

資料概要

(注) 本資料において、2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステルは、ユビナール A プラス (または、Uvinul A Plus) と表現する。

資料概要目次

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	1
1	起源又は発見の経緯	1
2	外国における使用状況	1
3	特性及び他の成分との比較検討等	2
ロ	物理的・化学的性質等に関する資料	5
1	構造決定	5
2	物理的・化学的性質等	10
ハ	安全性に関する資料	11
1	単回投与毒性	11
2	反復投与毒性	14
3	生殖発生毒性	24
4	皮膚一次刺激性	42
5	連続皮膚刺激性	44
6	感作性	49
7	光毒性	51
8	光感作性	63
9	眼刺激性	69
10	遺伝毒性	72
11	ヒトパッチ	83
12	吸収・分布・代謝・排泄	87
13	安全係数について	89

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

1 起源又は発見の経緯

太陽光線、特に紫外線への暴露はヒトの皮膚に有害な影響をもたらすことは良く知られている。特に紫外線 A 波は、肌に深く浸透し、脂質、DNA 等の細胞間/ 内の構成物質へ攻勢をかけ、肌ダメージを促進する主因とされている。

日焼け止め剤の役割は皮膚損傷を誘発する紫外線を妨害し、日光浴中およびその後の皮膚の健康を維持することである。

ヒトの皮膚防護のため、多くの紫外線吸収剤が市販されているが、これらの多くは短波長範囲 (UVB : 290~320nm) を吸収するものであり、今までのところ自由に利用可能な長波長範囲 (UVA : 320~400nm) 吸収剤はほとんどない。

最も高頻度で使用されているのは 4-tert-ブチル-4'-メトキシジベンゾイルメタンであり、このフィルターは最大吸収が 358 nm にあるが、残念ながらこの物質は光に不安定である。

UVA 波照射は特に肌に深く浸透することからその危険性の認識が高まり、近年 UVA プロテクションをうたった製品への期待は増大している。そこで油性で様々な化粧品配合が可能で、かつ光に安定な UVA フィルター開発の必要性が起因となり、BASF Research Laboratories は開発を行い、2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステルが他の多くの物質から最終的に選定され、最後に要求された特性を有するユビナール A プラスとなった。

2 外国における使用状況

ユビナール A プラスは、新規物質であるため、2004 年 5 月現在 外国における使用販売実績は、インドネシアにおける 25kg のみである。

ただし、許可状況については、EU (欧州連合) において諮問機関である SCCNFP (The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products) 安全性評価を既に受けており、紫外線防止用化粧品への 10%単独使用、あるいは他の紫外線吸収剤との併用において、安全であるとの結論が 2003 年 10 月 20 日に出ており、Opinion of SCCNFP として発行されている。(参照：添付資料)

2005 年の第 1 四半期頃には、EU において化粧品の紫外線吸収剤のポジティブリスト (Adaptation to the Technical Progress to the Cosmetics Directive) に収載される予定である。

3. 特性及び他の成分との比較検討など

ユビナール A プラスの特性

- 新規 UVA 吸収剤
紫外線吸収は約 354nm を最大吸収とし 310~390nm の範囲である。(吸収曲線 図 1)
- 安定性
優れた光安定性 (表 2)
確実で効果の高いサンプロテクションが可能
- 配合自由度
他の UVB 吸収剤との相性が高く、併用より高い SPF 値が得られる
特許による配合制約がない
油溶性のため化粧品乳剤の油相にすばやく溶解し、その疎水性とオイルでの溶解性のため、特に耐水性組成 (ウォータープルーフ) に適する。

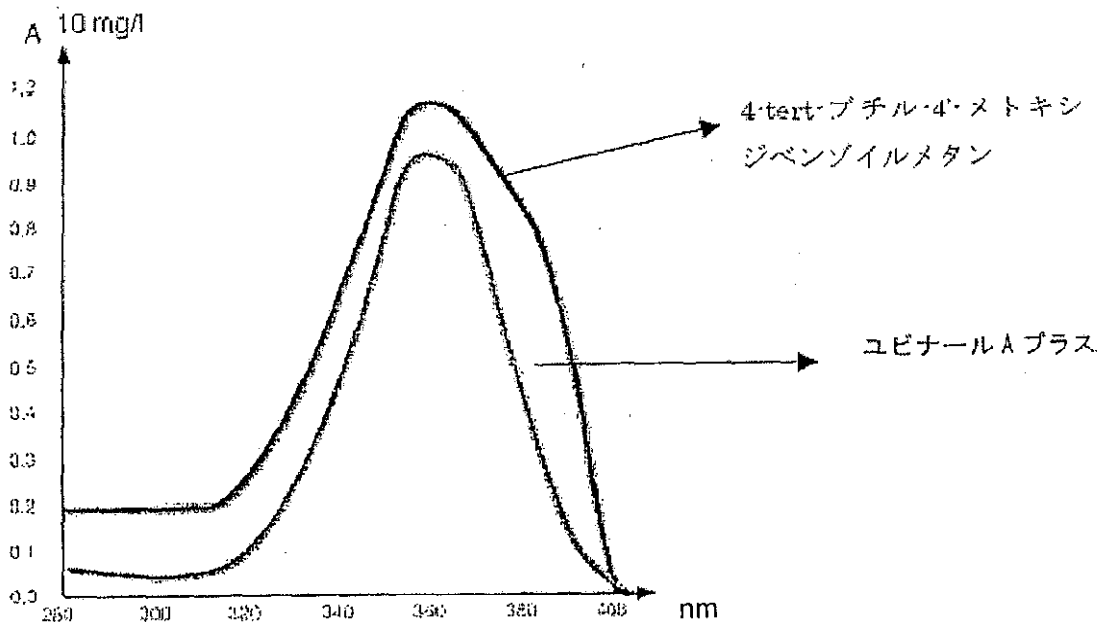


図 1 吸収曲線 ユビナール A プラスと既存 UVA フィルターとの比較
既存 UVA フィルターとほぼ同様の吸収を示す。

表2 ユビナールAプラスの光安定性試験結果

サンプル	光照射*	ユビナールAプラス濃度 (HPLC測定;外部標準法)	平均値 (%)
No.0	開始時の値	4mg/100mL	100%
No.1	2時間	4mg/100mL	98.75%
No.2	2時間	3.9mg/100mL	
No.3	4時間	3.9mg/100mL	97.50%
No.4	4時間	3.9mg/100mL	
No.5	6時間	3.9mg/100mL	97.50%
No.6	6時間	3.9mg/100mL	

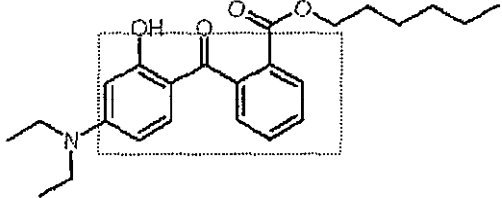
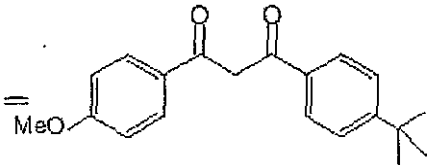
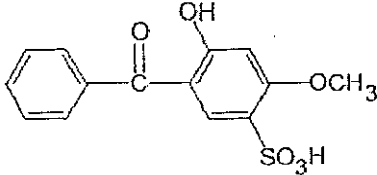
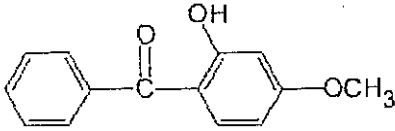
* GMED resp. 5400 kJcm²

6時間照射後、97.50%のユビナールAプラスが検出された。

また、ユビナールAプラスは、自社ラボでの安定性試験において、長期保存試験(25℃, 60% RH)で24ヶ月間、加速試験①(40℃, 75%RH)で6ヶ月間および加速試験②(50℃, 75%RH)で3ヶ月間、安定であったことが証明されている。

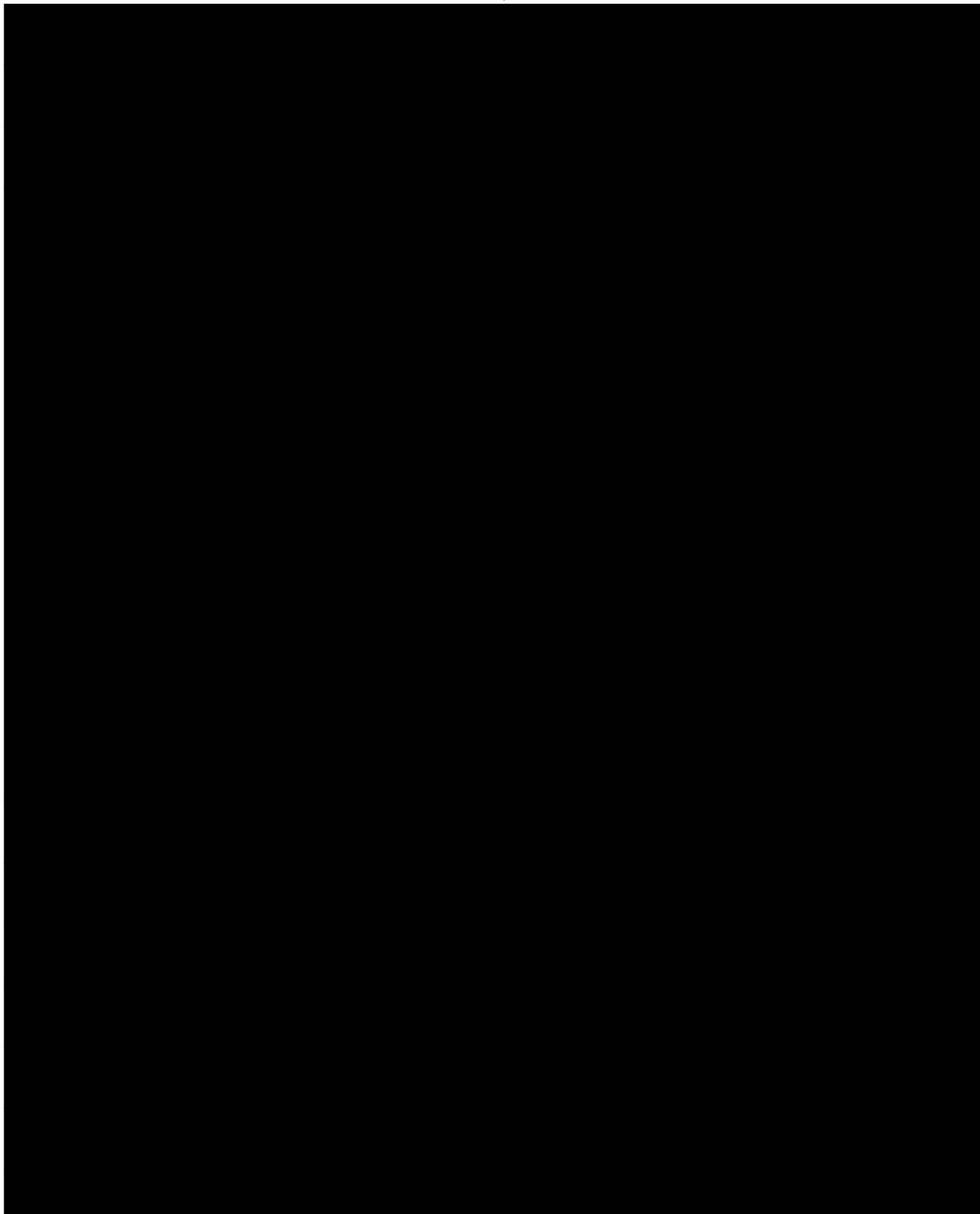
同様の基本骨格をもつ既存紫外線吸収剤

いずれも公定書及びポジティブリスト収載品であり、永く化粧品原料として問題なく使用されており、安全性も確認されている。

紫外線吸収剤	公定書	最大吸収	構造
ユビナール Aプラス		354 nm	
4-tert-ブチル-4'-メトキシジベンゾイルメタン	粧原基 ポジティブ リスト収載	358 nm	
ヒドロキシメトキシベンゾフェノン スルホン酸	粧配規 ポジティブ リスト収載	285 nm 323 nm	
2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン	粧原基 ポジティブ リスト収載	286 nm 323 nm	

□ 物理的・化学的性質等に関する資料

1 構造決定



(以下 4 枚不開示のため略)

2 物理化学的性質等

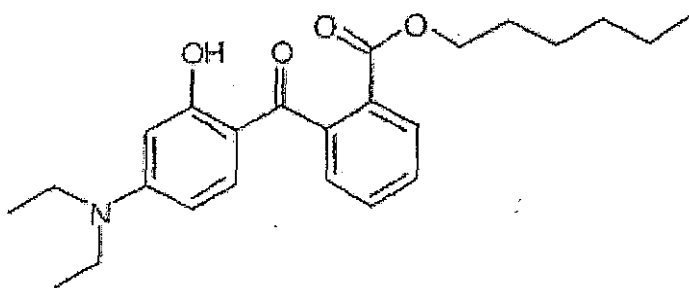
化学名： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル

INCI名： Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate

CAS No.： 302776-68-7

分子式と分子量： $C_{24}H_{31}NO_4$: 397.52

構造式：



ハ 安全性に関する資料

1 単回投与毒性

Wistar 系ラットにおける急性経口毒性試験

試験期間： 2000年4月28日～2000年10月10日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

－OECD 化学品テストガイドライン

No.423：急性経口毒性－急性毒性分類法、1996年3月22日承認

－委員会指令 96/54/EC、毒性測定法、パブリケーション No.L248、

B.1.Tris－急性毒性分類法、1996年9月30日

－U.S.EPA、健康影響試験ガイドライン OPPTS 870.1100

「急性経口毒性」1998年8月

試験動物： Wistar 系ラット 6匹 (雄3匹/雌3匹)

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

投与方法： 胃管による単回投与

用量： 2回蒸留水に 0.5%Tylose CB 30.000 (カルボキシメチルセルロースナトリウム)
を含有した被験物質調製液を 2,000mg/kg 体重

観察期間： 14日間

結果：

死亡したラットはいなかった。毒性の徴候は認められなかった。ラットの平均体重は試験期間を通して増加した。試験最後のラット剖検で異常は認められなかった。添付書類 4 および 5 参照。

LD₅₀： > 2,000mg/kg 体重

結論：

本試験条件下で、経口投与後の被験物質の中央致死量は雄および雌のラットで 2,000mg/kg 体重より高いことが認められた。

添付書類 4

死亡

雄	投与量 (mg/kg)	2000
	動物数	3
	14日間の観察	死亡例なし
雌	投与量 (mg/kg)	2000
	動物数	3
	14日間の観察	死亡例なし

最大発生の臨床症状

雄	投与量 (mg/kg)	2000
	動物数	3
	最大発生の臨床症状	異常所見なし
雌	投与量 (mg/kg)	2000
	動物数	3
	最大発生の臨床症状	異常所見なし

最大持続の臨床症状

雄	投与量 (mg/kg)	2000
	動物数	3
	最大持続の臨床症状	異常所見なし
雌	投与量 (mg/kg)	2000
	動物数	3
	最大持続の臨床症状	異常所見なし

添付書類 5

平均体重

	動物数	投与量 (mg/kg)	平均体重 (g)		
			第0日 (投与前)	第7日	第13日
雄	3	2000	172	216	235
雌	3	2000	182	197	201

病理学的検査

	投与量 (mg/kg)	動物 番号	死亡	屠殺	瀕死のため屠殺	臓器の異常 所見なし
雄	2000	461	—	○	—	○
		462	—	○	—	○
		463	—	○	—	○
雌	2000	383	—	○	—	○
		384	—	○	—	○
		385	—	○	—	○

2 反復投与毒性

Wistar 系ラットにおける亜慢性毒性試験—飼料による3ヵ月間投与

試験期間： 2000年3月6日～2001年3月14日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft

Experimental Toxicology and Ecology

67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

—OECD 化学品テストガイドライン、方法 No.408：亜慢性経口毒性—
げっ歯類；90日試験；1998年9月21日承認

—EC 委員会指令 87/302/EEC、1987年11月18日；パート B；毒性測定法、
慢性経口毒性；げっ歯類を用いた90日反復経口投与；Official Journal of
the European Communities No.L 133, p. 8-11, 1988

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

投与方法： 飼料による3ヵ月間経口投与

試験動物および用量： Wistar 系ラット雄10匹ずつの4群および雌10匹ずつの4群

第0群：飼料中に0ppm

第1群：飼料中に600ppm（雄：約51.7mg/kg体重/日、雌：約59.3mg/kg体重/日）

第2群：飼料中に3,000ppm（雄：約250.2mg/kg体重/日、雌：約288.0mg/kg体重/日）

第3群：飼料中に15,000ppm（雄：約1248.8mg/kg体重/日、雌：約1452.1mg/kg体重
/日）

検査手順：

オープンフィールドでの詳細な臨床的検査を投与期間開始前およびその後毎週実施した。

機能観察総合検査（FOB）および運動活性測定を投与期間終了間近で実施した。

眼科検査を投与期間の開始前および終了間近で実施した。

精子分析だけでなく臨床化学検査、血液学検査、および尿検査を投与期間終了間近に実施した。すべてのラットを肉眼による病理学検査によって評価し、組織病理学検査も実施した。検査の範囲は生殖器官への影響にも広げた。

結果：

臨床検査から被験物質に関連した影響は認められなかった。観察されたすべての所見が自然発生的なものであった。これは、明らかな臨床的徴候が発現した 49 日後に瀕死の状態で屠殺した高用量群の雄の場合も同様である。

臨床病理学的にも被験物質に関連した影響は認められなかった。

高用量群の雄および雌ラットにおける平均相対肝重量の有意な増加について、被験物質投与とのわずかな関連を完全に除外することはできないが、増加した重量に対する形態学的相関関係がないことにより、本症状が偶発的な所見であり、被験物質による有害作用ではないという仮定が強く支持される。また、絶対肝重量は高用量群で有意な変動がなかった一方、高用量群の投与終了時体重で、有意ではないものの、雄(-3.6%)、および雌 (-2.5%) の減少が見られたことも起因していると思われる。添付資料 6～9 参照。

観察されたすべての肉眼的病変および顕微鏡所見としては、1 症例のみで発現した所見、または対照ラットのみで発現した所見、または対照群と高用量群の雄および/または雌において低発現率および低重篤度で発現した所見であった。添付書類 10～13 参照。

したがって、これらの所見はすべて偶発的な発現であり、被験物質投与と関連しないものと考えられた。精子分析だけでなく生殖器官の広範な検査によって、妊娠障害の徴候は認められなかった。

結論：

従って本試験条件下で無毒性量 (NOAEL) は 15,000ppm (雄で 1248.8mg/kg 体重/日、雌で 1452.1mg/kg 体重/日) だった。

添付書類 6

絶対臓器重量—平均値 (雄)

試験群		第0群	第1群	第2群	第3群
飼料中の被験物質濃度 (ppm)		0	600	3,000	15,000
概算の投与量 (mg/kg/日)		0	51.7	250.2	1248.8
動物数		10	10	10	10
解剖時の体重 g	平均値	306.64	312.09	305.08	295.511
	S.D.	48.251	45.823	32.571	27.037
	N	10	10	10	9
肝臓 g	平均値	7.357	7.652	7.460	7.683
	S.D.	0.872	1.128	1.016	0.824
	N	10	10	10	9
腎臓 g	平均値	2.027	2.162	2.007	2.008
	S.D.	0.228	0.24	0.178	0.291
	N	10	10	10	9
精巣 g	平均値	3.081	3.132	3.073	3.214
	S.D.	0.489	0.443	0.269	0.202
	N	10	10	10	9
精巣上体 g	平均値	0.969	1.014	0.96	0.998
	S.D.	0.122	0.133	0.092	0.076
	N	10	10	10	9
前立腺 g	平均値	0.759	0.805	0.785	0.781
	S.D.	0.159	0.144	0.076	0.145
	N	10	10	10	9
心臓 g	平均値	0.921	0.963	0.87	0.901
	S.D.	0.105	0.129	0.094	0.088
	N	10	10	10	9
脾臓 g	平均値	0.522	0.507	0.497	0.514
	S.D.	0.109	0.076	0.057	0.082
	N	10	10	10	9
胸腺 mg	平均値	267.4	290.7	262.5	295.667
	S.D.	76.812	77.494	64.307	74.542
	N	10	10	10	9
脳 g	平均値	1.921	1.926	1.917	1.869
	S.D.	0.081	0.1	0.06	0.056
	N	10	10	10	9
副腎 mg	平均値	62.0	61.8	57.2	61.444
	S.D.	7.513	7.7	5.391	10.37
	N	10	10	10	9

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$: Kruskal-Wallis-H- + Wilcoxon Test
two-sided

添付書類 7

絶対臓器重量—平均値 (雌)

試験群		第0群	第1群	第2群	第3群
飼料中の被験物質濃度 (ppm)		0	600	3,000	15,000
概算の投与量 (mg/kg/日)		0	59.3	288.0	1452.1
動物数		10	10	10	10
解剖時の体重 g	平均値	198.04	191.80	190.82	193.050
	S.D.	13.247	13.216	8.035	14.399
	N	10	10	10	10
肝臓 g	平均値	5.322	5.194	5.151	5.711
	S.D.	0.370	0.370	0.399	0.396
	N	10	10	10	10
腎臓 g	平均値	1.487	1.475	1.402	1.481
	S.D.	0.055	0.096	0.09	0.096
	N	10	10	10	10
卵巣 mg	平均値	92.4	97.4	100.9	88.6
	S.D.	13.566	15.672	17.387	7.919
	N	10	10	10	10
子宮 g	平均値	0.869	0.705	0.66	0.646
	S.D.	0.772	0.303	0.326	0.212
	N	10	10	10	10
心臓 g	平均値	0.692	0.768	0.701	0.721
	S.D.	0.113	0.048	0.036	0.047
	N	10	10	10	10
脾臓 g	平均値	0.57	0.434	0.376 *	0.392
	S.D.	0.46	0.05	0.048	0.043
	N	10	10	10	10
胸腺 mg	平均値	303.3	304.1	283.4	297.9
	S.D.	45.966	47.229	22.297	45.396
	N	10	10	10	10
脳 g	平均値	1.848	1.851	1.839	1.849
	S.D.	0.085	0.06	0.064	0.078
	N	10	10	10	10
副腎 mg	平均値	80.1	77.1	76.4	82.7
	S.D.	6.641	6.624	10.501	10.51
	N	10	10	10	10

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$: Kruskal-Wallis-H + Wilcoxon Test
two-sided

添付書類 8

相対臓器重量—平均値 (雄)

試験群		第0群	第1群	第2群	第3群
飼料中の被験物質濃度 (ppm)		0	600	3,000	15,000
概算の投与量 (mg/kg/日)		0	51.7	250.2	1248.8
動物数		10	10	10	10
解剖時の体重 %	平均値	100.0	100.0	100.0	100.0
	N	10	10	10	9
肝臓 %	平均値	2.423	2.473	2.441	2.598 **
	S.D.	0.224	0.344	0.129	0.101
	N	10	10	10	9
腎臓 %	平均値	0.67	0.7	0.66	0.677
	S.D.	0.084	0.083	0.039	0.04
	N	10	10	10	9
精巣 %	平均値	1.005	1.006	1.011	1.092 *
	S.D.	0.052	0.066	0.069	0.077
	N	10	10	10	9
精巣上体 %	平均値	0.319	0.327	0.317	0.339
	S.D.	0.023	0.029	0.033	0.03
	N	10	10	10	9
前立腺 %	平均値	0.249	0.261	0.26	0.267
	S.D.	0.042	0.048	0.037	0.063
	N	10	10	10	9
心臓 %	平均値	0.304	0.31	0.285	0.305
	S.D.	0.033	0.024	0.012	0.012
	N	10	10	10	9
脾臓 %	平均値	0.173	0.166	0.164	0.174
	S.D.	0.041	0.037	0.017	0.019
	N	10	10	10	9
胸腺 %	平均値	0.087	0.092	0.086	0.1
	S.D.	0.018	0.018	0.018	0.022
	N	10	10	10	9
脳 %	平均値	0.642	0.628	0.635	0.636
	S.D.	0.114	0.085	0.066	0.053
	N	10	10	10	9
副腎 %	平均値	0.021	0.02	0.019	0.021
	S.D.	0.004	0.003	0.002	0.002
	N	10	10	10	9

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$: Kruskal-Wallis-H + Wilcoxon Test
two-sided

添付書類 9

相对臓器重量—平均值 (雌)

試験群		第0群	第1群	第2群	第3群
飼料中の被験物質濃度 (ppm)		0	600	3,000	15,000
概算の投与量 (mg/kg/日)		0	59.3	288.0	1452.1
動物数		10	10	10	10
解剖時の体重 %	平均值	100.0	100.0	100.0	100.0
	N	10	10	10	10
肝臓 %	平均值	2.694	2.715	2.701	2.965 **
	S.D.	0.202	0.209	0.196	0.195
	N	10	10	10	10
腎臓 %	平均值	0.754	0.772	0.735	0.769
	S.D.	0.057	0.069	0.033	0.049
	N	10	10	10	10
卵巢 %	平均值	0.047	0.051	0.053	0.046
	S.D.	0.006	0.006	0.007	0.004
	N	10	10	10	10
子宮 %	平均值	0.426	0.367	0.346	0.339
	S.D.	0.348	0.15	0.172	0.121
	N	10	10	10	10
心臓 %	平均值	0.351	0.402 **	0.367	0.374
	S.D.	0.06	0.03	0.013	0.018
	N	10	10	10	10
脾臓 %	平均值	0.286	0.227	0.197 *	0.203
	S.D.	0.223	0.025	0.019	0.016
	N	10	10	10	10
胸腺 %	平均值	0.154	0.158	0.149	0.154
	S.D.	0.023	0.02	0.014	0.021
	N	10	10	10	10
脳 %	平均值	0.935	0.968	0.965	0.962
	S.D.	0.052	0.053	0.049	0.083
	N	10	10	10	10
副腎 %	平均值	0.041	0.04	0.04	0.043
	S.D.	0.003	0.004	0.006	0.006
	N	10	10	10	10

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$: Kruskal-Wallis-H + Wilcoxon Test
two-sided

添付書類 10

肉眼的病変

試験群	雄				雌			
	第0群	第1群	第2群	第3群	第0群	第1群	第2群	第3群
飼料中の被験物質濃度 (ppm)	0	600	3,000	15,000	0	600	3,000	15,000
概算の投与量 (mg/kg/日)	0	51.7	250.2	1248.8	0	59.3	288.0	1452.1
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
異常所見のない動物	9	6	9	7	8	8	9	10
腺胃								
びらん 充血	1	1	1		1			
肝臓								
嚢胞		1						
肺								
変色				1				
腎臓								
嚢胞 肥大 表面の顆粒形成				1 1 1				
尿管								
拡張				1				
精嚢								
縮小				1				
前立腺								
縮小				1				
子宮								
拡張					1	2	1	
膣								
拡張					1			
胸腺								
縮小		1						
腸骨リンパ節								
肥大		1						
皮膚								
薄毛				1				

添付書類 11

顕微鏡所見 (1)

試験群	雄				雌				
	第0群	第1群	第2群	第3群	第0群	第1群	第2群	第3群	
飼料中の被験物質濃度 (ppm)	0	600	3,000	15,000	0	600	3,000	15,000	
概算の投与量 (mg/kg/日)	0	51.7	250.2	1248.8	0	59.3	288.0	1452	
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
舌下腺	グレード	10	—	—	10	10	—	—	10
顎下腺		10	—	—	10	10	—	—	10
食道		10	—	—	10	10	—	—	10
噴門洞		10	—	—	10	10	—	—	10
角化性嚢胞 限局性潰瘍形成	P	1							
腺胃		10	1	1	10	10	—	—	10
限局性びらん	P	1	1	1		1			
十二指腸		10	—	—	10	10	—	—	10
空腸		10	—	—	10	10	—	—	10
盲腸		10	—	—	10	10	—	—	10
結腸		10	—	—	10	10	—	—	10
直腸		10	—	—	10	10	—	—	10
肝臓		10	1	—	10	10	—	—	10
リンパ様細胞浸潤	1	1	1		1			1	
限局性壊死	2		1						
肉芽腫	1				1			1	
脾臓		10	—	—	10	10	—	—	10
小葉萎縮	1	1			1				
小葉萎縮	2	1							
気管		10	—	—	10	10	—	—	10
慢性肺炎	1	1	2	1	1		1		
肺胞内骨	P		1						
腎臓		10	—	—	10	10	—	—	10
皮質嚢胞	P	1			1			1	
好塩基性細管	1	3							
リンパ様細胞浸潤	1			1					
の石灰化	1				6			8	
腎乳頭の石灰化	1			1					

グレード	重篤度	数	大きさ
1	極めて軽度	極めて少量	極めて小さい
2	軽度	少量	小さい
3	中等度	中等量	中位
4	高度	多量	大きい
5	極めて高度	極めて多量	極めて大きい
P	グレードを使用しない場合		

添付書類 12

顕微鏡所見 (2)

試験群	雄				雌				
	第0群	第1群	第2群	第3群	第0群	第1群	第2群	第3群	
飼料中の被験物質濃度 (ppm)	0	600	3,000	15,000	0	600	3,000	15,000	
概算の投与量 (mg/kg/日)	0	51.7	250.2	1248.8	0	59.3	288.0	1452	
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
腎臓 (続き)	グレード	10	—	—	10	10	—	—	10
腎盂の石灰化	2			1					
腎嚢胞	5			1					
腎盂拡張	P	1		1					
尿管		—	—	—	1	—	—	—	
拡張	2			1					
膀胱		10	—	—	10	10	—	—	10
精巣		10	—	—	10	—	—	—	
精子形成変化	3			1					
精巣上体		10	—	—	10	—	—	—	
内腔の壊死組織片	4			1					
精嚢		9	—	—	10	—	—	—	
萎縮	3			1					
凝固腺		9	—	—	10	—	—	—	
萎縮	3			1					
前立腺		9	—	—	10	—	—	—	
形成不能	2			1					
慢性の炎症	2	1		1					
卵巣		—	—	—	10	—	—	10	
卵管					10	—	—	10	
子宮		—	—	—	10	2	1	10	
子宮角拡張	P				5	2	1	4	
嚢胞	P				1			1	
膣		—	—	—	10	—	—	10	
拡張	P				1				
乳腺		8	—	—	6	10	—	—	9
心臓		10	—	—	10	10	—	—	10
限局性壊死	3			1					
大動脈		10	—	—	10	10	—	—	10
骨髓(大腿骨)		10	—	—	10	10	—	—	10

グレード	重篤度	数	大きさ
1	極めて軽度	極めて少量	極めて小さい
2	軽度	少量	小さい
3	中等度	中等量	中位
4	高度	多量	大きい
5	極めて高度	極めて多量	極めて大きい
P	グレードを使用しない場合		

添付書類 13

顕微鏡所見 (3)

試験群	雄				雌				
	第0群	第1群	第2群	第3群	第0群	第1群	第2群	第3群	
飼料中の被験物質濃度 (ppm)	0	600	3,000	15,000	0	600	3,000	15,000	
概算の投与量 (mg/kg/日)	0	51.7	250.2	1248.8	0	59.3	288.0	1452	
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
脾臓	グレード	10	—	—	10	10	—	—	10
胸腺		10	1	—	10	10	—	—	10
リンパ球枯渇	3				1				
腸間膜リンパ節		10	—	—	10	10	—	—	10
肥満細胞蓄積	3				1				
リンパ嚢胞	P								1
腸骨リンパ節									
リンパ嚢胞	P		1						
リンパ様増殖	3		1						
下顎リンパ節		10	—	—	10	10	—	—	10
脳		10	—	—	10	10	—	—	10
限局性軟化症	2				1				
頸髄		10	—	—	10	10	—	—	10
胸髄		10	—	—	10	10	—	—	10
腰髄		10	—	—	9	10	—	—	10
坐骨神経		10	—	—	10	10	—	—	10
視神経		10	—	—	10	10	—	—	10
眼		10	—	—	10	10	—	—	10
副腎皮質		10	—	—	10	10	—	—	10
皮質外小結	P	2			3	5			2
副腎髄質		10	—	—	10	10	—	—	10
甲状腺		10	—	—	10	10	—	—	10
副甲状腺		8	—	—	10	10	—	—	10
下垂体		10	—	—	10	10	—	—	10
末梢部の嚢胞	P	1							
中間部の嚢胞	P	2							1
胸骨および髄		10	—	—	10	10	—	—	10
大腿骨および股関節		10	—	—	10	10	—	—	10
骨格筋		10	—	—	10	10	—	—	10
限局性線維壊死	3	1							
皮膚		10	—	—	10	10	—	—	10

グレード	重篤度	数	大きさ
1	極めて軽度	極めて少量	極めて小さい
2	軽度	少量	小さい
3	中等度	中等量	中位
4	高度	多量	大きい
5	極めて高度	極めて多量	極めて大きい
P	グレードを使用しない場合		

3 生殖発生毒性

Wistar 系ラットにおける出生前の発生毒性試験—経口投与（胃管強制投与）

試験期間： 2001年8月24日～2001年6月6日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

- OECD 化学品テストガイドライン、最新ガイドライン提議
414：出生前発達毒性試験（2000年6月草案）
- EC 委員会指令 87/302/EEC、1987年11月18日；パートB；毒性測定法、
催奇性試験（げっ歯類および非げっ歯類）；Official Journal of the
European Communities No.L 133, p. 24-26, 1988
- 日本/MHW：化学品毒性試験ガイドライン、催奇性試験、MITI/MHW、
1987（翻訳版）、p. 212-213

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

投与方法： 胃管による油性懸濁液（標準投与用量：5mL/kg 体重）

投与期間： 交尾後6日目から19日目まで

試験動物および用量： 交尾した Wistar 系雌ラット 25匹ずつの4群：

- 対照群： 雌 25匹、溶媒のみ投与（オリーブオイル Ph. Eur./DAB）
- 試験群 1：40mg/kg 体重/日
- 試験群 2：200 mg/kg 体重/日
- 試験群 3：1,000 mg/kg 体重/日

実験手順：

ラットの飼料消費および体重を試験期間を通して定期的に記録した。ラットの健康状態を毎日確認した。

交尾20日後、すべての雌を屠殺し、肉眼による病理学検査（閉じた子宮および胎盤の重量測定を含む）によって評価した。

各雌親について黄体を計数し、着床部位の数と分布（吸収、生存、および死亡胎児として区分）を測定した。

胎児を子宮から取り出し、性別区分、重量測定、さらに外部所見について調査した。そして各同腹子の約半数の胎児について軟組織所見を調べ、残りの胎児について骨格（軟骨を含む）所見を調べた。

結果：

試験群 1 (40mg/kg 体重/日)：

- ・雌親、妊娠パラメーターおよび胎児に対する被験物質と関連した影響はない。

試験群 2 (200mg/kg/日)：

- ・ラット 21 匹に、交尾後 8～19 日目の投与期間における胃管投与直後の一時的唾液過多。
- ・わずかだが統計的に有意な投与開始時の飼料消費量低下 (交尾後 6～8 日目)。
- ・雌親、妊娠パラメーター、あるいは胎児に対する被験物質と関連した他の影響はない。

試験群 3 (1,000mg/kg 体重/日)：

- ・ラット 25 匹に、交尾後 7～19 日目の投与期間に胃管投与直後の一時的唾液過多。
- ・ラット 4 匹に、交尾後 9 日以降、毛への尿の付着。
- ・交尾後 6～13 日目での統計的に有意な飼料消費量の減少 (交尾後 6～19 日で計算した場合、相応する対照値より約 7%低い)。
- ・体重増加のわずかな減少 (全投与期間 (交尾後 6～19 日目) で計算した場合、統計的有意ではないが、対照値より約 8%低い)。
- ・補正体重増のわずかな低下 (統計的有意でないが対照値より約 11%低い)。
- ・妊娠パラメーターあるいは胎児に対する被験物質と関連した影響はない。

考察：

妊娠した Wistar 系ラットへの着床から分娩予定前日まで (交尾後 6～19 日目まで) の経口投与によって母体毒性の徴候が 1,000 mg/kg 体重/日で誘発された。母体毒性はこの群で一時的唾液過多、交尾後 6～13 日目での飼料摂取低下、ならびに絶対的および補正した体重増加における軽度障害によって示された。

低用量群および中用量群 (40 または 200 mg/kg 体重/日) で被験物質誘発母体毒性の徴候は発現しなかった。200mg/kg 体重/日における投与開始時の一時的な臨床的所見 (唾液過多、および体重データ上では影響の出していない交尾後 6～8 日目での飼料摂取量減少) は被験物質の刺激性あるいは食味不良性に関連している可能性がかなり高い。

これらは有害な所見とは評価されず、母体毒性の徴候であるとは考えられない。

妊娠パラメーターについて、被験物質によって誘発された投与量と関連する影響、および出生前発達毒性の徴候はなく、特に被験物質によって誘発された催奇性の徴候は高用量群 (1,000 mg/kg 体重/日) まで認められなかった。添付書類 14～29 参照。

結論：

これらの結果に基づき、母体毒性の無毒量 (NOAEL) は 200mg/kg 体重/日であり、出生前の発生毒性は 1,000 mg/kg 体重/日である。

添付書類 14

懐胎期間の母体臨床所見の総括

	群	懐胎日数																			計	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		20
雌動物数	0	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	1	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	2	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	3	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
正常所見	0	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	1	25	25	25	25	25	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	25
	2	25	25	25	25	25	25	24	24	22	23	22	21	19	18	16	12	13	12	24	25	25
	3	25	25	25	25	25	19	16	10	7	11	8	2	3	3	10	7	8	10	23	25	25
口腔内 (投与後の流涎)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	2	3	3	5	6	8	12	11	12	0	21
	3	0	0	0	0	0	0	6	9	14	16	14	16	22	21	22	14	17	17	15	0	25
皮膚/毛 (脱毛)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
毛への尿 の付着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	2	2	3	3	1	1	1	1	1	2	4

妊娠中の平均子宮重量および正味の母体体重変化 (g)

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
① 妊娠子宮重量	平均値	53.9 D	55.4	52	53.2
	S.D.	13.62	7.49	10.66	13.29
	N	25	23	23	22
② CARCASS (解剖時の体重-①)	平均値	241.1 D	241.9	242.7	236
	S.D.	14.01	14.84	11.13	11.87
	N	25	23	23	22
③ 6日目からの正味の 体重変化 (②-6日目の体重)	平均値	25.5 D	25.4	25.4	22.6
	S.D.	7.11	9.13	7.42	8.56
	N	25	23	23	22

Statistics: D=Dunnett-test (two-sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

母体剖検所見の総括

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
雌動物数	N	25	25	25	25
正常所見	N	23	25	24	24
	%	92	100	96	96
出血性胸腺	N	2	0	1	0
	%	8.0	0.0	4.0	0.0
子宮留水症	N	0	0	0	1
	%	0.0	0.0	0.0	4.0

添付書類 15

生殖データの総括

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
交尾後の雌動物数	N	25	25	25	25
妊娠数	N	25	23	23	22
受胎率	%	100	92	92	88
流産数	N	0	0	0	0
早産数	N	0	0	0	0
生存胎児をもつ母動物数	N	25	23	23	21
胎児全吸収の母動物数	N	0	0	0	1
母動物の死亡数	N	0 Fi	0	0	0
	%	0.0	0.0	0.0	0.0
解剖時の妊娠数	N	25 Fi	23	23	22
	%	100	92	92	88
黄体数	平均値	12.1 D	12.9	12.5	12.2
	S.D.	1.47	2.40	2.73	1.97
	合計	302	296	288	269
着床部位数	平均値	10.8 D	11.4	11.0	10.7
	S.D.	2.87	1.24	2.29	2.53
	合計	270	263	254	235
着床前の吸収率	平均値%	11.5 D	9.5	10.5	10.4
	S.D.	21.16	12.56	16.77	20.04
着床後の吸収率	平均値%	4.8 D	5.7	9.4	9.6
	S.D.	5.51	6.62	9.53	21.3
吸収胚数 : 総数	平均値	0.6 D	0.7	1.0	0.6
	S.D.	0.65	0.78	1.07	0.85
	合計	14	15	24	14
: 前期	平均値%	4.8 D	5.7	9.4	9.6
	S.D.	5.51	6.62	9.53	21.3
	平均値	0.5 D	0.6	0.9	0.6
: 後期	S.D.	0.59	0.66	1.04	0.85
	合計	13	14	21	14
	平均値%	4.5 D	5.3	8.2	9.6
: 後期	S.D.	5.00	5.68	9.11	21.3
	平均値	0.0 D	0.0	0.1	0.0
	S.D.	0.20	0.21	0.34	0.00
: 後期	合計	1	1	3	0
	平均値%	0.3 D	0.4	1.3	0.0
	S.D.	1.67	1.74	3.34	0.00
死亡胎児数	N	0	0	0	0
生存胎児数 : 総数	平均値	10.2 D	10.8	10.0	10.5
	S.D.	2.76	1.41	2.28	1.29
	合計	256	248	230	221
: 雌	平均値%	95.2 D	94.3	90.6	94.7
	S.D.	5.51	6.62	9.53	6.96
	平均値	5.4 D	5.5	5.7	5.1
: 雄	S.D.	2.72	1.81	1.82	1.59
	合計	135	127	131	108
	平均値%	47.9 D	49.0	51.7	46.2
: 雄	S.D.	20.86	16.64	13.84	13.09
	平均値	4.8 D	5.3	4.3	5.4
	S.D.	2.32	2.42	1.72	1.72
: 雄	合計	121	121	99	113
	平均値%	47.2 D	45.3	38.8	48.4
	S.D.	20.47	18.18	12.06	14.09
生存雌胎児率	%	52.7	51.2	57.0	48.9
生存雄胎児率	%	47.3	48.8	43.0	51.1

Statistics: D=Dunnnett-test (two-sided) Fi=Fisher's exact test (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 16

平均胎盤重量および平均胎児重量（1腹あたり）

		試験群	第0群	第1群	第2群	第3群
		投与量	0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
胎盤重量 (g)	全生存胎児	平均値	0.42 D	0.40	0.38	0.40
		S.D.	0.099	0.063	0.047	0.033
		N	25	23	23	21
	雄胎児	平均値	0.43 D	0.41	0.39	0.41
		S.D.	0.098	0.083	0.046	0.034
		N	24	23	23	21
	雌胎児	平均値	0.40 D	0.39	0.37	0.39
		S.D.	0.058	0.064	0.052	0.037
		N	24	23	23	21
胎児体重 (g)	全生存胎児	平均値	3.4 D	3.2	3.3	3.4
		S.D.	0.41	0.23	0.24	0.24
		N	25	23	23	21
	雄胎児	平均値	3.5 D	3.3	3.4	3.4
		S.D.	0.41	0.24	0.2	0.26
		N	24	23	23	21
	雌胎児	平均値	3.2 D	3.1	3.2	3.3
		S.D.	0.19	0.25	0.30	0.25
		N	24	23	23	21

Statistics: D=Dunnett-test (two-sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

分類可能な胎児外表所見の総括

		試験群	第0群	第1群	第2群	第3群
		投与量	0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
1腹あたり(胎児)の評価		N	25	23	23	21
各胎児の評価		N	256	248	230	221
生存胎児		N	256	248	230	221
死亡胎児		N	0	0	0	0
分類可能な 総外表奇形数	: 発現胎児数	N	2	2	0	0
		%	0.8	0.8	0.0	0.0
	: 発現腹数	N	2 Fi	2	0	0
		%	8.0	8.7	0.0	0.0
	: 1腹あたりの発現	平均値%	0.9 Wi	0.8	0.0	0.0
		S.D.	3.14	2.83	0.00	0.00
分類可能な 総外表変異数	: 発現胎児数	N	0	0	0	0
		%	0.0	0.0	0.0	0.0
	: 発現腹数	N	0 Fi	0	0	0
		%	0.0	0.0	0.0	0.0
	: 1腹あたりの発現	平均値%	0.0 Wi	0.0	0.0	0.0
		S.D.	0.00	0.00	0.00	0.00

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 17

分類可能の胎児外表奇形の総括

	試験群 投与量	第0群				第1群				第2群				第3群			
		0 mg/kg BW/日		40 mg/kg BW/日		200 mg/kg BW/日		1,000 mg/kg BW/日									
1腹あたり(胎児)の評価	N	25		23		23		21									
各胎児の評価	N	256		248		230		221									
生存胎児	N	256		248		230		221									
死亡胎児	N	0		0		0		0									
全身浮腫	発現胎児数	N	0		1		0		0								
	%	%	0.0		0.4		0.0		0.0								
	発現腹数	N	0 Fi		1		0		0								
	%	%	0.0		4.3		0.0		0.0								
1腹あたりの発現率	平均値%	0.0 Wi		0.4		0.0		0.0									
	S.D.	0.00		1.74		0.00		0.00									
臍帯ヘルニア	発現胎児数	N	1		0		0		0								
	%	%	0.4		0.0		0.0		0.0								
	発現腹数	N	1 Fi		0		0		0								
	%	%	4.0		0.0		0.0		0.0								
1腹あたりの発現率	平均値%	0.5 Wi		0.0		0.0		0.0									
	S.D.	2.50		0.00		0.00		0.00									
無眼球	発現胎児数	N	0		1		0		0								
	%	%	0.0		0.4		0.0		0.0								
	発現腹数	N	0 Fi		1		0		0								
	%	%	0.0		4.3		0.0		0.0								
1腹あたりの発現率	平均値%	0.0 Wi		0.5		0.0		0.0									
	S.D.	0.00		2.32		0.00		0.00									
尾の短縮	発現胎児数	N	1		0		0		0								
	%	%	0.4		0.0		0.0		0.0								
	発現腹数	N	1 Fi		0		0		0								
	%	%	4.0		0.0		0.0		0.0								
1腹あたりの発現率	平均値%	0.4 Wi		0.0		0.0		0.0									
	S.D.	2.00		0.00		0.00		0.00									
分類可能の 総外表奇形数	発現胎児数	N	2		2		0		0								
	%	%	0.8		0.8		0.0		0.0								
	発現腹数	N	2 Fi		2		0		0								
	%	%	8.0		8.7		0.0		0.0								
1腹あたりの発現率	平均値%	0.9 Wi		0.8		0.0		0.0									
	S.D.	3.14		2.83		0.00		0.00									

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)
*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

分類可能の胎児外表変異の総括

	試験群 投与量	第0群		第1群		第2群		第3群		
		0 mg/kg BW/日		40 mg/kg BW/日		200 mg/kg BW/日		1,000 mg/kg BW/日		
1腹あたり(胎児)の評価	N	25		23		23		21		
各胎児の評価	N	256		248		230		221		
生存胎児	N	256		248		230		221		
死亡胎児	N	0		0		0		0		
分類可能の 総外表変異数	発現胎児数	N	0		0		0		0	
	%	%	0.0		0.0		0.0		0.0	
	発現腹数	N	0 Fi		0		0		0	
	%	%	0.0		0.0		0.0		0.0	
1腹あたりの発現率	平均値%	0.0 Wi		0.0		0.0		0.0		
	S.D.	0.00		0.00		0.00		0.00		

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)
*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 18

分類不能の胎児外表所見の総括

	試験群 投与量	第0群		第1群		第2群		第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日				
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21				
各胎児の評価	N	256	248	230	221				
生存胎児	N	256	248	230	221				
死亡胎児	N	0	0	0	0				
胎盤周辺の血餅	発現胎児数	N	0	0	1	0			
		%	0.0	0.0	0.4	0.0			
	発現腹数	N	0 Fi	0	1	0			
		%	0.0	0.0	4.3	0.0			
1腹あたりの発現率	平均値%	0.0 Wi	0.0	0.5	0.0				
	S.D.	0.00	0.00	2.61	0.00				
羊水過多症	発現胎児数	N	1	3	0	0			
		%	0.4	1.2	0.0	0.0			
	発現腹数	N	1 Fi	2	0	0			
		%	4.0	8.7	0.0	0.0			
1腹あたりの発現率	平均値%	4.0 Wi	1.1	0.0	0.0				
	S.D.	20.00	3.88	0.00	0.00				
分類不能の 総外表所見数	発現胎児数	N	1	3	1	0			
		%	0.4	1.2	0.4	0.0			
	発現腹数	N	1 Fi	2	1	0			
		%	4.0	8.7	4.3	0.0			
1腹あたりの発現率	平均値%	4.0 Wi	1.1	0.5	0.0				
	S.D.	20.00	3.88	2.61	0.00				

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

分類可能の胎児軟組織所見の総括

	試験群 投与量	第0群		第1群		第2群		第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日				
1腹あたり(胎児)の評価	N	24	23	23	21				
各胎児の評価	N	119	120	110	105				
生存胎児	N	119	120	110	105				
死亡胎児	N	0	0	0	0				
分類可能の総 軟組織奇形数	発現胎児数	N	1	0	0	0			
		%	0.8	0.0	0.0	0.0			
	発現腹数	N	1 Fi	0	0	0			
		%	4.2	0.0	0.0	0.0			
1腹あたりの発現率	平均値%	2.1 Wi	0.0	0.0	0.0				
	S.D.	10.21	0.00	0.00	0.00				
分類可能の総 軟組織変異数	発現胎児数	N	9	7	11	9			
		%	7.6	5.8	10.0	8.6			
	発現腹数	N	8 Fi	6	8	7			
		%	33.0	26.0	35.0	33.0			
1腹あたりの発現率	平均値%	8.7 Wi	6.5	12.8	9.2				
	S.D.	14.25	11.82	22.29	17.64				

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 19

分類可能の胎児の軟組織奇形の総括

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	24	23	23	21	
各胎児の評価	N	119	120	110	105	
生存胎児	N	119	120	110	105	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
右心症	発現胎児数	N %	1 0.8	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.2	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.1 Wi 10.21	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
	分類可能の総軟組織奇形数	N %	1 0.8	0 0.0	0 0.0	0 0.0
分類可能の総軟組織奇形数	発現胎児数	N %	1 0.8	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.2	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.1 Wi 10.21	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

分類可能の胎児の軟組織変異の総括

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	24	23	23	21	
各胎児の評価	N	119	120	110	105	
生存胎児	N	119	120	110	105	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
腎盂拡張	発現胎児数	N %	9 7.6	6 5.0	11 10.0	9 8.6
	発現腹数	N %	8 Fi 33.0	5 22.0	8 35.0	7 33.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	8.7 Wi 14.25	5.7 11.51	12.8 22.29	9.2 17.64
	尿管拡張	N %	1 0.8	1 0.8	3 2.7	1 1.0
尿管拡張	発現胎児数	N %	1 0.8	1 0.8	3 2.7	1 1.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.2	1 4.3	2 8.7	1 4.8
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.8 Wi 4.08	0.9 4.17	3.0 11.05	1.2 5.46
	分類可能の総軟組織変異数	N %	9 7.6	7 5.8	11 10.0	9 8.6
分類可能の総軟組織変異数	発現胎児数	N %	9 7.6	7 5.8	11 10.0	9 8.6
	発現腹数	N %	8 Fi 33.0	6 26.0	8 35.0	7 33.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	8.7 Wi 14.25	6.5 11.82	12.8 22.29	9.2 17.64

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 20

分類不能の胎児軟組織所見の総括

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	24	23	23	21	
各胎児の評価	N	119	120	110	105	
生存胎児	N	119	120	110	105	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
分類不能の総 軟組織所見数	発現胎児数	N	0	0	0	0
		%	0.0	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N	0 Fi	0	0	0
		%	0.0	0.0	0.0	0.0
	1腹あたりの発現率	平均値%	0.0 Wi	0.0	0.0	0.0
		S.D.	0.00	0.00	0.00	0.00

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

分類可能の胎児骨格所見の総括

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21	
各胎児の評価	N	137	128	120	116	
生存胎児	N	137	128	120	116	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
分類可能の総 骨格奇形数	発現胎児数	N	3	0	3	1
		%	2.2	0.0	2.5	0.9
	発現腹数	N	3 Fi	0	3	1
		%	12.0	0.0	13.0	4.8
	1腹あたりの発現率	平均値%	2.3 Wi	0.0	2.3	0.8
		S.D.	6.60	0.00	6.15	3.64
分類可能の総 骨格変異数	発現胎児数	N	135	126	120	113
		%	99.0	98.0	100.0	97.0
	発現腹数	N	25 Fi	23	23	21
		%	100.0	100.0	100.0	100.0
	1腹あたりの発現率	平均値%	98.7 Wi	98.2	100.0	97.2
		S.D.	4.61	6.13	0.00	8.87

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 21

分類可能の胎児骨格奇形の総括

	試験群 投与量	第0群		第1群		第2群		第3群	
		0 mg/kg BW/日		40 mg/kg BW/日		200 mg/kg BW/日		1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	25		23		23		21	
各胎児の評価	N	137		128		120		116	
生存胎児	N	137		128		120		116	
死亡胎児	N	0		0		0		0	
胸椎奇形	発現胎児数	N	1	0	0	0	0	0	0
		%	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N	1 Fi	0	0	0	0	0	0
	%		4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値%		1.0 Wi	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S.D.		5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
仙椎奇形	発現胎児数	N	2	0	1	0	0	0	0
		%	1.5	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N	2 Fi	0	1	0	0	0	0
	%		8.0	0.0	4.3	0.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値%		1.3 Wi	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0
	S.D.		4.61	0.00	3.48	0.00	0.00	0.00	0.00
肩甲骨奇形	発現胎児数	N	0	0	1	0	0	0	0
		%	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N	0 Fi	0	1	0	0	0	0
	%		0.0	0.0	4.3	0.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値%		0.0 Wi	0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0
	S.D.		0.00	0.00	4.17	0.00	0.00	0.00	0.00
肋間枝	発現胎児数	N	1	0	0	0	0	0	0
		%	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N	1 Fi	0	0	0	0	0	0
	%		4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値%		1.0 Wi	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S.D.		5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
肋間肋骨	発現胎児数	N	1	0	0	0	0	0	0
		%	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N	1 Fi	0	0	0	0	0	0
	%		4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値%		1.0 Wi	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S.D.		5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
上腕骨奇形	発現胎児数	N	1	0	1	1	1	1	1
		%	0.7	0.0	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9
	発現腹数	N	1 Fi	0	1	1	1	1	1
	%		4.0	0.0	4.3	4.3	4.8	4.8	4.8
1腹あたりの発現率	平均値%		0.7 Wi	0.0	0.7	0.7	0.8	0.8	
	S.D.		3.33	0.00	3.48	3.48	3.64	3.64	
分類可能の総 骨格奇形数	発現胎児数	N	3	0	3	3	1	1	1
		%	2.2	0.0	2.5	2.5	0.9	0.9	0.9
	発現腹数	N	3 Fi	0	3	3	1	1	1
	%		12.0	0.0	13.0	13.0	4.8	4.8	4.8
1腹あたりの発現率	平均値%		2.3 Wi	0.0	2.3	2.3	0.8	0.8	
	S.D.		6.60	0.00	6.15	6.15	3.64	3.64	

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 22

分類可能の胎児骨格変異の総括 (1)

	試験群	投与量				
		第0群 0 mg/kg BW/日	第1群 40 mg/kg BW/日	第2群 200 mg/kg BW/日	第3群 1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21	
各胎児の評価	N	137	128	120	116	
生存胎児	N	137	128	120	116	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
蝶形骨底部の 不完全骨化	発現胎児数	N %	26 19.0	36 28.0	26 22.0	20 17.0
	発現腹数	N %	15 Fi 60.0	16 70.0	15 65.0	12 57.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	18.1 Wi 18.33	28.2 26.23	21.2 21.63	16.8 20.83
	発現胎児数	N %	80 58.0	85 66.0	76 63.0	65 56.0
後頭骨上部孔	発現腹数	N %	24 Fi 96.0	23 100.0	23 100.0	20 95.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	59.6 Wi 24.67	66.4 24.95	62.1 27.58	55.6 25.91
	発現胎児数	N %	8 5.8	3 2.3	10 8.3	8 6.9
	発現腹数	N %	6 Fi 24.0	2 8.7	6 26.0	5 24.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	5.2 Wi 10.36	2.6 9.15	9.0 19.08	7.2 15.81	
頭蓋骨の 不完全骨化 ;未変化軟骨	発現胎児数	N %	34 25.0	25 20.0	21 18.0	27 23.0
	発現腹数	N %	18 Fi 72.0	12 52.0	13 57.0	11 52.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	25.6 Wi 24.26	20.8 29.65	18.0 20.04	23.7 29.36
	発現胎児数	N %	76 55.0	62 48.0	56 47.0	60 52.0
頭頂骨の 不完全骨化 ;未変化軟骨	発現腹数	N %	23 Fi 92.0	22 96.0	20 87.0	20 95.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	57.0 Wi 28.36	48.8 31.60	48.3 33.67	52.5 25.65
	発現胎児数	N %	1 0.7	1 0.8	4 3.3	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	1 4.3	3 13.0	0 0.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.8 Wi 4.00	0.9 4.17	3.0 8.46	0.0 0.00	
舌骨の 不完全骨化 ;軟骨あり	発現胎児数	N %	14 10.0	17 13.0	8 6.7	13 11.0
	発現腹数	N %	12 Fi 48.0	9 39.0	7 30.0	7 33.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	9.7 Wi 12.29	13.1 18.78	7.0 11.26	11.1 21.89

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 23

分類可能の胎児骨格変異の総括 (2)

	試験群	投与量				
		第0群 0 mg/kg BW/日	第1群 40 mg/kg BW/日	第2群 200 mg/kg BW/日	第3群 1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21	
各胎児の評価	N	137	128	120	116	
生存胎児	N	137	128	120	116	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
頭頂骨・頭頂間 骨間のその他 の骨化部位 :未変化軟骨	発現胎児数	N %	0 0.0	0 0.0	1 0.8	0 0.0
	発現腹数	N %	0 Fi 0.0	0 0.0	1 4.3	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.0 0.00	2.2 10.43	0.0 0.00
舌骨の未骨化 :軟骨あり	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	3 2.5	1 0.9
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	3 13.0	1 4.8
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	2.4 6.64	0.8 3.64
後頭骨底部孔	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	1 0.8	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	1 4.3	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.6 2.98	0.0 0.00
前頭部の 不完全骨化 :未変化軟骨	発現胎児数	N %	0 0.0	1 0.8	0 0.0	1 0.9
	発現腹数	N %	0 Fi 0.0	1 4.3	0 0.0	1 4.8
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.9 4.17	0.0 0.00	0.8 3.64
後頭骨上部の 二分骨化	発現胎児数	N %	0 0.0	0 0.0	1 0.8	0 0.0
	発現腹数	N %	0 Fi 0.0	0 0.0	1 4.3	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.0 0.00	0.6 2.98	0.0 0.00
胸部椎体の 不完全骨化 :未変化軟骨	発現胎児数	N %	3 2.2	7 5.5	13 11.0	5 4.3
	発現腹数	N %	2 Fi 8.0	6 26.0	11 ** 48.0	4 19.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.7 Wi 10.41	5.5 10.56	11.9 ** 14.77	4.4 10.35
胸部椎体の 亜鈴型骨化 :未変化軟骨	発現胎児数	N %	5 3.6	6 4.7	2 1.7	1 0.9
	発現腹数	N %	5 Fi 20.0	5 22.0	1 4.3	1 4.8
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	6.6 Wi 20.41	4.6 10.01	1.7 8.34	1.0 4.36

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 24

分類可能の胎児骨格変異の総括 (3)

	試験群	投与量			
		第0群 0 mg/kg BW/日	第1群 40 mg/kg BW/日	第2群 200 mg/kg BW/日	第3群 1,000 mg/kg BW/日
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21
各胎児の評価	N	137	128	120	116
生存胎児	N	137	128	120	116
死亡胎児	N	0	0	0	0
胸部椎体の 不完全骨化 : 亜鈴型軟骨椎 体	発現胎児数	N 9	4	7	7
	%	6.6	3.1	5.8	6.0
	発現腹数	N 8 Fi	2	6	6
%	32.0	6.7	26.0	29.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	6.2 Wi 9.80	3.3 12.83	5.9 11.08	5.5 9.21
過剰胸椎	発現胎児数	N 1	0	1	0
	%	0.7	0.0	0.8	0.0
	発現腹数	N 1 Fi	0	1	0
%	4.0	0.0	4.3	0.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.8 Wi 4.00	0.0 0.00	1.1 5.21	0.0 0.00
胸部椎体の 未骨化 : 未変化軟骨	発現胎児数	N 1	0	0	0
	%	0.7	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N 1 Fi	0	0	0
%	4.0	0.0	0.0	0.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
胸部椎体の 片側性骨化 : 未変化軟骨	発現胎児数	N 0	0	1	0
	%	0.0	0.0	0.8	0.0
	発現腹数	N 0 Fi	0	1	0
%	0.0	0.0	4.3	0.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.0 0.00	0.9 4.17	0.0 0.00
胸部椎体の 二分骨化 : 亜鈴型軟骨椎 体	発現胎児数	N 3	0	0	0
	%	2.2	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N 3 Fi	0	0	0
%	12.0	0.0	0.0	0.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.0 Wi 5.69	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
腰椎弓の 不完全骨化 : 軟骨あり	発現胎児数	N 1	0	1	4
	%	0.7	0.0	0.8	3.4
	発現腹数	N 1 Fi	0	1	4
%	4.0	0.0	4.3	19.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	4.0 Wi 20.00	0.0 0.00	0.9 4.17	3.2 6.86
腰部椎体の 亜鈴型骨化 : 未変化軟骨	発現胎児数	N 0	0	1	0
	%	0.0	0.0	0.8	0.0
	発現腹数	N 0 Fi	0	1	0
%	0.0	0.0	4.3	0.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.0 0.00	0.7 3.48	0.0 0.00

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 25

分類可能の胎児骨格変異の総括 (4)

	試験群	第0群	第1群	第2群	第3群	
	投与量	0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21	
各胎児の評価	N	137	128	120	116	
生存胎児	N	137	128	120	116	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
腰部椎体の 亜鈴型骨化 ; 亜鈴型軟骨椎 体	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
腰椎体と椎弓の 癒合 ; 未変化軟骨	発現胎児数	N %	4 2.9	3 2.3	5 4.2	6 5.2
	発現腹数	N %	3 Fi 12.0	3 13.0	5 22.0	4 19.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.6 Wi 7.43	2.3 6.15	4.4 8.67	6.0 14.17
仙椎弓の 不完全骨化 ; 軟骨あり	発現胎児数	N %	3 2.2	4 3.1	4 3.3	2 1.7
	発現腹数	N %	3 Fi 12.0	4 17.0	3 13.0	2 9.5
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.3 Wi 6.29	3.0 6.81	3.1 8.27	1.7 5.54
仙椎体の未骨 化 ; 亜鈴型軟骨椎 体	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
仙椎の未骨化 ; 軟骨あり	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
仙椎弓の未骨 化 ; 軟骨あり	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
尾椎の未骨化 ; 軟骨あり	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 26

分類可能の胎児骨格変異の総括 (5)

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21
各胎児の評価	N	137	128	120	116
生存胎児	N	137	128	120	116
死亡胎児	N	0	0	0	0
胸骨分節の 未骨化 :未変化軟骨	発現胎児数	N 17	26	26	12
		% 12.0	20.0	22.0	10.0
	発現腹数	N 8 Fi	13	10	8
	% 32.0	57.0	43.0	38.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	10.9 Wi 19.31	20.5 24.46	20.8 28.98	11.0 19.38
胸骨部分節の 不完全骨化 :未変化軟骨	発現胎児数	N 81	90	85	74
		% 59.0	70.0	71.0	64.0
	発現腹数	N 22 Fi	22	22	20
	% 88.0	96.0	96.0	95.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	57.2 Wi 29.18	70.3 29.10	68.9 23.19	62.7 29.73
胸骨分節の奇 形 :未変化軟骨	発現胎児数	N 46	37	36	41
		% 34.0	29.0	30.0	35.0
	発現腹数	N 23 Fi	17	20	18
	% 92.0	74.0	87.0	86.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	34.9 Wi 24.86	28.9 25.05	29.9 20.35	34.9 22.41
胸骨分節の 片側性骨化 :未変化軟骨	発現胎児数	N 4	4	4	4
		% 2.9	3.1	3.3	3.4
	発現腹数	N 4 Fi	4	3	4
	% 16.0	17.0	13.0	19.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	2.7 Wi 6.62	3.2 7.27	3.0 8.01	3.5 7.41
過剰肋骨 (第14肋骨) :軟骨あり	発現胎児数	N 2	3	5	3
		% 1.5	2.3	4.2	2.6
	発現腹数	N 2 Fi	3	5	3
	% 8.0	13.0	22.0	14.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	1.4 Wi 4.82	2.5 6.53	4.1 8.03	2.6 6.57
過剰肋骨 (第14肋骨) :軟骨なし	発現胎児数	N 74	61	59	46
		% 54.0	48.0	49.0	40.0
	発現腹数	N 23 Fi	21	21	19
	% 92.0	91.0	91.0	90.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	56.6 Wi 32.22	47.5 26.34	51.0 30.71	40.6 30.34
頸肋 :軟骨なし	発現胎児数	N 5	4	5	4
		% 3.6	3.1	4.2	3.4
	発現腹数	N 5 Fi	4	4	4
	% 20.0	17.0	17.0	19.0	
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	3.6 Wi 7.50	3.3 7.45	4.9 11.58	3.3 7.07

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p < 0.05 **: p < 0.01

分類可能の胎児骨格変異の総括 (6)

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21
各胎児の評価	N	137	128	120	116
生存胎児	N	137	128	120	116
死亡胎児	N	0	0	0	0
波状肋骨	発現胎児数	N 8	3	10	17
		% 5.8	2.3	8.3	15.0
	発現腹数	N 6 Fi	3	6	5
		% 24.0	13.0	26.0	24.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	5.5 Wi 11.06	2.6 6.89	8.1 15.77	14.1 29.89
恥骨の 不完全骨化 ;軟骨あり	発現胎児数	N 1	0	0	0
		% 0.7	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N 1 Fi	0	0	0
		% 4.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
分類可能の総 骨格変異数	発現胎児数	N 135	126	120	113
		% 99.0	98.0	100.0	97.0
	発現腹数	N 25 Fi	23	23	21
		% 100.0	100.0	100.0	100.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	98.7 Wi 4.61	98.2 6.13	100.0 0.00	97.2 8.87

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

分類不能の胎児骨格軟骨所見の総括 (1)

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群	
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日	
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21	
各胎児の評価	N	137	128	120	116	
生存胎児	N	137	128	120	116	
死亡胎児	N	0	0	0	0	
蝶形骨底部と後頭骨底部の間の軟骨切痕	発現胎児数	N %	2 1.5	3 2.3	2 1.7	5 4.3
	発現腹数	N %	2 Fi 8.0	2 8.7	2 8.7	4 19.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	1.5 Wi 5.10	2.5 8.89	1.7 5.76	4.0 8.98
側頭骨孔	発現胎児数	N %	0 0.0	0 0.0	2 1.7	0 0.0
	発現腹数	N %	0 Fi 0.0	0 0.0	2 8.7	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.0 0.00	1.6 5.31	0.0 0.00
頸椎弓軟骨癒合	発現胎児数	N %	0 0.0	2 1.6	4 3.3	4 3.4
	発現腹数	N %	0 Fi 0.0	2 8.7	4 * 17.0	4 * 19.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	1.6 5.31	3.2 * 7.14	3.7 * 7.74
頸部椎体軟骨癒合	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
頸部椎体の亜鈴型軟骨	発現胎児数	N %	0 0.0	0 0.0	1 0.8	0 0.0
	発現腹数	N %	0 Fi 0.0	0 0.0	1 4.3	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.0 0.00	0.6 2.98	0.0 0.00
胸部椎体の亜鈴型軟骨	発現胎児数	N %	1 0.7	2 1.6	2 1.7	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	1 4.3	2 8.7	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	1.4 6.95	1.6 5.31	0.0 0.00
腰部椎体の亜鈴型軟骨	発現胎児数	N %	1 0.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	発現腹数	N %	1 Fi 4.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0
	1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.7 Wi 3.33	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

添付書類 29

分類不能の胎児骨格軟骨所見の総括 (2)

	試験群 投与量	第0群	第1群	第2群	第3群
		0 mg/kg BW/日	40 mg/kg BW/日	200 mg/kg BW/日	1,000 mg/kg BW/日
1腹あたり(胎児)の評価	N	25	23	23	21
各胎児の評価	N	137	128	120	116
生存胎児	N	137	128	120	116
死亡胎児	N	0	0	0	0
仙椎弓軟骨の未接合	発現胎児数	N 5	8	4	1
	%	3.6	6.3	3.3	0.9
	発現腹数	N 5 Fi	5	2	1
	%	20.0	22.0	8.7	4.8
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	3.8 Wi 8.01	6.2 15.12	3.3 11.44	0.8 3.64
二分化剣状突起	発現胎児数	N 51	41	35	47
	%	37.0	32.0	29.0	41.0
	発現腹数	N 21 Fi	18	16	19
	%	84.0	78.0	70.0	90.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	35.6 Wi 25.23	32.1 26.90	27.1 24.38	40.5 25.77
胸骨柄切痕	発現胎児数	N 8	13	8	9
	%	5.8	10.0	6.7	7.8
	発現腹数	N 4 Fi	10 *	8	7
	%	16.0	43.0	35.0	33.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	5.2 Wi 14.05	9.8 * 12.69	6.4 8.98	8.0 12.69
二分化肋骨軟骨	発現胎児数	N 1	0	0	0
	%	0.7	0.0	0.0	0.0
	発現腹数	N 1 Fi	0	0	0
	%	4.0	0.0	0.0	0.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.8 Wi 4.00	0.0 0.00	0.0 0.00	0.0 0.00
位置異常肋骨の軟骨性部分	発現胎児数	N 0	1	0	1
	%	0.0	0.8	0.0	0.9
	発現腹数	N 0 Fi	1	0	1
	%	0.0	4.3	0.0	4.8
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	0.0 Wi 0.00	0.7 3.48	0.0 0.00	1.0 4.36
分類不能の総骨格軟骨所見数	発現胎児数	N 60	59	46	58
	%	44.0	46.0	38.0	50.0
	発現腹数	N 21 Fi	20	18	21
	%	84.0	87.0	78.0	100.0
1腹あたりの発現率	平均値% S.D.	42.6 Wi 28.72	45.9 28.47	35.9 28.06	50.1 24.60

Statistics: Fi = Fisher's exact test (one sided) Wi = Wilcoxon-tset (one sided)

*: p <= 0.05 **: p <= 0.01

4 皮膚一次刺激性

ウサギにおける急性皮膚刺激性／腐食性

試験期間： 2000年3月9日～2000年12月4日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

- －OECD 化学品テストガイドライン、ガイドライン No.404
：「急性皮膚刺激性／腐食」、1992年7月17日承認
- －EEC 指令 92/69、毒性測定法、パブリケーション No.L383A、
B.4：「急性毒性－皮膚刺激性」、1992年12月29日
- －U.S.EPA、健康影響試験ガイドライン OPPTS 870.2500
「急性皮膚刺激性」1998年8月

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ3匹

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

投与方法： 4時間皮膚接触のために準閉塞性包帯下で0.5gを単回局所適用

評価基準：

紅斑および 痂皮の形成*	紅斑なし	点数 0
	非常に軽微な紅斑（かろうじて識別できる）	1
	はっきりした紅斑	2
	中等度又は高度の紅斑	3
	高度の紅斑（ビートのような真紅の発赤）から焼痂形成に至る、紅斑の等級がつけられないもの	4
浮腫の形成*	浮腫なし	点数 0
	極めて軽度の浮腫（かろうじて識別できる）	1
	軽度の浮腫（はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる）	2
	中等度の浮腫（約1mmの膨隆）	3
	高度の浮腫（1mmを超えて膨隆し、曝露範囲を超えた広がりのあるもの）	4

* 表は OECD ガイドライン No. 404（1992年7月17日採択）、EEC 指令 92/69、L 383A、B.4（1992年12月29日）および EPA/OPPTS、870、2500（1998年8月）に準拠。

結果：

軽度紅斑が適用した日に2匹で観察された。浮腫は観察されなかった。

別の1匹は皮膚反応を示さなかった。皮膚反応は動物では遅くともパッチ除去後48時間以内に回復した。

刺激の平均スコアー。(24時間から72時間まで)は紅斑で0.1、浮腫で0.0と計算された。

観察時間毎の各動物の刺激反応性と平均値を下表に示す。

評価時間	動物	曝露時間：4時間	
		紅斑	浮腫
1 h	01	1	0
	02	1	0
	03	0	0
24 h	01	0	0
	02	1	0
	03	0	0
48 h	01	0	0
	02	0	0
	03	0	0
72 h	01	0	0
	02	0	0
	03	0	0
平均	01	0.0	0.0
	02	0.3	0.0
	03	0.0	0.0
平均		0.1	0.0

平均値の計算：1993年4月27日付けの93/21/EEC基準に基づき平均値を計算した
(24、48および72時間後の評価のみについて、紅斑および浮腫の平均を計算した)。

結論：

刺激に対する平均スコアーだけでなく観察された皮膚反応も考慮し、被験物質は選択した試験条件下で皮膚に刺激特性の徴候を示さない。

5 連続皮膚刺激性

モルモットにおける連続皮膚刺激性

試験期間： 2003年11月13日～2004年3月26日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う

－化粧品安全性評価に関する指針

日本化粧品工業連合協会編 2001年

－EMEA/CPMP ガイドライン(1) Marzulli and Dmaibach(2)の方法

試験動物： Hsd Poc系モルモット、1群あたり雌雄各3匹を2群

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 31656/25-5

投与方法： 4時間皮膚接触のためにわき腹に2週間14回開放適用

試験方法：

第1群は被験物質濃度20%溶液、第2群は被験物質濃度10%溶液とした。

溶媒プロピレングリコールに溶かした被験物質と溶媒対照それぞれ50 μ Lを右・左のわき腹の損傷のない皮膚に包帯なしで14回開放適用し、皮膚反応の所見をそれぞれ適用後の24時間実施した。

評価基準：

紅斑および 痂皮の形成*	紅斑なし	点数 0
	非常に軽微な紅斑（かろうじて識別できる）	1
	はっきりした紅斑	2
	中等度又は高度の紅斑	3
	高度の紅斑（ビートのような真紅の発赤）から焼痂形成に至る、紅斑の等級がつけられないもの	4
浮腫の形成*	浮腫なし	点数 0
	極めて軽度の浮腫（かろうじて識別できる）	1
	軽度の浮腫（はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる）	2
	中等度の浮腫（約 1 mm の膨隆）	3
	高度の浮腫（1 mm を超えて膨隆し、曝露範囲を超えた広がりのあるもの）	4

結果：

被験物質および溶媒対照とも紅斑あるいは浮腫は観察されたが、全て 2 以下であった。
添付書類 30 および 31 参照。

* 表は OECD ガイドライン No. 404（1992 年 7 月 17 日採択）、EEC 指令 92/69、L 383A、B.4（1992 年 12 月 29 日）および EPA/OPPTS、870、2500（1998 年 8 月）に準拠。

添付書類 30 第1群(20%)の各動物(雄雌各3匹)における皮膚所見結果(点数)

(被験物質 20%溶液を右脇腹に、溶媒であるプロピレングリコールを左脇腹に開放適用)

			1日		2日		3日		4日		5日		6日		7日	
			20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒
雄	1	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌	4	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計**	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			8日		9日		10日		11日		12日		13日		14日	
			20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒	20%	溶媒
雄	1	紅班	1	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	紅班	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	1
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	3	紅班	0	0	1	1	1	0	2	1	1	1	1	1	1	1
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌	4	紅班	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	紅班	2	1	2	2	2	1	1	1	2	1	2	0	2	1
		浮腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	紅班	1	0	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計**	紅班	1/2 2/1	2/1	3/2 2/1	2/2 3/1	2/2 3/1	1/2 2/1	3/2 3/1	1/2 3/1	3/2 3/1	2/2 2/1	2/2 2/1	2/2 1/1	3/2 3/1	1/2 3/1	
	浮腫	0	0	1/1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/1	0	

** 発現動物数(雌雄計6匹中) / 皮膚所見点数

添付書類 31 第 2 群 (10%) の各動物 (雄雌各 3 匹) における皮膚所見結果 (点数)

(被験物質 10% 溶液を右脇腹に、溶媒であるプロピレングリコールを左脇腹に開放適用)

			1 日		2 日		3 日		4 日		5 日		6 日		7 日	
			20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒
雄	7	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	紅班	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌	10	紅班	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	紅班	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	紅班	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計**	紅班	1/1	1/1	1/1	3/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0	1/1	2/1	2/1	1/1	1/1	
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			8 日		9 日		10 日		11 日		12 日		13 日		14 日	
			20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒	20 %	溶媒
雄	7	紅班	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	8	紅班	1	0	2	1	1	0	1	0	1	1	1	1	2	1
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	紅班	1	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌	10	紅班	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	紅班	0	0	2	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	12	紅班	1	0	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
		浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計**	紅班	4/1	2/1	4/2	2/2	2/2	1/2	3/2	2/2	3/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

** 発現動物数 (雌雄計 6 匹中) / 皮膚所見点数

結論：

本試験条件下で、各濃度の被験物質での皮膚反応は、溶媒（プロピレングリコール）対照群と比較して異なるものではなく、強い皮膚反応も認められなかった。さらに用量相関性も見られなかった。

したがって、被験物質の刺激性は、プロピレングリコールと同程度であると考えられることから、特に問題となるものではないと判断する。

6 感作性

モルモットにおける Maximization 試験

試験期間： 2000年4月10日～2000年12月4日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

- OECD 化学品テストガイドライン、ガイドライン No.406：「皮膚感作性」
1992年7月17日承認
- 委員会指令 96/54/EC、1996年7月30日、毒性測定法、
B.6：「急性毒性－皮膚感作性」、No. L248、p. 206～212、1996年
- U.S. EPA、健康影響ガイドライン OPPTS 870.2600「皮膚感作性」、
1998年8月
- 日本 MAFF ガイドライン、59 Noh San No.4200、1985年1月28日

試験動物： Hsd Poc 系モルモット雌 20匹

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

用量： 誘発および惹起に用いる次の濃度は予備試験（皮下および皮上）に基づいて選
定した。

皮下誘発： オリーブオイルまたはフロイントアジュバント／0.9%食塩水溶液（1:1）
に被験物質を5%含有。

皮上誘発： 被験物質をオリーブオイルに25%含有。

惹起： 被験物質をオリーブオイルに25%含有。

評価基準：

- 0 = 目に見える変化なし
- 1 = 不連続あるいはむらのある紅斑
- 2 = 中程度の紅斑
- 3 = 高度の紅斑とはれ上がり

結果：

被験物質 5%調製液による皮下誘発によって被験群モルモットに中度で融合性の紅斑および腫脹、あるいは強い紅斑および腫脹が発生した。

被験物質 25%調製液による皮上誘発後、すべての被験群モルモットに中度で融合性の紅斑および腫脹に加え、(皮下誘発によって)部分的に開口した痂皮形成が観察された。

被験物質をオリーブオイルに加えた 25%調製液による惹起を皮上誘発 14 日後に実施した。

皮膚反応はパッチを取り除いた 24 時間後および 48 時間後において対照群 1 および被験群ともに認められなかった。

溶媒対照としてすべてのモルモットに適用したオリーブオイルは皮膚反応を起こさなかった。ボーダーラインの結果は認められなかったため、2 回目の惹起は実施しなかった。

惹起後に皮膚所見のあるモルモット数を下表にまとめた。

	惹 起	
	被験物質 オリーブオイル中に 25%含有	溶媒対照 オリーブオイル
対照群 1	0/5	0/5
対照群 2*	被験物質の適用なし	0/5
試験群	0/10	0/10

x/y：陽性反応数/試験モルモット数 (パッチを取り除いた 24 時間後または 48 時間後あるいはその両方で判定)

*：対照群 2 は 2 回目惹起での可能性が意図されており、被験物質で処置しなかった。なぜなら惹起の明確な結果に基づき、2 回目の惹起を必要としなかったためである。

結論：

被験物質は選定した試験条件下での Maximization 試験においてモルモットの皮膚に感作効果を有しないと結論された。

7 光毒性

7.1 ネズミチフス菌 [Salmonella typhimurium] および大腸菌 [Escherichia coli] 復帰突然変異試験における光変異原性

試験期間： 2000年4月27日～2000年10月18日

試験実施施設： RCC

Cytotest Cell Research GmbH

In den Leppsteinswiesen 19, D-64380 Rossdorf / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

—OECD No.471 に対する第9補足 (1997年7月21日)

—EEC 指令 92/69、L383A、付録V、B14 および B13 (1992年12月)

—SCC ガイドライン CSC/803-5/90 (1990年)

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

菌株： Salmonella typhimurium TA 1537、TA 98、TA 100、TA 102、および Escherichia coli WP2

用量範囲： 33、100、333、1000、2500、および 5000 μ g/プレート (DMSO 溶解)

試験条件： 光源：キセノンランプ (Suntest CPS、ATLAS)、290nm 以下の波長を遮断する紫外線ガラスフィルター付

試験方法： プレート法試験 (実験 I) およびプレインキュベーション試験 (実験 II) のそれぞれ独立した試験を実施した。

毒性：

突然変異体数の減少あるいは栄養素の不十分な環境下での生育として証明される毒性効果は使用した菌株に認められなかった。

結果：

試験した 5 菌株のいずれにも、復帰突然変異コロニー数の大きな増加ほどの用量の被験物質で処置した後でも認められなかった。また濃度を生物学的関連があると一般に知られている限界以下の範囲で増加させても、突然変異率の上昇傾向はなかった。

適切な基準突然変異原を陽性対照として使用した。これらは誘発された復帰突然変異コロニーの明らかな増加を示した。刺激特異的陽性対照 (8-メトキシプソラレン) として菌株 TA102 および WP2 で使用した。

添付書類 32 および 33 参照。

結論：

実験条件下では、被験物質は使用した菌株のゲノムに塩基対変化あるいはフレームシフトを起こさなかった。従って、被験物質はネズミチフス菌および大腸菌の本光変異原性試験において非変異原性であると考えられる。

照射無						
用量 / プレート	WP2			TA1537		
	平均値	SD	倍率 **	平均値	SD	倍率
陰性対照	53	3.8		12	1.2	
溶媒対照	44	7.2	1.0	12	3.0	1.0
陽性対照				² 55	0.6	4.6

**倍率=

 $\frac{\Sigma \text{変異株/被験物質}}{\Sigma \text{変異株/溶媒対照}}$

照射有						
照射有 用量 / プレート	WP2			TA1537		
	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率
陰性対照	81	4.0		15	3.6	
溶媒対照	101	7.1	1.0	17	5.9	1.0
陽性対照	¹ 217	8.5	2.1			
33	83	9.0	0.8	19	2.3	1.1
100	82	12.7	0.8	16	0.6	0.9
333	74	10.8	0.7	19	3.8	1.1
1000	85	2.6	0.8	17	5.3	1.0
2500	99	6.6	1.0	14	4.0	0.8
5000	83	4.0	0.8	15	2.1	0.9

照射無									
用量 / プレート	TA98			TA100			TA102		
	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率
陰性対照	43	3.2		161	18.4		257	27.0	
溶媒対照	34	10.5	1.0	158	2.6	1.0	259	21.8	1.0
陽性対照	³ 209	16.2	6.2	⁴ 1027	11.9	6.5			

照射有									
照射有 用量 / プレート	TA98			TA100			TA102		
	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率
陰性対照	68	6.2		342	2.9		436	43.5	
溶媒対照	54	4.0	1.0	330	13.6	1.0	445	36.5	1.0
陽性対照							⁵ 909	51.9	2.0
33	67	1.2	1.2	284	7.5	0.9	401	13.1	0.9
100	57	11.4	1.0	295	5.5	0.9	418	34.8	0.9
333	52	11.4	1.0	256	13.3	0.8	393	23.5	0.9
1000	58	10.7	1.1	267	15.7	0.8	368	45.0	0.8
2500	53	6.2	1.0	241	23.2	0.7	353	23.5	0.8
5000	50	5.0	0.9	252	20.5	0.8	362	55.0	0.8

¹ 8-Methoxypsoralen 12.5 µg/plate ² 4-nitro-o-phenylene-diamine 50 µg/plate³ 4-nitro-o-phenylene-diamine 10 µg/plate ⁴ Sodium azide 10 µg/plate⁵ 8-Methoxypsoralen 125 µg/plate

照射無						
用量 / プレート	WP2			TA1537		
	平均値	SD	倍率	平均値	SD	倍率
陰性対照	57	8.2		7	2.6	
溶媒対照	61	15.9	1.0	7	3.2	1.0
陽性対照				² 48	6.4	7.3

照射有						
用量 / プレート	WP2			TA1537		
	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率
陰性対照	56	6.9		8	3.6	
溶媒対照	77	14.2	1.0	7	1.5	1.0
陽性対照	¹ 271	22.5	3.5			
33	66	13.0	0.9	13	3.1	1.7
100	61	7.0	0.8	7	4.6	1.0
333	63	4.0	0.8	11	5.5	1.5
1000	63	10.4	0.8	9	3.5	1.2
2500	65	8.4	0.8	6	2.5	0.9
5000	57	10.8	0.7	5	4.0	0.6

照射無									
用量 / プレート	TA98			TA100			TA102		
	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率
陰性対照	24	1.0		123	27.8		304	28.0	
溶媒対照	20	7.2	1.0	97	8.5	1.0	271	38.4	1.0
陽性対照	³ 187	15.0	9.3	⁴ 756	53.7	7.8			

照射有									
用量 / プレート	TA98			TA100			TA102		
	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率	平均値	標準偏差	倍率
陰性対照	21	6.6		108	15.7		290	34.8	
溶媒対照	26	2.9	1.0	112	10.1	1.0	232	3.2	1.0
陽性対照							⁵ 820	95.9	3.5
33	15	4.7	0.6	98	15.6	0.9	269	32.9	1.2
100	22	6.6	0.8	92	15.3	0.8	277	38.2	1.2
333	23	7.5	0.9	136	17.3	1.2	241	22.1	1.0
1000	19	3.2	0.7	98	14.0	0.9	255	10.1	1.1
2500	17	3.1	0.6	82	9.8	0.7	199	14.3	0.9
5000	19	4.0	0.7	82	2.1	0.7	214	29.3	0.9

¹ 8-Methoxypsoralen 125 µg/plate ² 4-nitro-o-phenylene-diamine 50 µg/plate

³ 4-nitro-o-phenylene-diamine 10 µg/plate ⁴ Sodium azide 10 µg/plate

⁵ 8-Methoxypsoralen 125 µg/plate

7 光毒性

7.2 in vitro 染色体異常試験：チャイニーズハムスターV79 細胞における光変異原性

試験期間： 2000年4月7日～2000年10月16日

試験実施施設： RCC

Cytotest Cell Research GmbH

In den Leppsteinswiesen 19, D-64380 Rossdorf / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

- SCC ガイドライン CSC/803-5/90 (1990年) 化粧品の日焼け止め剤として使用される化合物の毒性の可能性を評価するためのガイドライン、付録1、化粧品原料の毒性試験のためのガイダンス事項
- OECD 化学品テストガイドラインに対する第9補足、1998年2月、1997年7月21日承認、No.473
- EC 指令 2000/32、L1362000、付録V、B10、2000年5月19日付

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

細胞系： チャイニーズハムスターから得られた V79 細胞ライン

用量範囲： 溶媒 DMSO 中に 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、および 80.0 μ g/mL

光源： 付属特製フィルターガラス付キセノンランプ (Suntest CPS, Atlas)、
可視光および UVA/UVB 光 >290 nm

照射量： 225/11.25mJ/cm² UVA/UVB (実験 I および II)
または 375/18.75mJ/cm² UVA/UVB (実験 II)

陽性対照： 照射あり：8-メトキシプソラレン、照射なし：スルホン酸エチルメタン

試験条件：

培地は被験物質を加えて 30 分間前培養した。前培養後、培地を紫外光に暴露した。処置 3 時間後、培地を 2 回洗浄した。被験物質を加えた相応する培地を 3 時間の暴露時間暗所に保った。

処置開始 18 時間後 (実験 I) または 28 時間後 (実験 II)、培地を細胞遺伝学的評価のために調製した。各実験群の細胞遺伝学実験では、2 つの並行培地を設定し、培地あたり中期 100 細胞を構造的染色体異常についてスコア付けした。

結果：

細胞遺伝学実験の範囲設定試験を被験物質濃度 1.9~240 μ g/mL で実施した。対照の 50%以下となる細胞数減少によって示される明確な毒性効果が 60 μ g/mL以上で処置した後で認められた。

独立した両細胞遺伝学実験において、細胞数または分裂指数あるいはその両方の明らかな減少が少なくとも評価した最高濃度で認められた。人工太陽光線の有無にかかわらず、構造的染色体異常を有する細胞数の生物学的に関連した増加は認められなかった。被験物質で処理した後での倍数体中期の頻度は、対照の頻度と比べて増加が認められなかった。

適切な突然変異原が陽性対照として使用され、構造的染色体異常を有する細胞の統計学的に有意 ($p < 0.05$) な増加を誘発した。

添付書類 34 および 35 参照。

結論：

実験条件下では、被験物質は V79 細胞の染色体異常試験によって示されたように、人工太陽光線の存在下で構造的染色体異常を誘発しなかった。従って、被験物質は本染色体異常試験において光染色体異常誘発性がないと考えられる。

添付書類 34

光染色体異常試験結果

実験 I 暴露時間 3 時間 調整時間 18 時間

	用量 μg/mL	異数体 %	細胞数 %	分裂指数 %	染色体異常細胞		
					Gaps 含む	Gap 除く*	交換
実験 I	陰性対照	3.1	n.t.	100	2.5	2.0	0.5
暴露時間 3 時間	溶媒対照 ¹	3.8	100	100	5.0	4.0	1.0
照射無し	陽性対照 ²	3.0	n.t.	78	20.5	19.5 ^S	13.5
調整時間 18 時間	5.0	5.2	80	83	2.5	2.0	1.0
	20.0 ^P	3.6	41	72	3.0	2.0	1.0
	80.0 ^P	1.2	35	39	1.5	1.0	0.0
実験 I	陰性対照	3.3	n.t.	100	8.0	7.0	0.5
暴露時間 3 時間	溶媒対照 ¹	4.4	100	100	4.0	3.0	2.0
照射量 UVA/UVB	陽性対照 ³	1.6	n.t.	13	25.0	24.5 ^S	3.5
225/11.25mJ/cm ²	5.0	3.8	108	125	3.5	3.0	0.5
調整時間 18 時間	20.0 ^P	2.9	68	105	8.0	6.5	4.0
	80.0 ^P	1.6	39	34	3.0	2.5	0.5

* 交換を含む n.t. 試験せず P: 沈殿 S: 対照と比較して有意に染色体異常数増加

¹ DMSO 0.5% ² EMS 1200 μg/mL ³ 8-methoxypsoralene 0.5 μg/mL

光染色体異常試験結果

実験 II 暴露時間 3 時間 調整時間 28 時間

	用量 μg/mL	異数体 %	細胞数 %	分裂指数 %	染色体異常細胞		
					Gaps 含む	Gap 除く*	交換
実験 II	陰性対照	2.5	n.t.	100	2.0	0.5	0.0
暴露時間 3 時間	溶媒対照 ¹	3.3	100	100	2.5	2.5	0.0
照射無し	陽性対照 ²	2.5	n.t.	93	29.5	28.0 ^S	17.5
調整時間 28 時間	5.0	4.0	74	116	3.5	3.0	2.0
	10.0	3.5	81	97	1.0	0.5	0.0
	20.0 ^P	3.6	47	84	3.5	1.5	1.0
実験 II	陰性対照	3.7	n.t.	100	6.5	6.5	1.5
暴露時間 3 時間	溶媒対照 ¹	3.1	100	100	7.0	6.5	0.5
照射量 UVA/UVB	陽性対照 ³	1.1	n.t.	72	23.5	23.5 ^S	1.0
225/11.25mJ/cm ²	10.0	3.7	80	101	3.5	3.0	0.0
調整時間 28 時間	20.0 ^P	2.6	111	50	6.0	4.5	1.5
	40.0 ^P	2.3	52	33	3.0	1.5	0.5
実験 II	陰性対照	2.6	n.t.	100	6.5	6.5	0.5
暴露時間 3 時間	溶媒対照 ¹	2.3	100	100	5.0	5.0	0.5
照射量 UVA/UVB	陽性対照 ³	2.3	n.t.	21	49.0	49.0 ^S	0.0
375/18.75mJ/cm ²	10.0	5.2	88	60	7.0	7.0	2.0
調整時間 28 時間	20.0 ^P	3.8	122	61	7.5	6.0	3.0
	40.0 ^P	1.9	43	12	11.5	9.0	2.5

* 交換を含む n.t. 試験せず^a P: 沈殿 S: 対照と比較して有意に染色体異常数増加¹ DMSO 0.5% ² EMS 1200 μg/mL ³ 8-methoxypsoralene 0.5 μg/mL

7 光毒性

7.3 Balb/c 3T3 細胞を用いた in vitro 細胞毒性測定：人工太陽光線による同時照射でのニュートラルレッド (NR) 測定

試験期間： 2000年11月29日～2001年1月12日

試験実施施設： RCC

Cytotest Cell Research GmbH

In den Leppsteinswiesen 19, D-64380 Rossdorf / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

—EC 指令 2000/33、毒性測定法、No.L 136、

B.41：光毒性—in vitro 3T3 NRU 光毒性試験、2000年4月25日承認

—OECD 化学品テストガイドライン、新規ガイドラインのための草案提議

「in vitro 3NT3NRU 光毒性試験」、2000年2月草案

試験系： Balb/c 3T3 細胞クローン 31

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

用量範囲： 被験物質を DMSO に溶解した。次の濃度を試験した。

0.78、1.56、3.13、6.25、12.5、25、50、および 100µg/mL

処置：

細胞毒性をニュートラルレッド (NR) 測定法を用いて測定した。NR 測定は生育可能な無損傷細胞のリソソームにおける、生体色素であるニュートラルレッドの摂取および蓄積に基づいている。

生育可能な無損傷細胞のリソソームにニュートラルレッドが蓄積した後、これらを脱イオン水、エタノール、および氷酢酸の混合液で溶解した。抽出したニュートラルレッドは 540nm で光度測定し定量する。

光毒性の可能性の測定では、細胞を人工太陽光線 (波長 >320nm) を当てる場合と当てない場合とで被験物質を様々な濃度で処置した。

DMSO に溶解した 100µg/mL の被験物質を最高濃度として使用した。EBSS (Earle 緩衝塩類溶液) 中に被験物質の沈殿は認められなかった。

8 濃度の被験物質または陽性対照 (クロルプロマジン) で 1 時間プレインキュベーションし

た後、細胞を 1.7mW/cm^2 UVA の人工太陽光線で 50 分間照射し、最終的に 5J/cm^2 UVA を照射した。並行培地を暗所で 50 分間保存した。被験群の細胞毒性反応曲線を比較した。 EC_{50} 値を決定し比較して、光無効係数 (PIF) を計算し光毒性の可能性を決定した。

結果：

毒性は照射しない場合には認められず、わずかな毒性が人工太陽光線の照射で認められた。従って「>PIF」値のみが計算できた。照射下での EC_{50} 値 ($95\mu\text{g/mL}$) を図によって決定し、照射しない場合の最大被験物質濃度 C_{max} は $100\mu\text{g/mL}$ であるため、結果として 1.05 で >PIF となった。しかしこの場合には生物学的に関連しない。

添付書類 36 および 37 参照。

結論：

観察した試験および報告した試験条件下では、人工太陽光線の有無にかかわらず、光毒性の可能性が Balb/c 3T3 細胞の処置後に認められなかった。

RESULTS

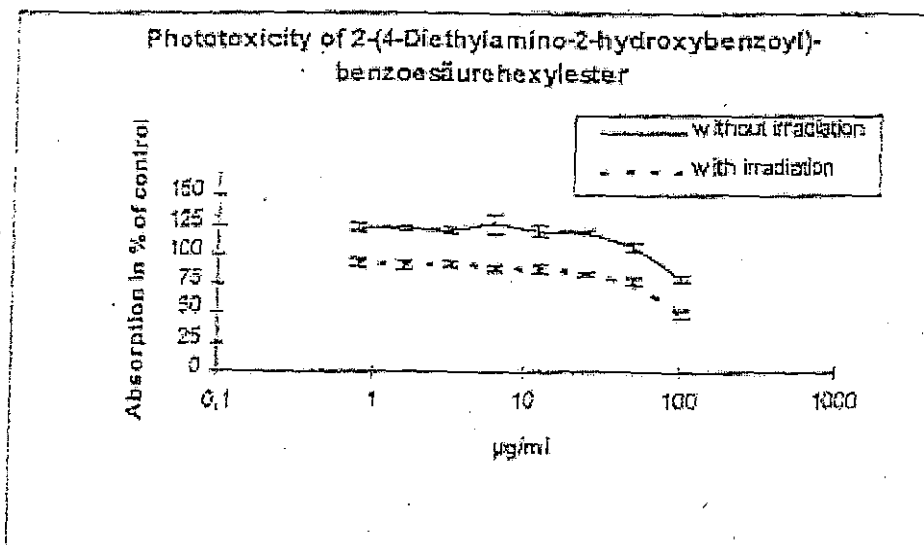
Table 1: Treatment of Balb/c 3T3 cells with 2-(4-Diethylamino-2-hydroxybenzoyl)-benzoessäurehexylester

+ UV-light				- UV-light			
Conc. in $\mu\text{g/ml}$	O.D. _{540 nm} mean value*	Standard deviation	% of solv. control	Conc. in $\mu\text{g/ml}$	O.D. _{540 nm} mean value*	Standard deviation	% of solv. control
neg. control	0.849	0.053	93	neg. control	1.047	0.044	126
solv. control	0.917	0.061	100	solv. control	0.833	0.065	100
0.78	0.856	0.038	93	0.78	1.022	0.025	123
1.56	0.839	0.030	91	1.56	1.017	0.023	122
3.13	0.844	0.026	92	3.13	1.004	0.016	120
6.25	0.821	0.029	89	6.25	1.052	0.066	126
12.5	0.804	0.026	88	12.5	1.001	0.034	120
25.00	0.766	0.023	84	25.00	0.990	0.020	119
50.00	0.709	0.037	77	50.00	0.895	0.027	107
100.00	0.450	0.026	49	100.00	0.666	0.027	80

* = corrected with mean blank

	C_{max} (-UV) [$\mu\text{g/ml}$]	EC_{50} (+UV) [$\mu\text{g/ml}$]	>PIF
2-(4-Diethylamino-2-hydroxybenzoyl)-benzoessäurehexylester	100	95	1.05

Figure 1: Phototoxicity of 2-(4-Diethylamino-2-hydroxybenzoyl)-benzoessäurehexylester



添付書類 37

結果 陽性対照

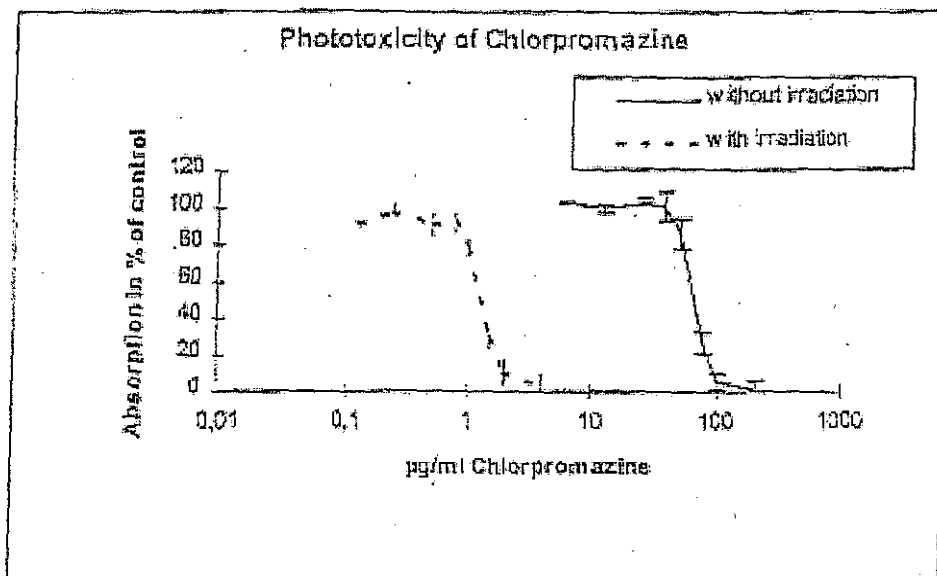
Table 2: Treatment with the positive control (Chlorpromazine)

+ UV-light				- UV-light			
Conc. in $\mu\text{g/ml}$	O.D. _{540 nm} mean value*	Standard deviation	% of neg. control	Conc. in $\mu\text{g/ml}$	O.D. _{540 nm} mean value*	Standard deviation	% of neg. control
neg. control	0.971	0.139	100	neg. control	1.084	0.077	100
0.125	0.880	0.009	91	6.25	1.094	0.011	103
0.250	0.956	0.031	98	12.50	1.068	0.017	100
0.500	0.888	0.054	91	25.00	1.105	0.025	104
0.750	0.892	0.052	92	37.50	1.074	0.089	101
1.000	0.759	0.035	78	50.00	0.911	0.083	86
1.500	0.274	0.033	28	75.00	0.289	0.059	27
2.000	0.103	0.071	11	100.00	0.065	0.053	6
4.000	0.041	0.059	4	200.00	0.013	0.050	1

* = corrected with mean blank

	EC ₅₀ (-UV) [$\mu\text{g/ml}$]	EC ₅₀ (+UV) [$\mu\text{g/ml}$]	PIF
Chlorpromazine	63	1.2	52.5

Figure 2: Phototoxicity of Chlorpromazine



8 光感作性

モルモットにおける皮膚経路による光毒性および光感作性の可能性

試験期間： 2000年11月27日～2001年3月26日

試験実施施設： Centre International De Toxicologie

27005 Evreux Cedex France

試験計画は Unkovic ら、Sci.Tech Ani.Lab.,8,No.3:149-160(1983)によって公表された方法に基づいた。

試験動物： Hartley 系モルモット雄 25 匹

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

照射： 紫外線ランプ「Toxicotronic」312/365nm (Vilbert/Lourmat) を使用。
照射は紅斑誘発照射量以下で最初に UVB (312nm) を照射し、
後に UVA (365nm) 照射する 2 段階で実施 (紅斑スコア ≤ 0.5)。

照射量： UVA で 9 ジュール/cm²、UVB で 0.1 ジュール/cm² だった。

投与経路： 経皮

試験群： 25 匹のモルモットを 4 群に分けた。

第 1 群 (5 匹)： 照射対照群

第 2 群 (5 匹)： 被験物質により処置した群

第 3 群 (10 匹)： 被験物質で処理し、照射した群

第 4 群 (5 匹)： 溶媒 (オリーブ油) 対照群

試験方法：

被験物質の光毒性の可能性を、全群のモルモットに 1 日目に実施した初回処置または照射あるいはその両方の実施 1, 4 および 24 時間後に評価した。

被験物質の光感作性の可能性は、前肩甲部の 2-8 日目の感作期間に、5 回の処置または照射あるいはその両方を行い、次いで 20 日間休息期間を設け、29 日目にモルモットの両脇腹後部に惹起適用または照射 (右脇腹：UVA、左脇腹：UVB) あるいはその両方を実施し、1, 4, 24 および 48 時間後に全群のモルモットについて評価した。

初回投与及び 29 日目の惹起では、オリーブオイルに被験物質 10% (w/w) 含有させた溶液、2-8 日目の感作期間 (計 5 回処置：2, 3, 6, 7, 8 日目) には被験物質 20% (w/w) 溶液を

それぞれ 0.2mL の投与容量で皮膚経路に適用した。

試験群と処置の関係を下表に示す。

群	動物数	1 日目 観察 1-2 日目 (1, 4, 24h)		2,3,6,7, 8 日目 観察 3-9 日目 (24h)		9-28 日目 休息期間	29 日目 観察 29-31 日 (1, 4, 24, 48h)	
		光毒性		感作期間			惹起	
		投与部位：前肩甲部（1ヶ所）						投与部位： 脇腹後部（左右2ヶ所）
		投与	照射	投与	照射		投与	照射
1	5	—	UVA+UVB	—	UVA+UVB		—	UVB(左), UVA(右)
2	5	10 % 溶液	—	20 % 溶液	—		10 % 溶液	—
3	10	10 % 溶液	UVA+UVB	20 % 溶液	UVA+UVB		10 % 溶液	UVB(左), UVA(右)
4	5	溶媒	UVA+UVB	溶媒	UVA+UVB		溶媒	UVB(左), UVA(右)

溶媒：オリーブオイル

皮膚反応を処置部位について評価した。試験の最後に、モルモットを内部器官検査せずに殺した。最後の観察で皮膚反応をしめしたモルモットの惹起適用部位を皮膚サンプルとして採取した。組織学的検査は実施しなかった。

評価基準：

紅斑なし	0
疑わしい紅斑	0.5
弱い紅斑	1
はっきりした紅斑	2
高度の紅斑	3
浮腫を伴う高度の紅斑	4

結果：

臨床的な徴候および死亡は試験中に認められなかった。処置モルモットの体重増は対照モルモットと同様だった。

光毒性の可能性

被験物質の光刺激性に起因し得る皮膚反応第 1、2、3、および 4 群のほとんどすべてのモルモットに 1 日目および 2 日目で観察された皮膚反応は、紅斑誘発照射量以下の照射で局所反応範囲内に継続し（疑わしい、あるいは弱い紅斑）、対照群および処置群で同じ発生率だった。被験物質の光刺激性に起因する皮膚反応は観察されなかった。添付書類 38 参照。

光感作性の可能性

第 1、2、3、および 4 群のほとんどすべてのモルモットに 29 日目で観察された皮膚反応は、紅斑誘発照射量以下の照射で局所反応範囲内に継続し（疑わしい、あるいは弱い紅斑）、対照群および処置群で同じ発生率だった。

皮膚反応は対照群 1 および 4 のモルモットでは 24 時間および 48 時間の判定時まで持続しなかった。

弱い紅斑が 24 時間判定時まで対照群 2 の 5 匹のうち 3 匹、処置群 3 の 10 匹のうち 5 匹に、48 時間判定時まで対照群 2 の 5 匹のうち 1 匹、処置群 3 の 10 匹のうち 1 匹に持続した。被験物質の光感作性に起因し得る皮膚反応は観察されなかった。

添付書類 40 参照。

結論：

実験条件下で、被験物質の局所適用はモルモットにおける光毒性反応あるいは光感作性反応を誘発しない。

添付書類 38

皮膚反応の紅斑スコアー 観察 1~2 日目(光毒性)

試験群	動物No.	処置前	1日目 (1時間後)	1日目 (4時間後)	2日目 (24時間後)
1. 照射のみ	101	0	0.5	0	0
	102	0	1	1	0.5
	103	0	1	1	0
	104	0	0.5	0	0
	105	0	1	1	0
2. 被験物質投与のみ	106	0	1	1	0
	107	0	1	1	1
	108	0	0	0	1
	109	0	0	0	0
	110	0	1	1	0
3. 被験物質投与 および照射	111	0	0.5	0.5	0
	112	0	0	0	0
	113	0	0.5	0.5	0
	114	0	1	1	0.5
	115	0	0.5	0	0
	116	0	1	1	0.5
	117	0	0.5	0	0
	118	0	0.5	0	0
	119	0	1	1	0.5
	120	0	1	1	0.5
4. 溶媒投与 および照射	121	0	1	1	0
	122	0	1	1	1
	123	0	0.5	0.5	0.5
	124	0	0.5	0.5	0.5
	125	0	1	1	0

添付書類 39

皮膚反応の紅斑スコアー 観察3~9日目 (感作期間)

試験群	動物No.	3日目	4日目	7日目	8日目	9日目
1. 照射のみ	101	0	0	0	0	0
	102	0	0	0	0	0
	103	0	0	0	0	0
	104	0	0	0	0	0
	105	0	0	0	0	0
2. 被験物質投与のみ	106	0	0	0	0	0
	107	1	1	1	1	1/A
	108	0	0	0	0	0
	109	0	0	0	0	0
	110	1	0	0	0	1
3. 被験物質投与 および照射	111	0	0	0.5	0	0
	112	0	0	0.5	0	0
	113	0	0	0	0	0
	114	0	0	0	0	0
	115	0.5	0.5	0	0	0.5
	116	0	0	1	0.5	0.5
	117	0.5	0	0	0	0
	118	0	0.5	0	0	0
	119	0.5	0	0.5	0.5	0.5
	120	0.5	0.5	0	0	0
4. 溶媒投与 および照射	121	0	0	1	0.5	1
	122	0.5	0.5	1	0.5	2
	123	0	0.5	0.5	0	1
	124	0.5	0.5	0	0	0
	125	0	0	0	0	0

A: 痂皮

添付書類 40

皮膚反応の紅斑スコアー 観察 29~31 日目 (惹起)

試験群	動物No.	処置前		29日目		29日目		30日目		31日目	
		左	右	左	右	左	右	左	右	左	右
1. 照射のみ	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	102	0	0	0.5	0	0.5	0.5	0	0	0	0
	103	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0
	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. 被験物質投与のみ	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	107	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	108	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	110	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
3. 被験物質投与 および照射	111	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1
	112	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0
	113	0	0	0.5	0.5	1	1	1	1	0	0
	114	0	0	1	0.5	1	1	1	1	0	0
	115	0	0	1	1	1	1	1	0.5	0	0
	116	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
	117	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0
	118	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0
	119	0	0	0	0	0.5	0.5	0	0	0	0
	120	0	0	0.5	1	0.5	1	0.5	0.5	0	0
4. 溶媒投与 および照射	121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	122	0	0	0	0.5	0	0.5	0	0	0	0
	123	0	0	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	0	0
	124	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
	125	0	0	0	0.5	0	0.5	0	0	0	0

左: 左脇腹(UVB照射)

右: 右脇腹(UVA照射)

9 眼刺激性

ウサギにおける急性眼刺激性

試験期間： 2000年3月24日～2000年12月4日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

- OECD 化学品テストガイドライン、ガイドライン No.405
「急性眼刺激性/腐食」、1987年2月24日承認
- EEC 指令 92/69、毒性測定法、No.L383A、
B.5：「急性毒性-眼刺激性」、1992年12月29日
- U.S.EPA、健康影響試験ガイドライン OPPTS 870.2400
「急性眼刺激性」1998年8月

試験動物： ニューゼーランドホワイト種ウサギ3匹

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

用量： 原体(結晶形粉末) 40mg を眼に単回適用。適用 24 時間後、眼を水道水ですすいだ。

眼病変の評価基準：

角膜：混濁 (op) *：混濁の程度 (最も混濁した領域を読み取る)

- 0 = 潰瘍または混濁を認めない
- 1 = 散在性もしくは放散性の混濁 (通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる)
虹彩の細部は明瞭に透視可能
- 2 = 透明な部分は残っているが、虹彩の細部がやや不明瞭
- 3 = 真珠様光沢部位があり、虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかろうじて見分けられる
- 4 = 角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない

* 表は OECD ガイドライン No. 405 (1987年2月24日採択)、EEC 指令 92/69、L383A、B.5 (1992年12月29日) および EPA/OPPTS、870、2400 (1998年8月) に準拠。

角膜：範囲 (ar) *：角膜の混濁がみとめられた部分の大きさ

- 0 = なし
- 1 = 1/4 以下
- 2 = 1/4 を超え、1/2 以下
- 3 = 1/2 を超え、3/4 以下
- 4 = 3/4 を超える

結膜：発赤 (red) *：(眼瞼および眼球結膜、角膜、虹彩)

- 0 = 血管正常
- 1 = 一部の血管が明らかに充血 (充血)、
- 2 = 放散性の深紅色、個々の血管は容易に見分けられない、
- 3 = 放散性の牛肉様赤色

結膜浮腫 (sw) *：眼瞼結膜および瞬膜

- 0 = 腫脹なし
- 1 = 正常を超える腫脹 (瞬膜を含む)
- 2 = 眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹
- 3 = 眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹
- 4 = 眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹

虹彩：*

- 0 = 正常
- 1 = 皺壁形成亢進、うっ血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、もしくは充血、これらのいずれかまたは組合せ、対光反応は認められる (緩徐陽性反応)
- 2 = 対光反応消失、出血、著しい組織崩壊 (これらのいずれかまたはすべて)

結果：

軽度から中度の結膜発赤が適用した日にすべてのウサギで観察された。さらに 1 匹でわずかな分泌物が認められた。眼反応は遅くとも適用後 48 時間以内にすべてのウサギで回復した。刺激の平均スコア (24 時間から 72 時間) は角膜混濁、虹彩、結膜水腫で 0.0 (正常)、結膜発赤で 0.3 (軽微) と計算された。

観察時間毎の各動物の刺激反応と平均値を次表に示す。

* 表は OECD ガイドライン No. 405 (1987 年 2 月 24 日採択)、EEC 指令 92/69、L383A、B.5 (1992 年 12 月 29 日) および EPA/OPPTS、870、2400 (1998 年 8 月) に準拠。

観察時間毎の各動物の刺激反応と平均値

評価	動物	角膜		虹彩	結膜		
		op	ar		red	sw	di
1 h	01	0	0	0	2	0	1
	02	0	0	0	1	0	0
	03	0	0	0	2	0	0
24 h	01	0	0	0	1	0	0
	02	0	0	0	1	0	0
	03	0	0	0	1	0	0
48 h	01	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0
72 h	01	0	0	0	0	0	0
	02	0	0	0	0	0	0
	03	0	0	0	0	0	0
平均	01	0.0		0.0	0.3	0.0	
	02	0.0		0.0	0.3	0.0	
	03	0.0		0.0	0.3	0.0	
平均		0.0		0.0	0.3	0.0	

1993年4月27日付の93/21/EEC基準に基づき平均値を計算した(24、48および72時間後の評価のみについて、角膜混濁、虹彩、結膜の発赤および腫脹の平均を計算した)。

結論:

刺激に対する平均スコアだけでなく観察された眼反応も考慮し、被験物質は選択した試験条件下で眼に刺激特性の徴候を示さない。

10 遺伝毒性

10.1 ネズミチフス菌 [Salmonella typhimurium] / 大腸菌 [Escherichia coli] 復帰突然変異試験

試験期間： 2000年1月21日 ~ 2000年6月16日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。
- OECD No.471 (1997年7月21日)
- EEC 指令 92/69、B14 および B13 (1992年12月)

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

菌株： Salmonella typhimurium TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98、および
Escherichia coli WP2 uvrA

用量範囲： 標準プレート試験： 20 μ g~5,000 μ g/プレート (DMSO 溶解)
プレインキュベーション試験： 4 μ g~2,500 μ g/プレート (DMSO 溶解)

試験条件： 実験 I 標準プレート試験 実験 II プレインキュベーション試験
いずれも代謝活性化を伴う場合と伴わない場合について試験
陰性対照 (溶媒対照および無菌対照) 及び陽性対照を用いた。

結果：

標準プレート試験あるいはプレインキュベーション試験において、代謝系への S9-mix 無添加あるいは添加後のいずれでも his+ または trp+ 復帰突然変異体数の増加は認められなかった。結果は添付書類 41~46 参照。 500 μ g/プレート用量以上で被験物質の沈殿が認められた。標準プレート法において、菌株により 500~2500 μ g/プレート用量で変異体数にわずかな減少が認められ、プレインキュベーション法においては菌株により 100~500 μ g/プレート用量で弱いバクテリア毒性が認められた。

結論：

被験物質は選定した実験条件下でネズミチフス菌 / 大腸菌復帰突然変異試験において変異原性はなかった。

添付書類 41

復帰突然変異試験結果

実験 I : 標準プレート法

菌株 TA1535

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	17	1	1.0	18	2	1.0
20	16	3	1.0	15	3	0.8
100	16	2	1.0	14	1	0.7
500	12 p	2	0.7	12 p	2	0.7
2500	8 p	3	0.5	9 p	2	0.5
5000	7 p	0	0.4	8 p	1	0.4
MNNG 5.0	684	35	40.2			
2-AA 2.5				145	10	7.9

菌株 TA100

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	106	4	1.0	137	10	1.0
20	112	16	1.1	130	12	1.0
100	110	7	1.0	113	15	0.8
500	87 p	13	0.8	106 p	13	0.8
2500	82 p	3	0.8	91 p	13	0.7
5000	65 p	19	0.6	79 p	2	0.6
MNNG 5.0	767	183	7.2			
2-AA 2.5				886	75	6.5

陽性対照 (いずれも DMSO に溶解)

(2-AA) 2-aminoanthracene

(MNNG) M-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

P: 沈殿

添付書類 42

復帰突然変異試験結果

実験 I : 標準プレート法

菌株 TA1537

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	10	2	1.0	12	2	1.0
20	12	2	1.2	9	3	0.8
100	9	3	0.9	9	2	0.7
500	6 p	1	0.6	8 p	2	0.7
2500	4 p	1	0.4	5 p	2	0.4
5000	4 p	1	0.4	3 p	2	0.2
AAC 100	454	29	45.4			
2-AA 2.5				114	9	9.5

菌株 TA98

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	31	4	1.0	40	10	1.0
20	25	4	0.8	48	3	1.2
100	29	3	0.9	56	7	1.4
500	19 p	4	0.6	53 p	6	1.3
2500	14 p	2	0.4	44 p	10	1.1
5000	12 p	3	0.4	20 p	1	0.5
NOPD 10	749	49	24.2			
2-AA 2.5				720	28	18.2

陽性対照 (いずれも DMSO に溶解)

(2-AA) 2-aminoanthracene (AAC) 9-aminoacridine

(NOPD) 4-nitro-o-phenylenediamine

P: 沈殿

復帰突然変異試験結果

実験 I : 標準プレート法

菌株: WP2 uvrA

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	37	5	1.0	44	11	1.0
20	32	1	0.9	38	2	0.9
100	35	5	1.0	32	3	0.7
500	31 p	1	0.8	40 p	4	0.9
2500	34 p	6	0.9	34 p	3	0.8
5000	25 p	3	0.7	31 p	6	0.7
4-NQO 5.0	774	22	21.1			
2-AA 60				253	20	5.8

陽性対照 (いずれも DMSO に溶解)

(2-AA) 2-aminoanthracene

(4-NQO) 4-nitroquinoline-N-oxide:

P: 沈殿

添付書類 44

復帰突然変異試験結果

実験 II : プレインキュベーション法

菌株 TA1535

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	17	3	1.0	17	2	1.0
4	15	2	0.9	17	4	1.0
20	16	1	0.9	15	2	0.9
100	15	3	0.9	12	2	0.7
500	12 p	2	0.7	9 p	1	0.6
2500	9 p	5	0.5	5 p	2	0.3
MNNG 5.0	584	35	34.3			
2-AA 2.5				119	8	7.2

菌株 TA100

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	111	6	1.0	125	19	1.0
4	105	9	0.9	122	7	1.0
20	102	4	0.9	107	10	0.9
100	93	11	0.8	88	10	0.7
500	77 p	7	0.7	72 p	2	0.6
2500	55 p	16	0.5	49 p	7	0.4
MNNG 5.0	644	136	5.8			
2-AA 2.5				750	20	6.0

陽性対照 (いずれも DMSO に溶解)

(2-AA) 2-aminoanthracene

(MNNG) M-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

P: 沈殿

添付書類 45

復帰突然変異試験結果

実験 II : プレインキューベーション法

菌株 TA1537

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	10	2	1.0	11	2	1.0
4	9	2	0.9	11	3	1.1
20	7	2	0.7	9	1	0.8
100	8	2	0.8	7	2	0.6
500	5 p	2	0.5	4 p	2	0.4
2500	5 p	3	0.5	4 p	3	0.4
AAC 100	511	133	52.8			
2-AA 2.5				126	13	11.8

菌株 TA98

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	24	2	1.0	27	5	1.0
4	21	5	0.9	25	1	0.9
20	17	2	0.7	22	3	0.8
100	13	2	0.6	21	3	0.8
500	12 p	3	0.5	15 p	4	0.6
2500	10 p	2	0.4	12 p	3	0.4
NOPD 10	668	70	28.2			
2-AA 2.5				533	13	20.0

陽性対照 (いずれも DMSO に溶解)

(2-AA) 2-aminoanthracene (AAC) 9-aminoacridine

(NOPD) 4-nitro-o-phenyldiamine

P: 沈殿

添付書類 46

復帰突然変異試験結果

実験 II : プレインキューベーション法

菌株 WP2 *uvrA*

用量 $\mu\text{g}/$ プレート	S9 無添加			S9 添加		
	変異コロニー 数 平均値	標準偏差	倍率	変異コロニー 数 平均値	標準偏差	倍率
溶媒 DMSO	33	4	1.0	34	4	1.0
4	37	8	1.1	28	5	0.8
20	30	4	0.9	30	1	0.9
100	27	5	0.8	23	2	0.7
500	24 p	2	0.7	22 p	4	0.6
2500	19 p	7	0.6	19 p	6	0.5
4-NQO 5.0	606	69	18.4			
2-AA 60				228	23	6.7

陽性対照 (いずれも DMSO に溶解)

(2-AA) 2-aminoanthracene

(4-NQO) 4-nitroquinoline-N-oxide:

P: 沈殿

10 遺伝毒性

10.2 V79 細胞による *in vitro* 染色体異常試験

試験期間： 2000年4月20日～2000年11月30日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法： 次の試験ガイドラインに従う。

－OECD No.473 (1997年7月21日)

－EEC 指令 92/69、B10 (1992年12月)

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

細胞系： チャイニーズハムスターから得られた V79 細胞ライン

試験条件：

用量を決定するため、範囲設定細胞毒性試験結果をもとに、細胞数、分裂指数及び被験物質の溶解性を考慮して次の用量について評価した。

第1実験：4時間暴露、18時間ハーベスト、S-9mix 無添加：0、5.0、10.0、20.0µg/mL

4時間暴露、18時間ハーベスト、S-9mix 添加：0、10.0、20.0、40.0µg/mL

連続暴露および第2ハーベスト時間を含めた第1実験の結果の検証するため、次の用量について実施した

第2実験：18時間暴露、18時間ハーベスト、S-9mix 無添加：0、2.5、5.0、10.0µg/mL

18時間暴露、28時間ハーベスト、S-9mix 無添加：0、10.0µg/mL

4時間暴露、28時間ハーベスト、S-9mix 添加：0、10.0、20.0、40.0µg/mL

溶媒： DMSO

試験方法：

細胞をハーベストする約2～3時間前に、コルセミドを有糸分裂の中期様時期（中期c）における分裂停止細胞に加えた。染色体を調製してギムザ染色した後、被験物質および溶媒対照の各培養について中期100細胞、あるいは同時陽性対照の各培養での50細胞について染色体異常を分析した。

結果：

被験物質は S-9mix 無添加、あるいは互いに独立して行った 2 実験に代謝系を加えた後のいずれでも、また異なる暴露時間（4 時間暴露/連続暴露）およびハーベスト時間（18/28 時間）においてもギャップを含む、含まないいずれの試験系においても構造的染色体異常中期数を増加させなかった。（結果表：添付書類 47 および 48 参照）

異常出現のタイプおよび頻度は、同時に行った陰性対照とほぼ同様の範囲であり、かつ歴史的対照データの範囲内であった。

数的異常を含む細胞の頻度増加はいずれも認められなかった。

選択した試験方法及び用いた S-9mix の代謝活性の感度は、陽性対照物質、EMS（エチルメタンスフオネート）および CPP（シクロフオスファミド）により誘発された染色体異常の出現頻度の増加により明確に実証された。

結論：

被験物質は V79 細胞の *in vitro* 条件下で染色体損傷性（染色体異常誘発性）物質でないと考えられる。

添付書類 47

染色体異常試験結果

第 1 実験

用量 μg/mL	染色体異常 %							
	Gaps 含む	Gaps 除く	交換	複数の 異常	破碎	異数体	倍数体	核内倍加
実験 1 S-9mix 無非添加 4 時間暴露 18 時間ハーベスト								
溶媒対照	2.0	1.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
5.0	4.0	2.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
10.0	3.0	1.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
20.0	3.0	1.5	1.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
陽性対照 ¹	19.0**	17.0**	10.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
実験 1 S-9mix 添加 4 時間暴露 18 時間ハーベスト								
溶媒対照	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
10.0	3.0	2.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20.0	4.5	2.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
40.0	4.0	2.0	1.5	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
陽性対照 ²	25.0	25.0	14.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0

陽性対照

¹ : EMS 350 μg/mL

² : CPP 0.5 μg/mL

** P<=0.01

染色体異常試験結果

第 2 実験

用量 $\mu\text{g/mL}$	染色体異常 %							
	Gaps 含む	Gaps 除く	交換	複数の 異常	破碎	異数体	倍数体	核内倍加
実験 2 S-9mix 無添加 18 時間暴露 18 時間ハーベスト								
陰性対照	6.0	4.5	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2.5	4.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5.0	9.0	2.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10.0	7.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0
陽性対照 ¹	21.0**	20.0**	17.0**	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
実験 2 S-9mix 無添加 18 時間暴露 28 時間ハーベスト								
溶媒対照	6.0	2.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10.0	5.5	3.0	2.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0
実験 2 S-9mix 添加 4 時間暴露 28 時間ハーベスト								
溶媒対照	6.0	2.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
10.0	3.5	2.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
20.0	7.5	4.0	3.0	0.5	0.0	1.5	1.0	0.0
40.0	6.5	3.0	2.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0
陽性対照 ²	18.0**	16.0**	13.0**	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0

陽性対照

¹ : EMS 350 $\mu\text{g/mL}$ ² : CPP 0.5 $\mu\text{g/mL}$ ** $P < 0.01$

11 ヒトパッチ

11.1 化粧品原料のヒト皮膚に対するパッチテスト

報告書作成年月日： 2004年3月12日

試験実施施設： 社団法人 日本毛髪科学協会

試験方法：

被験物質 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステルについて、健常人の皮膚に対する刺激性の有無を検討した。年齢19歳から62歳までの男性18名、女性26、計44名に、試料(被験物質100%原体)0.01gをフィンチャンバーを用いて、上腕屈側部に24時間閉塞貼付を行い、除去後1時間及び24時間にそれぞれ皮膚の状態を観察して判定した。

判定基準：

次の本邦基準によった。

判 定 基 準	—	： 反応なし
	±	： 軽い紅斑
	+	： 紅斑
	++	： 紅斑+浮腫、丘疹
	+++	： 紅斑+浮腫+丘疹、小水疱
	++++	： 大水疱

結果：

試料除去後1時間の反応(別表には判定時間24時間として示す)は1例で紅斑(+)が認められたほかはすべて陰性(-)であり、除去後24時間(別表には判定時間48時間として示す)の反応はすべて陰性(-)で異常は認められなかった。

パッチテストの結果は、添付書類49を参照。

結論：

試料は、刺激反応を惹起する可能性の少ないものと考えられる。

添付書類 49

化粧品原料のヒト皮膚に対するパッチテスト

番号	被験者	性別	年齢	判定時間	判定	備考(既往症)	番号	被験者	性別	年齢	判定時間	判定	備考(既往症)
1	S.A.	F	45	24時間	—	健常	23	J.T.	F	40	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
2	M.I.	F	20	24時間	—	健常	24	Y.N.	M	52	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
3	S.I.	M	51	24時間	—	健常	25	K.N.	M	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
4	S.I.	F	20	24時間	—	健常	26	H.N.	M	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
5	M.O.	M	20	24時間	—	健常	27	T.H.	F	31	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
6	K.O.	M	61	24時間	—	健常	28	N.B.	F	46	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
7	M.O.	F	20	24時間	—	健常	29	M.H.	F	28	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
8	K.K.	M	52	24時間	—	健常	30	S.F.	F	33	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
9	J.K.	F	30	24時間	—	健常	31	K.H.	M	62	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
10	A.K.	F	45	24時間	—	健常	32	S.M.	M	54	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
11	M.K.	F	20	24時間	—	健常	33	T.M.	F	19	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
12	M.S.	F	29	24時間	—	健常	34	R.M.	F	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
13	A.S.	F	20	24時間	—	健常	35	M.M.	F	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
14	T.S.	M	20	24時間	—	健常	36	T.M.	M	32	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
15	I.S.	M	40	24時間	—	健常	37	M.M.	F	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
16	Y.S.	M	32	24時間	—	健常	38	M.Y.	F	35	24時間	+	健常
				48時間	—						48時間	—	
17	T.S.	F	57	24時間	—	健常	39	T.Y.	M	37	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
18	I.S.	F	32	24時間	—	健常	40	S.Y.	M	48	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
19	Y.S.	M	51	24時間	—	健常	41	I.Y.	F	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
20	K.T.	M	51	24時間	—	健常	42	A.Y.	F	20	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
21	M.T.	F	55	24時間	—	健常	43	A.Y.	F	40	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	
22	K.T.	F	43	24時間	—	健常	44	Y.Y.	M	49	24時間	—	健常
				48時間	—						48時間	—	

11 ヒトパッチ

11.2 化粧品のヒト皮膚に対するパッチテスト

報告書作成年月日： 2004年2月5日

試験実施施設： 社団法人 日本毛髪科学協会

試験方法：

被験物質 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステルを10%含有する化粧品について、健常人の皮膚に対する刺激性の有無を検討した。年齢 21 歳から 51 歳までの男性 17 名、女性 28 名、計 45 名に、試料(被験物質 10%含有化粧品)0.01g をフィンチャンバーを用いて、上腕屈側部に 24 時間閉塞貼付を行い、除去後 1 時間及び 24 時間にそれぞれ皮膚の状態を観察して判定した。

判定基準：

次の ICDRG 基準によった。

陰 性	—	： 反応なし
	±	： 軽い紅斑
陽 性	+	： 紅斑
	++	： 紅斑+浮腫、丘疹
	+++	： 紅斑+浮腫+丘疹、小水疱

結果：

試料除去後 1 時間の反応（別表には判定時間 24 時間として示す）はすべて陰性（—）であり、除去後 24 時間の反応別表には判定時間 48 時間として示す）もすべて陰性（—）で異常は認められなかった。

パッチテストの結果は、添付書類 50 を参照。

結論：

試料は、刺激反応を惹起する可能性の少ないものと考えられる。

添付書類 50

化粧品のヒト皮膚に対するパッチテスト

番号	被験者	性別	年齢	判定時間	判定	備考(既往症)	番号	被験者	性別	年齢	判定時間	判定	備考(既往症)
				24時間							48時間		
1	KA.	F	38	24時間	—	健 常	23	M.T.	F	35	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
2	TA	M	25	24時間	—	健 常	24	K.T.	F	32	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
3	NA.	M	33	24時間	—	健 常	25	M.T.	M	44	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
4	Y.J.	F	26	24時間	—	健 常	26	S.T.	F	23	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
5	T.I.	M	38	24時間	—	健 常	27	T.T.	M	34	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
6	M.I.	F	30	24時間	—	健 常	28	A.T.	F	26	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
7	N.I.	F	27	24時間	—	健 常	29	H.T.	F	32	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
8	Y.I.	M	41	24時間	—	健 常	30	T.N.	M	28	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
9	Y.I.	M	28	24時間	—	健 常	31	A.N.	F	39	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
10	M.O.	F	22	24時間	—	健 常	32	A.H.	F	26	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
11	Y.O.	F	22	24時間	—	健 常	33	Y.H.	F	36	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
12	T.O.	M	34	24時間	—	健 常	34	K.F.	M	38	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
13	M.O.	F	31	24時間	—	健 常	35	T.F.	M	55	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
14	M.K.	F	30	24時間	—	健 常	36	E.H.	F	25	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
15	A.K.	M	37	24時間	—	健 常	37	M.M.	F	27	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
16	N.K.	M	21	24時間	—	健 常	38	T.M.	F	32	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
17	Y.K.	F	27	24時間	—	健 常	39	T.M.	M	23	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
18	K.G.	F	33	24時間	—	健 常	40	T.M.	F	26	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
19	M.S.	M	49	24時間	—	健 常	41	K.M.	F	24	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
20	A.S.	F	4	24時間	—	健 常	42	T.M.	M	34	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
21	I.S.	M	44	24時間	—	健 常	43	S.M.	F	39	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
22	A.S.	F	24	24時間	—	健 常	44	H.Y.	F	31	24時間	—	健 常
				48時間							48時間		
							45	M.W.	F	24	24時間	—	健 常
											48時間	—	健 常

12 吸収・分布・代謝・排泄

ブタ上皮膜経由 in vitro 皮膚吸収

試験期間： 2000年4月10日～2000年12月4日

試験実施施設： BASF Aktiengesellschaft
Experimental Toxicology and Ecology
67056 Ludwigshafen / Germany

試験方法：

2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステルの皮膚浸透の可能性を、ブタの背中中の皮膚から上皮膜に10%日焼け止め組成を単回投与し in vitro 評価した。固定式皮膚浸透チャンバー法を使用した。方法は OECD 草案ガイドライン 428 (2000年12月) に従い、試験は GLP 条件下で実施した。

被験物質： 2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル
バッチ番号 R 323/681

試験条件： 被験物質の 0.2 および 1.0mg/cm² を投与量あたりブタ皮膚の 8~12 サンプル上に 24 時間まで適用した (すなわち日焼け止め組成で 2 および 10mg/cm²)。

固定式皮膚浸透チャンバー法を使用した。ドナーチャンバーはバラフィルム R シートで覆った。24 時間の暴露時間の間、リセプター液サンプルを決まった時間に収集し、吸収率、停滞状態および浸透定数を決めた。暴露時間終了時に別の部分の被験物質を非吸収量 (ドナーチャンバー、皮膚洗浄)、表皮中の量、およびリセプターチャンバー中の量として測定した。

結果： 次の表に示す。

投与群		2	3
組成の理論的投与量	[mg/cm ²]	2	10
被験物質の理論的投与量	[μg/cm ²]	200	1000
全回収率 平均値	[投与量の%]	102.19	91.39
標準偏差		17.85	4.07
Kp 平均値	[cm/h*10 ⁻³]	0.0001	0.0031
標準偏差		0.0001	0.0067
吸収率 平均値	[μg/cm ² /h]	0.010	0.336
標準偏差		0.007	0.723
停滞時間 平均値	[h]	2.00	0.05
標準偏差		4.90	0.13

結論：

判明した吸収率、浸透定数 [Kp]、およびリセプター部分の回収率によって、選択試験条件下では被験物質の非常に遅い浸透が実証される。吸収動力学において投与量と関連した差異は認められなかった。

13 安全係数について

(10) 安全係数

ブタ上皮膜經由 in vitro 皮膚吸収試験において、2-(4-ジエチルアミノ-2-ヒドロキシベンゾイル)-安息香酸ヘキシルエステル10%含有製剤を一般的な塗布量である $2\text{mg}/\text{cm}^2$ で実施した場合の吸収率 $0.01\ \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ を下に、全身に塗布した場合の安全係数を、ラットにおける経口反復投与毒性試験の無毒性量（雄： $1248.8\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ 、雌 $1452.1\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ ）及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 $200\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ 、胚・胎児の無毒性量 $1000\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ に基づき、次の方法で安全係数を算出した。

(安全係数の計算)

- ・ 有効成分の配合量 (%) 10%
- ・ 一般的な総体表面積 18000cm^2
- ・ 1日当りの吸収量 ($2\text{mg}/\text{cm}^2$ 塗布の場合)
 $0.01\ \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h} \times 18000\text{cm}^2 \times 24\text{h} \times 0.001 = 4.32\text{mg}/\text{日}$
- ・ ヒトの典型的な体重 (女性) (kg) 50kg

- ・ 全身暴露量 (SED) ($\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$)
 $4.32\text{mg}/\text{日} \div 50\text{kg} = 0.086\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$

・ 安全係数

経口反復投与毒性試験の無毒性量(雄: $1248.8\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ 、雌: $1452.1\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$)に対し

$$\text{雄} : 1248.8\text{mg}/\text{kg}/\text{日} \div 0.086\text{mg}/\text{kg}/\text{日} = 14,521\text{倍}$$

$$\text{雌} : 1452.1\text{mg}/\text{kg}/\text{日} \div 0.086\text{mg}/\text{kg}/\text{日} = 16,885\text{倍}$$

生殖発生毒性試験における母動物の無毒性量($200\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$)に対し

$$200\text{mg}/\text{kg}/\text{日} \div 0.086\text{mg}/\text{kg}/\text{日} = 2,326\text{倍}$$

胚・胎児の無毒性量($1000\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$)に対し

$$1000\text{mg}/\text{kg}/\text{日} \div 0.086\text{mg}/\text{kg}/\text{日} = 11,628\text{倍}$$