

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

⑧マウスを用いた小核試験

(資料No. A-14)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：

試験動物：ICR系雄マウス(10週, 体重34~42g 令) 1群6匹

試験期間：1982年7月16日~1982年8月13日

試験方法：

設定予定濃度(ppm)	79	158	315	630
平均実測濃度(ppm)	80	170	340	658

暴露条件：チャンバー 120ℓ換気回数15回/時間

検体を加温により気化させ、発生した気体を清浄空気で希釈し、上部よりチャンバー内に導入し下部より排出するone pass方式で供給した。暴露は4時間、1回のみ全身暴露とした。

対照物質：陰性対照としては、空気のみ暴露。

陽性対照として、蒸留水に溶解したトリエチレンメラミンを0.5 mg/kg (10ml/kg)の用量で1回腹腔内投与した。

標本作製：小核を観察するため、暴露終了24時間後大腿骨より骨髓細胞得、その塗抹標本作製した。340ppm群については、48時間及び72時間後にも同標本作製した。標本メタノール固定後50%May-Grünwald液及び2.5%Giemsa液で染色した。

試験項目及び結果

中毒症状：暴露開始10分後、170ppm以上の濃度群で、全例に流涙とうずくまり658ppm群では半数に閉眼、流涎を、20分後には他の群でも約半数に閉眼、流涎を認めた。1時間後には658ppm、340ppm群で、手足、耳介、尾に紅潮を、2時間後には170ppm群を含めて立毛を認めた。また、658ppm群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

では暴露終了時に軟便、努力性呼吸の例を認めた。暴露終了1時間後には170ppm、80ppm 群ではほぼ全例が正常にまで回復したのに対し、658ppm、340ppm群では抜毛不良、乾性ラッセル音、流涙痕、流涎痕を認めた。さらに658ppm群では自発運動の低下、腹ばい、腹部の膨満、軟便痕を認めた。

暴露終了2時間後においても、658ppm、340ppm群では、症状の回復が認められなかった。

死亡は658ppm群で4例認められた。

体 重 ; 僅かな体重減少がみられたものの陰性対照群と変らなかった。

多染性赤血球出現頻度及び小核をもつ赤血球数と出現頻度 ;

処 理 群	処 理 濃 度	骨髄細胞 回収時期 (時間)	#1 多染性赤血 球出現頻度 (%±s. e.)	#2 小核を持つ赤血球数と出現頻度 多染性赤血球 正染性赤血球 全赤血球 (%±s. e.)		
陰性対照群	0	24	35.1±1.93	4 (0.67 ±0.2)	1 (0.17 ±0.17)	5 (0.83±0.31)
陽性対照群 (TEM)	0.5mg/kg	24	28.2±2.48	322* (53.67±3.45)	5 (0.83±0.31)	327* (54.5±3.65)
検 体 群 (LC ₅₀ ×1/8)	80ppm	24	36.8±1.12	8 (1.33 ±0.21)	3 (0.5 ±0.22)	11 (1.83±0.17)
(LC ₅₀ ×1/4)	170ppm	24	37.5±1.61	7 (1.17 ±0.31)	2 (0.33±0.33)	9 (1.5 ±0.43)
(LC ₅₀ ×1/2)	340ppm	24	38.1±1.17	6 (1 ±0.26)	1 (0.17±0.17)	7 (1.17 ±0.40)
		48	31.5±1.61	4 (0.67 ±0.33)	2 (0.67±0.21)	6 (1.5 ±0.22)
		72	36.8±2.22	5 (0.83 ±0.31)	4 (0.67±0.21)	9 (1.5 ±0.22)
(LC ₅₀)	658ppm	24	27.3±6.3	2 (1)	3 (1.5)	5 (2.5)

#1 L- 検体(*有意差あり ; P<0.01)

#2 Kastenbaum とBowmanの推計額的方法(*有意差あり ; P<0.01)

本剤は小核を誘起せず、in vivo染色体異常誘発性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

⑨マウスを用いた小核試験

(資料No. C-27)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1985年

検体の純度:

試験動物: CD-1 (ICR) BR 系マウス

方法: 検体を38, 115 及び380mg/kgとなるようコーン油に溶解して単回強制経口投与した。陰性対照はコーン油, 陽性対照はシクロホスファミド120mg/kgを投与した。1群5匹ずつに分け、投与後24及び48時間後に屠殺し、骨髓サンプルを採取して塗抹標本を作成した。標本中の多染性赤血球を動物個体あたり1000個について観察し、小核を持つ多染性赤血球 (MN-PCE) と正染性赤血球 (MN-NCE) を記録した。また PCE : NCE の骨髓中の比率は赤血球 200個について観察した。

結果:

薬物	用量 (mg/kg)	24 時間				48 時間			
		動物数	PCE 数	MN-PCE	PCE %	動物数	PCE 数	MN-PCE	PCE %
陰性対照	—	5	5000	1.0 ±1.0	56.8 ±6.9	5	5000	1.2 ±0.4	57.3 ±3.1
検体	38	5	5000	1.6 ±1.5	56.8 ±1.9	5	5000	0.6 ±0.9	61.5 ±5.0
	115	5	5000	1.4 ±1.1	55.1 ±9.9	5	5000	0.6 ±0.9	61.6 ±3.2
	380	4	4000	1.8 ±1.5	60.3 ±2.5	2	2000	1.5 ±2.1	52.0 ±7.8
陽性対照	120	5	5000	47.0↑ ±11.0	34.1 ±7.3				

↑: p<0.01, 順位検定

検体のいずれの濃度、時間においても、MN-PCEの出現頻度に有意な差はみられなかった。

一方、陽性対照群では、有意な増加がみられた。

以上より、本被験物質は、マウスの骨髓小核試験で陰性であると判断された。

⑩ラット肝細胞を用いた不定期DNA合成試験

(資料No. C-28)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1985年

検体の純度:

方法: Fischer 344 系雄ラットの肝細胞を初代培養し、DNA損傷を調べた。検体は、DMSOに溶解させてから、牛胎仔血清を含むWilliams培地E (WE) (3-H-チミジン $10 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ を含む) で、 3×10^{-3} , 1×10^{-3} , 3×10^{-4} , 1×10^{-4} , 3×10^{-5} , 1×10^{-5} , 3×10^{-6} 及び $1 \times 10^{-6}\text{M}$ の各濃度に調整した。陰性対照として、DMSOのみを投与した培養を用いた。また、陽性対照として、2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)を 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 及び 10^{-7}M の各濃度で用いた。培養細胞に検体及び対照を処理し、18時間インキュベートした後、細胞をスライドガラスにのせてオートグラフィーにかけ、NTB各痕跡検出用写真乳剤で覆い、10日間冷蔵保存した。露光終了後に標本を現像し、ヘマトキシリン・エオジンで染色し核内の粒子を数えた。

結果:

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	差引き核粒子数 a mean \pm S.D.	
陰性対照 ($10 \mu\text{l}$ 添加)	0	-3.8 ± 3.6	1.4 ± 3.2
2-AAF	1×10^{-4}	$78.1 \pm 27.1 \uparrow d$	$80.1 \pm 17.2 \uparrow d$
	1×10^{-5}	$56.6 \pm 13.3 \uparrow d$	$86.5 \pm 22.1 \uparrow d$
	1×10^{-6}	$56.3 \pm 20.8 \uparrow d$	$54.6 \pm 12.8 \uparrow$
	1×10^{-7}	6.4 ± 5.1	4.8 ± 3.7
検体	$3 \times 10^{-3} b$	-C	$-0.7 \pm 0.9 d$
	1×10^{-3}	$-1 \pm 1.0 d$	$0.5 \pm 3.8 d$
	3×10^{-4}	$-3.5 \pm 3.7 d$	$-1.2 \pm 2.2 d$
	1×10^{-4}	$-7.4 \pm 7.3 d$	$-2.9 \pm 3.5 d$
	3×10^{-5}	$-12.1 \pm 8.1 d$	$-2.8 \pm 2.3 d$
	1×10^{-5}	$-5.4 \pm 4.3 d$	$-3.0 \pm 3.0 d$
	3×10^{-6}	-3.5 ± 2.8	$-4.1 \pm 3.6 d$
	1×10^{-7}	-3.1 ± 3.0	$-2.4 \pm 2.7 d$

a. $n=150$ 差引核粒子数 = (核粒子数) - (細胞質粒子数)

b. 培養液中に沈澱が認められる。c. 細胞毒性、評価できず。

d. 細胞毒性

↑. 陽性反応、核粒子数が6以上または統計学的有意差 ($p < 0.05$)

本試験で用いたすべての検体濃度において不定期DNA合成の誘発は認められなかった。これに対して2-AAFでは 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , $1 \times 10^{-6}\text{M}$ の各濃度で、陰性対照に比べ、不定期DNA合成の著しい増加が認められた。

以上の結果から、本剤は、この系においてDNA損傷による修復を引き起す変異原性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

⑪チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞を用いた前進変異試験

(資料No. C-29)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1986年

検体の純度:

方法: チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K₁-BH₄) を用いて変異細胞出現率をラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で検定した。検体を溶解させるため、DMSOを用いた。検体の濃度は細胞の生育抑制を調べる予備試験の結果に基づき決定した。各用量について、コロニー形成可能な細胞100万個あたりの変異細胞数を算出し、その結果を増加1次あるいは2次トレンドで統計学的に評価した。少なくとも3段階の濃度で有意な濃度依存的増加がみられた場合、陽性と判定した。

結果:

薬物	濃度 (μM)	S-9Mixの有無	相対的細胞生存率 (%)	生存率%	変異細胞出現率 a)
対照 (DMSO)	—	—	100	72	13.1
検体	50	—	94	68	4.8
	100	—	19	86	27.8
	125	—	106	77	8.3
	150	—	110	80	14.0
	200	—	70	51	23.2
陽性対照 (EMS)	3 mM	—	104	75	580.5
対照 (DMSO)	—	+	100	89	19.0
検体	50	+	98	88	12.8
	100	+	69	61	15.0
	125	+	68	60	29.7
	150	+	48	43	15.4
	200	+	14	13	18.7
陽性対照 (MCA)	18.6	+	84	75	142.9

a) : 10⁶ 個あたりの変異細胞出現率 EMS: ethyl methanesulfonate
MCA: 3-methylcholanthrene

最初に50, 100, 150, 200及び250 μM の濃度で代謝活性化系非存在下で試験を行った。その結果、最高2濃度の200及び250 μM で、変異細胞の出現率が増加した。しかし、これら高濃度では、細胞生存率はそれぞれ3%, 1%と低下したため、この結果の生物学的意義は疑わしい。

同じ濃度で再試験を行ったが、いずれの濃度においても突然変異頻度の増大は観察されなかった。

さらに 50, 100, 150, 200 μM の濃度で3度目の実験を行った。

この濃度では、代謝活性化存在下、非存在下においても、変異細胞出現率の有意な増大は認められなかった。

以上の結果、1,3-ジクロロプロペン は代謝活性化を用いた本試験条件下では変異原性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

⑫ トランスジェニック Big blue マウスを用いた突然変異試験

(資料 No. C-30)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997年

検体の純度:

方法: 検体の lac I 遺伝子に対する遺伝子変異誘発性を検索するため、トランスジェニック Big Blue マウスを用いて試験を行った。動物は、8週令で、本系統のマウスを用いた理由を以下に示す。

- 1) 組織に対する遺伝子変異の検出に適している。
- 2) 毒性試験一般に適している。
- 3) 突然変異頻度の背景データが豊富である。
- 4) 本剤の慢性毒性試験に使用した系と近い関係にある。

先に実施した吸入暴露によるラット及びマウスの慢性毒性・発がん性試験(資料 No. C-21、C-22)の結果、マウスの雄の最高用量群(600ppm)で、肺細気管支肺胞腺腫の発生頻度が対照群と比べて増加した。

本試験では、さらに高い用量を用いて、本剤の肝と肺における遺伝子突然変異誘発性を検索した。

暴露条件: 全身暴露

設定濃度 (ppm)	0	10	60	150
実測濃度 (ppm)	0.0	10.5	59.6	150.4
チャンパー内通気量 (ℓ/分)	450.14	451.68	451.37	448.61

チャンパー容積: 1.872m³

暴露期間: 2週間(6時間/日, 5日/週)暴露。その後、17日間、暴露を停止して、通常の状態を飼育した。この17日間は、DNA損傷がおきた場合、その部位が固定し、突然変異という表現型になるために必要な期間(発現期間)である。

試験項目及び結果:

一般状態; 一般状態を毎日観察した。

60ppm以下の群で異常は認められなかった。

150ppm群では、一時的に、自発運動の低下がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

体重及び体重変化；全動物の体重を暴露期間中，1，4，8 及び12日目に，また，その後の発現期間中の3，10 及び14日目に測定した。
体重に検体投与の影響は認められなかった。

lac I 遺伝子突然変異の検索；肝と肺を，対照群及び最高用量群(150ppm)より採取し， -80°C に冷凍保存した。冷凍サンプルをホモジナイズして，1100g rpm で12分間遠心して核を分離した。さらに，プロテアーゼK溶液及び消化緩衝液に 50°C で45分間浸し，一晚，TE緩衝液で透析し，DNAを抽出した。抽出したDNAを， 30°C で90分，2回，Tranpackを用い，バクテリオファージに封入した。この封入バクテリオファージの内，変異を起こしたDNAを持つものは，青色を呈して増殖する。各プレートで，青色のプラーク数/総プラーク数の比を計算して，遺伝子突然変異誘発性の有無を検定した。なお，陽性対照には，ジニトロソアミン 15mg/kgを5日間連続投与した同種マウスを用いた。

結 果：

群	匹数	突然変異プラーク数/総プラーク数 ($\times 10^{-5}$)	
		肝	肺
陰性対照	5	10.3 \pm 4.3	13.3 \pm 3.5
検体150ppm群	5	9.9 \pm 3.9	11.2 \pm 1.9
陽性対照	1	134.7	59.8

上記結果で，検体暴露により，lac I 遺伝子突然変異誘発性を検索したが突然変異発生頻度は，陰性対照群と検体暴露群では差がなかった一方，陽性対照群では明らかな増加が認められた。

以上の結果より，1,3-ジクロロプロペンは肝及び肺に遺伝子突然変異誘発性をもたないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

(12) 生体機能影響

① 1,3-ジクロロプロペンの一般薬理試験

(資料 No. C-32, B-23)

試験機関:

報告書作成年: 1991年

検体の純度:

① 中枢神経系に対する作用

i) マウスの経口投与による一般症状

供試動物: ddY 系雄マウス、体重: 25~35g、1群3匹

方法: 検体をコーン油で溶解して 0, 3, 10, 30, 100, 300 および 1000 mg/kg を投与し、Irwin の多次元観察法に準じて一般症状を投与後 30分、1, 2, 3 および 4 時間に観察した。

結果: 30mg/kg 以下では異常症状が認められなかった。100 及び 300mg/kg では、グルーミングおよび自発運動の低下が観察された。1000mg/kg では全例が死亡した。全群で下痢が観察された。

ii) マウスの静脈内投与による一般症状

供試動物: ddy 系雄マウス、体重: 25~35g、1群3匹

方法: 検体を 5% グルコース水溶液に均一分散して、0, 1.0, 3.0, 10, 30, 100 及び 300mg/kg を投与し、Irwin の多次元観察法に準じて一般症状を投与後 15, 30分 および 1 時間に観察した。

結果: 10mg/kg 以下では異常症状が認められなかった。30 及び 100mg/kg では、グルーミング、触反応、自発運動および耳介反射の低下、また 100mg/kg では流涙および呼吸数の増加等が観察された。300mg/kg では全例が死亡した。

iii) マウスにおける睡眠延長時間

供試動物: ddY 系雄マウス、体重: 25~35g、1群8匹

方法: 検体をコーン油に溶解して、0, 30, 100, 300mg/kg を投与し、1 時間後にヘキソバルビタール (80mg/kg) を腹腔内投与して睡眠時間を測定した。陽性対照群にクロルプロマジン 10mg/kg を経口投与した。

結果: 300mg/kg では、睡眠時間が 1.6 倍に延長し、統計学的有意差がみられた。一方、クロルプロマジンでは、睡眠時間を 2.3 倍に延長した。

iv) 正常体温に対する作用

供試動物: Wistar 系雄ラット、体重 180~230g、1群8匹

方法: 検体をコーン油で懸濁し、0, 30, 100 及び 300mg/kg の用量で経口投与し、30分、1, 2, 4 及び 6 時間後に直腸温度を測定した。陽性対照としてクロルプロマジン 20mg/kg を経口投与した。

結果: 全投与群で検体による影響はみられなかった。一方、クロルプロマジンはラットの体温を有意に低下させた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

v) 痙攣誘発作用

供試動物：ddY 系雄マウス、体重25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油で懸濁し、0, 30, 100 及び300mg/kgの用量で経口投与し、1時間後に両角膜を痙攣誘発閾値よりやや低い電撃条件で刺激し、誘発される痙攣の有無を観察した。
陽性対照群にペンチレンテトラゾール40mg/kg を皮下投与し、15分後に電気刺激を行った。

結 果：検体投与に関連する影響はみられなかった。
一方、ペンチレンテトラゾールは痙攣の発生が有意に増加した。

vi) 抗痙攣作用

供試動物：ddY 系マウス、体重25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油で懸濁し、0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与し、1時間後にペンチレンテトラゾール150mg/kgを皮下投与し、発現する痙攣の有無を30分間観察した。陽性対照群にジアゼパムを5mg/kg を経口投与した。

結 果：300mg/kgで、強直性伸展痙攣の抑制が1例観察された。100mg/kg以下では検体による影響はみられなかった。
一方、ジアゼパムでは全例で痙攣抑制が認められた。

vii) 協調運動に対する作用

供試動物：ddY 系雄マウス、体重25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油に溶解して0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与し、1, 2および4時間後に回転棒にマウスを乗せ、1分以内に落下する場合を陽性とみなした。

結 果：検体による影響はみられなかった。

②ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

供試動物：日本白色種雄ウサギ、体重：2.5～3.0kg、4匹

方 法：検体を5%グルコース水溶液に均一分散し、0, 3, 10及び30mg/kgの用量で静脈内投与し、呼吸数/流量、血圧、心拍数、心電図を測定した。

結 果：血圧では、30mg/kg で低下傾向が認められ、心拍数は30mg/kgで4～7%の範囲で増加した。呼吸流量は10mg/kg 以上で低下傾向が認められ、呼吸数も10mg/kg 以上で増加傾向がみられた。心電図では、特に影響が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

③自律神経系に対する作用

i) ラットの摘出輸精管に対する作用

供試動物：Wistar系雄ラット、体重：250～300g、1群4例

方 法：ラットを放血致死させた後、輸精管を摘出し、混合ガス（95%O₂ + 5% CO₂）を通気した32℃のKrebs-Henseleit液を含むマグヌス装置に懸垂した。収縮はノルエピネフリンまたは白金双極電極を介する経壁刺激により惹起させた。前処置時間はノルエピネフリン収縮に対しては5分とし、検体を生理食塩水に溶解して10⁻⁶～10⁻⁴Mの濃度で処置した。

結 果： 検体による影響はなかった。

ii) モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物：Hartley系雄モルモット、体重：300～350g、1群4例

方 法：モルモットを放血致死させた後、回腸を摘出した混合ガス（95% O₂ + 5% CO₂）を通気した32℃のKrebs-Henseleit液を含むマグヌス装置に懸垂した。収縮薬としてアセチルコリン、ヒスタミンおよびBaCl₂を添加した。検体は、生理食塩水に溶解し10⁻⁶～10⁻⁴Mの濃度で収縮薬添加前5分に処置した。

結 果： 検体による影響はなかった。

④消化器系に及ぼす作用

i) 腸管輸送能に対する作用

供試動物：ddY系マウス、体重：25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与後1時間に5%アラビアゴム液に懸濁した5%炭末液（0.2 ml）を経口投与した。30分後に頸椎脱臼により致死させた後、胃腸管を摘出し、幽門部より回腸部までの長さに対する炭末到達部までの長さの割合から炭末の移動率を求めた。陽性対照群にアトロピン80mg/kgを経口投与した。

結 果： 100mg/kgで約15%、300mg/kgで約25%の亢進を示した。一方、アトロピンは約42%の有意な抑制を示した。

⑤骨格筋に対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：250～300g、1群4例

方 法：ラットを放血致死した後、構隔膜を横隔膜神経と共に摘出して標本を作成し、混合ガスを通気した37℃のKrebs-Henseleit液を満したマグヌス装置に懸垂した。検体を生理食塩水で溶解し10⁻⁶～10⁻⁴Mの濃度で処置した。収縮は電気刺激装置を用いて神経および筋肉を交互に刺激することにより惹起させた。陽性対照群にd-ツボクラリンを処置した。

結 果： 検体による影響はなかった。

一方、d-ツボクラリンは、神経刺激による収縮を抑制した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

⑥ラットの血液系に対する作用

i) 溶血に対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：190～240g、1群6匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100及び300mg/kgの用量で経口投与後1時間に採血し、ヘパリンを加え、血漿を得て、その吸光度から溶血の判定を行った。

結 果：30, 100及び300mg/kgでそれぞれ吸光度を34, 38及び15%低下させたが、30, 100mg/kgで統計学的有意差がみられ、300mg/kgでは有意差はみられなかった。

ii) 血液凝固に対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：190～240g、1群6匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100及び300mg/kgの用量で経口投与後1時間に採血し、クエン酸ソーダを加え、血漿を得て、プロトロンビン時間及び活性トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果：検体による影響はなかった。

⑦コリンエステラーゼに対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：190～240g、1群6匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与後1時間に採血し、ヘパリンを加え、血漿を得て、D TNB法によりコリンエステラーゼを測定した。

結 果：検体による影響はなかった。

以上の結果より、1,3-ジクロロプロペンは経口投与で100mg/kg以下の投与量では生体に対してほとんど影響を及ぼさないが、高用量の300mg/kgになると自発運動の軽度な低下、軽度な抗痙攣作用および睡眠延長作用ならびに腸管輸送能の亢進等を起こすことが判明した。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 1) 一般症状 [Irwin 法] (マウス)	経口 (コーン油)	0, 3, 10, 30, 100, 300, 1000	雄 3	30	100	グルーミング及び自 発運動の低下などが みられた。
	静脈内 (5% グルコース 水溶液)	0, 1.0, 3.0, 10, 30, 100, 300	雄 3	10	30	グルーミング, 触反 応, 自発運動及び耳介 反射の低下などがみ られた。
2) 睡眠時間 延長(マウス)	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	雄 8	100	300	睡眠時間が、1.6 倍に 延長した。
3) 体温 (ラット)				300	—	検体投与による影響 はみられなかった。
4) 痙攣誘発 (マウス)				300	—	検体投与による影響 はみられなかった。
5) 抗痙攣 (マウス)				100	300	300mg/kg 群で 1 例, 強直性伸展痙攣の抑 制が認められた。
6) 協調運動 (マウス)				300	—	検体投与による影響 はみられなかった。
呼吸・循環器 1) 呼吸数・血 圧, 心拍数, 心電図(ウサ ギ)	静脈内 (5% グルコース 水溶液)	0, 3, 10, 30	雄 4	3	10	血圧では, 30mg/kg で 低下傾向が, 心拍数 は, 30mg/kg で増加し た。呼吸数, 呼吸流量 も 10mg/kg 以上で変 化した。
自律神経系 1) 輸出管に対 する作用 (ラット)	in vitro	$10^{-6} \sim 10^{-4}$ (M)	雄 4	10^{-4} M	—	検体投与による影響 はみられなかった。
消化器系 1) 腸管輸送能 (マウス)	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	雄 8	30	100	腸管輸送能の亢進が 認められた。
骨格筋 (ラット)	in vitro	$10^{-6} \sim 10^{-4}$ (M)	雄 4	10^{-4} M	—	検体投与による影響 はなかった。
血液系 1) 溶血作用 (ラット)	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	雄 6	300	—	検体投与による影響 はなかった。
				300	—	検体投与による影響 はなかった。
300				—	検体投与による影響 はなかった。	
コリンエステラ ーゼ(ラット)						検体投与による影響 はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

(13) その他

①哺乳類細胞におけるグルタチオンSトランスフェラーゼ活性

(資料No. C-35)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

比較的高濃度のGSHないしGST活性をもつ動物、あるいは哺乳類細胞を用いた試験では、1,3-Dは迅速に解毒され

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

②In vitro DNA結合試験

(資料No.C-36)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

以上より、1,3-Dは、代謝活性化系の存在または非存在にかかわらず、*in vitro* で子牛胸腺 DNA に結合しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

③ラット及びマウスにおける腫瘍形成機序の検討

(資料No.C-37)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、I,3-D 技術協議会にある。

慢性毒性・発がん性試験における各標的組織で細胞増殖及びアポトーシスの発現状況を調べたが、明らかな変化は認められなかった。また、本剤の処理により DNA 付加物の増加は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

④1,3-ジクロロプロペンの *In Vivo* 及び *In Vitro* 遺伝毒性の考察

(資料No. C-38)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

以上、1,3-D は *in vitro* で遺伝毒性を示すが、
ラット及びマウスにおいて 1,3-D
により誘発された *in vivo* 遺伝子損傷は非特異的 DNA 鎖切断に限定され、DNA との
直接的相互作用によるものではないと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

1,3-ジクロロプロペンの遺伝毒性に関する申請者の考察

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑤1,3-Dichloropropene のラットを用いた肝臓腫瘍発生メカニズム試験

(参考資料 14-2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

以上の結果から、検体投与によりラットの肝臓で GST-P 陰性細胞巢の増殖を促進し、最終的に腺腫の発生に至ったものと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑥1,3-Dichloropropene のマウスを用いた肺腫瘍発生メカニズム試験

(参考資料 14-4)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

以上の結果から、当該試験では VC 投与により生じた影響が大きかったため、VC により誘発された病変の進行に対する検体の影響は明らかにならなかったものと判断される。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-11	動物体内における代謝 (投与手段としてのコンオイル懸濁とマイクロカプセル化のバイオアベイラビリティ比較)	ラット	[¹³ C] 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) のコンオイル懸濁液及び非標識 1,3-D マイクロカプセル化後コンオイル懸濁液をそれぞれ 25 mg/2ml /kg の割合で雌ラットに強制経口投与。投与後 60 分まで血液及び 48 時間までの尿を採取し、異性体ごとの吸収・排泄定数、半減期、AUC 値を算出	投与 10 分以内に血中濃度ピークに達し、さらに投与 40 分以内にピーク濃度の 1/10 未満に低下。 血中濃度のピークレベル： マイクロカプセル化 > 従来コンオイル トランス体の血中濃度のピークレベルがシス体よりも一貫して高い。 両異性体の吸収半減期： 1.3~4.7 分 両異性体の排泄半減期： 急速相 (α 相) - 2.8~6.1 分 緩徐相 (β 相) - 27~43 分 AUC 値： マイクロカプセル化 > 従来コンオイル	(1996)	10
M-12	動物体内における代謝	ラット マウス 代謝全般 (排泄・代謝物同定)	[¹⁴ C] 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) のコンオイル懸濁液を雄ラットでは、1 及び 50 mg/5ml /kg の割合で雄マウスでは、1 及び 100 mg/5ml /kg の割合で単回強制経口投与した。投与後 48 時間までの尿、糞への排泄及び排泄物中の代謝物を検索した。	ラット・マウスともに投与量の 55% 以上尿として排泄。糞経由の排泄は、ラットで 9% 以下、マウスで 15.1% 以下であった。	(2002)	14

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX												
M-1	動物体内における代謝	ラット	<p>単回投与群では [^{14}C] 1,3-ジクロロプロペンのコーンオイル懸濁液を 5 mg/5ml/kg の割合で雌性ラットに経口投与した。反復投与群では同濃度の非標識 1,3-D 懸濁液を 14 日間反復経口投与したのち、15 日目に [^{14}C] 1,3-D を一回経口投与した。</p> <p>投与後 48 時間までの $^{14}\text{CO}_2$、尿、糞への排泄および 48 時間における各組織への残留を検索した。</p>	<p>排泄の主経路は投与回数および性に関わりなく尿中排泄で、投与放射能の約 54~65% が尿中に排泄された。糞中排泄は少なく投与量の 4~6% であった。$^{14}\text{CO}_2$ として 25~33% が排泄された。48 時間後の組織及びカーカスには投与量の 4~6% が残留した。平均回収率は雄 100%、雌 101% であった。</p>	(1988)	23												
M-13	動物体内における代謝	ラット マウス 代謝全般 (排泄及び組織の分布)	<p>[^{14}C] 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) のコーンオイル懸濁液を雄ラットでは、1 及び 50 mg/5ml/kg の割合で雄マウスでは、1 及び 100 mg/5ml/kg の割合で単回強制経口投与した。投与後 48 時間までの尿、糞、呼気への排泄及び主要組織中の分布を検索した。</p>	<p>排泄 (投与量%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>ラット</th> <th>マウス</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>51~61%</td> <td>63~79%</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>17~20%</td> <td>約 15%</td> </tr> <tr> <td>CO_2</td> <td>15~18%</td> <td>約 14%</td> </tr> </tbody> </table> <p>分析全組織及び残余カーカス 約 6% 約 2%</p> <p>ラット、マウスともに投与放射能体内からの排泄は、1 相性であり、半減期は 5~6 分</p>		ラット	マウス	尿	51~61%	63~79%	糞	17~20%	約 15%	CO_2	15~18%	約 14%	(1985)	30
	ラット	マウス																
尿	51~61%	63~79%																
糞	17~20%	約 15%																
CO_2	15~18%	約 14%																
M-14	吸入物動態	ラット	<p>非標識 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) 蒸気を 30、90、300 及び 900ppm の濃度で雄ラットに 3 時間暴露。暴露部位：頭部限定、鼻部限定、外科的隔離した上部気道及び下部気道</p> <p>1,3-D の暴露量、両異性体 (シス、トランス体) の血中濃度</p> <p>測定。 暴露前、暴露後の呼吸回数、1 回呼吸気量を測定し、毎分呼吸量を計算</p>	<p>90ppm 以上群で呼吸回数の暴露濃度に相関した減少。 300ppm 以上群で 1,3-D 代謝の飽和のため、暴露濃度に比例した 1,3-D の取り込みの増加認められず。 1,3-D の吸収は、主として肺を経由して約 50%、さらに少量 (11~16%) が鼻粘膜を経由して行われた。 1,3-D の両異性体の血流から排出は二相形式である； 急速相 ($t_{1/2}$: 300ppm 以下で 3~5 分、900ppm で 40 分) 緩徐相 ($t_{1/2}$ 30~40 分)</p>	(1985)	34												

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-2	植物体内に おける代謝	レタス 及び ホウレンソウ 土壌処理	^{14}C 1,3-ジクロ ロプロペンを用いた。 ①作物調製場所 米国Michigan州Midland タウケミカ Midland圃場 ②施用 0.3×1.8mの区画の両端 に作条を1本ずつ設定 し、各々に10cmおきに19 の注入口から ^{14}C -1,3-Dを20cmの深さに 3370 /haの割合で処理 した。 ③播種 薬剤処理直後に作条の 片側にレタス、別の片側 にホウレンソウを播種 した。また25日後に2本 の作条の中央にレタス を1条播種した。 ④試料採取 ホウレンソウ 42日後 レタス(1) 57日後 レタス(2) 39日後 52日後 75日後 ⑤分析 均質化した試料を燃焼 して総残留 ^{14}C を定量 した。 揮発性 ^{14}C は水蒸気蒸 留して ^{14}C を定量し した。代謝生成物の ^{14}C は溶媒で抽出後HPLCで 分析した。	①総残留 ^{14}C 濃度 (^{14}C -1,3-D換算/湿重量) ホウレンソウ (42日) 1.9ppm レタス 1 (57日) 1.8ppm レタス 2 (39日) 1.3ppm レタス 2 (52日) 0.5ppm レタス 2 (75日) 0.3ppm ②残留成分の特徴 1,3-D は 水蒸気蒸留されるが、試 料の ^{14}C 残留成分のうち 揮発性 ^{14}C は2% 以下でこの画分の残 留は少量であった。 抱合体の有無を酸化水分 解で調べたが、抱合体は存 在しなかった。残留 ^{14}C は 植物の正常成分として取 り込まれたものであった。 HPLCで分析して1,3-ジク ロプロペン が 存在しないことを確認し した。	(1988)	45

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-3	植物体内に おける代謝	ダイズ 土壌処理	^{14}C 1,3-ジクロ ロプロペンを用いた。 ①作物調製場所 米国Michigan州Midland タウケミカ Midland圃場 ②施用 0.3×1.8mの区画の両端 に作条を1本ずつ設定 し、各々に10cmおきに19 の注入口から ^{14}C -1,3-Dを20cmの深さに 3370 /ha の割合で処理 した。 ③播種 薬剤処理直後に作条の 片側にダイズを播種し した。また25日後および35 日後に2本の作条の中央 にダイズを1条播種し した。 ④試料採取 1回目播種 57日後 2回目播種 122日後 3回目播種 35日後 ⑤分析 均質化した試料を燃焼 して総残留 ^{14}C を定量 した。 揮発性 ^{14}C は水蒸気蒸 留して ^{14}C を定量し した。代謝生成物の ^{14}C は溶媒で抽出後、HPLC で分析した。	①総残留 ^{14}C 濃度 (^{14}C -1,3-D換算/湿重量) 青刈試料1 7.75 青刈試料2 2.84 茎+さや試料 5.37 マメ (対湿重) 5.18 (対乾重) 5.59 ②残留成分の特徴 1)青刈試料 1,3-D は水蒸気蒸留されるが、青 刈試料の ^{14}C 残留成分の うち揮発性成分は 3% 以下で、残留量 は少量であった。HPLCで分 析して1,3-ジクロロプロ ペン が存在しな いことを確認した。 2)マメ 揮発性成分はごく微量で あった。 マメの成分を油脂、たんぱ く質に分画して放射能を 測定したところ脂肪酸お よびたんぱく質などの正 常な成分に同化されてい ることが確認された。	(1988)	50

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-4	植物体内に おける代謝	てんさい 土壌処理	^{14}C 1,3-ジクロ ロプロペンを用いた。 ①作物調製場所 米国California州Davis タウケミカル 社圃場 ②施用 80×60cmの区画の中心 から15cm離れた両側に 10cm間で12ヶ所に25cm の深さに ^{14}C -1,3-Dを 25cmに 2340 /ha の割 合で処理した。 ③播種 薬剤施用7日後にてんさい を播種した。 ④試料採取 播種159日後に収穫し した。 ⑤分析 各試料を粉碎後、燃焼法 で総残留放射能を測定 した。 有機溶媒、酸、アルカリ 溶媒抽出およびイオン 交換クロマトグラフィー などを組み合わせ、た んぱく質、セルロース等 の生体成分に分画した。 生体成分以外の代謝物 についてはGC-MS を試 みた。	単離したショ糖、セルロー ス、たんぱく質、アミノ酸お よび有機酸の全てに ^{14}C 放 射能の取り込みが認められ た。 ^{14}C -ジクロロプロペン の残留は認められなかった。	(1973)	57

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

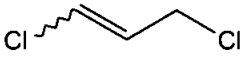
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-5	土壌中における代謝	シルト質壤土及び壤質砂土	Catlinシルト質壤土50g またはFuquay壤質砂土30g をフラスコに入れ、 ¹⁴ C-1,3-Dのアセトン溶液 97 μg/g または 105 μg/g の割合で添加した。暗黒下 25°Cで30日または105 日間インキュベートし、各土壌9時点の試料を採取した。採取した土壌はアセトンおよび酸性アセトンで抽出後、抽出物を濃縮してHPLCで分析した。抽出残渣は0.2N NaOH で抽出した。	Catlin土壌およびFuquay土壌における1,3-D の半減期はそれぞれ11.5日および53.9日であった。	(1993)	62
M-6	土壌中における代謝	米国カリフォルニアダウ試験圃場土	全炭素を標識したシスー及びトランスージクロロプロペンを用い、通常の使用方法に従って少区域の土壌中に注入した。その土壌にてんさいを栽培し1年後、収穫時、収穫1年後、土壌を採取した。試料を分析し、 ¹⁴ C活性の含量を求め、また残留物中の ¹⁴ Cを同定した。	投与した ¹⁴ Cの約15%が収穫時の土壌に残留し、その後残留化合物は質的にも、量的にも有意な変化はみられなかった。	(1973)	67

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX																																		
M-8	加水分解試験	水	1,3-ジクロロプロペンを pH4.9、6.9 および9.0のリン酸緩衝液(0.005M)中で、暗黒下10℃、20℃および30℃でインキュベートした。各経過時間に放射能を測定し、回収率をチェックした。	試験期間中放射能の回収率は良好であった。 1,3-D は時間とともに減少した。分解速度はどの温度においてもpHに影響されず分解は一次反応であった。	(1986)	70																																		
M-9	水中光分解試験	光 (緩衝液)	pH 7の滅菌トリス緩衝液中で約5μg/mlの均一に標識した ¹⁴ C-1,3-ジクロロプロペン(1,3-D)の光分解を調べた。カインティックス試験では、試料をキセノンアーク灯に連続照射し、0、1、2、4、7、11及び16日目に試料を採取した。照射後11日目及び16日目の試料を同定用試料とした。試料を液性に変化させて液-液分配した後、必要に応じ各面分を誘導体化するなどしてGC/MSで分析し同定した。	25℃では、pH 7の滅菌トリス緩衝液中の ¹⁴ C-1,3-Dの分解は、照射実験及び暗所対照実験とも速やかで、1,3-Dの半減期はそれぞれ5.7日及び5.8日であった。この結果は、pH 7滅菌トリス緩衝液中での1,3-Dの分解に光分解がほとんど寄与しないことを示している。従って、1,3-Dの環境中分解には光分解は重要な経路でない。	(1996)	72																																		
M-10	水中光分解試験	光 (蒸留水及び自然水)	1,3-ジクロロプロペンを5ppmの濃度で添加し25℃で1.76mWh/cm ² の光を連続照射し、経時的に試料を取り出しGCで測定した。一次反応速度に基づき半減期を算出した。	蒸留水中および自然水における半減期はいずれも5日であった。対照(暗所)の半減期はそれぞれ7日および6日であり、光による分解は少ないと推定される。	(1992)	77																																		
M-7	土壌吸着性試験	土 壤	4種の土性の異なる畑地土壌を用いて「OECDのガイドライン106吸着/脱着」に基づき、0.2ppmの0.01M塩化カルシウム溶液を添加して25℃で試験した。	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">土壌の種類</th> <th colspan="2">シ ス</th> <th colspan="2">トランス</th> </tr> <tr> <th>K</th> <th>K_{oc}'</th> <th>K</th> <th>K_{oc}'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1.51</td> <td>41</td> <td>1.66</td> <td>46</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.52</td> <td>69</td> <td>0.88</td> <td>116</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>1.05</td> <td>91</td> <td>1.56</td> <td>136</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>0.52</td> <td>35</td> <td>0.86</td> <td>58</td> </tr> <tr> <td>K_{oc}</td> <td colspan="2">31</td> <td colspan="2">21</td> </tr> </tbody> </table>	土壌の種類	シ ス		トランス		K	K _{oc} '	K	K _{oc} '	1	1.51	41	1.66	46	2	0.52	69	0.88	116	3	1.05	91	1.56	136	4	0.52	35	0.86	58	K _{oc}	31		21		(1990)	79
土壌の種類	シ ス		トランス																																					
	K	K _{oc} '	K	K _{oc} '																																				
1	1.51	41	1.66	46																																				
2	0.52	69	0.88	116																																				
3	1.05	91	1.56	136																																				
4	0.52	35	0.86	58																																				
K _{oc}	31		21																																					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

< 代謝物一覧表 >

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A / B	親化合物	シス/トランス-1,3-D	シス/トランス-1,3-ジクロロプロペン	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

1. 動物体内運命に関する試験

① 1,3-ジクロロプロペンのラットにおけるバイオアベイラビリティ試験

(資料No.M-11)

試験機関:

報告書作成年: 1996年

目的: 1,3-ジクロロプロペンは蒸気圧が高いため、ラット及びマウスでの毒性試験の混餌手段は、コーンオイル溶液での瞬時の経口投与に限られていたが、1996年にデンプン-ショ糖マトリックス中へのマイクロカプセル化により、飼料に混入投与が可能になった。そこで、従来の溶媒とマイクロカプセル化による経口投与との間でバイオアベイラビリティに差があるかどうか検討した。

供試標識化合物:

構造式:

化学名:

供試動物: Fischer 344 系雌ラット、開始時2~6カ月令

試験方法:

以下の表に示した試験計画に従い、 ^{13}C -1,3-D及びマイクロカプセル化した1,3-Dをラットに強制経口投与した後、最初の1時間にわたって経時的に血液を、また、48時間にわたって尿を採取した。

血液中におけるシス及びトランス異性体別の ^{13}C -1,3-D並びに1,3-D濃度をGC-MSを用いて定量し、吸収、排泄定数、半減期及びAUC値も計算した。

(試験 I)。

検体	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数	投与後時間 (分)										
				1	3	5	10	15	20	30	40	50	60	48hr
^{13}C -1,3-D (コーンオイル懸濁)	経口 a	25	3-6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	U
1,3-D (マイクロカプセル化)	経口 b	25	3-6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	U

(注) a: コーンオイルに懸濁して2mL/kgの容量で強制経口投与した。

b: 重量で39.2%の1,3-Dをデンプン-ショ糖マトリックス (80:20) でマイクロカプセル化した後、コーンオイルに懸濁して2mL/kgの容量で強制経口投与した。

B: 頸静脈カニューレから血液を採取した。

U: 尿試料を48時間採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

さらに、試験Ⅱとしてコーンオイルに懸濁した¹³C-1,3-D 25mg/kg及びマイクロカプセル化した1,3-D 25mg/kgを2mL/kgの容量で強制経口投与したラットの頸静脈に中空ファイバー製プローブを外科的に埋め込んで自然のままに連続的に血中の¹³C-1,3-D及び1,3-Dレベルをモニターした。

結 果：

1) マイクロカプセル化した1,3-Dの安定性；

1,3-Dを含むデンプン-ショ糖のマイクロカプセルのコーンオイル（USP級）懸濁液を低速遠心及び数枚の粗綿布に通した後、溶媒中の1,3-Dの濃度を測定した。

その結果、溶媒中に1,3-Dが検出されなかった（検出限界：0.00032mg/mL）ので、マイクロカプセル化した1,3-Dは、コーンオイル中で非常に安定であった。

2) 吸収・排泄

①検体ごと、シス及びトランス異性体別の1,3-Dの血中濃度の推移を以下の表に示した。

投与後 時 間 (分)	血中濃度（平均±標準偏差：ppb）			
	コーンオイル懸濁	マイクロカプセル化	コーンオイル懸濁	マイクロカプセル化
	シス体	シス体	トランス体	トランス体
1	30±5	104±45	68±18	249±65
3	50±16	105±60	150±43	286±114
5	60±20	127±114	193±63	276±137
10	78±16	62±20	279±76	234±76
15	38±19	33±27	141±78	137±111
20	15±5.9	16±13	60±27	62±49
30	7.6±2.1	8.3±4.0	29±9	30±15
40	4.4±1.9	4.6±2.3	17±3.8	21±12
50	3.7±0.5	3.6±0.7	13±3.7	16±7.7
60	4.5±1.8	4.8±1.6	11±6.1	14±6.7

投与後10分以内に血中濃度のピークに到達し、投与後30又は40分以内の濃度が10分の1未満に低下した。

全般的に、従来の溶媒懸濁と比較してマイクロカプセル化由来の1,3-Dの方が、血中レベルのピークが高かった。唯一の例外として、トランス体の血中濃度のピークレベルが従来の溶媒懸濁とマイクロカプセル化とでほぼ同等であった。

シス体とトランス体との比較では、トランス体の血中濃度のピークレベルがシス体よりも一貫して高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

②試験ごと、検体ごとの吸収半減期、排泄半減期及びAUC値を以下に表に示した。

試験 No.	検 体	投 与 形 態	吸収半減期(分) (速度定数)	排泄半減期(分)		AUC (μg min/L)	総AUC に対する% a
				α 相(速度 定数)	β 相(速度 定数)		
I	シス体 ^{13}C - 1,3-D	コーンオイル懸濁	2.5 (0.275)	3.1 (0.222)	40 (0.0175)	1068	—
		マイクロカプセル化	1.3 (0.523)	3.7 (0.189)	37 (0.0189)	1344	—
	トランス 体 ^{13}C - 1,3-D	コーンオイル懸濁	2.7 (0.256)	3.5 (0.198)	32 (0.0218)	3736	—
		マイクロカプセル化	2.3 (0.300)	2.8 (0.246)	27 (0.0256)	4278	—
	総 1,3-D	コーンオイル懸濁	—	—	—	—	46
		マイクロカプセル化	—	—	—	—	54
II	^{13}C - 1,3-D	コーンオイル懸濁	4.7 (0.276)	4.7 (0.166)	43 (0.0186)		34 b
		マイクロカプセル化	3.2 (0.287)	6.1 (0.129)	29 (0.0261)		66

(注) a : (コーンオイル懸濁又はマイクロカプセル化1,3-Dの血中AUC値 x 100) / (総AUC)

b : AUCの計算には、6匹中3匹を用い、投与量で補正した。

1,3-Dの両異性体について、1.3~4.7分の吸収半減期が得られた。

一旦吸収された後の1,3-Dは、以下の二相性に従って血液から排出された。

排泄半減期：急速相 (α 相) - 2.8~6.1分

緩除相 (β 相) - 27~43分

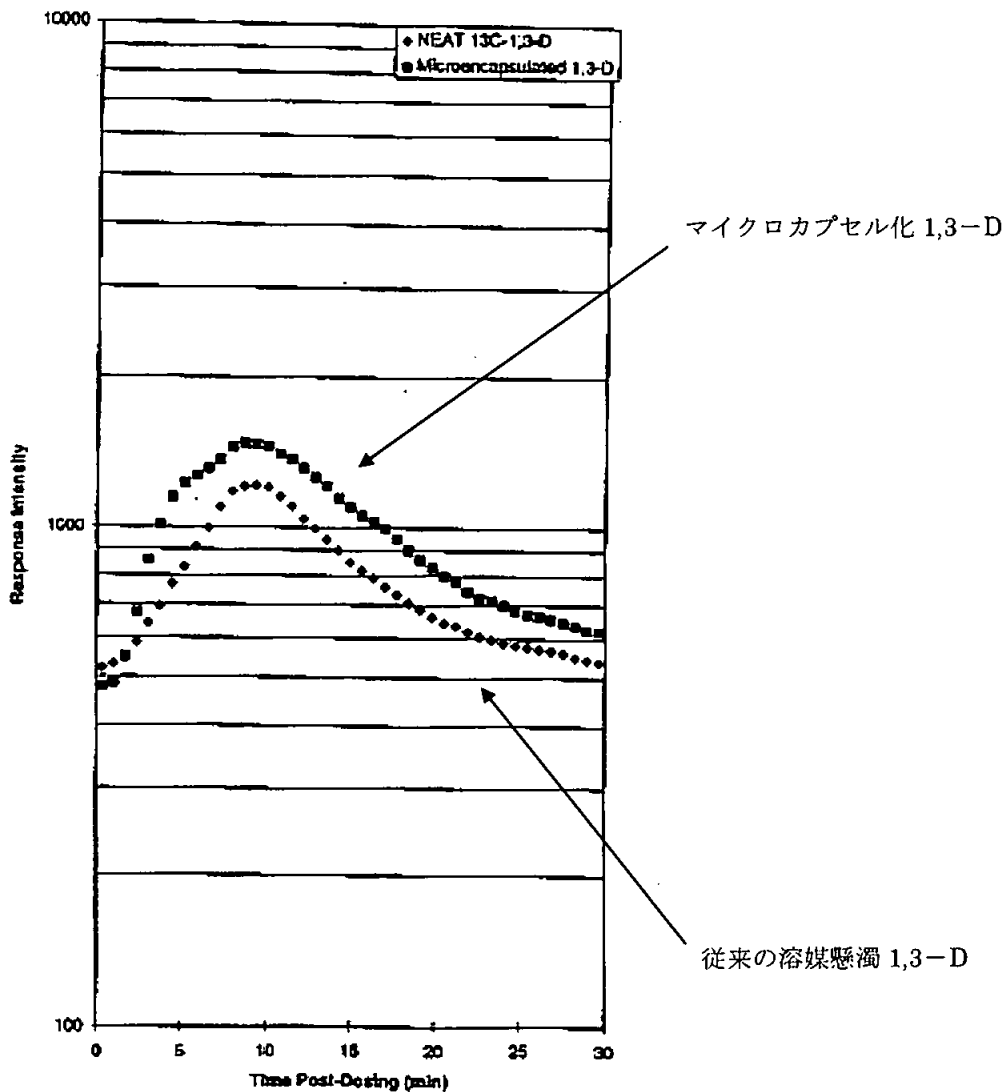
血中濃度曲線から計算したAUC値では、トランス体がシス体より高かった。

試験 I、II の総AUCに対する%から、従来の溶媒懸濁と比較してマイクロカプセル化由来の1,3-Dの方が、AUC値が大きかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

④連続的に得た血中濃度をイオン強度データとしてプロットした血中濃度曲線を以下の図に示した。

従来の溶媒懸濁と比較してマイクロカプセル化由来の1,3-Dの血中レベルが、一貫して高かった。



結論：

ラットに一旦摂食されたマイクロカプセル化した1,3-Dの迅速なバイオアベイラビリティが確認された。すなわち、シス及びトランス-1,3-Dの両方の吸収は、従来の溶媒懸濁による1,3-Dと少なくとも同じ速さで起こって、結果的に高い血中濃度レベルを示し、従来の溶媒懸濁による1,3-Dの同じ用量よりも高い全身暴露となった。吸収に続く血流からの比較的急速な排出は、経口投与した両形態に由来する1,3-Dと吸入させた1,3-D由来のものについては、基本的に同じであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

② ^{14}C 標識 1,3-ジクロロプロペンを用いたラット及びマウス体内における代謝試験

(資料No. M-12)

試験機関：

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

供試標識化合物： ^{14}C -標識 1,3-ジクロロプロペン (DCP) cis/trans-異性体

構造式；

化学名；1,3-ジクロロプロペン cis/trans-異性体

比放射能；

放射化学的純度；

D_4 -標識 1,3-ジクロロプロペンの純度；

(四つの水素原子がすべて重水素で構成されている)

非標識供試化合物の純度；

供試動物：Fischer 344 ラット雄、投与時約 7~8 週齢、体重 174~246g

$\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$ マウス雄、投与時約 7~9 週齢、体重 25.8~29.8g

試験方法：各検討項目の試験設計概要を下表に示す。

検討項目	供試動物及び供試数	投与検体	投与経路	投与量 (mg/kg)
代謝全般	F344 ラット、各 3 匹	^{14}C -標識体	経口	0、1、50
	$\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$ マウス、各 3 匹	^{14}C -標識体	経口	0、1、100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

投与液の調製及び投与；経口投与の投与液はコーン油を用いて調製し、投与液量を 5mL/kg として単回強制投与した。

試料採取；¹⁴C-標識体を投与した動物は投与 48 時間後、D₄-標識化合物を投与した動物は投与 9 時間後、非標識体を投与した動物は投与 5、10、20、60 及び 90 分後の時点で二酸化炭素を吸引させた後、心臓穿刺により屠殺した。

¹⁴C-標識体を投与した動物の尿は投与 12、24 及び 48 時間後に、糞は投与 24 及び 48 時間後にドライアイス上に採取した。呼気は代謝ケージに設置した二酸化炭素捕集剤 [モノエタノールアミン / 1-メトキシ-2-プロパノール(3 : 7 v/v)] に通して排泄された CO₂ を捕集した。D₄-標識化合物を投与した動物は投与 0 ~ 9 時間後の尿及び糞をドライアイス上に採取した。非標識体を投与した動物からは血液及び肝臓試料を採取した。

分析；

放射能測定：血漿、尿及び糞の放射能を液体シンチレーションスペクトロメーターで測定した。バックグラウンド値の 2 倍を信頼できる定量限界とした。血液試料は溶媒（酢酸エチル）及び内部標準物質（D₄-標識 DCP ）入りのバイアルに入れ、攪拌した。肝臓は凍結させて粉碎し、後述する方法で溶媒、飽和食塩液及び内部標準物質入りのバイアルに入れた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

結 果：

排 泄；¹⁴C-標識検体を経口投与した動物において放射能は主に尿を介して排泄された。ラット及びマウスのいずれにおいても、投与後 48 時間以内に 55%以上が尿を経由して排泄され、糞を経由した排泄はラットで 9.0%以下、マウスで 15.1%以下であった。

表 1 に投与 48 時間後の排泄を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

表 1. ^{14}C -標識検体を経口投与後の放射能排泄（投与放射能に対する割合、%）

試料		尿				糞			
		ラット		マウス ($\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$)		ラット		マウス ($\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$)	
投与量 (mg/kg)		1	50	1	100	1	50	1	100
期間 (時間)	0~12	52.73	55.42	57.68	47.78	7.58	3.83	13.41	9.99
	12~24	2.54	4.11	5.56	6.72				
	24~48	1.24	0.83	0.73	1.04	1.39	0.48	1.67	0.67
	合計	56.51	60.36	63.96	55.54	8.97	4.30	15.07	10.65

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1, 3-D 技術協議会にある。

表 2. ^{14}C -標識検体を経口投与した動物排泄物中の代謝物 (投与放射能に対する割合、%)

動物		ラット				マウス($\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$)				同定
投与量 (mg/kg)		1	50			1	100			
RT* (分)	ピークの 記号	尿	尿	糞	尿+糞 合計	尿	尿	糞	尿+糞 合計	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

表 3. 代謝経路別、代謝物の割合 (投与放射能に対する%、¹⁴C-標識検体経口投与動物)

動物	ラット		マウス (B ₆ C ₃ F ₁)	
	1	50	1	100
投与量 (mg/kg)				
試料	尿	尿+糞	尿	尿+糞

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

図 1. 1,3-ジクロロプロペンのラット及びマウスにおける推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は I, 3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

③ 1,3-ジクロロプロペンのラットにおける代謝および組織内分布

(資料 No. M-1)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

供試標識化合物

化学名

[¹⁴C] シス/トランス

- 1,3-ジクロロプロペン

Lot 番号

比放射能

放射化学的純度

標識位置

構造式

* : ¹⁴C 標識位置

供試動物

Fischer 344 系雌雄ラットを使用した。

試験期間中の体重: 雄 252.0~287.8g、雌 149.3~168.4g

試験群

雌雄ラットからなる下記の2試験群を設定した。

主試験目的	用量 (mg/kg)	投与回数	屠殺時点 (投与後時間, h)	動物数	
				雄	雌
排泄と 体内残存率	5	単回	48	2	2
	5	反復+単回 (放射能)	48	5	5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

方 法

①動物飼育および処置：ラットは使用前約1週間以上実験室環境に馴化させた。

水道水および市販のげっ歯類用飼料を自由摂取させた。検体投与前にガラス製の代謝ケージに個別収容して、約3日間馴化させた。

②投与液の調製および投与： $[^{14}\text{C}]$ 1,3-ジクロロプロペンをUSPコーンオイルに懸濁させて、5 mg/kg を調製した。投与液量は5 ml/kg とした。反復投与群（雄5匹、雌5匹）には、非標識の低用量投与液を14日間反復強制投与し、15日目に標識低用量投与液を1回強制経口投与した。

$[^{14}\text{C}]$ 1,3-ジクロロプロペンの投与前約8時間絶食させ、投与後約4時間に給餌を再開した。反復投与群に加えて、雌雄各2匹のラットに1,3-D ^{-14}C を5 mg/kgの用量で単回投与し、単回投与群とした。

③試料採取：

尿および糞： $[^{14}\text{C}]$ 1,3-ジクロロプロペン投与後、全てのラットを個別別に代謝ケージに収容し、試験中に排泄した尿および糞はドライアイス冷却トラップに集めて凍結し、投与後6, 12, 24, 36および48時間に採取した。

呼気中 $^{14}\text{C}\text{O}_2$ ：1-メトキシ-2-プロパノール：モノエタノールアミン(7:3, v/v)に捕集し、捕集液を24時間毎に交換した。

組織：屠殺時に全動物をメトキシフルランで麻酔し、心臓穿刺により放血死させ、反復投与群の動物より下記の組織を採取した。

膀胱、脳、生殖腺、心臓、腎臓、肝臓、肺、前胃および腺胃、脾臓、骨、腎臓周囲脂肪、骨格筋、皮膚、カーカス

④放射能測定：尿および呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 捕集液、ケージ洗浄液は直接、糞、脳、精巣、腎臓、肝臓、肺、カーカスは水でホモジネートして可溶化し、膀胱、血液、骨、脂肪、心臓、前胃および腺胃、卵巣、骨格筋、皮膚および脾臓は均質化せず直接燃焼し、放射能を測定した。

⑤尿代謝物分析：代謝物はイオン交換液体クロマトグラフィー(LC)を用いて分離し、ガスクロマトグラフ/マススペクトロメーター(GS/MS)を用いて分析を行い、シスーおよびトランス代謝物異性体の分離は、薄膜をコーティングしたキャピラリーカラムを用いて行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

結 果

結果の概要を表 1～7 に示す。

投与後の運命

- ①排泄および体内残留：5 mg/kg の [^{14}C] 1,3-ジクロロプロペンの経口投与後に回収された放射能分布を表 1 に示す。排泄の主要経路は、投与回数および性に関わりなく尿中排泄であり、投与放射能の約 54%～65% が尿中に排泄された。糞中排泄は少なく、投与放射能の 4～6% であった。呼気中に $^{14}\text{C}\text{O}_2$ として約 25～35% が排泄された。組織およびカーカスには雌雄とも投与放射能の 4～6% が残留した。ケージ洗浄液では投与放射能の約 1% が検出された。
投与 48 時間における投与放射能の平均回収率は、反後投与の雄で 100%、雌で 101%、単日投与の雄で 86%、雌で 100% であった。排泄パターンに投与回数および雌雄間で顕著な差は認められなかった。
- ②尿中排泄の推移：放射能の尿中排泄の推移を表 2 に示す。投与 12 時間までにおける排泄率が最大であり、反復および単回投与群の尿中排泄率は、それぞれ投与放射能の 62% 雄、65% 雌および 54% 雄、61% 雌であった。
- ③ CO_2 中排泄の推移：放射能の尿中排泄の推移を表 3 に示す。雌雄とも投与 12 時間までにおける排泄率が最大で、反復および単回投与群の呼気中 CO_2 排泄率は、それぞれ投与放射能の 27% 雄、26% 雌および 25% 雄、32% 雌であった。
- ④糞中排泄の推移：表 4 に糞中排泄の推移を示す。投与 24 時間までにおける排泄率が最大であり、反復および単回投与群の糞中排泄率は、それぞれ投与放射能の 4.5% 雄、4.8% 雌および 6.3% 雄、5.8% 雌であった。
- ⑤体内分布：反復投与後 48 時間における組織および残余カーカス中の放射能濃度を表 5 に示す。投与 48 時間後における放射能の平均組織中濃度は、雌雄の前胃および雌の膀胱を除く全組織で $1\ \mu\text{g/g}$ 以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑥代謝物プロフィール

尿中代謝物：

糞中代謝物：

まとめ

雌雄ラットに懸濁液として経口投与した [^{14}C] 1,3-ジクロロプロペンの排泄経路、排泄率および代謝に性および反復投与と単回投与で差がないことが示された。投与量の約90%が尿、呼気中 CO_2 から排泄され、約5～6%が糞中に排泄された。投与24時間以内に投与量の90%以上が尿、 CO_2 および糞中に回収され、速やかに排泄されることが示された。投与後48時間に組織およびカーカスに残存する放射能量は非常に少なかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

表 1 経口投与後に回収された放射能分布（投与量％）

反 復	雄 48h		雌 48h	
尿	62.4 ± 2.5		64.7 ± 3.4	
CO ₂	26.5 ± 3.3		26.3 ± 1.4	
糞	4.5 ± 0.8		4.8 ± 1.2	
組織 + カーカス	5.7 ± 1.9		4.3 ± 0.4	
ケージ洗浄液	1.3 ± 2.2		1.0 ± 0.7	
呼気中の揮発物	< 0.1		< 0.1	
合計	100.5 ± 4.5		101.1 ± 3.6	
単 回	雄 48h		雌 48h	
尿	53.9 ± 8.6		61.4 ± 4.9	
CO ₂	24.9 ± 3.6		32.5 ± 14.5	
糞	6.3 ± 0.02		5.8 ± 0.4	
ケージ洗浄液	0.5 ± 0.2		0.6 ± 0.7	
合計	85.5 ± 4.9		100.3 ± 5.3	

表 2 経口投与後の尿中放射能排泄の推移（投与量％）

投与後時間 (h)	反復投与		単回投与	
	雄	雌	雄	雌
0 ~ 12	52.98 ± 3.00	58.42 ± 3.35	48.00 ± 5.37	58.62 ± 4.88
12 ~ 24	8.39 ± 3.54	5.05 ± 1.81	5.18 ± 3.09	1.68 ± 0.07
24 ~ 36	0.83 ± 0.14	0.98 ± 0.29	0.55 ± 0.02	0.50 ± 0.01
36 ~ 48	0.22 ± 0.03	0.28 ± 0.08	0.16 ± 0.17	0.56 ± 0.08
合計	62.41 ± 2.49	64.72 ± 3.34	53.89 ± 8.64	61.36 ± 4.86

表 3 経口投与後の CO₂ 中放射能排泄の推移（投与量％）

投与後時間 (h)	反復投与		単回投与	
	雄	雌	雄	雌
0 ~ 12	22.90 ± 3.10	23.36 ± 1.32	21.87 ± 3.83	30.35 ± 14.61
12 ~ 24	2.34 ± 0.31	1.63 ± 0.26	1.82 ± 0.17	1.28 ± 0.28
24 ~ 36	0.75 ± 0.07	0.80 ± 0.09	0.64 ± 0.09	0.42 ± 0.41
36 ~ 48	0.56 ± 0.06	0.50 ± 0.08	0.54 ± 0.01	0.42 ± 0.06
合計	26.55 ± 3.27	26.29 ± 1.36	24.87 ± 3.56	32.47 ± 14.53

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

表 4 経口投与後の糞中放射能排泄の推移 (投与量%)

投与後時間 (h)	反復投与		単回投与	
	雄	雌	雄	雌
0 ~ 12	0.13±0.22	1.01±1.38	1.08±1.50	1.99±0.74
12 ~ 24	3.41±0.68	2.76±1.27	4.46±1.29	3.22±0.37
24 ~ 36	0.53±0.18	0.73±0.14	0.38±0.18	0.46±0.06
36 ~ 48	0.26±0.06	0.26±0.06	0.32±0.01	0.15±0.04
合計	4.48±0.79	4.75±1.21	6.25±0.02	5.82±0.35

表 5 経口投与後の組織中放射能濃度 (μ g 当量/g 組織) : 反復

	雄 48h	雌 48h
膀胱	0.78±0.47	1.15±0.61
血液	0.24±0.02	0.20±0.02
骨	0.12±0.02	0.14±0.02
脳	0.06±0.01	0.04±0.01
カーカス	0.06±0.003	0.05±0.01
脂肪	0.15±0.08	0.24±0.18
腺胃	0.21±0.02	0.13±0.02
心	0.30±0.02	0.24±0.03
腎臓	0.26±0.02	0.17±0.02
肝臓	0.37±0.02	0.29±0.05
肺	0.11±0.01	0.08±0.01
前胃	1.14±0.40	1.07±0.23
卵巣	—	0.30±0.03
骨格筋	0.09±0.02	0.09±0.01
皮膚	0.41±0.38	0.15±0.03
脾臓	0.39±0.04	0.33±0.02
精巣	0.04±0.004	—

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

④ 1,3-ジクロロプロベンのラット及びマウスにおける経口薬物動態試験

(資料 No. M-13)

試験機関：

報告書作成年： 1985年

供試標識化合物

化学名

[¹⁴C] シス/トランス

- 1,3-ジクロロプロペン

比放射能

放射化学的純度

標識位置

構造式

* : ¹⁴C 標識位置

供試動物

Fischer 344 系雄ラット、1群3匹—体重225~260g

B6C3F1系雄マウス、1群3匹—体重20~30g

試験群

ラット、マウスともに下記の2試験群を設定した。

供試動物	投与量 (mg/kg)	投与経路
ラット	1, 50	経口 (単回)
マウス	1, 100	経口 (単回)

方法

① 動物飼育及び処置：ラット及びマウスには、水道水及び市販のげっ歯類用飼料を自由摂取させた。検体投与前にステンレス製のケージに個別収容して、1~2日間馴化させた。

② 投与液の調製及び投与： [¹⁴C] 1,3-ジクロロプロベンをコーンオイルに懸濁させて、単回強制経口投与した。投与液量は5ml/kgとした。

③ 試料採取：

[¹⁴C] 1,3-ジクロロプロペン投与後、6、12、24、36及び48時間に全てのラット及びマウスの尿、糞、呼気空気中のCO₂及び揮発物質を採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

CO₂は、2-メトキシ-エタノール：エタノールアミン(7:3, v/v) に捕集し、その他の揮発物質はチャコールフィルターを通過した空気を捕集した。尿は、ドライアイス冷却容器に集め、糞は、室温で採取した。

投与48時間後、ラットではメトキシフルラン麻酔下で、心臓穿刺により、マウスでは無麻酔下で眼窩穿刺により放血死させ、下記の組織を採取した。

前胃及び腺胃、肝臓、腎臓、膀胱、血液、腎臓周囲脂肪、皮膚、カーカス

④放射能測定：血液、尿及び呼気中¹⁴C O₂捕集液、ケージ洗浄液は直接、糞、腎臓、肝臓、カーカスは水でホモジネートして可溶化し、膀胱、脂肪、前胃、腺胃、皮膚は均質化せず直接燃焼し、放射能を測定した。

結 果

結果の概要を表1～2及び図1に示す。

1及び50mg/kgの [¹⁴C] 1,3-ジクロロプロペンのラットへの経口投与後に回収された放射能分布を表1に示す。投与48時間後における投与放射能の平均回収率は、1及び50mg/kg投与でそれぞれ96%及び101%であった。

排泄の主要経路は、尿中排泄であり、投与放射能の51～61%が尿中に排泄された。

糞中に、投与放射能の約20%、呼気中に¹⁴C O₂として15～18%が排泄された。

各用量ともに、投与48時間後において、組織及び残余カーカスには投与放射能の約6%が残留した。

1及び100mg/kgの [¹⁴C] 1,3-ジクロロプロペンのマウスへの経口投与後に回収された放射能分布を表1に示す。投与48時間後における投与放射能の平均回収率は、1及び100mg/kg投与でそれぞれ112%及び97%であった。

排泄の主要経路は、尿中排泄であり、投与放射能のそれぞれ79%及び63%が尿中に排泄された。

糞中には、投与放射能の約15%、呼気中に¹⁴C O₂として約14%が排泄された。

各用量ともに、投与48時間後において、組織及び残余カーカスには投与放射能の約2%が残留した。

ラット、マウスにおける12時間ごとの尿の排泄データをプロットして図1に示した。

ラット、マウスともに投与放射能体内からの排泄は、1相性であり、半減期は5～6分であった。

投与48時間後における組織、血液及び残余カーカス中の放射能濃度を表2に示す。

ラットでは、前胃、腺胃、肝臓、腎臓及び膀胱の放射能濃度が、ほぼ同じ値であったが、脂肪、皮膚、血液及び残余カーカスより高かった。

一方、マウスでは、前胃の濃度が他の臓器に比べて最も高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

表 1 経口投与後に回収された放射能分布 (投与量% - 3匹の平均±標準偏差)

動物	試料	投与された ¹⁴ C-活性に対する%	
		1mg/kg	50mg/kg
ラット	尿	50.9±4.6	61.3±4.3
	糞	20.5±0.3	17.1±1.6
	CO ₂	17.6±0.4	15.1±0.9
	分析した全組織及びカーカス	6.0±1.0	5.6±1.0
	ケージ洗浄液	1.0±0.3	1.0±0.5
	チャコールトラップ	0.1±0.04	0.6±0.8
	合計 (回収率)	96.0±5.5	100.5±4.6
マウス	尿	78.6±6.7	62.5±3.6
	糞	15.7±2.7	14.5±3.0
	CO ₂	14.4±0.4	13.7±2.0
	分析した全組織及びカーカス	2.0±0.2	1.8±0.2
	ケージ洗浄液	0.9±0.5	4.0±2.8
	チャコールトラップ	0.1±0.1	0.2±0.1
	合計 (回収率)	111.7±7.3	96.7±7.8

表 2 経口投与48時間後における組織の放射能分布 (3匹の平均±標準偏差)

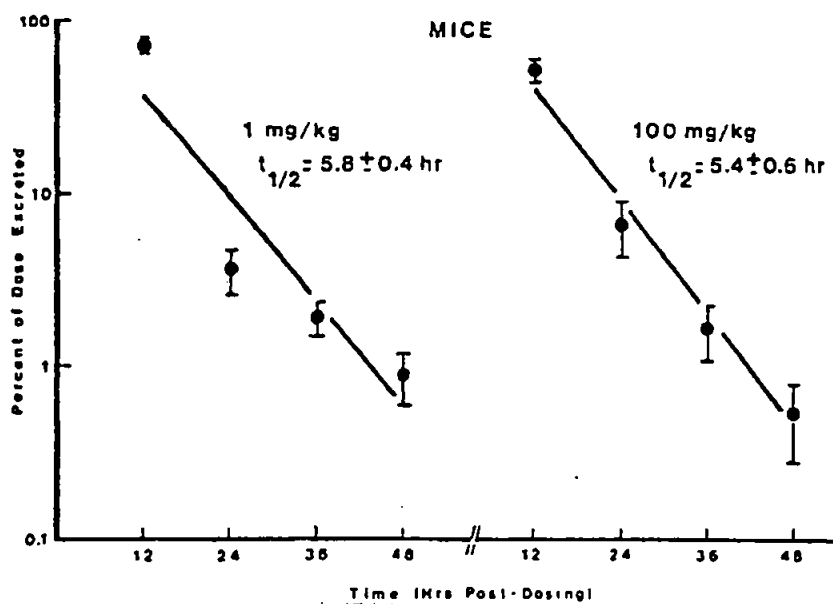
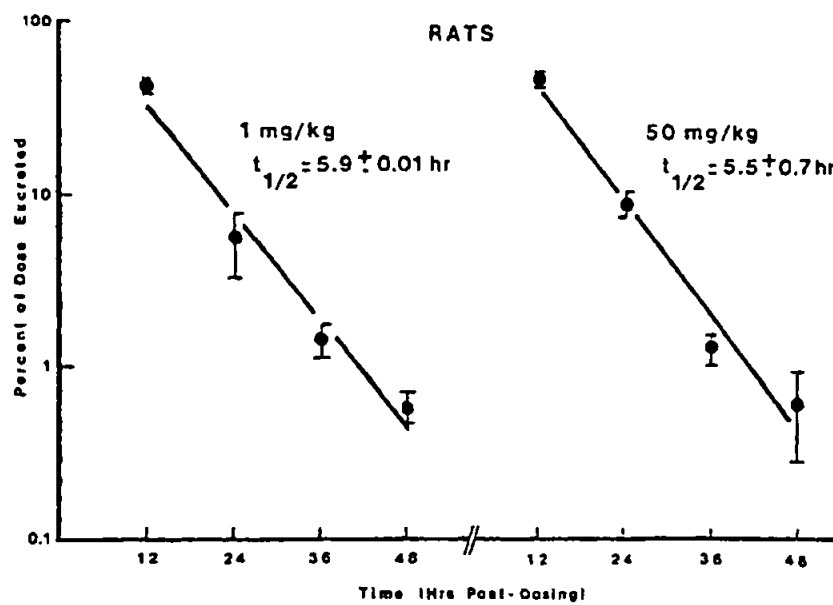
動物	組織	¹⁴ C-1,3-D mg当量/g組織	
		1mg/kg	50mg/kg
ラット	前胃	0.29±0.07	12.7±1.13
	腺胃	0.23±0.03	10.23±1.37
	肝臓	0.24±0.02	9.92±0.38
	腎臓	0.27±0.02	10.91±1.13
	膀胱	0.31±0.07	7.22±1.45
	脂肪	0.08±0.01	2.62±1.45
	皮膚	0.09±0.04	3.78±0.97
	血液	0.05 a	1.88±0.82
	残余カーカス	0.04±0.01	1.80±0.14
マウス	前胃	0.23±0.08	15.25±1.70
	腺胃	0.04±0.01	3.15±0.29
	肝臓	0.10±0.02	5.79±0.91
	腎臓	0.09±0.01	7.28±0.85
	膀胱	0.13±0.10	3.27±0.65
	脂肪	0.04±0.03	4.65±1.29
	皮膚	0.02±0.02	1.64±0.83
	血液	ND b	0.79±0.21
	残余カーカス	0.01±0.002	1.31±0.20

(注) a - 3匹中1匹のみ検出、b - ND検出されず (検出限界0.01)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

FIGURE 1

PERCENT OF ADMINISTERED DOSE EXCRETED IN THE URINE PER 12-HR INTERVALS FOLLOWING A SINGLE ORAL DOSE OF ^{14}C -CIS,TRANS-1,3-DICHLOROPROPENE



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑤ 1,3-ジクロロプロペンを用いたラットにおける吸入薬物動態試験

(資料No.M-14)

試験機関:

報告書作成年: 1985 年

供試化合物: 1,3-ジクロロプロペン原体

供試動物: Fischer 344 雄ラット、体重 200~250g

この系統は以前の毒性試験、代謝試験で用いた。

投与方法: 検体の液体をガラス J チューブ装置で、既知量の室内空気を通してながら 180L 容サラン製気体袋内に送りこんで検体蒸気を発生させた。30、90、300 及び 900ppm の濃度(それぞれ 136、409、1362 及び 4086mg/m³) の検体を流速 400mL/分で 3 時間暴露させた。

検体蒸気取り込み量の測定;

頭部限定チャンバーを通る試験空気中の検体蒸気を 1 時間ごとに捕集し、濃度を FID-GC 分析した。蒸気を取り込み量を以下の式 1 を用いて計算した。

$$\text{式 1: 蒸気を取り込み量 (mol/分)} = (b-a) (c)/d$$

(a = 流出気体 1 mol 当たりの検体 mol、b = チャンバーに入る試験大気 1 mol 当たりの検体 mol、

c = チャンバーを通る流速 L/min、d = 24.45 L/mol)

なお、ラットの気道内での検体の主要吸収部位を確認するため、ペントバルビタール麻酔したラットの上部気道 (URT) 及び下部気道 (LRT) を外科的に隔離して流速 105mL/分で URT の通気を行った。この流速での URT 内の蒸気の滞留時間 (9.5 分/L; 流速の逆数) は、自然呼吸の麻酔ラットの滞留時間と同等であった。90ppm 又は 150 ppm の検体を含有する空気を自然呼吸するラットを用いて、隔離した LRT による蒸気の吸収を測定した。URT 又は LRT に出入りする空気中の検体濃度を FID-GC 分析で測定し、式 1 を用いて蒸気を取り込み量に計算した。

比較のため、鼻部限定装置を用いて、ペントバルビタール麻酔ラットによる検体蒸気を取り込み量も測定した。

正常な気道内で起こるような URT 及び LRT による蒸気を取り込み率を推定するため、隔離した URT 及び LRT で得た取り込み量を式 2 及び式 3 に代入した。

$$\text{式 2: } U = (Inh) (f_{urt})$$

$$\text{式 3: } P = (Inh - U) (f_{lrt})$$

(U = URT による吸収量 mol/min、Inh = 動物による吸入量 mol/min、

f = 吸収した URT 又は LRT に入る総蒸気の画分、P = LRT による吸収量 mol/min)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、I, 3-D 技術協議会にある。

シス及びトランス体の血中濃度測定：暴露中及び暴露 2 時間後まで 1 時間ごとに、頸静脈カニューレから血液試料を吸引した。各ラットから 0.2 mL ずつ採取し、ヘパリンロックを慎重に通過させた後、シス-及びトランス体含量を、GC-MS 法を用いて測定した。データをプロットした後、目視によって曲線を描き、グラフから各異性体の半減期を算出した。

呼吸生理学的測定：馴化期間の 30 分後の暴露直前、及び暴露期間中は 1 時間ごとに、呼吸回数及び 1 回呼吸気量を測定し、毎分呼吸量 (RMV) も計算した。

結 果：

検体蒸気取り込み量及び暴露量；頭部限定暴露したラットにおける取り込み量及び平均体重に基づく検体摂取量 (mg/kg) を以下の表に示した。

暴露量 (ppm)	蒸気を取り込み量 (n mol/分) a	暴露レベルを正規化した場合の取り込み率	3 時間暴露による検体摂取量 (mg/kg)
30	144 ± 14	4.8	14
90	307 ± 13	3.4	29
300	880 ± 83	2.9	85
900	1810 ± 76	2.0	171

(注) a - 表中の数値は、1 群 3~6 匹で、かつ暴露 1、2 及び 3 時間後の測定値の平均 ± 標準偏差

暴露濃度の増加に伴って取り込み量が上昇した。

一方、暴露濃度について正規化した場合の蒸気を取り込み率は一定でなく、暴露濃度増加に伴って低下し、検体の代謝の飽和が示唆された。

麻酔した鼻部限定暴露のラット並びに外科的に隔離したラットの LRT 及び URT における取り込み量を以下の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

暴露部位	90ppm		150ppm	
	蒸気の 取り込み量 (n mol/分) a	吸入した蒸 気に対する 割合 (%) b	蒸気の 取り込み量 (n mol/分) a	吸入した蒸 気に対する 割合 (%) b
LRT	111±12.0	50	161±24.6	48
URT	60.5±15.9	16	72.4±13.6	11
鼻部限定	102±23.4	51	161±14.5	48

(注) a - 表中の数値は、1群3~4匹での平均±標準偏差

b - 吸入した蒸気の計算には、毎分呼吸量として、LRT及び鼻部限定で53mL/分、URTで105mL/分を用いた。

麻酔した鼻部限定暴露のラット、及び外科的に隔離したラットのLRTは、どちらも90 ppm又は150 ppmの検体に暴露した場合、吸入した蒸気の約50%を吸収することが認められた。これに対して、外科的に隔離したラットのURTは、正常に呼吸する麻酔ラットのURTを通過する蒸気に適切な滞留時間をもたらす流速では、通過した蒸気のわずか11~16%を吸収したのみであった。これらのデータを上記の式2及び式3に用いて蒸気の吸収を計算すると、LRTは90 ppm又は150 ppmの検体を吸入する麻酔ラットが吸収した総蒸気のそれぞれ約73%及び79%を吸収すると推定された(図1参照)。これらの暴露濃度でのURT及びLRTの総蒸気取り込み量117 nmol/min及び182 nmol/minは、鼻部限定暴露を行った麻酔ラットで測定された値(それぞれ102 ± 23 nmol/min及び161 ± 15 nmol/min)とほぼ一致し、上記の計算の信頼性を裏づけた。

呼吸生理学的測定；ラットの呼吸回数、1回呼吸気量及びRMVのデータを図2に示した。

動物間で変動の程度が大きいため、これらのデータは暴露前の測定値に対する%で表している。得られた反応に、検体暴露の時間による有意な影響は認められなかったため、3時間の暴露期間にわたって行った全ての測定値を平均し、暴露前の値と比較した。

90、300又は900ppmの検体に暴露したラットで、暴露前の値に比べて統計学的に有意な(P<0.05)暴露に関連した呼吸回数の減少(それぞれ16、20及び41%)が認められた。上記と同じラットについて測定した1回呼吸気量には、暴露に関連した変化は認められなかった。300又は900ppmの蒸気に暴露したラットについて算出したRMV値は、暴露前のRMVに比べてそれぞれ26及び47%低下したが、30又は90ppmの蒸気に暴露したラットについて算出した値は変化しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

シス及びトランス体の血中濃度；図3及び図4に、検体の蒸気を吸入したラットで認められたシス及びトランス体の血中濃度を示した。

両異性体の血中濃度が到達した平均プラトーレベルは、1回目の試料採取時（1時間）までに、30ppmの検体に暴露したラットではシス体が 0.085 ± 0.024 g/mL 及びトランス体が 0.12 ± 0.03 g/mL であり、90ppmの検体に暴露したラットではシス体が 0.20 ± 0.04 g/mL 及びトランス体が 0.26 ± 0.3 g/mL であった。しかし、300ppmの検体に暴露したラットの血液では、シス及びトランス体濃度がプラトーに達するには、さらに長い時間（2～3時間）を要した（それぞれ 0.89 ± 0.20 g/mL 及び 1.87 ± 0.27 g/mL）。

900ppmの検体に暴露したラットでは、どちらの異性体の血中濃度も3時間の暴露期間中にプラトーに達していないことは、これらのラットで代謝の飽和が起きたことを示している。

90、300又は900ppmの検体に暴露したラットの血液からの両異性体の暴露後排出は、基本的に二相性であった。30ppmの検体に暴露したラットでは、得られたデータから二相性の排出曲線と断定することはできなかった。

300 ppm 以下の検体に暴露した全てのラットで、検体の顕著で速やかな排出段階（アルファ）が認められた。この初期の排出段階でのシス体の半減期は、グラフから約2～3分と算定したが、900 ppmの蒸気に暴露したラットでは、初期の半減期はほぼ14分まで上昇した。30、90、300又は900 ppmの検体に暴露したラットのアルファ段階の半減期は、それぞれ3.0、3.0、4.6及び40分であった。この初期段階に続いて、シス及びトランス体のどちらでも、より緩徐で長期間の排出段階が認められた。この後期段階での両異性体の半減期は、暴露濃度に関係なく、ほぼ30～40分であると算定した。

図5に、暴露濃度に関して正規化したシス及びトランス体の暴露終了時の血中濃度を示した。

900 ppmの検体に暴露したラットのシス体及び300又は900 ppmの検体に暴露したラットのトランス体の暴露最終時の血中濃度に不均衡で大きい増加が認められたことは、これらのラットで代謝の飽和が起きたことを示している。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

結 論：

90ppm 以上の検体に暴露したラットの呼吸回数の暴露濃度に相関した減少、及び 300ppm 以上の検体に暴露したラットによる検体代謝の飽和のため、暴露濃度に比例した検体の取り込みの増加は認められなかった。吸入した検体の吸収は、主として肺を経由（総吸入検体の約 50%）して行われ、少量（11～16%）がラットでの吸入検体の既知標的臓器である鼻粘膜を経由して行われた。吸収に続いて、DCP の両異性体は、顕著で速やかな排出段階（半減期：300ppm 以下で 3～5 分、900ppm で 40 分）、続いて比較的緩徐な排出段階（半減期 30～40 分）を特徴とする用量に相関する二相形式で血流から速やかに排出された。

FIGURE 1. Comparison of calculated rates of absorption of DCP received via the URT plus LRT during a normal breathing cycle (Eq. 2 and 3) with those observed in the intact respiratory tract of nose-only exposed, anesthetized rats.

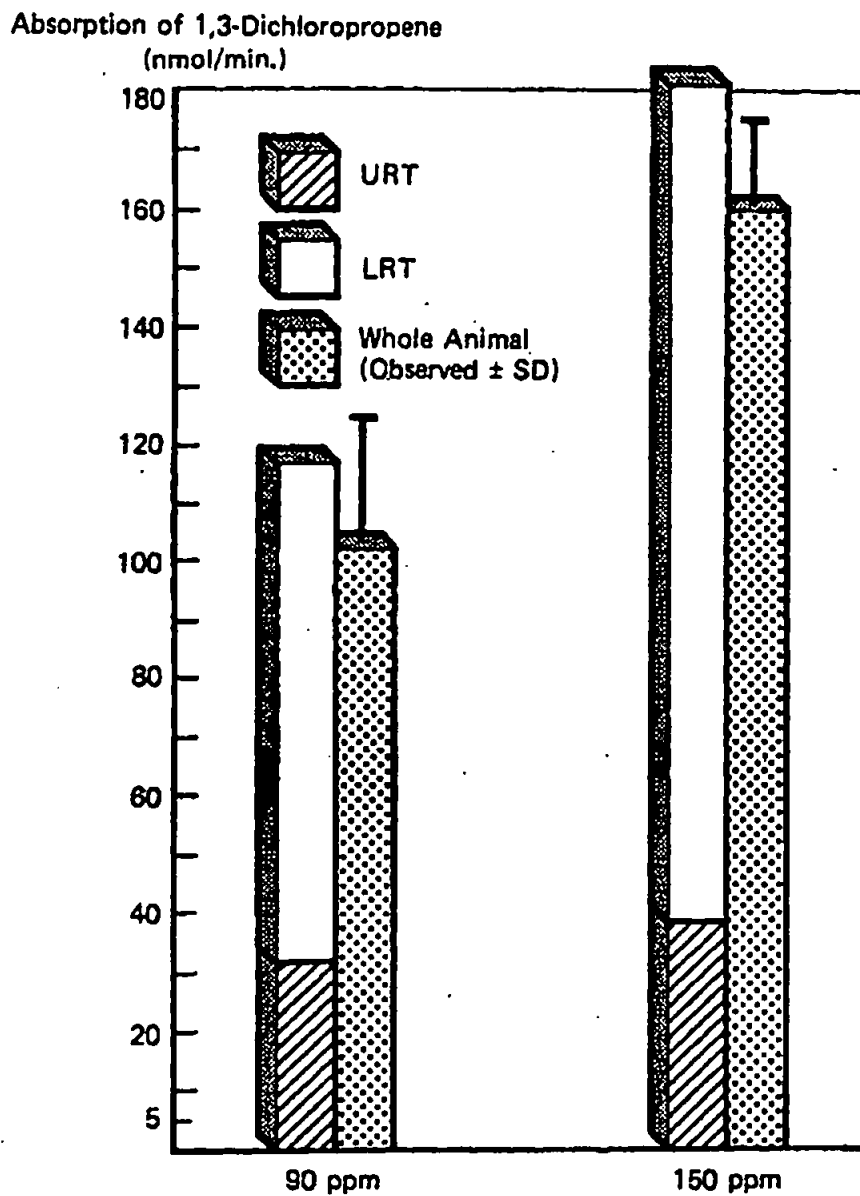
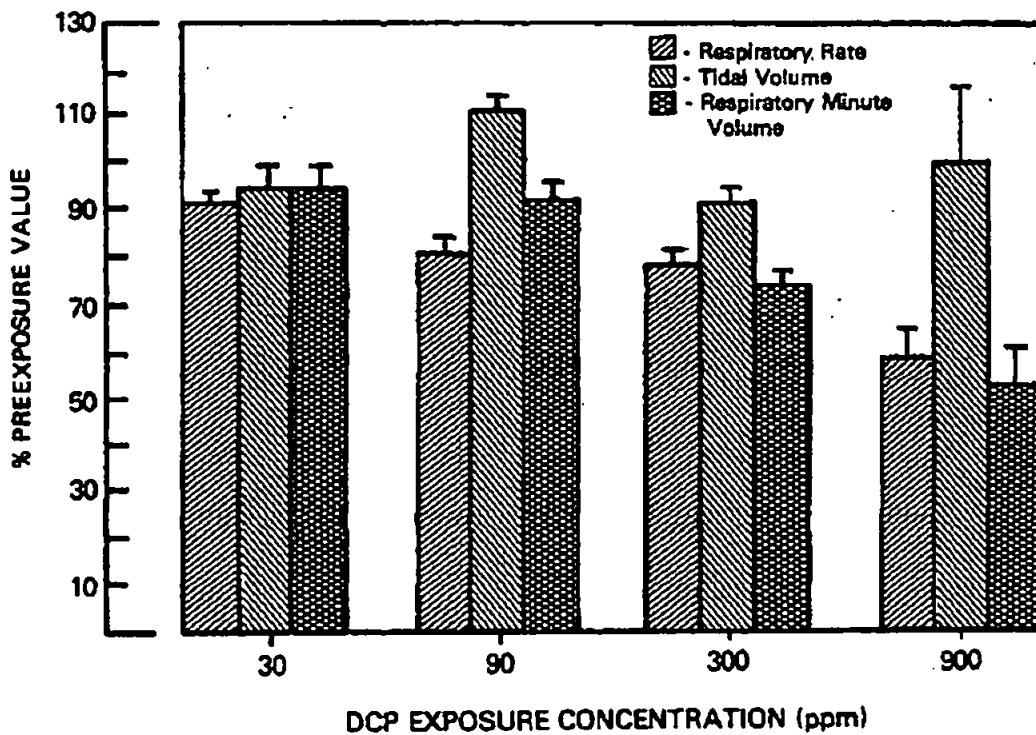
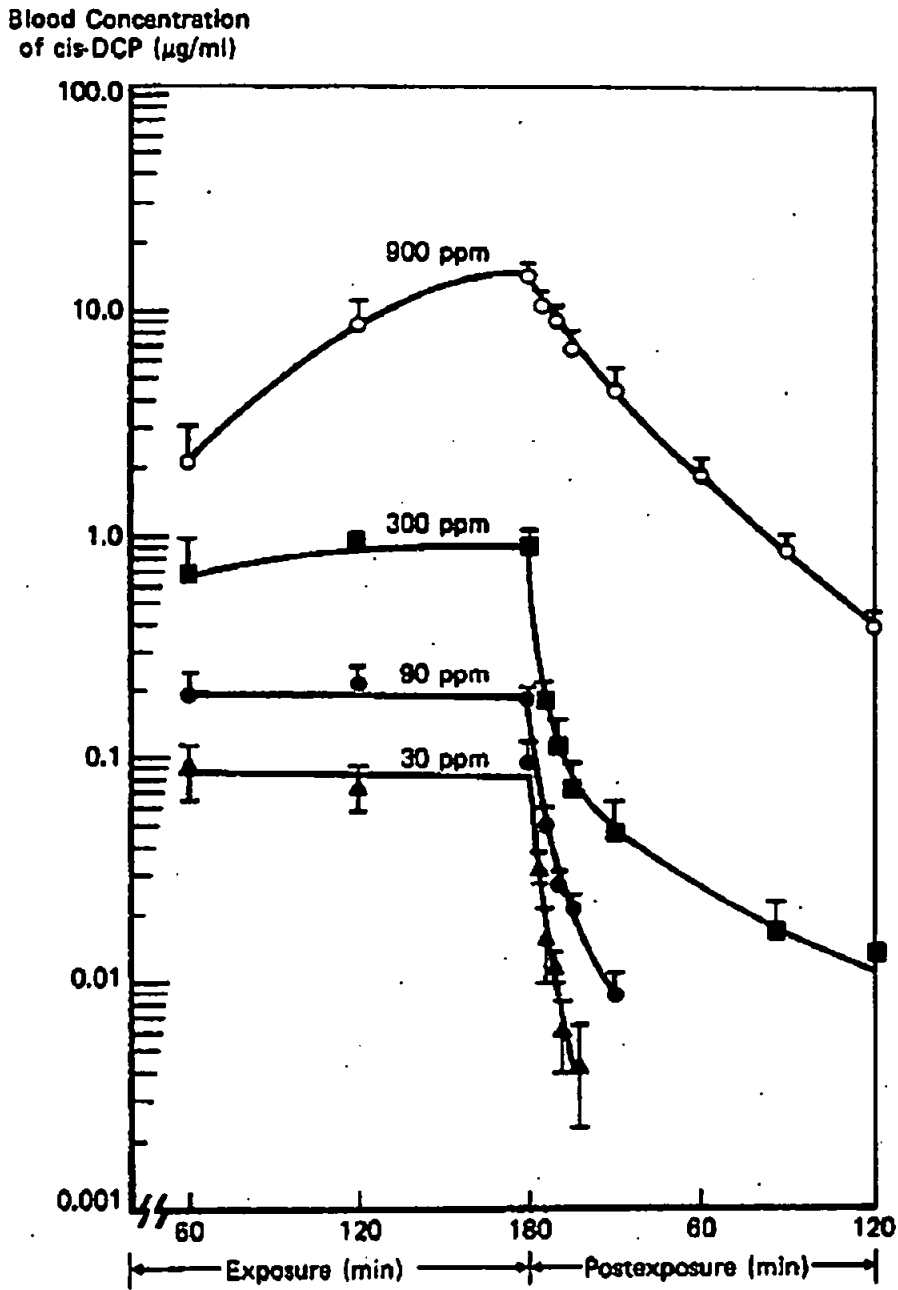


FIGURE 2. Effect of DCP exposure on respiratory physiology parameters of rats. Means \pm standard deviations of 3-5 rats/exposure level. Measurements for individual rats were calculated as the total measurements for an animal during the exposure period vs its preexposure measurement. These values were then averaged to obtain the mean values displayed.



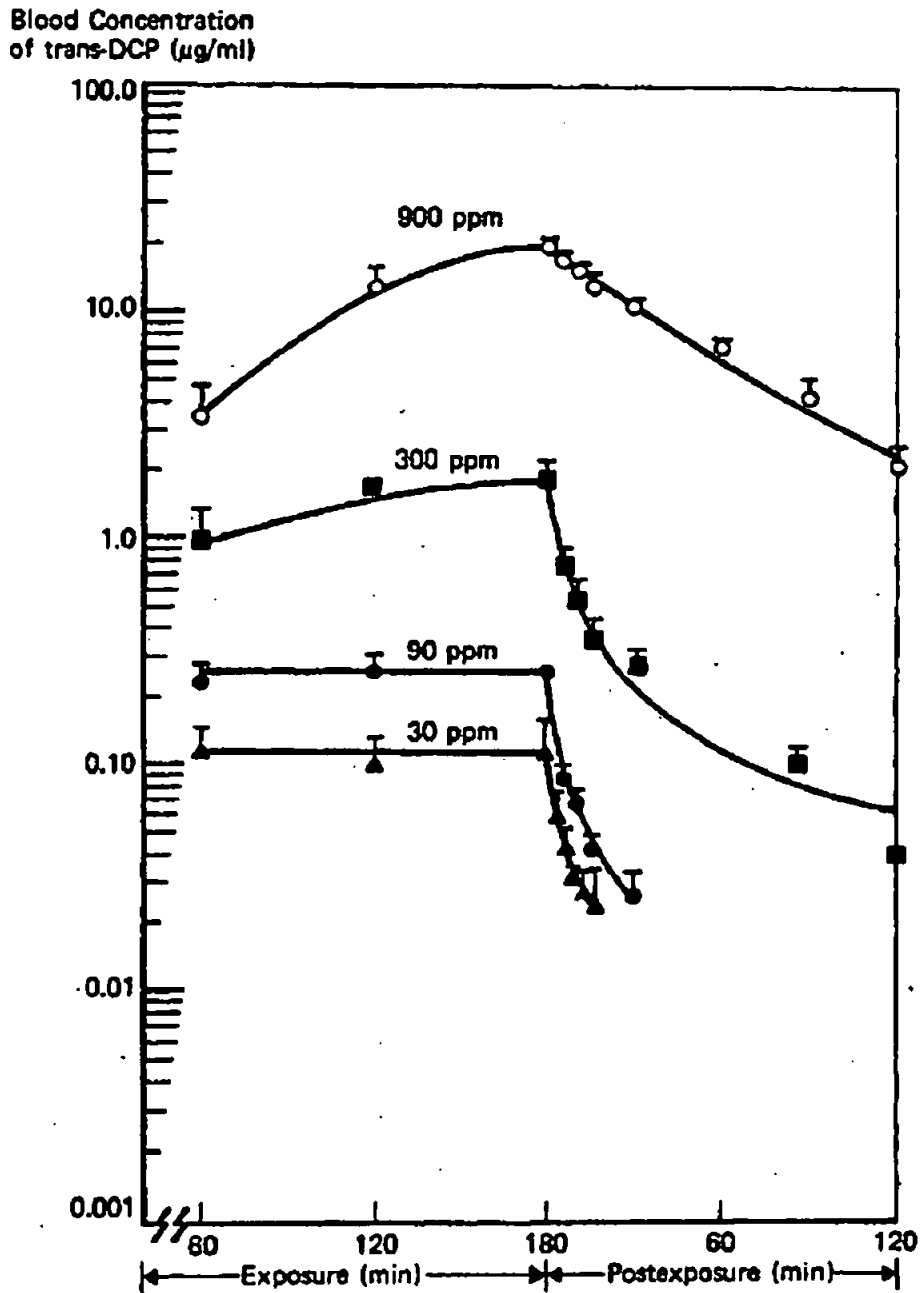
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

FIGURE 3. Blood kinetic data for cis-DCP in rats exposed to DCP. Mean \pm standard deviation of 3-6 rats/exposure level.



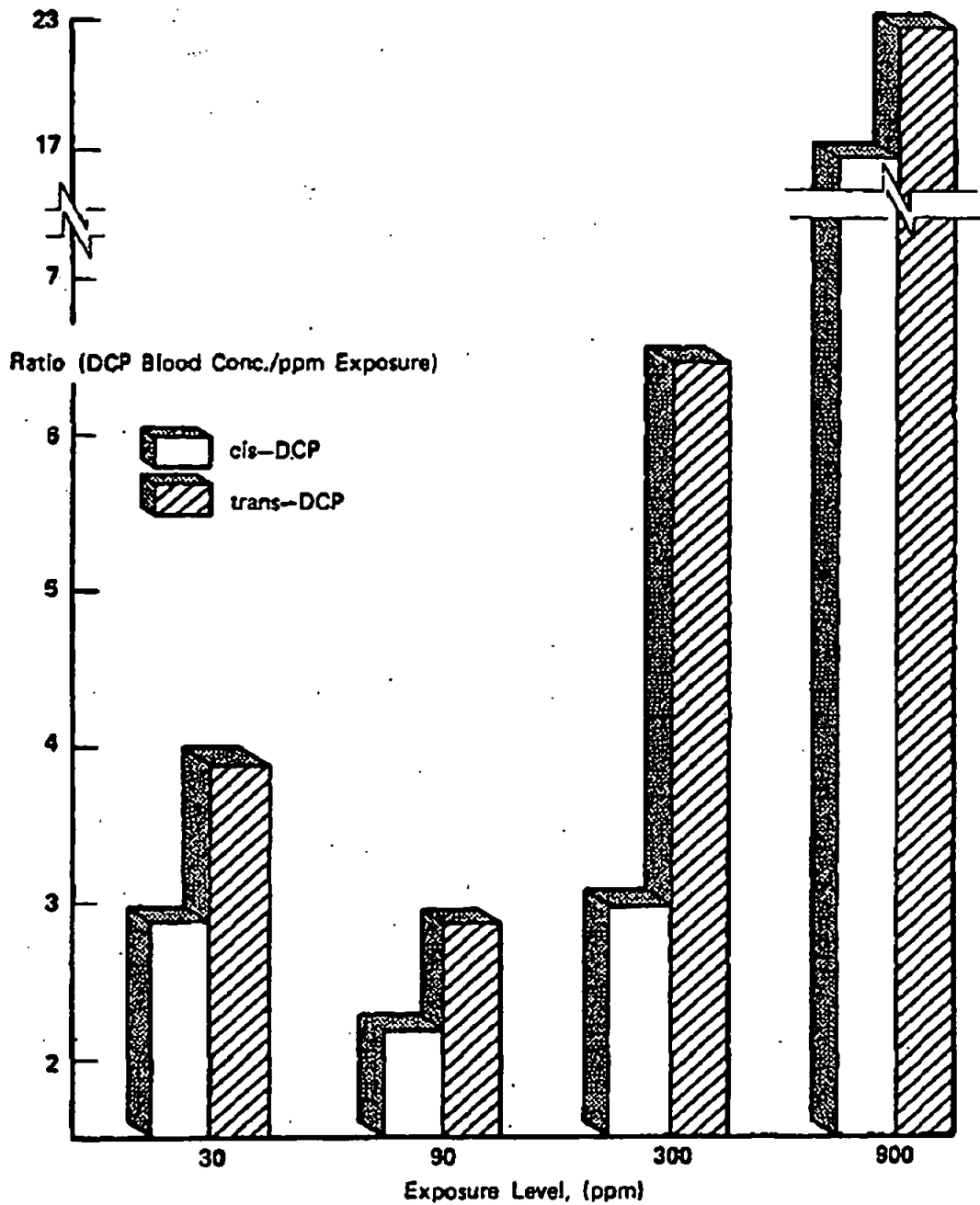
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

FIGURE 4. Blood kinetic data for trans-DCP in rats exposed to DCP. Mean \pm standard deviation of 3-6 rats/exposure group.



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

FIGURE 5. Comparison of average plateau or end exposure cis- or trans-DCP blood levels ($\mu\text{g}/\text{ml}$) normalized for exposure levels ($\times 1000$) in rats exposed to DCP.



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。