

紫外線吸収剤 Dimethicodiethylbenzalmalonate
(別名 Polysilicone-15)

(商品名 PARSOL SLX)

ポジティブリスト掲載要請に関する資料

平成 14 年 4 月 22 日

ロシュ・ビタミン・ジャパン 株式会社

資料概要目次

	ページ
イ. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料	
イ-1. 起源又は発見の経緯	1
イ-2. 外国における使用状況	1
イ-3. 特性及び他の化粧品との比較検討等	2
ロ. 物理的・化学的性質に関する資料	
ロ-1. 構造	4
ロ-2. 物理的・化学的性質等	7
ハ. 安全性に関する資料	10
安全性に関する試験結果一覧表	11
ハ-1. 単回投与毒性試験	14
ハ-2. 皮膚一次刺激性試験	17
ハ-3. 連続皮膚刺激性試験	19
ハ-4. 感作性試験	21
ハ-5. 光毒性試験	26
ハ-6. 光感作性試験	30
ハ-7. 眼刺激性試験	38
ハ-8. 遺伝毒性試験	41
ハ-9. ヒトパッチ試験	62
ハ-10. 反復投与毒性試験	66
ハ-11. 生殖発生毒性試験	77
ハ-12. 吸収・分布・代謝・排泄試験	81
ハ-13. 経皮吸収試験	83
ハ-14. 安全係数の計算及び結論	86

イ. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

イ-1. 起源又は発見の経緯

紫外線吸収剤である Dimethicodiethylbenzalmalonate (別名 Polysilicone-15), 商品名 パルソール SLX (化学名 : α - (トリメチルシリル) - ω - (トリメチルシリルオキシ) ポリ [オキシ (ジメチル) シリルエン]-co-[オキシ (メチル) (2-[p- [2, 2-ビス (エトキシカルボニル) ビニル] フェノキシ]-1-メチレンエチル) シリルエン]-co-[オキシ (メチル) (2-[p- [2, 2-ビス (エトキシカルボニル) ビニル] フェノキシ]プロパ-1-エニル) シリルエン]) は、ポリマーシリコンに結合したケイ皮酸塩からなる B 紫外線 (290 nm ~ 320 nm) 吸収剤である。ケイ皮酸は、有機系の紫外線吸収剤として汎用されている。

本品は、統計的に 4 個の紫外線吸収ユニットが 60 個のポリマー鎖ごとに結合している。

これが、Parsol SLX の特徴で、この高分子構造のため皮膚への浸透は極めて少なく、皮膚表面にとどまり、紫外線から皮膚を保護する。

ヒトの皮膚は、長時間紫外線にさらされると傷害が生まれ、紅斑を引き起こして脆弱化し、水疱変化をきたす。よって、パルソール SLX は、日常的に紫外線予防ができるように、毎日使用される化粧品への配合が可能な紫外線吸収剤として開発された原料である。

*他の紫外線吸収剤との比較

従来の紫外線吸収剤は、ピーチケアなどの非常に強い紫外線に対応できるものを想定して開発されている。それに対し、SLX は日常の紫外線を防止すること (デイリーケア) を目的として開発されている。従って、安全性と使用性を重視した紫外線吸収剤として商品化している。他の紫外線吸収剤と異なり、化学構造において「シリコン鎖」をベースにしており、そのため高分子であるので、経皮吸収しにくいなどの特徴を持っている。

イ-2. 外国における使用状況 (添付資料 イ-2)

本品は、サンスクリーン商品に用いられる。

安全性は、欧州の化粧品に関する科学委員会 (SCC) のガイドラインで推奨されている毒性試験により確認されており、EU においては、2002 年 4 月 15 日付委員会指令 2002/34/EC (2002 年 4 月 18 日付 Official Journal of the European Communities: OJ L102) に告示のとおり Dimethicodiethylbenzalmalonate として指令 76/768/EEC の Annex VII に紫外線吸収剤として追加収載されている (Ref. No. 26 , max. 10%) 。また、CTFA (米国化粧品工業会) 登録の INCI 名は、Polysilicone-15 である。

諸外国における本品の販売実績 (許可後から 2002 年 10 月現在) は、以下の通りである。

国名	KG	国名	KG	国名	KG
デンマーク		スペイン		韓国	
ベルギー		イタリア		台湾	
フランス		ドイツ		インドネシア	

イー3. 特性及び他の化粧品との比較検討等

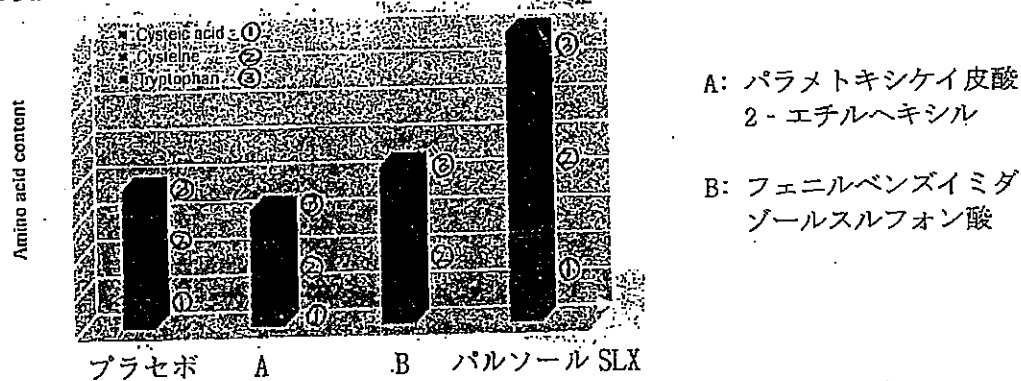
パルソール SLX は、ポリマーシリコンに結合したケイ皮酸塩からなる紫外線吸収剤である。4 個の紫外線吸収ユニットが 60 個のポリマー鎖毎に結合している。従って、本パルソール SLX は、皮膚の上層部に留まり紫外線から皮膚や毛髪を保護し、また、分子量が高い事から皮膚への浸透も少ない。現在、化粧品に配合される紫外線吸収剤には、パラアミノ安息香酸やケイ皮酸から誘導された化合物が多く、光や空気に対する安定性も良く、また、皮膚に対する安全性も高く、実用に供されている。パルソール SLX も同様の特徴を有している。

光吸収メカニズムについては、本品は、シリコーンポリマーで高分子であり、経皮吸収も少なく、皮膚表面上に留まり、UVB を吸収して熱などのエネルギーに変換し、紫外線が皮膚の細胞に浸透するのを防いでいる。すなわち、シリコーンをバックボーンとした発色団が、紫外線の光量子を補正して励起状態に換え、熱が生じることで、発色団がエネルギーを放出させ基底状態に戻ることでより紫外線を吸収している。

*他の紫外線吸収剤との比較

また、紫外線による髪の毛のダメージを測る指標として、アミノ酸含量が測定されるが、パルソール SLX と日本で既にポジティブリストに記載されている他の紫外線吸収剤と比較した結果を以下に述べる。他の紫外線吸収剤としては、パラメトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル及びフェニルベンズイミダゾールスルホン酸を用いて比較し、また、プラセボでの状態も比較した。

測定したアミノ酸は、システイン酸、システイン及びトリプトファンの 3 種類で、それぞれの紫外線吸収剤による各アミノ酸の残存量を比較したところ、下図のように明らかにパルソール SLX を使用した場合、各アミノ酸の残存率が高かった。



(出典 : Cosmetics & Toiletries, Vol. 113 February 1998)

*光安定性 (添付資料 イー3-1、イー3-2)

他の紫外線吸収剤との光安定性について比較データを示した。

照射条件は以下の通りである。

器具 : Heraeus Suntest CPS (with UV and IR filters)

総照射量 : 10 SU (約 2.2 SU/h), 照射時間 : 5 時間 30 分

線量法 : Berger model 5 D, UV スペクトル : Agilent 8453 System at 312 nm

HPLC により、残存率を分析した。また、方法については、G. Berset & H. Gonzenbach (COLIPA Task force) の方法により実施した。(添付資料 : イー3-2)

	製品名/化学名	光安定性
1	パルソール SLX	%
2	2-エチルヘキシル-p-メトキシシナメート	%
3	2-フェニルベンゾイミダゾール-5-スルホン酸	%
4	エチル-ジヒドロキシプロピル-PABA	%

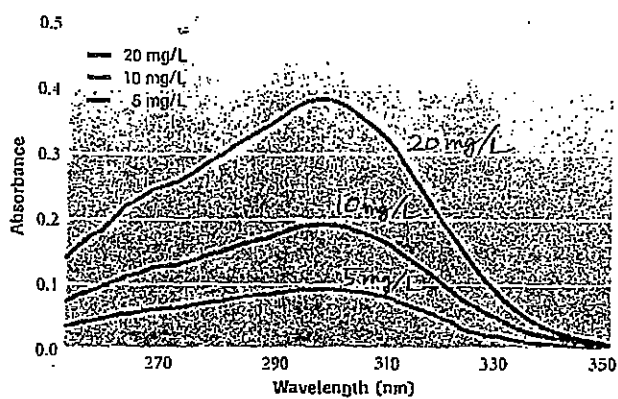
上記のとおり、パルソール SLX は他の紫外線吸収剤と比較し、光安定性が良いとの結果が得られた。

*パルソール SLX の UV 吸収能

UV 吸収能に関するチャートを下図に示した。

無水エタノール中のパルソール SLX で、300 nm 付近に極大吸収が認められた。

UV 吸収スペクトル — — 層長：1cm 濃度：5、10、20 mg/L



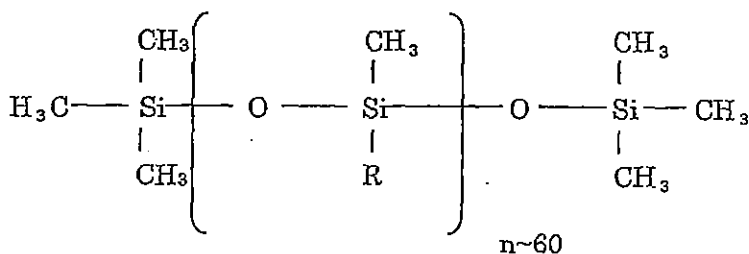
ロ. 物理的・化学的性質等に関する資料

ロ-1 構造

パルソール SLX は、化学名を α - (トリメチルシリル) - ω - (トリメチルシリルオキシ) ポリ[オキシ (ジメチル) シリルエン]-co-[オキシ (メチル) (2-{p- [2,2-ビス (エトキシカルボニル) ビニル] フェノキシ}-1-メチレンエチル) シリルエン]-co-[オキシ (メチル) (2-{p- [2,2-ビス (エトキシカルボニル) ビニル] フェノキシ}プロパ-1-エニル) シリルエン] と称し、

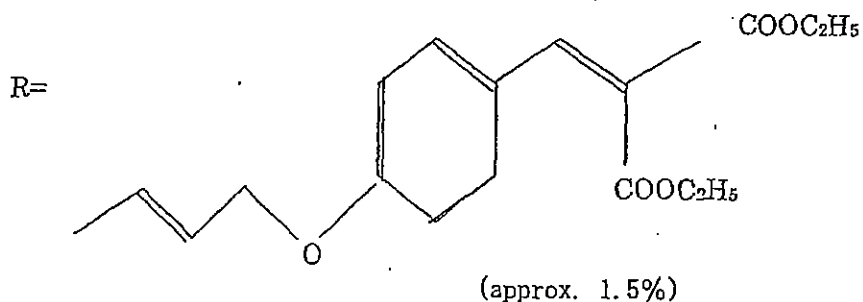
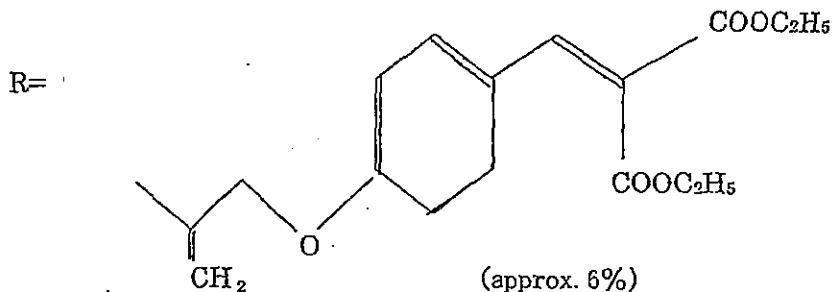
パルソール SLX を製する。

化学構造式



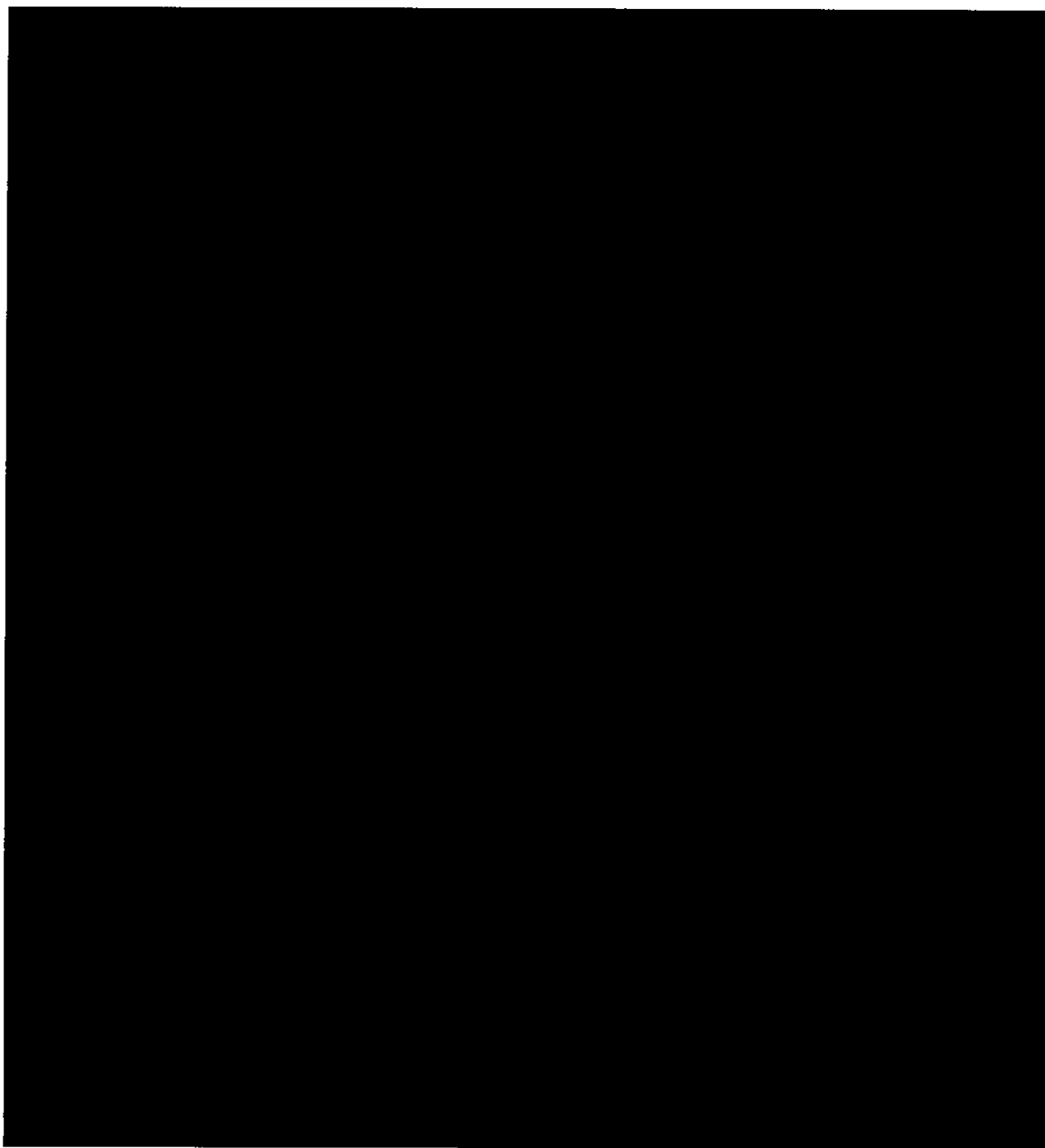
R = CH₃

(approx. 92.1-92.5%)



(以下 4 枚不開示のため略)

ロ-2 物理化学的性質等 (添付資料 ロ-2、ロ-2-1)



(以下3枚不開示のため略)

ハ. 安全性に関する資料

緒言

パルソール SLX (商品名: PARSOL SLX / INCI名: Polysilicone-15) は、ポリマーシリコンに結合したケイ皮酸塩から成る B 紫外線 (290nm ~ 320nm) 吸収剤である。ケイ皮酸は、有機系の紫外線吸収剤として汎用されている。

パルソール SLX は、統計的に 4 個の紫外線吸収ユニットが 60 個のポリマー鎖ごとに結合している。これが、パルソール SLX の特徴で、この高分子構造のため皮膚への浸透は極めて少なく、皮膚の表面にとどまり、紫外線から皮膚を保護する。

パルソール SLX はサンスクリーン商品などに用いられ、日光に過度にさらされることによるダメージから皮膚を保護する。ヒトで行われた基礎実験 (10%濃度) の結果からも、安全に使用できることが確認されている。

パルソール SLX の安全性は、欧州の化粧品に関する科学委員会 (SCC) のガイドラインで推奨されている毒性試験により確認されており、評価が終了し、Directive 76/768/EEC の Annex VII に紫外線吸収剤として記載されている。

単回投与毒性試験、皮膚一次刺激性試験、連続皮膚刺激性試験、感作性試験、光毒性試験、光感作性試験、眼刺激性試験、遺伝毒性試験、ヒトパッチ試験、反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、吸収・分布・代謝・排泄試験及び in vitro 経皮吸収試験の概要を次表にまとめた。

溶媒の選択理由 (添付資料: ハー 1):

紫外線吸収剤のような化合物の経皮吸収は、皮膚からの吸収において物理的パラメーター等が決められているわけではなく、溶媒、濃度、暴露時間、適用回数、皮膚の種類、皮膚表面の状態等多くの要因により変わってくる。よって、パルソール SLX についても、経皮吸収試験を行ない、溶媒の違いによる比較検討を既に我が国でポジティブリストに記載されている紫外線吸収剤 (パラメトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル) とともに行なった。溶媒は、化粧品に良く用いられるワセリン油とミリスチン酸イソプロピルを用いた。その結果、パラメトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシルでは、両溶媒による差が顕著に認められたが、パルソール SLX においては、極めて少なかった。これは、パルソール SLX の極性溶媒における溶解性が一般的に良いことに起因する。また、パルソール SLX の経皮吸収は、他の紫外線吸収剤と比較しても極めて少なかった。以上のことから、各安全性試験の溶媒については、経皮吸収が極めて少ないことから、原液のまま、あるいは毒性試験で汎用される懸濁液や一般的溶媒 (エタノール) を選択して使用した。

ジメチルジエチルベンザルマロネート

	試験名	試験群の内容	試験系、個体数	試験方法	結果	試験施設・文献等	GLP準拠
単回投与毒性 (ハ-1-1)	ラット 経口 単回投与毒性試験	2000mg/kgの1群	1群雌雄各5匹 (Han/Im:WISTラット)	投与後14日間、一般症状観察、死亡率観察 剖検	雌雄ともに一般症状、死亡率(全例生存)、剖検に異常なし。 LD50 ♂:2000mg/kg以上 ♀:2000mg/kg以上	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
単回投与毒性 (ハ-1-2)	ラット 経皮 単回投与毒性試験	2000mg/kgの1群	1群雌雄各5匹 (Han/Im:WISTラット)	投与後14日間、一般症状観察、体重、死亡率観察 剖検	雌雄ともに一般症状、皮膚の反応、体重、死亡率(全例生存)、剖検に異常なし。 LD50 ♂:2000mg/kg以上 ♀:2000mg/kg以上	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
反復投与毒性 (ハ-10)	ラット 経口 13週間反復投与毒性試験	0、60、220、1000mg/kgの4群	雌雄各4群、1群10~20匹 (SD系ラット)	投与後90日間(リカバリー群は、19日)、一般症状、体重変化、摂餌量、生存率観察、投与終了後、肉眼所見、血液学的検査、臨床化学検査、尿検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査	本成分は、雌雄ラットに対して1000mg/kg/日投与レベルまで毒性は認められなかった。 無毒性量: ♂♀:1000mg/kg/日以上	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
生殖発生毒性 (ハ-11)	ラット 経口 Segment II	0、100、300、1000mg/kgの4群	各群雌25匹(Wistar系ラット)	妊娠6日目より20日の15日間 1日1回、経口投与	いずれの投与量においても母体への影響なし。胎仔の致死、発育抑制、催奇形成作用、新生仔の形態的、機能的分化に及ぼす影響なし。 無毒性量: ♀:1000mg/kg/日以上	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
皮膚一次刺激性 (ハ-2)	ウサギ 皮膚一次刺激性試験	被験物質濃度100%のもの 0.5mLを約6cm ² に4時間塗布	被験物質群:雄1匹、雌2匹 (ニュージランド白色ウサギ)	被験物質を剃毛したウサギの背部に4時間塗布後水洗し、約1、24、48、72時間後の皮膚反応を観察	試験の結果、投与後24-72時間のスコア値は0.11(Max. 8.0)であり、24時間後に雌の1例に極わずかな紅斑が認められたが、被験物質は、本条件下で刺激性はないと判定された。	RCC, Research and	準拠
連続皮膚刺激性 (ハ-3)	ウサギ 連続皮膚刺激性試験	被験物質濃度100%のもの 0.5mLを約6cm ² に毎日6時間塗布	被験物質群:雄3匹 (ニュージランド白色ウサギ)	被験物質を剃毛したウサギの背部に1日1回2週間(週5日間)連続塗布し、各投与6時間後水洗 投与期間中毎日、投与前と投与後24時間後の皮膚反応を観察	試験の結果、投与後24時間のスコア値は、0.00であり、紅斑、浮腫も認められなかったことから、被験物質は、本試験条件下で、ウサギの皮膚に刺激性はないと判定された。		準拠
感作性 (ハ-4)	モルモット 皮膚感作性試験	感作処置 第1回:5%、第2回:100% 惹起処置 被験物質:100%、30%、10%および溶媒(エタノール)	雄30匹 (対照群:10匹、感作群:20匹) (白色モルモット)	第1回 感作処置(皮内) 第2回 感作処置(経皮) 第2回感作処置後の2週間後に惹起処置(経皮)	惹起処置の貼付で、刺激を起こさない被験物質の最高濃度は100%であり、惹起処置後、皮膚反応は認められなかった。本試験条件下で、被験物質によるモルモットでのアレルギー誘発の可能性は、認められなかった。	RCC, Research and	準拠
光毒性 (ハ-5)	モルモット 単回光毒性試験	被験物質濃度:100%、75%、50%、25%水溶液(蒸留水で希釈) 0.025mL/2cm ² に塗布 UV照射条件:エネルギー104Ergs/cm ² /sec、波長320~400nm、照射量20J/cm ² -UV-A	対照群:雌5匹 被験物質群:雌10匹 (白色モルモット)	被験溶液0.025mL/2cm ² を左大腿部に塗布、2時間後UV照射 同様に右大腿部には、UVを照射せず対照とし、対照群の動物には溶媒(蒸留水)のみを処理 塗布後24,48,72時間後に皮膚反応を観察	試験の結果、100%、75%、50%、25%の濃度の被験物質を塗布した皮膚部位で、UV照射と非照射で何ら差異は認められなかった。よって、本条件下(照射量20J/cm ² -UV-A)でのモルモットにおける光毒性は認められなかった。	RCC, Research and	準拠

ジメチコジエチルベンザルマロネート

	試験名	試験群の内容	試験系、個体数	試験方法	結果	試験施設・文献等	GLP準拠
光感作性 (ハ-6)	モルモット 光感作性試験	光感作処置:被験物質濃度 100%、0.1mL UVA 320-400nm,10J/cm ² UVB 280-320nm,1.8J/cm ² 光惹起処置:被験物質濃度 100%、75%、50%、25% 水溶液(蒸留水で希釈) 0.025ml/2cm ² に塗布 UVAのみ照射	雌30匹 (対照群:10匹、感作群:2 0匹)(白色モルモット)	肩甲部を除毛し、光感作処置として、Freund's Complete Adjuvantと生理食塩水1:1(v/v)の乳化物を0.1mL 4個所に皮内注射。次いで、被験物質を塗布。塗布は、試験3,5,8,10日目に繰り返し行なう。感作3週間後に被験物質を左脇腹に塗布し、UVAを照射。光惹起処置のUV照射終了後、24,48,72時間目に投与部位の肉眼観察。	本条件下(100%濃度、照射線量10J/cm ² -UV-A)での試験の結果、惹起後72時間まで感作群及び対照群に皮膚反応は観察されず、光感作性は認められなかった。	RCC, Research and	準拠
眼刺激性 (ハ-7)	ウサギ 眼刺激性試験	被験物質100%濃度のもの 左眼に0.1mL単回投与 右眼未処置対照	雄1匹、雌2匹 (ニュージーランド白色ウサ ギ)	点眼後、1,24,48,72時間目に、角膜混濁、虹彩の変化、結膜の発赤、角膜浮腫について採点した。	点眼後、各動物に結膜のわずかな発赤や腫脹が認められたが、48時間から72時間後には回復した。いずれも可逆性のものであることから、被験物質は、本条件下においてウサギの眼に刺激性はないと判定された。	RCC, Research and	準拠
遺伝毒性 (ハ-8-1)	細菌を用いる復帰突然変異試験	プレート法及び プレインキュベーション法	ネズミチフス菌(<i>Salmonella typhimurium</i>) TA1535,TA1537,TA97,TA98,TA100,TA102 大腸菌(<i>Escherichia coli</i>) WP2 uvrA	用量設定試験:1~5000 µg/プレート 上記の菌株を用い、被験物質の濃度が、プレート法では、46~4553 µg/プレートの濃度範囲で、プレインキュベーション法では、50~5000 µg/プレートの濃度範囲で試験を行なった。また、陽性対照として、アジ化ナトリウム、ICR 191、2-ニトロフルオレン、マイトマイシンC、2-アミノアントラセンを用いた。	用量設定試験:すべての用量で細胞毒性なし。 本試験の結果、陰性対照の1.5~2倍の復帰変異数を示し、かつ、用量相関性が認められた場合を陽性として判定を行なったが、S9 mix添加、無添加のいずれの条件下においても、TA1535,TA1537,TA97,TA98,TA100,TA102及びWP2 uvrAにこのような結果は認められず、陰性と判定した。尚、陽性対照に用いた既知変異原についてはいずれも陽性で、S9 mix活性と試験菌の反応性が確認された。	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
遺伝毒性 (ハ-8-2)	哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	チャイニーズハムスターの肺由来繊維芽細胞を用いた試験 陽性対照:プレオマイシン シクロフォスファミド 陰性対照:エタノール	チャイニーズハムスターの肺由来のV79継代培養細胞	短時間(3時間)処理法-S9 mix、同+S9 mix処理及び連続処理法24時間処理で50~5000 µg/mLのそれぞれ3用量について顕微鏡観察を行なった。	いずれの処理条件においても、染色体の構造異常、倍数性細胞を誘発しなかった。	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
遺伝毒性 (ハ-8-3)	マウスリンフォーマTK試験	マウスリンフォーマ細胞を用い、トリフルオロチミン(TFT)耐性を指標とする突然変異試験 陽性対照:NQO, BP 陰性対照:エタノール	L5178Y TK +/- マウスリンフォーマ細胞	突然変異試験における被験物質の処理濃度を求めるために細胞毒性試験を行なった結果、全ての系で細胞毒性は認めなかった。よって、初回は11.72~1500 µg/mL(最高溶解量)の範囲で8濃度、確認試験では、46.88~1500 µg/mLの範囲で6濃度を設定して試験を行なった。	すべての処理系列において、突然変異の有意な上昇は認められず、また、濃度依存性も認められなかった。よって、被験物質は本試験条件下においてL5178Y細胞で突然変異を誘発しないと結論した。		準拠

ジメチコジエチルベンザルマロネート

	試験名	試験群の内容	試験系、個体数	試験方法	結果	試験施設・文献等	GLP準拠
遺伝毒性 (ハ-8-4)	光変異原性試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7(二倍体酵母株)を用いた光変異原性試験 陽性対照:クロルプロマジン 陰性対照:培地	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7(二倍体酵母株)	被験物質をエタノールに溶解し、10~1000 µg/mL(最高溶解濃度)を設定し、波長290~800nmの高速照射機を用い、150mJ/cm ² までのUVBを照射した。	本試験条件下での、光変異原性は認められなかった。	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
遺伝毒性 (ハ-8-5)	光遺伝毒性試験	チャイニーズハムスターの肺由来繊維芽細胞を用いた光遺伝毒性試験	チャイニーズハムスターの肺由来のV79継代培養細胞	被験物質の染色体異常を調べる為、濃度500~5000 µg/mL、擬似太陽光照射 UVA/UVB線量100/2.0~500/6.3 mJ/cm ² をV79チャイニーズハムスター培養細胞に1.5、3時間照射した。	擬似太陽光照射に暴露したV79チャイニーズハムスター培養細胞において、染色体構造異常をもつ細胞の出現頻度の増加は認められなかった。	F. Hoffmann-La Roche社	準拠
ヒトパッチ (ハ-9-1)	ヒト皮膚感作性試験	被験物質 濃度 10% w/w (溶媒:鉱油油) 0.4mLを投与	成人103名(18歳から65歳) 男性:20名 女性:83名	2×2cmのパッチを皮膚の同じ部分に24時間閉塞貼付(第1週目:月・金、第2週目:火・水・金、第3週目:月・水・金) 惹起処置は、最終貼付2週間後、両腕に24時間閉塞貼付 観察は、3,9,10,12,15,17,19,22日目に熟練者により肉眼観察	皮膚刺激性、接触感作性は認められなかった。		
ヒトパッチ (ハ-9-2)	ヒト光感作性試験	被験物質 濃度 10% w/w 0.4mg/cm ² で貼付 擬似太陽光を2,5,9,12,16,19日目に照射	成人30名(26歳から65歳) 男性:7名 女性:23名	3×3cmのパッチを上背部に24時間閉塞貼付 回数:14,8,11,15,18日の計6回貼付 最終感作より10日目に2×2cmに閉塞貼付して惹起	光感作性は認められなかった。		
ヒトパッチ (ハ-9-3)	ヒトパッチ試験	被験物質 濃度100%(原液)を0.01g	日本人45名(23歳~53歳) 男性:15名 女性:30名	フィンチャンバーを用いて、被験者の上腕屈側部に24時間閉塞貼付 被験物質除去1及び24時間後に観察	すべて陰性であった。		
吸収・分布・代謝・排泄 (ハ-12)	ラット経口吸収・分布・代謝・排泄試験	¹⁴ C-被験物質:2mg/kg, 200mg/kg 及び 対照	各群 雄4匹 (Wistar系ラット)	¹⁴ C-被験物質を、2 mg/kg及び200 mg/kgをそれぞれラットに経口投与し、血漿中(1,2,4,8,12,24,48時間後に採血)、尿中及び糞中(0~24, 24~48, 48~72時間目のものを採取)の放射活性を測定	2mg/kg投与群の4例中2例及び200mg/kg投与群の4例中2例に、投与後2~8時間値にわずかに放射活性が見られたが、他はすべて検出限界以下であった。 経口投与後、72時間目の尿及び糞中排泄量は、2mg/kg投与群でそれぞれ0.3%、90%、200mg/kg投与群でそれぞれ0.4%、92%であった。	F. Hoffmann-La Roche社	
経皮吸収 (ハ-13)	ラット・ブタの摘出皮膚片 in vitro 経皮吸収試験	被験物質 濃度 5% 2 mg/cm ²	ラットの剃毛皮膚及びブタの角質層を剥離した皮膚と無傷の皮膚	フランツ・セル型浸透チャンバー(32°Cに設定)を用い、単回塗布(16時間)及び反復塗布(0.2,4,6時間に4回)にて実施 塗布された被験物質を回収しHPLC分析	被験物質の皮膚での吸収は極めて少なく、皮膚へ塗布して16時間後、標準o/w乳化液の表皮や真皮での吸収は0.5%以下であった。		

各試験の要約は、以下のとおりである。

ハー 1. 単回投与毒性試験 (経口毒性試験) (添付資料 ハー 1 - 1)

1 群雌雄各 5 匹ずつの Hanlbm:WIST (SPF) 系ラット、約 6 週令を用いて単回投与毒性試験を行なった。被験物質は、投与前に絶食したラットに 2,000 mg/kg を単回経口投与し、14 日間にわたり一般症状、死亡率について観察し、剖見を行なった。

試験の結果、LD50 は、2000 mg/kg 以上であった。一般症状に異常は認められず、剖検でも何ら異常は認められなかった。

報告者		K. D. Bremer
試験方法	方法	OECD ガイドライン / GLP 準拠
	動物種	Hanlbm:WIST ラット (SPF)
	被験物質	雌雄 各 5 匹、約 6 週齢
	投与経路	パルソール S L X (GIV / Ro 84-5690/001)、液体
	投与量	絶食後、経口
	投与期間	2000 mg/kg
	用量設定根拠	単回 予備試験を 200、450、1000 及び 2300 mg/kg で実施したところ、いずれの投与群においても死亡例が認められなかったことから、2000 mg/kg で実施した。 尚、本試験は国際的な指針 (EBC, OECD, JMHV) に基づき実施された。
観察	観察期間	14 日間
	観察項目	一般症状、死亡率 剖検
試験成績	死亡率	全例生存。 LD50 : 2000 mg/kg 以上
	一般症状	一般症状において、異常は認められなかった。 剖検で、異常は認められなかった。

ハー 1. 単回投与毒性試験 (経皮毒性試験) (添付資料 ハー 1-2)

1 群雌雄各 5 匹ずつの Hanlbm:WIST(SPF)系ラット、雄約 6~7 週令、雌 9~10 週令を用いて単回投与経皮毒性試験を行なった。それぞれのラットは、背中から側面にかけて毛を刈り取りその後投薬までの 24 時間を回復時間として設けた。被験物質は、ラットに 2,000 mg/kg を塗布し、塗布後 24 時間目に 70%のエチルアルコール及び温水にて洗浄した。

その後は、毎日、一般症状及び死亡率を観察し、体重は投与 7 日前及び 0、3、7、10 及び 14 日目に測定した。試験最終日には、全ての動物は一晩絶食させ屠殺し剖検した。

試験の結果、死亡例は 1 例も認められず、LD50 は、2000 mg/kg 以上であった。一般症状においても、異常は認められず、皮膚への影響も認められなかった。また、体重の変化にも異常は認められず、剖検でも何ら異常所見は認められなかった。

体重変化 (雌雄各 5 例の平均値: g)

日	-7	0	3	7	10	14
雄	144.40	184.08	191.40	213.40	230.00	228.08
雌	175.20	187.32	184.80	192.60	196.60	190.20

報告者		
試験方法	方法	OECD ガイドライン / GLP 準拠
	動物種	Hanlbm:WIST(SPF) ラット
		雄 5 匹 (6-7 週齢)、雌 5 匹 (9-10 週齢)
	被験物質	バルソール SLX
	投与経路	経皮
	投与量	2000 mg/kg
	投与期間	単回
	用量設定根拠	予備試験を 12、60、250、1250 及び 1800 mg/kg で実施したところ、いずれの投与群においても死亡例が認められなかったことから、2000 mg/kg で実施した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, JMHV) に基づき実施された。

観 察	観察期間 観察項目	14日間 体重、一般症状、死亡率 剖検
試 験 成 績	死亡率 一般症状	全例生存。 LD50 : 2000 mg/kg 以上 一般症状、皮膚の反応、体重変動に、異常は認められず、剖 検でも異常は認められなかった。

ハー 2. 皮膚一次刺激性試験 (添付資料 ハー 2)

雄 1 匹、雌 2 匹のニュージーランド白色ウサギ計 3 匹の背中を刈り、パルソール SLX 100% のもの 0.5ml を約 6 cm² に 4 時間塗布後水洗し、約 1、24、48、72 時間後の皮膚の反応を観察した。

試験の結果、第一次刺激スコアは 0.11 (Max. 8.0) であり、25 時間後に、雌の 1 例に極わずかな紅斑が認められたが、被験物質は、本試験条件下で、ウサギの皮膚に刺激性はないと判定された。

尚、紅斑、浮腫の判定には、以下の EEC Commission Directive 93/21/EEC (April 27, 1993) の評価基準により評価、判定した。

紅斑および痂皮形成 Erythema and Eschar Formation	浮腫形成 Edema Formation
紅斑なし No erythema-----0	浮腫なし No edema-----0
非常に軽度な紅斑 Very slight erythema (barely perceptible)-1	非常に軽度な浮腫 Very slight edema (barely perceptible)-----1
はっきりした紅斑 Well defined erythema-----2	軽度の浮腫 Slight edema (edges of area well defined by definite raising)-----2
中等度から重度の紅斑 Moderate to severe erythema-----3	中等度の浮腫 Moderate edema (raised approximately 1 mm)-3
重度の紅斑から軽度の痂皮形成 Severe erythema (beet redness) to slight eschar formation (injuries in depth)-----4	重度の浮腫 Severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond area of exposure)-----4
最高点 Maximum possible score 4	最高点 Maximum possible score 4
最高累積点 Maximum cumulative score 8	最高累積点 Maximum cumulative score 8

皮膚刺激性試験の結果

判定時間	動物番号	性別	紅 斑	浮 腫	合計点数	平均合計点数
1 時間	25	雄	0	0	0	0.00
	26	雌	0	0	0	
	27	雌	0	0	0	
24 時間	25	雄	0	0	0	0.33
	26	雌	1	0	1	
	27	雌	0	0	0	
48 時間	25	雄	0	0	0	0.00
	26	雌	0	0	0	
	27	雌	0	0	0	

72 時間	25	雄	0	0	0	0.00
	26	雌	0	0	0	
	27	雌	0	0	0	

報 告 者		
試 験 方 法	方 法	GLP 準拠
	動物種	ニュージーランド 白色ウサギ
		雄 1 匹、雌 2 匹
	被験物質	パルソール SLX
	投与経路	経皮。背中の毛を刈り (100 cm ²)、3×3cm ガーゼパッチで覆う。ガーゼは半閉塞包帯で覆う。
	投与量	0.5 mL / 約 6 cm ²
	投与濃度	100%
	投与期間	単回、継続時間は 4 時間
	投与後処置	投与 4 時間後、水で洗浄
	用量設定根拠	被験物質の液体であるという性質上、約 6cm ² の皮膚に経皮投与可能な最大量を選択した。尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, US) に基づき実施された。
観 察	判定時間	包帯、ガーゼ、被験物質を除去後、約 1、24、48、72 時間後
	観察項目	皮膚の反応
試 験 成 績	主な所見	この試験条件下で、第一次刺激スコアは 0.11 (max. 8.0) であった。24 時間後、1 匹にのみわずかに紅斑が見られた。
	局所症状	紅斑 0.11、浮腫 0.00
	24-72 時間の スコア値	紅斑 0.00~0.33 浮腫 0.00
	判定	被験物質に刺激性はないと判定された。

ハ-3. 連続皮膚刺激性試験 (添付資料 ハ-3)

雄3匹のニュージーランド白色ウサギの背中の中毛を刈り、パルソール SLX 100%のもの 0.5ml を約6cm²に1日1回2週間(週5日間)連続塗布、各投与6時間後水洗した。投与期間中、毎日、投与前及び投与後24時間後の皮膚の反応を観察した。

試験の結果、死亡例は認められず、紅斑、浮腫も認められなかった。よって、被験物質は、本試験条件下で、ウサギの皮膚に刺激性はないと判定された。

尚、紅斑、浮腫の判定には、以下の評価基準により評価、判定した。

紅斑および痂(かさ)形成 Erythema and Eschar Formation	浮腫形成 Edema Formation
紅斑なし No erythema-----0	浮腫なし No edema-----0
非常に軽度な紅斑 Very slight erythema (barely perceptible)-1	非常に軽度な浮腫 Very slight edema (barely perceptible)---1
はっきりした紅斑 Well defined erythema-----2	軽度の浮腫 Slight edema (edges of area well defined by definite raising)-----2
中等度から重度の紅斑 Moderate to severe erythema-----3	中等度の浮腫 Moderate edema (raised approximately 1 mm)-3
重度の紅斑 Severe erythema (beet redness)-----4	重度の浮腫 Severe edema (raised more than 1 mm and extending beyond area of exposure)-----4

連続皮膚刺激性試験の点数結果

動物番号	1		2		3	
	紅 斑	浮 腫	紅 斑	浮 腫	紅 斑	浮 腫
1日目	0	0	0	0	0	0
2日目	0	0	0	0	0	0
3日目	0	0	0	0	0	0
4日目	0	0	0	0	0	0
5日目	0	0	0	0	0	0
6日目	0	0	0	0	0	0
7日目	0	0	0	0	0	0
8日目	0	0	0	0	0	0
9日目	0	0	0	0	0	0
10日目	0	0	0	0	0	0

11日目	0	0	0	0	0	0
12日目	0	0	0	0	0	0
13日目	0	0	0	0	0	0
14日目	0	0	0	0	0	0

報告者		
試験方法	方法	GLP 準拠
	動物種	ニュージーランド 白色ウサギ
		1群 雄3匹
	被験物質	パルソール SLX
	投与経路	経皮。背中を刈り (10×15 cm ²)、2×3cm パッチで覆う。半閉塞包帯で覆う。
	投与量	0.5 mL / 6 cm ²
	投与濃度	100%
	投与回数	1日1回、2週間 (週5日)
	投与後処置	各投与6時間後、水で洗浄
	用量設定根拠	皮膚一次刺激性試験において、100%濃度のものを 0.5 mL / 6 cm ² 投与した結果、皮膚に刺激性はないと判定されたことから、同様の量を設定した。
観察	観察	投与期間中、毎日投与前、及び最終投与後 24 時間目に投与部位を肉眼観察
	観察項目	紅斑、浮腫を指標とする皮膚反応
試験成績	主な所見	死亡例なし。 この試験条件下で、紅斑、浮腫は観察されなかった。
	24時間目のスコア値	紅斑 0.00 浮腫 0.00
	判定	被験物質に刺激性はないと判定された。

ハー4. 感作性試験 (Maximization Test) (添付資料 ハー4)

5~7週令の雄の白色モルモットを予備試験に6匹、本試験に30匹用いた。予備試験のうち、2匹を皮内、4匹を経皮に、本試験では、10匹を対照群に、20匹を感作群として用いた。

予備試験においては、エタノール中に5%、3%及び1%濃度で被験物質を溶解し、除毛した側腹部に一箇所0.1mlを皮内注射した。24時間後の結果から、被験物質濃度5%が選択された。また、経皮投与では、被験物質の濃度が100%および30%、10%、3% (エタノール中) のものをフィルターペーパーに染み込ませ、除毛した側腹部に閉塞貼付した。

この結果、惹起処置濃度として、最高濃度の100%が選択され、その他に30%及び10%が追加された。

本試験においては、6×8cmに除毛した個所に被験物質感作群として、1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水 1:1(v/v)混合物 2) 被験物質の5%エタノール溶液 3) 被験物質を1:1(v/v) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水混合物で5%に溶かしたもの、また、対照群として1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水 1:1(v/v)混合物 2) エタノール 3) Freund's Complete Adjuvant に1:1(v/v)で混合したエタノールと生理食塩水の1:1(w/w)の混合物をそれぞれ、1箇所につき0.1mlずつ皮内注射した。試験7日目には、10%ラウリル硫酸ナトリウムで中程度の炎症反応を起こす為に処置し、8日目に100%の被験物質を染み込ませたフィルターペーパーのパッチ(2×4cm)を皮内注射した部位に貼付した。皮内投与7日目、経皮貼付除去後、24時間及び48時間目、惹起貼付除去後、24時間及び48時間目にそれぞれ観察を行なったが、紅斑及び浮腫はいずれの場合も認められなかった。

貼付に用いられ、刺激を起こさない被験物質の最高濃度は100%であった。モルモットで毒性症状は認められず、死亡例はなかった。本試験条件下で、被験物質にモルモットでアレルギー誘発の可能性は認められなかった。

被験物質：惹起処理後の皮膚反応のまとめ

動物番号	感作期間				惹起処理後の皮膚反応															
					エタノール				100%				30%				10%			
	24時間		48時間		24時間		48時間		24時間		48時間		24時間		48時間		24時間		48時間	
	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe	E	Oe
131	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
132	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
133	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
134	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
135	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
136	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
137	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
139	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
140	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
141	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
142	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
143	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
144	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
145	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
146	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
147	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
148	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
149	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

E:紅斑 Oe:浮腫 0:陰性

報告者		
動物種		白色モルモット (SPF) 予備試験：雄 6 匹、本試験：雄 30 匹
試験方法	被験物質	パルソール SLX
	投与経路	皮内および経皮
	予備試験	皮内：2匹の除毛した側腹部に皮内注射 経皮：被験物質をしみ込ませたフィルターペーパー (2×2cm) を4匹の除毛した側腹部に閉塞貼付。
	本試験	第1回感作処置 (皮内)：試験1日目に除毛した肩部分 (4×6cm) に皮内注射。 第2回感作処置 (経皮)：試験7日目に肩部分に10%ラウリル硫酸ナトリウムで中程度の炎症反応を起すために処理。8日目に被験物質をしみ込ませたフィルターペーパーのパッチ (2×4cm) を皮内注射と同部位に貼付。

<p>投与量</p> <p>予備試験</p> <p>本試験</p>	<p>皮内：0.1 mL/部分。被験物質 5, 3, 1%エタノール溶液。</p> <p>経皮：被験物質をしみ込ませた 4 種類のパッチ</p> <p style="text-align: center;">A 100%, B 30%, C 10%, D 3%のエタノール溶液。</p> <p><u>被験物質感作群</u></p> <p>1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の 1:1(v/v) 混合物</p> <p>2) 被験物質の 5%エタノール溶液</p> <p>3) 被験物質を 1:1(v/v) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水混合物で 5%に溶かす。</p> <p><u>対照群</u></p> <p>1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の 1:1(v/v) 混合物</p> <p>2) エタノール</p> <p>3) Freund's Complete Adjuvant に 1:1(v/v) で混合したエタノールと生理食塩水の 1:1(w/w) の混合物</p> <p>経皮：フィルターペーパーには被験物質 (100%) をしみ込ませた。</p>
<p>用量設定根拠</p>	<p>100%、30%、10%及び 3%で予備試験を行なった結果、惹起処置により皮膚反応は認められなかったことから、本試験においては、5%で感作を行い、惹起試験は 30%、10%及び 5%を設定した。</p> <p>尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD) に基づき実施された。</p>
<p>惹起処置</p>	<p>第 2 回感作処置 (経皮) の 2 週間後</p> <p>フィルターペーパーパッチ (2×2cm) には、刺激性のない被験物質をしみ込ませる。被験物質 100%、30%、10%、および溶媒 (エタノール) のみを、除毛した背部に 24 時間閉塞貼付。</p>

	観察	
	予備試験	皮内：24 時間後に真皮の反応を検査。 経皮：貼付除去後、24、48 時間目に紅斑、浮腫を調べる。
	本試験	皮内：投与 7 日後 経皮：貼付除去後、24、48 時間目に検査。 惹起：貼付除去後、24、48 時間目に検査。
試験成績	主な所見	惹起処置の貼付で、刺激を起こさない被験物質の最高濃度は 100% だった。対照群および被験物質感作群のモルモットで何ら、毒性症状は見られなかった。死亡例はなかった。
	判定	惹起処置後、皮膚反応は認められなかった。本試験条件下で、被験物質によるモルモットでの、アレルギー誘発の可能性は認められなかった。これらの動物のデータにもとづき、この被験物質を、ヒト皮膚に偶然に、あるいは故意に繰り返し接触させたとしても、ヒトでのアレルギー性接触皮膚炎のリスクは、極めて低いと判定された。

ハー 5. 光毒性試験 (添付資料 ハー 5)

5~7 週令の雌 SPF 白色モルモット (未経産、非妊娠) 15 匹を用いて試験を行なった。

被験物質の 100%、75%、50%、及び 25% 溶液 (蒸留水で希釈) を調整し、まず、皮膚の浸透を増加させる為、試験前 30 分に動物の試験部位に 2% DMSO エタノール (0.025mL/2cm²) で処理した。その後、被験溶液を 0.025mL/2cm²、左大腿部の外側に塗布し、2 時間後 UV 照射を行なった。同様に処理した右大腿部には、UV 照射をせず対照とし、対照群の動物には溶媒のみを処理した。

UV 照射条件としては、Philips Actinic "TLD" ランプ (36/08) を用い、エネルギー 10⁴ Ergs/cm²/sec、波長 320~400nm、照射量 20 Joules/cm²-UV-A とし、塗布 2 時間後に 1 回照射した。

被験物質を塗布後、24、48、72 時間目に紅斑、浮腫を観察し、死亡率、生存率及び一般症状を期間中毎日観察し、体重測定は試験開始時と終了時に行なった。

以上の条件下で試験を行なった結果、100%、75%、50% 及び 25% の被験物質を塗布した皮膚部位で、UV 照射と非照射で何ら差異は認められなかった。よって、本試験条件下 (照射量 20 Joules/cm²-UV-A) で、モルモットにおいて被験物質の光毒性は認められなかった。

光 毒 性 反 応 ま と め (被験物質投与群)

動物 番号	塗布後/時間	左脇腹 UV 照射 20 Joules/cm ²			右脇腹 UV 非照射		
		24	48	72	24	48	72
		298	A=100%	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
299	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
300	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0

301	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
302	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
303	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
304	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
305	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
306	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
307	D= 25%	0	0	0	0	0	0
	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0

試験方法	CIFA 安全性試験ガイドライン/GLP 準拠
報告者	
動物種	白色モルモット (SPF) メス 15 匹 (未経産、非妊娠)
被験物質	パルソール S L X
用量及び溶媒	100%, 75%, 50%, 25% 溶液 (蒸留水によって希釈) 皮膚の浸透を増加させるため、動物の試験部位に試験前 30 分、2% DMSO エタノール溶液を処理 (0.025mL/2cm ²)。 被験溶液を 0.025mL/2cm ² 、左大腿部の外側に単回塗布し、2 時間後、UV 照射。 同様に処理した右大腿部には UV 照射せず対照とする。対照群の動物には溶媒のみを処理した。右大腿部は刺激性のない最高濃度を決定するために用いられた。反応性の変動を最小限にするため、各被験溶液を塗布する部位を片寄らないようにした。
用量設定根拠	本試験は、最高濃度にて試験を行なう必要があるため、100%、75%、50% 及び 25% を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD) に基づき実施された。
UV 照射条件	Philips Actinic " TLD " ランプ (36/08) エネルギー : 10 ⁴ Ergs/cm ² /sec 波長 : 320~400 nm 照射線量 : 20 J/cm ² -UV-A 頻度 : 1 回、塗布後 2 時間
観察項目	被験物質を塗布後 24, 48, 72 時間目に紅斑、浮腫の症状を観察。 死亡率・生存率 : 観察期間中毎日 体重 : 試験開始と終了時 一般症状 : 塗布および観察期間中毎日

結論	100%, 75%, 50%, 25%の被験物質を塗布した皮膚部位で、UV照射と非照射で差異は見られなかった。 本試験条件下で、モルモットにおいて、被験物質の光毒性の可能性は認められなかった。
----	---

ハー 6. 光感作性試験 (添付資料 ハー 6)

5~7週令の雌の白色モルモット (未経産、非妊娠) を予備試験に 4 匹、本試験に 30 匹用いた。

予備試験においては、左右脇腹の毛を刈り取った 4 匹の雌に、被験物質投与 30 分前にエタノール中に溶解した 2% DMSO 溶液 (0.025 ml/2 cm²) を塗布し、次いで 100%、75%、50% 及び 25% 濃度で被験物質を蒸留水に溶解したものを塗布し、約 30 分後に左脇腹に 20 Joules/cm² UV-A (320 nm-400 nm) を照射した。照射後、右脇腹にも同様の濃度のものを塗布したが、照射はしなかった。いずれの動物も、照射後 24、48 及び 72 時間目に観察を行い、最高濃度でも皮膚反応は観察されなかったため、最高濃度 100% を光惹起の際の最高濃度とした。

本試験においては、肩甲部を除毛し、6 × 8 cm に除毛した試験個所に光感作処置として、Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水 1:1 (v/v) の乳化物を 0.1 ml 4 箇所皮内注射した。次いで、8 cm² の皮膚部分に 100% の被験物質 0.1 ml を塗布し、1.8 Joules/cm² UV-B (280 nm-320 nm) 及び 10 Joules/cm² UV-A (320 nm-400 nm) を照射した。被験物質の塗布及び UV 照射は、試験 3、5、8、10 日目に繰り返し行なわれた。

別に対照群を設け、1 日目に Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水 1:1 (v/v) を 4 箇所皮内注射を行い、その後の処置は行なわなかった。

感作 3 週間後に、対照群及び投与群の両脇腹の毛を刈り、惹起処置を行なった。投与群においては、100%、75%、50% 及び 25% 濃度で被験物質を 0.025 ml/2 cm² 左脇腹に塗布し、10 Joules/cm² UV-A のみを照射した。UV-A 照射後、右脇腹には、同様の濃度の被験物質を塗布し、照射は行なわなかった。光惹起処置の UV 照射終了後、24、48、72 時間目に投与部位の肉眼観察を行なった。

以上、モルモットを用い光感作性試験 (100% 濃度、照射線量 10 J/cm²-UVA) を実施した結果、惹起後 3 日まで感作群及び対照群に皮膚反応は観察されず、被験物質の光感作性は認められなかった。また、被験物質をヒト皮膚に繰り返し接触させ、紫外線に暴露させたとしても、光アレルギー反応を引き起こす事はないと判定された。

惹起後22日目の光アレルギー反応の結果 (被験物質投与群)

動物 番号	塗布後/時間	左脇腹			右脇腹		
		UV-A 照射 10 Joules/cm ²			UV 非照射		
		24	48	72	24	48	72
1	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
2	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0
3	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0
4	A= 75%	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0
5	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
6	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0

7	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0
8	A= 75%	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0
9	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
10	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0
11	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0
12	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0
13	A= 75%	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0

14	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
15	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0
16	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0
17	A= 75%	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0
18	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
19	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0
20	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0

21	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0
22	A= 75%	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0
23	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0
24	A= 25%	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0
25	A= 50%	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0
26	A= 75%	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0
27	A=100%	0	0	0	0	0	0
	B= 75%	0	0	0	0	0	0
	C= 50%	0	0	0	0	0	0
	D= 25%	0	0	0	0	0	0

28	A= 25%	0	0	0	0	0	0	0	0
	B=100%	0	0	0	0	0	0	0	0
	C= 75%	0	0	0	0	0	0	0	0
	D= 50%	0	0	0	0	0	0	0	0
29	A= 50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	B= 25%	0	0	0	0	0	0	0	0
	C=100%	0	0	0	0	0	0	0	0
	D= 75%	0	0	0	0	0	0	0	0
30	A= 75%	0	0	0	0	0	0	0	0
	B= 50%	0	0	0	0	0	0	0	0
	C= 25%	0	0	0	0	0	0	0	0
	D=100%	0	0	0	0	0	0	0	0

0 : 陰性

試験の種類	CTFA 安全性試験ガイドライン/GLP に準拠
報告者	
動物種	白色モルモット (SPF) 体重：304-382g 本試験：雌 30 匹 (試験群 20 匹、対照群 10 匹) 未経産、非妊娠、閉鎖せずに塗布 予備試験：雌 4 匹、未経産、非妊娠
投与経路	被験物質は閉塞せずに皮膚に塗布。
投与方法	予備試験： 刺激のない最高濃度を決定するため、光毒性試験が動物の大腿部で行われた。 光感作処置： モルモットの肩甲部を除毛。6~8cm ² の試験部位に Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水 (1:1) の乳化物を 4ヶ所に皮内注射。 被験物質を皮膚に塗布、UV 照射。 被験物質の塗布と UV 照射は 3, 5, 8, 10 日に繰り返し行われた。 対照群は 1 日目に 4ヶ所に皮内注射。その後処置なし。 光惹起処置： 被験物質を除毛した两大腿部 (2cm ²) の皮膚に塗布。片側に UV 照射し、もう一方は、非照射。
被験物質	パルソール SLX
用量及び溶媒	皮内注射： Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水 1:1 を、0.1mL
投与濃度	被験物質 100%
用量設定根拠	本試験は、最高濃度にて試験を行なう必要があるため、100%、75%、50%及び 25%を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD) に基づき実施された。
Adjuvant	Freund's Complete Adjuvant

<p>UV 照射条件</p> <p>光感作：</p> <p>光惹起：</p>	<p>投与部位に被験物質を塗布後、UVA および UVB 照射。</p> <p>UVA, 320-400 nm, 10 J/m², Philips Actinic"TL"ランプ (36/08)</p> <p>UVB, 280-320 nm, 1.8 J/m², Philips UV-B-Sunlamp TL 20w/12</p> <p>2週間内に4回照射。対照群にはFCAのみ塗布。</p> <p>UVAのみ照射。</p> <p>感作開始から3週間。後に、光惹起。</p>
<p>光惹起処置 濃度、溶媒、用量</p>	<p>被験物質 100%, 75%, 50%, 25%の濃度で、0.025mL/2cm²の用量で両大腿部に塗布。左側にUVAを照射。</p>
<p>観察</p>	<p>光惹起処置の照射終了後、24、48、72時間目に、投与部位を肉眼観察。</p>
<p>判定</p>	<p>惹起後、3日まで感作群及び対照群に、皮膚反応は観察されなかった。本試験条件下で、被験物質はモルモットにおいて光感作性は認められなかった。</p> <p>被験物質をヒト皮膚に繰り返し接触させ、紫外線に暴露させたとしても、光アレルギー反応を引き起こす事はないと判定された。</p>

ハー 7. 眼刺激性試験 (添付資料 ハー 7)

15週令のニュージーランド白色ウサギ雄1匹、雌2匹を用いて、100%の被験物質を0.1 ml 左眼に単回投与(洗浄せず)し、右眼は未処置対照とした。点眼後、1、24、48、72時間後に角膜混濁、虹彩の変化、結膜の発赤、結膜浮腫の採点を行なった。

試験期間中、一般症状、体重変化において特に異常は認められなかった。

また、点眼後各動物にわずかな発赤や腫脹が認められたが、いずれも可逆性のものであり、被験物質は、本試験条件下において、ウサギの眼に刺激性はないと判定された。

尚、眼刺激の判定には、以下の EEC Commission Directive 93/21/EEC (April 27, 1993) の評価基準により評価、判定した。

角膜刺激 Corneal Irritation	虹彩刺激 Iridic Irritation
潰瘍又は混濁なし No ulceration or opacity-----0	正常 Normal-----0
混濁部分が散在、虹彩の細部が明白 Scattered or diffuse areas of opacity (other than slight dulling of normal luster), details of iris clearly visible-----1	著しく深い褶、鬱血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、又は、充血、又は、これらの組み合わせ、光への反応低下 Markedly deepened rugae, congestion, swelling, moderate circumcorneal hyperemia, or injection, any of these or combination thereof, iris still reacting to light (sluggish reaction is positive)-----1
透過性領域を容易に識別できるが、虹彩の細部識別が若干困難 Easily discernible translucent area, details of iris slightly obscured-----2	光への反応なし、出血、肉眼的崩壊 No reaction to light, hemorrhage, gross destruction (any or all of these)-----2
白濁し、虹彩の識別困難、瞳孔径がやっと判別できる。 Macrous area, no details of iris visible, size of pupil barely discernible-----3	—
強度白濁、虹彩が混濁の為識別できない Opaque cornea, iris not discernible through the opacity-----4	—

点眼後の各動物の所見

動物番号	観察項目	1 時間後	24 時間後	48 時間後	72 時間後
43 (雄)	角膜	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	虹彩	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	結膜	わずかな発赤	わずかな発赤	異常所見なし	異常所見なし
	流涙	中等度	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	鞏膜	血管充血	血管充血	異常所見なし	異常所見なし
	被験物質	残遺物なし	残遺物なし	残遺物なし	残遺物なし
44 (雌)	角膜	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	虹彩	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	結膜	わずかな発赤 わずかな腫脹	わずかな発赤 血管充血	異常所見なし	異常所見なし
	流涙	中等度	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	鞏膜	血管充血	血管充血	異常所見なし	異常所見なし
	被験物質	残遺物なし	残遺物なし	残遺物なし	残遺物なし
45 (雌)	角膜	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	虹彩	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	結膜	わずかな発赤 わずかな腫脹	わずかな発赤 わずかな腫脹	わずかな発赤	異常所見なし
	流涙	中等度	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし
	鞏膜	血管充血	血管充血	異常所見なし	異常所見なし
	被験物質	残遺物なし	残遺物なし	残遺物なし	残遺物なし

報 告 者		
試 験 方 法	動物種	ニュージーランド 白色ウサギ 雄1匹、雌2匹
	被験物質	パルソール SLX
	投与経路	左眼にのみ点眼、右眼は未処置対照
	投与量	0.1 ML (100%) 洗浄はしない
	投与期間	単回
	用量設定根拠	被験物質の液体であるという性質上、点眼可能最大液量を選択した。尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, US) に基づき実施された。
	観 察	判定時間
観察項目		角膜混濁、虹彩の変化、結膜の発赤、結膜浮腫のスコア
試 験 成 績	主な所見	点眼後、眼の角膜、強膜、結膜に充血は見られなかった。
	24-72 時間後の スコア平均値	角膜混濁 0.00 虹彩の変化 0.00 結膜の発赤 0.33-0.67 結膜浮腫 0.00-0.33
	回復	点眼 72 時間後には、すべて回復。
	判定	被験物質に、眼粘膜刺激性はないと判定された。

ハ-8. 遺伝毒性試験 (細菌を用いる復帰突然変異試験) (添付資料 ハ-8-1)

ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA97、TA98、TA100、TA102 の 6 株及び大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA* を用い、プレート法では、プレートあたり 46~4553 μg の濃度範囲で、プレインキュベーション法では、プレートあたり 50~5000 μg の濃度範囲で試験を行なった。また、陽性対照として、アジ化ナトリウム (濃度 1.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$, TA1535, TA100)、ICR 191 (濃度 1.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$, TA1537, TA97)、2-ニトロフルオレン (濃度 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$, TA98)、マイトマイシン C (濃度 0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$, TA102)、2-アミノアントラセン (濃度 4.0 $\mu\text{g}/\text{plate}$, 全株) を用いて試験を行なった。

その結果、陰性対照の 1.5~2 倍の復帰変異数を示し、かつ、用量相関性が認められた場合を陽性として判定を行なったが、S9 mix 添加、無添加のいずれの条件下においても TA1535、TA1537、TA97、TA98、TA100、TA102 及び WP *uvrA* のいずれにおいてもこのような結果は認められず、陰性と判定した。陽性対照に用いた既知変異原についてはいずれも陽性で、S9 mix 活性と試験菌の反応性が確認された。なお、被験物質の調製量が充分でなく試験系に加える量を若干減らしたため、プレート法の最高用量が 4553 μg (10%弱減) となった。しかし、本試験で、被験物質の変異原は認められなかったという結果に影響するものではないと考える。

以下に、プレート法及びプレインキュベーション法の結果と、陽性対照のまとめを表に示した。

プレート法：平均値±S. D.

種	TA97		TA98		TA100		TA102		TA1535		TA1537		WP2uvrA		
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	
μg/プレート															
陰性対照	166±15	241±14	24±3	32±4	88±8	73±4	372±16	380±23	14±3	13±5	6±3	8±2	21±5	21±6	
46	171±18	257±6	25±2	28±3	89±8	81±9	389±6	366±31	12±2	12±3	4±1	6±3	20±9	19±3	
152	165±13	246±16	26±5	30±3	84±12	85±5	370±20	380±31	15±3	11±3	5±1	6±4	21±4	20±4	
455	179±8	266±17	25±4	28±6	86±6	93±5	386±36	378±21	14±3	10±3	7±2	7±3	20±3	19±3	
1518	184±13	265±14	32±9	37±5	85±2	95±12	389±13	406±36	13±3	12±6	7±3	5±1	17±4	23±10	
4553	178±15a	273±20a	26±4 a	31±1 a	79±6 a	87±15 a	376±11a	385±17a	14±3 a	11±3 a	5±2 a	4±2 a	21±4 a	17±3 a	
陽 性 対 照	アジ化ナトリウム 1 μg/プレート						539±11				1085±44				
	2-ニトロフルオレン 0.5 μg/プレート				180±2										
	ICR 191 1 μg/プレート		460±20									109±8			
	2-アミノアントラセン 4 μg/プレート		166±6	4570 ±75	44±6	4423 ±88	95±27	3761 ±115	322±10	2369±76	11±6	249±21	12±0	255±11	26±2 318±1
	マイトマイシン C 0.4 μg/プレート								1346±90						
	4-ニトロキノリン-N- オキシド 1 μg/プレート														204±27

a:precipitation of the test compound without influence on DOMINO

プレインキュベーション法：平均値±S.D.

種	TA97		TA98		TA100		TA102		TA1535		TA1537		WP2uvrA			
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9		
μg/プレート																
陰性対照	178±3b	200±6	19±5	25±3	66±5	62±6	293±14	295±33	12±3	18±7	6±1 b	4±3 b	31±7	31±5		
50	193±16	226±24	23±3	25±5	63±7	66±7	286±17	299±16	10±4	18±5	7±3	10±2	32±4	33±8		
166	185±12	220±12	24±6	22±4	66±10	65±5	359±5	317±18	13±3	12±3	7±4	9±3	35±4	34±2		
500	186±9	224±9	17±5	32±5	63±3	68±11	366±14	289±12	15±3	14±5	7±3	9±2	30±7 b	35±4		
1666	190±7	221±8	23±7	29±4	66±10	60±4	345±21	308±21	12±3	14±4	11±2	8±2	37±8	30±4		
5000	186±13a	214±10a	21±3 a	22±3 a	61±10 a	69±6 a	325±20a	288±21a	14±6 a	16±4 a	9±1 a	5±1 a	38±5 a	32±10a		
陽 性 対 照	アジ化ナトリウム 1 μg/プレート						455±15						1059±73			
	2-ニトロフルオレン 0.5 μg/プレート				184±1											
	ICR 191 1 μg/プレート		4184± 474										969±62			
	2-アミノアントラセン 4 μg/プレート		190±8	3645±28	36±4	3540 ±402	69±8	2885±40	365±4	2159 ±292	14±0	302±11	13±12	302±28	36±4	210±6
	マイトマイシン C 0.4 μg/プレート									1318±65						
	4-ニトロキノリン-N- オキシド 1 μg/プレート														2074±35	

a:precipitation of test compound making evaluation of background growth impossible b:contaminated plate

報 告 者	
試験方法	AMES TEST プレート法及びプレインキュベート法 OECD ガイドライン/GLP 準拠
菌株	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA1535, TA1537, TA97, TA98, TA100, TA102) <i>Escherichia coli</i> (WP2 uvrA)
代謝活性化	S9 mix (フェノバルビタール/6-ナフトフラボンで誘導したラットの肝臓ホモジネート)
被験物質	パルゾール SLX
用量及び溶媒	プレート法 : 46-4553 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で 5 段階の用量。 プレインキュベート法 : 50-5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で 5 段階の用量 エタノール
用量設定根拠	一般的に無毒性の物質の最高用量は、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とされているため、46-5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。
陽性対照	既知変異原物質 アジ化ナトリウム : TA 1535, TA100 ICR 191 : TA1537, TA97 2-ニトロフルオレン : TA98 MMC : TA102 4-NQO : <i>Escherichia coli</i> (WP2 uvrA) 2-アミノアントラセン : S9 mix の活性を試験するために代謝活性化した場合としない場合で、全株に用いられた。
陰性対照	被験物質を 4 つの同型プレート、陰性対照、あるいは 2 つの陽性対照の同型プレートを 37°C で 2 日間インキュベーション。

判定・評価	<p>最高用量まで上げても、細胞毒性は観察されなかった。プレート法及びプレインキュベート法において、復帰コロニー数の増加は認められなかった。</p> <p>S 9 mix 添加、無添加のいずれの条件下においても、被験物質の変異原性は認められなかった。</p>
-------	---

ハ-8. 遺伝毒性試験 (哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験) (添付資料 ハ-8-2)

染色体異常誘発性の有無を検討するため、試験細胞株としてチャイニーズ・ハムスターの肺由来のV79継代培養細胞を用い、短時間処理法の各試験系でそれぞれ、50~5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計3用量を設定し、試験を行なった。

すなわち、短時間処理法-S9処理、同+S9処理および連続処理法24時間処理で50~5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のそれぞれ3用量について顕微鏡観察を実施した。その結果、短時間処理法並びに連続処理法とも被験物質処理による染色体異常の明確な誘発は認められなかった。

一方、溶媒対照、陽性対照での結果からも、本試験が有効であることが示されたことから、本試験条件下において、代謝活性化の有無に関わらず、被験物質は、V79チャイニーズハムスター細胞で染色体構造異常誘発性も異数体誘発性も認められなかった。

-S9mix

被験物質	濃度 $\mu\text{g}/\text{ml}$	MI %	S-cells %	U-cells %	P-cells %
3時間処理 処理後18時間					
陰性対照	0	8.8	6.0	2.0	0.5
Ro 84-5690/001	800	12.3	6.0 n. s.	2.0	1.9
Ro 84-5690/001	2000	9.8	5.0 n. s.	3.0	1.4
Ro 84-5690/001	5000	9.4	4.0 n. s.	2.0	1.0
陽性対照					
ブレオマイシン	2	9.1	38.0 **	0.0	
15.5時間処理、処理後2.5時間					
陰性対照	0	9.0	4.0	0.5	2.3
Ro 84-5690/001	800	6.1	3.0 n. s.	1.5	0.0
Ro 84-5690/001	2000	6.2	2.0 n. s.	1.0	0.9
Ro 84-5690/001	5000	8.1	7.0 n. s.	0.5	0.0
26.5時間処理 処理後2.5時間					
陰性対照	0	5.2	5.5	3.5	1.6
Ro 84-5690/001	50	7.1	6.0 n. s.	4.0	0.6
Ro 84-5690/001	500	8.4	7.0 n. s.	2.6	1.3
Ro 84-5690/001	5000	5.3	7.0 n. s.	3.9	2.2

陽性対照				
ブレオマイシン	1	2.6	36.0 **	2.0

n. s. : Not significant ** : $p \leq 0.01$

MI:mitocis, S-cells:structural chromosomal aberrations excluding gaps,

U-cells:gaps only, P-cells:numerical chromosome changes

+S9mix

被験物質	濃度 $\mu\text{g/ml}$	MI %	S-cells %	U-cells %	P-cells %
3時間処理 処理後 18時間					
陰性対照	0	8.4	3.0	2.0	2.9
Ro 84-5690/001	800	7.4	4.5 n. s.	0.5	1.0
Ro 84-5690/001	2000	9.7	2.0 n. s.	1.0	1.9
Ro 84-5690/001	5000	8.5	3.0 n. s.	2.0	0.9
陽性対照					
シクロホスファミド	0.5	6.4	36.0 **	0.0	
5時間処理 処理後 23時間					
陰性対照	0	5.7	8.5	2.5	0.5
Ro 84-5690/001	50	5.8	7.5 n. s.	1.5	1.8
Ro 84-5690/001	500	4.9	7.0 n. s.	5.0	0.0
Ro 84-5690/001	5000	7.7	7.0 n. s.	2.5	2.7
陽性対照					
シクロホスファミド	0.2	3.9	46.0 **	4.0	

n. s. : Not significant

MI:mitocis, S-cells:structural chromosomal aberrations excluding gaps,

U-cells:gaps only, P-cells:numerical chromosome changes

報告者	
試験方法	OECD ガイドライン / GLP 準拠
細胞	チャイニーズハムスターの肺からバイオプシーをして得られた V79 継代培養細胞
代謝活性化	S9 mix (ラット肝臓ホモジネート)
被験物質	パルソール SLX
用量及び溶媒	50-5000 $\mu\text{g/mL}$ 、3 段階の用量 代謝活性化無で、連続処理 (16-27 時間) あるいは短時間処理 (3 時間) 後、試験された。 5-3 時間の短時間処理後、S9 mix 添加による代謝活性化条件で試験された。最高濃度で、細胞毒性は観察されなかった。 500-5000 $\mu\text{g/mL}$ の濃度の最終処理培地に被験物質の均一な懸濁液 (2000 $\mu\text{g/mL}$ まで)、あるいは、油滴混液 (5000 $\mu\text{g/mL}$ の時) を加えた。 培地 5mL に、各濃度の被験物質を 50 μL 、S9 mix を 0.5mL 加えて用いた。
用量設定根拠	細胞毒性を調べるには、最高濃度にて実施しなければならないため、50-5000 $\mu\text{g/mL}$ の 3 段階を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。
陽性対照	試験系の感受性と代謝活性化の活性は、突然変異誘導物ブレオマイシンと突然変異促進物質シクロホスファアミドを陽性対照として確認した。
陰性対照	溶媒 (エタノール) 50 μL
結果	染色体異常をもつ細胞の出現頻度は、どの濃度でもどの時点でも統計的に有意な増加はみられず、被験物質への曝露により、数的にあるいは非特異的に染色体異常をもつ細胞の出現頻度は増加しなかった。

評価	<p>in vitro の試験条件下において、被験物質の 50-5000 $\mu\text{g/mL}$ の用量で、チャイニーズハムスターV79 細胞では、代謝活性化の有無に関わらず、染色体異常を誘発しなかった。</p> <p>被験物質自体も、ラット肝臓 S9 mix により生成された代謝物も、染色体異常誘発性あるいは異数体誘発性はないと判断された。</p>
----	--

ハ-8. 遺伝毒性試験 (マウスリンフォーマTK試験) (添付資料 ハ-8-3)

被験物質の変異原性を調べる為に、L5178Y TK +/- マウスリンフォーマ細胞を用い、トリフルオロチミジン (TFT) 耐性を指標とする突然変異試験を実施した。

突然変異試験における被験物質の処理濃度を求めるために細胞毒性試験を行った結果、すべての系列で細胞毒性は認めなかったことから、初回目は11.72~1500 $\mu\text{g/mL}$ (最高溶解量) の範囲で8濃度、確認試験では46.88~1500 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で6濃度を設定して試験を行なった。その結果、すべての処理系列において、突然変異の有意な上昇は認められず、また、濃度依存性も認められなかった。

以上の結果より、被験物質は本実験条件下においてL5178Y細胞で突然変異を誘発しないと結論した。

細胞毒性試験

Treatment ($\mu\text{g/mL}$)	-S9					+S9				
	Day0 cells $\times 10$	Survival (Day 0)	%EC (Day0)	%S	%RS	Day0 cells $\times 10$	Survival (Day 0)	%EC (Day0)	%S	%RS
0	5.95	68	77.01	77.01	100.00	5.54	69	79.28	79.28	100.00
未処理	6.03	70	81.64	82.74	107.44	5.45	68	77.01	75.76	95.56
11.72	5.87	69	79.28	78.22	101.57	5.41	64	68.66	67.05	84.57
23.44	5.52	78	104.62	97.06	126.04	5.33	75	94.99	91.39	115.27
46.88	5.59	64	68.66	64.51	83.77	5.64	72	86.64	88.21	111.26
93.75	5.52	55	53.17	49.33	64.06	5.24	66	72.70	68.76	86.73
187.5	5.84	62	64.87	63.67	82.68	5.45	61	63.06	62.04	78.25
375	5.73	72	86.64	3.44	108.35	5.04	60	61.30	55.77	70.34
750	5.71	63	66.74	64.05	83.17	6.24	54	51.67	58.20	73.40
1500	6.25	58	57.92	60.84	79.01	5.83	64	68.66	72.26	91.14

初回試験

Treatment (μ g/mL)	-S9			Treatment (μ g/mL)	+S9		
	%RS	RTG	MF#		%RS	RTG	MF#
0	100.00	1.00	109.43		100.00	1.00	130.67
未処理	92.22 !	1.36	128.78 NS	未処理	98.31	1.20	105.66 NS
11.72 \$	112.89			11.72 \$	76.77		
23.44 \$	84.36			23.44 \$	95.97		
46.88 \$	107.96			46.88 \$	102.67		
93.75	100.48	1.15	106.36 NS	93.75	90.76	0.96	101.22 NS
187.5	100.30	1.09	157.78 NS	187.5	94.87	0.96	111.77 NS
375	106.87	0.97	116.35 NS	375	82.21	1.03	88.11 NS
750	94.53	0.97	128.01 NS	750	92.32	1.00	87.41 NS
1500	100.31	1.22	77.57 NS	1500	91.44	0.98	101.02 NS
Linear trend NS				Linear trend NS			
NQO				BP			
0.05	77.36	1.91	344.91	2	49.04	0.33	1339.34
0.1	82.57	0.83	561.02	3	16.34	0.14	1296.50

確認試験

Treatment (μ g/mL)	-S9			Treatment (μ g/mL)	+S9		
	%RS	RTG	MF#		%RS	RTG	MF#
0	100.00	1.00	86.90	0	100.00	1.00	134.75
未処理	115.00	1.07	107.34 NS	未処理	100.97	1.18	109.31 NS
46.88	103.20	0.95	120.10 NS	46.88	92.28	1.07	103.16 NS
93.75	87.08	1.07	92.95 NS	93.75	105.26	1.36	76.41 NS
187.5	100.13	1.23	86.80 NS	187.5	82.57	1.17	83.47 NS
375	112.37	1.11	103.65 NS	375	91.80	1.06	86.35 NS
750	88.24	0.97	93.92 NS	750	53.51	0.78	77.71 NS
1500	128.85	1.09	86.41 NS	1500	72.07	0.91	91.64 NS
Linear trend NS				Linear trend NS			

NQO				BP			
0.05	99.18	0.99	426.72	2	57.70	0.54	976.16
0.1	79.72	0.88	632.97	3	72.79	0.66	1044.69

#: %TFT resistant mutants/10⁶ viable cells 2 days after treatment

%RS: Percent relative survival adjusted by post treatment cell count

\$: Not plated for viability / 5-TFT resistance

!: Based on one replicate only

NS: Not significant

試験の種類	ML/TK 試験
報告者	
細胞	マウス リンパ腫 L5178Y TK +/-細胞 液体窒素で凍結保存。オリジナルの培地はアメリカンタイプカルチャーコレクションから得られた。
代謝活性化	S-9 mix : Aroclor 1254 で誘導したラット肝臓ホモジネート S9 は、Molecular Toxicology 社 (USA) から得た。 MolTox™ S-9 は、使用まで-80℃で凍結保存。
被験物質	パルソール SLX
用量及び溶媒	黄色光下で、必要な濃度にエタノールに溶解。希釈もエタノールで行う。被験物質溶液は光から保護し、調整後 1.25 時間内に用いる。 被験物質の沈殿は 184.5 µg/mL で始まったが、処理後細胞の洗浄により除去された。細胞は全用量で、代謝活性化の有無に関わらず、生存した。
用量設定根拠	初回試験： 11.72-1500 µg/mL の 8 段階の用量 確認試験： 46.88-1500 µg/mL の 6 段階の用量 被験物質の溶解性を試験したところ、1500 µg/mL が培地への最高溶解量の限界であったため、最高用量に 1500 µg/mL を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。
陽性対照	4-ニトロキノリン-1-オキサイド (NQO) : 突然変異誘導物質 ベンツ[a]ピレン (BP) : 突然変異誘導促進物質
陰性対照	溶媒 (エタノール) 陰性対照の培地で突然変異の発生率は正常範囲になり、4-ニトロキノリン-1-オキサイド (S9 mix 非存在) とベンツ[a]ピレン (S9 mix 存在) の陽性対照により、突然変異の明らかな増加が誘発されたため、本試験は有効とされた。

結果	<p>細胞毒性の影響は初回試験で、明らかではなかった。このため、わずかに修正した濃度範囲（最高濃度は同じ）で実験を繰り返した（確認試験）。S9 mixの有無で差異はなかった。どちらの試験も処理時間は3時間。</p> <p>いずれの用量でも、S9 mixの有無にかかわらず、初回試験及び確認試験で、被験物質の処理による突然変異発生の増加は、統計学的に有意ではなかった。</p>
判定	<p>組織培養培地の溶解限度を超えた試験で、S9 mixの存在下及び非存在下で、L5178Yマウスリンパ腫細胞のtk locusで、被験物質は突然変異を誘発しなかった。</p> <p>被験物質自体もその代謝物も本試験条件下で、遺伝子変異原性はないと判断された。</p>

ハ-8. 遺伝毒性試験 (光変異原性試験) (添付資料 ハ-8-4)

被験物質の光変異原性を調べる為に、*Saccharomyces cerevisiae* D7 (二倍体酵母株) を用い、試験を行なった。被験物質をエタノールに溶解し、最高溶解濃度が 1000 μ g/mL であったため、10~1000 μ g/mL を設定し、波長 290~800nm の高速照射機を用い、150mJ/cm² までの UVB を照射した。

その結果、本試験条件下で、被験物質の光変異原性は認められなかった。Convertants の発生頻度を以下の Table に示したが、防御効果が認められ、UV 照射により誘発された Convertants の発生頻度上昇は、紫外線吸収剤である被験物質が培地にあるときは減少した。

Saccharomyces cerevisiae D7 (二倍体酵母株) において、紫外線により誘発される損傷の可能性は認められず、むしろ、紫外線吸収剤である被験物質の防御効果が明らかであることが示された。

光変異原性試験結果まとめ

UVA/UVB (mJ/cm ²)	0/0	0/0	250/5	250/5	3'800/75	3'800/75	7'600/150	7'600/150
Conc. μ g/ml	% surv.	Conv.	% surv.	Conv.	% surv.	Conv.	% surv.	Conv.
実験 1								
0(a)	100.00	5.00	100.00	6.33	100.00	11.53	100.01	17.00
10	97.63	5.59			101.69	11.86	107.09	17.56
33	95.01	5.21			104.00	11.76	92.77	17.70
100	93.75	5.93			91.66	12.17	100.08	15.40
333	91.07	4.88			119.07	8.72	123.36	14.31
1000	100.06	5.66			106.09	8.14	114.03	12.24
0(b)	93.85	5.71	104.69	6.05	79.84	12.49	106.87	16.99
Chlorpro.								
30	80.52	6.96	61.96	78.54				
50	61.49	4.77	15.64	318.16				
実験 2								
0(a)	100.00	8.85	100.00	7.16	100.00	14.05	100.00	21.27
10	104.48	7.35			101.34	13.52	123.94	31.47
33	96.65	7.83			84.13	15.03	109.62	26.42
100	89.19	8.73			92.63	12.51	94.45	20.14

333	89.19	8.43			92.49	12.46	132.06	17.72
1000	90.63	10.35			129.08	8.55	205.45	12.17
0(b)	89.56	7.80	95.48	7.85	114.40	14.31	122.12	28.35
Chlorpro.								
30	70.92	8.19	75.97	38.19				
50	44.97	7.71	26.14	nd				

surv.:Survival Conv.:Convertant Conc.:Concentration Chlorpro.:Chlorpromazine

0(a):Ethanol control 0(b):Phosphat buffer control

nd:not determined

報告者	
使用した株	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7 (二倍体酵母株)
被験物質	パルソールS L X
濃度、溶媒、用量	10-1000 μ g/mL エタノール溶液 イースト細胞が組織培養集団でUV照射された。 インキュベーション試料は、以下のように調製された。 990 μ L D7 溶液 (リン酸カリウム緩衝液 0.1M, pH7.0) と、 10 μ L 被験物質、溶媒あるいはプラセボ。
用量設定根拠	被験物質の最高溶解濃度が 1000 μ g/mL であったため、10-1000 μ g/mL を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。
陽性対照	Chlorpromazine DMSO に溶かし、UV 照射の有無で、30、50 μ g/mL で試験。
陰性対照	被験物質無しの培地。同様に同量の UV 照射。

<p>UV 照射条件</p> <p>UVA /UVB 用量 :</p>	<p>SUNTEST CPS 高速照射機 (HERSEUS)、波長は、290-800nm</p> <p>UVA/UVB 用量 : 0、3800/75、7600/150 mJ/cm²</p> <p>(照射時間 : 2 時間 58 分 34 秒、</p> <p>UVB 0.143mW/cm²、UVA 1.03mW/cm²)</p> <p>Chlorpromazine : 0、250/5mJ/cm²</p> <p>細胞は攪拌下で、照射された。</p>
<p>結果</p>	<p>被験物質の光変異原性の影響は観察されなかった。</p> <p>Convertants の発生頻度は増加しなかった。防御効果が認められた。UV 照射により誘発された convertants の発生頻度上昇は、紫外線吸収剤である被験物質が培地にあるときには減少した。</p> <p>感光剤 Chlorpromazine を陽性対照として使用したとき、強い反応が見られ、被験物質の光変異原性の有無の検出における本試験系の妥当性が確認された。</p>
<p>結論</p>	<p>紫外線吸収剤である被験物質には、光変異原性がないとされた。Saccharomyces cerevisiae D7 で、紫外線により誘発される損傷の可能性は認められず、むしろ、本試験条件下で、防御効果が明らかなことが証明された。</p>

ハ-8. 遺伝毒性試験 (光遺伝毒性試験) (添付資料 ハ-8-5)

被験物質の染色体異常を調べる為に、被験物質濃度 500~5000 $\mu\text{g/mL}$ 、擬似太陽光照射 UVA/UVB 線量 100/2.0~500/6.3 mJ/cm^2 を V79 チャイニーズハムスター培養細胞に照射した。

その結果を以下の Table 1, 2 に示した。

擬似太陽光照射 (UVA/UVB 線量 100/2.0~500/6.3 mJ/cm^2) に曝露した V79 チャイニーズハムスター培養細胞において、被験物質の光分解による光遺伝毒性は認められなかった。

光遺伝毒性試験結果まとめ

Test article	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	UVA/UVB mJ/cm^2	MI %	S-cells %	U-cells %	P-cells %
Treatment 2hrs in absence of irradiation						
Negative controls	0	0/0.0	9.9	0.0	0.0	6.7
Positive control						
Chlorpromazine	9	0/0.0	16.3	4.0 n.s.	2.0	
Treatment 2hrs in presence of irradiation						
Negative controls	0	100/2.0	12.6	3.0	1.0	1.5
Ro 84-5690/001	500	100/2.0	8.4	5.0 n.s.	2.0	5.6
Ro 84-5690/001	1500	100/2.0	11.2	5.0 n.s.	1.0	10.7
Ro 84-5690/001	5000	100/2.0	11.8	3.5 n.s.	0.5	7.1
Positive control						
Chlorpromazine	9	100/2.0	9.3	14.0 **	4.0	
reatment 2hrs in presence of irradiation						
Negative controls	0	200/4.0	11.9	13.0	4.0	2.2
Ro 84-5690/001	500	200/4.0	10.7	1.5 ##	3.5	1.8
Ro 84-5690/001	1500	200/4.0	9.7	5.0 ##	1.0	2.4
Ro 84-5690/001	5000	200/4.0	11.1	5.0 ##	2.0	6.0

n.s. : no significance ** or ## : $p \leq 0.01$ (increasing or decreasing trend)

MI : cells in mitosis S-cells : cells with structural chromosomal aberrations excluding gaps
U-cells : cells with gaps only P-cells : cells with numerical chromosome changes

光遺伝毒性試験結果まとめ

Test article	Concentration (μ g/mL)	UVA/UVB mJ/cm ²	MI %	S-cells %	U-cells %	P-cells %
Treatment 3hrs in presence of irradiation						
Negative controls	0	0/0.0	8.8	6.0	2.0	0.5
Ro 84-5690/001	800	0/0.0	12.3	6.0 n.s.	2.0	1.9
Ro 84-5690/001	2000	0/0.0	9.8	5.0 n.s.	3.0	1.4
Ro 84-5690/001	5000	0/0.0	9.4	4.0 n.s.	2.0	1.0
Positive control						
Chlorpromazine	6	0/0.0	15.7	2.0 n.s.	0.0	
Treatment 3hrs in presence of irradiation						
Negative controls	0	500/6.3	8.6	5.5	6.5	2.1
Ro 84-5690/001	800	500/6.3	5.9	6.0 n.s.	4.0	2.3
Ro 84-5690/001	2000	500/6.3	9.0	6.5 n.s.	1.5	4.1
Ro 84-5690/001	5000	500/6.3	8.2	6.5 n.s.	5.5	4.1
Positive control						
Chlorpromazine	6	500/6.3	1.7	48.0 **	8.0	

n. s. : no significance

** : $p \leq 0.01$

試験の種類	染色体異常試験を基にした方法。V79 ハムスター培養細胞を被験物質にさらし、疑似太陽光に当てた。
報告者	■■■■■
細胞	V79 継代培養細胞 チャイニーズハムスターの肺からバイオプシーによって得られた。
被験物質	パルゾール S L X
用量及び溶媒	被験物質はエタノールに溶かす。処理期間中、エタノールの最終濃度は1%。 被験物質の濃度は500-5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 用量は、各濃度とも50 μL 。 有糸分裂の指標の低下によって測定される細胞毒性は、観察されなかった。
用量設定根拠	別に実施した哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の結果、5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で染色体異常を誘発しなかったため、500-5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。
陽性対照	Chlorpromazine
陰性対照	溶媒 (エタノール)
照射条件	37°C、30分プレインキュベーション後、1組の培養細胞を SUNTEST CPS 加速照射機 (HERAEUS) で UV 照射。放射波長は290~800nm。他の1組は暗所に保存 (照射なしの対照)。UVA/B 線量は、100/2.0-500/6.3 mJ/cm^2 。総照射時間は、プレインキュベーションを含んで1.5時間 (実験 136M95/1) と3時間 (実験 136M95/3) とし、照射後、培養細胞は暗所に保存した。

結果	<p>被験物質への疑似太陽光の照射による、染色体構造異常をもつ細胞の出現頻度の増加は認められなかった。</p> <p>光分解の UV 線量で、出現は明らかに低下し、UVB フィルターとして期待される被験物質の防御効果が認められた。</p> <p>試験系の妥当性は、陽性対照の Chlorpromazine により、照射後、構造上、染色体に突然変異のある細胞の発生率が増加したことにより確認された。</p> <p>本試験条件下で、UVB 吸収剤である被験物質による光遺伝毒性は認められなかった。</p>
----	--

ハー9. ヒトパッチ試験 (ヒト皮膚感作性試験 (PIPT)) (添付資料 ハー9-1)

103人の被験者で、10% 被験物質の流動パラフィンBP溶液を貼付したところ、皮膚刺激性、接触感作性は認められなかった。

尚、皮膚反応の判定には、以下の評価基準により評価、判定した。

皮膚反応評価基準		
明確な反応なし	No visible relevant reaction	0
軽度ではあるが明確な紅班	Slight but distinct erythema	1
中等度の紅班	Moderate erythema	2
重度の紅班	Strong erythema	3

報告者	
被験者	成人 103名 (18歳から65歳)、男性 20名、女性 83名 92名が試験を完了した。
投与経路及び方法	2×2cm のパッチ貼付。
被験物質	パルソールSLX
投与濃度及び用量	被験物質 10% w/w 流動パラフィンBP溶液。 0.4mL を投与 パッチは 24 時間閉塞貼付。 第1週目：月、金曜 第2週目：火、水、金曜 第3週目：月、水、金曜 合計 8 つのパッチは皮膚の同じ部分に貼付。
用量設定根拠	化粧品に通常使用される量として、最大 10.0% W/W を設定したため。 尚、本試験は GCP (EEC, OECD) のための国際的な指針に基づき実施された。
溶媒	流動パラフィンBP
惹起処置	最終貼付終了 2 週間後。 貼付は、両腕に 24 時間閉塞貼付。
観察	3, 9, 10, 12, 15, 17, 19, 22 日目に、熟練者によって肉眼観察。

判定・評価	特異的皮膚反応は認められなかった。 本試験条件下で、被験物質に皮膚刺激、接触感作性は認められなかった。
-------	--

ハ-9. ヒトパッチ試験 (ヒト光感作性試験) (添付資料 ハ-9-2)

被験物質 10%濃度の光感作性を、疑似太陽光を用いて 30 名の被験者で試験した。10%の被験物質に、皮膚刺激性は認められず、また、被験物質の光感作性は認められなかった。

尚、皮膚反応の判定には、以下の評価基準により評価、判定した。

皮膚反応評価基準		
反応なし	No reaction	0
軽度の反応	Slight reaction	1
明確な反応	Well defined reaction	2
中等度の反応	Moderate reaction	3
重度の反応	Severe reaction	4

報告者	
試験対象	成人 30 名 (26 歳~65 歳)、男性 7 名、女性 23 名
投与経路及び方法	経皮。24 時間閉塞貼付 (3 × 3 cm パッチ)。
感作投与部位及び投与回数	上背部 (9 cm ² × 2 ヶ所、1 ヶ所は対照)。 1, 4, 8, 11, 15, 18 日の計 6 回貼付。
被験物質	パルソール SLX
投与用量及び溶媒	10 %溶液。10 mg/cm ² で貼付。 Cyclomethicone と Dimethicone Copolyol を混合したものを溶媒とした。
用量設定の根拠	化粧品に通常使用される量として、最大 10.0% W/W を設定したため。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。

照射条件	<p>UV : 1000W Xenon arc ランプ 疑似太陽光 (Oriental Corporation, Stamford, Connecticut)</p> <p>感作期間中、UVA+UVB (290~400nm) のスペクトルの出力は太陽光のスペクトルに近づけ、290nm 以下のスペクトルの出力は、総出力の 1% に抑えた。</p> <p>皮膚から 10cm 離して照射。被験物質を 24 時間貼付後、パッチを除去。試験部位の 1cm² の部分は UVB+A を照射した。総ランプ出力の 1×MED を、最初の 2 日 UV 照射した。その後 2 日、2×MED、最後の 2 日は 3×MED の照射した。UV 照射曝露は 2、5、9、12、16、19 日目に行なう。対照部分は覆い隠す。</p>
感作と惹起処置の間隔	最後の感作後 10 日。
惹起処置の投与経路及び用量	<p>被験物質は 2×2cm、2ヶ所（ひとつは対照）に閉塞貼付。さらに、貼付していない部分を照射の対照とした。パッチは 24 時間後に除去し、照射を行なった。対照は覆い隠した。</p>
観察	<p>感作処置：投与及び対照部位を、被験物質の再度貼付の前に 4、8、11、15、18 日目に観察。</p> <p>惹起処置：投与及び対照部位を照射後、24、48、72 時間目に観察。</p>
判定・評価	<p>感作から惹起までの間、被験物質の投与部位では、皮膚反応は認められず、本試験条件下で、被験物質である PARSOL SLX10% 溶液に刺激性はないと判定された。</p> <p>惹起処置後、被験物質+UV 試験部位では、皮膚反応が観察されたが、一方、UV 対照部位では、さらに重篤な皮膚反応が観察された (30 名中 9 名)。感作及び惹起処置で、UV 対照部位で観察された反応は、被験物質+UV 試験部位で観察された反応が、被験物質に関連した作用によるのではなく、むしろ UV 照射によるためであることを示していた。</p> <p>本試験条件下で、被験物質の光感作性は認められなかった。</p>

ハ-9. ヒトパッチ試験 (添付資料 ハ-9-3)

被験物質 0.01 g をフィンチャンバー (EPITEST Ltd. Oy 製造) を用いて、日本人被験者の上腕屈側部に 24 時間閉塞貼付を行い判定した。尚、判定の基準は次の ICGRD 基準によった。

陰性	- : 反応なし ± : 紅斑のみ
陽性	+ : 紅斑、浸潤、時に丘疹 ++ : 紅斑、浸潤、丘疹、小水疱 +++ : 大水疱

日本人の被験者 45 名について行なったパッチテストの結果、被験物質除去後 1 時間の反応は、すべて陰性であった。また、被験物質除去後 24 時間の反応もすべて陰性で異常は認められなかった。

尚、皮膚一次刺激性試験や連続皮膚刺激性試験等の結果から、原液 (100%) でも刺激性はないとの判断から、本試験は原液にて実施した。原液で異常が認められなかったことから、製剤での試験は実施していない。収載希望最大配合量は、100 g 中 10 g まで (10%) である。

被験者	日本人 45 名 (年齢 23 歳から 53 歳までの男性 15 名、女性 30 名)
被験物質	パルソール SLX 原液
貼付量 用量設定根拠	0.01g 皮膚一次刺激性試験や連続皮膚刺激性試験等の結果から、原液でも刺激性はないとのことから、原液にて実施した。
貼付部位	被験者の上腕屈側部にフィンチャンバーを用いて、24 時間閉塞貼付。
観察	貼付後 24 時間を経過した時点で試料を除去し、除去後 1 時間及び除去後 24 時間にそれぞれ皮膚の状態を観察して判定。
判定・評価	被験物質除去後 1 時間及び 24 時間の反応はすべて陰性で異常は認められなかった。以上の結果から、本被験物質は刺激反応を惹起する可能性の少ないものと考えられる。

ハ-10. 反復投与毒性試験 (添付資料 ハ-10)

1群雌雄各10匹ずつ(対照群及び最高用量群は、リカバリー群を含め20匹)のWistar系ラット、6週令を用いて90日間強制経口投与毒性試験を行なった。被験物質は、ナタネ油に懸濁し、対照群(ナタネ油)及び60mg/kg/日、220mg/kg/日、1000mg/kg/日の投与量で経口投与し、一般症状、体重変化(週2回、リカバリー期間中は週1回)、摂餌量、生存率、肉眼所見、血液学的検査、臨床化学検査、尿検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査を行なった。

その結果、被験物質投与に起因する死亡はなかった。一般症状、体重、尿検査、血液学的検査、剖検、病理組織学的検査において被験物質投与に起因する異常は認められなかった。最高用量群である1000mg/kg/日群の雄の相対肝臓重量、臨床化学検査においてわずかに差異が見られたが、被験物質に対する肝臓の適応であり、毒性学的に問題となるものではない。

この試験から得られたデータに基づくと、被験物質の無毒性量は、1000mg/kg/日と判定された。

体重変化 (g)

Days	雄				雌			
	対照群 n=20	60mg/kg n=10	220mg/kg n=10	1000mg/kg n=20	対照群 n=20	60mg/kg n=10	220mg/kg n=10	1000mg/kg n=20
0	147.6	148.5	144.6	145.5	117.9	114.9	115.3	117.4
3	166.8	168.9	163.7	165.6	125.4	122.5	122.7	125.3
7	186.2	188.2	182.6	185.2	132.2	130.0	130.7	132.9
10	205.6	207.5	203.9	204.7	139.6	137.2	138.3	141.0
14	223.4	226.0	220.9	223.7	147.8	145.5	146.3	147.9
17	239.2	243.0	238.0	241.7	153.7	150.5	152.2	156.2
21	249.4	256.2	251.2	256.0	158.7	155.4	157.3	160.8
24	262.3	269.7	263.6	268.0	163.6	161.4	161.4	164.8
28	273.5	282.6	272.2	279.4	170.9	169.8	168.5	171.0
31	284.2	294.5	286.3	292.4	176.6	175.9	170.3	176.1
35	292.9	302.8	296.6	299.7	178.2	178.2	175.6	179.4
38	304.1	313.0	307.7	311.7	181.6	180.7	178.2	183.1
42	310.1	322.1	314.7	319.1	184.2	185.0	181.6	186.8
45	319.5	328.7	322.7	324.5	189.3	187.6	185.6	191.1
49	322.9	336.2	329.8	332.5	188.2	189.8	187.3	192.9

52	332.8	347.4	340.5	342.7	194.0	193.2	190.4	195.5
56	336.8	351.3	343.8	345.4	194.4	193.6	191.0	196.2
59	345.9	361.0	353.1	351.2	198.7	199.3	194.0	200.5
63	349.0	364.6	357.1	357.5	197.9	199.8	193.6	198.9
66	356.6	374.1	365.1	365.1	200.2	200.7	195.0	201.1
70	360.0	376.4	366.5	367.3	201.0	200.0	196.7	201.2
73	365.6	384.2	373.8	372.7	201.8	202.8	197.7	203.4
77	367.1	385.1	376.6	375.9	201.4	201.7	197.3	203.2
80	372.8	391.1	380.0	381.3	206.0	205.8	200.7	205.7
84	375.4	393.7	381.8	381.3	205.7	206.2	200.7	205.6
87	375.1	391.8	379.7	383.2	203.7	202.9	197.5	200.8
91	370.2	380.2	371.2	378.6	202.2	196.2	192.4	200.1
98	383.5	-	-	395.1	212.8	-	-	217.4
105	388.9	-	-	402.6	213.7	-	-	223.6
112	397.8	-	-	411.7	217.7	-	-	225.0
119	383.0	-	-	392.3	205.4	-	-	212.5

接餌量 (g)

Week	雄				雌			
	対照群	60mg/kg	220mg/kg	1000mg/kg	対照群	60mg/kg	220mg/kg	1000mg/kg
1	16.92	16.94	16.84	17.86	11.57	11.47	11.23	11.99
2	17.88	18.11	17.93	18.78	11.90	11.69	11.56	12.36
3	18.11	18.89	18.97	19.89	11.76	11.99	11.44	12.94
4	18.68	18.90	17.60	19.61	12.33	12.13	11.60	12.51
5	18.04	18.71	19.41	19.91	11.88	12.06	11.43	12.49
6	17.13	17.89	18.27	18.97	11.67	11.96	11.39	12.51
7	17.00	17.79	17.89	18.66	11.46	11.67	10.94	12.36
8	16.40	17.41	17.26	18.06	11.07	11.06	10.39	12.01
10	15.31	16.44	15.93	16.96	10.25	10.27	9.70	10.89
11	14.92	16.19	15.80	16.87	10.16	10.20	9.67	10.62

12	14.82	15.56	14.74	16.15	10.17	10.03	9.44	10.64
13	13.58	13.53	13.72	15.12	9.32	9.17	8.50	9.45
Mean	16.57	17.20	17.03	18.07	11.13	11.14	10.61	11.73
SD	1.59	1.58	1.70	1.53	0.93	0.98	1.04	1.07
14	17.84	-	-	20.19	13.11	-	-	13.79
15	17.87	-	-	19.52	13.03	-	-	13.49
16	18.84	-	-	20.00	13.58	-	-	13.87
17	17.00	-	-	19.28	12.30	-	-	12.82
Mean	17.89	-	-	19.75	13.01	-	-	13.49
SD	0.75	-	-	0.42	0.53	-	-	0.48

血液学的检查(day 86)

Items	雄				雌			
	对照群	60mg/kg	220mg/kg	1000mg/kg	对照群	60mg/kg	220mg/kg	1000mg/kg
WBC G/l	10.30 ± 2.03	10.14 ± 1.32	9.12 ± 1.46	10.15 ± 1.75	7.38 ± 1.48	7.78 ± 1.33	6.52 ± 0.90	7.23 ± 1.69
RBC T/l	8.93 ± 0.24	8.86 ± 0.33	8.85 ± 0.51	8.91 ± 0.35	7.96 ± 0.36	7.71 ± 0.32	7.60 ± 0.38*	7.63 ± 0.33*
HBmmol/l	10.19 ± 0.21	10.11 ± 0.33	10.01 ± 0.48	10.36 ± 0.38	9.68 ± 0.12	9.76 ± 0.17	9.66 ± 0.35	9.74 ± 0.22
PCV l	0.50 ± 0.01	0.49 ± 0.01	0.49 ± 0.02	0.50 ± 0.01	0.45 ± 0.01	0.44 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.43 ± 0.02*
MCV fl	55.40 ± 0.97	55.30 ± 1.49	55.20 ± 0.92	56.40 ± 1.43	56.10 ± 1.10	56.50 ± 0.71	57.00 ± 1.33	56.30 ± 1.06
MCH fmol	1.14 ± 0.02	1.14 ± 0.03	1.13 ± 0.02	1.16 ± 0.02	1.22 ± 0.05	1.27 ± 0.05	1.27 ± 0.03*	1.28 ± 0.05**
MCHC mmol/l	20.90 ± 0.32	20.80 ± 0.42	20.60 ± 0.52	20.70 ± 0.48	21.60 ± 0.70	22.50 ± 0.85#	22.40 ± 0.52*	22.70 ± 0.95**
PTL G/l	802.90 ± 81.49	801.80 ± 62.14	758.60 ± 89.32	854.50 ± 75.45	809.30 ± 97.06	829.00 ± 101.35	854.20 ± 70.63	835.80 ± 72.35
PT sec	13.26 ± 0.59	12.98 ± 0.47	13.21 ± 0.72	13.11 ± 0.39	13.28 ± 0.30	13.79 ± 0.39##	13.80 ± 0.26**	13.74 ± 0.46**
FIB g/l	2.68 ± 0.52	3.01 ± 0.54	2.80 ± 0.32	2.89 ± 0.37	1.94 ± 0.21	2.00 ± 0.24	2.12 ± 0.30	2.09 ± 0.15

Jonckheere-Test : **: $p \leq 1\%$, *: $1\% < p \leq 5\%$ U-Test : ##: $p \leq 1\%$, #: $1\% < p \leq 5\%$

血液学的检查(day 115)

Items	雄				雌			
	对照群	60mg/kg	220mg/k g	1000mg /kg	对照群	60mg/kg	220mg /kg	1000mg /kg
WBC G/l	10.53 ± 1.50	—	—	9.67 ± 2.03	6.45 ± 0.82	—	—	6.08 ± 1.62
RBC T/l	9.09 ± 0.17	—	—	9.20 ± 0.31	8.25 ± 0.18	—	—	8.06 ± 0.17#
HBmmol/l	10.72 ± 0.14	—	—	10.79 ± 0.35	10.45 ± 0.17	—	—	10.18 ± 0.32#
PCV l	0.51 ± 0.01	—	—	0.51 ± 0.02	0.49 ± 0.01	—	—	0.48 ± 0.01#
MCV fl	55.78 ± 1.09	—	—	55.33 ± 1.66	59.50 ± 1.27	—	—	59.50 ± 1.51
MCH fmol	1.18 ± 0.02	—	—	1.17 ± 0.03	1.27 ± 0.03	—	—	1.26 ± 0.04
MCHC mmol/l	21.00 ± 0.00	—	—	21.11 ± 0.33	21.20 ± 0.42	—	—	21.30 ± 0.48
PTL G/l	861.11 ±74.63	—	—	862.33 ±60.25	845.90 ±93.54	—	—	848.40 ±53.18
PT sec	13.64 ± 0.47	—	—	13.90 ± 0.34	13.49 ± 0.92	—	—	13.14 ± 0.37
FIB g/l	2.44 ± 0.23	—	—	2.53 ± 0.21	1.62 ± 0.37	—	—	1.69 ± 0.20

Jonckheere-Test : **: $p \leq 1\%$, *: $1\% < p \leq 5\%$

U-Test : ##: $p \leq 1\%$, #: $1\% < p \leq 5\%$

臨床化学検査 (day 86)

Items	雄				雌			
	对照群	60mg/kg	220mg/kg	1000mg/kg	对照群	60mg/kg	220mg/kg	1000mg/kg
S-TOBIL μmol/l	2.21 ± 0.51	2.07 ± 0.25	2.07 ± 0.76	1.54 ± 0.58*	3.46 ± 0.87	3.24 ± 0.46	2.79 ± 0.31*	2.84 ± 0.65*
S-GLUC mmol/l	8.88 ± 0.78	9.85 ± 1.06	9.75 ± 1.75	10.82 ± 1.59**	7.85 ± 1.20	8.26 ± 1.15	7.90 ± 1.55	7.83 ± 1.39
S-Urea mmol/l	5.16 ± 0.82	5.45 ± 0.74	5.00 ± 0.45	5.37 ± 0.97	5.90 ± 1.52	6.01 ± 1.13	5.97 ± 1.23	6.23 ± 1.33
S-CREAT μmol/l	45.59 ± 4.26	44.34 ± 4.87	46.71 ± 4.02	46.18 ± 5.80	47.58 ± 4.04	50.25 ± 3.57	49.12 ± 6.30	47.62 ± 8.18
S-TOCHO mmol/l	1.24 ± 0.15	1.31 ± 0.19	1.34 ± 0.22	1.38 ± 0.26	1.23 ± 0.23	1.06 ± 0.24	1.13 ± 0.12	1.19 ± 0.24
S-TRIGL mmol/l	1.25 ± 0.37	1.23 ± 0.23	1.22 ± 0.34	1.14 ± 0.36	0.66 ± 0.22	0.81 ± 0.20	0.85 ± 0.24	0.69 ± 0.28
S-NA mmol/l	144.90 ± 1.85	144.10 ± 2.77	143.90 ± 2.28	144.40 ± 1.65	143.40 ± 2.37	143.50 ± 2.17	142.20 ± 2.25	143.60 ± 2.07
S-K mmol/l	4.05 ± 0.23	4.12 ± 0.27	3.77 ± 0.17*	3.87 ± 0.18*	3.68 ± 0.20	3.63 ± 0.35	3.57 ± 0.16	3.57 ± 0.27
S-AST μkat/l	1.42 ± 0.18	1.19 ± 0.14###	1.15 ± 0.19**	1.04 ± 0.10**	1.42 ± 0.17	1.18 ± 0.13###	1.17 ± 0.14**	1.18 ± 0.08**
A-ALT μkat/l	0.72 ± 0.12	0.67 ± 0.14	0.64 ± 0.16	0.62 ± 0.11	0.62 ± 0.14	0.55 ± 0.12	0.58 ± 0.10	0.53 ± 0.07
S-CHS μkat/l	2.94 ± 0.64	2.73 ± 0.56	3.32 ± 0.90	2.99 ± 0.31	16.67 ± 5.42	14.40 ± 3.49	14.63 ± 4.24	15.40 ± 3.26
S-ALP μkat/l	1.41 ± 0.34	1.47 ± 0.28	1.38 ± 0.25	1.31 ± 0.22	0.77 ± 0.16	0.69 ± 0.14	0.76 ± 0.16	0.65 ± 0.13
S-TOPRO g/l	62.88 ± 1.50	62.35 ± 2.37	62.81 ± 1.20	62.31 ± 1.73	66.00 ± 2.95	65.52 ± 2.23	63.19 ± 3.64**	63.27 ± 3.27**

A/G Ratio	1.37 ± 0.20	1.29 ± 0.20	1.14 ± 0.24*	1.14 ± 0.08**	1.81 ± 0.24	1.65 ± 0.15	1.71 ± 0.15	1.52 ± 0.16*
ALB(A) g/l	36.13 ± 2.59	34.93 ± 2.80	33.21 ± 3.52*	33.21 ± 1.05*	42.35 ± 2.58	40.72 ± 2.16	39.82 ± 2.75*	38.14 ± 3.03**
AGLOB(A) g/l	15.42 ± 1.51	16.01 ± 1.07	17.03 ± 1.90*	17.46 ± 1.01**	13.03 ± 1.82	13.89 ± 0.65	13.53 ± 1.34	14.26 ± 1.11
BGLOB(A) g/l	8.83 ± 0.82	8.72 ± 1.24	9.75 ± 1.29	9.11 ± 1.06	7.45 ± 0.50	7.88 ± 0.97	7.15 ± 0.88	7.73 ± 0.90
GGLOB(A) g/l	2.51 ± 0.61	2.86 ± 0.95	2.84 ± 0.74	2.52 ± 0.39	3.19 ± 0.59	3.03 ± 0.32	2.70 ± 0.55	3.15 ± 0.76
ALB(R) l	0.57 ± 0.04	0.56 ± 0.04	0.53 ± 0.05*	0.53 ± 0.02**	0.64 ± 0.03	0.62 ± 0.02	0.63 ± 0.02	0.60 ± 0.03**
AGLOB(R) l	0.24 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.03**	0.28 ± 0.02**	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.01**
BGLOB(R) l	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.02
GGLOB(R) l	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01

Jonckheere-Test : **: $p \leq 1\%$, *: $1\% < p \leq 5\%$

U-Test : ##: $p \leq 1\%$, #: $1\% < p \leq 5\%$

臨床化学検査(day 87 & 115)

Items	雄				雌			
	Day 87		Day 115		Day 87		Day 115	
	对照群	1000mg /kg	对照群 n=9	1000mg /kg n=9	对照群	1000mg /kg	对照群	1000mg /kg
S-TOBIL $\mu\text{mol/l}$	2.30 ± 0.44	2.32 ± 0.28	2.62 ± 0.53	2.51 ± 0.47	2.47 ± 0.42	2.37 ± 0.76	3.04 ± 0.33	2.79 ± 0.60
S-GLUC mmol/l	9.06 ± 1.76	8.88 ± 1.53	8.91 ± 1.32	9.28 ± 1.05	6.41 ± 0.84	8.00 ± 0.95##	7.61 ± 1.12	7.25 ± 1.11

S-Urea mmol/l	6.42 ± 1.38	7.70 ± 1.22	7.33 ± 1.24	8.21 ± 1.25	7.37 ± 1.02	7.99 ± 1.30	8.93 ± 1.36	8.64 ± 1.28
S-CREAT μ mol/l	39.27 ± 3.60	38.72 ± 7.59	47.32 ± 4.32	47.04 ± 4.57	49.92 ± 3.40	49.95 ± 4.29	53.97 ± 5.82	58.69 ± 5.78
S-TOCHO mmol/l	1.37 ± 0.16	1.27 ± 0.14	1.38 ± 0.33	1.30 ± 0.20	1.10 ± 0.19	1.24 ± 0.34	1.09 ± 0.22	1.18 ± 0.39
S-TRIGL mmol/l	1.33 ± 0.61	1.28 ± 0.39	1.56 ± 0.70	1.50 ± 0.46	0.76 ± 0.24	0.85 ± 0.28	1.21 ± 0.53	1.08 ± 0.41
S-NA mmol/l	144.22 ± 2.28	143.44 ± 2.01	143.22 ± 1.79	143.11 ± 2.09	143.40 ± 2.32	144.70 ± 2.31	142.40 ± 2.37	142.10 ± 0.99
S-K mmol/l	4.24 ± 0.31	4.22 ± 0.40	4.08 ± 0.33	4.01 ± 0.32	3.65 ± 0.19	3.54 ± 0.13	3.44 ± 0.28	3.48 ± 0.20
S-AST μ kat/l	1.64 ± 0.32	1.36 ± 0.21#	1.32 ± 0.17	1.17 ± 0.15	1.25 ± 0.13	1.12 ± 0.11#	1.06 ± 0.10	1.14 ± 0.10
A-ALT μ kat/l	0.92 ± 0.21	0.90 ± 0.30	0.66 ± 0.09	0.76 ± 0.17	0.70 ± 0.07	0.75 ± 0.18	0.67 ± 0.12	0.61 ± 0.16
S-CHS μ kat/l	3.12 ± 0.99	3.08 ± 0.64	3.17 ± 0.90	3.19 ± 0.63	19.33 ± 5.65	17.60 ± 5.24	19.54 ± 5.36	18.76 ± 7.05
S-ALP μ kat/l	1.91 ± 0.31	1.70 ± 0.38	1.28 ± 0.17	1.28 ± 0.25	0.91 ± 0.29	0.65 ± 0.15#	0.61 ± 0.14	0.48 ± 0.10#
S-TOPRO g/l	64.73 ± 1.48	63.67 ± 1.66	65.00 ± 2.67	63.64 ± 2.16	65.72 ± 1.95	65.75 ± 2.96	66.31 ± 2.48	66.36 ± 3.10
A/G Ratio	1.41 ± 0.08	1.25 ± 0.08##	1.35 ± 0.09	1.29 ± 0.04	1.78 ± 0.13	1.54 ± 0.08##	1.62 ± 0.21	1.69 ± 0.17
ALB(A) g/l	37.87 ± 1.08	35.39 ± 1.34##	37.31 ± 1.84	35.89 ± 1.31	42.09 ± 2.06	39.87 ± 1.90#	40.87 ± 2.42	41.60 ± 2.49
AGLOB(A) g/l	16.22 ± 0.83	17.22 ± 1.31#	16.97 ± 1.39	16.71 ± 1.16	13.63 ± 0.72	17.72 ± 0.93##	13.97 ± 1.25	13.48 ± 1.06
BGLOB(A) g/l	8.17 ± 0.53	8.93 ± 0.57#	8.13 ± 0.98	8.66 ± 0.49	7.31 ± 0.56	7.98 ± 0.87#	8.00 ± 1.17	7.83 ± 1.34

GGLOB(A) g/l	2.48 ± 0.42	2.19 ± 0.41	2.61 ± 0.60	2.37 ± 0.41	2.71 ± 0.53	3.21 ± 0.52	3.41 ± 0.68	3.47 ± 0.68
ALB(R) l	0.58 ± 0.01	0.56 ± 0.01##	0.57 ± 0.02	0.56 ± 0.01	0.64 ± 0.02	0.61 ± 0.01##	0.62 ± 0.03	0.63 ± 0.02
AGLOB(R) l	0.25 ± 0.01	0.27 ± 0.02#	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.22 ± 0.01##	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.02
BGLOB(R) l	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01##	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.02
GGLOB(R) l	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01

Jonckheere-Test : **: $p \leq 1\%$, * : $1\% < p \leq 5\%$

U-Test : ##: $p \leq 1\%$, #: $1\% < p \leq 5\%$

臟器重量(day 91)

Items	雄				雌			
	对照群	60mg/kg	220mg /kg	1000mg /kg	对照群	60mg/kg	220mg /kg	1000mg /kg
TERMBW	364.5 ± 38.3	380.2 ± 49.8	371.2 ± 42.5	375.1 ± 39.5	196.1 ± 14.1	196.2 ± 7.6	192.4 ± 16.2	186.7 ± 14.8
BRAIN	1.980 ± 0.073	2.011 ± 0.084	2.023 ± 0.097	2.014 ± 0.083	1.885 ± 0.044	1.897 ± 0.091	1.858 ± 0.088	1.877 ± 0.127
LIVER	3.844 ± 0.355	4.091 ± 0.643	4.092 ± 0.410	4.460 ± 0.395**	4.203 ± 0.779	4.192 ± 0.423	4.324 ± 0.369	4.472 ± 0.576
KIDNEY	0.876 ± 0.081	0.903 ± 0.048	0.902 ± 0.068	0.926 ± 0.053	0.953 ± 0.056	0.955 ± 0.047	0.961 ± 0.063	0.982 ± 0.090
TESTIES	3.533 ± 0.313	3.623 ± 0.342	3.490 ± 0.311	3.692 ± 0.229	—	—	—	—
OVAR.	—	—	—	—	0.119 ± 0.021	0.123 ± 0.032	0.129 ± 0.013	0.124 ± 0.013
HEART	0.398 ± 0.029	0.401 ± 0.031	0.426 ± 0.040	0.398 ± 0.024	0.430 ± 0.029	0.389 ± 0.027##	0.381 ± 0.025**	0.408 ± 0.053*
ADREN.	0.030 ± 0.005	0.029 ± 0.005	0.029 ± 0.006	0.029 ± 0.006	0.043 ± 0.009	0.040 ± 0.007	0.040 ± 0.003	0.041 ± 0.008

Jonckheere-Test : **: $p \leq 1\%$, * : $1\% < p \leq 5\%$

U-Test : ##: $p \leq 1\%$, #: $1\% < p \leq 5\%$

臟器重量(day 118)

Items	雄				雌			
	对照群	60mg/kg	220mg /kg	1000mg /kg	对照群	60mg/kg	220mg /kg	1000mg /kg
TERMBW	383.0 ± 46.0	—	—	392.3 ± 29.7	205.4 ± 13.0	—	—	212.4 ± 14.9
BRAIN	2.032 ± 0.164	—	—	2.055 ± 0.125	1.875 ± 0.084	—	—	1.872 ± 0.069
LIVER	4.015 ± 0.576	—	—	4.272 ± 0.502	3.984 ± 0.456	—	—	4.271 ± 0.302
KIDNEY	0.906 ± 0.191	—	—	0.944 ± 0.091	0.945 ± 0.075	—	—	0.980 ± 0.072
TESTIES	3.513 ± 0.462	—	—	3.630 ± 0.293	—	—	—	—
OVAR.	—	—	—	—	0.109 ± 0.031	—	—	0.115 ± 0.018
HEART	0.407 ± 0.045	—	—	0.408 ± 0.030	0.392 ± 0.033	—	—	0.398 ± 0.034
ADREN.	0.030 ± 0.007	—	—	0.028 ± 0.005	0.038 ± 0.005	—	—	0.039 ± 0.006

onckheere-Test : **: $p \leq 1\%$, * : $1\% < p \leq 5\%$

U-Test : ##: $p \leq 1\%$, #: $1\% < p \leq 5\%$

報 告 者		
試 験 方 法	動物種	Wistar 系ラット、雌雄各 10 匹/群 (対照群及び高用量群は雌雄各 20 匹/群)
	被験物質	パルソール SLX
	投与経路	強制経口投与
	投与量	(A) 対照群 溶媒 (ナタネ油) → 陰性対照 (B) 低用量群 60 mg/kg/日 (C) 中用量群 220 mg/kg/日 (D) 高用量群 1000 mg/kg/日
	用量設定根拠	予備試験を 12、60、250、1250 mg/kg で実施したところ、いずれの投与群においても死亡例が認められなかったことから、60、220 及び 1000 mg/kg を設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (EEC, OECD, MHW) に基づき実施された。
	投与期間	90 日間
	溶媒	ナタネ油
観 察	観察項目	一般症状、死亡率、体重、摂餌量 血液学的検査、臨床化学検査、尿検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査
試 験 成 績	体重	被験物質に起因する変化なし。
	生存率	雄 2 匹 (対照群 1 匹、高用量群 1 匹) 以外は全て生存。 この死亡は投与に起因するものではなかった。
	一般症状	被験物質に起因する症状はなし。
	摂餌量	被験物質に起因する変化なし。
	肉眼所見	被験物質に起因する異常は認められなかった。
	血液学的検査	被験物質に起因する異常は認められなかった。

臨床化学検査	<p>生化学パラメータの個々の値に問題はなかった。</p> <p>対照群と比較すると、肝臓の血液化学パラメータ（血清総ビリルビン濃度、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）にわずかに差異が見られた。これは被験物質に対する肝臓の適応で、毒性作用によるものではない。</p>
尿検査	被験物質に起因する異常は認められなかった。
剖検	被験物質投与に起因する異常は認められなかった。
臓器重量	<p>最高用量群の雄の平均肝臓重量が対照群に比べ、わずかに高かったが、毒性学的にみて有意ではなかった。他に差異は認められなかった。</p>
病理組織学的検査	被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。
無毒性量	<p>60, 220, 1000 mg/Kg/日の用量で13週間、ラットに被験物質を投与したところ、耐性は良好であった。</p> <p>NOAEL : 無毒性量は、1000 mg/Kg/日と判定された。</p>

ハー11. 生殖発生毒性試験 (添付資料 ハー11)

1群雌25匹のWistar系ラットを用いて生殖発生毒性試験を行なった。

用量設定については、13週間反復投与毒性試験を実施した結果、最高用量の1000mg/kg/日の投与群において雄の肝臓相対重量にわずかな増加が認められたことから(被験物質に対する肝臓の適応と考察される)、最高用量に1000mg/kg/日を設定し、以下公比3で300mg/kg/日、100mg/kg/日を設定した。

被験物質は、ナタネ油に懸濁し、対照群(ナタネ油)及び100mg/kg/日、300mg/kg/日、1000mg/kg/日の投与量で妊娠6~20日目(交配の確認された日を0日目)に経口投与し、母獣については、一般症状、体重変化、摂餌量及び子宮、卵巣の剖検を行なった。また、胎仔については、体重、性別、外形異常、内臓異常及び骨格異常について観察した。

その結果、母獣の妊娠期間中の体重変化においては、被験物質に起因する異常等は認められなかった。また、その間の母獣の摂餌量においても対照群と投与群の間に大きな差はなかった。

各投与群において、被験物質に起因する異常は、母獣及び胎仔のいずれにおいても認められなかった。よって、被験物質の無毒性量は、1000 mg/kg/日と判定された。

妊娠期間中の体重変化 (g)

	Control N=25	100mg/kg/day N=25	300mg/kg/day N=22	1000mg/kg/day N=23
0	201±9.7	200±8.9	202±8.6	201±9.1
6	227±11.6	226±13.4	228±11.5	226±9.8
7	228±11.9	226±11.6	228±12.1	227±10.1
8	231±12.0	230±12.3	231±11.6	230±10.4
9	234±11.9	233±12.7	233±11.9	234±10.6
10	238±12.8	236±12.9	238±12.4	236±11.5
11	244±11.9	241±12.8	243±13.8	242±11.7
12	247±12.4	244±14.5	246±13.8	245±12.5
13	250±12.0	249±15.3	251±14.1	248±12.7
14	254±12.5	252±16.1	254±14.4	252±12.3
15	260±13.6	257±15.8	259±14.8	257±12.5
16	267±14.1	264±16.7	268±16.4	264±13.7

17	276±14.8	274±18.1	277±18.0	274±15.3
18	287±16.9	284±19.9	289±19.3	284±16.6
19	297±16.9	295±21.8	300±21.6	295±17.9
20	305±17.2	304±23.5	309±24.9	303±19.5
21	308±15.8	307±24.8	311±27.3	307±21.4

Summary of Reproduction Data

Pregnant N		Control N=25	100mg/kg/day N=25	300mg/kg/day N=22	1000mg/kg/day N=23
Corpora Lutea	N	315	332	304	302
No. / animal	Median	13.0 d	13.0	14.0	14.0
	Q1	12.0	12.0	13.0	11.0
	Q3	15.0	14.5	15.0	15.0
Preimplantation Loss	N	22	29	17	23
% / group	%	7.0	8.7	5.6	7.6
% / animal	Median	6.7 u	7.1	0.0	6.7
	Q1	0.0	0.0	0.0	0.0
	Q3	12.2	10.4	7.1	12.5
Implantation Sites	N	293	303	287	279
No. / animal	Median	12.0 d	12.0	14.0	13.0
	Q1	11.5	11.0	12.0	11.0
	Q3	14.0	13.5	14.0	14.0
Fetuses	N	274	272	271	258
No. / animal	Median	12.0 d	11.0	13.0	11.0
	Q1	9.5	10.0	11.0	10.0
	Q3	13.0	12.0	14.0	13.0
Alive	%	100.0	100.0	100.0	100.0

Resorbed Implants:					
Total	N	19	31	16	21
No. / animal	Median	0.0 d	1.0	0.0	1.0
	Q1	0.0	0.0	0.0	0.0
	Q3	1.0	2.0	1.3	1.0
% of impl. / group	%	6.5	10.2	5.6	7.5
% of impl. / animal					
	Median	0.0 u	8.3	0.0	7.1
	Q1	0.0	0.0	0.0	0.0
	Q3	8.3	17.7	8.9	13.3
Resorbed Implants:					
Early	N	18	30	16	20
% of resorp. / group	%	94.7	96.8	100.0	95.2
Resorbed Implants:					
Late	N	1	1	0	1
% of resorp. / group	%	5.3	3.2	0.0	4.8
Viable Male Fetuses	N	141 f	129	127	119
	%	51.5	47.4	46.9	46.1
Female Fetuses	N	133 f	143	144	139
	%	48.5	52.6	53.1	53.9
Fetal Body Weight (g)					
	Median	4.9 d	5.0	4.9	5.0
	Q1	4.7	4.8	4.6	4.7
	Q3	5.1	5.1	5.0	5.2
	N litters	25	25	22	22

Statistical key : d=ANOVA + Dunnett-test f=Chi-square + Fishers exact test
u=Kruskal-Wallis + Mann-Whitney U

報告者		
試験方法	動物種	Wistar系ラット、雌25匹/群
	被験物質	パルソール SLX
	投与経路	強制経口投与
	投与量	対照群 溶媒 (ナタネ油) 100 mg/kg/日、300 mg/kg/日及び1000 mg/kg/日
	用量設定根拠	13週間反復投与毒性試験をで実施したところ、最高投与量1,000 mg/kg投与群において被験物質に起因する異常は認められなかったことから、最高用量に1000 mg/kgを設定し、以下公比3で300 mg/kg、100 mg/kgを設定した。 尚、本試験は国際的な指針 (OECD) に基づき実施された。
	投与期間	妊娠6日目から20日目まで15日間、1日1回投与
	溶媒	ナタネ油
観察	観察項目	一般症状、体重、摂餌量 母獣：剖検、子宮及び卵巣、 胎仔：体重、性別、外形異常、内臓異常、骨格異常
試験成績	体重	母獣及び胎仔：被験物質に起因する変化なし。
	一般症状	被験物質に起因する症状はなし。
	摂餌量	被験物質に起因する変化なし。
	肉眼所見	被験物質に起因する異常は認められなかった。
	胎仔所見	被験物質に起因する異常は認められなかった。
	無毒性量	NOAEL：無毒性量は、1000 mg/Kg/日と判定された。

ハー12. 吸収・分布・代謝・排泄試験 (添付資料 ハー12)

¹⁴Cでラベルしたパルソール SLX を、2 mg/kg 及び 200 mg/kg それぞれラットに経口投与した結果、パルソール SLX 或いはその代謝物の放射活性は、血漿中にほとんど認められなかった。恐らくこれはパルソール SLX の吸収の低さによるものである。通常、経口による吸収は皮膚吸収よりも優れているため、局所適用後の曝露は、非常に少ないものであり、従って、皮膚からの吸収は、検出限界以下であると思われる。

尚、本成分は光吸収後、p. 2 に記載の光吸収のメカニズムのとおり励起状態となり、その後熱エネルギーとして放出後は基底状態に戻り、分子構造は変わらず、成分の変化もないことから、光吸収後の成分の吸収、分布、代謝、排泄についても同様の結果と推察される。

報告者		
試験方法	動物種	Wistar 系ラット、雄4匹/群
	被験物質	¹⁴ C-パルソール SLX
	投与経路	発色性の芳香族環でランダムにラベル 強制経口投与
	投与量	放射線ラベル： *2 mg/kg 及び 200 mg/kg 対照： *パルソール SLX *ジメチル-4-プロピニルベンザルマロネート (発色性)
	用量設定根拠	予備試験の結果より、分析可能な用量として 2 mg/kg を設定し、さらに反復投与毒性試験の結果から 200 mg/kg を設定した。
	投与期間	単回投与
観察	観察項目	血漿中放射活性：1、2、4、8、12、24、48 時間目に 300 μl 採血 尿中放射活性：0～24 時間目、24～48 時間目、48～72 時間目のものを採取 糞中放射活性：0～24 時間目、24～48 時間目、48～72 時間目のものを採取 その他：72 時間後に屠殺し、肝臓、肺及び腸管 (内容物も含め) を摘出

試験成績	血漿中放射活性	<p>*2 mg/kg 投与群：4 例中 2 例に投与後 2～8 時間値に僅かに放射活性が見られたが (1.7～14.2 ng 当量/ml)、他はすべて 1.4 ng 当量/ml (検出限界) 以下であった。</p> <p>*200 mg/kg 投与群：4 例中 2 例に投与後 2～8 時間値に非常に低い放射活性が見られたが (170～310 ng 当量/ml)、他はすべて 150 ng 当量/ml (検出限界) 以下であった。</p> <p>以上の結果により、パルソールSLXは血液細胞に選択的に結合しないことが示された。</p>
	尿中排泄	<p>*2 mg/kg 投与群： 投与後 72 時間で、0.3%が尿中に排出された。</p> <p>*200 mg/kg 投与群： 投与後 72 時間で、0.4%が尿中に排出された。</p>
	糞中排泄	<p>*2 mg/kg 投与群： 投与後 0～24 時間で約 20%、投与後 24～48 時間で約 55%が糞中に排泄され、72 時間までに 90%が糞中に排出された。</p> <p>*200 mg/kg 投与群： 投与後 0～24 時間で約 14%、投与後 24～48 時間で約 50%が糞中に排泄され、72 時間までに 92%が糞中に排出された。</p>

ハ-13. 経皮吸収試験 (in vitro 経皮吸収試験) (添付資料 ハ-13)

被験物質の皮膚への吸収は、極めて少なかった。ブタの皮膚に塗布後 16 時間で、標準 O/W 乳化液から表皮、真皮への吸収量は 0.5%以下であった。

ヒト皮膚の表皮、真皮への被験物質の吸収は同程度で極めて少ないと判定された。一般に、吸収は溶媒によるところが大きい。しかし、被験物質は非常に高分子であるため、溶媒による差は小さかった。UV フィルターの吸収量の反復塗布による累積も見られなかった。被験物質の吸収率は損傷した皮膚で高まり、角質層を剥離した皮膚では、レセプター相で被験物質の含量は高くなった。

報告者		
試験方法	方法	フランツ・セル型浸透チャンバー (32°Cに設定) が用いられた。名称をふせた物質を使用。パルソール MCX が比較対照。全ての試験は OECD ガイドラインにそって GLP に準拠して行われた。
	皮膚の種類	ラットの剃毛皮膚 (パルソール SLX と既存紫外線吸収剤パルソール MCX の浸透の差異を比較するため) ブタの皮膚 (角質層を剥離した皮膚と無傷のもの)
	被験物質	パルソール SLX 比較対照 : パルソール MCX
	投与経路	摘出皮膚片の中央にピペットかスパチュラで塗布
	投与量	2 mg / cm ²
	用量設定根拠	本試験において最もよく使用される濃度として、5%を選択した。OECD の指針に基づき実施された。
	投与 単回塗布	パルソール SLX は 5% O/W ローション処方。 ヴァセリン油 (ワセリン) や Delyl Extra (イソプロピルミリスチン酸) が溶剤として用いられた。
反復塗布	①パルソール SLX ローションを 0、2、4、6 時間に塗布 (4 回) ②プラセボローションを 0、2、4 時間に塗布 (3 回)、 6 時間目にパルソール SLX ローションを塗布。	

	被験物質を塗布する皮膚面積	5cm ²
	塗布の継続期間	単回塗布 : 16 時間 反復塗布 : 最初の塗布から 24 時間
	サンプリング	浸透時間後、塗布された物質は回収し、HPLC 分析。 レセプター相の液を回収し、チャンバーは洗浄、洗浄液はレセプター相の液に加えて HPLC 分析。 皮膚表面は拭き取りにより回収。拭き取ったコットンから HPLC 移動相で抽出し、HPLC 分析。角質層は、粘着テープによりはがし、テープから抽出。角質層をはがした後の皮膚は、パンチアウトにより切り取り、抽出し、HPLC 分析。
	塗布時間に吸収された量	HPLC 分析による結果は、別記の通り。
試験成績	判定	<ul style="list-style-type: none"> ・ パルソール SLX の皮膚での吸収は極めて少なかった。 ブタ皮膚へ塗布して 16 時間後、標準 o/w 乳化液の表皮や真皮での吸収は 0.5% 以下であった。ヒトの表皮、真皮でのパルソール SLX の吸収も同程度で極めて少ないと判定された。 ・ 一般に吸収は溶剤によるところが大である。しかし、パルソール SLX は非常に高分子であるため溶剤による差異は小さかった。 ・ パルソール SLX の皮膚への浸透は、パルソール SLX の反復投与で増加せず、投与による累積は見られなかった。 ・ パルソール SLX の浸透は、損傷した皮膚では多くなり、角質層を除去すると、皮膚とレセプター相で、含量は高くなった。

塗布時間に吸収された総量

パルソール SLX	ラット 剃毛皮膚	ブタ皮膚	ブタ皮膚	ブタ皮膚	ブタ皮膚 反復	ブタ皮膚 反復	角質層を 剥離した 皮膚
	5% o/w ローション	5% o/w ローション	5%溶液 Delyl Extra	5%溶液 ワセリン油	4×5% o/w ローション o/w	3×プラセボ 1×ローション	5% o/w ローション
皮膚表面 (未吸収)	98.2%	97.7%	97%	98.1%	98.6%	98.5%	94.5%
角質層	1.4%	2.1%	2.6%	1.4%	0.9%	1.4%	—
角質層除去 皮膚	0.4%	0.2%	0.4%	0.5%	0.4%	0.1%	5%
レセプター 相 (チャン バー下層 液)	0%	0%	0%	0%	0.1%	0%	0.5%

プラセボローションの組成

A)

成 分 名	%	grams
パルソール SLX (ジメチコジエチルベンザルマロネート)	0.00	0.00

B)

--	--	--

A)+B)

100.00

600.04

使用前に、A)とB)をゆっくりと混ぜ合わせて使用した。

ハー14. 安全係数の計算及び結論

安全係数の計算

ラット及びブタの皮膚切片を用いた *in vitro* 経皮吸収試験で、有効成分はレセプター相（チャンパー下層液）には認められていないが、念のためブタの皮膚切片での角質層での吸収（最大 2.6%）および角質層除去皮膚での吸収（0.4%）の計 3% がすべて体内に吸収されたと推定し、一般的な塗布量で全身に塗布した場合の安全係数を、ラットを用いた経口反復投与毒性試験の無毒性量 1000mg/kg/日およびラットにおける生殖発生毒性試験における母動物の無毒性量 1000mg/kg/日に基づき、次の方法で算出した。

安全係数の計算	
有効成分の濃度 (%)	10%
一般的な総体表面積	18000 cm ²
一般的な塗布量	2 mg/ cm ²
適用した製剤の量 (mg)	18000 cm ² × 2 mg/ cm ² = 36000 mg
適用した有効成分の総量 (mg)	36000 × 10% = 3600 mg
有効成分の吸収 (%)	3%
総吸収量 (mg)	3600 × 3% = 108 mg
ヒトの典型的な体重 (女性) (kg)	50 kg
全身暴露量 (mg/kg)	108 mg ÷ 50 kg = 2.16 mg/kg
無毒性量	1000mg/kg/日
安全係数	1000 ÷ 2.16 = 463 倍

結論

前述の各安全性試験の結果が示す様に、被験物質の皮膚刺激性、粘膜刺激性、感作性、光感作性は認められず、また紫外線照射の有無にかかわらず、遺伝毒性は認められなかった。経口あるいは経皮単回試験の結果も、低い急性毒性を示した。光毒性も認められなかった。

ラットにおける経口反復投与毒性試験の結果、無毒性量（NOAEL）は、1000mg/kg/日であった。また、ラットにおける生殖発生毒性試験における母動物の無毒性量は、1000mg/kg/日であった。被験物質の最大濃度を10%として、吸収率を3%と推定して計算した安全係数は約460であった。