

7. 2 ラットを用いた催奇形性試験

(資料7-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

検体の純度：

試験動物： Wistar Hannover 系 SPF 妊娠雌ラット (Br1Han:WIST@Tac [GALAS])  
1群 25匹，投与開始時 14週齢

投与期間： 妊娠6～19日 (2001年7月2日～2001年7月18日)

投与方法： 検体を5%アラビアゴム・0.4%Tween 80水溶液に懸濁し，0，50，250 および 1000 mg/kg/日の投与用量で妊娠6～19日の14日間，毎日1回強制経口投与した。なお，対照群には賦形剤のみを同様に投与した (投与液量：10 ml/kg)。陰栓あるいは陰垢中に精子が観察された日を妊娠0日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物；一般状態および生死を毎日観察した。体重を妊娠0および6～20日に測定した。飼料消費量を妊娠0，6，9，12，15，18 および 19日に測定し，妊娠20日は残余飼料重量のみを測定した。妊娠20日に帝王切開し，黄体数，着床数，生存および死亡胎児および吸収胚数を調べた。また，肉眼的病理検査ならびに胎盤，妊娠子宮，肝臓，腎臓および副腎の重量を測定し，副腎については病理組織学的検査を実施した。

生存胎児；性別，体重および外表異常を観察した。各同腹児の約半数の胎児については骨格標本作製 (骨・軟骨二重染色法) し，骨格異常の有無を検査し，残りの胎児については内臓異常 (Staples 法) の有無を検査した。

結 果：表7-2に示した。

母動物の50 mg/kg/日投与群では、検体投与による影響は認められなかった。

250 mg/kg/日投与群では、左副腎の絶対重量および対体重比の統計学的有意な増加、副腎の病理組織学的検査ではび慢性皮質細胞空胞化がみられた。

1000 mg/kg/日投与群では、妊娠6～20日の体重増加量に統計学的有意な減少、左右副腎の絶対重量および対体重比の統計学的有意な増加、副腎の病理組織学的検査では、び慢性皮質細胞肥大および空胞化の発生頻度に統計学的有意な増加がみられた。また、統計学的有意な差は認められないものの、胎盤重量の増加がみられた。

なお、50 および 250 mg/kg/日投与群でみられた妊娠15～18日の体重増加量の有意な増加、肝臓もしくは右腎臓の対体重比の有意な減少は、用量との明らかな関連性が認められないことから、検体投与による影響ではないものと考えられた。

胎児の骨格変異として、250 mg/kg/日以上投与群において、胸骨分節不完全骨化の同腹数に統計学的有意な増加がみられた。50 mg/kg/日投与群において、頸肋（第7頸椎）の胎児数に統計学的有意な増加がみられたが、用量との明らかな関連性が認められないことから、検体投与による影響ではないものと考えられた。また、1000 mg/kg/日投与群において、波状肋骨を有する胎児数が統計学的有意に増加したものの、同腹数に有意差が認められないことから、検体投与による影響ではないものと考えられた。その他の胎児の外表、内臓、および骨格異常の発生頻度は全ての検体投与群で対照群と同等であった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量および胎児における無毒性量は50 mg/kg 体重/日であった。また、最高投与量の1000 mg/kg 体重/日においても胎児に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。

表7-2 催奇形性試験結果

投与群 (mg/kg/日)		0	50	250	1000	
1群当たりの動物数		25	25	25	25	
母動物	一般状態	著変なし	著変なし	著変なし	著変なし	
	死亡数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	体重変化	著変なし	著変なし	著変なし	投与期間中に有意な増加抑制	
	飼料消費量	著変なし	著変なし	著変なし	著変なし	
	妊娠動物数 (率)	24 (96.0%)	23 (92.0%)	23 (92.0%)	25 (100%)	
	流産動物数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	吸収胚のみの動物数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	生存胎児を有する動物数 (率)	24 (96.0%)	23 (92.0%)	23 (92.0%)	25 (100%)	
	妊娠子宮重量 (g)	63.899±11.685	65.367±15.422	72.230±6.857	65.463±11.894	
	臓器重量 (絶対重量 g)	左副腎	0.048±0.008	0.051±0.009	↑0.055±0.009	⇕0.064±0.010
		右副腎	0.045±0.008	0.047±0.009	0.049±0.008	⇕0.060±0.011
		肝臓	14.98±1.19	14.53±1.82	15.24±1.44	15.23±1.30
		左腎臓	1.02±0.14	1.01±0.12	0.97±0.09	0.97±0.09
		右腎臓	1.05±0.12	1.04±0.11	0.99±0.10	1.01±0.10
	臓器重量 (対体重比%)	左副腎	0.0139±0.0020	0.0147±0.0026	↑0.0155±0.0027	⇕0.0186±0.0029
		右副腎	0.0130±0.0022	0.0135±0.0023	0.0140±0.0023	⇕0.0176±0.0030
		肝臓	4.348±0.280	↓4.136±0.281	4.285±0.337	4.450±0.271
		左腎臓	0.294±0.034	0.288±0.031	0.273±0.022	0.283±0.028
		右腎臓	0.303±0.030	0.296±0.033	⇓0.279±0.023	0.296±0.031
病理組織学的所見						
副腎	皮質細胞空胞化	0/25	0/25	2/25	24/25**	
	皮質細胞び慢性肥大	0/25	0/25	0/25	14/25**	
着床所見	検査親動物数	24	23	23	25	
	黄体数	15.8±3.4	15.2±1.8	15.3±2.6	15.0±2.3	
	着床数	13.5±1.5	13.1±2.9	14.2±1.4	12.9±2.2	
	生存胎児数	12.2±2.5	12.5±3.0	13.7±1.4	12.2±2.4	
	死亡胎児数	0	0	0	0	
	吸収胚数	1.3±2.0	0.6±0.7	0.5±0.5	0.7±0.9	
胎児動物	体重 (g)	雄	3.39±0.23	3.32±0.26	3.35±0.26	3.30±0.20
		雌	3.29±0.23	3.12±0.31	3.18±0.24	3.13±0.25
	胎盤重量 (g)	0.43±0.04	0.46±0.08	0.44±0.04	0.46±0.04	
	性比 (雄%)	48.1±16.9	49.5±9.5	46.8±13.0	52.8±13.4	

Dunnett の多重比較法, ↑↓: p≤0.05, ⇕⇓: p≤0.01  
 二項分布の等分散検定, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01

表7-2 催奇形性試験結果(続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	250	1000		
1群当たりの動物数		25	25	25	25		
胎 児 動 物	外表異常	検査母動物数	24	23	23	25	
		検査胎児数	293	287	315	305	
		奇形胎児を有する母動物数(率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		奇形を有する胎児数(率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		変異胎児を有する母動物数(率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		変異を有する胎児数(率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	内臓異常 (奇形)	検査母動物数	24	23	23	25	
		検査胎児数	141	138	151	149	
		奇形胎児を有する母動物数(率)	0 (0.0%)	1 (4.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		奇形を有する胎児数(率)	0 (0.0%)	1 (0.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		小眼球	同腹数	0	1	0	0
			胎児数	0	1	0	0
	内臓異常 (変異)	変異胎児を有する母動物数(率)	9 (37.5%)	7 (30.4%)	7 (30.4%)	7 (28.0%)	
		変異を有する胎児数(率)	13 (9.2%)	8 (5.8%)	7 (4.6%)	10 (6.7%)	
		網膜皺壁	同腹数	0	1	0	0
			胎児数	0	1	0	0
臍帯動脈の膀胱左側への 下降		同腹数	9	6	7	7	
		胎児数	13	7	7	10	

同腹数：奇形あるいは変異のみられた胎児を有する母動物数

表7-2 催奇形性試験結果 (続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	250	1000		
1群当たりの動物数		25	25	25	25		
胎 児 動 物	骨格異常 (奇形)	検査母動物数	24	23	23	25	
		検査胎児数	152	149	164	156	
		奇形胎児を有する母動物数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
		奇形を有する胎児数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
	骨格異常 (変異)	変異胎児を有する母動物数 (率)		10 (41.7%)	11 (47.8%)	12 (52.2%)	14 (56.0%)
		変異を有する胎児数 (率)		13 (8.6%)	17 (11.4%)	24 (14.6%)	30 (19.2%)
		頸肋	同腹数	1	3	0	0
			胎児数	1	↑4	0	0
		胸椎椎体二分	同腹数	0	1	0	0
			胎児数	0	1	0	0
		腰椎椎弓不完全骨化	同腹数	0	0	0	1
			胎児数	0	0	0	1
		波状肋骨	同腹数	5	3	4	7
			胎児数	6	5	9	↑16
		肋骨不完全骨化	同腹数	0	1	0	1
			胎児数	0	1	0	1
		胸骨分節不完全骨化	同腹数	4	2	↑9	↑9
			胎児数	5	4	13	13
		胸骨分節未骨化	同腹数	1	4	3	1
			胎児数	1	4	3	1
恥骨不完全骨化	同腹数	0	0	0	1		
	胎児数	0	0	0	1		
恥骨未骨化	同腹数	0	0	1	1		
	胎児数	0	0	1	1		
異常のみられた胎児を有する母動物数 (率)		17 (70.8%)	16 (69.6%)	16 (69.6%)	18 (72.0%)		
異常を有する胎児数 (率)		26 (8.9%)	26 (9.0%)	31 (9.8%)	40 (13.1%)		
奇形のみられた胎児を有する母動物数 (率)		0 (0.0%)	1 (4.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)		
奇形を有する胎児数 (率)		0 (0.0%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)		
変異のみられた胎児を有する母動物数 (率)		17 (70.8%)	15 (65.2%)	16 (69.6%)	18 (72.0%)		
変異を有する胎児数 (率)		26 (8.9%)	25 (8.7%)	31 (9.8%)	40 (13.1%)		

Dunnettの多重比較法, ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↓:  $p \leq 0.01$

同腹数: 奇形あるいは変異のみられた胎児を有する母動物数

7. 3 ウサギを用いた催奇形性試験

(資料7-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体の純度：

試験動物： ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ (Hra: (NZW) SPF) , 1 群 25 匹  
投与開始時約 5.7 ヶ月齢

投与期間： 妊娠 6 ~ 28 日 (2002 年 10 月 20 日 ~ 2002 年 11 月 14 日)

投与方法： 検体を 5 %アラビアゴム・0.4%Tween 80 水溶液に懸濁し, 0, 50, 250, および 1000 mg/kg/日の投与用量で妊娠 6 ~ 28 日の 23 日間, 毎日 1 回強制経口投与した。なお, 対照群には賦形剤のみを同様に投与した (投与液量: 10 ml/kg)。交尾日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物：一般状態および生死を毎日観察し, 体重を妊娠 0, 試験施設到着日, 妊娠 6 ~ 29 日に測定した。飼料消費量は試験施設到着後毎日測定した。妊娠 29 日に帝王切開し, 黄体数, 着床数, 生存および死亡胎児および吸収胚数を調べた。また, 肉眼的病理検査ならびに妊娠子宮, 胎盤, 肝臓, 腎臓および副腎の重量を測定した。

生存胎児：全ての生存胎児について性別, 体重および外表, 内臓および骨格異常を調べた。

結 果：表7-3に示した。

250 mg/kg/日投与群の1例（母動物番号：968）が妊娠8日に誤投与のために死亡した。また、250 mg/kg/日の他の1例（母動物番号：963）は投与期間中に検体投与に起因しない重度の一般状態の異常（体重および摂餌量の減少，消化管由来の出血）を示したため，本試験から除外した。

母動物の50 mg/kg/日投与群では，検体投与による影響は認められなかった。

250 mg/kg/日投与群において，統計学的有意な差は認められないものの，妊娠6～29日の体重増加量および肝臓重量に減少がみられた。妊娠9～12日の飼料消費量に統計学的有意な減少がみられたが，一過性であることから検体投与の影響ではないものと考えられた。

1000 mg/kg/日投与群では，統計学的有意な差は認められないものの，妊娠6～29日の体重増加量，肝臓重量および副腎重量に減少がみられた。また，妊娠18～21日の飼料消費量，胎児体重および胎盤重量に統計学的有意な減少が認められた。

胎児の骨格異常として，250 mg/kg/日以上投与群において，統計学的有意な胸椎および肋骨の平均骨化数の増加ならびに腰椎および剣状突起の骨化数の減少がみられた。

1000 mg/kg/日投与群では，角張った舌骨翼，胸骨分節不完全骨化および尾椎骨化数の統計学的有意な増加がみられた。

50 mg/kg/日投与群で尾椎骨化数の統計学的有意な増加がみられたが，明らかな用量との関連性が認められないことから検体投与の影響ではないものと考えられた。その他の胎児の外表，内臓および骨格異常の発生頻度は全ての検体投与群で対照群と同等であった。

以上の結果より，本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物および胎児における無毒性量は50 mg/kg/日であった。また，最高投与量の1000 mg/kg/日においても胎児に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。

表7-3 ウサギにおける催奇形性試験結果

投与群 (mg/kg/日)		0	50	250	1000		
1群当たりの動物数		25	25	24 <sup>a</sup>	25		
母動物	一般状態	著変なし	著変なし	著変なし	著変なし		
	体重変化	著変なし	著変なし	投与期間中に軽度の増加抑制	投与期間中に軽度の増加抑制		
	飼料消費量	著変なし	著変なし	著変なし	投与期間中に有意な低下		
	妊娠動物数 (率)	24 (96.0%)	24 (96.0%)	23 (95.8%)	25 (100%)		
	死亡動物数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (4.2%) <sup>b</sup>	0 (0.0%)		
	流産動物数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)		
	吸収胚のみの動物数 (率)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)		
	生存胎児を有する動物数 (率)	24 (100.0%)	24 (100.0%)	22 (100.0%)	25 (100.0%)		
	妊娠子宮重量 (g)	540.2±153.6	515.7±118.3	511.5±127.2	513.0±120.3		
	臓器重量 (絶対重量 g)	肝臓		100.8±17.8	99.6±19.7	92.9±20.2	92.4±18.3
			腎臓	左	9.2±1.0	9.1±0.8	9.1±1.2
右		9.0±0.9		8.9±0.8	9.0±1.0	8.7±0.9	
副腎 <sup>c</sup>		左	0.210±0.045	0.211±0.050	0.204±0.050	0.185±0.041	
	右	0.175±0.038	0.198±0.046	0.174±0.041	0.164±0.031		
臓器重量 (対体重比%)	肝臓		2.374±0.350	2.331±0.373	2.268±0.384	2.235±0.382	
		腎臓	左	0.218±0.021	0.212±0.016	0.222±0.019	0.215±0.015
	右		0.213±0.023	0.208±0.016	0.220±0.019	0.212±0.017	
	副腎 <sup>c</sup>	左	0.0050±0.0013	0.0050±0.0013	0.0050±0.0010	0.0046±0.0009	
右		0.0042±0.0010	0.0047±0.0011	0.0043±0.0012	0.0040±0.0007		
着床所見	検査親動物数		24	24	22	25	
	黄体数		9.4±2.3	9.5±2.4	9.4±2.0	10.0±2.2	
	着床数		8.4±2.8	8.4±2.4	8.4±2.7	9.2±2.1	
	生存胎児数		7.6±2.6	8.2±2.2	8.1±2.6	8.7±2.2	
	死亡胎児数		0	0	0	0	
	吸収胚数		0.8±1.6	0.2±0.4	0.3±0.6	0.5±0.8	
胎児動物	体重 (g)	雄	47.60±4.84	46.56±5.25	45.94±6.19	⇓41.87±4.77	
		雌	45.09±4.60	44.36±5.92	43.63±5.84	⇓40.55±5.08	
	胎盤重量 (g)		7.47±1.21	7.00±1.00	7.29±1.47	⇓6.59±0.83	
	性比 (雄%)		48.4±27.8	52.3±19.2	53.9±23.8	45.1±19.4	

a: 250 mg/kg/日投与群の1例 (母動物番号: 963) は, 検体投与に起因しない重篤な臨床症状を示したため試験から除外した。

b: 誤投与による死亡。

c: 副腎の対体重比は, 原報を基に申請者が再算出した。

Dunnett の多重比較法, ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ⇓⇓:  $p \leq 0.01$

表7-3 ウサギにおける催奇形性試験結果(続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	250	1000		
1 群当たりの動物数		25	25	24 <sup>a</sup>	25		
検査母動物数		24	24	22	25		
検査胎児数		183	197	178	218		
胎 児 動 物	外表異常	奇形胎児を有する母動物数 (率)		1 (4.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (8.0%)
		奇形を有する胎児数 (率)		3 (1.6%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (1.4%)
		前足の下方向への屈曲	同腹数	0	0	0	2
			胎児数	0	0	0	3
		短鼻	同腹数	1	0	0	0
			胎児数	3	↕0	↕0	↕0
		腹部膨脹	同腹数	1	0	0	0
			胎児数	3	↕0	↕0	↕0
	前肢関節の固定	同腹数	1	0	0	0	
		胎児数	3	↕0	↕0	↕0	
	内臓異常	奇形胎児を有する母動物数 (率)		2 (8.3%)	4 (16.7%)	3 (13.6%)	0 (0.0%)
		奇形を有する胎児数 (率)		2 (1.1%)	5 (2.5%)	4 (2.2%)	0 (0.0%)
		水晶体混濁	同腹数	1	0	0	0
			胎児数	1	0	0	0
		心室中隔欠損	同腹数	1	2	3	0
			胎児数	1	3	4	0
		心室欠損	同腹数	0	2	0	0
			胎児数	0	2	0	0
		心臓中隔欠損	同腹数	0	1	0	0
			胎児数	0	1	0	0
		大動脈拡張	同腹数	1	0	0	0
			胎児数	1	0	0	0
		動脈幹遺残	同腹数	0	2	1	0
			胎児数	0	2	1	0
肺の小型化		同腹数	0	1	0	0	
		胎児数	0	1	0	0	
変異胎児を有する母動物数 (率)		1 (4.2%)	0 (0.0%)	3 (13.6%)	3 (12.0%)		
変異を有する胎児数 (率)		1 (0.5%)	0 (0.0%)	4 (2.2%)	3 (1.4%)		
網膜皺壁	同腹数	1	0	0	1		
	胎児数	1	0	0	1		
肺中葉欠損	同腹数	0	0	3	2		
	胎児数	0	0	↕4	2		

a : 250 mg/kg/日投与群の1例(母動物番号:963)は、検体投与に起因しない重篤な臨床症状を示したため試験から除外した。

Dunnettの多重比較法, ↕: p ≤ 0.05, ↕↕: p ≤ 0.01

同腹数: 奇形あるいは変異のみられた胎児を有する母動物数

表7-3 ウサギにおける催奇形性試験結果(続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	250	1000	
1群当たりの動物数		25	25	24 <sup>a</sup>	25	
検査母動物数		24	24	22	25	
検査胎児数		183	197	178	218	
胎 児 動 物	奇形胎児を有する母動物数(率)	1(4.2%)	3(12.5%)	3(13.6%)	5(20.0%)	
	奇形を有する胎児数(率)	1(0.5%)	4(16.7%)	3(1.7%)	6(2.8%)	
	胸椎椎体不整形	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	胸椎椎体癒合	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	仙椎椎弓小型	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	仙椎椎弓不整形	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	仙椎の過剰骨化	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	尾椎不整配列	同腹数	1	3	3	3
		胎児数	1	4	3	4
	分裂肋骨	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	変異胎児を有する母動物数(率)		10(41.7%)	7(29.2%)	8(36.4%)	18(72.0%)
	変異を有する胎児数(率)		14(7.7%)	8(4.1%)	11(6.2%)	35(16.1%)
	前頭縫合不整	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
	前頭骨間骨化部	同腹数	0	0	0	1
		胎児数	0	0	0	1
前頭鼻骨縫合不整	同腹数	0	0	1	0	
	胎児数	0	0	1	0	
鼻骨間骨化部	同腹数	1	1	2	0	
	胎児数	1	1	2	0	
鼻骨間縫合偏位	同腹数	3	1	0	2	
	胎児数	3	1	0	2	

a: 250 mg/kg/日投与群の1例(母動物番号: 963)は、検体投与に起因しない重篤な臨床症状を示したため試験から除外した。

同腹数: 奇形あるいは変異のみられた胎児を有する母動物数

表7-3 ウサギにおける催奇形性試験結果(続き)

投与群 (mg/kg/日)			0	50	250	1000	
1群当たりの動物数			25	25	24 <sup>a</sup>	25	
検査母動物数			24	24	22	25	
検査胎児数			183	197	178	218	
胎 児 動 物	骨格異常	切歯骨未骨化	同腹数	1	0	0	0
			胎児数	1	0	0	0
		角張った舌骨翼	同腹数	2	2	2	↑10
			胎児数	3	3	3	11
		頸椎椎体片側性骨化	同腹数	1	0	0	0
			胎児数	1	0	0	0
		胸椎椎体片側性骨化	同腹数	0	0	1	1
			胎児数	0	0	1	1
		肋骨肥厚	同腹数	1	0	1	1
			胎児数	1	0	1	1
		胸骨柄不整形	同腹数	0	0	0	1
			胎児数	0	0	0	1
		胸骨分節癒合	同腹数	2	3	2	5
			胎児数	2	3	3	6
		胸骨分節不完全骨化	同腹数	0	0	1	↑8
			胎児数	0	0	1	↑16
		胸骨分節非対称	同腹数	0	2	2	2
			胎児数	0	2	2	2
		胸骨分節不整形	同腹数	0	0	0	1
			胎児数	0	0	0	1
肩甲骨肩峰不整形	同腹数	1	0	0	0		
	胎児数	2	0	0	0		
骨化数	胸椎		12.49±0.33	12.62±0.28	↑12.75±0.28	↑12.92±0.12	
	腰椎		6.52±0.32	6.38±0.28	↓6.24±0.29	↓6.16±0.19	
	尾椎		16.84±0.33	↑17.08±0.39	16.90±0.30	↑17.23±0.27	
	肋骨		12.42±0.30	12.56±0.28	↑12.69±0.30	↑12.91±0.14	
	剣状突起		0.98±0.07	0.96±0.08	↓0.92±0.12	↓0.81±0.27	
異常のみられた胎児を有する母動物数(率)			13(54.2%)	9(37.5%)	13(59.1%)	19(76.0%)	
異常を有する胎児数(率)			19(10.4%)	15(7.6%)	21(11.8%)	↑44(20.2%)	
奇形のみられた胎児を有する母動物数(率)			3(12.5%)	6(25.0%)	5(22.7%)	7(28.0%)	
奇形を有する胎児数(率)			5(2.7%)	9(4.6%)	7(3.9%)	9(4.1%)	
変異のみられた胎児を有する母動物数(率)			11(45.8%)	7(29.2%)	11(50.0%)	↑18(72.0%)	
変異を有する胎児数(率)			14(7.6%)	6(3.0%)	14(7.9%)	↑35(16.0%)	

a: 250 mg/kg/日投与群の1例(母動物番号: 963)は、検体投与に起因しない重篤な臨床症状を示したため試験から除外した。

Dunnettの多重比較法, ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↓:  $p \leq 0.01$

同腹数: 奇形あるいは変異のみられた胎児を有する母動物数

## 8. 変異原性

### 8. 1 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料8-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

本試験は2回実施した。検体を DMSO に溶解し、代謝活性化の有無にかかわらず、5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  を最高用量とし、本試験 I は公比3で6用量、本試験 II は公比2で6用量を設定した。試験は各用量とも3連制とした。

用量設定根拠：

結果： 結果を表8-1に示した。

2回の試験において検体は S-9Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ ) においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2,  $\text{NaN}_3$ , 9AA, 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

表8-1 本試験I結果

(表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrWA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	113	6	21	18	5
検体	20.6	-	125	8	18	14	3
	61.7	-	119	5	26	14	6
	185	-	105	6	22	12	7
	556	-	126	6	19	13	4
	1667	-	107	6	21	17	6
	5000	-	100p	10p	20p	10p	5p
対照 (DMSO)	0	+	109	9	23	26	12
検体	20.6	+	140	7	30	28	14
	61.7	+	136	9	28	23	12
	185	+	135	7	27	32	8
	556	+	116	10	24	32	8
	1667	+	125	7	19	27	14
	5000	+	124	10	23	27	13
陽性対照		-	517a	599b	247a	510c	532d
		+	907e	162f	231g	250h	57f

注) a : AF-2 (0.01  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

c : AF-2 (0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

e : 2-AA (1  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

g : 2-AA (10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

p : 析出が認められた。

b :  $\text{NaN}_3$  (0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

d : 9-AA (80  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

f : 2-AA (2  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

h : 2-AA (0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

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

$\text{NaN}_3$  : アジ化ナトリウム

2-AA : 2-アミノアントラセン

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

表8-1 本試験II結果

(表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	115	5	17	17	5
検体	156	-	120	4	23	16	5
	313	-	123	7	18	13	7
	625	-	108	8	21	18	4
	1250	-	108	7	24	13	3
	2500	-	105	9	19	16	4
	5000	-	104p	5p	16p	15p	5p
対照 (DMSO)	0	+	108	8	23	23	12
検体	156	+	131	6	19	21	13
	313	+	116	6	26	27	10
	625	+	133	8	24	27	10
	1250	+	126	5	23	29	8
	2500	+	116	10	19	26	14
	5000	+	129	5	21	31	8
陽性対照		-	473a	613b	253a	587c	531d
		+	957e	162f	223g	274h	83f

注) a : AF-2 (0.01  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

c : AF-2 (0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

e : 2-AA (1  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

g : 2-AA (10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

p : 析出が認められた。

b :  $\text{NaN}_3$  (0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

d : 9-AA (80  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

f : 2-AA (2  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

h : 2-AA (0.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$ )

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

$\text{NaN}_3$  : アジ化ナトリウム

2-AA : 2-アミノアントラセン

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

8. 2 チャイニーズハムスターのCHL細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料8-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003年

検体の純度：

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の継代培養した CHL 細胞を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解した。  
観察は、各プレートあたり 100 個、各用量あたり 200 個の分裂中期像について行った。染色体異常誘発性の判定は、異常細胞の出現頻度に統計学的に有意な増加と用量依存性が認められた場合、陽性とした。統計処理はカイ二乗検定を用いた。

用量設定根拠：

結果： 結果を表8-2に示した。

検体は、代謝活性化の有無にかかわらず、全ての処理用量で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C およびベンゾピレンでは染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加が認められた。

以上のことより本剤は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

表 8 - 2 非代謝活性化系

薬物	処理時間 (h)	処理濃度 (µg/ml)	観察細胞数	倍数体		異常細胞の出現頻度 (%)								判定		
				(%)	判定	Gap	染色分体型		断片化	その他	合計					
							切断	交換			-Gap	+Gap				
溶媒 対照	6	-	200	1.0	-	0.5	1.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	2.5	2.0	-	
	24	-	200	0.5	-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	1.0	0.5	-	
	48	-	200	0.0	-	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
検体	6	6.25	200	0.0	-	1.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	1.0	-	
		25	200	4.0	-	1.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.0	2.5	1.5	-	
		50	172	0.6	-	1.7	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.3	0.6	-	
		24	3.75 7.5 15 30	200	0.5	-	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	-
	200	0.0		-	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.5	1.0	-		
	200	0.0		-	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	1.5	1.0	-		
	172	0.0		-	1.7	2.3	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	5.2	3.5	-		
	48	3.75	200	0.5	-	0.5	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	1.5	1.0	-	
		7.5	200	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		15	200	0.0	-	0.5	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	1.5	1.0	-	
		30 <sup>a</sup>	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
	陽性 対照	6	0.1	200	0.5	-	5.0	12.5	24.5	3.5	0.5	0.0	0.0	35.0	33.0*	+
		24	0.1	200	0.0	-	5.5	16.0	38.5	3.5	0.5	0.0	0.0	48.5	47.0*	+
48		0.05	200	1.0	-	2.5	16.0	32.0	8.5	3.5	0.0	0.0	46.5	45.5*	+	

出現頻度の数値は2シャーレ（1シャーレは100細胞）の平均値を示した。

陽性対照：マイトマイシンC

<sup>a</sup>：細胞毒性により分裂細胞像がみられなかった。

\*：カイ二乗検定， $p \leq 0.001$

表8-2 代謝活性化系

薬物	処理時間 (h)	処理濃度 (μg/ml)	観察細胞数	倍数体		異常細胞の出現頻度 (%)									
				(%)	判定	Gap	染色分体型		染色体型		断片化	その他	合計		判定
							切断	交換	切断	交換			-Gap	+Gap	
溶媒対照	6	-	200	0.0	-	1.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.5	1.0	-
検体	6	25	200	0.5	-	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-
		50	200	0.5	-	0.0	0.0	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	2.0	-
		100	200	0.0	-	1.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	1.0	-
		200 <sup>a</sup>	200	0.0	-	0.0	0.0	1.0	0.0	0.5	0.0	0.0	1.5	1.5	-
陽性対照	6	40	200	0.5	-	9.0	13.5	41.0	0.0	0.5	0.5	0.0	51.5	48.5*	+

出現頻度の数値は2シャーレ (1シャーレは100細胞) の平均値を示した。

陽性対照：ベンゾピレン

<sup>a</sup>：検体の析出が認められた。

\*：カイ二乗検定,  $p \leq 0.001$

8. 3 マウスを用いた小核試験

(資料8-3)

試験機関：  
 [GLP 対応]  
 報告書作成年：2003年

検体純度：

試験動物： ICR系SPF雄マウス(Crj:CD-1), 投与時7週齢, 体重28.1~35.1g, 1群5匹

試験方法： 検体を0.5%CMC-Na水溶液に懸濁し, 500, 1000および2000mg/kgの用量で, 強制的に経口投与(24時間間隔で2回)した。陰性対照群には0.5%CMC-Na水溶液を同様に投与した。陽性対照群にはマイトマイシンCを10mg/kgの用量で単回強制経口投与した。最終投与後24時間に動物を屠殺し, 各動物から大腿骨の骨髓細胞を採取し, スライドガラス上に5分間固定後, 3%ギムザ液で染色して骨髓標本を作製した。各標本について, 2000個の多染性赤血球に対する小核を持つ多染性赤血球の出現頻度を調べた。また, 骨髓毒性を調べるために1000個の赤血球を観察し, 全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。小核を有する多染性赤血球の出現頻度の有意性の判定は, Kastenbaum-Bowmanの数表およびカイ二乗検定(陽性対照群), 多染性赤血球の割合は, Wilcoxonの順位和検定により行った。

用量設定根拠：

結果： 骨髓標本の観察結果を表8-3に示した。  
 いずれの投与量においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。  
 一方, 陽性対照として用いたマイトマイシンCでは, 小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

表8-3 小核試験-観察結果

採取時間(時間)	薬物	投与量(mg/kg/日)	観察動物数	MNPCE/PCE (%) 平均値±標準偏差	PCE/(PCE+NCE) (%) 平均値±標準偏差
24	陰性対照 (0.5%CMC-Na)	0	5	0.06 ± 0.04	50.5 ± 3.9
	検体	500	5	0.10 ± 0.12	56.5 ± 4.0
		1000	5	0.12 ± 0.08	58.3 ± 8.0
		2000	5	0.11 ± 0.05	54.2 ± 3.9
	陽性対照 (マイトマイシンC)	10	5	4.29 ± 2.95*	52.1 ± 7.6

MNPCE: 小核を有する多染性赤血球, PCE: 多染性赤血球, NCE: 正染性赤血球

\*: Kastenbaum-Brownの数表およびカイ二乗検定, p ≤ 0.001

以上の結果より, 本試験条件下において, 本剤は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず, 小核の誘発性は陰性と判断される。

## 9. 生体の機能に及ぼす影響

### 9. 一般薬理試験

(資料9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003年

検体の純度：

#### 1) 中枢神経系に対する作用

雄ラットの一般症状

供試動物： Wistar Hannover系 SPF 雄ラット (Br1Han:WIST@Jcl (GALAS)), 投与時7週齢,  
体重156.8~170.6 g, 1群6匹

方法： 検体を0, 2000 mg/kgの用量で0.4%Tween 80・5%アラビアゴム溶液に懸濁させて、経口投与し、Irwinの方法に従って一般症状および行動を観察した。観察は、投与前、投与後0.5, 1, 3, 6および24時間に行った。

結果： 検体投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

#### 2) 呼吸、循環器系に対する作用

イヌの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物： 純系雄ビーグル犬, 投与時14ヶ月齢, 1群4匹

方法： 検体を0, 2000 mg/kgの用量でゼラチンカプセルを用いて無麻酔動物に経口投与し、投与前、投与後0.5, 1, 3, 6および24時間に呼吸数、血圧、心拍数および心電図をテレメトリー法により測定した。

結果： 検体投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

以上の結果より、本剤は一般症状および行動、ならびに中枢神経系および呼吸・循環器系に影響を及ぼさないと考えられた。本剤の散布作業あるいは誤って摂取された場合に急性中毒が多発する可能性は大きくないことが示唆された。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括

試験項目	動物種	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 一般状態 (Irwin 法)	ラット	経口 (5%アラビアゴム・ 0.4% Tween 80)	0, 2000	雄: 6	2000	>2000	検体投与の 影響なし
呼吸・循環器系 に及ぼす影響	イヌ (無麻酔)	経口 (ゼラチンカプセル)	0, 2000	雄: 4	2000	>2000	検体投与の 影響なし

10. その他

10.1 雌ラットを用いた2週間反復経口投与毒性試験および2週間回復試験 (資料10-1)

試験機関:

報告書作成年: 2005年

検体の純度:

試験動物: Fischer系SPFラット (F344/DuCrj), 1群雌各6匹, 開始時5週齢,  
投与開始時体重: 65.2~76.3 g

試験期間: 投与期間 (2002年1月22日~2002年2月5日)  
休薬期間 (2002年2月6日~2002年2月20日)

投与方法: 検体を少量の基本飼料中にて予備混合して, 0および10000 ppmの濃度で飼料に混入し,  
2週間にわたって随時摂食させた (主群)。また, 回復群では検体混入飼料を2週間  
摂食させた後, 2週間の休薬期間を設定した。検体を混入した飼料は1週間に1回調  
製した。

試験項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間および回復期間を通して死亡はみられなかった。また, 一般症状の異常も認  
められなかった。

体重変化; 投与開始から毎日および剖検前に全ての生存動物の体重を測定した。

投与開始から回復期間終了時までの体重変化を図10-1-1に示した。

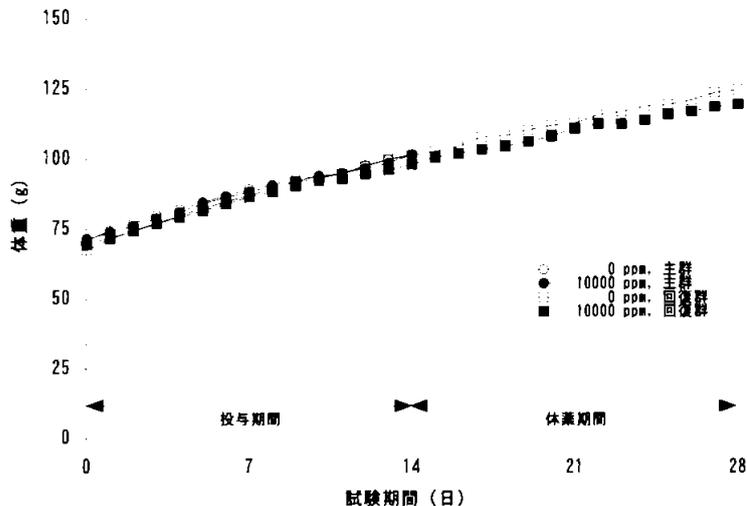


図10-1-1 体重推移

投与期間および回復期間を通して体重に統計学的有意な変化は認められなかった。

摂餌量；ケージ毎に摂餌量を毎日測定し、摂餌効率も算出した。

投与期間および回復期間を通して体重に統計学的有意な変化は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を表10-1-1に示した。

表10-1-1 平均検体摂取量

群	主群	回復群
投与量 (ppm)	10000	10000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	1070.6	1079.5

血液生化学的検査；投与期間終了後および回復期間終了後に、全動物（一夜絶食）を対象として、エーテル麻酔した後、後大静脈からヘパリン処理して採取した血液を血漿に分離した後、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ、グルコース、総ビリルビン、尿素窒素、トリグリセリド、総コレステロール、クレアチニン、尿酸、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン、カルシウム

主群および回復群のいずれにおいても対照群と比べ統計学的有意な変化は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了後および回復期間終了後の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表10-1-2に示した。

表10-1-2 臓器重量

群		主群		回復群	
投与量 (ppm)		0	10000	0	10000
屠殺時体重 (g)		92.9±5.0	91.3±2.3 (98)	114.4±4.3	109.2±4.1 (95)
肝臓	重量 (g)	2.990±0.159	3.507±0.192 ↑ (117)	3.365±0.115	3.307±0.133 (98)
	対体重比	3.220±0.096	3.840±0.126 ↑ (119)	2.941±0.040	3.029±0.023 ↑ (103)
腎臓	重量 (g)	0.878±0.058	0.910±0.041 (104)	0.943±0.038	0.942±0.046 (100)
	対体重比	0.945±0.026	0.997±0.035 ↑ (106)	0.824±0.019	0.863±0.027 ↑ (105)
副腎	重量 (g)	0.033±0.004	0.072±0.023 ↑ (218)	0.041±0.003	0.047±0.002 ↑ (115)
	対体重比	0.035±0.004	0.079±0.026 ↑ (226)	0.036±0.002	0.043±0.002 ↑ (119)
卵巣	重量 (g)	0.043±0.007	0.056±0.015 (130)	0.049±0.004	0.051±0.007 (104)
	対体重比	0.046±0.007	0.061±0.017 (133)	0.043±0.003	0.046±0.005 (107)

Studentのt-検定, ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↓:  $p \leq 0.01$

表中の数値は平均±標準偏差を, 括弧内の数値は対照群に対する変動率 (%) を示した。

主群では, 肝臓および副腎の重量ならびに対体重比, 腎臓の対体重比に対照群と比較し統計学的有意な増加が認められた。また, 統計学的有意な差は認められないものの卵巣の重量および対体重比の増加傾向が認められた。

回復期間終了後では, 肝臓および腎臓の対体重比, 副腎の重量および対体重比に統計学的有意な増加が認められた。

回復期間終了後の胸腺重量に統計学的有意な減少が認められたが, 対体重比に有意な変動が認められないことから偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査; 投与期間終了後および休薬期間終了後の全生存動物について剖検を行った。

所見のみられた項目を表10-1-3に示した。

表10-1-3 肉眼的病理検査

群		主群		回復群	
投与量 (ppm)		0	10000	0	10000
臓器	所見/検査動物数	6	6	6	6
副腎	肥大	0	6	0	0

主群の10000 ppm群において, 6例中全例に副腎の肥大がみられた。回復群では, 全ての動物において異常所見はみられなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した全動物を対象として、以下の臓器・組織について病理組織標本を作製し、検鏡した。

肝臓、腎臓、副腎、卵巣

所見のみられた項目を表10-1-4に示した。

表10-1-4 病理組織学的検査

群		主群									
投与量 (ppm)		0					10000				
臓器	所見/強度	-	+	++	+++	合計	-	+	++	+++	合計
肝臓	び慢性肝細胞肥大	6	0	0	0	6	0	6	0	0	6
副腎	び慢性皮質細胞空胞化	6	0	0	0	6	0	0	6	0	6
卵巣	間質細胞空胞化	6	0	0	0	6	0	4	2	0	6
	黄体細胞空胞化	6	0	0	0	6	0	4	0	0	4 <sup>a)</sup>

群		回復群									
投与量 (ppm)		0					10000				
臓器	所見/強度	-	+	++	+++	合計	-	+	++	+++	合計
肝臓	び慢性肝細胞肥大	6	0	0	0	6	6	0	0	0	6
副腎	び慢性皮質細胞空胞化	6	0	0	0	6	6	0	0	0	6
卵巣	間質細胞空胞化	6	0	0	0	6	6	0	0	0	6
	黄体細胞空胞化	6	0	0	0	6	6	0	0	0	6

<sup>a)</sup> 2例の動物の卵巣病理組織標本に黄体はみられなかった。

主群では、10000 ppm群において肝臓の軽度のび慢性肝細胞肥大、副腎の中等度のび慢性皮質細胞空胞化、および卵巣の軽度から中等度の間質細胞空胞化ならびに黄体細胞空胞化が全例にみられた。

回復群では、著変は認められなかった。

以上のことから、本剤の毒性影響は可逆的なものであり、回復可能な変化であると考えられる。

10. 2 ラットにおける毒性発現機序に関する研究

(資料10-2)

試験機関：

報告書作成年：2006年

検体の純度：

試験動物： Fischer系SPFラット (F344/DuCrj)，1群雌雄各8匹ないし10匹，  
投与開始は雄が6週齢，雌は8週齢 (雄28匹，雌28匹)

投与期間： 投与期間28日以上  
(雄：2006年3月24日～2006年4月21日，雌：2006年3月24日～4月21-25日)  
雌に関しては，発情間期を示す動物を選別し，計画殺に供した。

投与方法： 検体を0，100および5000 ppmの濃度で均一に配合した粉末飼料を上記期間中ラットに  
摂食させて，以下の項目について観察または検査を行った。

投与量設定根拠：

試験項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

全ての投与群において，投与期間中，死亡動物はなかった。また，検体投与に起因する一般状態の異常は認められなかった。

体重変化；投与開始時，投与期間中は週1回，さらに剖検前に全ての動物の体重を測定した。

体重には雌雄とも検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量および食餌効率；ケージ毎に摂餌量を投与期間中は週1回測定した。

雌雄の摂餌量および食餌効率には，検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を表10-2-1に示した。

表10-2-1 平均検体摂取量

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	100	5000	100	5000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	7.44	378	7.59	347

血清中のホルモン量；4週間投与終了後に全動物について、血清中の副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）およびコルチコステロンを測定した。

血清中の ACTH およびコルチコステロン量において、検体投与の影響は認められなかった。

臓器重量；4週間投与終了後の全生存動物について、雄は副腎、雌は副腎と卵巣の重量を測定し、対体重比も算出した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表10-2-2に示した。

表10-2-2 臓器重量

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		100	5000	100	5000
副腎	絶対重量	103	↑126	97	↑165
	相対重比	100	↑120	96	↑164
卵巣	絶対重量			99	111
	相対重量			98	↑110

Dunnett の多重比較法，↑↓： $p \leq 0.05$ ，↑↓： $p \leq 0.01$   
表中の数値は対照群に対する変動率（%）を示した。

5000 ppm 投与群の雌雄において、副腎の絶対重量および相対重量（比体重値）がともに対照群に比べ統計学的有意に増加した。雌では卵巣の相対重量が有意に増加した。

100 ppm 投与群では、雌雄とも有意な変化は認められなかった。

なお、卵巣の相対重量で有意差が認められたが、100 および 5000 ppm 投与群で各1例の雌ラット（動物番号 913 および 921）に卵巣のう胞（自然発生性）が確認されたことから、この2例の卵巣重量を除外して評価した結果、表10-2-3に示すように対照群との間に有意差は認められなかった。従って、5000 ppm 投与群の卵巣重量への検体投与の影響は認められなかったと考えられた。

表10-2-3 卵巣重量の比較

投与量 (ppm)		0	100	5000
除外前の値	絶対重量 (mg)	62.0 ± 4.3	61.5 ± 5.4	68.9 ± 9.6
	相対重量 (%)	0.040 ± 0.003	0.039 ± 0.003	↑0.044 ± 0.005
除外後の値	絶対重量 (mg)	62.0 ± 4.3	60.3 ± 4.5	66.3 ± 5.0
	相対重量 (%)	0.040 ± 0.003	0.039 ± 0.002	0.042 ± 0.002

Dunnett の多重比較法，↑↓： $p \leq 0.05$ ，↑↓： $p \leq 0.01$

肉眼的病理検査；4週間投与終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表10-2-4に示した。

表10-2-4 肉眼的病理検査所見

臓器	性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	0	100	5000	0	100	5000
副腎	所見\検査動物数	10	8	10	10	8	10
	腫大	0	0	10**	0	0	10**
	白色化	0	0	10**	0	0	10**

Fisherの直接確率計算法, \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$

5000 ppm 投与群では、雌雄の全例に副腎の腫大および白色化が観察された。

100 ppm 投与群には、雌雄とも有意な肉眼的変化は認められなかった。

病理組織学的検査；4週間投与終了後の各群各性8匹（電顕検索動物を除く）を対象に以下の臓器について病理組織標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、鏡検した。

雄：副腎

雌：副腎，卵巣

副腎および卵巣にみられた所見を表10-2-5に示した。

表10-2-5 病理組織学的検査所見

臓器	性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	0	100	5000	0	100	5000
副腎	所見\検査動物数	8	8	8	8	8	8
	び慢性皮質細胞空胞化	0	0	8**	0	0	8**
卵巣	所見\検査動物数				8	8	8
	間質細胞空胞化				0	0	8**

Fisherの直接確率計算法, \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$

5000 ppm 投与群の雌雄全例に副腎のび慢性皮質細胞空胞化，および雌全例に卵巣の間質細胞空胞化

100 ppm 投与群には、著変は認められなかった。

電子顕微鏡検査；4週間投与終了後に、対照群および5000 ppm 投与群の雌雄各2例から、副腎あるいは卵巣を採取し、グルタルアルデヒド・オスミウム酸固定後、超薄切片を作製し、酢酸ウラニール・鉛二重染色を施し、透過型電子顕微鏡で観察した。

5000 ppm 投与群では、雌雄とも副腎皮質細胞質内に脂肪滴の増加がみられ、脂肪滴のサイズは雌と比べ雄の方が大きい傾向にあった。雌では卵巣の間質細胞の細胞質内に脂肪滴の増加がみられた。

発現遺伝子量；4週間投与終了後の各群各性8匹について、副腎からRNAを抽出し、glyceraldehyde-3-phosphatase dehydrogenase (GAPDH), CYP11A1, CYP11B1, Neutral cholesteryl ester hydrolase (NCEH) および Hormone-sensitive lipase (HSL) の発現量を測定した。その結果を表10-2-6および10-2-7に示した。

表 10-2-6 副腎における各遺伝子発現の GAPDH の発現に対する比率

性別	雄			雌		
	0	100	5000	0	100	5000
投与量 (ppm)						
CYP11A1	8.54 (100)	8.36 (98)	↑10.71 (125)	15.25 (100)	16.97 (111)	↑20.69 (136)
CYP11B1	8.20 (100)	7.38 (90)	9.26 (113)	24.94 (100)	25.28 (101)	↓17.35 (70)
NCEH (×1/100)	1.36 (100)	2.30 (169)	1.67 (123)	0.50 (100)	0.36 (72)	0.49 (98)
HSL (×1/10)	1.95 (100)	1.68 (86)	↓1.53 (78)	1.89 (100)	1.55 (82)	↓1.31 (69)

Dunnett の多重比較法, ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑:  $p \leq 0.01$   
 ()内の数値は対照群に対する変動率 (%) を示した。

表 10-2-7 副腎における各遺伝子発現量 (f mol / mg RNA)

性別	雄			雌		
	0	100	5000	0	100	5000
投与量 (ppm)						
GAPDH	11.79 (100)	11.89 (101)	11.86 (101)	14.92 (100)	14.82 (99)	14.79 (99)
CYP11A1	102.59 (100)	100.65 (98)	127.04 (124)	227.32 (100)	249.54 (110)	↑301.52 (133)
CYP11B1	95.69 (100)	86.58 (90)	108.79 (114)	369.13 (100)	363.81 (99)	↓256.89 (70)
NCEH (×1/100)	0.159 (100)	0.287 (181)	0.198 (125)	0.0746 (100)	0.0526 (71)	0.0747 (100)
HSL (×1/10)	2.28 (100)	1.98 (87)	1.80 (79)	2.81 (100)	2.28 (81)	↓1.94 (69)

Dunnett の多重比較法, ↑↓:  $p \leq 0.05$ , ↑↑:  $p \leq 0.01$   
 ()内の数値は対照群に対する変動率 (%) を示した。

各遺伝子発現の GAPDH の発現に対する比率では、5000ppm 投与群では雌雄の CYP11A1 が有意に増加し、HSL が有意に減少した。雌では CYP11B1 が有意に減少した。

100 ppm 投与群には、著変は認められなかった。

各遺伝子の発現量において、5000 ppm 投与群において雌の CYP11A1 が有意に増加し、CYP11B1 ならびに HSL が有意に減少した。同群の雄では統計学的有意差はなかったが、雌と同様に CYP11A1 の増加あるいは HSL の減少傾向がみられた。

100 ppm 投与群では、著変は認められなかった。

各遺伝子の発現量と GAPDH に対する比率を比較した場合、各項目の変動は同様であった。このことから、雌雄の 5000 ppm 投与群における HSL の減少および CYP11A1 の増加ならびに雌の CYP11B1 の減少は検体投与の影響である可能性が示唆された。

コレステロール量；4週間投与終了後の各群各性8匹について、副腎のコレステロール量（総コレステロール、遊離コレステロール、コレステロールエステル）を測定した。その結果を表 10-2-8 に示した。

表 10-2-8 副腎における各コレステロール量 (µg / mg tissue)

性別	雄			雌		
	0	100	5000	0	100	5000
投与量 (ppm)						
総コレステロール	3.45 (100)	2.91 (84)	↑4.27 (124)	4.02 (100)	3.94 (98)	↑6.18 (154)
遊離コレステロール	2.96 (100)	2.54 (86)	3.56 (120)	3.34 (100)	3.41 (102)	↑4.64 (139)
コレステロールエステル	0.49 (100)	0.37 (76)	0.71 (145)	0.68 (100)	0.53 (78)	1.54 (226)

Dunnett の多重比較法, ↑↓ :  $p \leq 0.05$ , ↑▽ :  $p \leq 0.01$

5000 ppm 投与群では、雌雄とも総コレステロールおよび遊離コレステロールが有意に増加あるいは増加傾向を示した。コレステロールエステルに関しては、統計学的有意差はみられなかったが、雌雄とも対照群に比べ明らかに高値を示した。

100 ppm 投与群では、雌雄とも有意な変化は認められなかった。

本剤を 0, 100 および 5000 ppm の用量でラットに 4 週間にわたり混餌投与した結果、5000 ppm 投与群において副腎および卵巣の重量が増加し、病理組織学的に副腎皮質細胞および卵巣間質細胞の空胞化がみられた。同変化は、電子顕微鏡検索により細胞質内の脂肪滴の沈着増加に起因する変化であることが判明した。これを裏付ける変化として、副腎のコレステロール含量の増加が雌雄にみられ病理形態像と一致した。副腎の遺伝子解析では、雌雄とも HSL の発現量が有意に減少した。HSL は脂質代謝に関与する重要な酵素で、副腎のコレステロールエステルの加水分解にも影響を及ぼすことから、同酵素の減少は加水分解の抑制に繋がり、標的組織に脂質が蓄積することが予想される。一方、雌雄でみられた CYP11A1 の増加に関しては、同酵素が副腎におけるコレステロール代謝に関与することから、蓄積したコレステロールを処理するための二次的反応と考えられた。雌の CYP11B1 の減少については、血清中 ACTH に有意な変化がなかったことおよび雄では異常がなかったことから、毒性学的にあまり意味のない変化と考えられた。なお、本試験では NCEH 遺伝子発現への影響は特に認められなかったが、正常動物でも副腎の NCEH 活性は雄に比べ雌では顕著に低いことから、雌は本剤投与の影響を受けやすいものと推察された。

上記の結果から、本剤は HSL に直接的に影響を及ぼし、副腎皮質細胞および卵巣間質細胞の肥大・空胞化（脂質沈着）を誘発するものと推察された。一方、ホルモン等への影響を介しての二次的変化の可能性については、血清 ACTH およびコルチコステロンに異常はなく、副腎の CYP11B1 の上昇がみられなかったことから、その可能性は低いものと考えられた。

1 1. 原体混在物および代謝物の急性経口毒性

1 1. 1 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験（毒性等級法） （資料 1 1－1）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

検体の純度：

試験動物： Wistar 系 SPF ラット (CrI: [WI] BR), 1 群雌 3 匹, 投与時約 8 週齢, 体重：165～185 g

試験期間： 14 日間観察

投与方法： 検体をプロピレングリコールに懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。投与前, 投与後 7 および 14 日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
L D <sub>50</sub> (mg/kg)	雌 > 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	投与直後 投与後 3 日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては、嗜眠、円背位、非協調性行動および立毛がみられた。

肉眼的病理検査では、異常は認められなかった。

OECD Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances (OECD, 1998) および EC criteria for classification and labeling requirements for dangerous substance and preparations (Council Directive 67/548/EEC) によって、経口毒性に関してラベル表示の必要はない。

1 1. 2 混在物 のラットにおける急性経口毒性試験（毒性等級法） （資料1 1－2）

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

検体の純度：

試験動物： Wistar系 SPF ラット (CrI: [WI] BR), 1群雌3匹, 投与時約10週齢, 体重: 205~260 g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 検体をポリピレングリコールに懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与前, 投与後7および14日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	投与直後 投与後1日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては、円背位、非協調性行動および浅速呼吸がみられた。

肉眼的病理検査では、異常は認められなかった。

OECD Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances (OECD, 1998) および EC criteria for classification and labeling of dangerous substance and preparations (Council Directive 67/548/EEC) によって、経口毒性に関して、分類とラベル表示の必要はない。

11.3 代謝物 のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料11-3)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体の純度：

試験動物： ICR系マウス，1群雌3匹，開始時6週齢，体重：22.5～24.8g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 検体をポリエチレングリコールに混和して経口投与した。投与前に一晚絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与前，投与後1，7，10および14日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状は試験期間を通してみられなかった。

肉眼的病理検査では，異常は認められなかった。

11. 4 代謝物 のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料11-4)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体の純度：

試験動物： ICR系マウス，1群雌3匹，開始時6週齢，体重：22.7～24.4g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 検体をコーンオイルに混和して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与前，投与後1，7，10および14日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	投与後5分 投与後1日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状としては，自発運動の低下，不整呼吸および肛門周囲被毛の汚れがみられた。肉眼的病理検査では，異常は認められなかった。

11.5 混在物のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料11-5)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体の純度：

試験動物： ICR系SPFマウス(S1c:ICR)，1群雌3匹，投与時6週齢，体重：23.1～25.0g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 検体をコーンオイルに混和して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与前，投与後1，7，10および14日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状は試験期間を通してみられなかった。

肉眼的病理検査では，異常は認められなかった。

1 1. 6 混在物 のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1 1 - 6)

試験機関：

報告書作成年：2004 年

検体の純度：

試験動物： ICR 系 SPF マウス (Slc:ICR)， 1 群雌 3 匹， 投与時 6 週齢， 体重：22.9～23.8 g

試験期間： 14 日間観察

投与方法： 検体を 0.5% CMC-Na 水溶液に懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。投与前，投与後 1， 7， 10 および 14 日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
L D <sub>50</sub> (mg/kg)	雌 > 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状は試験期間を通してみられなかった。

肉眼的病理検査では，異常は認められなかった。

11.7 混在物 のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料11-7)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体の純度：

試験動物： ICR系SPFマウス(S1c:ICR)，1群雌3匹，投与時6週齢，体重：23.2～24.6g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 検体を0.5%CMC-Na水溶液に懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。投与前，投与後1，7，10および14日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状は試験期間を通してみられなかった。

肉眼的病理検査では，異常は認められなかった。

## 12. 原体混在物および代謝物の変異原性

### 12.1 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料12-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果： 結果を次頁に示した。

2回の試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても、菌株の生育阻害を起こさない最高用量でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた MMS,  $\text{NaN}_3$ , 4-NQO, NF, 9AC, 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと考えられる。

1 回目試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	113	22	6	15	4
検 体	3	-	117	/	7	/	/
	10	-	103		7		
	33	-	107		9		
	100	-	120	17	12	14	6
	333	-	110	16	5	17	3
	1000	-	104	10	7	13	4
	3330	-	67*	10	7	17	3*
	5000	-	80*	8*	5	9*	3*
対照 (DMSO)	0	+	112	13	9	15	5
検 体	3	+	122	/	6	/	/
	10	+	118		11		
	33	+	117		10		
	100	+	115	17	8	16	3
	333	+	114	13	6	14	5
	1000	+	115	14	8	14	5
	3330	+	73*	9	9	17	6
	5000	+	84*	10*	9	10*	4*
陽性対照		-	702a	1271b	501c	1369d	335e
		+	634f	234g	278h	818i	167j

注) a : MMS (650 μg/plate)                                b : NaN<sub>3</sub> (5 μg/plate)  
 c : 4-NQO (0.1 μg/plate)                              d : NF (10 μg/plate)  
 e : 9AC (60 μg/plate)                                 f : 2AA (1 μg/plate)  
 g : 2AA (1 μg/plate)                                  h : 2AA (10 μg/plate)  
 i : 2AA (1 μg/plate)                                 j : 2AA (2.5 μg/plate)  
 p : 検体の析出                                        \* : 菌の生育阻害

MMS : メチルメタンスルホネート, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム, NF : 2-ニトロフルオレン,  
 4-NQO : 4-ニトロキノリン N-オキシド, 9AC : 9-アミノアクリジン,  
 2AA : 2-アミノアントラセン



12.2 代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料12-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果：

結果を次頁に示した。

2回の試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても、検体の析出が生じる最高用量 (1000 µg/plate) でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた MMS, NaN<sub>3</sub>, 4-NQO, NF, 9AC, 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと考えられる。

1回目試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 µg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate数					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	0	-	113	22	6	15	4	
検 体	3	-	133	/	11	/	/	
	10	-	109	17	10	13	5	
	33	-	113	15	9	15	4	
	100	-	122	14	9	14	5	
	333	-	121	15	9	13	5	
	1000p	-	126	14	6	16	5	
	3330p	-	127	/	12	/	/	
	5000p	-	105	/	5	/	/	
対照 (DMSO)	0	+	112	13	9	15	5	
検 体	3	+	122	/	10	/	/	
	10	+	115	12	10	16	6	
	33	+	137	13	12	16	3	
	100	+	138	13	10	14	4	
	333	+	128	13	12	18	4	
	1000p	+	120	13	10	15	4	
	3330p	+	115	/	13	/	/	
	5000p	+	114	/	6	/	/	
陽性対照			-	702a	1271b	501c	1369d	335e
			+	634f	234g	278h	818i	167j

注) a: MMS (650 µg/plate)                                      b: NaN<sub>3</sub> (5 µg/plate)  
 c: 4-NQO (0.1 µg/plate)                                    d: NF (10 µg/plate)  
 e: 9AC (60 µg/plate)                                        f: 2AA (1 µg/plate)  
 g: 2AA (1 µg/plate)                                         h: 2AA (10 µg/plate)  
 i: 2AA (1 µg/plate)                                        j: 2AA (2.5 µg/plate)  
 p: 検体の析出

MMS: メチルメタンサルホネート, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,  
 4-NQO: 4-ニトロキノリンN-オキシド, 9AC: 9-アミノアクリジン,  
 2AA: 2-アミノアントラセン



12.3 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料12-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果：

結果を次頁に示した。

2回の試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても、検体の析出が生じる最高用量 (333 µg/plate) でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた MMS, NaN<sub>3</sub>, 4-NQO, NF, 9AC, 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと考えられる。

1回目試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	131	12	6	18	5
検体	3	-	114	16	7	13	8
	10	-	112	18	5	20	7
	33	-	120	13	5	19	7
	100	-	127	12	6	27	5
	333p	-	133	12	6	24	7
	1000p	-	127	/	6	/	/
	3330p	-	117		11		
	5000p	-	124		7		
対照 (DMSO)	0	+	110	11	7	27	5
検体	3	+	122	10	5	25	7
	10	+	126	14	6	25	4
	33	+	123	12	4	22	5
	100	+	144	11	6	24	5
	333p	+	132	12	6	25	6
	1000p	+	127	/	5	/	/
	3330p	+	122		6		
	5000p	+	114		6		
陽性対照		-	677a	877b	385c	804d	223e
		+	677f	199g	288h	429i	178j

注) a : MMS (650 μg/plate)                      b : NaN<sub>3</sub> (5 μg/plate)  
 c : 4-NQO (0.1 μg/plate)                    d : NF (10 μg/plate)  
 e : 9AC (60 μg/plate)                        f : 2AA (1 μg/plate)  
 g : 2AA (1 μg/plate)                         h : 2AA (10 μg/plate)  
 i : 2AA (1 μg/plate)                         j : 2AA (2.5 μg/plate)  
 p : 検体の析出

MMS : メチルメタンサルホネート, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム, NF : 2-ニトロフルオレン,  
 4-NQO : 4-ニトロキノリンN-オキシド, 9AC : 9-アミノアクリジン,  
 2AA : 2-アミノアントラセン

2回目試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	123	11	10	22	4
検体	3	-	124	13	10	21	7
	10	-	133	10	8	20	5
	33	-	127	10	5	20	5
	100	-	131	7	8	18	5
	333p	-	138	10	7	19	4
対照 (DMSO)	0	+	125	9	9	26	4
検体	3	+	117	9	9	25	5
	10	+	97	12	7	21	5
	33	+	127	11	8	22	6
	100	+	118	11	9	22	5
	333p	+	129	12	9	22	4
陽性対照		-	704a	801b	505c	767d	204e
		+	1016f	189g	81h	163i	90j

注) a: MMS (650 μg/plate)      b: NaN<sub>3</sub> (5 μg/plate)  
 c: 4-NQO (0.1 μg/plate)      d: NF (10 μg/plate)  
 e: 9AC (60 μg/plate)      f: 2AA (2.5 μg/plate)  
 g: 2AA (1 μg/plate)      h: 2AA (10 μg/plate)  
 i: 2AA (1 μg/plate)      j: 2AA (5 μg/plate)  
 p: 検体の析出

MMS: メチルメタンサルホネート, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,  
 4-NQO: 4-ニトロキノリンN-オキシド, 9AC: 9-アミノアクリジン,  
 2AA: 2-アミノアントラセン

1 2 . 4 混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料1 2 - 4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果： 結果を次頁に示した

2 回の試験において検体は、S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても、菌株の生育阻害を起こさない最高用量でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた MMS,  $\text{NaN}_3$ , 4-NQO, NF, 9AC, 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと考えられる。

1回目試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (エタノール)	0	-	132	12	10	20	7
検 体	3	-	134	10	11	19	7
	10	-	117	11	6	15	6
	33	-	131	11	8	17	5
	100	-	126	9	9	13	6
	333P	-	131	8	5	16	7
	1000P	-	119	/	9	/	/
	3330P	-	137		9		
	5000P	-	123		8		
対照 (エタノール)	0	+	128		13		
検 体	3	+	132	12	11	24	5
	10	+	123	15	8	21	6
	33	+	130	10	10	22	5
	100	+	135	11	11	23	4
	333P	+	127	11	9	21	4
	1000P	+	117	/	8	/	/
	3330P	+	132		9		
	5000P	+	132		9		
陽性対照		-	994a		851b		
		+	930f	302g	549h	550i	209j

注) a: MMS (650 μg/plate)      b: NaN<sub>3</sub> (5 μg/plate)  
 c: 4-NQO (0.1 μg/plate)      d: NF (10 μg/plate)  
 e: 9AC (60 μg/plate)          f: 2AA (1 μg/plate)  
 g: 2AA (1 μg/plate)          h: 2AA (10 μg/plate)  
 i: 2AA (1 μg/plate)          j: 2AA (2.5 μg/plate)  
 p: 検体の析出                  \*: 菌の生育阻害

MMS: メチルメタンスルホネート, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,  
 4-NQO: 4-ニトロキノリン N-オキシド, 9AC: 9-アミノアクリジン,  
 2AA: 2-アミノアントラセン

2回目試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (エタノール)	0	-	101	13	9	18	4
検 体	3	-	104	11	8	27	7
	10	-	102	7	6	26	4
	33	-	119	9	8	23	8
	100	-	115	10	9	20	5
	333P	-	113	16	8	20	7
対照 (エタノール)	0	+	84	8	8	28	6
検 体	3	+	78	8	6	30	3
	10	+	85	9	6	21	6
	33	+	93	8	6	24	4
	100	+	79	9	9	28	4
	333P	+	87	12	7	33	4
陽性対照		-	927a	1147b	575c	1092d	586e
		+	1004f	211g	95h	334i	398j

注) a: MMS (650 μg/plate)      b: NaN<sub>3</sub> (5 μg/plate)  
 c: 4-NQO (0.1 μg/plate)      d: NF (10 μg/plate)  
 e: 9AC (60 μg/plate)          f: 2AA (2.5 μg/plate)  
 g: 2AA (1 μg/plate)          h: 2AA (10 μg/plate)  
 i: 2AA (1 μg/plate)          j: 2AA (5 μg/plate)  
 p: 検体の析出                  \*: 菌の生育阻害

MMS: メチルメタンスルホネート, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,  
 4-NQO: 4-ニトロキノリンN-オキシド, 9AC: 9-アミノアクリジン,  
 2AA: 2-アミノアントラセン

12.5 混在物の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料12-5)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果：

結果を次頁に示した。

本試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても、最高用量 (5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ ) でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2,  $\text{NaN}_3$ , 9AA および 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと考えられる。

用量設定試験 (表中の数値はプレート2枚の平均値)

薬物	濃度 µg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrVA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	96	10	31	24	6
検 体	0.32	-	86	10	31	30	6
	1.6	-	89	9	36	25	5
	8	-	90	7	37	26	6
	40	-	93	11	43	25	8
	200	-	98	10	41	26	6
	1000	-	87	11	30	26	6
	5000	-	94	7	26	29	5
対照 (DMSO)	0	+	93	9	30	30	10
検 体	0.32	+	94	6	35	24	11
	1.6	+	100	12	35	37	10
	8	+	93	13	32	30	10
	40	+	102	9	31	33	13
	200	+	95	11	31	32	11
	1000	+	91	13	31	29	12
	5000	+	90	14	28	30	9
陽性対照		-	520a	526b	288c	451d	472e
		+	590f	176g	589h	278i	264j

注) a: AF-2 (0.01 µg/plate)  
 c: AF-2 (0.01 µg/plate)  
 e: 9AA (80.0 µg/plate)  
 g: 2AA (2.0 µg/plate)  
 i: 2AA (0.5 µg/plate)

b: NaN<sub>3</sub> (0.5 µg/plate)  
 d: AF-2 (0.1 µg/plate)  
 f: 2AA (1.0 µg/plate)  
 h: 2AA (10 µg/plate)  
 j: 2AA (2.0 µg/plate)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, 2-AA: 2-アミノアントラセン, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

本試験 (表中の数値はプレート3枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	113	13	39	21	9
検 体	78	-	99	11	30	21	11
	156	-	98	13	31	24	9
	313	-	103	16	33	25	10
	625	-	98	16	33	27	9
	1250	-	115	16	35	21	8
	2500	-	94	12	36	24	6
	5000	-	95	8	28	29	8
対照 (DMSO)	0	+	116	16	34	35	14
検 体	78	+	95	14	35	33	13
	156	+	113	15	36	33	15
	313	+	123	13	34	31	15
	625	+	116	17	33	28	13
	1250	+	77	17	33	34	12
	2500	+	114	15	32	33	7
	5000	+	111	11	33	27	14
陽性対照		-	428a	480b	189c	507d	407e
		+	643f	175g	686h	290i	154j

注) a: AF-2 (0.01 μg/plate)                      b: NaN<sub>3</sub> (0.5 μg/plate)  
 c: AF-2 (0.01 μg/plate)                      d: AF-2 (0.1 μg/plate)  
 e: 9AA (80.0 μg/plate)                      f: 2AA (1.0 μg/plate)  
 g: 2AA (2.0 μg/plate)                      h: 2AA (10 μg/plate)  
 i: 2AA (0.5 μg/plate)                      j: 2AA (2.0 μg/plate)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, 2-AA: 2-アミノアントラセン, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

12.6 混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料12-6)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果：

結果を次頁に示した。

本試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても、最高用量 (5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ ) でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2,  $\text{NaN}_3$ , 9AA および 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本剤は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと考えられる。

用量設定試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	98	8	33	23	6
検 体	0.32	-	95	5	30	15	5
	1.6	-	88	7	28	19	3
	8	-	93	3	28	14	7
	40	-	95	5	28	17	5
	200	-	104	8	24	19	7
	1000	-	107	10	22	22	6
	5000	-	83	4	24	19	5
対照 (DMSO)	0	+	95	8	33	19	6
検 体	0.32	+	98	10	31	22	6
	1.6	+	107	8	27	24	7
	8	+	96	6	24	15	7
	40	+	113	7	27	27	8
	200	+	109	6	34	27	9
	1000	+	108	5	33	23	10
	5000	+	90	7	25	24	6
陽性対照		-	487a	412b	186c	520d	696e
		+	620f	157g	476h	475i	246j

注) a: AF-2 (0.01 μg/plate)                      b: NaN<sub>3</sub> (0.5 μg/plate)  
 c: AF-2 (0.01 μg/plate)                      d: AF-2 (0.1 μg/plate)  
 e: 9AA (80.0 μg/plate)                      f: 2AA (1.0 μg/plate)  
 g: 2AA (2.0 μg/plate)                      h: 2AA (10 μg/plate)  
 i: 2AA (0.5 μg/plate)                      j: 2AA (2.0 μg/plate)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, 2-AA: 2-アミノアントラセン, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

本試験 (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	84	10	27	19	5
検 体	78	-	94	15	27	18	4
	156	-	89	10	28	22	5
	313	-	83	12	33	26	4
	625	-	87	10	29	20	7
	1250	-	94	10	33	20	5
	2500	-	92	8	28	19	6
	5000	-	85	8	24	16	5
対照 (DMSO)	0	+	97	10	34	23	6
検 体	78	+	87	15	35	17	7
	156	+	105	15	36	30	10
	313	+	105	14	34	27	7
	625	+	98	11	33	25	5
	1250	+	98	11	33	18	6
	2500	+	101	10	32	20	7
	5000	+	90	7	33	21	5
陽性対照		-	437a	270b	242c	572d	513e
		+	545f	155g	475h	299i	170j

注) a : AF-2 (0.01 μg/plate)                      b : NaN<sub>3</sub> (0.5 μg/plate)  
 c : AF-2 (0.01 μg/plate)                      d : AF-2 (0.1 μg/plate)  
 e : 9AA (80.0 μg/plate)                      f : 2AA (1.0 μg/plate)  
 g : 2AA (2.0 μg/plate)                      h : 2AA (10 μg/plate)  
 i : 2AA (0.5 μg/plate)                      j : 2AA (2.0 μg/plate)

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム, 2-AA : 2-アミノアントラセン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

12.7 混在物の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料12-7)

試験機関：

報告書作成年：2004年

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

用量設定根拠：

結果：

結果を次頁に示した。

本試験において検体は、S-9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても、最高用量 (5000 µg/plate) でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN<sub>3</sub>, 9AA および 2AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

用量設定試験 (表中の数値はプレート2枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	96	9	27	23	8
検 体	0.32	-	104	7	25	23	5
	1.6	-	98	8	28	18	7
	8	-	99	9	38	29	5
	40	-	103	10	27	23	6
	200	-	89	11	31	25	7
	1000	-	109	7	31	31	5
	5000	-	79	10	35	24	7
対照 (DMSO)	0	+	109	12	29	34	9
検 体	0.32	+	113	9	32	28	9
	1.6	+	128	12	36	31	12
	8	+	121	8	36	25	9
	40	+	127	7	32	26	11
	200	+	109	9	35	31	8
	1000	+	127	15	35	28	10
	5000	+	114	11	31	25	9
陽性対照		-	438a	383b	174c	561d	437e
		+	711f	199g	517h	261i	247j

注) a: AF-2 (0.01 μg/plate)  
 c: AF-2 (0.01 μg/plate)  
 e: 9AA (80.0 μg/plate)  
 g: 2AA (2.0 μg/plate)  
 i: 2AA (0.5 μg/plate)

b: NaN<sub>3</sub> (0.5 μg/plate)  
 d: AF-2 (0.1 μg/plate)  
 f: 2AA (1.0 μg/plate)  
 h: 2AA (10 μg/plate)  
 j: 2AA (2.0 μg/plate)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, 2-AA: 2-アミノアントラセン, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

2 回目試験 (表中の数値はプレート 3 枚の平均値)

薬物	濃度 μg/plate	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate 数				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	90	9	28	17	6
検 体	78	-	101	8	30	14	4
	156	-	105	10	33	18	7
	313	-	88	11	32	20	6
	625	-	96	9	30	18	7
	1250	-	95	11	27	18	8
	2500	-	85	8	29	16	5
	5000	-	90	8	31	17	5
対照 (DMSO)	0	+	104	9	35	23	13
検 体	78	+	116	8	30	27	9
	156	+	120	7	33	28	13
	313	+	105	9	26	25	11
	625	+	87	8	28	24	9
	1250	+	110	10	30	24	10
	2500	+	103	8	32	21	7
	5000	+	96	7	33	24	6
陽性対照		-	459a	354b	195c	496d	370e
		+	780f	195g	726h	313i	239j

注) a : AF-2 (0.01 μg/plate)                      b : NaN<sub>3</sub> (0.5 μg/plate)  
 c : AF-2 (0.01 μg/plate)                      d : AF-2 (0.1 μg/plate)  
 e : 9AA (80.0 μg/plate)                      f : 2AA (1.0 μg/plate)  
 g : 2AA (2.0 μg/plate)                      h : 2AA (10 μg/plate)  
 i : 2AA (0.5 μg/plate)                      j : 2AA (2.0 μg/plate)

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム, 2-AA : 2-アミノアントラセン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

### 1 3. 製剤の急性毒性

#### 1 3. 1 ラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

(資料 1 3 - 1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

検体の純度: 20%フロアブル

組成: シフルメトフェン 20%

界面活性剤, 水等 80%

試験動物: Wistar 系 SPF ラット (CrI: [WI] BR), 1 群雌雄各 3 匹, 投与時約 12 週齢  
体重: 雄 375~377 g, 雌 222~259 g,

試験期間: 14 日間観察

投与方法: 検体を希釈せずに経口投与した。投与前に一晚絶食した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。投与前, 投与後 7 および 14 日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも>2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも>2000

雌雄ともに中毒症状はみられなかった。

剖検所見では, 主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から, Council Directive 67/548/EEC に従い, 本剤は経口毒性に関して, 分類とラベル表示の必要はない。

1 3 . 2 ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1 3 - 2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体の純度：20%フロアブル

組成：シフルメトフェン 20%  
界面活性剤, 水等 80%

試験動物：Wistar系 SPF ラット (CrI: [WI] BR), 1群雌雄各5匹, 投与時約10週齢  
体重：雄 285~345 g, 雌：219~238 g,

試験期間：14日間観察

方 法：検体を希釈せずに剃毛した背部に24時間閉塞貼付した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。投与前, 投与後7および14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄とも2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	投与後2時間から発現 投与後4日までに終了
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも>2000

一般状態の異常として、雄では嗜眠、鼻周囲の赤色物および眼瞼下垂、雌では嗜眠、円背位、口もしくは鼻周囲の赤色物、眼瞼下垂、立毛（頭部）、扁平姿勢および横臥がみられた。剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、Council Directive 67/548/EEC に従い、本剤は、経皮毒性に関して分類とラベル表示は不要である。

13.3 ラットを用いた急性吸入毒性試験

(資料13-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

検体の純度：20%フロアブル

組成：シフルメトフェン 20%  
界面活性剤, 水等 80%

試験動物：Wistar系 SPF ラット (CrI: [WI] BR), 1群雌雄各5匹, 投与時約7~8週齢  
体重：雄 204~220 g, 雌 159~167 g,

試験期間：14日間観察

方法：未調製の検体を圧縮空気式ネブライザーによりミストを発生させ, 4時間鼻部暴露した。

設定濃度； 27.71 g/m<sup>3</sup>

実測濃度； 5.01 g/m<sup>3</sup>

暴露空気をグラスファイバーフィルターにより捕集し, 秤量法により実測濃度を求めた。

暴露条件：

設定濃度 (g/m <sup>3</sup> )		27.71
実測濃度 (g/m <sup>3</sup> )		5.01
粒子径分布 (%) <sup>*</sup>	≤30.2	100.0
	≤19.4	97.1
	≤7.7	84.2
	≤4.7	51.7
	≤2.9	28.2
	≤1.7	9.1
	≤1.0	5.7
	≤0.6	2.4
空気力学的質量中位径 (μm)		4.6
チャンパー内容積 (ℓ)		50
チャンパー内通気量 (ℓ/分)		20.7
暴露条件	ミスト	4時間 鼻部暴露

\*カスケードインパクターによる2回測定の平均値

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。暴露前, 暴露後7および14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	吸入
暴露濃度 (g/m <sup>3</sup> )	5.01
L C <sub>50</sub> (g/m <sup>3</sup> )	雌雄とも>5.01
死亡開始時間および終了時間	死亡なし
症状発現時間および消失時間	暴露開始後約1時間から開始 暴露終了後1時間に消失
死亡例の認められなかった最高暴露濃度 (g/m <sup>3</sup> )	雌雄とも5.01

一般状態の異常として、雌雄に関係なく、過大呼吸がみられた。

剖検では、主要な組織臓器に特記すべき変化は認められなかった。

1 3 . 4 ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 1 3 - 4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体の純度： 20%フロアブル  
組成：シフルメトフェン 20%  
界面活性剤，水等 80%

試験動物： ニュージーランドホワイト種 SPF 雄ウサギ，投与時 6 週齢以上，体重：1681~1693 g  
非洗眼群：3 匹

試験期間： 72 時間観察

方 法： 0.1 ml の検体原液を片側の眼に適用した。

試験項目： 適用後 1，24，48，および 72 時間に角膜，虹彩および結膜の刺激性変化を観察し，Draize 法に従って採点した。

結 果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項 目			最高 評点	適 用 後 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 <sup>a</sup> (3 匹平均)	角膜 混濁	程 度	80	0.0	0.0	0.0	0.0
		面 積		0.0	0.0	0.0	0.0
	虹 彩		10	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発 赤	6	2.7	0.0	0.0	0.0
		浮 腫	8	2.0	0.0	0.0	0.0
		分泌物	6	2.0	0.0	0.0	0.0
	合 計 <sup>*</sup>			110	6.7	0.0	0.0

a：各採点の平均値は，原報に基づき申請者が算出した。

\*：Draize 法による評価点（最高 110 点）

角膜および虹彩の刺激性変化は認められなかった。結膜の刺激性変化は，適用後 1 時間に極軽度から軽度の発赤，浮腫および分泌物がみられたが，これらの変化は適用後 24 時間には消失した。

以上の結果から，本剤は Council Directive 67/548/EEC に従い，眼刺激性に関して分類とラベル表示は不要である。

13.5 ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料13-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003年

検体の純度： 20%フロアブル

組成：シフルメトフェン 20%

界面活性剤，水等 80%

試験動物： ニュージーランドホワイト種 SPF ウサギ，投与時6週齢以上，体重：約1.8~2.1 kg  
1群3匹（雄2匹，雌1匹）

試験期間： 72時間観察

方法： 0.5 mlの検体原液を刈毛した動物の脇腹皮膚（2x3 cm）に適用し，半閉塞貼付した。  
暴露時間は4時間とし，皮膚に残った検体は水を用いて拭き取った。

試験項目： 暴露終了後1，24，48 および72時間に適用部分の刺激性変化（紅斑，痂皮，浮腫）の有無等を観察し，Draize 法に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高評点*	暴露後時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	0.3	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.3	0.0	0.0	0.0

注) 表の点数は3匹の平均値である。

\*: 判定基準の最高評点

暴露終了後1時間に軽微な紅斑が3例中1例にみられたが，この変化は暴露終了後24時間には消失した。

以上の結果から，本剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと思われる。Council Directive 67/548/EEC に従い，皮膚刺激性に関して分類とラベル表示は不要である。

1 3. 6 モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料1 3 - 6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003年

検体の純度：20%フロアブル

組成：シフルメトフェン 20%

界面活性剤, 水等 80%

試験動物：Hartley系SPF雌モルモット, 投与時約4週齢, 体重:285~363g

群構成：検体感作群：20匹, 検体非感作群：10匹

試験動物種の感受性は, 試験施設で約6ヶ月に1度実施している中等度の感作性物質による信頼性試験により確かめられている(2002年11月から12月にかけて実施)。

観察期間：48時間観察

試験操作：Buehler法

投与量設定根拠：100% (無希釈)あるいは50, 20および10%に水で希釈した検体調製液で刺激性反応は認められなかった。従って100%を感作および惹起濃度とした。

感作：左側肩甲部を刈毛し, 検体感作群は, 0.5 mlの100%検体を6時間閉塞貼付した。

さらに, 1および2週間後に同様な感作処置を実施した。検体非感作群については, 水のみを検体感作群と同様に処置した。

惹起：最終感作の2週間後に刈毛した左腹側部に0.1 mlの100%検体を6時間閉塞貼付した。

試験項目：惹起後24および48時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応の判定基準を以下に示した。

評点	反応の程度
0	肉眼的変化なし
1	散在性または斑状の紅斑
2	中等度び慢性紅斑
3	中等度紅斑および浮腫
4	強い紅斑と浮腫

結 果 : 各観察時間における皮膚反応が認められた動物数を下表に示した。

試験群	使用動物数	条件		観察時間	感作反応動物数					感作陽性率 (%) *	
		感作	惹起		皮膚反応評点						
					0	1	2	3	4		
検体感作群	20	100%検体	100%検体	24	20	0	0	0	0	0	0
				48	20	0	0	0	0	0	0
			溶媒	24	20	0	0	0	0	0	0
				48	20	0	0	0	0	0	0
検体非感作群	10	溶媒	100%検体	24	10	0	0	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0	0	0
			溶媒	24	10	0	0	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0	0	0

\* 感作性陽性率 (%) = (感作陽性動物数 / 使用動物数) × 100

検体感作群および検体非感作群の全動物において皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると思われる。Council Directive 67/548/EEC に従い、皮膚接触による感作性に関して分類とラベル表示は不要である。

試験動物種の感受性を確認する信頼性試験の結果を下表に示した。

検体名: α-ヘキシルシンナムアルデヒド

試験群	使用動物数	条件		観察時間	感作反応動物数					感作陽性率 (%) *
		感作	惹起		皮膚反応評点					
					0	1	2	3	4	
検体感作群	10	100%検体	50%検体	24	6	3	1	0	0	40
				48	6	4	0	0	0	40
			溶媒	24	10	0	0	0	0	0
				48	10	0	0	0	0	0
検体非感作群	5	溶媒	50%検体	24	5	0	0	0	0	0
				48	5	0	0	0	0	0
			溶媒	24	5	0	0	0	0	0
				48	5	0	0	0	0	0

\* 感作性陽性率 (%) = (感作陽性動物数 / 使用動物数) × 100

## IX. 動植物および土壌等における代謝分解

〈代謝分解試験一覧表 3の1〉

資料 No.	試験の種類	供試 動植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
14-1~4 (GLP)	動物体内における代謝試験 (単回投与)  ①血中キネティクス ②排泄バランス ③胆汁排泄 ④体内分布	ラット	A および B 標識体 経口:3 mg/kg および 250 mg/kg	[ <sup>14</sup> C] シフルメトフェン投与後の血中の [ <sup>14</sup> C] 濃度は低用量で 1 時間後、高用量で 2~4 時間後に最大に達した。最終消失相の半減期は 12~22 時間となり速やかに減衰した。 排泄された放射能は雌雄、投与量に関係なくほぼ定量的に回収され、低用量群は主に尿 (58~67%) に、高用量群では主に糞 (68~80%) に排泄された。 肝臓、腎臓に放射能の分布が認められるが、体内の放射能は 9~30 時間で半減期に達した。	(2004 年)	277
14-5~6 (GLP)	動物体内における代謝試験 (代謝物の定量および同定)  ①尿および糞 ②胆汁	ラット	A および B 標識体 経口:3 mg/kg および 250 mg/kg	投与量の 5% を超える主要な代謝物として、尿・糞中からは  が、胆汁からは  が検出された。主代謝経路は  が認められた。	(2004 年)	291
15-1 (GLP)	みかんにおける代謝試験	温州みかん	A および B 標識体をそれぞれ植物体に散布し、温室内で生育。 (0.6 kg/ha 換算)	茎葉散布されたシフルメトフェンは果実と葉表面上において徐々に代謝分解されるが、分解速度は遅く、全分析時点において最も主要な成分として 44~90%TRR の親化合物が検出された。植物体内への放射能の移行はわずかで、植物体表面に 87~97%TRR の放射性成分が残存した。TRR の 10% を越える主要な代謝物は  が検出された。その他、微量代謝物として  が検出された。	(2004 年)	298

## (代謝分解試験一覧表 3の2)

資料 No.	試験の種類	供試 動植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
15-2 (GLP)	なすにおける 代謝試験	日本種 (品種 : Japanese Long Purple)	A および B 標 識体をそれぞ れ植物体に散 布し、屋外で 生育。 (0.6 kg/ha 換算)	茎葉散布後のシフルメトフェンの 代謝速度は遅く、全分析時点にお いて最も主要な成分として 42~ 95% TRR の親化合物が検出され た。植物体内への放射能の移行は わずかで、植物体表面に 56~92% TRR の放射性成分が残存した。TRR の 10% を越える主要な代謝物は  が検出された。微量代謝物とし て、  検出された。	2004 年)	304
15-3 (GLP)	りんごにおけ る代謝試験	欧米種 (品種 : Pink Lady)	A および B 標 識体をそれぞ れ植物体に散 布し、屋外で 生育。 (0.6 kg/ha 換算)	茎葉散布後のシフルメトフェンの 代謝速度は遅く、全分析時点にお いて最も主要な成分として 44~ 95% TRR の親化合物が検出され た。植物体内への放射能の移行は わずかで、植物体表面に 67~96% TRR の放射性成分が残存した。TRR の 10% を越える主要な代謝物は認 められなかった。微量代謝物とし て、  検出された。	2004 年)	310
16 (GLP)	土壌における 運命	好氣的土壌中 運命試験 (滅 菌, 非滅菌) 砂壤土	A および B 標 識体アセトニ トリル溶液 を、それぞ れを土壌に混和 し、25℃, 暗 黒化でインキ ュベーション。 (0.6 kg/ha 換 算)	シフルメトフェンの好気土壌中 での分解半減期は 2.76 日であっ た。 処理後 181 日には処理量 (AR) の 27.6~39.5% が CO <sub>2</sub> として消失し、 抽出残渣は 30.7~37.9% であっ た。代謝物として  検出された。	2004 年)	316

〈代謝分解試験一覧表 3の3〉

資料 No.	試験の種類	供試 動植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
17-1 (GLP)	加水分解 運命試験	緩衝液 (pH4.0, 5.0, 7.0, 9.0)	AおよびB標 識体のアセト ニトリル溶液 から0.01 ppm に調製, 25℃	pH4.0, 5.0, 7.0および9.0中のシ フルメトフェンの加水分解半減期 は25℃においてそれぞれ7.7日, 6.0日, 9.8時間および10.3分 であった。分解物として  が検 出された。	(2004年)	325
17-2 (GLP)	水中光分解 運命試験	自然水 緩衝液 (pH5.0)  Xe ランプ 179.9 W/m <sup>2</sup> (290~800 nm)	AおよびB標 識体のアセト ニトリル溶液 から0.01 ppm に調製, 25℃	シフルメトフェンの pH5 緩衝液中 および河川水中での光分解半減期 は自然太陽光に換算するとそれぞ れ3.3および2.7時間であった。 分解物として  が検出された。	(2004年)	336
18-1 (GLP)	土壌吸着 係数	HPLC 法, OECD 121	HPLC 法により, 6種の参照化合物のk'値とKoc 値から相関式を求め, シフルメトフェンのk'を 代入してKoc値を算出した。シフルメトフェンの log Koc値は5.12であった。	(2004年)	346	
物-21 (GLP)	生物濃縮性	コイ	B標識体アセ トン溶液を用 い, 設定濃度 1.0および10 μg/Lの試験水 を調製。取込 21日間、排泄 32日間。	本化合物の取込段階の3日目まで に定常状態に到達し、清浄な水に 戻すと1日以内に90%が体外に排 泄されると推測された。試験した2 つの濃度における結果を合わせ ると、BCF <sub>ss</sub> は163±19及びBCF <sub>k</sub> は 165±20となり、本被験物質は魚類 には濃縮され難いと考えられた。 この試験で観察された僅かな生物 濃縮は、代謝物(水中分解物)に よるものであり、親化合物の濃縮 係数は最大でも約30となると考 えられる。	(2007年)	349
18-2 (GLP)	加水分解試 験	緩衝液 (pH4.0, 7.0, 9.0)	AおよびB標 識体のアセト ニトリル溶液 から0.01 ppm に調製, 25お よび40℃	pH4.0, 7.0および9.0中のシフル メトフェンの加水分解半減期は, 25℃においてそれぞれ9日, 5時間 および12分であった。40℃におい ては, pH4.0および7.0でそれぞれ 3日および3時間となり, pH9.0に おいては計算不能であった。	2004 年)	353



<代謝・分解生成物一覧表 2の2>

記号	由来*	化学名	構造式

\* 動物；動物代謝試験，植物；植物代謝試験，土；土壌代謝試験，水；加水分解試験，光；水中光分解試験。

1. 動物体内運命に関する試験

1.1 ラットにおける体内運命試験（単回投与）

(資料14-1~4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 A 標識体）および B-

[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 B 標識体）

表 1-1-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

標識位置の選定理由：

供試動物：Fischer系SPFラット (F344/DuCrj) , 1群雌雄各3または4匹, 開始時9週齢

体重範囲：雄 181.0~228.1 g, 雌 120.8~147.3 g

試験方法：

投与：

A および B 標識体被験物質を 3%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液に懸濁させ、投与液を調製した。低用量は 3mg/kg、高用量は 250 mg/kg とし、単回強制経口投与した<sup>1)</sup>。

表 1-1-2 試験の概要

試験項目	標識体	投与量 (mg/kg)	試料採取時間 (hr)	雌雄個体数
経口投与後の血液中の <sup>14</sup> C 濃度の推移	A	3	~72	雌雄各 4 匹
		250	~72	雌雄各 4 匹
	B	3	~72	雌雄各 4 匹
		250	~72	雌雄各 4 匹
経口投与後の <sup>14</sup> C 濃度の尿、糞中への排泄	A	3	~72	雌雄各 4 匹
		250	~72	雌雄各 4 匹
	B	3	~72	雌雄各 4 匹
		250	~72	雌雄各 4 匹
胆汁排泄	A	3	~48	雌 3, 雄 4 匹
		250	~48	雌 3, 雄 4 匹
	B	3	~48	雌 3, 雄 4 匹
		250	~48	雌 4, 雄 4 匹
体内分布	A	3	1*, 24, 72 <sup>#</sup>	1, 24 hr 時点： 雌雄各 3 匹 72 hr 時点 <sup>#</sup> ： 雌雄各 4 匹
			2*, 24, 72 <sup>#</sup>	2, 24 hr 時点： 雌雄各 3 匹 72 hr 時点 <sup>#</sup> ： 雌雄各 4 匹
		250		
	B	3	1*, 24, 72 <sup>#</sup>	1, 24 hr 時点： 雌雄各 3 匹 72 hr 時点 <sup>#</sup> ： 雌雄各 4 匹
			2*, 24, 72 <sup>#</sup>	2, 24 hr 時点： 雌雄各 3 匹 72 hr 時点 <sup>#</sup> ： 雌雄各 4 匹
		250		

\* : Tmax, # : 排泄バランス試験において実施

1) 投与量設定根拠：

#### 血中キネティクス試験；

頸静脈カニューレ手術を施したラットに薬剤を投与し、投与後 72 時間まで、9 時時点で採血し、遠心分離した。得られた血漿を可溶化した後、<sup>14</sup>C 濃度を直接液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。この値から未変化物換算濃度、最高濃度 (C<sub>max</sub>) およびそれに到達するまでの時間 (T<sub>max</sub>)、半減期および消失速度定数を算出した。薬動学的パラメータを用い、24 時間毎に反復投与したと仮定した場合の定常状態における平均 <sup>14</sup>C 濃度 (C<sub>SS (24hr)</sub>, mg eq./L) および <sup>14</sup>C 蓄積率 (R<sub>ac (24hr)</sub>) をすべての試験群について推定した。<sup>14</sup>C 蓄積率とは定常状態における最低血中 <sup>14</sup>C 濃度と単回投与後 24 時間の血中 <sup>14</sup>C 濃度比である。

#### 排泄バランス試験；

薬剤投与後 72 時間までの尿、糞およびケージ洗液を採取した。ケージ洗液はメタノールおよび水で洗浄し、洗液を採取した。尿およびケージ洗液は直接、糞は水で均一化し可溶化して、放射能濃度を LSC で測定し、排泄量を調査した<sup>2)</sup>。

#### 胆汁排泄；

総胆管にカニューレ手術を施したラットに薬剤を投与した。投与後 48 時間までの胆汁および尿、糞、ケージ洗液を採取し、上記の排泄バランス試験と同様に、放射能濃度を LSC で測定して排泄量を調査した。また、投与後 48 時間に消化管 (内容物を含む)、肝臓および残部体組織を摘出し、可溶化処理により均一化した後、LSC で放射能濃度を測定し残留量を調査した。

#### 体内分布；

投与後 1 または 2 時間 (T<sub>max</sub> 付近)、24 および 72 時間に解剖し、以下の臓器・組織試料を採取した。なお、72 時間時点における各臓器・組織試料の採取および濃度測定は排泄バランス試験において実施した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心筋、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、脂肪組織 (腎および生殖腺周辺部)、骨格筋 (腓腹筋の一部)、骨髄 (大腿骨および脛骨より採取)、骨 (上腕骨)、前立腺、精巣、精巣上部、卵巣、子宮 (卵管を含む)、消化管 (内容物を含む)、残部体組織

後大静脈より採血した血液は一部 (150 mg) を全血とした。全血の残部は遠心分離にて血漿と血球に分離した。

骨および残部体組織以外の組織および臓器は可溶化させた後、LSC で測定した。骨および残部体組織は自動燃焼装置で酸化燃焼処理し、LSC で測定した。

排泄バランス試験での投与後 72 時間の調査結果を併せて考察した。

放射能の分布率および濃度の表示法：

試料中の放射能の量は、各動物に投与された放射エネルギーに対する比率（投与量に対する割合、%）あるいは未変化物換算<sup>14</sup>C-濃度（mg [<sup>14</sup>C] シフルメトフェン equivalent/kg または mg [<sup>14</sup>C] シフルメトフェン equivalent/l）として表示した。

試料中の放射エネルギーが検出限界以下となった場合には、検出限界放射エネルギーおよび試料重量等を基に投与量比および濃度について検出限界値を算出し、数値処理の対象からは除外した。

表中には同一試験群内の各動物より求めた値の平均値を表示した。同一試験群内のすべての動物について求めた値が検出限界以下の場合には、各動物について算出した検出限界値の中で最も大きな数値に“く”を付し、平均値の代わりに表示した。

試験結果：

1) 血液中濃度の推移

血漿中<sup>14</sup>C濃度測定結果と薬動学的パラメーターを表1-1-3に、<sup>14</sup>C濃度の経時変化を図1-1-1および1-1-2に示した。血漿中の<sup>14</sup>C濃度は、投与後8時間付近を境とする2相性の1次反応に従って減衰した。最終消失相の半減期 ( $\beta_{1/2}$ ) は、AおよびB標識体それぞれ12~16時間および18~22時間となり、いずれの標識体も減衰は速やかであり、用量差、性差は認められなかった。Tmaxは、高用量では2~4時間、低用量では1時間となった。24時間ごとに反復投与したと仮定した場合の<sup>14</sup>Cの蓄積率 ( $Rac_{(24hr)}$ ) は、いずれの試験群でも単回投与時の1.4~1.9倍と算出され、標識位置、用量および性別にかかわらず、<sup>14</sup>Cの蓄積性は低いことが示された。

表1-1-3 血漿中濃度測定結果 (mg eq./l) と薬動学的パラメーター

時間 (hr)	低用量 (3 mg/kg)				高用量 (250 mg/kg)			
	A 標識体		B 標識体		A 標識体		B 標識体	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.25	0.904	0.725	0.222	0.305	--	--	--	--
0.5	1.262	0.849	0.651	0.662	9.38	8.39	7.18	7.01
1	1.394	0.946	1.059	1.014	9.95	10.66	10.38	10.78
2	1.134	0.799	0.982	0.960	10.01	12.56	10.79	15.37
4	0.489	0.392	0.514	0.555	7.54	15.33	7.06	13.98
6	--	--	--	--	5.00	13.98	4.34	11.97
8	0.254	0.183	0.257	0.274	3.83	9.94	3.81	9.48
24	0.091	0.040	0.091	0.060	2.09	2.38	2.08	4.31
48	0.020	0.008	0.031	0.021	0.83	0.61	0.73	1.66
72	0.008	0.004	0.019	0.013	0.23	0.15	0.38	0.72
Tmax (hr)	1	1	1	1	2	4	2	2
Cmax (mg/l)	1.394	0.946	1.059	1.014	10.01	15.33	10.79	15.37
$\beta_{1/2}$ (hr)	13.9	14.1	18.2	21.8	16.7	12.4	21.8	16.9
CSS <sub>(24hr)</sub> (mg eq./l)	0.433	0.273	0.424	0.383	6.62	10.46	6.91	13.66
AUC (inf) (mg/l×hr)	10.388	6.562	10.176	9.196	159.0	251.1	165.9	327.8
Rac <sub>(24hr)</sub>	1.4	1.4	1.7	1.9	1.6	1.4	1.9	1.6

--：未実施

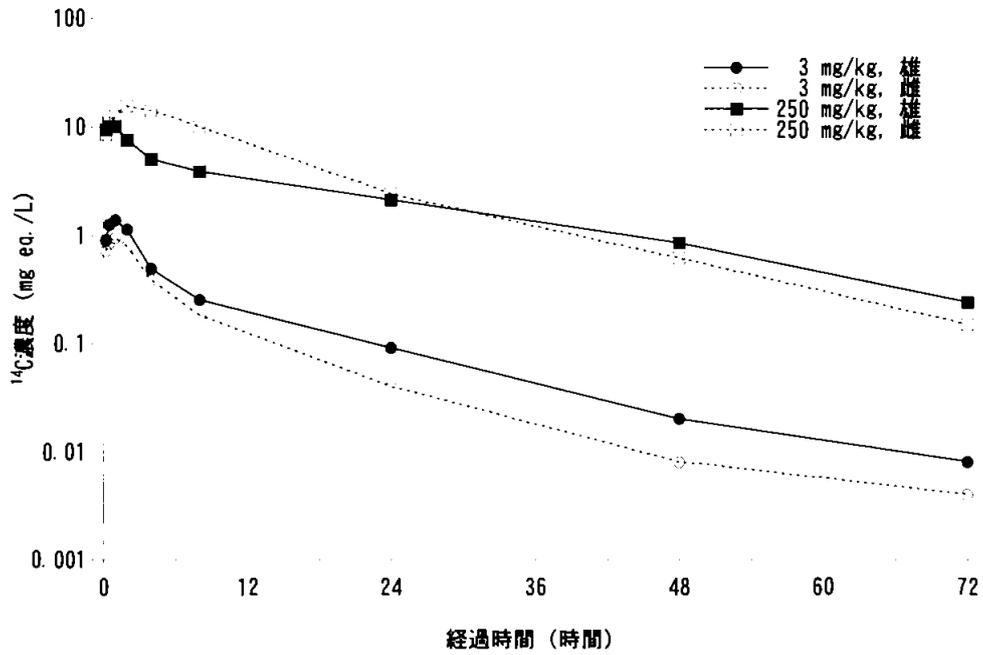


図 1-1-1 A 標識体の経口投与後の血漿中 <sup>14</sup>C 濃度の推移

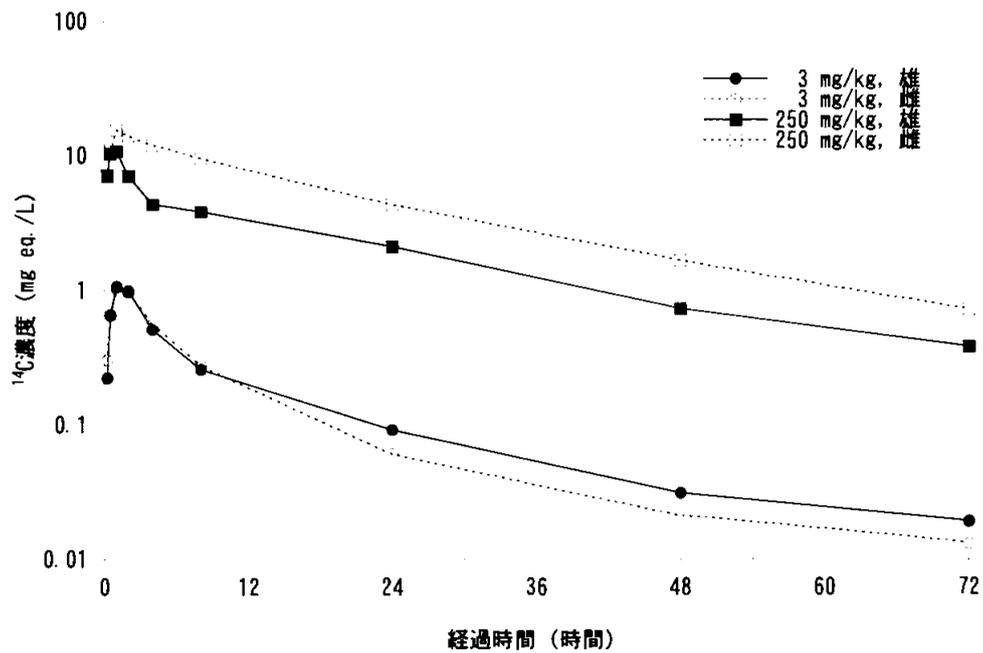


図 1-1-2 B 標識体の経口投与後の血漿中 <sup>14</sup>C 濃度の推移

## 2) 尿, 糞中への排泄

排泄試験結果を表 1-1-4 に示した。

主排泄経路は, 標識位置にかかわらず, 低用量では尿, 高用量では糞であった。投与後 72 時間までの尿および糞中への排泄率は, 低用量でそれぞれ約 58~67% および約 25~33%, 高用量でそれぞれ約 14~26% および約 68~80% であった。尿への排泄率は, 標識位置ならびに用量にかかわらず, 雄より雌の方が約 6~12% 高かった。

表 1-1-4 <sup>14</sup>C の排泄バランス (累積排泄率, 投与量に対する割合 (%))

標識体	用量 (mg/kg)	性	時間 (hr)	尿	糞	小計	ケージ洗液	カーカス	計	
A 標識体	3	雄	0 - 6	35.58	--	--	--	--	--	
			- 24	52.41	19.92	72.33	--	--	--	
			- 48	56.72	30.24	86.96	--	--	--	
			- 72	58.17	32.93	91.10	1.07	2.51	94.68	
		雌	0 - 6	46.74	--	--	--	--	--	--
			- 24	62.99	22.00	84.99	--	--	--	
			- 48	65.48	26.16	91.64	--	--	--	
			- 72	66.14	27.37	93.51	0.92	1.01	95.44	
	250	雄	0 - 6	6.10	--	--	--	--	--	
			- 24	13.85	67.35	81.20	--	--	--	
			- 48	15.74	75.81	91.55	--	--	--	
			- 72	16.23	76.85	93.08	0.69	0.78	94.55	
		雌	0 - 6	7.27	--	--	--	--	--	--
			- 24	16.87	56.97	73.84	--	--	--	
			- 48	21.25	73.56	94.81	--	--	--	
			- 72	21.81	74.45	96.26	0.61	0.60	97.46	
B 標識体	3	雄	0 - 6	41.99	--	--	--	--	--	
			- 24	56.85	21.54	78.39	--	--	--	
			- 48	58.90	30.50	89.40	--	--	--	
			- 72	59.44	32.57	92.01	1.79	1.13	94.93	
		雌	0 - 6	38.86	--	--	--	--	--	--
			- 24	63.09	16.33	79.42	--	--	--	
			- 48	65.98	24.01	89.99	--	--	--	
			- 72	66.53	25.09	91.62	2.42	0.89	94.92	
	250	雄	0 - 6	6.62	--	--	--	--	--	
			- 24	12.55	66.72	79.27	--	--	--	
			- 48	14.08	78.47	92.55	--	--	--	
			- 72	14.33	79.66	93.99	0.55	0.41	94.95	
		雌	0 - 6	7.60	--	--	--	--	--	--
			- 24	19.05	50.21	69.26	--	--	--	
			- 48	25.20	66.61	91.81	--	--	--	
			- 72	25.87	68.33	94.20	0.59	0.59	95.38	

--:未実施

### 3) 胆汁への排泄および吸収率

胆汁排泄試験結果を表 1-1-5 に示した。

投与後 48 時間までの胆汁中排泄率は, 低用量で投与量の約 24~37%, 高用量では約 18~32% で, 標識位置および用量にかかわらず, 雄の胆汁中排泄率は雌より約 8~14% 高かった。尿中排泄率は, 低用量で投与量の約 29~51%, 高用量では約 11~24% で, 胆汁への排泄とは逆に, 雌の尿中排泄率は雄よりも高かった。尿中への排泄率は, 排泄バランス試験時の排泄率より低く, 胆汁中へ排泄された <sup>14</sup>C が腸管から再吸収され, 尿へ排泄されること

が示唆された。しかし、いずれの試験群からも胆汁が主排泄経路になっているとは言えず、腸肝循環は小規模であると推測された。未吸収のまま糞中に排泄された放射能および消化管内に残留していた放射能は、低用量で投与量のそれぞれ約6～17%および約3～17% (合計：約13～23%)、高用量ではそれぞれ約34～41%および約11～18% (合計：約46～58%)であった。投与後48時間における消化管とその内容物を除いた体組織中に残留していた放射能は、低用量で投与量の約2～6%、高用量では約1～2%と、いずれにしても低い値であった。胆汁、尿および体組織中(消化管とその内容物を除く)に認められた放射能の和から求めた経口投与後の<sup>14</sup>Cシフルメトフェンの吸収率は、低用量で約68～78%、高用量では約35～46%であった。

表1-1-5 <sup>14</sup>Cの胆汁排泄率、体組織中残留率および吸収率(累積排泄率、投与量に対する割合(%))

標識体	用量 (mg/kg)	性	時間 (hr)	胆汁	尿	カーカス (肝臓)*	吸収率	糞	ケージ洗液	消化管内容物	総回収率
A 標識体	3	雄	0 - 6	7.47	6.11	--	--	--	--	--	--
			- 24	23.52	16.75	--	--	0.83	--	--	--
			- 48	36.50	29.48	2.42 (1.48)	68.40	6.15	0.90	16.81	92.26
		雌	0 - 6	2.25	6.24	--	--	--	--	--	--
			- 24	12.55	19.49	--	--	2.09	--	--	--
			- 48	23.54	41.11	6.14 (3.01)	70.79	6.49	1.89	10.85	90.02
	250	雄	0 - 6	2.60	2.63	--	--	--	--	--	--
			- 24	15.28	6.83	--	--	12.41	--	--	--
			- 48	29.28	15.18	1.23 (0.61)	45.69	35.49	0.39	10.76	92.33
		雌	0 - 6	0.92	2.86	--	--	--	--	--	--
			- 24	11.23	9.69	--	--	9.04	--	--	--
			- 48	20.87	23.56	1.25 (0.66)	45.68	35.18	0.60	11.73	93.19

--: 未実施

\*: 肝臓の残留率は、原報に基づき申請者が算出した。

表1-1-5 <sup>14</sup>Cの胆汁排泄率，体組織中残留率および吸収率  
(累積排泄率，投与量に対する割合(%) ) (続き)

標識体	用量 (mg/kg)	性	時間 (hr)	胆汁	尿	カーカス (肝臓)	吸収率	糞	ケージ 洗液	消化管 内容物	総回収率
B 標識体	3	雄	0 - 6	6.50	6.79	--	--	--	--	--	--
			- 24	20.29	14.41	--	--	2.32	--	--	--
			- 48	37.22	30.22	1.96 (1.26)	69.39	17.21	0.72	4.89	92.21
		雌	0 - 6	4.20	6.96	--	--	--	--	--	--
			- 24	19.62	32.75	--	--	3.85	--	--	--
			- 48	25.32	51.18	1.86 (1.00)	78.36	10.06	1.35	3.34	93.11
	250	雄	0 - 6	2.09	2.06	--	--	--	--	--	--
			- 24	14.90	5.03	--	--	11.51	--	--	--
			- 48	31.61	11.05	1.53 (0.69)	44.19	34.49	0.32	17.53	96.53
		雌	0 - 6	0.73	1.41	--	--	--	--	--	--
			- 24	10.52	6.78	--	--	12.72	--	--	--
			- 48	17.99	15.90	1.44 (0.45)	35.32	41.40	0.58	16.13	93.41

--:未実施

\*:肝臓の残留率は，原報に基づき申請者が算出した。

#### 4) 体内分布

排泄試験の投与後 72 時間の臓器・組織試料における結果を併せ，投与後の <sup>14</sup>C の体内分布率を表1-1-6-1~4に，<sup>14</sup>C の組織内濃度を表1-1-7-1~4に示した。

被験物質投与後，試験期間を通じて，標識位置，用量および性別にかかわらず，<sup>14</sup>C は，消化管とその内容物中に最も多く分布しており，肝臓，腎臓がそれに続いた。また，標識位置，用量および性別にかかわらず，肝臓と腎臓からは他の臓器・組織よりも常に高い濃度の <sup>14</sup>C が認められた。それ以外の大部分の臓器・組織の <sup>14</sup>C 濃度は，いずれの試験群においても血漿中 <sup>14</sup>C 濃度と同レベルもしくはそれ以下であった。血漿中 <sup>14</sup>C 濃度はいずれの試験群においても Tmax で最高値を示し，その後減衰した。その半減期は9~15 時間となり，血中キネティックス試験の値(約 12~22 時間)と一致した。全血，骨髓，腎臓，肝臓および脂肪組織中 <sup>14</sup>C 濃度の半減期は9~30 時間で，血漿中の半減期と大差はなかった。いずれにしても，投与量，性，標識位置にかかわらず，<sup>14</sup>C の排泄速度は速く，経口投与後 72 時間までに投与量の 90%以上が排泄された。投与後 72 時間において体内に残留した <sup>14</sup>C は，消化管内容物を含め，低用量で投与量の約 0.9~2.5，高用量では約 0.4~0.8%であり，残留性は無いものと考えられた。

表 1-1-6-1  $^{14}\text{C}$  の体内分布率 (A 標識体, 3mg/kg, 投与量に対する割合 (%))

臓器・組織	雄			雌		
	1hr	24hr	72hr	1hr	24hr	72hr
副腎	0.004	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000
大脳	0.036	0.003	<0.001	0.032	0.002	<0.001
心筋	0.058	0.004	0.000	0.035	0.002	0.001
腎臓	1.601	0.079	0.017	1.225	0.084	0.013
肝臓	10.379	3.380	0.374	11.746	2.806	0.312
肺	0.087	0.006	0.001	0.054	0.004	0.001
膵臓	0.058	0.010	0.001	0.047	0.007	0.001
下垂体	0.001	<0.000	<0.000	0.001	<0.000	<0.000
脾臓	0.021	0.001	0.000	0.014	0.001	0.000
胸腺	0.012	0.001	0.000	0.009	0.000	<0.000
甲状腺	0.001	<0.000	<0.000	0.000	<0.000	<0.000
精巣上体	0.014	0.002	0.000			
前立腺	0.006	0.000	0.000			
精巣	0.078	0.006	<0.001			
卵巣				0.004	0.000	<0.000
子宮				0.022	0.001	<0.000
消化管*	56.661	15.273	1.379	46.978	7.771	0.273
カーカス	9.632	1.445	0.740	5.329	0.819	0.406

\* : 消化管内内容物を含む, “<X. XXX”の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が “X. XXX”であることを示す。

表 1-1-6-2  $^{14}\text{C}$  の体内分布率 (B 標識体, 3mg/kg, 投与量に対する割合 (%))

臓器・組織	雄			雌		
	1hr	24hr	72hr	1hr	24hr	72hr
副腎	0.003	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000
大脳	0.016	0.004	0.001	0.023	0.004	0.001
心筋	0.036	0.004	0.001	0.035	0.002	0.001
腎臓	1.694	0.113	0.032	1.934	0.104	0.030
肝臓	11.524	1.777	0.260	11.037	2.035	0.238
肺	0.057	0.008	0.002	0.053	0.005	0.002
膵臓	0.050	0.005	0.001	0.051	0.003	0.001
下垂体	0.000	0.000	<0.000	0.001	<0.000	<0.000
脾臓	0.018	0.002	0.001	0.024	0.002	0.001
胸腺	0.009	0.001	0.000	0.011	0.001	0.000
甲状腺	0.001	0.000	<0.000	0.001	<0.000	<0.000
精巣上体	0.011	0.003	0.000			
前立腺	0.006	0.001	0.000			
精巣	0.047	0.009	0.002			
卵巣				0.005	0.000	<0.000
子宮				0.019	0.001	0.000
消化管*	57.475	11.167	0.409	45.643	5.878	0.177
カーカス	5.606	1.065	0.417	5.550	0.614	0.435

\* : 消化管内内容物を含む, “<X. XXX”の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が “X. XXX”であることを示す。

表 1-1-6-3 <sup>14</sup>C の体内分布率 (A 標識体, 250 mg/kg, 投与量に対する割合 (%))

臓器・組織	雄			雌		
	2 hr	24 hr	72 hr	2 hr	24 hr	72 hr
副腎	0.001	0.000	<0.000	0.001	0.001	0.000
大脳	0.004	0.002	<0.001	0.008	0.004	<0.001
心筋	0.008	0.003	0.000	0.011	0.005	0.000
腎臓	0.119	0.032	0.004	0.151	0.065	0.004
肝臓	1.564	1.030	0.110	1.808	1.113	0.154
肺	0.011	0.004	0.000	0.013	0.006	0.000
膵臓	0.010	0.005	0.000	0.013	0.008	0.001
下垂体	0.000	<0.000	<0.000	0.000	0.000	<0.000
脾臓	0.003	0.001	0.000	0.004	0.002	0.000
胸腺	0.002	0.001	<0.000	0.002	0.001	<0.000
甲状腺	0.000	<0.000	<0.000	0.000	0.000	<0.000
精巣上体	0.003	0.001	0.000			
前立腺	0.001	0.000	<0.000			
精巣	0.012	0.005	<0.001			
卵巣				0.001	0.001	<0.000
子宮				0.005	0.002	0.000
消化管*	82.879	31.031	0.339	82.344	14.973	0.176
カーカス	1.215	0.746	0.329	1.333	0.856	0.260

\* : 消化管内内容物を含む, "<X. XXX" の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が "X. XXX" であることを示す。

表 1-1-6-4 <sup>14</sup>C の体内分布率 (B 標識体, 250 mg/kg, 投与量に対する割合 (%))

臓器・組織	雄			雌		
	2 hr	24 hr	72 hr	2 hr	24 hr	72 hr
副腎	0.001	0.000	0.000	0.002	0.001	0.000
大脳	0.005	0.002	0.001	0.009	0.005	0.001
心筋	0.007	0.002	0.001	0.011	0.005	0.001
腎臓	0.120	0.030	0.007	0.185	0.088	0.010
肝臓	1.109	0.398	0.058	1.401	0.694	0.104
肺	0.009	0.003	0.001	0.014	0.006	0.001
膵臓	0.007	0.002	0.000	0.015	0.005	0.001
下垂体	0.000	<0.000	<0.000	0.000	0.000	<0.000
脾臓	0.003	0.001	0.000	0.006	0.002	0.001
胸腺	0.001	0.000	0.000	0.003	0.001	0.000
甲状腺	0.000	<0.000	<0.000	0.000	0.000	<0.000
精巣上体	0.002	0.001	0.000			
前立腺	0.001	0.000	0.000			
精巣	0.011	0.005	0.001			
卵巣				0.001	0.001	<0.000
子宮				0.007	0.002	0.000
消化管*	82.932	7.343	0.194	81.343	16.521	0.278
カーカス	0.998	0.465	0.147	1.466	0.654	0.194

\* : 消化管内内容物を含む, "<X. XXX" の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が "X. XXX" であることを示す。

表 1-1-7-1  $^{14}\text{C}$  の体内濃度 (A 標識体, 3 mg/kg,  
mg  $^{14}\text{C}$  シフルメトフェン equivalent/kg)

臓器・組織	雄			雌		
	1 hr	24 hr	72 hr	1 hr	24 hr	72 hr
全血	1.519	0.065	0.008	0.723	0.034	0.006
赤血球	0.299	0.023	0.010	0.143	0.014	0.008
血漿*	2.707	0.100	0.008	1.230	0.054	0.005
脂肪組織	0.200	0.040	0.013	0.138	0.031	0.009
副腎	0.868	0.084	0.016	0.566	0.045	0.010
骨	0.180	0.013	0.003	0.092	0.007	0.004
骨髓	0.560	0.045	0.017	0.323	0.039	0.026
大脳	0.115	0.009	<0.002	0.074	0.006	<0.002
心筋	0.618	0.042	0.005	0.356	0.026	0.006
腎臓	6.650	0.327	0.065	4.749	0.348	0.049
肝臓	7.586	2.588	0.259	8.990	2.309	0.246
肺	0.726	0.046	0.006	0.368	0.025	0.004
睪臓	0.446	0.072	0.011	0.305	0.046	0.004
下垂体	0.534	<0.060	<0.058	0.289	<0.059	<0.052
骨格筋	0.170	0.016	0.002	0.102	0.006	<0.002
脾臓	0.248	0.019	0.004	0.147	0.010	0.004
胸腺	0.233	0.014	0.003	0.130	0.008	<0.003
甲状腺	0.598	<0.045	<0.058	0.278	<0.060	<0.079
精巣上体	0.350	0.032	0.004			
前立腺	0.313	0.024	0.004			
精巣	0.214	0.016	<0.002			
卵巣				0.401	0.025	<0.016
子宮				0.308	0.013	<0.003

\*: mg  $^{14}\text{C}$  シフルメトフェン equivalent/g, "<X.XXX" の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が "X.XXX" であることを示す。

表 1-1-7-2 <sup>14</sup>C の体内濃度 (B 標識体, 3 mg/kg,  
mg [<sup>14</sup>C] シフルメトフェン equivalent/kg)

臓器・組織	雄			雌		
	1 hr	24 hr	72 hr	1 hr	24 hr	72 hr
全血	0.896	0.086	0.017	0.908	0.053	0.017
赤血球	0.629	0.065	0.017	0.911	0.066	0.022
血漿*	1.180	0.110	0.018	1.002	0.046	0.013
脂肪組織	0.068	0.019	0.008	0.085	0.015	0.008
副腎	0.529	0.080	0.017	0.540	0.037	0.012
骨	0.096	0.015	0.005	0.098	0.010	0.005
骨髓	0.306	0.033	0.008	0.312	0.027	0.011
大脳	0.055	0.013	0.003	0.054	0.008	0.003
心筋	0.396	0.045	0.007	0.349	0.022	0.008
腎臓	7.122	0.444	0.120	7.983	0.416	0.113
肝臓	8.510	1.356	0.177	8.432	1.600	0.168
肺	0.465	0.064	0.012	0.384	0.037	0.011
膵臓	0.363	0.038	0.005	0.351	0.019	0.005
下垂体	0.326	0.054	<0.060	0.318	<0.051	<0.058
骨格筋	0.124	0.016	0.004	0.112	0.009	0.004
脾臓	0.228	0.028	0.007	0.253	0.023	0.009
胸腺	0.174	0.021	0.003	0.161	0.011	0.003
甲状腺	0.385	0.049	<0.041	0.333	<0.067	<0.076
精巣上部	0.193	0.038	0.007			
前立腺	0.264	0.033	0.006			
精巣	0.124	0.022	0.004			
卵巣				0.427	0.033	<0.017
子宮				0.308	0.015	0.005

\*: mg [<sup>14</sup>C] シフルメトフェン equivalent/g, “X. XXX” の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が “X. XXX” であることを示す。

表1-1-7-3 <sup>14</sup>C の体内濃度 (A 標識体, 250 mg/kg,  
mg [<sup>14</sup>C] シフルメトフェン equivalent/kg)

臓器・組織	雄			雌		
	2 hr	24 hr	72 hr	2 hr	24 hr	72 hr
全血	12.99	3.66	0.508	13.79	5.98	0.520
赤血球	3.32	1.21	0.481	3.47	1.67	0.602
血漿*	23.38	5.97	0.293	24.04	9.99	0.283
脂肪組織	2.36	1.82	0.663	2.66	2.50	0.908
副腎	10.11	5.21	<0.848	12.68	6.36	0.663
骨	1.86	0.65	0.186	2.05	0.91	0.217
骨髄	5.73	2.29	0.633	7.90	4.42	1.523
大脳	1.25	0.61	<0.148	1.57	0.72	<0.148
心筋	7.45	3.02	0.252	9.53	4.35	0.330
腎臓	42.41	11.10	1.450	50.56	22.02	1.170
肝臓	94.29	74.44	6.114	116.93	75.11	9.463
肺	7.41	2.90	0.227	8.05	3.66	0.239
膵臓	7.19	3.60	0.299	7.49	4.27	0.293
下垂体	5.74	<4.93	<5.480	7.00	6.93	<4.552
骨格筋	2.24	0.77	<0.148	2.63	1.12	<0.148
脾臓	3.06	1.13	0.217	3.68	1.74	0.238
胸腺	2.80	0.96	<0.249	3.12	1.42	<0.246
甲状腺	7.03	<3.70	<3.441	7.82	6.40	<4.623
精巣上部	4.02	1.69	0.152	/		
前立腺	3.76	1.32	<0.257			
精巣	2.59	1.08	<0.148			
卵巣	/			8.48	4.13	<1.502
子宮				/		

\*: mg [<sup>14</sup>C] シフルメトフェン equivalent/l, "<X.XXX" の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が "X.XXX" であることを示す。

表1-1-7-4  $^{14}\text{C}$ の体内濃度 (B標識体, 250 mg/kg, mg [ $^{14}\text{C}$ ]シフルメトフェン equivalent/kg)

臓器・組織	雄			雌		
	2 hr	24 hr	72 hr	2 hr	24 hr	72 hr
全血	11.26	2.77	0.733	16.84	6.21	0.832
赤血球	7.39	2.21	0.870	12.13	5.38	1.113
血漿*	15.69	3.58	0.534	23.02	8.10	0.713
脂肪組織	1.63	1.00	<0.543	2.47	1.52	0.604
副腎	9.07	3.28	0.915	14.18	6.20	0.902
骨	1.69	0.70	0.165	2.09	0.88	0.213
骨髓	4.90	1.49	0.411	6.98	2.88	0.742
大脳	1.40	0.70	0.180	1.83	0.94	0.245
心筋	6.27	1.74	0.447	9.57	3.85	0.681
腎臓	40.26	10.16	2.196	61.25	27.27	3.457
肝臓	66.25	25.88	3.345	91.10	47.52	6.414
肺	5.95	1.89	0.432	8.55	3.72	0.639
膵臓	5.55	1.50	0.233	8.86	2.88	0.335
下垂体	5.76	<5.21	<5.256	8.43	5.36	<4.505
骨格筋	2.26	0.70	0.195	3.05	1.28	0.243
脾臓	3.32	1.15	0.392	5.30	1.98	0.578
胸腺	2.56	0.83	0.182	3.62	1.51	0.266
甲状腺	5.43	<3.26	<3.593	8.56	6.81	<6.170
精巢上体	3.55	1.34	0.269			
前立腺	4.58	1.58	0.338			
精巢	2.42	1.05	0.222			
卵巣				10.09	4.30	<1.339
子宮				7.05	2.71	0.315

\*: mg [ $^{14}\text{C}$ ]シフルメトフェン equivalent/l, “<X. XXX”の表示は当該試料中に検出可能な量の放射能が存在せず, その検出限界値が “X. XXX”であることを示す。

まとめ:

経口投与されたシフルメトフェンは, 一部は未変化のまま糞中に排泄され, 一部は消化管吸収を受けた。吸収率は, 低用量で約 68~78%, 高用量では約 35~46%で, 高用量より低用量の方が高かった。吸収されたシフルメトフェンは体内循環系に移行し, 血漿中の  $^{14}\text{C}$  濃度は, 投与後 1~4 時間で最高濃度に達し, 2 相性の 1 次反応に従って減衰して, 速やかに胆汁・尿へと排泄された。血漿中濃度の最終消失相の半減期は, 12~22 時間であった。投与量, 標識位置にかかわらず, 尿中への排泄量は雄より雌が, 胆汁中への排泄量は雌より雄が多かった。性別, 標識位置にかかわらず, 肝臓および腎臓に  $^{14}\text{C}$  の分布が認められたが, 速やかに尿および糞中に排泄された。主要臓器・組織中の  $^{14}\text{C}$  濃度の半減期は 10~43 時間で, 血漿中の半減期と同等であり, 臓器・組織への貯留性・蓄積性は低く, 残留性は認められなかった。

1. 2 ラットにおける体内運命試験 (代謝物の定量および同定)

(資料 1 4 - 5, 6)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2004 年

供試標識化合物 : A-[ring- $^{14}\text{C}$ ] シフルメトフェン (

以下 A 標識体) および B-

[ring- $^{14}\text{C}$ ] シフルメトフェン (

以下 B 標識体)

表 1 - 2 - 1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

標識位置の選定理由 :

供試動物：Fischer系SPFラット (F344/DuCrj) , 1群雌雄各3または4匹, 開始時9週齢

体重範囲：雄 187.4~228.1 g, 雌 128.7~147.3 g

試験方法：

排泄バランス試験および胆汁排泄試験において排泄された、尿、糞および胆汁試料を放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析し、試料中の代謝物を定量および同定した。また、未同定代謝物に関しては質量分析 (MS) により特徴付けを行った。

表 1-2-2 試験の概要

試験項目	標識体	投与量 (mg/kg)	試料採取時間 (hr)	雌雄個体数
経口投与後の尿・糞試料中の代謝物の分析	A	3	~72	雌雄各4匹
		250	~72	雌雄各4匹
	B	3	~72	雌雄各4匹
		250	~72	雌雄各4匹
経口投与後の胆汁試料中の代謝物の分析	A	3	~48	雌3, 雄4匹
		250	~48	雌3, 雄4匹
	B	3	~48	雌3, 雄4匹
		250	~48	雌4, 雄4匹

試料の調製：

尿および胆汁試料は直接、糞試料はホモジナイズした後アセトニトリルおよびアセトニトリル/水混液で抽出し、分析した。

試験結果：

1) 尿および糞中の代謝物

[<sup>14</sup>C] シフルメトフェン経口投与 72 時間後までの尿および糞試料中に排泄された主な代謝物ならびにそれらの生成量を表 1-2-3 に示した。

未変化のシフルメトフェンは、尿中においてはいずれの試験群からも検出されなかった。糞中においては、低用量投与群では2～4%が検出されているのみであるが、高用量投与群試料においては最も主要な成分(54～66%)となり、未吸収のまま糞試料中に排泄されたものと思われる。

表1-2-3 尿および糞試料中の代謝物とその生成量(投与量に対する割合(%))

投与量 (mg/kg)	画分	代謝物 <sup>a</sup>	雄						雌					
			A 標識体			B 標識体			A 標識体			B 標識体		
			尿	糞	計	尿	糞	計	尿	糞	計	尿	糞	計
3	M8													
	M9													
	M10													
	M14													
	M16													
	M17													
	M26													
	M27													
	M28F													
	M28U													
	シフルメトフェン		ND	3.34	3.34	ND	2.46	2.46	ND	4.29	4.29	ND	2.47	2.47
	その他		14.27	24.50	38.77	21.10	12.80	33.90	10.76	14.95	29.71	15.84	5.60	21.44
計		58.17	32.93	91.10	59.44	32.57	92.01	66.14	23.37	93.51	66.53	25.09	91.62	
250	M8													
	M9													
	M10													
	M14													
	M16													
	M17													
	M26													
	M27													
	M28F													
	M28U													
	シフルメトフェン		ND	63.54	63.54	ND	65.71	65.71	ND	61.69	61.69	ND	53.68	53.68
	その他		5.38	10.66	16.03	5.59	7.97	13.55	5.12	10.38	15.50	6.35	6.40	12.76
計		16.23	76.85	93.08	14.33	79.66	93.99	21.81	74.45	96.26	25.87	68.33	94.20	

ND: 検出なし, --: 該当なし.

2) 胆汁中の代謝物

[<sup>14</sup>C]シフルメトフェン経口投与 48 時間後までの胆汁試料中に排泄された主な代謝物ならびにそれらの生成量を表1-2-4に示した。

投与量の5%を超えて検出された胆汁中の主要な代謝物は

未変化のシフルメトフェンは胆汁成分中のいずれの試験群試料からも検出されなかった。

表1-2-4 胆汁試料中の代謝物とその生成量(投与量に対する割合(%))

投与量 (mg/kg)	画分	代謝物 <sup>a</sup>	雄		雌		
			A 標識体	B 標識体	A 標識体	B 標識体	
3	Mb 9						
	Mb 10						
	Mb 18						
	Mb 21-1						
	Mb 21-2						
	Mb 30						
	Mb 32						
	Mb 33						
	その他						
	計						
250	Mb 9						
	Mb 10						
	Mb 18						
	Mb 21-1						
	Mb 21-2						
	Mb 30						
	Mb 32						
	Mb 33						
	その他						
	計						

--: 該当なし

まとめ： シフルメトフェンの動物体内での推定代謝経路を図1-2-1に示した。

尿糞中と胆汁中の代謝物プロファイルに大きな差が生じ、胆汁中に排泄された代謝物が腸管から再吸収されることが示唆されたが、胆汁排泄試験の結果から腸肝循環は小規模であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

(動物体内運命)

2. 植物における運命

2. 1 みかんにおける代謝試験

(資料15-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 A 標識体）および B-

[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 B 標識体）

表 2-1-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)		比放射能 (GBq/mmol)
	試験開始時	散布液	
A			
B			

放射化学的純度：試験開始時；2001 年 8 月測定， 散布液；調製時に測定。

標識位置の選定理由：

供試植物：温州みかん（品種：早生みかん）

プラスチックポット（直径約 28 cm）で育生したみかん樹（栽培容器を含めた高さ約 70～80 cm，樹冠径約 50～80 cm）を A および B 標識体処理区に各 2 ポット，対照区（無処理）に各 1 ポット選定し，パイレックスガラス製温室で栽培した。光源は自然太陽光とし，温室内の気温および湿度は周辺の平均気温および平均湿度を基に管理した。

方 法：各被験物質の酢酸エチル溶液を秤量し，濃縮乾固した後，製剤白試料を含む水で懸濁希釈して 200 mg/l の施用液を調製した。得られた施用液を，ガラス製噴霧器で各ポットあたり 36.9 ml 散布した。これはポットの面積の約 2 倍 1230 cm<sup>2</sup>を基準として，シフルメトフェンの慣行施用量 600 g a. i. /ha（20%フロアブルの 1000 倍希釈を 3000 l/ha 散布）に相当する。

#### 処理量の換算基準

施用量：600 g a. i. /ha = 6 μg/cm<sup>2</sup>

ポット当たりの施用量：6 μg/cm<sup>2</sup> × 1230 cm<sup>2</sup> = 7380 μg = 7.38 mg

散布液量：3000 l/ha = 30 μl/cm<sup>2</sup>

ポット当たりの散布液量：30 μl/cm<sup>2</sup> × 1230 cm<sup>2</sup> = 36900 μl = 36.9 ml

処理後 1，7 および 30 日の収穫期の果実と，処理後 1，7 および 14 日の葉を採取し分析試料とした。果実および葉はアセトニトリルで表面洗浄を行った後，果実は果皮および果肉に分けて，また葉は容姿のまま粉碎して，アセトニトリル-水（8：2，容量比）混合液で抽出した。洗浄液および抽出液は直接，抽出残渣は燃焼処理した後，それぞれ液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を分析し，放射能分布と果実および葉試料中の総残留放射能（TRR）を測定した。また，洗浄液および抽出液を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分析し，親化合物および代謝分解物の定量と同定を行った（図 2-1-1）。

図 2 - 1 - 1 シフルメトフェンのみかんにおける代謝試験の分析フローチャート

結 果：1) 浸透移行性および分布

採取した各試料中の放射能濃度を表 2 - 1 - 2 に示した。

試験期間中における TRR の減衰は認められず、果実および葉でそれぞれほぼ一定に推移した。果実の放射能濃度は親化合物換算で 0.42~0.62 ppm となり、葉 (30.0~43.1 ppm) の 1/100~1/50 程度となった。これは果実と葉との表面の形状や比重の違いなど物理的な性状の差に起因するものと考えられる。

処理された [<sup>14</sup>C]シフルメトフェンの植物体組織内への浸透移行はわずかで、果実および葉のいずれにおいても残存する放射能の大部分 (87~92%) が表面洗浄液中から回収された。果実表面の放射能は、処理後 30 日でも TRR の 88~89% であり、果実内部に浸透した放射能のほとんどが果皮に存在し (処理後 30 日で TRR の 11~12%)、果肉内部まで浸透した放射能の比率は無視しうるレベルであった (処理後 30 日で TRR の 0.4~0.6%)。葉についても同様に浸透移行速度は遅く、処理後 14 日でも TRR の 87~94% が表面洗浄液中に回収された。

果実および葉内部に残留する放射性成分の有機溶媒による抽出率は比較的高く、抽出後の残渣中に残る放射能はいずれの分析時点でも TRR の 10% を大きく下回っていた。

表 2-1-2 採取試料中の放射能濃度

採取部位	採取日	試料	A 標識体		B 標識体	
			ppm	% TRR	ppm	% TRR
果実	処理後 1 日	表面洗浄	0.5539	95.62	0.5868	95.02
		全果皮	0.0239	4.32	0.0295	4.84
		全果肉	0.0004	0.06	0.0010	0.14
		全抽出残渣 <sup>a)</sup>	0.0032	0.61	0.0027	0.52
		TRR	0.5783	100.00	0.6173	100.00
	処理後 7 日	表面洗浄	0.4173	93.00	0.3826	91.40
		全果皮	0.0307	6.85	0.0349	8.31
		全果肉	0.0007	0.15	0.0012	0.29
		全抽出残渣	0.0052	1.17	0.0033	0.78
		TRR	0.4487	100.00	0.4187	100.00
	処理後 30 日	表面洗浄	0.5067	88.77	0.5041	87.87
		全果皮	0.0622	10.86	0.0662	11.53
		全果肉	0.0020	0.37	0.0034	0.60
		全抽出残渣	0.0101	1.77	0.0082	1.44
		TRR	0.5709	100.00	0.5737	100.00
葉	処理後 1 日	表面洗浄	34.8679	96.60	33.3370	95.09
		抽出液	1.1090	3.08	1.6259	4.65
		抽出残渣	0.1167	0.32	0.0929	0.27
		TRR	36.0936	100.00	35.0558	100.00
	処理後 7 日	表面洗浄	29.5027	93.54	30.7705	91.23
		抽出液	1.8256	5.79	2.8039	8.23
		抽出残渣	0.2121	0.67	0.1785	0.53
		TRR	31.5404	100.00	33.7529	100.00
	処理後 14 日	表面洗浄	28.3494	94.44	37.6579	87.14
		抽出液	1.4737	4.92	5.2696	12.37
		抽出残渣	0.1901	0.64	0.2028	0.49
		TRR	30.0132	100.00	43.1303	100.00

<sup>a)</sup> 全果皮と全果肉の抽出残渣の合計

## 2) 代謝物の分析

シフルメトフェンの残存率および主要放射性成分の生成率を表 2-1-3 および表 2-1-4 に、みかんの果実および葉における推定代謝経路を図 2-1-2 に示した。いずれの試料においても最も主要な成分として未変化体のシフルメトフェンが検出されており、果実では処理後 30 日において TRR の 43.9~54.0%、葉では処理後 14 日において TRR の 73.3~81.1% が検出された。果実および葉において生成する代謝物は、生成速度および量に違いがみとめられるものの、定性的にはほぼ一致していた。

表2-1-3 シフルメトフェンの残留率と代謝物の生成率 (果実試料)

処理区	成分	処理後 1 日		処理後 7 日		処理後 30 日	
		ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR
A 標識体	シフルメトフェン	0.5211	89.83	0.3708	82.62	0.3107	54.03
B 標識体	シフルメトフェン	0.5466	88.40	0.3303	78.89	0.2512	43.85

表2-1-4 シフルメトフェンの残留率と代謝物の生成率 (葉試料)

処理区	成分	処理後 1 日		処理後 7 日		処理後 14 日	
		ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR
A 標識体	シフルメトフェン	32.5233	90.13	26.4757	83.93	24.3345	81.05
B 標識体	シフルメトフェン	31.1053	88.73	26.9189	79.60	31.6882	73.31

図 2-1-2 シフルメトフェンのみかんにおける推定代謝経路

2. 2 なすにおける代謝運命試験

(資料15-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 A 標識体）および B-

[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 B 標識体）

表 2-2-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

放射化学的純度：散布葉液中の純度，処理前後の平均値。

標識位置の選定理由：

供試植物：なす（品種：Japanese Long Purple）

圃場：場所；米国カリフォルニア州フレズノ 畑地の一角<sup>1)</sup>

方法：A および B 標識体被験物質を各、乳鉢で粉碎し、製剤白試料を加えて簡易フロアブル製剤とし、精製水で希釈して 200 mg a. i./ℓの散布液を調製した。なす収穫期において、散布液 0.44 ℓをそれぞれの処理区に対してハンドスプレーを用いて散布した<sup>2)</sup>。

処理後 1, 7 および 14 日の収穫期の果実と、処理後 14 日の葉を採取し分析試料とした。試料の分析フローチャートを図 2-2-1 に示した。果実および葉表面をアセトニトリルで洗浄した後、微粉碎してアセトニトリルおよびアセトニトリル-水（1:1, 容量比）混合液で抽出した。洗浄液, 抽出液は直接, 抽出残渣は燃焼処理した後, それぞれ液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を分析し, 放射能分布と果実および葉試料中の総残留放射能（TRR）を測定した。また, 洗浄液および抽出液を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分析し, 親化合物と代謝分解物の定量および同定を行った。

図 2-2-1 シフルメトフェンのなすにおける代謝試験の分析フローチャート

結 果：1) 浸透移行性および分布

採取した各試料中の放射能濃度を表 2-2-2 に示した。

果実部の放射能濃度は親化合物換算で 0.315~0.558 ppm となり、葉 (17.463~22.968 ppm) の 1/50 程度となった。これは果実と葉との表面の形状や比重の違いなど物理的な性状の差に起因するものと考えられる。

果実の生育による放射能濃度の低下は認められず、14 日後までほぼ横ばいに推移した。有姿のままの果実をアセトニトリルで洗浄することにより高い比率 (56~92%) で放射能が回収されることから示されるように、なす果実試料の TRR の大部分は表面に局在していた。処理後の時間経過に伴い果実中の放射性残留物の相対量は増加していった。総じて A 標識体より B 標識体の方が果実内で検出される割合が高かった。

表 2-2-2 採取試料中の放射能濃度

採取部位	採取日	試料	A-標識体		B-標識体	
			ppm	% TRR	ppm	% TRR
果実	処理後 1 日	洗浄液	0.297	92.0	0.422	86.5
		抽出液	0.023	7.1	0.062	12.7
		抽出残渣	0.003	0.9	0.004	0.8
		TRR	0.323	100.0	0.488	100.0
	処理後 7 日	洗浄液	0.323	86.1	0.442	79.2
		抽出液	0.043	11.5	0.108	19.4
		抽出残渣	0.009	2.4	0.008	1.4
		TRR	0.375	100.0	0.558	100.0
	処理後 14 日	洗浄液	0.256	81.3	0.233	56.4
		抽出液	0.046	14.6	0.169	40.9
		抽出残渣	0.013	4.1	0.011	2.7
		TRR	0.315	100.0	0.413	100.0
葉	処理後 14 日	洗浄液	19.144	83.4	12.001	68.7
		抽出液	3.232	14.1	4.644	26.6
		抽出残渣	0.592	2.5	0.818	4.7
		TRR	22.968	100.0	17.463	100.0

2) 代謝物の分析

シフルメトフェンの残存率および主要代謝物の生成率を表 2-2-3 に、なす果実および葉における推定代謝経路を図 2-2-2 に示した。全処理区試料中において最も高濃度で残留している物質は未変化体のシフルメトフェンであった。残留量は処理後日数に伴い減少したが、処理後 14 日においても、果実で 42.4~62.2%、葉で 47.4~57.6% が残存していた。果実および葉において生成する代謝物は、生成速度および量に違いがみとめられるものの、定性的にはほぼ一致していた。

表 2-2-3 シフルメトフェンの残留率と代謝物の生成率 (% : 全残留量比)

処理区	成分	試料採取日 (処理後日数)							
		1日 (果実)		7日 (果実)		14日 (果実)		14日 (葉)	
		ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR
A 標識体	シフルメトフェン	0.307	95.0	0.251	66.9	0.196	62.2	13.234	57.6
B 標識体	シフルメトフェン	0.445	91.2	0.394	70.6	0.175	42.4	8.270	47.4

nd : 検出限界以下

図 2-2-2 シフルメトフェンのなすにおける推定代謝経路

2. 3 りんごにおける代謝運命試験

(資料15-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 A 標識体）および B-

[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 B 標識体）

表 2-3-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

放射化学的純度：散布葉液中の純度，処理前後の平均値

標識位置の選定理由：

供試植物：りんご（品種：Pink Lady）

米国カリフォルニア州マデラ郡の果樹園で、無処理、A-および B-標識体処理区各 1 本ずつのりんご樹（樹冠半径約 0.75 m）を用いて、本試験を実施した。それぞれの樹木の間には互いに干渉しないよう十分な距離をとった。

方 法：目標施用量を 600 g a. i. /ha とし、散布薬液を調製して散布処理した。非放射性被験物質で希釈した [<sup>14</sup>C] シフルメトフェンを精秤し、製剤白試料を加えて乳鉢で粉碎し、さらに精製水を加えて散布液を調製した。調製した散布液を収穫期のりんご果樹にハンドスプレーヤーを用いて散布した。散布の前後でスプレーヤーの重量を精秤して実際の散布薬量を測定したところ、目標値の 115～120% 換算となった<sup>1)</sup>。

処理後 1, 7 および 30 日の収穫期の果実と、処理後 7 および 30 日の葉を採取し分析試料とした。試料の分析フローチャートを図 2-3-1 に示した。果実および葉表面をアセトニトリルで洗浄した後、微粉碎してアセトニトリルおよびアセトニトリル-水 (1:1, 容量比) 混合液で抽出した。洗浄液, 抽出液は直接, 抽出残渣は燃焼処理した後, それぞれ液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を分析し, 放射能分布と果実および葉試料中の総残留放射能 (TRR) を測定した。また, 洗浄液および抽出液を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析し, 親化合物と代謝分解物の定量および同定を行った。

図2-3-1 シフルメトフェンのりんごにおける代謝試験の分析フローチャート

結 果：1) 浸透移行性および分布

採取した各試料中の放射能濃度を表2-3-2に示した。

試験期間中における TRR の減衰は認められず、果実および葉で、それぞれほぼ一定に推移した。果実の放射能濃度は 0.057~0.167 ppm となり、葉 (4.932~9.564 ppm) の 1/50 程度となった。これは果実と葉との表面の形状や比重の違いなど物理的な性状の差に起因するものと考えられる。

処理された [<sup>14</sup>C]シフルメトフェンは、処理後の経過日数に応じて果実内部の放射能が増すもののその浸透移行はわずかで、果実および葉のいずれにおいても残存する放射能の大部分 (67~96%) が表面洗浄液中から回収された。特に、処理後 1 日の果実への浸透はほとんど認められず、A および B 標識体いずれの試料においても表面洗浄液中に 95% 以上の放射性成分が回収された。また、処理後 30 日においては果実および葉組織内部の放射能はそれぞれ TRR の 29~33% および 18~28% であり、果実および葉中に残留する放射性成分の有機溶媒による抽出率は高く、抽出残渣中の放射能はいずれの分析時点でも TRR の 10% を下回っていた。

表 2-3-2 採取試料中の放射能濃度

採取部位	採取日	試料	A-標識体		B-標識体		
			ppm	% TRR	ppm	% TRR	
果実	処理後 1 日	洗浄液	0.095	95.0	0.108	95.6	
		洗浄残渣	0.005	5.0	0.005	4.4	
		TRR	0.100	100.0	0.113	100.0	
	処理後 7 日	洗浄液	0.064	82.1	0.149	89.2	
		抽出液	0.012	15.4	0.016	9.6	
		抽出残渣	0.002	2.6	0.002	1.2	
	処理後 30 日	TRR	0.078	100.0	0.167	100.0	
		洗浄液	0.056	70.9	0.038	66.7	
		抽出液	0.017	21.5	0.016	28.1	
		抽出残渣	0.006	7.6	0.003	5.3	
	葉	処理後 7 日	TRR	0.079	100.0	0.057	100.0
			洗浄液	5.535	90.8	6.306	86.8
抽出液			0.479	7.9	0.843	11.6	
抽出残渣			0.085	1.4	0.117	1.6	
処理後 30 日		TRR	6.099	100.0	7.266	100.0	
		洗浄液	4.406	82.0	6.884	72.0	
		抽出液	0.644	13.1	2.039	21.3	
		抽出残渣	0.242	4.9	0.641	6.7	
TRR	4.932	100.0	9.564	100.0			

2) 代謝物の分析

シフルメトフェンの残存率および代謝物の生成率を表 2-3-3 および 2-3-4 に、りんご果実および葉における推定代謝経路を図 2-3-2 に示した。全試料中、最も主要な残留成分は未変化体のシフルメトフェンで、処理後時間経過とともに減衰する傾向はあるものの、処理後 30 日においても TRR の 43.8%~64.9% が残存していた。果実および葉において生成する代謝物は、生成速度および量に違いがみとめられるものの、定性的にはほぼ一致していた。

表2-3-3 シフルメトフェンの残留率と代謝物の生成率 (果実試料)

処理区	成分	処理後 1 日		処理後 7 日		処理後 30 日	
		ppm	% TRR	ppm	% TRR	ppm	% TRR
A 標識体	シフルメトフェン	0.089 <sup>a</sup>	89.0 <sup>a</sup>	0.061	78.2	0.042	53.2
B 標識体	シフルメトフェン	0.107 <sup>a</sup>	94.7 <sup>a</sup>	0.140	83.8	0.037	64.9

a: 人為的な分解物を含めた値

b: 抽出液中で C-18 カートリッジカラムに保持されない成分

表2-3-4 シフルメトフェンの残留率と代謝物の生成率 (葉試料)

処理区	成分	処理後 7 日		処理後 30 日	
		ppm	% TRR	ppm	% TRR
A 標識体	シフルメトフェン	5.176	84.91	2.967	60.2
B 標識体	シフルメトフェン	5.611	77.2	4.187	43.8

図 2-3-2 シフルメトフェンのりんごにおける推定代謝経路

### 3. 土壌中における運命

#### 3. 1 好氣的土壌代謝試験

(資料16)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（以下 A 標識体）および B-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（以下 B 標識体）

表3-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

標識位置の選定理由：

供試土壌：砂壤土 (Wolston)

土壌は、使用前に 2 mm の篩にかけた。

表 3-2 に使用した土壌の特性およびバイオマス測定結果について示した。

表 3-2 供試土壌の特性およびバイオマス測定結果

土壌名	Wolston	
入手先	LandLook (Midlands ), Leamington Spa (英国)	
土性分類	BS 3882	砂壤土
	USDA	砂壤土
容水量 (%)	17.71	
最大容水量 (%)	52.43	
pH (1:5) /水	6.5	
pH (1:5) /1 M KCl	6.5	
pH (1:5) /0.01 M CaCl <sub>2</sub>	5.8	
陽イオン交換容量 (mEq/100g)	15.3	
有機炭素 (%)	1.9	
有機物 (%)	3.3	
バイオマス (μg C/g)		
被験物質処理日 (0 日)	291.97	
実験終了日 (181 日)	52.77	

有機物 (%) = 有機炭素 (%) × 1.72

#### 方 法：

上記土壌に水分張力 pF 2.0 (最大容水量の 42% に相当) となるように水を添加し、25℃の暗所で 14 日間プレインキュベーションしたのち、被験物質のアセトニトリル溶液を、乾燥土壌換算で 0.93 mg/kg (慣行施与量の約 1.4 kg a. i./ha に相当) 土壌となるようにシフルメトフェン標識化合物を処理した。

25℃の暗所に通気系で静置し、揮発性物質はウレタンフォーム並びに 1N 水酸化カリウム溶液で捕集することにより測定した。非滅菌土壌については処理直後および処理後 1, 3, 6, 10, 14, 30, 59, 90, 121 および 181 日に、滅菌土壌については処理直後、処理後 1, 7 および 30 日に試料を採取した。採取した試料をアセトニトリル (2 回) およびアセトニトリル-水 (3:1, 2 回)、さらに加熱還流下においてアセトニトリル-水 (3:1, 1 回) で抽出した。

図3-1に分析法の概要を示した。

図3-1 分析フローチャート

図3-1 分析フローチャート (続き)

結 果：

1) 回収率

非滅菌および滅菌土壌における放射能バランスを表3-3および3-4に示した。

非滅菌土壌においては、181日後において、A標識体およびB標識体処理区からそれぞれ処理量の29.9および27.1%が抽出され、27.6および39.3%が揮発性物質（二酸化炭素）へと代謝された。また、抽出残渣には37.9および30.7%に相当する残存放射能が検出された。それらは、おおよそ2:1:2および1:3:2の割合で、それぞれ、フルボ酸・腐植酸・フミン画分に分画された（表3-5）。

表3-3 非滅菌土壌における放射能バランス（%対処理量）

処理区	画分	試料採取時間（日）										
		0	1	3	6	10	14	30	59	90	121	181
A 標識体	抽出液	98.2	87.5	58.5	46.3	44.4	34.9	32.9	34.5	28.3	29.0	29.9
	抽出残渣	2.8	10.0	27.8	32.5	33.4	43.4	40.8	42.3	37.8	36.9	37.9
	揮発性物質	ns	<0.1	6.6	14.2	11.8	16.4	19.3	24.6	25.7	31.2	27.6
	総回収率	101.0	97.5	92.9	93.0	89.6	94.7	93.0	101.4	91.8	97.1	95.4
B 標識体	抽出液	98.3	94.2	79.1	67.2	55.7	44.4	36.8	34.5	29.4	30.0	27.1
	抽出残渣	4.3	6.7	18.0	24.2	28.7	34.3	31.2	34.9	30.6	29.0	30.7
	揮発性物質	ns	0.7	3.6	7.7	12.6	20.8	27.1	28.6	34.0	36.7	39.3
	総回収率	102.6	101.6	100.7	99.1	97.0	99.5	95.1	98.0	94.0	95.7	97.1

ns: 未収集

表3-4 滅菌土壌における放射能バランスおよびシフルメトフェンの残存率（%対処理量）

処理区	画分	試料採取時間（日）			
		0	1	7	30
A 標識体	抽出液	103.5	100.7	93.0	61.0
	抽出残渣	<0.1	0.8	8.4	42.7
	揮発性物質	ns	<0.1	<0.1	4.1
	総回収率	103.5	101.5	101.4	107.8
B 標識体	抽出液	100.2	99.0	94.6	83.6
	抽出残渣	<0.1	0.7	5.3	19.7
	揮発性物質	ns	<0.1	<0.1	<0.1
	総回収率	100.2	99.7	99.9	103.3

ns: 未収集

表 3-5 抽出残渣画分の放射能バランス (%対処理量)

処理区	画分	試料採取時間 (日)									
		1	3	6	10	14	30	59	90	121	181
A 標識体	フミン	4.2	10.4	12.0	12.8	19.1	19.6	15.8	13.7	14.4	14.1
	腐植酸	3.7	11.7	13.9	13.3	16.0	14.2	19.4	17.2	15.4	15.9
	フルボ酸	2.1	5.7	6.7	7.3	8.4	7.0	7.1	6.9	7.2	7.9
	総残渣	10.0	27.8	32.5	33.4	43.4	40.8	42.3	37.8	36.9	37.9
B 標識体	フミン	1.4	3.8	6.2	7.8	10.3	11.2	12.9	10.3	9.6	11.0
	腐植酸	0.7	2.1	3.0	4.5	5.6	4.9	5.7	5.7	5.4	4.9
	フルボ酸	4.6	12.2	15.0	16.4	18.5	15.0	16.3	14.6	13.9	14.8
	総残渣	6.7	18.0	24.2	28.7	34.3	31.2	34.9	30.6	29.0	30.7

2) 分布および代謝

抽出画分中のシフルメトフェンの残存率と代謝分解物の生成率を表 3-6 に、それらの経時変化を図 3-2 および 3-3 に示した。シフルメトフェンは速やかに代謝され、処理後 10 日には残存率は 10% 未満となった。

表3-6 抽出画分中のシフルメトフェンの残存率および代謝分解物の生成率 (%対処理量)

処理区	成分	試料採取時間 (日)											
		0	1	3	6	10	14	30	59	90	121	181	
A 標識体													
	シフルメトフェン	96.8	76.6	27.1	15.1	9.8	6.2	4.6	3.6	2.2	1.9	1.3	
B 標識体													
	シフルメトフェン	98.0	80.6	38.8	17.5	7.1	6.3	5.0	4.4	2.6	2.2	1.8	

nd : 検出限界以下  
 - : 未分析

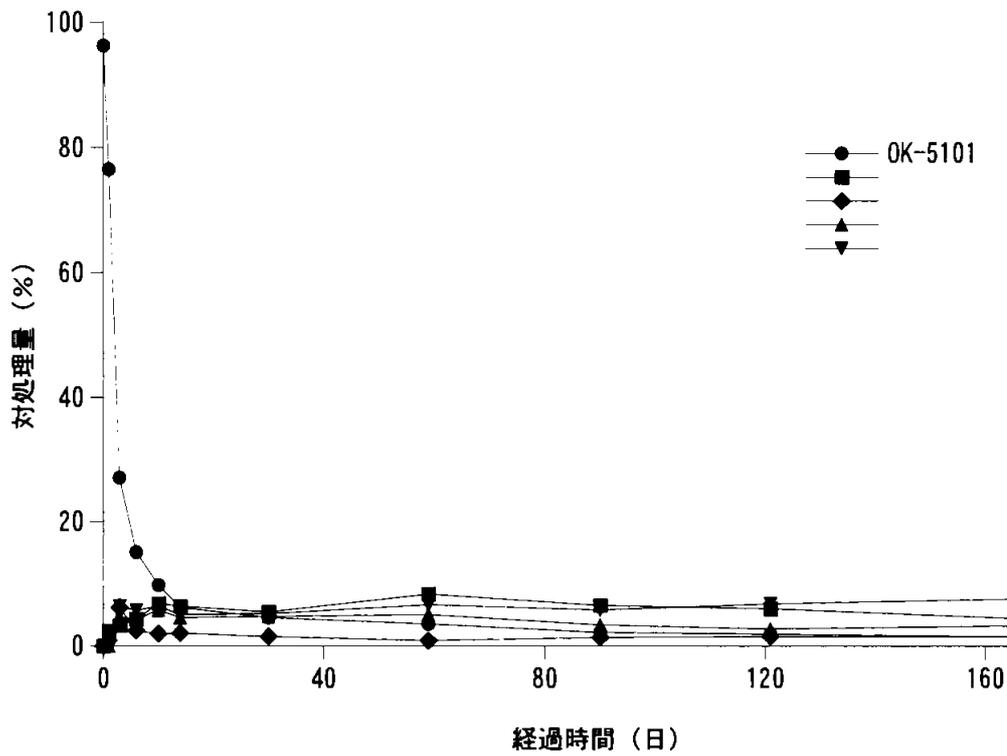


図3-2 土壌におけるシフルメトフェンおよび主要代謝物の経時変化 (A 標識体処理区)

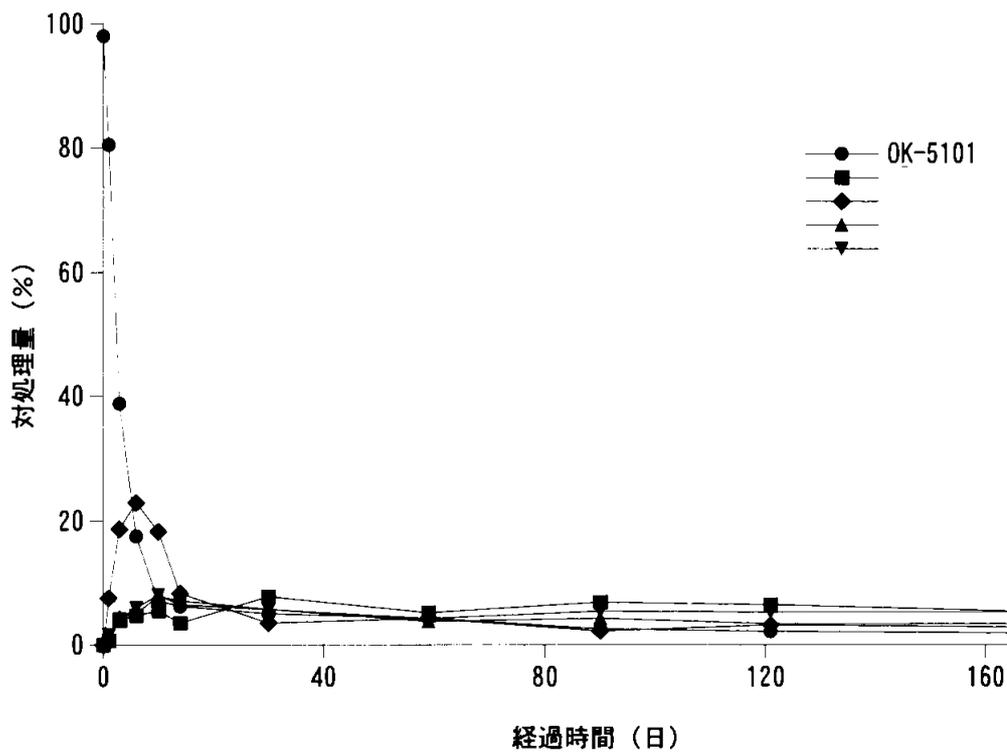


図3-3 土壌におけるシフルメトフェンおよび主要代謝物の経時変化 (B 標識体処理区)

### 3) 半減期

処理後0, 1, 3, 6および10日の残存率からシフルメトフェンの残存率を算出した。減衰曲線は1次分解式に相当し、半減期は2.76日(滅菌土壌では14.1日)となった。また、主要代謝物であるB-1の半減期は5.61日と算出された。推定代謝経路を図3-4に示した。

図3-4 シフルメトフェンの土壌中における推定代謝経路

#### 4. 水中運命に関する試験

##### 4. 1 加水分解運命試験

(資料 1 7 - 1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C] シフルメトフェン（

以下 A 標識体）および B-

[ring-U-<sup>14</sup>C] シフルメトフェン（

以下 B 標識体）

表 4 - 1 - 1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

標識位置の選定理由：

供試水溶液： pH 4.0 の 0.01M クエン酸緩衝液；クエン酸一カリウムと水酸化ナトリウムにより調製  
pH 5.0 の 0.01M 酢酸緩衝液；酢酸と酢酸ナトリウムにより調製  
pH 7.0 の 0.01M リン酸緩衝液；リン酸一カリウムと水酸化ナトリウムにより調製  
pH 9.0 の 0.01M ホウ酸緩衝液；塩化カリウム/ホウ酸と水酸化ナトリウムにより調製  
いずれの緩衝液についても，N<sub>2</sub> ガスを5分以上通気させて溶存酸素を除去し，滅菌フィルターを通過させて滅菌処理をした後，使用した。

試験方法：オートクレーブ滅菌した 250 ml ネジ蓋付ホウケイ酸ガラス製ねじ口瓶に各緩衝液を注入し，A および B 標識シフルメトフェンのアセトニトリル保存溶液を各々緩衝液に加えて 0.01 mg/l になるように調製した。この供試溶液を，暗黒下 25℃ で最長 30 日間振盪した後，経時的に図 4-1-1 に示す方法で精製・濃縮して試料調製した。得られた試料を放射能検出器付高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析して，主要放射性成分の定量と同定を行った。

図 4-1-1 シフルメトフェン加水分解試験の分析スキーム

結果： 1) 放射能の回収率  
 処理量から換算した放射能回収率を表 4-1-2 に示した。回収率は 94.2~103.5% となり、揮発性成分の生成は認められなかった。

表 4-1-2 処理放射能から換算した放射能回収率(%対処理量)

pH 4.0			pH 5.0			pH 7.0			pH 9.0		
時間 (日)	標識		時間 (日)	標識		時間 (時間)	標識		時間 (分)	標識	
	A	B		A	B		A	B		A	B
0	97.66	100.57	0	94.15	102.15	0	98.92	99.91	0	101.26	99.84
1	98.15	98.17	1	97.39	97.62	2	99.26	101.29	5	100.09	100.58
3	97.36	101.12	3	100.83	99.70	8	98.92	100.29	15	100.56	100.83
7	99.04	98.56	7	100.59	100.27	24	99.12	100.46	30	100.02	101.40
14	99.55	100.16	14	99.60	100.89	48	102.57	100.22	45	101.25	100.81
21	99.07	98.24	21	97.46	99.14	120	101.87	100.29	90	101.70	100.62
30	98.24	100.16	30	97.54	99.56	240	100.49	100.88	1440	103.47	100.61
						720	100.83				

2) 放射性成分の消長

親化合物の残存率および主要放射性成分の消長を表4-1-3~6および図4-1-2~9に示した。シフルメトフェンの加水分解速度は pH に依存し、pH が高くなるほど分解速度が速かった。

表4-1-3 pH4.0 緩衝液中のシフルメトフェンの残存率および分解物の生成率 (%対処理量)

処理区	放射性成分	分析時点 (日)						
		0	1	3	7	14	21	30
A 標識体								
	シフルメトフェン	93.79	90.73	71.89	48.46	26.93	14.87	6.26
B 標識体								
	シフルメトフェン	97.43	88.62	73.69	48.95	24.61	15.18	6.50

\*: 別法による分析値, --: 未実施, nd: 検出限界以下

表4-1-4 pH5.0 緩衝液中のシフルメトフェンの残存率および分解物の生成率 (%対処理量)

処理区	放射性成分	分析時点 (日)						
		0	1	3	7	14	21	30
A 標識体								
	シフルメトフェン	94.15	85.38	71.78	45.34	18.91	8.71	5.15
B 標識体								
	シフルメトフェン	99.99	82.89	68.76	43.02	19.14	8.70	2.85

\*: 別法による分析値, --: 未実施, nd: 検出限界以下

表 4-1-5 pH7.0 緩衝液中のシフルメトフェンの残存率および分解物の生成率 (%対処理量)

処理区	放射性成分	分析時点 (時間)							
		0	2	8	24	48	120	240	720
A 標識体									
	シフルメトフェン	97.95	82.29	53.31	19.02	6.32	nd	nd	nd
B 標識体									
	シフルメトフェン	98.06	86.97	55.81	16.83	3.29	nd	nd	--

\* : 別法による分析値, -- : 未実施, nd : 検出限界以下

表 4-1-6 pH9.0 緩衝液中のシフルメトフェンの残存率および分解物の生成率 (%対処理量)

処理区	放射性成分	分析時点 (分)						
		0	5	15	30	45	90	1440
A 標識体								
	シフルメトフェン	101.26	64.94	26.87	16.46	9.02	nd	nd
B 標識体								
	シフルメトフェン	97.86	63.14	25.88	10.08	11.53	5.58	nd

\* : 別法による分析値, -- : 未実施, nd : 検出限界以下

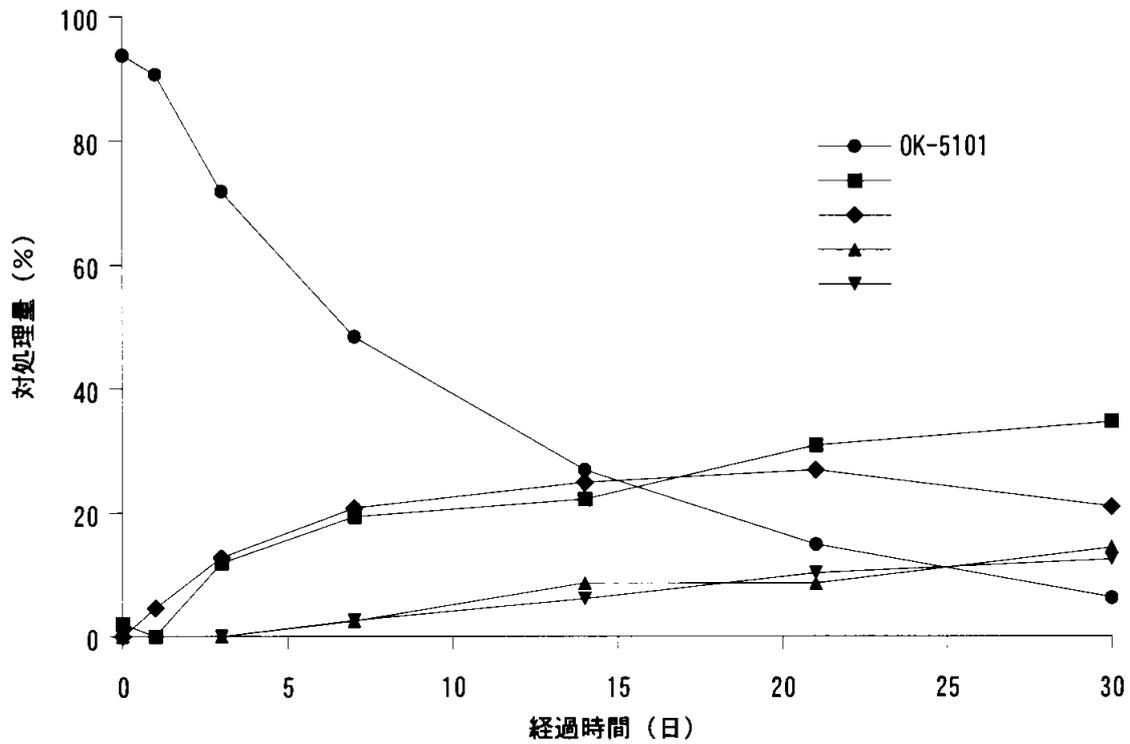


図4-1-2 pH 4.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (A 標識体処理区)

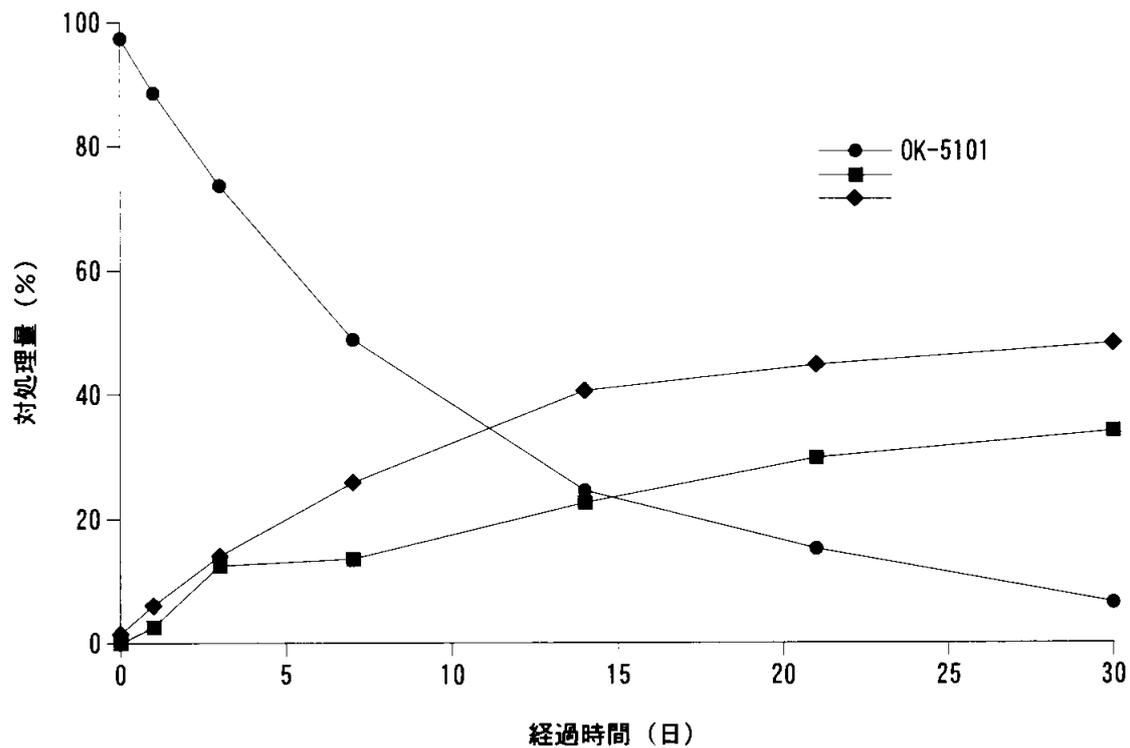


図4-1-3 pH 4.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (B 標識体処理区)

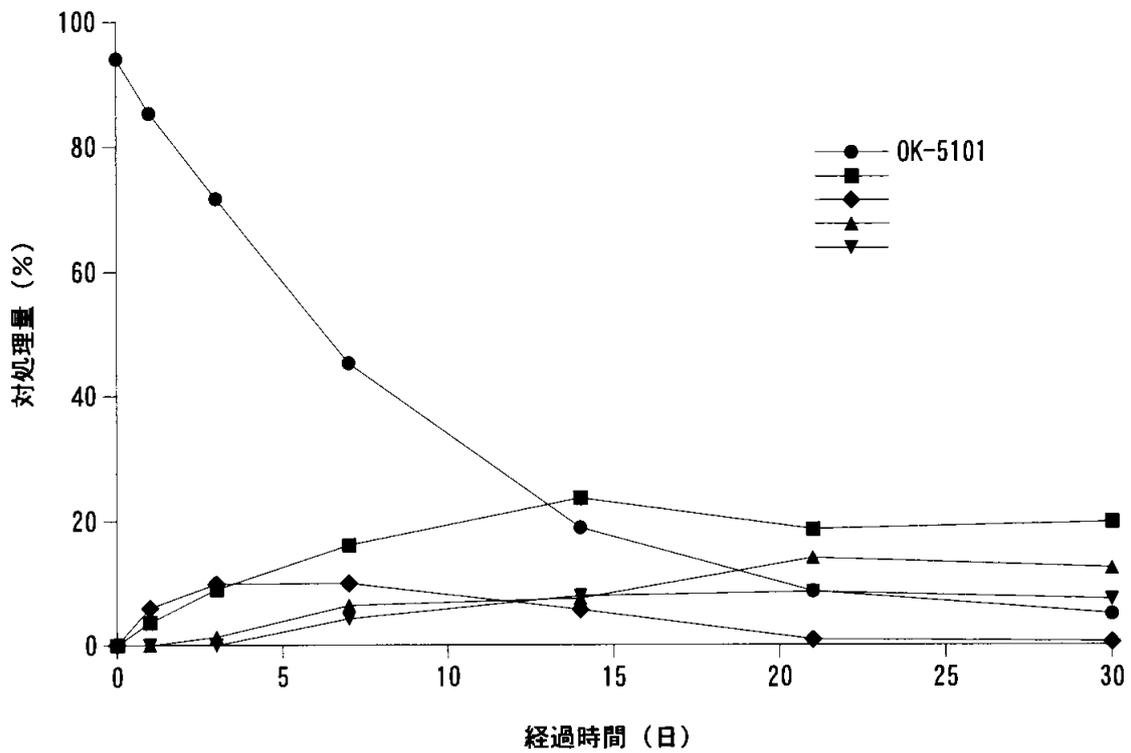


図 4-1-4 pH 5.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (A 標識体処理区)

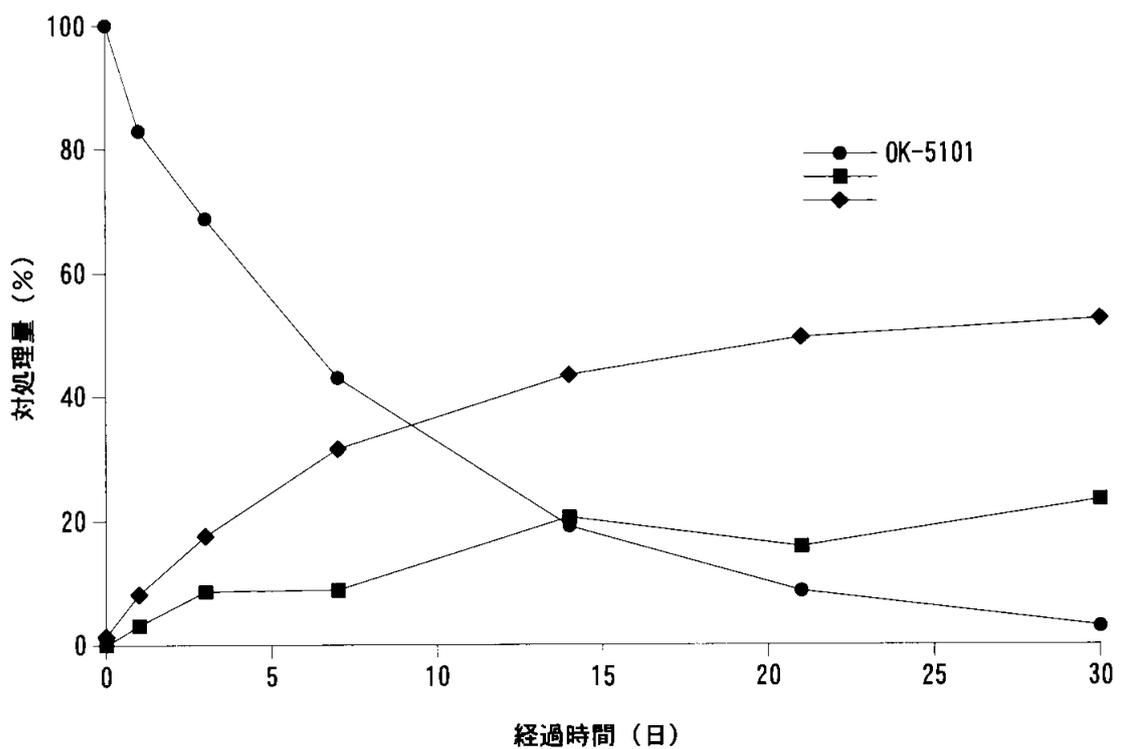


図 4-1-5 pH 5.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (B 標識体処理区)

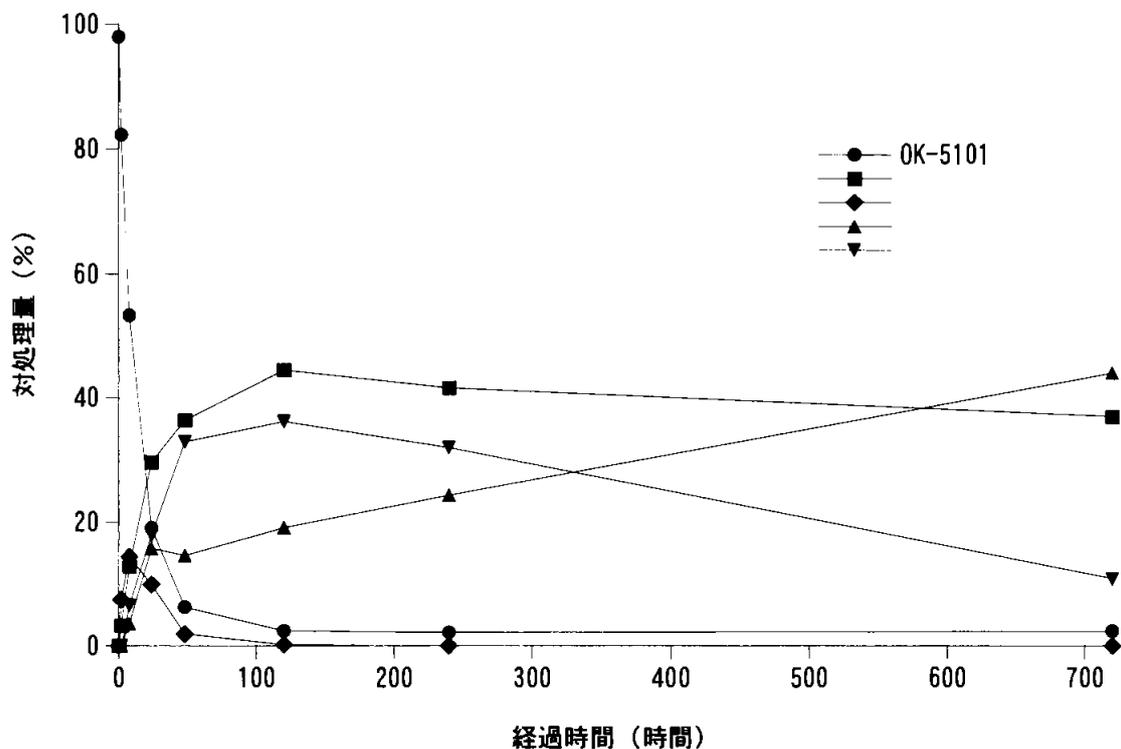


図 4-1-6 pH 7.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (A 標識体処理区)

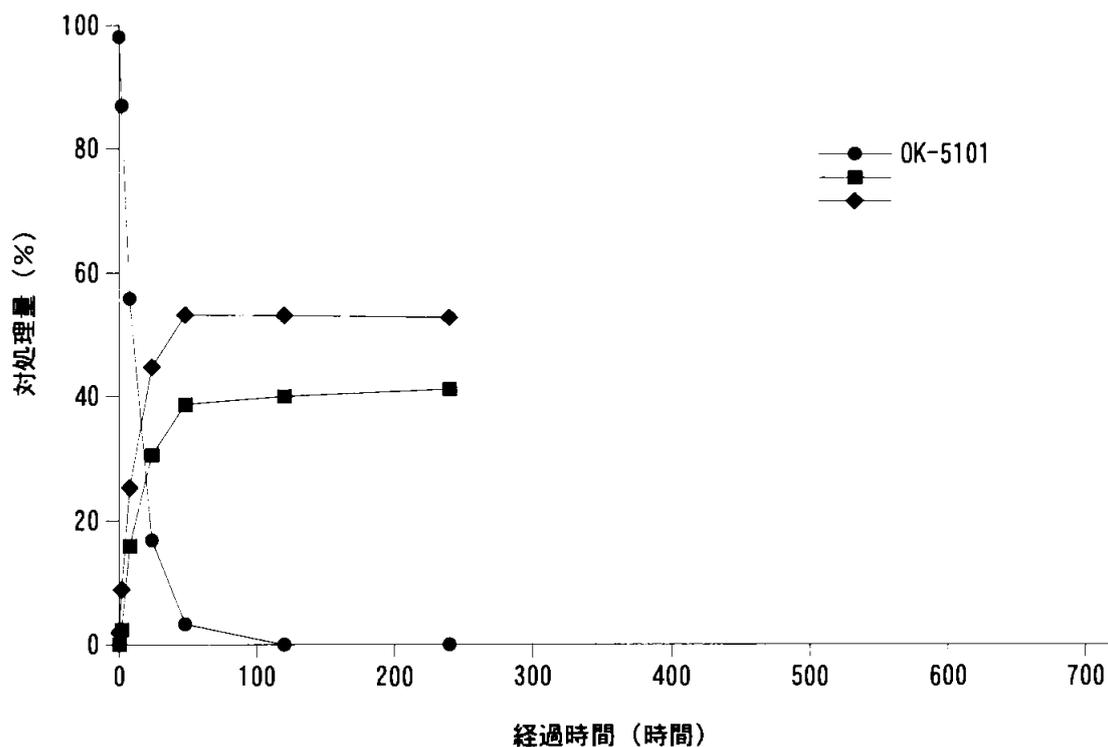


図 4-1-7 pH 7.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (B 標識体処理区)

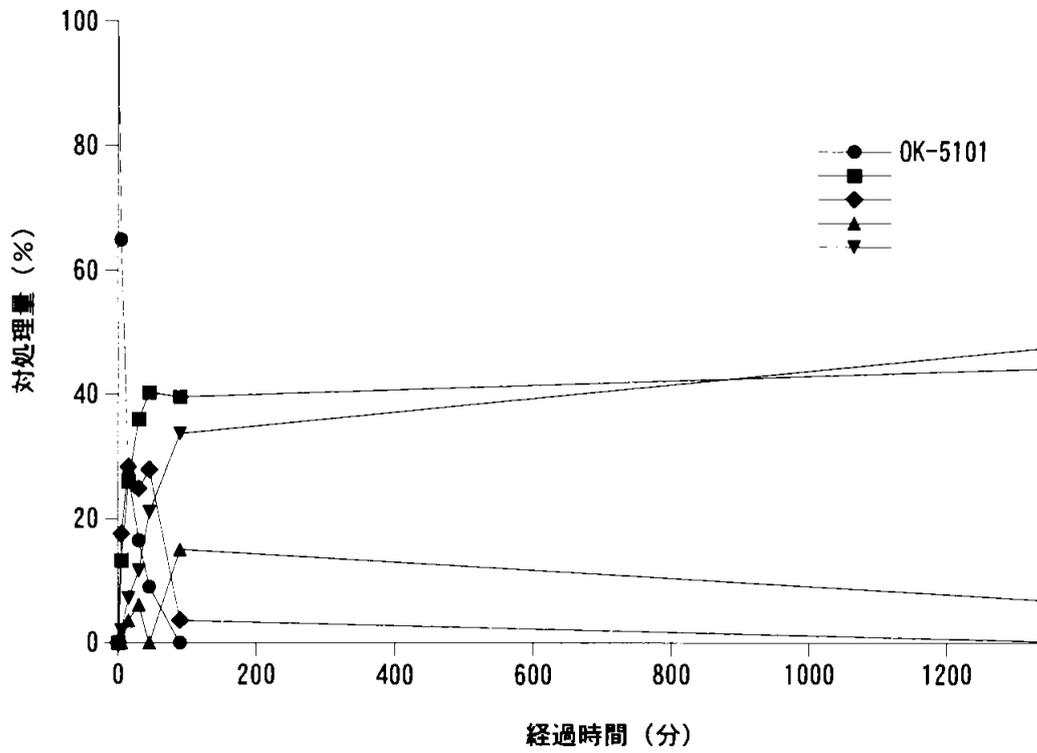


図4-1-8 pH 9.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (A 標識体処理区)

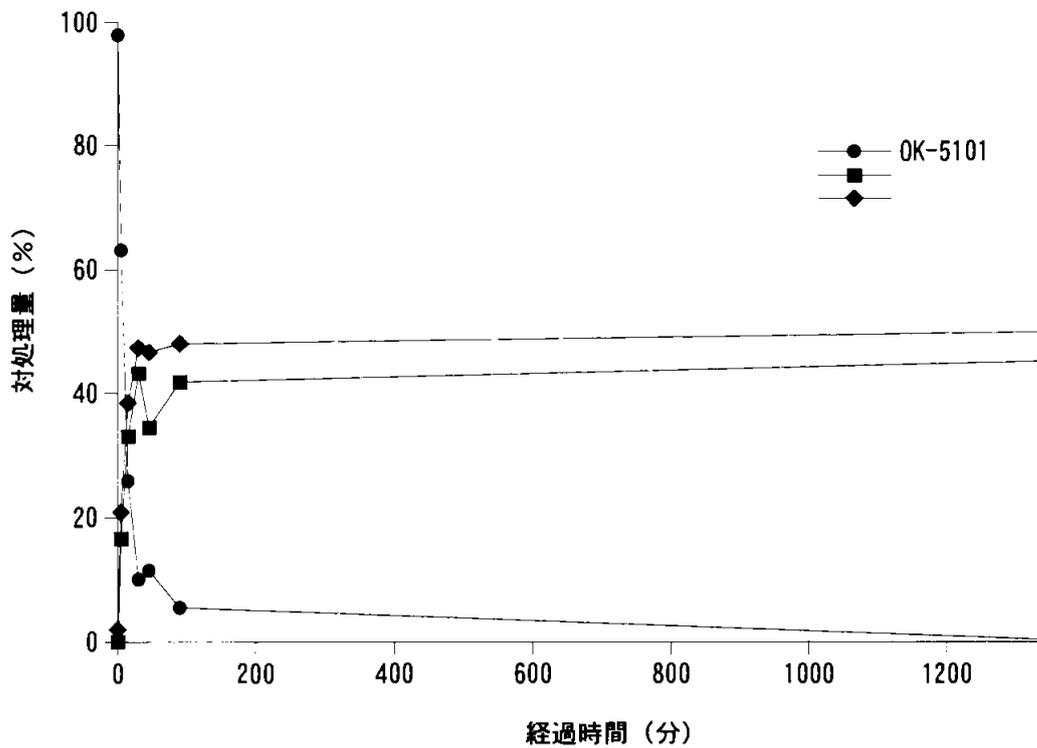


図4-1-9 pH 9.0 緩衝液中におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (B 標識体処理区)

3) 半減期

シフルメトフェンの pH4.0, 5.0, 7.0 および 9.0 緩衝液中での半減期および 90%減衰期を表4-1-7に示した。親化合物はいずれの pH 条件下でも擬1次反応に従って加水分解され、pH4.0, 5.0, 7.0 および 9.0 の半減期はそれぞれ 7.7 日, 6.0 日, 9.8 時間および 10.3 分であった。

シフルメトフェンの推定加水分解経路を図4-1-10に示した。

表4-1-7 シフルメトフェンの加水分解半減期および90%減衰期

緩衝液	標識体	DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>	相関係数 (r <sup>2</sup> )
pH4.0	A	7.7 日	25.6 日	0.9991
	B	7.7 日	25.6 日	0.9977
	平均	7.7 日	25.6 日	—
pH5.0	A	6.0 日	20.0 日	0.9988
	B	6.0 日	20.0 日	0.9994
	平均	6.0 日	20.0 日	—
pH7.0	A	10.3 時間	34.1 時間	0.9984
	B	9.4 時間	31.1 時間	0.9997
	平均	9.8 時間	32.6 時間	—
pH9.0	A	11.5 分	38.0 分	0.9428
	B	9.1 分	30.4 分	0.9918
	平均	10.3 分	34.2 分	—

図4-1-10 シフルメトフェンの推定加水分解経路

4. 2 水中光分解運命試験

(資料17-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 A 標識体）および B-

[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（

以下 B 標識体）

表4-2-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

標識位置の選定理由：

供試水溶液:

- 1) pH 5.0 の 0.01M 酢酸緩衝液；酢酸と酢酸ナトリウムにより調製  
N<sub>2</sub> ガスを 5 分以上通気させて溶存酸素を除去し，滅菌フィルターを通過させて滅菌処理した後，使用した。
- 2) 河川水；下記の場所にて採取した河川水を，滅菌フィルターを通過させて滅菌処理した後，使用した。  
採取場所:茨城県筑波郡谷和原村，小貝川  
採取年月日：2003 年 11 月 7 日

光源： キセノンショートアークランプ 6.5 kW (290 nm 以下の紫外線および 800 nm 以上の赤外線  
を除去するためのフィルター使用)

光強度： 20.00 W/m<sup>2</sup> (波長範囲 290~400 nm)  
19.96 W/m<sup>2</sup> (波長範囲 300~400 nm)  
179.9 W/m<sup>2</sup> (波長範囲 290~800 nm)

試験方法： pH 5.0 緩衝液および河川水 400 ml を密栓付き 500 ml 石英製試料瓶に加え，シフルメトフェンの両標識化合物のアセトニトリル保存溶液を各々，水溶解度 (0.0281 mg/l) の 1/2 以下の 0.01 mg/l になるように注入して (アセトニトリル含有率 1% 以下)，試験溶液を調製した。これら試料を試料採取時点毎に調製し，25 ± 1 °C で人工光を照射した。照射 0 ~ 48 時間の 7 時点で，各試料溶液に酢酸 1 ml を加え，C-18 ミニカラムを用いて固相抽出した後，アセトニトリルで溶出し，試料溶液とした (図 4-2-1)。得られた試料を放射能検出器付高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析して，主要放射性成分の定量と同定を行った。

図4-2-1 シフルメトフェン水中光分解試験の分析スキーム

結果： 1) 放射能の回収率

施用量から換算した回収率を表4-2-2に示した。回収率は95.6~103.6%となり、揮発性成分の生成は認められなかった。

表4-2-2 処理放射能から換算した回収放射能(%対処理量)

時間	pH 5.0 緩衝液				河川水			
	光照射下		暗黒対照区		光照射下		暗黒対照区	
	A 標識体	B 標識体	A 標識体	B 標識体	A 標識体	B 標識体	A 標識体	B 標識体
0分	96.79	97.63	96.79	97.63	96.94	98.76	96.94	98.76
20分	96.10	95.57	97.52	96.99	99.68	98.01	96.72	99.29
40分	100.01	99.37	96.82	98.21	98.76	100.57	98.44	100.81
1時間	98.70	98.60	98.59	98.93	99.35	99.44	99.50	99.02
2時間	100.73	100.88	96.05	97.34	100.34	102.21	99.93	99.05
4時間	101.26	101.41	99.68	99.62	100.23	101.31	101.87	102.71
2日	103.63	102.05	96.44	97.48	98.83	100.58	100.96	101.26

## 2) 分解物の分析

未変化体シフルメトフェンの残存率および代謝物の生成率を表4-2-3~6に、シフルメトフェンと分解物の経時変化(光照射区)を図4-2-2~5に示した。

シフルメトフェンの河川水での水中光分解速度はpH5.0緩衝液より速く、光照射によりその分解速度が加速された。

表4-2-3 pH5.0 緩衝液中，光照射下におけるシフルメトフェンの残存率  
および分解物の生成率（%対処理量）

処理区	分解物	試料採取時間						
		0分	20分	40分	1時間	2時間	4時間	2日
A 標識体								
	シフルメトフェン	93.96	73.46	63.03	51.52	29.49	8.61	0.98
B 標識体								
	シフルメトフェン	94.30	76.59	63.82	47.36	35.43	12.08	0.74

表4-2-4 pH 5.0 緩衝液中，暗黒対照区におけるシフルメトフェンの残存率および  
分解物の生成率（%対処理量）

処理区	分解物	試料採取時間						
		0分	20分	40分	1時間	2時間	4時間	2日
A 標識体								
	シフルメトフェン	93.96	91.76	91.27	95.53	90.80	97.51	73.23
B 標識体								
	シフルメトフェン	94.30	90.96	93.47	93.68	90.75	93.42	72.75

表4-2-5 河川水中での光照射下におけるシフルメトフェンの残存率および分解物の生成率(%対処理量)

処理区	分解物	試料採取時間						
		0分	20分	40分	1時間	2時間	4時間	2日
A 標識体								
	シフルメトフェン	93.92	74.33	53.41	41.59	20.21	5.20	<0.77
B 標識体								
	シフルメトフェン	95.61	72.23	56.50	40.61	19.75	9.04	<0.79

表4-2-6 河川水中の暗黒対照区シフルメトフェンの残存率および分解物の生成率(%対処理量)

処理区	分解物	試料採取時間						
		0分	20分	40分	1時間	2時間	4時間	2日
A 標識体								
	シフルメトフェン	93.92	84.62	81.59	78.53	64.16	42.84	1.27
B 標識体								
	シフルメトフェン	95.61	85.88	81.17	75.58	56.09	40.30	0.95

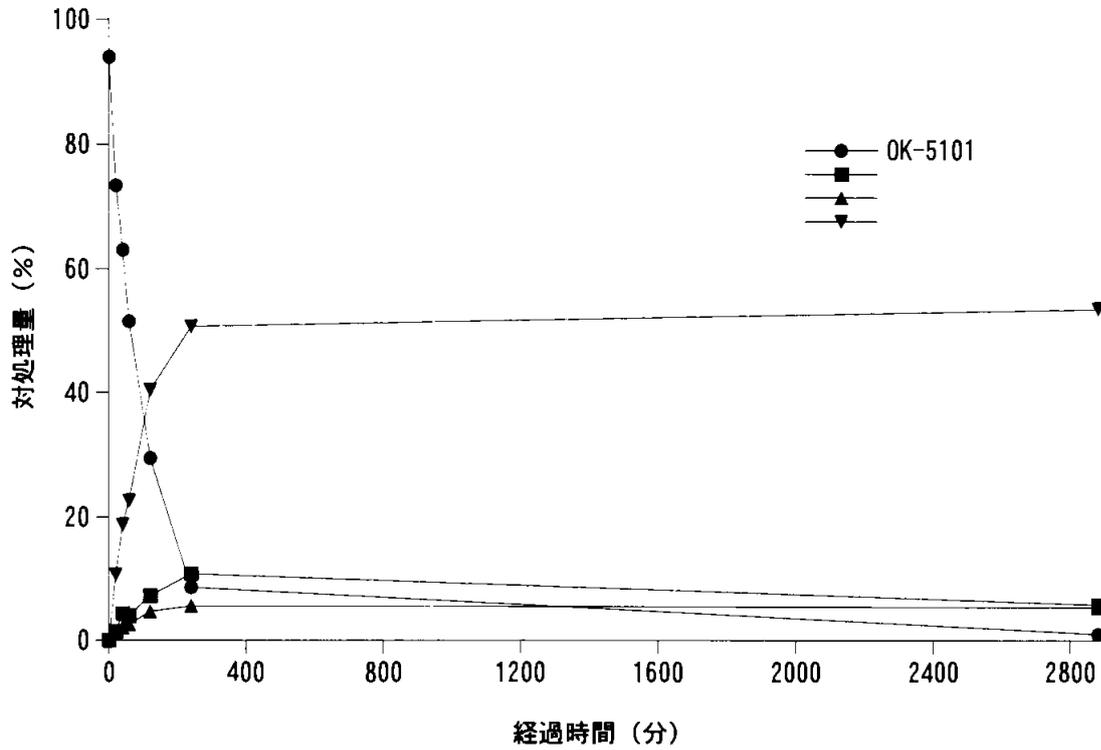


図 4-2-2 pH5.0 緩衝液中の光照射下におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (A 標識体処理区)

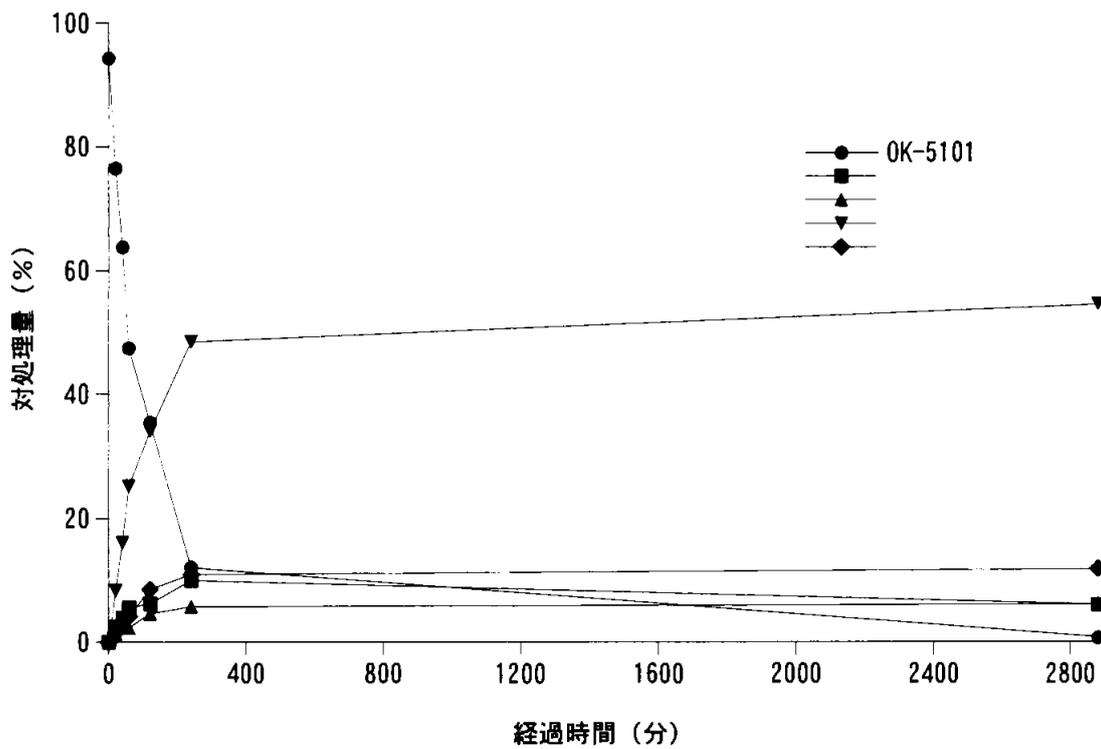


図 4-2-3 pH5.0 緩衝液中の光照射下におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (B 標識体処理区)

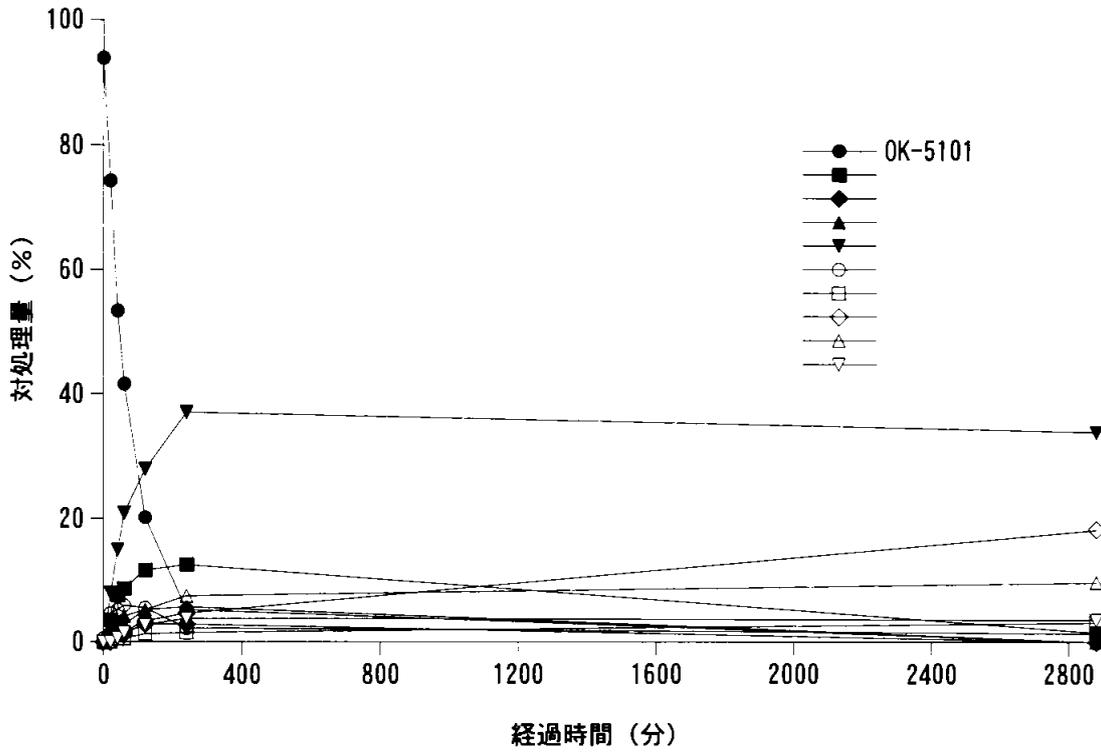


図4-2-4 河川水中の光照射下におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (A 標識体処理区)

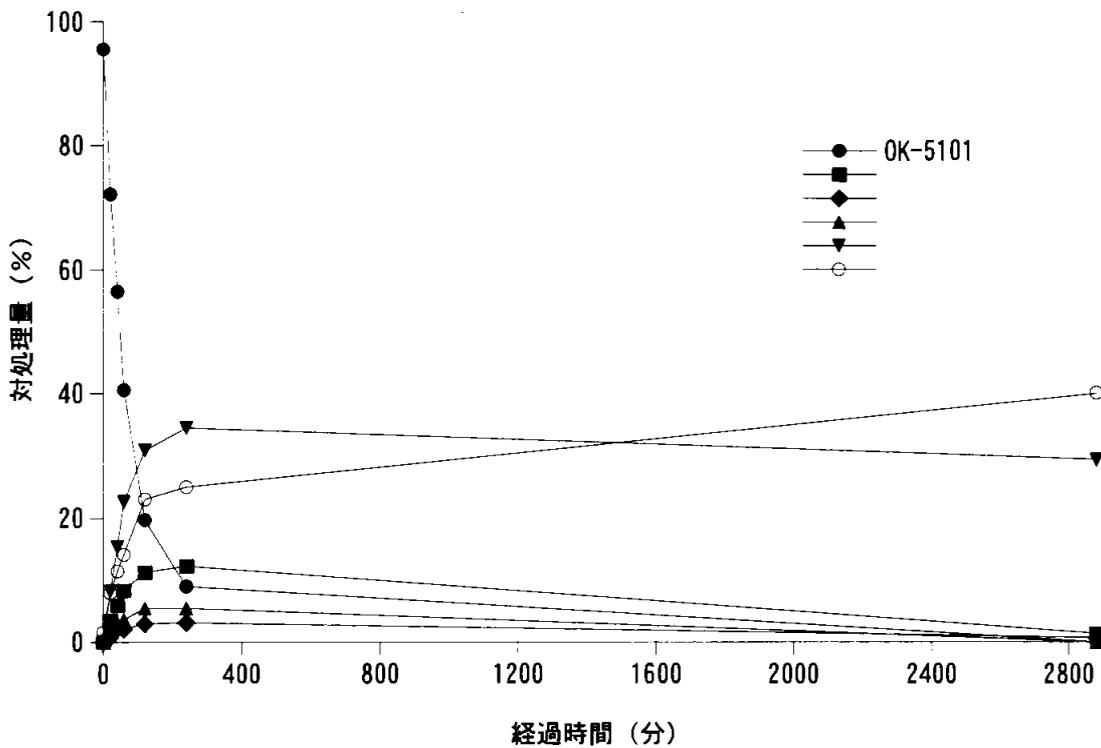


図4-2-5 河川水中の光照射下におけるシフルメトフェンおよび主要分解物の経時変化 (B 標識体処理区)

3) 半減期

シフルメトフェンの水中光分解試験における半減期および 90%減衰期を表4-2-7に示した。pH 5.0 緩衝液中および河川水中でのシフルメトフェンの半減期はそれぞれ 1.28, 1.07 時間で、自然太陽光に換算するとそれぞれ 3.29, 2.74 時間となった。

シフルメトフェンの推定水中光分解経路を図4-2-6に示した。

表4-2-7 シフルメトフェンの水中光分解半減期および 90%減衰期 (時間)

試験区	標識体	光照射区					暗所対照区		
		DT <sub>50</sub>		DT <sub>90</sub>		相関係数 (r <sup>2</sup> )	DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>	相関係数 (r <sup>2</sup> )
		人工光	太陽光換算値 <sup>a</sup>	人工光	太陽光換算値 <sup>a</sup>				
pH5.0 緩衝液	A	1.17	3.01	3.90	10.00	0.9992	135	449	0.8997
	B	1.39	3.56	4.61	11.84	0.9902	134	445	0.9698
	平均	1.28	3.29	4.26	10.92		134	447	
河川水	A	0.96	2.46	3.19	8.19	0.9979	3.61	12.0	0.9956
	B	1.17	3.01	3.90	10.01	0.9682	3.19	10.6	0.9863
	平均	1.07	2.74	3.55	9.10		3.40	11.3	

a: 北緯 35 度 (東京) での春 (4~6 月) に相当。

図4-2-6 シフルメトフェンの推定水中光分解経路

## 5. 1 土壌吸着性試験

(資料18-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

検体の純度：

試験方法：本剤は水溶解度が低く、加水分解的に不安定であることから、「12 農産第 8147 号, 2-9-10, 2000 年」および「OECD ガイドライン, No. 106, 2000 年」に準じたバッチ吸着法による土壌吸着性試験は実施困難と判断し、本試験は、「OECD ガイドライン, No. 121, 2001 年」に準じ、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法により有機炭素含量補正した土壌吸着係数 ( $K_{oc}$ ) を測定した。

### 1) HPLC 測定条件

高速液体クロマトグラフ：1100 Series (Agilent Technologies, CA, USA)

カラム：ZORBAX CN (Agilent Technologies), 内径 4.6 mm, 長さ 150 mm

移動相：メタノール/水 (55:45, v/v)

測定波長：210 nm

流量：1.0 mL/min

カラム温度：25°C

注入量：5  $\mu$ l

HPLC 装置のデッドタイム ( $t_0$ ) 測定用の標準物質には尿素を使用した。

### 2) 検量線の作成

標準物質には、フェノール、4-メチルベンズアミド、メチルベンゾエート、ナフタレン、1, 2, 3-トリクロロベンゼン、フェンチオン、フェナントレンおよび *p, p*-DDT を選定した。各標準物質の一定量を HPLC 装置に 5 回ずつ連続して注入し、 $t_0$  および各標準物質の保持時間 ( $t_R$ ) を測定した。第 3, 4 および 5 回目の保持時間からキャパシティーファクター ( $k'$ ) を算出した。横軸に既知の有機炭素含量補正した土壌吸着係数対数値 ( $\log K_{oc}$ )、横軸に  $k'$  の対数値 ( $\log k'$ ) をとって検量線を作成した。

### 3) 有機炭素含量補正した土壌吸着係数対数値の算出

メタノールおよび水を用いて 100 mg/l の濃度に調製した検体標準溶液を HPLC 装置に注入して、 $t_0$  および  $t_R$  を 5 連で測定した。第 3, 4 および 5 回目の保持時間から  $k'$  を求め、検量線から  $\log K_{oc}$  を算出した。

### 4) 測定精度の確認

メタノールおよび水を用いて 200 mg/l の濃度に調製した検体標準溶液を HPLC 装置に注入して、 $t_0$  および  $t_R$  を 5 連で測定した。第 3, 4 および 5 回目の保持時間から  $k'$  を求め、検量線から  $\log K_{oc}$  を算出した。

結果： HPLC 装置の  $t_0$  測定用の標準物質である尿素の保持時間を表 3-4-1 に示した。

表 3-4-1 HPLC 装置の  $t_0$  測定結果

標準物質	保持時間 (分)		
	測定値	平均値	標準偏差
尿素	1.812	1.813	±0.0015
	1.815		
	1.813		

標準溶液濃度：10000 mg/l

検量線作成用の各標準物質の保持時間および  $k'$  を表 3-4-2 に示した。

フェノールおよび 4-メチルベンズアミドの序列が、試験ガイドラインに示された  $K_{oc}$  と逆転していたが、全体としての直線性は相関係数 ( $r$ ) 0.95 以上であり、問題は認められなかった。

表 3-4-2 検量線用標準溶液の保持時間および  $k'$

標準物質名	log $K_{oc}$	保持時間 (分)	$K'$	log $k'$	log $k'$ 平均値 ± 標準偏差
フェノール	1.32	2.828	0.560	-0.252	-0.258 ±0.0060
		2.815	0.553	-0.257	
		2.800	0.544	-0.264	
4-メチルベンズアミド	1.78	2.468	0.361	-0.442	-0.449 ±0.0070
		2.457	0.355	-0.450	
		2.448	0.350	-0.456	
メチルベンゾエート	1.80	3.330	0.837	-0.077	-0.084 ±0.0065
		3.307	0.824	-0.084	
		3.285	0.812	-0.090	
ナフタレン	2.75	5.285	1.915	0.282	0.275 ±0.0065
		5.229	1.884	0.275	
		5.178	1.856	0.269	
1, 2, 3-トリクロロベンゼン	3.16	5.807	2.203	0.343	0.337 ±0.0055
		5.752	2.173	0.337	
		5.703	2.146	0.332	
フェンチオン	3.31	8.115	3.476	0.541	0.532 ±0.0090
		7.981	3.402	0.532	
		7.865	3.338	0.523	
フェナントレン	4.09	8.856	3.885	0.589	0.589 ±0.0000
		8.848	3.880	0.589	
		8.846	3.879	0.589	
$p, p'$ -DDT	5.63	19.794	9.918	0.996	0.997 ±0.0006
		19.799	9.921	0.997	
		19.809	9.926	0.997	

標準溶液濃度：100 mg/l

$k' = (t_R - t_0) / t_0$ ,  $t_0$  = 尿素の保持時間 (分),  $t_R$  = 標準物質の保持時間 (分)

検体の実測値、 $k'$ および  $\log K_{oc}$  を表 3-4-3 に示した。

HPLC 法により得られた検体の  $\log K_{oc}$  は 5.12 であり、その標準偏差は 0.000 であった。この結果から、検体の  $K_{oc}$  は 131826 と算出された。得られた  $K_{oc}$  より、検体の土壤中での移動度を McCall らの化学物質の移動度に関する報告<sup>1)</sup>に基づき分類すると「immobile」に該当した。

表 3-4-3 検体の実測値、 $k'$ および  $\log K_{oc}$

保持時間 (分)	$k'$	$\log k'$	$\log K_{oc}$	$\log K_{oc}$ 平均値 ± 標準偏差	$K_{oc}$
17.384	8.589	0.934	5.12	5.12 ±0.000	131826
17.396	8.595	0.934	5.12		
17.400	8.597	0.934	5.12		

試験溶液濃度：100 mg/l

$k' = (t_R - t_0) / t_0$ ,  $t_0$  = 尿素の保持時間 (分),  $t_R$  = 標準物質の保持時間 (分)

検体の測定精度における実測値、 $k'$ および  $\log K_{oc}$  を表 3-4-4 に示した。

HPLC 法により得られた検体の  $\log K_{oc}$  は 5.12 であり、その標準偏差は 0.000 であった。この結果から、検体の  $K_{oc}$  は 131826 と算出された。精度確認で得られた  $K_{oc}$  と本試験で得られた  $K_{oc}$  は一致しており分析精度は良好であったと判断された。

表 3-4-4 検体の測定精度における実測値、 $k'$ および  $\log K_{oc}$

保持時間 (分)	$k'$	$\log k'$	$\log K_{oc}$	$\log K_{oc}$ 平均値 ± 標準偏差	$K_{oc}$
17.355	8.573	0.933	5.12	5.12 ±0.000	131826
17.362	8.576	0.933	5.12		
17.376	8.584	0.934	5.12		

試験溶液濃度：200 mg/l

$k' = (t_R - t_0) / t_0$ ,  $t_0$  = 尿素の保持時間 (分),  $t_R$  = 標準物質の保持時間 (分)

1) P. J. McCall *et al.*: Measurement of Sorption Coefficients of Organic Chemicals and Their Use in Environmental Fate Analysis, Test Protocol for Environmental Fate and Movement of Toxicants, A. O. A. C. Symposium Proceeding, 94th annual meeting, Oct. 21-22, 1980, pp 89-106.

## 5. 2 生物濃縮性試験

(資料 物-21)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 2007 年

被験物質： B-[ring-U-<sup>14</sup>C] シフルメトフェン (B-[ring-U-<sup>14</sup>C] OK-5101)

化学名 [CAS 名]； 2-メトキシエチル=α-シアノ-α-[4-(1,1-ジメチルエチル)フェニル]-β-オキソ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼンプロパノアート

標識位置；

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の選定理由；

なお、高濃度処理区用の被験物質は、非放射能標識体で希釈して標識体の割合を 10%にした。

供試魚：コイ (*Cyprinus carpio*)

放飼魚数:処理区:各 48 尾、対照区:22 尾

試験開始時の平均体重及び体長:1.95±0.74 g、4.2±0.5 cm

順化:取込段階とほぼ同一飼育条件下で、少なくとも 12 日間にわたって蓄養し、健康状態を観察したもの。

供試水： 180 mg CaCO<sub>3</sub>/L の硬度及び pH 7.7±0.3 に調整した ISO 飼育水（原液の調製に用いた溶媒アセトンを、100 mg/L の濃度で含む。対照区もアセトンを同一濃度で含む）

試験方法：

方式； 連続流水式

試験期間； 取込段階 21 日間、排泄段階 32 日間

試験濃度； 処理区－設定値 1.0 µg/L (21 日間の平均実測値:親化合物相当で 1.0±0.059 µg/L)  
設定値 10 µg/L (同平均実測値:親化合物相当で 11±1.0 µg/L)

対照区－0 µg/L (アセトンを上記濃度で含む希釈水のみ)

試験濃度の選定理由；本供試化合物のコイに対する 96 時間 LC<sub>50</sub>は > 540 µg/L と高いが、それより低い値である水溶解度 [28.1 µg/L (20℃)] を基に、上記の試験濃度を選定した。

試験原液；本被験物質は水中で加水分解することが判明していることから、希釈前の原液はアセトンに溶解して、試験濃度の 10000 倍の濃度で調製した。

試験容器； 取込段階:100 L ステンレススチール製水槽  
排泄段階:33 L ガラス製水槽

試験温度； 21.7～22.0℃ (対照区及び処理区の各水槽における実測値)

試験 pH； 7.0～8.1 (各試験水槽における実測値)

溶存酸素； 6.0～8.6 mg/L (各試験水槽における実測値。上記水温における飽和値の > 60%)

照明条件； 16 時間の明条件

給餌； 市販の魚類用飼料 (魚の総体重の 2%/日/水槽)

魚の観察； 1 回/日

送液装置； マイクロディスペンサー付属のコンピュータ制御の連続希釈・送液装置 (希釈率:10000 倍、送液量:16 L/時間、換水率:処理区の 100 L を約 4 回/日)

試料の採取； 両区の水槽から、下記に従って試料を採取して分析に供試した。

試料	採取量及び点数	採取時期 (取込段階開始後の経過日数)	
		取込段階	排泄段階
水	100 又は 300 mL×1 点	-1, 0, 1, 3, 7, 10, 21	-
魚	対照区 1 尾、処理区各 2 尾	1, 3, 7, 10, 21	23, 28, 35, 50

分析方法：

分析対象； 試験水並びに全魚体中の放射能標識化合物

分析法； 魚試料は、均質化し可溶化した後に過酸化水素により漂白し、液体シンチレーション計数 (LSC) により放射能を測定 (水試料は、直接測定) した。

放射性成分の分離及び定量；

本試験では、定性分析を除き放射性成分を分離しては定量せず、放射能測定値を全て被験物質によるとみなして解析した (測定値は親化合物当量で表示)。定性分析には、薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いた。

脂質含量； 洗浄し水分を拭き取った後に秤量し、均質化して溶媒抽出により測定した。

試験結果：

魚の一般状態； 全試験期間を通じて、死亡又は異常な行動は観察されなかった。

水中及び魚体中濃度の経時的変化；

(1) 取込及び排泄期間中の魚体中の被験物質濃度

単位； $\mu\text{g/g}$  魚

試験区 ( $\mu\text{g/L}$ )	取込期間 (日)					排泄期間 (日)			
	1	3	7	10	21	23	28	35	50
1.0	0.12	0.16	0.15	0.18	0.20	0.084	0.048	0.029	0.017
10	1.3	1.5	1.4	1.7	1.8	0.72	0.41	0.27	0.14

魚体中の被験物質濃度は、取込段階 3 日後に定常状態の濃度に到達した。両濃度における定常状態時の平均魚体中濃度 (親化合物当量) は、低濃度区で  $0.17 \pm 0.02 \mu\text{g/L}$  及び高濃度区で  $1.6 \pm 0.18 \mu\text{g/L}$  であった。

(2) 取込期間中の試験水中の被験物質濃度

単位； $\mu\text{g/L}$  水

試験区 ( $\mu\text{g/L}$ )	取込期間 (日)					
	0	1	3	7	10	21
1.0	0.89	0.94	1.0	1.0	1.0	1.0
10	9.2	9.7	11	10	11	12

試験水中の平均被験物質濃度は、1.0 及び  $10 \mu\text{g/L}$  の設定濃度においてそれぞれ  $1.0 \pm 0.059$  及び  $11 \pm 1.0 \mu\text{g/L}$  であり、実測濃度の変動は両試験区において平均濃度の  $\pm 20\%$  以内にあり、ほぼ一定していた。

(3) 生物濃縮係数

①  $BCF_{ss}$

試験区 ( $\mu\text{g/L}$ )	魚体中濃度 ( $C_f$ ) ( $\mu\text{g/g}$ )	水中濃度 ( $C_w$ ) ( $\mu\text{g/L}$ )	濃縮係数 ( $BCF_{ss}$ )
1.0	$0.17 \pm 0.02$	$0.96 \pm 0.050$	$176 \pm 22$
10	$1.6 \pm 0.18$	$10 \pm 0.66$	$158 \pm 13$

②  $BCF_k$

試験区 ( $\mu\text{g/L}$ )	取込の速度定数 ( $k_u$ ) (1/日)	濃縮係数 ( $BCF_k$ )
1.0	462	$179 \pm 23$
10	427	$159 \pm 14$

排泄の半減期；

両試験区の魚からの排泄の半減期は、 $6.2 \sim 6.4$  時間であり、魚からの 90% の消失は 21 時間後に達成された。

試験水及び魚体中の親化合物量；

全取込期間中の試験水中に存在した親化合物の割合は両試験区において、約 50%であった

(本被験物質は、25℃、pH 7 の水中において半減期 5 時間で加水分解することが判明している)。一方、魚体中に蓄積された被験物質当量の中に占める親化合物の割合はほぼ 0%であり、検出限界に基づいて算定した親化合物の濃縮係数は、30 (目標濃度：1.0 µg/L) 及び 29 (目標濃度：10 µg/L) と考えられた。

結論：

以上の取込及び排泄データから、本化合物の取込段階の 3 日目までに定常状態に到達し、清浄な水に戻すと 1 日以内に 90% が体外に排泄されると推測された。試験した 2 つの濃度における結果を合わせると、 $BCF_{ss}$  は  $163 \pm 19$  及び  $BCF_k$  は  $165 \pm 20$  となり、本被験物質は魚類には濃縮され難いと考えられた。さらに、試験水及び魚体中に存在する被験物質についての定性分析の結果から、この試験で観察された僅かな生物濃縮は、代謝物 (水中分解物) によるものであり、親化合物の濃縮係数は最大でも約 30 となると考えられる。

5. 3 加水分解試験

(資料18-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004年

供試標識化合物：A-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（以下 A 標識体）および B-[ring-U-<sup>14</sup>C]シフルメトフェン（以下 B 標識体）

表4-1-1 シフルメトフェン標識化合物の放射化学的純度と比放射能

標識体	放射化学的純度 (%)	比放射能 (GBq/mmol)
A		
B		

標識位置の選定理由：

- 供試水溶液：0.01M pH 4.0 緩衝液；水酢酸と水酸化ナトリウムにより調製  
 0.01M pH 7.0 緩衝液；リン酸二ナトリウムと水酸化ナトリウムにより調製  
 0.01M pH 9.0 緩衝液；ホウ酸と水酸化ナトリウムにより調製

試験方法： 全ての容器，ガラス器機，緩衝液およびその他の試験に使用する器具をオートクレーブ滅菌した。緩衝液をオートクレーブにかけることにより，滅菌状態を与え，酸素の除去を行った。滅菌した pH 4.0, 7.0 および 9.0 緩衝液 20mL 中に，0.01 mg/L になるように，標識したシフルメトフェンのアセトニトリル溶液（0.2mL）を加えた。試験溶液を，暗黒条件下，25℃±2℃および 40℃±2℃で，最長 30 日間振盪した。振盪した試験溶液中の総放射能濃度およびシフルメトフェンの相対量を，液体シンチレーション計測（LSC）および高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により測定し，個々の pH 値におけるシフルメトフェンの加水分解半減期を算出した。

- 結果： 1) 放射能の回収率および試験溶液の状態  
<sup>14</sup>C-シフルメトフェン添加後，種々の時点における試験溶液中の総回収率は，pH 4 緩衝液 A 標識体処理 720 時間後の試料を除き，処理放射能に対して 88-112%の範囲であった（表 1 および 2）。また，試験溶液の pH は有意な変化は認められず，細菌の混入を示す事象は認められなかった。

表 1 25℃振盪条件下における各試験溶液からの放射能回収率（%対処理量）

pH 4.0			pH 7.0			pH 9.0		
時間 (時間)	標識		時間 (時間)	標識		時間 (時間)	標識	
	A	B		A	B		A	B
0	95.0	94.9	0	100.5	94.4	0	103.1	102.1
4	107.8	112.2	4	98.1	101.3	0.08	102.5	101.3
8	105.5	98.3	8	92.6	97.3	0.17	101.7	99.4
24	98.3	94.0	24	91.3	98.8	0.33	102.7	102.8
120	97.0	103.8	120	96.2	96.2	0.50	102.3	101.7
360	92.2	91.9	360	98.2	98.1	0.67	100.6	101.2
720	76.0	93.6	720	97.2	99.5	1.00	99.8	102.8
						1.50	101.6	101.3
						2.00	102.6	103.9

表2 40℃振盪条件下における各試験溶液からの放射能回収率 (%対処理量)

pH 4.0			pH 7.0			pH 9.0		
時間 (時間)	A 標識		時間 (時間)	A 標識		時間 (時間)	A 標識	
	1	2		1	2		1	2
0	94.7	95.8	0	95.5	96.0	0	95.8	93.3
2	91.0	96.2	2	93.2	91.1	2	98.2	99.8
4	88.0	94.1	4	93.6	88.1	4	97.3	100.4
8	90.2	91.0	8	91.8	92.5	8	96.9	99.8
16	94.5	95.9	16	97.3	98.6	16	93.9	95.2
24	93.4	94.1	24	93.1	89.3	24	96.0	97.7
48	94.2	96.3	48	94.7	92.8	48	102.1	98.7
72	90.9	91.6	72	90.9	93.5	72	99.8	99.9

2) シフルメトフェンの加水分解半減期

シフルメトフェンの存在量を各試験溶液中の放射能の相対比として表し(表3および4)、各試験溶液中のシフルメトフェンの加水分解半減期を算出した(表5)。シフルメトフェンの加水分解は pH に依存すると考えられる。試験に用いた pH 値では、シフルメトフェンは pH 4 の時に最も安定であり、半減期は 25℃で 222 時間(9 日)、40℃で 70 時間(3 日)であった。pH 7 においては、半減期は、25℃で 5 時間、40℃で 3 時間であった。pH 9 における加水分解速度非常に早く、半減期は、25℃で 12 分、40℃では加水分解速度を算出することが出来なかった。実験的に得た 25℃および 40℃における速度定数をアレニウスの式に代入し、20℃におけるシフルメトフェンの推定半減期を試算した(表5)。

表3 25℃振盪条件下における各試験溶液中のシフルメトフェンの割合 (%対総放射能)

pH 4.0			pH 7.0			pH 9.0		
時間 (時間)	標識		時間 (時間)	標識		時間 (時間)	標識	
	A	B		A	B		A	B
0	91.1	93.2	0	100	97.1	0	90.7	95.8
4	95.9	93.3	4	54.4	41.7	0.08	78.2	71.5
8	90.9	90.4	8	26.1	35.1	0.17	48.0	61.4
24	86.9	84.6	24	20.2	17.8	0.33	36.2	30.7
120	56.7	70.2	120	5.1	5.4	0.50	14.6	23.8
360	25.6	18.1	360	nq	nq	0.67	7.1	12.9
720	9.4	13.0	720	nq	nq	1.00	12.4	8.0
						1.50	4.2	2.4
						2.00	2.8	5.3

nq : 低放射能なため定量不能

表4 40℃振盪条件下における各試験溶液中のシフルメトフェンの割合 (%対総放射能)

pH 4.0			pH 7.0			pH 9.0		
時間 (時間)	A 標識		時間 (時間)	A 標識		時間 (時間)	A 標識	
	1	2		1	2		1	2
0	85.7	84.9	0	97.7	92.4	0	73.1	91.2
2	84.3	89.6	2	58.1	47.0	2	nq	7.9
4	87.1	86.9	4	35.0	31.2	4	nq	nq
8	77.9	87.5	8	13.3	16.2	8	nq	nq
16	86.9	88.0	16	3.1	2.4	16	nq	nq
24	66.0	68.4	24	nq	2.1	24	nq	nq
48	51.0	63.7	48	nq	nq	48	nq	nq
72	39.4	47.7	72	nq	nq	72	nq	nq

nq : 低放射能なため定量不能

表5 シフルメトフェン各試験溶液中における加水分解半減期

pH	温度	半減期
4.0	20℃ <sup>a</sup>	335 時間
	25℃	222 時間
	40℃	70 時間
7.0	20℃ <sup>a</sup>	5 時間
	25℃	5 時間
	40℃	3 時間
9.0	20℃ <sup>a</sup>	nc
	25℃	12 分
	40℃	nc

nc : 算出不能

a : アレニウスの式による計算値

## 代謝分解のまとめ

シフルメトフェンのほ乳動物（ラット）、植物（みかん、なす、りんご）、土壌、および水中における代謝、分解、運命の要約は下記の通りであり、推定代謝分解経路を図 5-1 に、結果の概要を表 5-1 から 5-3 に示した。

### 動物代謝：

[<sup>14</sup>C]シフルメトフェンを単回投与したラットの血漿中の <sup>14</sup>C 濃度は、投与後 1 から 4 時間で最高濃度に達し、以後 8 時間付近を境とする 2 相性の 1 次反応に従って減衰した。減衰は速やかで、最終消失相の半減期 ( $\beta_{1/2}$ ) は、12~22 時間であった。

標識位置にかかわらず、主排泄経路は低用量では尿、高用量では糞であった。投与後 72 時間までに低用量では尿および糞中にそれぞれ約 58~67% および約 25~33%、高用量ではそれぞれ約 14~26% および約 68~80% が排泄された。尿への排泄率は、標識位置および用量にかかわらず、雄より雌が約 6~12% 高かった。投与後 24 時間までに放射性物質の呼気への排泄は認められなかった。

胆汁中排泄率は、低用量で投与量の約 24~37%、高用量では約 18~32% で、標識位置および用量にかかわらず、胆汁中排泄率は雌よりも雄が約 8~14% 高かった。胆汁、尿および体組織中に認められた放射能の和から求めた単回投与後の吸収率は、低用量では約 68~78%、高用量では約 35~46% であった。

被験物質投与後、試験期間を通じて、標識位置、用量および性別にかかわらず、肝臓と腎臓からは他の臓器・組織よりも常に高い濃度の <sup>14</sup>C が認められた。主要臓器・組織中の <sup>14</sup>C 濃度の半減期は 9~30 時間で、血漿中の半減期と大差はなかった。

未変化のシフルメトフェンは、糞中に多く検出されたが、尿および胆汁中においては全く検出されなかった。

### 植物代謝：

みかん、なす、およびりんごの果実および葉面にそれぞれ [<sup>14</sup>C]シフルメトフェンの懸濁性製剤を散布した。

植物体内への放射能の移行はわずかで、大部分の放射性成分が表面洗浄液から回収され、試験期間を通じていずれの試料においても、最も主要な放射性成分として未変化体のシフルメトフェンが検出された。

作物により代謝物の生成量や代謝速度に違いが認められるが、主要な代謝経路は共通していた。

い

ずれの作物においても生成量に違いがあるものの、代謝物は果実と葉部でほぼ共通していた。

#### 土壌代謝：

好氣的畑地条件下でのシフルメトフェンの半減期は 2.76 日であった。処理後 181 日には処理量 (AR) の 28~40%が二酸化炭素として無機化された。このときの抽出残渣は 31~38% AR で、11~14% AR がフミン画分として分類された。

#### 加水分解：

シフルメトフェンの pH 4.0, 5.0, 7.0, および 9.0 緩衝液中の半減期は、それぞれ 7.7 日, 6.0 日, 9.8 時間, および 10.3 分であった。加水分解速度は pH に大きく依存し、pH が高くなるほど分解速度が速くなった。

#### 水中光分解：

シフルメトフェンの pH 5.0 緩衝液中および河川水中での半減期はそれぞれ 1.28 および 1.07 時間、自然太陽光に換算するとそれぞれ 3.29 および 2.74 時間であった。河川水での水中光分解速度は pH5.0 緩衝液より速く、光照射によりその分解速度が加速された。

以上総括すると、シフルメトフェンは、動物において速やかに代謝・排泄され、残留性はないものと推察された。植物体上で徐々に代謝・分解を受けるものの、植物体内への移行は少なく、そのほとんどが植物体表面に留まっていた。土壌においては土壌微生物により二酸化炭素まで分解され、水中では加水分解や光分解によって速やかに分解されることより、環境中（土壌および水系）においても残留する可能性は小さいものと考えられた。

シフルメトフェンの主な代謝分解経路は、代謝速度や代謝経路の選択比率がやや異なるものの、動物、植物、土壌、水中で共通であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A Tアグリオ株式会社にある。

(代謝分解のまとめ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A T アグリオ株式会社にある。

(代謝分解のまとめ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A T アグリオ株式会社にある。

(代謝分解のまとめ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はO A T アグリオ株式会社にある。

(代謝分解のまとめ)

[付] シフルメトフェンの開発年表