自律神経系（眼瞼下垂、眼球突出、縮瞳、散瞳、流涙、立毛、流涎、下痢）及び反射（耳介、正向）

結果：検体2000mg/kg投与群においてのみ所見が観察された。投与後30分に自発運動の低下（4匹）、受動性（1匹）が認められた。投与後1時間では、全匹に自発運動の低下が認められ、受動性が4匹、立毛が3匹、眼瞼下垂が2匹に認められた。いずれの所見も投与後2時間には消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2) マウスの自発運動量の測定

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重28.0～33.7g、1群雄8匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与直後から180分まで継続して自発運動量を測定し、30分毎に自発運動量を集計した。

結 果：全ての検体投与群において、溶媒対照群に比べ、投与後30分までの運動量が低値傾向を示した。しかしながらこれらの低値傾向は統計学的に有意でなかった。検体2000mg/kg投与群では、投与後180分まで継続して低値傾向を示した。

(数値は平均値±標準誤差)

投与後時間 (分)	溶媒対照 [n=8]	フェンアミドン (mg/kg) [各群 n=8]		
		200	600	2000
投 与 前	7449.0± 477.87	7240.5±219.42	7438.6± 491.46	7434.5±444.42
0 ～ 30	3641.0± 828.03	2016.0±528.74	1932.3± 722.86	1469.4±336.24
30 ～ 60	1882.1±1090.08	1543.8±854.74	1457.8±1030.81	342.4±131.55
60 ～ 90	1587.8± 923.95	1019.6±551.33	1595.1±1039.70	628.5±373.73
90 ～ 120	2868.8± 962.94	1081.9±624.54	1853.5± 907.57	184.5± 62.76
120 ～ 150	1962.4± 619.15	1400.6±724.14	1497.9± 957.00	537.8±235.47
150 ～ 180	1768.4± 999.26	737.6±673.27	728.5± 472.82	939.8±426.73

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

3) マウスの痙攣誘発作用

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重27.9～33.2g、1群雄6匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。投与後60分に、マウスの両耳介より10mAで0.8秒間の電撃刺激を行い、電撃刺激後に発現する後肢の痙攣及び死亡の有無を観察した。溶媒対照群及び陽性対照群を設けた。陽性対照としてカフェイン150mg/kgを投与した。

結 果：溶媒対照群と検体投与群との間に、電撃刺激後の痙攣誘発作用に差は認められなかった。

一方、陽性対照であるカフェイン投与群では、強直性屈曲痙攣の発現が統計学的に有意な高値を示し、死亡例も認められた。

投与量 (mg/kg)	匹 数	発 現 所 見			
		間代性痙攣	緊張性痙攣	緊張性伸展	死 亡
溶媒対照	— 8	8	4	3	0
フェンアミドン	200 8	8	5	2	0
	600 8	8	6	2	0
	2000 8	8	4	0	0
陽性対照(カフェイン)	300 8	6	8 *	5	3

*: $p \leq 0.05$ (Fisherの直接確率検定)

4) ラット体温への影響

供試動物：SDラット、7週齢、体重138～155g、1群雌6匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与前及び投与後30、60、120、180分及び24時間にラット直腸温を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：検体2000mg/kg群において、溶媒対照群と比較して、投与後1時間から3時間まで継続して統計学的に有意な低値が認められた。

(数値は平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	匹 数	投与前	投与後時間				
			30分	1時間	2時間	3時間	
溶媒対照	—	6	36.45±0.30	37.57±0.66	37.65±0.49	37.82±0.37	37.22±0.42
フェンアミドン	200	6	36.82±0.48	37.83±0.25	37.67±0.39	37.85±0.52	37.77±0.50
	600	6	36.92±0.93	37.55±0.69	37.45±0.55	37.18±0.66	36.67±0.58
	2000	6	37.05±0.55	37.58±0.34	36.95±0.40*	35.22±0.32**	34.30±0.62**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

2. 循環器系に及ぼす影響

供試動物：SDラット（無麻酔）、7週齢、体重131~160g、1群雌6匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与前及び投与後60、120及び180分に、収縮期血圧及び心拍数をそれぞれ3回測定し、平均値を算出した。

結果：心拍数について、検体2000mg/kg群の投与後3時間の値が統計学的に有意な低値を示した。血圧については、溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。

(数値は平均値±標準誤差)

	投与後 時間	溶媒対照 [n=6]	フェンアミドン (mg/kg) [各群 n=6]		
			200	600	2000
収縮期 血圧 (mmHg)	投与前	118.7±48.5	121.9±49.8	112.8±46.1	122.0±49.8
	1時間	114.2±46.6	123.9±50.6	125.4±51.2	122.2±49.9
	2時間	114.1±46.6	121.6±49.6	122.6±50.0	122.5±50.0
	3時間	116.5±47.6	122.7±50.1	119.6±48.8	116.8±47.7
心拍数 (拍動数 /分)	投与前	383.8±156.7	383.1±156.4	374.2±152.8	400.7±163.6
	1時間	375.2±153.2	406.2±165.8	418.0±170.6	403.4±164.7
	2時間	376.3±153.6	397.9±162.5	389.8±159.1	365.1±149.0
	3時間	376.6±153.7	391.0±159.6	382.5±156.2	343.7±140.3*

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

4. 自律神経系（摘出平滑筋）に及ぼす影響

供試組織：モルモット摘出回腸標本、全長15~20mm、1群雄5匹からそれぞれ摘出

方法：モルモット摘出回腸標本を、10ml容マグヌス槽中で0.5gの負荷で懸垂させた。マグヌス槽中は、30℃のTyrode液（95%酸素+5%二酸化炭素 混合ガスを通気）で満たした。検体を 1×10^{-6} 、 1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/ml（栄養液中）の濃度となるよう添加した。添加5分後にアセチルコリン（ACh）（ 3×10^{-6} M）、ヒスタミン（His）（ 3×10^{-5} M）及び塩化バリウム（BaCl₂）（ 3×10^{-3} M）を加え、収縮を記録した。収縮は、検体及び溶媒対照無添加時の、各薬物（ACh, His, BaCl₂）によって惹起された収縮に対する割合（収縮%）として表した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：ACh、His及びBaCl₂収縮に対しては、 1×10^{-5} g/ml異常の濃度で、統計学的に有意な抑制が認められた。
 検体の、モルモット摘出回腸標本に対する直接作用は認められなかった。

(数値はn=5の平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	濃度 (g/ml)	収縮 %		
		ACh惹起収縮	His惹起収縮	BaCl ₂ 惹起収縮
溶媒対照	—	101.6 ± 2.8	100.6 ± 2.1	101.1 ± 2.1
フェンアミドン	1×10^{-6}	100.7 ± 1.1	97.5 ± 1.3	101.9 ± 2.8
	1×10^{-5}	82.8 ± 3.0 **	74.6 ± 4.2 **	38.6 ± 4.0 **
	1×10^{-4}	68.5 ± 2.2 **	61.2 ± 1.9 **	26.9 ± 4.9 **

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

5. 消化器系に及ぼす影響 (消長輸送能)

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重28.2~31.1 g、1群雄8匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルローズに溶解させて経口投与した。投与後30分に、活性炭素末懸濁液 (5%活性炭素末+10%アラビアゴム) 0.1ml/匹を経口投与した。活性炭素末懸濁液投与後30分にマウスを屠殺して幽門から回腸末端部までを摘出し、活性炭素末移行率 (移動距離/腸管全長×100) を算出した。溶媒対照群及び陽性対照群を設けた。陽性対照としてアトロピン300mg/kgを投与した。

結果：活性炭素末移行率について、溶媒対照群と検体投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。しかしながら、検体2000mg/kg投与群では活性炭素末移行率の高値傾向が認められた。
 陽性対照であるアトロピン投与群では、統計学的に有意な活性炭素末移行率の抑制が認められた。

(数値は平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	匹数	活性炭素末移行率 (%)	
溶媒対照	—	8	75.98 ± 5.22
フェンアミドン	200	8	65.38 ± 2.84
	600	8	63.38 ± 3.23
	2000	8	89.75 ± 4.02
陽性対照(アトロピン)	300	8	38.70 ± 7.65 **

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

6. 骨格筋に及ぼす影響 (懸垂動作試験)

供試動物：ICRマウス、6週齢、体重26.6~33.1 g、1群雄8匹

方法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルローズに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与後30、60、120及び180分に、高さ25cmの位置に張った針金 (直径2mm) にマウスを両前肢で懸垂させた。懸垂後、10秒以内に後肢を針金にかけられない場合を陽性とした。

結果：検体投与群と溶媒対照群の間では、いずれの検査時間においても陽性例の発現頻度に統計学的な有意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パイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与量 (mg/kg)	匹 数	投与後の各時間における陽性例数				
		30分	60分	120分	180分	
溶媒対照	—	8	0	0	0	0
フェンアミドン	200	8	0	0	0	0
	600	8	1	0	0	0
	2000	8	1	0	0	1

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Fisherの直接確率検定)

7. 血液系に及ぼす影響

供試動物：SDラット、7週齢、体重130～156 g、1群雌6匹

方 法：検体を200、600及び2000mg/kgの用量で、0.5%メチルセルロースに溶解させて経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。投与後60分にエーテル麻酔して腹部大動脈より採血した。採血後、血液を遠心分離して血漿を採取した。この血漿についてプロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 及びフィブリノーゲン量を測定した。

結 果：いずれの測定項目について、溶媒対照群と検体投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。

(数値は平均値±標準誤差)

投与量 (mg/kg)	匹 数	凝固時間 (秒)		フィブリノーゲン量 (mg/dl)	
		PT	APTT		
溶媒対照	—	6	13.88 ± 5.67	20.73 ± 8.46	228.2 ± 93.1
フェンアミドン	200	6	14.08 ± 5.75	20.65 ± 8.43	208.7 ± 85.2
	600	6	14.02 ± 5.72	20.68 ± 8.44	234.8 ± 95.9
	2000	6	13.95 ± 5.70	20.35 ± 8.31	242.0 ± 98.8

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Dunnettの多重比較検定又はSteelの検定)

以上の結果から、フェンアミドンは2000mg/kgの投与量で中枢神経系に対する抑制及び消化器系の運動亢進作用を持ち、 1×10^{-5} g/ml以上の濃度で摘出回腸に対する収縮薬の作用を抑制することが示唆された。

骨格筋及び血液凝固能に対しては、影響を及ぼさないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

「フェンアミドン：生体機能に及ぼす影響に関する試験」総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000	マウス 雄 5	600	2000	2000mg/kg群で、自発運動の低下、受動性、立毛、眼瞼下垂が認められた。いずれの所見も投与後2時間には消失した。
		溶媒対照, 200, 600, 2000	マウス 雄 8	600	2000	2000mg/kg群で、投与後30分から自発運動量の低値傾向が認められた。なおこの低値傾向について、統計学的な有意差は認められなかった。
		溶媒対照, 200, 600, 2000 陽性対照 (カフェイン) : 300	マウス 雄 6	2000	>2000	溶媒対照群と各検体投与群との間に、電撃刺激後の痙攣誘発作用に統計学的有意差は認められなかった。陽性対照群では、強直性屈曲痙攣の発現が統計学的に有意な高値を示し、また死亡を認められた。
		溶媒対照, 200, 600, 2000	ラット 雌 6	600	2000	2000mg/kg群において、統計学的に有意な直腸温の低値が、投与後1時間から3時間まで継続して認められた。
循環器系 - 収縮期血圧 - 心拍数	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000	ラット 雌 6	600	2000	心拍数に関し、2000mg/kg群の投与後3時間の値が、統計学的に有意な低値を示した。収縮期血圧に関し、差は認められなかった。
自律神経系 - アセチルコリン(ACh) 惹起収縮 - ヒスタミン(His) 惹起収縮 - 塩化バリウム (BaCl ₂) 惹起収縮	In vitro (マグナス槽) (Tyrode 液)	溶媒対照, 1×10 ⁻⁶ , 1×10 ⁻⁵ , 1×10 ⁻⁴ g/ml	モルモット 摘出回腸 標本 1濃度群 : 5標本	1×10 ⁻⁶ g/ml	1×10 ⁻⁵ g/ml	1×10 ⁻⁵ g/ml以上で、ACh, His及びBaCl ₂ による惹起収縮を統計学的に有意に抑制した。 なお、検体による摘出回腸標本への直接作用は認められなかった。
消化器系 (小腸輸送能: 活性炭素末 移行率)	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000 陽性対照 (アトロピン) : 300	マウス 雄 8	600	2000	2000mg/kg投与群において、統計学的有意差は認められなかったが、小腸輸送能の高値傾向が認められた。 陽性対照群では、小腸輸送能の統計学的に有意な抑制が認められた。
骨格筋 (懸垂動作試験)	経口 (0.5%MC)	溶媒対照 200, 600, 2000	マウス 雄 8	2000	>2000	各検体投与群において、懸垂動作に影響は認められなかった。
血液系 - プロトロンビン 時間 (PT) - 活性化部分 トロンボプラスチン 時間 (APTT) - フィブリンノーゲン 量	経口 (0.5%MC)	溶媒対照, 200, 600, 2000	ラット 雌 6	2000	>2000	各検体投与群において、PT, APTT及びフィブリンノーゲン量に影響は認められなかった。

0.5%MC : 0.5%メチルセルロース

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(16) その他

ラットを用いた14日間毒性試験（肝薬物代謝酵素誘導試験および細胞周期の評価）

（資料No. 11）

試験機関：Rhone-Poulenc Sophia Antipolis (仏)

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley系ラット、開始時11週齢、体重 雄250～293 g、雌166～202 g

試験期間：投与期間 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水溶液に懸濁させ、下表に示す用量でラットに強制経口投与した。中間屠殺群は3日間投与後した翌日に屠殺し、最終屠殺群は14日間投与した翌日に屠殺した。

投与量 (mg/kg/day)	性別及び投与期間			
	雄		雌	
	中間屠殺 (3日間投与)	最終屠殺 (14日間投与)	中間屠殺 (3日間投与)	最終屠殺 (14日間投与)
0 (溶媒対象)	3	5	3	5
30				5
100		5		5
300		5	3	5
1000	3	5		

投与量設定の根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

一般状態に変化は認められず、また死亡例もみられなかった。

体重変化；全動物の体重を、馴致期間中に 1回、投与開始日（第1日）、投与期間中は1週間毎、そして剖検前に測定した。

雌の体重は、投与による影響を受けなかった。対照群と比較したとき、検体を投与した全ての雄において、統計学的に有意ではないが軽微な体重減少が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

摂餌量：投与期間中、摂餌量を週 1回測定した。

摂餌量に、検体投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査：投与期間(14日間)終了後、試験第15日目に、各群の全生存動物から眼窩後静脈叢穿刺によって血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、
平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、白血球数、
血小板数

血液学的検査において、検体投与に関連した影響は認められなかった。

血液生化学的検査：血漿試料を用いて、以下の項目の測定を行った。

総ビリルビン、尿素、総蛋白、総コレステロール、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、アルカリホス
ファターゼ (ALP)

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄			雌		
	100	300	1000	30	100	300
投与量 (mg/kg/day)						
総ビリルビン			↑178			
総蛋白			↑106			
総コレステロール			↑131			
A L P		↓ 68	↓ 67			

Bartlett/ANOVA/Dunnett/修正t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とした場合の値を表したものの。

雄のみに、検体投与による影響が認められた。

1000mg/kg/day投与群では、アルカリホスファターゼ (ALP) の統計学的に有意な低下が認められ、また総ビリルビン、総蛋白及び総コレステロールの統計学的に有意な増加が認められた。

1000mg/kg/day投与群で認められたアルカリホスファターゼ (ALP) の低下は、300 mg/kg/day投与群においても認められた。

臓器重量：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、対脳重量比も算出した。

肝臓、腎臓、甲状腺、脾臓、精巣及び卵巣

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別		雄				雌							
投与量 (mg/kg/day)		100		300		1000		30		100		300	
検査時期 (日)		中間屠殺 (第4日)	最終屠殺 (第15日)	最終屠殺 (第15日)	中間屠殺 (第4日)	最終屠殺 (第15日)	中間屠殺 (第4日)	最終屠殺 (第15日)	最終屠殺 (第15日)	中間屠殺 (第4日)	最終屠殺 (第15日)	中間屠殺 (第4日)	最終屠殺 (第15日)
肝臓	絶対重量				↑122								
	対体重比				↑122	↑131						↑115	
腎臓	絶対重量												
	対体重比								↑111				↑112

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とした場合の値を表したものを。

中間屠殺時に、雄（1000mg/kg/day投与群）で統計学的に有意な肝臓重量（絶対重量及び対体重比）の増加が認められた。雌（300mg/kg/day投与群）でも統計学的に有意な肝臓重量（対体重比）の増加が認められた。

最終屠殺時では、雄の1000mg/kg/day投与群において、肝臓重量（対体重比）の統計学的に有意な増加が認められた。雌では、300mg/kg/day投与群及び30mg/kg/day投与群において、腎臓重量（対体重比）の統計学的に有意な増加が認められた。しかしながら、この腎臓重量の増加に関連する肉眼的/病理組織学的所見は認められなかった。

肉眼的病理検査：全動物について剖検を行った。認められた主な病変を下表に記す。

中間屠殺時では、検体投与に関連のある異常は認められなかった。

最終屠殺時では、雄に肝臓の肥大が認められた。発生数を下表に示す。

性		雄				雌			
臓器	投与量 (mg/kg/day)	0	100	300	1000	0	30	100	300
	病変\検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓	肥大		1	1	3				

空欄は「0」を示す。

病理組織学的検査：以下の組織について病理標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

肝臓、腎臓、甲状腺、脾臓、精巣及び卵巣

認められた主な病変を次表に記す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

中間屠殺時（3日間投与後）

性		雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	0	30	100	300
臓器	病変 \ 検査動物数	3	—	—	3	3	—	—	3
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0	/	/	2	0	/	/	0
	有糸分裂 (mitosis)	0	/	/	2	0	/	/	0

最終屠殺時（14日間投与後）

性		雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	0	30	100	300
臓器	病変 \ 検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	3	0	0	0	0
	有糸分裂 (mitosis)	0	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	濾胞上皮細胞過形成	0	0	0	0	0	0	2	3

中間屠殺時では、雄（1000mg/kg/day投与群）の2/3例に小葉中心性肝細胞肥大が認められ、同時に軽微～軽度の有糸分裂の増加が認められた。

最終屠殺時では、雄（1000mg/kg/day投与群）の3/5例に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。雌では、甲状腺の濾胞上皮細胞過形成が300mg/kg/day投与群及び100mg/kg/day投与群にそれぞれ3/5例及び2/5例認められた。

肝細胞毒性試験；肝酵素誘導及び細胞増殖性を測定した。

肝酵素誘導：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

以上の結果、雄において認められた体重の軽微な減少及びアルカリホスファターゼ活性の低下に基づき、雄の無毒性量は300mg/kg/day、雌の無作用量は30mg/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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 代謝物の毒性

のラットを用いた急性経口毒性

(資料No. 11-1)

試験機関：C. I. T (仏)

報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawleyラット、体重 雄 196 ± 5 g、雌 176 ± 6 g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロースに懸濁して経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を投与日及び投与後14日間にわたって観察し、体重を投与日及びその後は週1回測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について主組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

死亡例及び症状は認められなかった。

体重についても投与に関連した影響は認められなかった。

剖検所見では投与に関連した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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

の細菌を用いた復帰変異性試験
(資料No. 11-2)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)
報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株(TA100、TA1535株 [以上、塩基対置換型]、TA98及びTA1537株[以上、フレームシフト型])及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* 1株(WP2 uvrA株[塩基対置換型])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, Aroclor 1254誘導ラット肝ホモジネート)の存在下(S9 mix+)及び非存在下(S9 mix-)で、変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解した。

投与量設定のために、TA100株を用いて検体最終濃度 8, 40, 200, 1000 及び 5000 μ g/プレート の用量で用量設定試験を行った。この結果、明白な毒性症状が確認されなかったことから、試験Ⅰ及び試験Ⅱにおける用量を次のように設定した。なお、この用量設定試験の結果は、試験Ⅰのデータとして使用した。

用 量

試験Ⅰ(S9 mix +/-)：溶媒対照, 8, 40, 200, 1000及び5000 μ g/プレート

試験Ⅱ(S9 mix +/-)：溶媒対照, 312.5, 625, 1250, 2500及び5000 μ g/プレート

試験Ⅰに関しては、直接プレート混和を行い、試験Ⅱに関してはプレインキュベーションを行った。

なお試験ⅡのS9 mix+の全菌株において、高濃度側の2~3用量で著しい毒性影響が認められた。従って、S9 mix+において次の用量で再試験を行った。

試験Ⅱ : S9 mix+ : 再試験の用量

TA98、TA100及びTA1535株 : 0, 62.5, 125, 250, 500及び1000 μ g/プレート

TA1535株及びWP2 uvrA株 : 0, 125, 250, 500, 1000及び2000 μ g/プレート

変異原性の陽性判定基準は、次のとおりである。

- 1) 1%水準のDunnett検定で有意であり ($p \leq 0.01$) であり、かつ用量相関性を示す場合
- 2) 試験Ⅰ及びⅡで再現性が認められる場合

試験結果：結果を表1(試験Ⅰ)及び表2(試験Ⅱ：S9 mix+条件については再試験の結果)に示した。

Dunnett検定(1%水準)で検定した場合、S9 mixの有無にかかわらず試験菌株の復帰変異コロニーが増加することはなかった。

一方、陽性対照として用いたsodium-azide, 9-aminoacridine, 2-nitro-fluorene, cumenc hydro-peroxyde(以上、S9 mix-)及び2-aminoanthracene(S9 mix+)は、試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表1 (試験 I)

薬物	用量 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S 9 mix	復帰変異コロニー数/プレート[plate] (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 \pm SD)					
			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)	100 μl	-	126 \pm 11	13 \pm 5	32 \pm 6	34 \pm 5	14 \pm 4	
検 体 (下段は 統計学的 検定結果)	8		117 \pm 12 (NS) 及び [NS]	17 \pm 5 (NS) 及び [NS]	30 \pm 3 (NS) 及び [NS]	32 \pm 7 (NS) 及び [NS]	12 \pm 1 (NS) 及び [NS]	
	40		119 \pm 2 (NS) 及び [NS]	16 \pm 6 (NS) 及び [NS]	29 \pm 11 (NS) 及び [NS]	34 \pm 5 (NS) 及び [NS]	11 \pm 4 (NS) 及び [NS]	
	200		99 \pm 11 (NS) 及び [NS]	16 \pm 6 (NS) 及び [NS]	30 \pm 9 (NS) 及び [NS]	33 \pm 4 (NS) 及び [NS]	14 \pm 1 (NS) 及び [NS]	
	1000		111 \pm 5 (NS) 及び [NS]	16 \pm 6 (NS) 及び [NS]	30 \pm 5 (NS) 及び [NS]	30 \pm 4 (NS) 及び [NS]	9 \pm 5 (NS) 及び [NS]	
	5000		96 \pm 17 (NS) 及び [NS]	11 \pm 5 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	25 \pm 3 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	19 \pm 3 (S, Ppn, M) (NS) 及び [NS]	7 \pm 1 (S, Ppn, M) (NS) 及び [NS]	
陽 性 対 照			sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 626 \pm 32	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 386 \pm 115	4-nitro- quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 783 \pm 50	2-nitro- fluorene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 1013 \pm 69	9-amino- acridine (50 $\mu\text{g}/$ plate) 504 \pm 147	
溶媒対照 (DMSO)	100 μl		+	137 \pm 17	19 \pm 4	40 \pm 3	31 \pm 6	15 \pm 3
検 体 (下段は 統計学的 検定結果)	8			134 \pm 11 (NS) 及び [NS]	18 \pm 6 (NS) 及び [NS]	38 \pm 9 (NS) 及び [NS]	36 \pm 4 (NS) 及び [NS]	13 \pm 6 (NS) 及び [NS]
	40			142 \pm 11 (NS) 及び [NS]	15 \pm 6 (NS) 及び [NS]	40 \pm 6 (NS) 及び [NS]	35 \pm 6 (NS) 及び [NS]	11 \pm 3 (NS) 及び [NS]
	200	149 \pm 16 (NS) 及び [NS]		12 \pm 3 (NS) 及び [NS]	41 \pm 6 (NS) 及び [NS]	38 \pm 3 (NS) 及び [NS]	13 \pm 8 (NS) 及び [NS]	
	1000	136 \pm 7 (NS) 及び [NS]		18 \pm 5 (NS) 及び [NS]	45 \pm 4 (NS) 及び [NS]	32 \pm 3 (NS) 及び [NS]	16 \pm 2 (NS) 及び [NS]	
	5000	137 \pm 3 (NS) 及び [NS]		15 \pm 10 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	32 \pm 4 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	33 \pm 3 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	10 \pm 3 (Ppn, M) (NS) 及び [NS]	
陽 性 対 照		2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2298 \pm 104			2-amino- anthracene (10 $\mu\text{g}/$ plate) 196 \pm 21	2-amino- anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 1366 \pm 13		

統計学的検定法:

Dunnett検定: (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$, (***) $p \leq 0.005$, (NS)有意差無し

線形回帰分析: [*] $p \leq 0.05$, [**] $p \leq 0.01$, [***] $p \leq 0.005$, [NS]有意差無し

注) S : 背景細菌叢の僅かな減少が認められた。

Ppn : 検体の析出が認められた。

M : 手でプレートを計測

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 (試験II : S9 mix+条件については再試験の結果)

薬物	用量 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート (溶媒対照: 5プレート、その他: 3プレートの各平均値 \pm SD)					
			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)	100 μl	-	103 \pm 13	13 \pm 5	44 \pm 6	27 \pm 4	10 \pm 4	
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	312.5		95 \pm 8 (NS) 及び [NS]	15 \pm 5 (NS) 及び [NS]	40 \pm 7 (NS) 及び [NS]	28 \pm 3 (NS) 及び [NS]	6 \pm 1 (NS) 及び [NS]	
	625		105 \pm 8 (NS) 及び [NS]	15 \pm 4 (NS) 及び [NS]	36 \pm 4 (NS) 及び [NS]	27 \pm 3 (NS) 及び [NS]	5 \pm 3 (NS) 及び [NS]	
	1250		105 \pm 14 (NS) 及び [NS]	15 \pm 5 (NS) 及び [NS]	38 \pm 2 (NS) 及び [NS]	28 \pm 3 (NS) 及び [NS]	8 \pm 5 (NS) 及び [NS]	
	2500		103 \pm 24 (NS) 及び [NS]	12 \pm 5 (NS) 及び [NS]	34 \pm 7 (NS) 及び [NS]	29 \pm 9 (NS) 及び [NS]	6 \pm 1 (NS) 及び [NS]	
	5000		69 \pm 15 (NS) 及び [NS]	17 \pm 4 (NS) 及び [NS]	27 \pm 3 (NS) 及び [NS]	20 \pm 6 (NS) 及び [NS]	9 \pm 1 (NS) 及び [NS]	
陽性対照			sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 453 \pm 11	sodium azide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 333 \pm 35	4-nitro-quinoline 1-oxide (2 $\mu\text{g}/$ plate) 899 \pm 3	2-nitro-fluorene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 698 \pm 95	9-amino-acridine (50 $\mu\text{g}/$ plate) 415 \pm 48	
溶媒対照 (DMSO)	100 μl		+	103 \pm 10	16 \pm 2	42 \pm 4	31 \pm 5	6 \pm 2
検体 (下段は 統計学的 検定結果)	62.5			109 \pm 11 (NS) 及び [NS]	/	/	34 \pm 1 (NS) 及び [NS]	8 \pm 4 (NS) 及び [NS]
	125			108 \pm 5 (NS) 及び [NS]	17 \pm 5 (M) (NS) 及び [NS]	42 \pm 6 (NS) 及び [NS]	29 \pm 8 (NS) 及び [NS]	9 \pm 2 (NS) 及び [NS]
	250	119 \pm 12 (NS) 及び [*]		21 \pm 3 (NS) 及び [*]	37 \pm 5 (NS) 及び [NS]	27 \pm 7 (NS) 及び [NS]	10 \pm 4 (NS) 及び [NS]	
	500	117 \pm 6 (NS) 及び [*]		22 \pm 4 (NS) 及び [*]	42 \pm 8 (NS) 及び [NS]	29 \pm 3 (NS) 及び [NS]	9 \pm 2 (M) (NS) 及び [NS]	
	1000	99 \pm 12 (S) (NS) 及び [NS]		18 \pm 4 (NS) 及び [NS]	40 \pm 2 (NS) 及び [NS]	21 \pm 6 (S) (NS) 及び [NS]	9 \pm 3 (S) (NS) 及び [NS]	
	2000	/		- (T)	13 \pm 2 (S) (NS) 及び [NS]	/	/	
陽性対照		/		/	2-amino-anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 114 \pm 7	2-amino-anthracene (5 $\mu\text{g}/$ plate) 2041 \pm 307	/	

統計学的検定法:

Dunnett検定: (*) $p \leq 0.05$, (**) $p \leq 0.01$, (***) $p \leq 0.005$, (NS)有意差無し
線形回帰分析: [*] $p \leq 0.05$, [**] $p \leq 0.01$, [***] $p \leq 0.005$, [NS]有意差無し

注) S : 背景細菌叢の僅かな減少が認められた。
T : 毒性のため、復帰突然変異コロニーが認められなかった。
M : 手動でプレートを計測

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

マウス骨髄細胞を用いた小核試験

の
(資料No. 11-3)

試験機関：Covance Laboratories Limited(英)
報告書作成年：1999年[GLP]

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、41日齢（5週齢）、1群雄 8匹、体重 22～31 g

試験方法：検体を溶媒（0.5%カルボキシメチルセルロース）に懸濁させ、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に屠殺し、大腿骨から骨髄の塗抹標本を作製した。

溶媒対照として0.5%カルボキシメチルセルロースを、毎日1回の割合で2日間、マウスに腹腔内投与した。第2回投与の24時間後に、検体投与群と同様に標本を作製した。

陽性対照としてシクロホスファミドを40mg/kgの用量で、マウスに単回腹腔内投与し、投与後24時間で屠殺して検体投与群と同様に標本を作製した。

塗抹標本は、無水メタノール固定後にギムザ染色し、次のとおり項目を検査した。

- 1) 各標本につき、1000個の赤血球(多染性赤血球：PCE+正染性赤血球：NCE)を計測し、多染性赤血球（PCE）と正染性赤血球（NCE）の相対比（多染性赤血球/正染性赤血球比：PCE/NCE比）
- 3) 多染性赤血球（PCE）1000個当たりの小核を有するPCE頻度（MNPCE頻度）

結果の判定に際して、次の項目に該当する場合は陽性とした。

- ① 少なくとも1用量で、MNPCE頻度に統計学的に有意な増加が認められる場合。
- ② 上記①の場合、MNPCE頻度が、溶媒対照の歴史的背景データを越える場合。

用量設定根拠：

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

各検体投与群において、大部分の動物で体重の減少が認められたが、死亡及び毒性徴候は認められなかった。

各検体投与群のPCE/NCE比は、溶媒対照群と同様であったが、2000mg/kg投与群では、PCE/NCE比の軽度の低下が認められた。

各検体投与群のMNPCE頻度は、溶媒対照群と同様であり、統計学的有意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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

マウス（雄）を用いた小核試験の結果

薬物	最終投与後 経過時間	投与量 (mg/kg)	観 察 動物数	PCE/NCE比	MNPCE頻度
溶媒対照	24	0	8	0.84	0.31
検 体	24	500	8	0.93	0.19
		1000	8	0.73	0.06
		2000	8	0.73	0.25
陽性対照	24	40	8	0.53	3.49 ↑↑

↑↑ : $P \leq 0.001$ (2×2 分割 χ^2 検定)

陽性対照 : シクロホスファミド

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（PCE）に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 製剤毒性

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤SC-1)

試験機関：実医研
報告書作成年：2000年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

試験動物：ICR系マウス、5週齢、体重 雄30.1～32.6g、雌21.9～26.6g、一群雌雄各5匹

試験期間：15日間観察(投与日を含む)

方 法：検体を注射用水に加えて懸濁させ、5000mg/kgの用量で強制経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。

試験項目：一般状態及び死亡を投与日を含めて15日間観察し、体重を投与日および投与後 2, 3, 4, 8及び15日に測定した。試験終了時の全生存動物を屠殺し、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	0 (溶媒対照), 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

体重および剖検所見に、検体投与に起因する変化は認められなかった。

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤SC-2)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

試験動物：Sprague Dawley系ラット、雄 8～12週齢、雌 8～11週齢、
体重 雄 213～242 g 雌 158～187 g、一群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を 5000mg/kgの用量で単回経口投与した。

試験項目：一般状態及び死亡を投与日に2回、及び投与後14日間にわたって毎日1回観察した。各動物について体重を、投与前日、投与日、投与後7日、投与後14日に測定した。
試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	投与当日から発現し、投与後13日目まで認められた。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

症状として、呼吸異常、軟便/粘液便、尿/糞の着色、顔面の暗調物質及び自発運動の減少が観察された。

試験期間中、全動物に体重の増加が認められた。
剖検所見では、有意な肉眼的病理変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 製剤SC-3)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、13～18週齢、
体重 雄2965～3900 g 雌2950～4026 g、雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を、刈毛した背部・腹側部に24時間塗布した。

試験項目：一般状態及び死亡を投与日には2回、その後は14日間にわたって毎日1回観察した。体重を投与日の投与前、投与後7日および14日に測定した。また、投与後14日間にわたって、検体を塗布した部位の刺激性変化を毎日確認した。試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果：

投 与 方 法	経 皮
投 与 量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >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	投与日から投与後14日目まで認められた。
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

症状として、一部の雄に一過性の軟便及び糞量の減少が認められた。検体塗布部位では、刺激性変化(紅斑・浮腫)が認められた。

全動物で、試験期間中に体重の増加が認められた。

剖検所見では、卵菅嚢胞が2例認められた。しかしながら、これはこの系統のウサギに一般的に認められる変化であり、投与に関連した変化とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 製剤SC-4)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)

報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

・組成 フェンアミドン原体 40%
水、界面活性剤等 60%

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雄4匹、雌2匹

試験期間：7日間観察

方 法：検体0.5mlを、刈毛したウサギ背側腹部の皮膚(約6.45cm², 1インチ[2.54cm]×1インチ[2.54cm])に半閉塞貼付した。
暴露時間は4時間とし、皮膚に残った検体を脱イオン水で湿らせたガーゼで拭き、次いで乾燥したガーゼで拭いて除去した。

観察項目：暴露終了後 1, 24, 48, 72時間及び7日の時点で適用部位の刺激性変化(紅斑及び浮腫)を検査した。Draize法に基づく判定基準に従って採点し、一次刺激指数を算出した。最高評点は次のとおりである。

紅斑：4, 浮腫：4

試験結果：

	処 理 後 時 間				
	1 時間	24時間	48時間	72時間	7 日後
紅 斑 (全動物の合計評点)	6	4	0	0	0
浮 腫 (全動物の合計評点)	3	0	0	0	0
紅斑及び浮腫評点の合計(全動物)：(A)	9	4	0	0	0
1～72時間の(A)の合計：(B)	13				
一次刺激指数 (B)÷「(検体適用部位数：6)×4」	0.54				

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 製剤SC-5)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米)

報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)

・組成 フェンアミドン原体 40%

水、界面活性剤等 60%

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雌雄各3匹

試験期間：3日間観察

方法及び観察項目：検体0.1mlを右眼結膜嚢に投与した。

投与後1、24、48及び72時間に結膜、虹彩及び角膜の変化を観察した。

判定は、Drizeの方法に従って実施した。最高評点は、次のとおりである。

角 膜 - 混濁の程度：4，混濁の面積：4，

虹 彩 - 2，

結 膜 - 浮腫：4，発赤：3，分泌物：3

投与後24時間に、フルオレセイン検査を行った。この時点で、生理食塩水で眼に残存している検体を軽く洗い流した。

フルオレセイン検査で変化が認められた場合、影響が認められた眼について、その後も陰性反応が認められるか及び/又は全ての角膜で混濁が消失するまで、フルオレセイン検査を行った。

試験結果：

		投 与 後 時 間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
角 膜 *	混濁の程度	0.17	0.17	0	0
	混濁の面積	0.67	0.50	0	0
	角膜評点 [X]	3.33	2.50	0	0
虹 彩 *	虹彩炎	1.00	0	0	0
	虹彩評点 [Y]	5.00	0	0	0
結 膜 *	発 赤	1.83	1.00	0	0
	浮 腫	1.17	0.83	0.33	0
	分泌物	1.33	0	0	0
	結膜評点 [Z]	8.67	3.67	0.33	0
合計スコア(平均値)：(X+Y+Z)		17.0	6.17	0.33	0
72時間を通じた平均		5.88			

*：平均値

投与後1時間で、1匹において角膜の混濁が認められた。投与後24時間のフルオレセイン検査で陽性であったことから、角膜の損傷が確認された。この角膜の混濁は、点眼後48時間には消失した。

投与後1時間で、全ウサギ(6匹)に虹彩の病変が認められたが、投与後24時間では全て消失した。また結膜に関して、投与後1時間で全匹に浮腫/発赤/分泌物が認められたが、投与後72時間には全て消失した。その他の眼の変化として、2匹の角膜に、通常の光沢を持った軽微な曇りが認められた。

以上の結果から、検体はウサギの眼組織に対して軽度の刺激性を有すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 製剤SC-6)

試験機関：Springborn Laboratories Inc. (米国)

報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン40%水和剤(フロアブル)
・組成 フェンアミドン原体 40%
水、界面活性剤等 60%

試験動物：Hartley系アルビノモルモット、

検体処置群20匹(雌雄各10匹)、検体惹起対照群10匹(雌雄各5匹)

陽性対照処置群10匹(雌雄各5匹)、陽性対照惹起対照群10匹(雌雄各5匹)

試験期間：48時間観察

方 法：Buehler法

投与量設定根拠(予備試験)：検体濃度が25, 50, 75及び100%となるよう4種の検体溶液(溶媒：脱イオン水)を調製した。各濃度につき0.3mlを各濃度につき雌雄各2匹の刈毛した皮膚部位に6時間閉塞貼付した。適用後24時間及び48時間目に、処置部位の刺激性反応を採点した結果、各濃度において「評点0～±(評点0.5、軽度で斑状の紅斑)」が認められた。従って、感作及び惹起処置に適切な検体濃度は100%と考えられた。

感 作：左腹側部を刈毛し、検体溶液(検体濃度100%)0.3mlを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DNCB(2,4-ジニトロクロロベンゼン)の0.1%アセトン/無水エタノール混合溶液0.3mlを7日おきに計3回、それぞれ6時間閉塞貼付した。

惹 起：最終感作後14日目に、検体処置群、惹起対照群については体溶液0.3mlを右腹側部に6時間閉塞貼付した。陽性対照処置群及び陽性対照惹起対照群については、DNCBの0.1%及び0.05%アセトン/無水エタノール混合溶液各0.3mlを右腹側部に6時間閉塞貼付した。

惹起後24時間及び48時間目に、処理部位の刺激反応を採点した。用いた評点は次のとおりである。

紅斑：0, ±(0.5), 1, 2, 3 及び M-3

浮腫：1, 2, 3 及び 4

検体または陽性対照処置動物の評点が「1以上(≥1)」で、かつ惹起対照動物の評点が「0～±(0.5)」の場合を陽性とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：検体溶液（100%）を惹起処置しても、検体処置群及び惹起対照群の動物の皮膚反応評点は0～±（0.5）にすぎなかった。検体処置群の群平均皮膚反応評点は、惹起対照群と同等であった。

陽性対照であるDNCBを0.05%及び0.1%の濃度で処置した動物群では、それらの群平均皮膚反応評点が各DNCB惹起対照群の群平均皮膚反応評点と比較して高かった。

		動物数	惹起後時間 - 評点		陽性動物数		
			24時間	48時間	24時間	48時間	
検体 (100%)	処置群	雌雄各10匹	0.0	0.0	0/20	0/20	
	惹起対照群	雌雄各5匹	0.1	0.0	—		
陽性 対照 (DNCB)	0.05%	処置群	雌雄各5匹	1.0	0.6	7/10	3/10
		惹起対照群	雌雄各5匹	0.0	0.0	—	
	0.1%	処置群	雌雄各5匹	1.5	1.0	9/10	8/10
		惹起対照群	雌雄各5匹	0.1	0.1	—	

点数は、各供試動物の平均値である。

以上の結果、検体の感作性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤WG-1)

試験機関：実医研
報告書作成年：2000年[GLP]

検体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤

試験動物：ICR系マウス、5週齢、体重 雄28.5～31.6 g、雌22.1～25.4 g、一群雌雄各5匹

試験期間：15日間観察（投与日を含む）

方法：検体を注射用水に加えて懸濁させ、5000mg/kgの用量で強制経口投与した。対照群には、溶媒のみを投与した。

試験項目：一般状態及び死亡を投与日を含めて15日間観察し、体重を投与日および投与後 2, 3, 4, 8及び15日に測定した。試験終了時の全生存動物を屠殺し、剖検を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0 (溶媒対照), 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

体重および剖検所見に、検体投与に起因する変化は認められなかった。

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. 製剤WG-2)

試験機関: Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)
報告書作成年: 1999年[GLP]

検 体: フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤

試験動物: Sprague Dawley系ラット、
体重: 雄 144~164 g 雌 117~141 g、雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方 法: 検体を注射用水に懸濁し、2000mg/kgの用量で単回経口投与した。

試験項目: 一般状態及び死亡を投与日には4回、その後は14日間にわたって毎日1回観察した。体重を投与日、投与後 7日および14日に測定した。
試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結 果:

投 与 方 法	経 口
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	死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌 2000

体重に投与に関連した影響は認められなかった。

剖検所見では、肉眼的病理変化は認められなかった。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No. 製剤WG-3)

試験機関: Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)
報告書作成年: 1999年[GLP]

検体: フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤

試験動物: Sprague Dawley系ラット、
体重: 雄 264~293 g 雌 228~244 g、雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 検体を注射用水を用いてペースト状とし、半閉塞包帯を用いて体表面積の約10%相当の部位(刈毛した背部及び腹側部)に24時間適用した。

試験項目: 一般状態及び死亡を投与日には4回、その後は14日間にわたって毎日1回観察した。また、皮膚の検査(紅斑または浮腫)を投与後14日間にわたって行った。体重を投与日、投与後7日および14日に測定した。試験終了時の全生存動物について、剖検を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >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	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

検体適用部位の皮膚に、紅斑及び浮腫は認められなかった。体重については、雌雄各1匹で体重増加の抑制が認められた。剖検所見では、肉眼的病理変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料No. 製剤WG-4)

試験機関：Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64%水和剤
・組成 フェンアミドン原体 3.9 %
ホセチル原体 64.0 %
鉱物質微粉、界面活性剤等 32.1 %

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雄3匹

試験期間：72時間観察

方 法：検体を粉砕し、注射用水でペースト状にして0.5g/匹の用量で、ウサギの非擦過皮膚に4時間にわたって半閉塞適用した。
包帯除去後1、24、48及び72時間目に、皮膚の紅斑及び浮腫を評価した。

判定は、Directive 78/631/EEC Commission Directive (1978年)に従って実施した。最高評点は、次のとおりである。

紅 斑 : 4,
浮 腫 : 4

試験結果：

	投 与 後 時 間				合計評点 (24時間+48時間+72時間)
	1 時間	24時間	48時間	72時間	
紅 斑	1	0	0	0	0
浮 腫	0	0	0	0	0

表の点数は3匹の平均値である。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を示さないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No. 製剤WG-5)

試験機関：Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)
報告書作成年：1999年[GLP]

検体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤
・組成 フェンアミドン原体 3.9%
ホセチル原体 64.0%
鉍物質微粉、界面活性剤等 32.1%

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、雄3匹、約3ヶ月齢、体重 2.44~2.48kg

試験期間：72時間観察

方法及び観察項目：検体を粉砕し注射用水に懸濁させ、0.1ml (検体93mg) を右眼下結膜嚢に適用した。洗眼は実施しなかった。適用後1、24、48及び72時間目に結膜、虹彩及び角膜を検査した。

また投与後72時間で変化が認められた場合、回復性を確認するため、投与後7日及び14日にも結膜、虹彩及び角膜を検査した。

判定は、Directive 78/631/EEC Commission Directive (1978年) に従って実施した。最高評点は、次のとおりである。

角膜 - 混濁の程度：4, 混濁の面積：4,
虹彩 - 充血2,
結膜 - 浮腫：4, 発赤：3

試験結果：

(表の点数は3匹の平均値)

		投 与 後 時 間				平均 (a+b+c)/3	投 与 後 時 間	
		1時間	24時間 (a)	48時間 (b)	72時間 (c)		7日*	14日
角 膜	混濁の程度	2.00	1.00	0.67	0.67	0.78	0.67	0.00
	混濁の面積	1.33	1.00	0.67	0.67	—	0.33	0.00
	角膜評点	13.3	5.00	2.24	2.24		1.11	0.00
虹 彩	充 血	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.33	0.00
	虹彩評点	5.00	5.00	5.00	5.00		1.65	0.00
結 膜	浮 腫	2.33	1.67	1.67	1.33	1.56	0.33	0.00
	発 赤	1.00	2.00	1.33	1.33	1.56	0.33	0.00
	結膜評点	6.66	7.34	6.00	5.32		1.32	0.00
合 計 **		25.0	17.3	13.2	12.6		4.08	0.00

*：脊柱脱臼により、7日目の観察終了後にウサギ一匹を屠殺した。

**：Drize法による評価点 (最高：104)

以上の結果から、本試験条件下で検体は眼刺激性を有すると考えられた。
なお、72時間目で認められた変化は、14日目の観察時には完全に消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料No. 製剤WG-6)

試験機関：Chrysalis Preclinical Services-Europe. (仏)
報告書作成年：1999年[GLP]

検 体：フェンアミドン3.9%・ホセチル64.0%水和剤
・組成 フェンアミドン原体 3.9%
ホセチル原体 64.0%
鉍物質微粉、界面活性剤等 32.1%

試験動物：Hartley系アルビノモルモット、
検体処置群20匹（雌雄各10匹）、対照群10匹（雌雄各5匹）
陽性対照処置群10匹（雌雄各5匹）

試験期間：48時間観察

方 法：改良Buehler法（9回感作処置）

投与量設定根拠（予備試験）：検体濃度が40及び85%となるよう2種のペースト（溶媒：注射用水）を調製した。各濃度につき0.5mlを各濃度につき雄各4匹の皮膚部位に6時間閉塞貼付した。処理後24時間及び48時間後に、処置部位の刺激性反応を採点した結果、各濃度において刺激性反応は認められなかった。従って、感作処置及び惹起処置に適切な検体濃度は85%と考えられた。なお、検体濃度85%は、経皮処置に適したペーストとして調製可能な最高濃度である。

感 作：刈毛した左側背部に、検体ペースト（検体濃度85%）0.5mlを計9回にわたりそれぞれ6時間閉塞貼付した。検体感作処置は試験1, 3, 5, 8, 10, 12, 15, 17及び19日目に実施した。
陽性対照の試験は本試験とは同時に行っていないが、本試験機関では定期的にDNCB（2,4-ジニトロクロロベンゼン）を用いて陽性対照試験を行っている。

惹 起：最終感作10日後（試験29日目）に、検体処置群及び対照群に対し検体ペースト0.5mlを右側背部に6時間閉塞貼付した。
惹起後24時間及び48時間目に、処置部位の刺激反応をDraizeの採点基準に従って採点した。最高評点は次のとおりである。

紅班・痂皮：4

浮腫：4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：検体処置群の雌1匹及び対照群の雄1匹の死亡が、試験30日目に発見された。死亡動物の剖検の結果、検体処置群の雌では腸管の強い鬱血が認められ、対照群の雄では異常は認められなかった。

惹起処置後の検査では、検体感作処置群の19匹に変化は認められなかった。対照群の動物9匹でも、顕著な皮膚の異常は認められなかった。

		動物数	病 変	惹起後 - 評点		陽性動物数
				24時間	48時間	
検 体 (85%)	処置群	雄10匹	紅斑	0	0	0/20
		雌 9匹	浮腫	0	0	
	対照群	雄 4匹	紅斑	0	0	-
		雌 5匹	浮腫	0	0	

点数は、各供試動物の平均値である。

陽性対照として用いたDNCBの感作性試験の結果を下表に示す。

		動物数	病 変	惹起後 - 評点		陽性動物数
				24時間	48時間	
DNCB溶液* (0.5%)	処置群	雄 5匹	紅斑	1.8	2.0	20/20
		雌 5匹	浮腫	1.3	1.0	

*：溶媒 1,2-プロピレングリコール 点数は、各供試動物の平均値である。

以上の結果から、検体の皮膚感作性はないと考えられた。