

2) ラットにおける催奇形性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

供試動物： Han Wistar 系妊娠ラット (HsdRccHanTM:WIST)、1 群 22 匹、
試験開始(妊娠 0 日)時 約 11 週齢、体重範囲 174~222 g

投与期間： 妊娠期間の 14 日間(妊娠 6 日~妊娠 19 日、投与開始：2009 年 1 月 5 日)

投与方法： 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、100、300 および 1000 mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には 1%メチルセルロース水溶液を投与した。雄と同居させた後、1 日 1 回の頻度で膣垢への精液の付着または少なくとも 2 つの膣栓の排出があった場合、交尾が確認されたものとし、その日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠： Han Wistar 妊娠ラットを用い、妊娠 6 日から妊娠 19 日にわたり、0、100、300 および 1000 mg/kg/day の投与量で実施した用量設定試験の結果、死亡例はなく、母動物における一般状態あるいは胚・胎児に被験物質によると考えられる明確な毒性徴候はみられなかった。この結果に基づき、ガイドラインの上限である 1000 mg/kg/day を最高用量とし、以下公比約 3 で除して、300 および 100 mg/kg/day の合計 3 用量を設定した。

観察・検査項目：

母動物： 一般状態、妊娠状態および生死を毎日 2 回観察し、妊娠 0 および 3 日並びに妊娠 6~20 日の期間体重を毎日測定し、妊娠 0~2、3~5、6~9、10~13、14~17 および 18~19 日の各期間に給餌量および残餌量を測定して各測定日間の摂餌量を算出した。なお、妊娠 0、5、12、18 および 20 日には、より詳細な健康状態の検査を実施した。妊娠 20 日に屠殺して剖検し、妊娠子宮重量を測定した。次いで、妊娠黄体数、着床数、早期および後期吸収胚数および分布、並びに生存胎児数および死亡胎児数を検査した。

生存胎児： 胎児および胎盤を子宮から取り出し、それぞれ重量を測定した。胎児は外表を検査し、異常があればそれを記録した。また、各胎児の性別を記録した。各同腹児群の 1/2 の胎児については内臓異常の有無を検査後、工業用変性アルコールで固定、処理した後、アリザリンレッドで染色して骨格の発達および異常の有無を検査した。残りの胎児はブアン固定液で固定し、胎児の全身をフリーハンドで切片を連続的に作成し、内臓異常の有無を顕微鏡下で検査した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

1. 母動物への影響

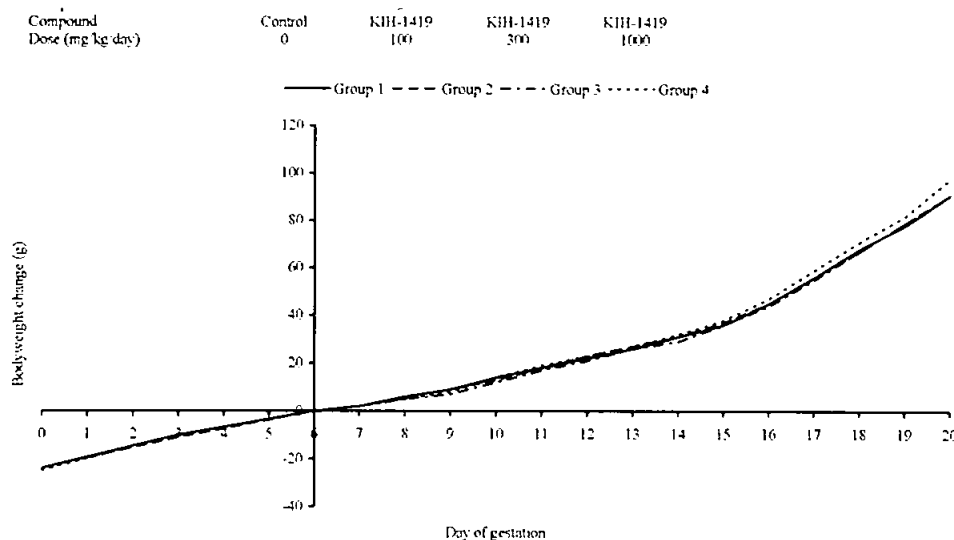
結果を表1に示す。各群ともに投与に関連すると考えられる死亡例はなく、また一般状態の変化および体重の変化はみられなかった。同様に、摂餌量にも変化はみられなかった。なお、子宮重量にも影響はみられず、補正体重（妊娠20日時点の体重－妊娠子宮の重量）および体重変化にも影響はみられなかった。

肉眼的病理検査において、100 mg/kg/day 投与群の1例に妊娠が認められず、対照群の1例*では着床数が“1”個であったが、これらは被験物質投与に関連するとは考えられなかった。これらのことを除いて、いずれの投与群でも投与に関連した異常は認められず、着床所見においても、対照群との間に差は認められなかった。

各投与群の黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数、前期および後期着床損失、早期および後期吸収数、ならびに胎児の性比に関する同腹児データは、対照群と同等であった。更に、胎盤重量および胎児重量においても、対照群と同等であり、投与に関連する影響はみられなかった。これらの結果を表1に示す。

*：妊娠異常と判断し、各項目における群平均値算出には、この個体のデータは除いた。

図1. 母動物の体重変化



2. 胎児への影響

胎児に関する外表、骨格および内臓に関する病理学的検査を行った結果を、表2に示す。いずれの検査においても、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。内臓に関する検査では、1000 mg/kg 投与群で通常では妊娠17日までに退化する左臍帯動脈を有する胎児/同腹児単位の割合が、対照群および背景データの頻度よりもわずかに高かったが、一般に、左臍帯動脈は退化して妊娠17日目までには閉塞し、右臍帯動脈だけが残るとされている。本試験では1000 mg/kg/day 投与群の僅かに高い割合の胎児において、対照群と比べて左臍帯動脈が残り右臍帯動脈が退化するという僅かな変化が認められた。この所見は単発的なものであり、胚・胎児の生存および発生への影響もなかったことから、毒性学的重要性はないと考えられた。また、同群では、仙尾椎骨および胸腰椎20本の化骨不全を有した胎児および同腹児単位における発生頻度が、対照群に比較して高かった。しかしながら、仙尾椎骨の化骨不全

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

の発生頻度 (2.1%) は、背景データの範囲内 (0~2.7%) であり、胸腰椎 20 本の化骨不全の発生頻度 (3.4%) は、同腹児における背景データの範囲内 (0~3.6%) であり、投与による影響を反映しているとは考えられなかった。更に、全ての投与群における頸肋骨形態異常を有した胎児および同腹児の頻度 (胎児 : 4.1~7.3%、同腹児 : 18.2~31.8%) が、対照群に比較して高かったが、背景データの範囲内 (胎児 : 4.1~15.3%、同腹児 : 15.8~50.0%) であった。

以上の結果から、被験物質を妊娠ラットに投与した場合、いずれの項目においても、投与に起因すると考えられる母動物への影響は認められなかった。胎児動物への影響はいずれの投与群でも認められなかった。従って、母動物に対する無影響量は 1000 mg/kg/day であり、胎児に対する無毒性量は 1000 mg/kg/day であると判断される。また、最高投与量の 1000 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/day)		0	100	300	1000
1 群あたりの母動物数		22	22	22	22
母動物	所見/検査動物数	21*	21**	22	22
	一般状態	投与による変化なし			
	死亡数	0	0	0	0
	妊娠数	21*	21**	22	22
	補正体重 (g)	250	250	249***	254
	体重変化 (g)				
	妊娠 0~6 日	24	24	24	25
	妊娠 6~20 日	91	91	91	98
	肉眼的病理検査	投与による変化なし			
	妊娠子宮重量 (g)	68	69	68***	72
着床所見	検査母動物数	21*	21**	22	22
	妊娠黄体数	14.8	15.1	14.5	15.0
	着床数	13.0	13.6	13.1	13.6
	前期着床損失 (%)	12.3	10.2	10.3	9.0
	後期着床損失 (%)	4.6	7.3	5.8	3.6
	早期吸収数 (胚・胎児)	0.5	1.0	0.6	0.5
	後期吸収数 (胚・胎児)	0.0	0.1	0.1	0.0
	生存 (雄) 胎児数	6.2	6.2	6.2	6.3
	生存 (雌) 胎児数	6.1	6.3	6.1	6.8
	生存胎児合計	12.4	12.5	12.4	13.1
胎盤重量 (g)	0.50	0.47	0.51	0.48	

調整済み体重 = 妊娠 20 日の屠殺時に測定した体重 - 妊娠子宮の重量

* : 1 例 (動物番号 18) が着床数 "1" であり、各項目における群平均値算出には、この個体のデータは除いた。

** : 1 例が非妊娠であった。

*** : 過失により 2 例の動物の子宮重量が測定されなかったことから、20 匹の動物から算出した値。データに群間差が認められなかったため統計解析は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/day)		0	100	300	1000	
検査母動物数		22*	22	22	22	
胎 児 動 物	性比 (雄の割合)	49.3	49.6	49.9	47.6	
	生存児体重 (g)	雄	3.51	3.60	3.62	3.62
		雌	3.42	3.43	3.45	3.45
	同腹児数		12.38	12.52	12.36	13.14
	同腹児重量 (g)		42.89	43.85	43.53	46.33
	検査動物数 (腹数)		261 (22*)	263 (21)	272 (22)	289 (22)
	奇 形	奇形胎児数 (腹数)	2 (2)	6 (4)	4 (4)	0 (0)
		水頭 (症) 網膜褶曲	1 (0)			
		網膜褶曲		1 (1)	1 (1)	
		口蓋裂/屈折鼻中隔		3+ (1)		
		頸部脊柱後彎/腰部前彎/腸骨彎曲		2+ (1)		
		肩甲骨彎曲		3+ (2)		
		多指症			1 (1)	
		奇形を有する胎児数	2 (2)	6 (4)	4 (4)	0 (0)
	骨格検査動物数 (腹数)		130 (22*)	135 (21)	137 (22)	145 (22)
	骨 格 変 異	頭蓋：化骨橋 (部分的)	7 (6)	16 (9)	11 (6)	8 (6)
		肋骨：中間肥厚/屈曲	4 (3)	11 (7)	8 (4)	4 (3)
頸肋		1 (1)	8 (5)	10 (7)	6 (4)	
20 胸腰椎骨		2 (2)		1 (1)	5 (4)	
骨格変異 1 個以上を有する胎児数		13 (10)	26 (14)	22 (13)	16 (11)	
骨 化 変 異	頭頂部：化骨不全	12 (8)	40 (16)	20 (10)	22 (10)	
	胸骨分節 第 5/6：化骨不全/未化骨	39 (13)	50 (16)	49 (16)	29 (15)	
	仙尾椎骨：化骨不全	1 (1)			3 (3)	
内臓検査動物数 (腹数)		131 (21*)	128 (21)	135 (22)	144 (22)	
内 臓 変 異	脳：脳室拡張		1 (1)			
	肝臓：尾状葉裂溝		1 (1)	1 (1)		
	左臍帯動脈	8 (7)	12 (8)	9 (9)	18 (12)	
	脳/脊髄：出血	3 (3)	3 (3)	7 (6)	4 (3)	
	腹腔：出血	5 (4)	2 (2)	2 (2)	1 (1)	

*: 1 例 (動物番号 18) の同腹児数が "1" であったことから、その胎児については外表検査と骨格検査のみを実施した。

+ : 1 種類より多くの異常を有する胎児数

空欄は所見なし

データに群間差が認められなかったため統計解析は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

参考

背景データ

試験識別番号		1		2		3		4	
使用媒体		滅菌水				ショ糖、マンニトールおよびヒスチジン混合溶液			
投与期間		妊娠 6~17 日		妊娠 6~9 日		妊娠 10~13 日		妊娠 14~17 日	
投与経路		強制経口				皮下投与			
骨格異常	検査動物数/検査腹数	135	22	109	20	111	20	97	19
発生頻度(%)	頸肋骨形態異常	8.1	45.5	14.7	45.0	15.3	50.0	4.1	15.8
	20 胸腰椎骨：化骨不全	0	0	0	0	2.7	15.0	0	0
	仙尾椎骨：化骨不全	0.7	4.5	1.8	10.0	2.7	15.0	1.0	5.3
内臓異常	検査動物数/検査腹数	133	22	107	20	107	20	94	19
発生頻度(%)	左臍帯動脈	6.8	31.8	8.4	35.0	8.4	30.0	11.7	42.1

空欄は所見なし

背景データ (つづき)

試験識別番号		5		6		7		8	
使用媒体		生理食塩水		マンニトールおよびショ糖溶液		空気		滅菌水	
投与期間		妊娠前 45,30 日、 妊娠 6,8,11,15 日		妊娠前 14~妊 娠 17 日		妊娠前 14~ 妊娠 17 日		妊娠 6~17 日	
投与経路		筋肉内投与		皮下投与		吸入投与		強制経口	
骨格異常	検査動物数/検査腹数	143	22	122	21	110	22	129	21
発生頻度(%)	頸肋骨形態異常	4.9	18.1	8.2	33.3	7.3	27.3	3.9	23.8
	20 胸腰椎骨：化骨不全	2.1	9.1	0.8	4.8	3.6	18.2	0.8	4.8
	仙尾椎骨：化骨不全	0	0	0.8	4.8	0.9	4.5	1.6	9.5
内臓異常	検査動物数/検査腹数	140	22	126	21	113	22	130	21
発生頻度(%)	左臍帯動脈	8.6	45.5	7.1	28.6	7.1	31.8	11.5	38.1

[申請者注：背景データの投与方法、投与期間等がかならずしも一致していないが、背景データは投与が妊娠動物の健康や生育に大きな影響を及ぼさない限り、投与方法や投与期間が対照群の動物に影響を与えないと考えられる。吸入や静脈注射のように動物を長時間拘束するような投与方法でなければ、投与経路/投与方法が異なっても、評価は可能であるとする。なお、背景データにおける動物の検査時期は同一である。]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-23)

3) ウサギにおける催奇形性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

供試動物： ニュージーランド白色種ウサギ、1 群 24 匹、

試験開始時 (妊娠 0 日) 20~26 週齢、体重範囲 3.31~4.59kg

[申請者注：供給元は Highgate 社]

投与期間： 妊娠期間の 23 日間 (妊娠 6 日~妊娠 28 日、投与開始：2008 年 8 月 31 日)

投与方法： 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、62.5、250 および 1000 mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日から 28 日までの 23 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群に 1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。なお、交配時には交尾行動を観察し、交尾が自然に 2 回以上行われたことを確認し、交尾の当日を妊娠 0 日と定義した。

用量設定根拠： ニュージーランド白色種ウサギを用い、妊娠 6 日から妊娠 28 日の期間に 1000 mg/kg/day を投与量したパイロット試験の結果、死亡例はなく、母動物における一般状態あるいは胚・胎児に被験物質によると考えられる明確な毒性徴候はみられなかった。この結果に基づき、ガイドラインの上限である 1000 mg/kg/day を最高用量とし、以下公比約 4 で除して、250 および 62.5 mg/kg/day の 3 用量を設定した。

観察・検査項目：

母動物： 一般状態、妊娠状態および生死を毎日 2 回観察し、妊娠 0、3 および 6 日、並びに妊娠 7~29 日の期間体重を毎日測定し、妊娠 1 日以降に給餌量および残餌量を測定して各測定日間の摂餌量を算出した。なお、妊娠 0、6、12、18、24 および 29 日には、より詳細な健康状態の検査を実施した。妊娠 29 日に屠殺して剖検し、妊娠子宮重量を測定した。次いで、妊娠黄体数、着床数、早期および後期吸収胚数および分布、並びに生存胎児および死亡胎児数を検査した。

生存胎児： 胎児および胎盤を子宮から取り出し、それぞれ重量を測定した。胎児は外表を検査し、異常があればそれを記録した。また、各同腹児単位で全ての胎児について内臓異常を検査し、性別を記録した。内臓検査の後、各同腹児のうち半数については頭部をブアン固定液で固定した。保存した胎児の頭部はフリーハンドで連続的に切片を作製し、頭部の軟部組織の異常を顕微鏡下で検査した。胎児および頭部を切除した胎児の胴体は工業用変性アルコールで固定、処理した後、アリザリンレッドで染色して骨格の発達および異常について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

1. 母動物への影響

結果を表 1 に示す。

各群ともに投与に関連すると考えられる死亡例はなく、また一般状態の変化はみられなかった。

1000 mg/kg/day 投与群の 1 例は、食欲不振、持続的な体重減少、摂水量の低下（目視による）、便の淡色化および尿量減少の症状を呈し、試験継続が困難と判断され、切迫屠殺された。剖検所見として、胸腔中の液貯留、盲腸および直腸中内容物の顕著な減少がみられた。この死亡は単発的なものであり、同群の他の動物では持続的な体重減少および食欲不振が認められていないことから、投与とは関連がないものと考えられた。

体重増加量については、1000 mg/kg/day 投与群で、妊娠 6 日の投与開始日から対照群よりも高値を示し、投与期間全体を通した体重増加量は対照群よりも有意に大きかった。なお、子宮重量に影響はみられず、屠殺された妊娠 29 日の子宮重量で調整した体重および体重変化（調整した体重から妊娠 6 日時の体重を減じた変化量）に影響はみられなかった。

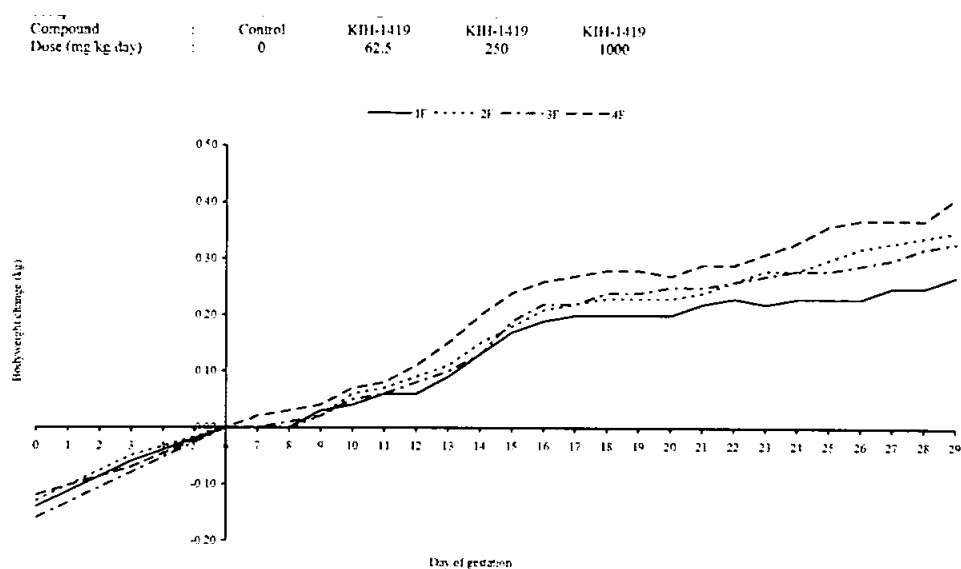
摂餌量については妊娠 25 日に 1000 mg/kg/day 投与群で対照群と比べて有意な高値がみられたが、単発的な変化であり、調整体重増加量に対照群との差がないことから投与による悪影響とは考えなかった。

肉眼的病理検査において、対照群、250 および 1000 mg/kg/day 投与群で、各々 1、1 および 3 例が妊娠していないことが判明したが、その他にはいずれの投与群でも投与に関連した異常は認められず、着床所見においても、対照群との間に差は認められなかった。

各投与群の黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数、前期および後期着床損失、早期および後期吸収数、ならびに胎児の性比に関する同腹児データは、対照群と同等であった。更に、胎盤重量および胎児重量においても、対照群と同等であり、投与に関連する影響はみられなかった。これらの結果を表 2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

図 1. 母動物の体重変化



2. 胎児への影響

胎児に関する外表、骨格および内臓に関する病理学的検査を行った結果を、表 2 に示す。

外表、骨格および内臓いずれの検査においても、投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。骨格検査の中で、軽微な異常である頭蓋骨の亀裂/過剰縫合および硬膜下出血を有する胎児（同腹児）の頻度が、各投与群とも対照群に比べ高かったが、これらの所見頻度は背景データの範囲内であり、投与に起因するとは考えられなかった。

以上の結果から、被験物質を妊娠ウサギに投与した場合、いずれの項目においても、投与に起因すると考えられる母動物への悪影響は認められなかった。胎児への影響はいずれの投与群でも認められなかった。従って、母動物に対する無毒性量は 1000 mg/kg/day であり、胎児に対する無影響量は 1000 mg/kg/day であると判断される。また、最高投与量の 1000 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 母動物に対する影響

投与群 (mg/kg/day)		0	62.5	250	1000
1群あたりの交尾動物数		24	24	24	24
母動物	一般状態				
	死亡数	0	0	0	1#
	非妊娠数	1	0	1	3
	妊娠数(生存胎児を有する)	23	24	23	20
	補正体重(kg)	3.83	3.87	3.87	3.87
	体重増加量(kg)				
	妊娠 0~6日	0.14	0.13	0.16	0.12
	妊娠 6~7日	0.00	0.00	0.00	△0.02
	妊娠 6~8日	0.00	0.00	0.01	△0.03
	妊娠 6~13日	0.09	0.11	0.10	△0.15
	妊娠 6~14日	0.13	0.15	0.13	△0.20
	妊娠 6~16日	0.19	0.21	0.22	△0.26
	妊娠 6~17日	0.20	0.22	0.22	△0.27
	妊娠 6~18日	0.20	0.23	0.24	△0.28
	妊娠 6~19日	0.20	0.23	0.24	△0.28
	妊娠 6~25日	0.23	0.30	0.28	△0.36
	妊娠 6~26日	0.23	0.32	0.29	▲0.37
	妊娠 6~27日	0.25	0.33	0.30	△0.37
	妊娠 6~28日	0.25	0.34	0.32	△0.37
	妊娠 6~29日	0.27	0.35	0.33	△0.41
補正体重増加量(kg)					
妊娠 6~29日	-0.24	-0.18	-0.23	-0.17	
摂餌量(g/動物/day)					
妊娠 25日	85	106	97	▲118	
肉眼的病理検査					
妊娠子宮重量(kg)	0.52	0.53	0.56	0.57	
着床所見	検査母動物数	23	24	23	20
	妊娠黄体数	11.6	11.8	12.6	11.9
	着床数	10.4	10.3	11.6	11.1
	前期着床損失(%)	11.3	12.9	9.1	6.3
	後期着床損失(%)	8.6	6.3	9.2	10.1
	早期吸収数(胚・胎児)	0.6	0.3	0.3	0.8
	後期吸収数(胚・胎児)	0.4	0.4	0.8	0.4
	生存(雄)胎児数	4.0	4.8	5.4	4.9
	生存(雌)胎児数	5.4	4.7	5.0	5.1
	生存胎児合計	9.4	9.5	10.4	10.0
胎盤重量(g)	4.6	5.0	4.5	4.9	

△▽ : P < 0.05、▲▼ : P < 0.01 (Willimas 検定または Shirley 検定)

空欄は変化なし

補正体重 = 妊娠 29 日体重 - 妊娠子宮重量

: 一般状態悪化のため、切迫屠殺

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. 着床所見および胎児に対する影響

投与群 (mg/kg/day)		0	62.5	250	1000	
検査母動物数		23	24	23	20	
胎児	性比 (雄の割合)	43.9	51.4	51.0	49.2	
	体重 (g) 雄	37.2	39.4	36.6	38.9	
	雌	37.3	38.9	35.7	38.7	
動物	同腹児数	9.4	9.5	10.4	10.0	
	同腹児重量 (g)	342.8	364.7	370.9	385.1	
物	検査動物数 (腹数)	217 (23)	228 (24)	240 (23)	199 (20)	
	奇形	腎臓/尿管欠損		2 (1)		
		卵巣/子宮角欠損				1 (1)
		眼瞼解放/部分開放	1 (1)	3 (2)	2 (1)	
		奇形を有する胎児数	3 (3)	8 (5)	5 (4)	2 (2)
	骨格検査動物数 (腹数)		217 (23)	228 (24)	240 (23)	199 (20)
	うち頭部を切除しなかった胎児数 (腹数)		101 (23)	108 (24)	113 (23)	94 (20)
	骨格変異	頭蓋骨: 亀裂/過剰縫合	3 (2)	5 (5)	5 (4)	5 (5)
		肋骨: 側枝/部分癒合	1 (1)	1 (1)		
		肋骨: 13 肋骨中絶		1 (1)		2 (2)
骨格変異 1 個以上を有する胎児数		17 (9)	20 (14)	20 (13)	14 (9)	
骨化変異	胸骨分節: 第 5	4 (4)	7 (6)	4 (3)	6 (2)	
	中手骨/指節骨	26 (10)	15 (11)	12 (6)	14 (3)	
内臓検査動物数 (腹数)		217 (23)	228 (24)	240 (23)	199 (20)	
うち頭部の内臓検査動物数 (腹数)		116 (23)	120 (24)	127 (23)	105 (20)	
内臓変異	頭部: 硬膜下出血	1 (1)	4 (3)	5 (4)	8 (7)	
	頭部: 網膜褶曲	1 (1)	1 (1)	1 (1)		
	肺: 分葉欠損	4 (2)	4 (2)	4 (3)	4 (2)	
	肝臓: 過剰葉	1 (1)	2 (2)	5 (3)	3 (2)	
	内臓異常 1 個以上を有する胎児数	14 (11)	21 (11)	24 (14)	19 (9)	

データに群間差が認められなかったため統計解析は実施しなかった。

空欄は所見なし

[申請者註コンピューターによる数値の切り下げ/切り上げ等による処理のため、雄雌胎児数および性比が一致しないことがある。]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

参考

背景データ [申請者注：本試験に用いた供試動物の供給元は「Highgate」である。]

試験識別番号	1	2	3	4
供試動物供給元	Highgate	Charles River	Highgate	Isoquimen
使用媒体	4%メチルセル ローズ溶液	滅菌水	リン酸水素 2 ナト リウム(2水和)、ブ ロピレングリコ ールおよびフェノ ール溶液(pH 7.4)	0.5%メチルセ ルローズ溶液
投与期間	妊娠 6~19 日	妊娠 6~19 日	#	妊娠 6~19 日
投与経路	強制経口	強制経口	皮下投与	強制経口
項目別所見				
骨格異常 検査動物数(腹数)	161(20)	161(18)	43(5)	193(21)
うち頭部を切除しなかった胎児数(腹数)	100(20)	101(18)	26(5)	122(21)
頭蓋骨：亀裂/過剰縫合	3(3)	2(2)		1(1)
内臓異常 検査動物数(腹数)	161(20)	161(18)	43(5)	193(21)
検査対象頭部数(腹数)	61(20)	60(18)	43(5)	71(21)
頭部：硬膜下出血	4(4)			

空欄は所見なし

#：妊娠 6~19 日、妊娠前 7 日~妊娠 19 日および妊娠 6~28 日からなる対照群から構成される。

背景データ(続)

試験識別番号	5	6	7	8
供試動物供給元	Highgate	Highgate	Isoquimen	Highgate
使用媒体	ショ糖、マンニ トールおよびヒ スチジン溶液	ショ糖、マンニ トールおよびヒ スチジン溶液	10%ポロクサマ ー188 懸濁液	滅菌水
投与期間	妊娠 6、8、10 および 12 日	妊娠 13、15、17 および 19 日	妊娠 6~19 日	妊娠 6~19 日
投与経路	皮下投与	強制経口	強制経口	強制経口
項目別所見				
骨格異常 検査動物数(腹数)	180(21)	201(20)	173(19)	196(20)
うち頭部を切除しなかった胎児数(腹数)	113(21)	128(20)	108(19)	125(20)
頭蓋骨：亀裂/過剰縫合	2(2)	8(7)		1(1)
内臓異常 検査動物数(腹数)	180(21)	201(20)	173(19)	196(20)
検査対象頭部数(腹数)	67(21)	73(20)	65(19)	71(20)
頭部：硬膜下出血		3(3)	1(1)	5(4)

空欄は所見なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

背景データ(続)

試験識別番号	9	10
供試動物供給元	Highgate	Harlan
使用媒体	リン酸水素2ナトリウム(2水和)、プロピレングリコールおよびフェノール水溶液	空気
投与期間	妊娠6~19日	妊娠6~19日
投与経路	皮下投与	吸入投与
項目別所見		
骨格異常 検査動物数(腹数)	232(22)	157(22)
うち頭部を切除しなかった胎児数(腹数)	110(22)	74(22)
頭蓋骨：亀裂/過剰縫合		1(1)
内臓異常 検査動物数(腹数)	232(22)	157(22)
検査対象頭部数(腹数)	122(22)	74(22)
頭部：硬膜下出血	11(8)	2(2)

空欄は所見なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(13) 変異原性

(資料 毒性-24)

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株)及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では少なくとも沈殿物の認められない 4 用量を確保するために、15~5000 μg /プレートの範囲の 6 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 被験物質は水に難溶であることから溶媒には DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9 Mix) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。試験 1 及び試験 2 のいずれにおいても 1500 μg /プレート以上の処理で沈殿物が認められた。

一方、陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	172.0	25.7	172.3	44.0	11.7
フェノキサスルホン		5	—	164.0	30.7	198.3	36.7	11.3
		15	—	173.3	27.3	151.0	48.7	13.0
		50	—	159.0	27.0	164.0	49.0	13.7
		150	—	173.7	26.0	173.7	48.7	14.7
		500	—	182.7	21.7	159.0	43.7	14.0
		1500	—	183.0P ³⁾	23.0P ³⁾	185.3P ³⁾	38.0P ³⁾	8.0P ³⁾
		5000	—	188.3P ³⁾	24.7P ³⁾	165.3P ³⁾	39.3P ³⁾	7.0P ³⁾
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	868.7	854.7	1640.3	321.0	355.0
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	176.0	28.7	195.3	55.7	29.0
フェノキサスルホン		5	+	193.3	20.3	199.7	59.3	30.3
		15	+	194.3	25.3	206.7	59.7	30.0
		50	+	189.0	26.3	180.0	51.0	26.3
		150	+	158.7	26.7	187.3	54.7	30.3
		500	+	189.3	23.3	184.3	54.0	24.3
		1500	+	204.0P ³⁾	22.7P ³⁾	196.0P ³⁾	53.3P ³⁾	25.7P ³⁾
		5000	+	202.7P ³⁾	21.3P ³⁾	187.7P ³⁾	46.7P ³⁾	20.0P ³⁾
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1282.0	245.7	646.3	266.0	162.0
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン,
AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

3) P: 沈殿物

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. 試験 2 (プレインキュベーション試験) 結果

化合物		用量 (μg /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	145.7	27.0	157.3	47.7	10.7
フェノキサスルホン		15	—	159.0	18.7	147.7	42.0	9.7
		50	—	150.7	16.7	167.7	43.7	10.0
		150	—	138.0	19.7	160.3	40.7	11.7
		500	—	165.3	16.7	160.3	41.3	8.0
		1500	—	135.3P ³⁾	22.0P ³⁾	144.3P ³⁾	35.7P ³⁾	8.7P ³⁾
		5000	—	132.7P ³⁾	18.7P ³⁾	155.7P ³⁾	33.7P ³⁾	8.0P ³⁾
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	1572.3	1964.3			
	NQO ²⁾	2	—			2258.3		
	2NF ²⁾	2	—				310.0	
	AAC ²⁾	50	—					567.0
DMSO ¹⁾		0	+	199.3	19.7	207.7	56.0	29.0
フェノキサスルホン		15	+	159.7	19.7	229.7	61.0	25.0
		50	+	169.7	21.3	211.3	58.7	28.0
		150	+	191.7	20.7	188.0	49.7	29.0
		500	+	199.0	22.0	197.3	52.7	26.7
		1500	+	179.7P ³⁾	17.0P ³⁾	205.3P ³⁾	51.0P ³⁾	27.0P ³⁾
		5000	+	192.3P ³⁾	20.7P ³⁾	191.7P ³⁾	44.3P ³⁾	24.3P ³⁾
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	4614.3	202.3			
		10	+			871.7		
	B[a]P ²⁾	5	+				326.0	160.7

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

3) P: 沈殿物

2) ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

試験方法： ヒトリンパ球培養細胞を用いて、フェノバルビタール/5,6-ベンゾフラボンで薬物代謝酵素系を誘導した雄ラットの肝臓から調製した代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で被験物質の染色体異常誘発性を検索した。

被験物質は水に難溶であることから、溶媒として、ジメチルスルホキシド (DMSO) を用い、試験 1 では短時間処理法 (処理時間 3 時間・回復時間 18 時間) として、S9 mix 非存在下で被験物質の最終濃度を 76.32、610.55 および 1221.1 $\mu\text{g/mL}$ とした。溶媒対照として DMSO および陽性対照としてマイトマイシン (最終濃度 0.2 $\mu\text{g/mL}$) を用いた。S9 mix 存在下での処理における被験物質の最終濃度は、50、150 および 300 $\mu\text{g/mL}$ とした。溶媒対照として DMSO および陽性対照としてシクロホスファミド (最終濃度 5 $\mu\text{g/mL}$) を用いた。

試験 2 では S9 mix 非存在下においては 21 時間連続処理、S9 mix 存在下では試験 1 と同様 3 時間の短時間処理 (回復時間 18 時間) で試験した。被験物質の最終濃度は前者では、125、1000 および 2442.2 $\mu\text{g/mL}$ とし、後者では 300、550 および 1000 $\mu\text{g/mL}$ とした。溶媒対照は試験 1 と同様とし、陽性対照は前者ではマイトマイシンを 0.1 $\mu\text{g/mL}$ および後者ではシクロホスファミドを 5 $\mu\text{g/mL}$ の最終濃度とした。

全ての試験は、2 連で実施された。

処理量設定根拠： 試験 1 および試験 2 の実施に先立ち、処理濃度を設定するため、予備試験 1 および 2 を本試験と同様な条件で行った。予備試験 1 における S9 mix 非存在下では、2442.2 $\mu\text{g/mL}$ (最高濃度) において相対有糸分裂指数は対照値の 59%であった。従って、これを本試験の最高濃度とした。S9 mix 存在下 (最終濃度 2%v/v) では 300 $\mu\text{g/mL}$ における相対有糸分裂指数は、対照値の 49%まで低下した。従って、300 $\mu\text{g/mL}$ を最高濃度とした。予備試験 2 における S9 mix 非存在下において、2442.2 $\mu\text{g/mL}$ (最高濃度) の相対有糸分裂指数は溶媒対照値の 70%であり、これを最高濃度と設定した。S9 mix 存在下では S9 mix 濃度を 2%v/v および 5%v/v を用いて、比較検討した。相対有糸分裂指数はほぼ同様な傾向が示された。1000 $\mu\text{g/mL}$ (最高濃度) における相対有糸分裂指数は対照値の 47% (S9 mix 5%v/v) であった。これを最高濃度とした。予備試験 1 および 2 の結果を表 1-1、1-2 および表 2-1、2-2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

本試験における結果を表3および表4に示す。

試験1および試験2ともにS9 mix非存在および存在下いずれの条件においても、また被験物質のいずれの処理濃度でも染色体異常を有する細胞が、溶媒対照と比べて有意に増加することはなかった。陽性対照については染色体異常を有する細胞出現割合が、有意に増加した。また、倍数体細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本 *in vitro* 細胞遺伝学的試験条件下において、被験物質は染色体構造異常の頻度を増加させるという証拠はないことから、被験物質には染色体異常誘発能はないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 1-1. 予備試験 1 における 3 時間処理での
有糸分裂指数

処理濃度 mg/mL	S9 mix の有無	
	-	+ (2%v/v)@
0 (DMSO)	100	100
19.08*	99	108
38.16*	97	131
76.32*	114	131
152.64*	88	96
305.28*	81	58
610.55*	82	-a
1221.1*#	67	-a
2442.2*#	59	-a

a : 生存細胞数および有糸分裂中期の細胞が極端にすくなかった。

* : 処理時沈殿生成したが、振とうにより分散させた。

: 明確な沈殿

@ : S9 mix の反応液中最終濃度

表 1-2. 予備試験 1 (再試験) における 3 時間
処理での相対有糸分裂指数

処理濃度 mg/mL	S9 mix
	+ (2%v/v)@
0 (DMSO)	100
50	88
100	68
150	66
200*	83
250*	56
300*	49
350*	57
400*	30
450*	31
500*	30

* : 処理時沈殿生成したが、振とうにより分散させた。

@ : S9 mix の反応液中最終濃度

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2-1. 予備試験 2 における相対有糸分裂指数

処理濃度 μg/mL	S9 mix	処理濃度 μg/mL	S9 mix
	—		+ (2%v/v)@
	21 時間連続処理		3 時間処理
0 (DMSO)	100	0 (DMSO)	100
62.5	92	25	110
125	90	50	93
250	73	100	89
500	62	150	89
1000	77	200	107
1500*	76	250	74
2000*#	62	300	80
2442.2*#	70	350	87
		400	90
		450	81
		500	82

* : 処理時沈殿生成したが、振とうにより分散させた。

: 明確な沈殿

@ : S9 mix の反応液中最終濃度

表 2-2. 予備試験 2 における 3 時間処理での相対有糸分裂指数—S9 mix 添加濃度別

処理濃度 μg/mL	S9 mix	S9 mix
	+ (2%v/v)@	+ (5%v/v)@
0 (DMSO)	100	100
100	85	109
200	93	97
300	86	101
400	80	71
500	107	73
550#	75	73
600#	90	69
650#	87	67
700#	89	81
750#	67	69
800*#	61	76
850*#	54	59
900*#	50	57
950*#	49	59
1000*#	46	47

* : 処理時沈殿生成したが、振とうにより分散させた。

: 明確な沈殿

@ : S9 mix の反応液中最終濃度

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表3 試験1における染色体異常に関する結果 (数値は2連の平均)

薬剤名	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理時間 (h)	標本作成時間 (h)	S9 Mixの有無	相対有糸分裂指数 (%)	観察細胞数	構造異常						異常細胞出現割合 (ギャップを除く)	倍数性細胞 (%)	判定
							ギャップ	染色分体		染色体		その他			
								切断	交換	切断	交換				
溶媒対照 (DMSO)	—	3	18	無	100	200	1.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	1.0	0	—
フェノキサスルホン	76.32	3	18		114	200	0.5	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.5	1	
	610.55	3	18		82	200	0.5	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	1	
	1221.1	3	18		67	200	2.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0	
陽性対照 (MMC)	0.2	3	18	—	200	3.5	14.0	3.0	5.0	0.0	0.0	18.0 ***	0		
溶媒対照 (DMSO)	—	3	18	有 (2%) [@]	100	200	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1	—
フェノキサスルホン	50	3	18		88	200	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1	
	150	3	18		66	200	1.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	3	
	300	3	18		49	200	2.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	2	
陽性対照 (CP)	5	3	18		—	200	9.0	6.0	1.0	7.0	0.0	0.0	11.0 ***	1	

***: $P < 0.001$ (片側 Fisher 確率検定)

@: S9 mix の反応液中最終濃度

MMC: Mitomycin C, CP: Cyclophosphamide

表4 試験2における染色体異常に関する結果 (数値は2連の平均)

薬剤名	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理時間 (h)	標本作成時間 (h)	S9 Mixの有無	相対有糸分裂指数 (%)	観察細胞数	構造異常						異常細胞出現割合 (ギャップを除く)	倍数性細胞 (%)	判定
							ギャップ	染色分体		染色体		その他			
								切断	交換	切断	交換				
溶媒対照 (DMSO)	—	21	0	無	100	200	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4	—
フェノキサスルホン	125	21	0		90	200	2.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	8	
	1000	21	0		77	200	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	2	
	2442.2	21	0		70	200	1.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	3	
陽性対照 (MMC)	0.1	21	0	—	200	5.5	4.5	3.5	7.0	0.0	0.0	11.0 ***	0		
溶媒対照 (DMSO)	—	3	18	有 (5%) [@]	100	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3	—
フェノキサスルホン	300	3	18		101	200	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4	
	550	3	18		73	200	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4	
	1000	3	18		47	200	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	6	
陽性対照 (CP)	5	3	18		—	200	3.0	9.0	0.0	2.5	0.0	1.5	9.5 ***	5	

***: $P < 0.001$ (片側 Fisher 確率検定)

@: S9 mix の反応液中最終濃度

a: Mitomycin C, b: Cyclophosphamide

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-26)

3) マウスを用いた小核試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

供試動物： マウス CD-1(Charles River), 1 群雄 6 匹 (陽性対照群のみ 5 匹)

約 40 日齢, 投与開始時体重：雄 25.3~29.9 g

試験方法： 被験物質を 1.0%w/v メチルセルロース水溶液に懸濁し、500, 1000 及び 2000 mg/kg の用量で 1 日 1 回 24 時間間隔の 2 日間連続経口投与を行った。最終投与後 24 時間に動物を安楽死させ、大腿骨を摘出して骨髓塗抹標本を作製した。陽性対照群にはマイトマイシン C (MMC) 12 mg/kg を単回投与し、24 時間後に同様に骨髓塗抹標本を作製した。

各動物当たり 2000 個の多染性赤血球 (PCE) を観察し、小核多染性赤血球 (MNPCE) 数を計測して MNPCE の出現頻度を求めた。また観察赤血球 (正染性+多染性) 1000 個中の多染性赤血球数についても計測した。

用量設定根拠： 雄雌各 2 匹に 2000 mg/kg の 2 日連続経口投与を行った用量設定試験の結果、いずれの投与群においても死亡例が認められず、雄雌で毒性に差がないと考えられたことから、試験には雄のみを用いた。限界用量である 2000 mg/kg を最高用量とし、公比 2 で除した 1000 及び 500 mg/kg の 3 用量とした。

試験結果： 結果を次ページの表に示した。いずれの投与群においても死亡および一般状態の変化は認められなかった。

被験物質投与による小核多染性赤血球 (MNPCE) の出現頻度の増加はいずれの用量においても認められなかった。陽性対照群の MNPCE 出現頻度は溶媒対照群と比べ有意に増加した。また観察赤血球中の多染性赤血球 (PCE) 比は中間用量の 1000 mg/kg 投与群で有意に減少したが、2000 mg/kg 投与群において有意な減少が認められなかった。また 1000 mg/kg 投与群の PCE 比は $(PCE/(PCE+NCE))(\%)$ 溶媒対照群の背景値 (31.4~58.6%) の範囲内であったことから、この投与群における PCE 比の減少は生物学的意義はないものと考えられた。

以上の結果から本試験条件下において被験物質はマウス骨髓細胞に対して小核を誘発しないものと結論される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

採取時間 (hr)	化合物	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	MNPCE 出現頻度 (/2000 PCE)	PCE 比 (%)
24	溶媒対照	— ^a	雄	6	1.5	49.0
	フェノキサスルホン	500 ^a		6	1.3	49.3
		1000 ^a		6	1.3	41.0**
		2000 ^a		6	1.2	46.3
	MMC	12		5	69.2 ^{††}	40.8

PCE : 多染性赤血球 NCE : 正染性赤血球 MNPCE : PCE2000 個当たりの小核を有する多染性赤血球数

^a 溶媒対照およびフェノキサスルホンは 24 時間間隔で 2 回投与

** : $p \leq 0.01$ (Exact one-tailed Wilcoxon pairwise tests)

^{††} : $p \leq 0.01$ (Exact one-tailed pairwise Permutation tests)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(14) 生体機能への影響

(資料 毒性-27)

1) 生体機能への影響に関する試験 —経口投与によるラットを用いた Irwin 変法—

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

供試動物： Han Wistar 系ラット雄、1 群各 6 匹、投与開始時 5~6 週齢
投与開始時体重範囲 181~208 g

投与方法： 磨砕した被験物質を 1%メチルセルロース溶液に懸濁し、200、600 および 2000 mg/kg の投与量で、容量 10 mL/kg として単回経口投与した。なお、対照群には同容量の 1%メチルセルロース溶液を投与した。

試験方法： 投与前日に投与前観察を行い、投与前の各動物の一般状態および神経行動学的状態について観察した。観察の後、各動物の直腸温度を測定し、引き続き、自発運動について検査した。投与後 60、120、240、480 分および投与後 2 日に、主観的観察を行い、下記の項目について評点化し、評価を行った。主観的観察の後、直腸温度を測定し、次いで自発運動の評価を行った。

死亡、不穏、無関心、苦悶、闘争、常同行動、振戦、筋攣縮、痙攣、眼球突出、呼吸、警戒性、驚愕反射、正向反射の喪失、身のこなしの異常、歩行異常、挙尾、立毛、瞳孔径、触覚反応、恐怖、耳介反射、角膜反射、カタレプシー、受動性、攻撃性、体緊張、握力、皮膚血流量、チアノーゼ、眼瞼閉鎖、流涙、流涎、侵害刺激反応、麻痺、毛づくろい、下痢、啼鳴、尿量の増加、その他

以上の観察・検査を行い、死亡および遅発的な毒性影響を投与後 7 日まで毎日観察し、終了後頸椎脱臼して安楽死させた。剖検は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

いずれの投与群においても、投与後2日までの詳細な観察中、ラットに神経行動学的影響および一般状態に投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

自発運動においても、対照群に比べ有意な変化はみられなかった。

直腸温度（群平均）の測定結果を次表に示す。

群	投与量 (mg/kg)	群平均直腸温度(°C)					
		投与前	60分	120分	240分	480分	2日
媒体処理群	0	37.1	36.9	36.8	36.8	36.7	37.0
投与群	200	37.1	37.2	36.9	37.0	36.9	36.8
	600	37.0	37.2	37.1	36.9	36.7	36.9
	2000	37.0	37.1	37.0	36.8	36.8	▽36.6

▽△：P < 0.05 (Williams 検定)

2000 mg/kg 投与群では、投与後2日の測定時に有意な体温低下がみられたが、200 および 600 mg/kg 投与群と同様に、その他の時点では有意な体温の変化はみられなかった。2000 mg/kg 投与群でみられた体温の有意な低下は、その時期に一般状態および神経行動学的項目に投与による影響はなく、その程度も軽微であることから、生物学的重要性はないものと考えられる。なお、投与後7日までの観察で死亡および肉眼的な毒性影響はみられなかった。

以上の結果から、死亡および肉眼的観察に投与による影響は認められず、一般状態、神経行動学的状態、体温および自発運動のいずれにも投与によると考えられる影響がみられなかったことから、本試験における無毒性量は、2000 mg/kg と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-28)

2) 生体機能への影響に関する試験

—カプセル経口投与による覚醒イヌを用いたテレメーターによる心血管系への影響—

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

供試動物： ビーグル犬、1 群 4 匹 (雄 2 匹、雌 2 匹、) 試験開始時 9~18 ヶ月齢

投与方法： 投与前記録日に測定した個体別体重に基づいた所定量の被験物質をカプセルに充填した。1 日当たりの総投与量が 0、500、1000 および 2000 mg/kg となるよう、1 回の投与量として 0、250、500 および 1000 mg/kg を無麻酔の動物に 1 日 2 回投与した。2 回の投与間隔を約 6 時間とした。各動物が、それぞれ 1 回ずつ異なる投与量を経験するよう 4 回のセッションに分け、テレメトリーを行った。(表 1)

なお、各セッションに対照 (0 mg/kg) とした動物には、高投与量の投与時に用いたカプセル数と同数のカプセルを投与した。

[申請者注；投与量設定根拠： 同試験機関で実施したカプセル経口投与による予備毒性試験 (資料 毒性-1 2 参考) では、用量 1000 mg/kg/day、14 日間の投与で死亡例はなく、投与に関連した一般状態、体重、摂餌量および臓器重量への影響もみられなかった。更に、肉眼病理検査でも投与による影響は観察されなかった。この結果に基づいて本試験における投与量を設定した。]

試験方法： テレメーターを装着した無麻酔の雌雄各 2 頭について、血圧 (収縮期、拡張期および平均)、心拍数、第 II 誘導による心電図 (PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔、心拍数で補正した QT (QTcR) 間隔および心電図波形への影響) をモニターした。各試験セッション中、テレメーターによる記録は、少なくとも初回投与前 90 分から初回投与後 24 時間まで連続的にモニターされた。各データとして予め定めた特定時期 (投与前 1 時間から 30 分までは 5 分間隔、その後初回投与後の 0.5、1、2、4、5.5、7、8、10、12 および 24 時間) で各計測値を求めた。また、呼吸数を投与前に 10 分間隔で 2 回、各セッションでは初回投与後 1、2、7、8 および 24 時間に目視で 20 秒間計測した。試験セッションの間隔は、1 週間とした。

血圧、心拍数および心電図間隔の各測定時点について、Williams 検定により投与の影響を対照群と比較した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 1. 各セッションにおける動物別投与量

セッション	動物番号/性別および1回投与量 (投与回数)			
	243*/雄	155**/雄	878*/雌	156**/雌
1	0 (x2)	1000 (x2)	500 (x2)	250 (x2)
2	250 (x2)	500 (x2)	0 (x2)	1000 (x2)
3	500 (x2)	250 (x2)	1000 (x2)	0 (x2)
4	1000 (x2)	0 (x2)	250 (x2)	500 (x2)

*: テレメトリー試験歴のある動物

**: テレメトリー試験歴がない動物

なお、最初の試験セッションの投与前に、イヌを予め慣れさせるためにケージに入れ、テレメーターによる測定、給餌および投与に習熟させた。

上記の試験の他、各セッション中にはイヌにおける行動変化および一般状態について定期的に、各投与終了直後、その後1、2、7および8時間（この観察時期は全て初回投与を基準とする）に観察した。

試験結果:

セッション1~4で動物番号878/雌を除く他のイヌでは、投与後に嘔吐はみられなかった。878/雌では500 mg/kgの1回目の投与の際（セッション1）、2つのカプセルを投与1分後に吐き出したが、直ちにそのカプセルを再投与した。878/雌では、1000 mg/kgの1回目投与後に正常便とともに白色便がみられた。これらを除いては、特記すべき事項はみられなかった。

次に、本剤の心血管系および呼吸数に及ぼす影響を項目毎に記す。なお、それぞれの測定時期について、Williams 検定で対照群との比較を行った:

1) 血圧 (収縮期、拡張期および平均血圧)

対照群では、投与後の収縮期血圧、拡張期血圧、群平均血圧に顕著な作用はみられなかった。被験物質 (250、500 および 1000 mg/kg) の1日2回投与群において、投与後の収縮期血圧、拡張期血圧および群平均血圧に明確な作用は認められず、対照群と比較して統計的に有意な作用も認められなかった。

2) 心拍数

対照の動物では、投与後の心拍数に顕著な作用はみられなかった。被験物質 (250、500 および 1000 mg/kg) の1日2回の投与動物において、投与後の心拍数に明確な作用は認められず、対照と比較して統計的に有意な作用も認められなかった。

3) 心電図における比較

3-1) PR 間隔

対照の動物では、投与後の第II誘導心電図のPR間隔に顕著な変化はみられなかった。被験

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

物質（250、500 および 1000 mg/kg）の 1 日 2 回の投与動物において、投与後の PR 間隔に明確な作用は認められず、対照と比較して統計的に有意な差も認められなかった。

3-2) QRS 間隔

対照の動物では、投与後の第Ⅱ誘導心電図の QRS 間隔に顕著な変化はみられなかった。被験物質（250、500 および 1000 mg/kg）の 1 日 2 回の投与動物において、投与後の QRS 間隔に明確な作用は認められず、対照と比較して統計的に有意な作用も認められなかった。

3-3) QT 間隔

対照の動物では、投与後の第Ⅱ誘導心電図の QT 間隔に顕著な変化はみられなかった。被験物質（250、500 および 1000 mg/kg）の 1 日 2 回の投与動物において、投与後の QT 間隔に明確な作用は認められず、対照と比較して統計的に有意な作用も認められなかった。

3-4) QTcR 間隔

対照の動物では、投与後の QTcR 間隔に顕著な変化はみられなかった。被験物質（250、500 および 1000 mg/kg）の 1 日 2 回の投与動物において、投与後の QTcR 間隔に明確な作用は認められず、対照と比較して統計的に有意な作用も認められなかった。

4) 心電図波形への影響

第Ⅱ誘導で得られた心電図における波形の形態的变化を検討した結果、各セッションにおける対照および投与動物において、いずれも異常な波形はみられなかった。しかしながら、供試した 1 頭（878/雌）において、各セッション時の 1 日 2 回投与後に孤立性 P 波（房室ブロックを示唆）の発生がみられ、また、測定が定められた時点以外でもその発生がみられた。この波形は各セッション時の各投与後に顕著にみられた（セッション 2 の対照で供試された時を含む）。これらのことから、発生がみられた不整脈は散発的であり、投与には関係がないものと判断された。

5) 呼吸数への影響

個体別の平均呼吸数には個体差が大きかった（243/雄：72 回/分、155/雄：83 回/分、878/雌：23 回/分および 156/雌：57 回/分）。習熟のために被験物質無充填カプセルを投与した時期では、243/雄、155/雄および 156/雌の 3 頭で、投与後に呼吸数の低下がみられたが、無照明時期に当たる投与後 7~8 時間には一定の状態になった。他の 1 頭（878/雌）には余り変動はみられなかった。各セッションにおける対照動物の呼吸数は、投与前記録セッションにみられたパターンとほぼ同様であった。各セッションにおける投与動物に、投与に関連すると考えられる呼吸数に顕著な変化はみられなかった。

以上の結果から、250、500 および 1000 mg/kg の 1 回投与量で、1 日 2 回被験物質をイヌにカプセルで経口投与した場合における収縮期、拡張期および平均血圧、心拍数、呼吸数、第Ⅱ誘導における心電図上の PR 間隔、QRS 間隔、QT 間隔および QTcR 間隔、ならびに波形に対し明白な、かつ統計的に有意な影響は認められなかったと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-29)

3) 生体機能への影響に関する試験

—経口投与によるラットを用いた尿および電解質排泄—

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： フェノキサスルホン原体 (KIH-1419(TGAI))

純 度：

供試動物： Han-Wistar 系ラット雄、1 群各 8 匹、投与開始時 7~8 週齢

投与開始時体重範囲 174~219 g

投与方法： 磨砕した被験物質を 1%メチルセルロース溶液に懸濁し、200、600 および 2000 mg/kg の投与量で、容量 10 mL/kg として単回経口投与した。なお、対照群には同容量の 1%メチルセルロース溶液を投与した。また、投与前に一晩絶食させ、給水は投与前約 2 時間から行わなかった。陽性対照物質としてフロセミドを用い、1%メチルセルロース溶液に溶解して、20 mg/kg を投与した。

試験方法： 投与前に、供試動物を非連続的に 2 回、1 日約 5 時間、代謝ケージに入れて馴化した。投与の直後に各個体に水 15 mL/kg を強制的に経口投与し、個体別に代謝ケージに入れ、24 時間にわたり採尿し、投与後 1、2、4、6 および 24 時間の排尿量を個体別に測定、記録した。なお、投与後 6 時間の採尿後に給水を再開した。投与後 0~6 時間および 6~24 時間の尿中のナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)濃度および比重(SG)を測定した。その測定値を用いて、尿中総排泄量を次式に基づいて算出した。

$$\text{尿中総排泄量} = \text{尿中濃度} \times \text{尿量}$$

試験結果：

1) 尿量

結果を表 1 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. ラットの排尿量に対する影響

群	投与量 (mg/kg)	投与後の各時点 (h) における累積排尿量 (mL)					
		1	2	4	6	6-24	24
媒体処理群	0	0.7	2.4	2.8	3.6	5.3	8.9
投与群	200	0.5	2.2	3.0	3.7	5.2	9.0
	600	0.4	1.7	2.4	2.9	3.9	6.8
	2000	0.5	2.6	3.6	4.1	5.1	9.3
陽性対照群	20	▲3.9	▲5.3	▲6.7	▲7.0	4.0	10.9

▽△ : P < 0.05、▼▲P < 0.01 (Williams 検定あるいは t-検定)

対照群と比較して、いずれの投与群でも投与後 24 時間における尿量に投与によると考えられる影響はみられなかった。陽性対照であるフロセミド投与群では、投与後 0~6 時間では顕著に、かつ、統計的に有意に増加したが、投与後 6~24 時間では対照群とほぼ同等であった。陽性対照群のこの結果は予想された結果であった。

2) 電解質排泄および尿比重

得られた結果を表 2-1、2-2、3-1 および 3-2 に示す。

表 2-1. 投与後 0~6 時間における尿中電解質濃度および尿比重

群	投与量 (mg/kg)	電解質 (mmol/L) および比重 (g/L)			
		Na	K	Cl	SG
媒体処理群	0	8.0	24.4	14.8	1014
投与群	200	6.5	20.3	13.5	1013
	600	8.6	27.1	18.8	1015
	2000	▲17.8	△37.9	▲26.1	1015
陽性対照群	20	▲57.4	▲38.4	▲94.4	▽1010

▽△ : P < 0.05、▼▲P < 0.01 (Williams 検定あるいは t-検定)

表 2-2. 投与後 0~6 時間における尿中電解質総排泄量

群	投与量 (mg/kg)	電解質 (μmol)		
		Na	K	Cl
媒体処理群	0	31	86	49
投与群	200	25	75	51
	600	27	77	53
	2000	▲71	▲140	▲101
陽性対照群	20	▲411	▲259	▲663

▼▲ < 0.01 (Williams 検定あるいは t-検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 3-1. 投与後 6~24 時間における尿中電解質濃度および尿比重

群	投与量 (mg/kg)	電解質 (mmol/L) および比重 (g/L)			
		Na	K	Cl	SG
媒体処理群	0	112.5	680.8	246.1	1055
投与群	200	125.0	941.5	240.5	1056
	600	167.9	833.6	308.0	1063
	2000	164.6	330.9	231.4	1051
陽性対照群	20	87.1	378.1	▽175.6	1062

▽△ : P < 0.05 (Williams 検定)

表 3-2. 投与後 6~24 時間における尿中電解質総排泄量

群	投与量 (mg/kg)	電解質 (μ mol)		
		Na	K	Cl
媒体処理群	0	592	2065	1098
投与群	200	585	3787	1130
	600	588	2042	1067
	2000	796	1573	1138
陽性対照群	20	353	1462	▽ 671

▽△ : P < 0.05 (Williams 検定)

2000 mg/kg 投与群における投与後 0~6 時間では、尿中電解質濃度および総排泄量ともに、いずれの電解質成分も統計的に有意な増加がみられた。尿比重には変化はみられなかった。一方、投与後 6~24 時間ではいずれの電解質成分および比重において変動は大きいものの、統計的な有意な差はみられなかった。200 および 600 mg/kg 投与群には、いずれの電解質成分および比重に対照群と比較して、有意差はみられなかった。

陽性対照であるフロセミド投与群では、投与後 0~6 時間における電解質各成分および比重に顕著な、かつ、対照群に比べ有意な変動（電解質成分は増加および尿比重は低下）がみられた。一方、投与後 6~24 時間の場合には、Cl 濃度および総排泄量が有意に減少を示したが、他の電解質成分には有意な変動はみられなかった。これらの結果は予想された通りであった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は、600 mg/kg と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

フェノキサスルホンの「生体機能への影響に関する試験」の総括表（毒性-27、28 および 29）

試験項目	動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態 行動への影響	ラット	経口 (1%MC)	0, 200, 600, 2000	♂ 6	—	♂ 2000	一般状態、行動、体温および自発運動に影響は認められない。
心血管系への 影響	イヌ (覚醒)	経口 (カプセル)	0, 500, 1000, 2000	♂2 ♀2	—	2000	収縮期、拡張期および平均の血圧、心拍数、呼吸数、第II誘導における心電図のPR間隔、QRS間隔、QT間隔、QTcR間隔および波形に影響は認められない。
尿および 電解質排泄への 影響	ラット	経口 (1%MC)	0, 200, 600, 2000	♂8	♂ 2000	♂ 600	2000 mg/kg 群で投与後0～6時間に尿中電解質濃度および総排泄量が増加した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2. 代謝分解物の毒性

(1) 急性毒性

(資料 毒性-30)

1) 代謝物 M-1 のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

修正書 1 発行年: 2009 年

被験物質: KIH-1419-M-1 (略称: M-1)

純度:

供試動物: SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群: 雌 3匹

投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重: 211~233 g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様に投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	投与後 30~60 分に発現 試験 3 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000

300 mg/kg 投与群では、死亡および一般状態の変化は認められなかった。

2000 mg/kg 投与群では、1 回目の投与群に一般状態の変化は認められなかったが、2 回目の投与群では 3 例に投与後 30~60 分に活動性低下、円背位、異常歩行および呼吸促迫がみられた。これらの変化は、試験 3 日までに全て消失した。2000 mg/kg 投与群に死亡は認められなかった。

観察期間中の体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査において異常な所見は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性のLD₅₀は、2000 mg/kg以上と推定された。

2) 代謝物 M-9 のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2009 年

修正書 1 発行年 : 2009 年

被験物質 : KIH-1419-M-9 (略称 : M-9)

純 度 :

供試動物 : SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群 : 雌 3匹

投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重 : 207~236 g

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様に投与した。

観 察 : 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果 :

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌 : 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌 : >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	投与後 5 時間に発現 試験 2 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌 : 300
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌 : 2000

300 mg/kg 投与群では、死亡および一般状態の変化は認められなかった。

2000 mg/kg 投与群では、1 回目の 2000 mg/kg 投与群の 3 例で投与後 5 時間に立毛がみられたが、試験 2 日までに全ての症状は消失した。2 回目の 2000 mg/kg 投与群では一般状態の変化はみられなかった。2000 mg/kg 投与群に死亡は認められなかった。

観察期間中の体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査において異常な所見は観察されなかった。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。

3) 代謝物 M-13 のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2010 年

被験物質 : KIH-1419-M-13 (略称 : M-13)

純 度 :

供試動物 : SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群 : 雌 3匹

投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重 : 187~244 g

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 被験物質を純水に溶解し、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2 群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2 群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様に投与した。

観 察 : 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果 :

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌 : 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌 : >2000
死亡開始及び終了時間	投与 4 日に開始 投与 6 日に終了
症状発現・消失時間	投与後 2 時間に発現 試験 10 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌 : -
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌 : 300

300 mg/kg 投与群では死亡は認められなかった。一般状態の変化として、1 回目の 300 mg/kg 投与群に一般状態の変化は認められなかったが、2 回目の 300 mg/kg 投与群 1 例で、投与後 6 時間に四肢の発赤がみられたが、その症状は翌日には消失した。

1 回目および 2 回目の 2000 mg/kg 投与群において、それぞれ 1 例の動物で一般状態が時間経過とともに悪化し、1 例は試験 4 日に、他の 1 例は試験 6 日に切迫屠殺された。切迫屠殺時の体重は減少していた。一般状態の変化として、2000 mg/kg 投与で切迫屠殺された動物では、投与後 2 時間から立毛、眼瞼閉鎖、歩行不安定、体緊張低下、黒色便、体温低下、不規則呼

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

吸および喘ぎ等が観察された。また、切迫屠殺当日には後肢開脚、活動性の低下、体温低下および不規則呼吸がみられた。2000 mg/kg 投与群においては試験終了時まで生存した動物でもほぼ同様な症状がみられたが、試験 10 日では全ての症状は消失した。

体重では試験 8 日に 2000 mg/kg 投与群の 3 例に体重減少がみられ、1 例に増加抑制がみられた。300 mg/kg 投与群では順調に推移した。

切迫屠殺した動物の肉眼的病理検査では、皮下組織でうっ血、肝臓および腎臓の蒼白化、脾臓および盲腸の萎縮がみられ、胃、十二指腸、小腸、大腸の内容物として固形飼料が認められた。計画解剖動物の肉眼的病理検査では、300 mg/kg 投与群の 1 例に肝臓の蒼白化がみられたが、これを除いて、300 および 2000 mg/kg 投与群に何らの異常もみられなかった。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) 変異原性

(資料 毒性-33)

1) 代謝物 M-1 の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： KIH-1419-M-1 (略称：M-1)

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では、50~5000 μg /プレートの範囲の 5 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 被験物質は水に難溶であることから溶媒には DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、S9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μg /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	178.3	29.7	167.0	34.3	15.0
M-1		5	—	155.3	28.7	165.7	35.3	19.0
		15	—	152.0	28.7	175.7	29.3	14.7
		50	—	145.0	21.3	158.7	35.0	18.7
		150	—	163.3	19.7	157.3	38.3	18.0
		500	—	169.7	20.3	152.3	34.3	14.3
		1500	—	129.3	25.7	144.7	32.7	16.0
		5000	—	130.7	24.7	135.0	37.3	16.3
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	1143.3	1109.3	1596.3	222.0	890.3
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	202.0	30.7	215.0	52.7	38.3
M-1		5	+	175.3	21.3	208.3	47.0	41.0
		15	+	205.0	20.7	192.3	50.7	41.3
		50	+	203.3	17.7	200.7	48.7	48.3
		150	+	200.3	19.0	227.7	41.7	37.3
		500	+	157.7	26.7	211.0	40.0	50.7
		1500	+	172.7	19.7	223.0	46.3	34.0
		5000	+	183.0	18.0	198.7	40.7	39.7
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1321.0	444.3	520.3	181.7	184.0
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン,
AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

表 2. 試験 2 (プレインキュベーション試験) 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	137.7	25.3	198.0	43.0	10.3
M-1		50	—	151.3	26.7	147.7	44.0	11.7
		150	—	154.7	36.0	144.3	35.7	11.0
		500	—	127.0	29.0	141.7	44.7	10.3
		1500	—	130.3	30.0	146.0	34.3	9.0
		5000	—	129.7	24.0	152.7	37.0	7.3
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	670.0	1109.3	1824.0	282.7	569.7
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	160.7	24.0	182.0	65.3	30.3
M-1		50	+	177.7	26.3	204.0	55.7	30.0
		150	+	161.0	21.7	217.7	60.3	32.0
		500	+	140.7	23.0	175.7	65.3	32.0
		1500	+	173.7	20.7	211.7	61.7	31.3
		5000	+	152.0	19.3	120.0	50.0	30.7
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	2048.7	565.7	611.3	188.7	168.7
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は 3 枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

2) 代謝物 M-9 の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： KIH-1419-M-9 (略称：M-9)

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では、15~5000 μg /プレートの範囲の 6 用量で実施した。

いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 溶媒には被験物質を溶解する DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、S9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。なお、最高用量の 5000 μg /プレートでは、試験 1 および 2 において S9 Mix 添加の有無にかかわらず、ともに沈殿が生成し、菌株の生育阻害がみられた。また、試験 2 の S9 Mix 非存在下における 1500 μg /プレートの濃度で全菌株に軽度の生育阻害がみられた。

陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	176.0	19.7	169.0	34.3	16.0
M-9		5	—	168.7	20.7	182.7	31.3	13.7
		15	—	170.3	20.7	144.3	34.0	14.3
		50	—	160.0	18.0	168.7	26.7	12.0
		150	—	145.0	21.0	141.0	34.7	14.3
		500	—	160.7	22.0	183.3	30.7	14.3
		1500	—	151.7	19.0	149.0	27.3	13.7
		5000	—	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	926.7	995.7	1546.3	225.7	407.3
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	196.3	18.3	196.0	47.0	31.0
M-9		5	+	157.0	23.0	209.0	47.3	29.7
		15	+	177.3	17.3	209.3	40.7	28.0
		50	+	154.7	14.0	169.7	44.0	27.3
		150	+	157.7	19.3	179.7	44.0	28.0
		500	+	188.7	20.0	181.3	40.7	28.7
		1500	+	179.0	19.0	173.0	37.7	29.3
		5000	+	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1048.0	275.7	620.7	161.0	144.0
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン,
AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成 T: 生育阻害

表2. 試験2 (プレインキュベーション試験) 結果

化合物		用量 (μg /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	161.7	20.0	134.3	34.7	13.0
M-9		15	—	139.3	22.0	146.3	41.3	10.0
		50	—	126.0	21.7	163.0	27.0	10.7
		150	—	136.0	17.0	100.3	27.7	14.0
		500	—	134.0	20.7	109.3	25.3	8.3
		1500	—	61.3 S	6.0 S	72.0 S	18.3 S	5.0 S
		5000	—	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	710.7	529.7	1694.3	246.7	636.3
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	172.0	22.3	198.3	47.7	30.3
M-9		15	+	146.7	11.0	145.0	42.3	31.7
		50	+	148.0	24.7	139.7	50.7	31.7
		150	+	147.7	16.3	174.7	49.0	31.7
		500	+	148.7	18.0	153.3	44.0	28.7
		1500	+	146.3	15.7	113.7	33.3	17.0
		5000	+	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT	0 PT
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	1988.7	365.0	509.0	174.3	176.3
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン
P: 沈殿生成 T: 生育阻害 S: 軽度の生育阻害

3) 代謝物 M-13 の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質： KIH-1419-M-13 (略称：M-13)

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA(pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を水に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (ブレインキューベーション試験) では、50~5000 μg /プレートの範囲の 5 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9 Mix) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
水 ¹⁾		0	—	156.7	25.7	198.7	38.0	19.7
M-13		5	—	169.3	24.0	194.7	37.3	20.3
		15	—	169.7	16.7	198.7	40.0	22.3
		50	—	171.7	21.3	186.0	42.0	22.0
		150	—	168.3	19.0	205.0	40.3	21.7
		500	—	172.3	26.7	195.0	43.0	17.3
		1500	—	170.3	21.3	200.3	31.7	16.3
		5000	—	180.3	22.0	218.7	32.3	20.3
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	1139.7	1608.7			
	NQO ²⁾	2	—			1683.0		
	2NF ²⁾	2	—				262.3	
	AAC ²⁾	50	—					863.3
水 ¹⁾		0	+	192.7	16.7	194.0	58.3	28.7
M-13		5	+	190.0	16.3	200.3	52.0	27.3
		15	+	195.3	17.7	216.7	60.3	33.3
		50	+	178.3	18.0	230.3	68.7	36.7
		150	+	190.0	18.3	236.7	48.0	29.0
		500	+	219.0	19.0	180.0	54.7	34.0
		1500	+	205.7	15.3	171.0	42.7	21.7
		5000	+	200.3	15.0	173.3	43.3	29.0
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1456.3	172.7			
		10	+			516.3		
	B[a]P ²⁾	5	+				216.7	164.0

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

表 2. 試験 2(プレインキュベーション試験)結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
水 ¹⁾		0	—	178.0	21.3	184.0	41.7	7.3
M-13		50	—	198.7	30.3	124.0	49.0	9.3
		150	—	180.0	28.7	131.0	53.7	8.3
		500	—	208.7	24.0	183.7	54.0	6.3
		1500	—	173.7	25.3	169.0	51.0	10.3
		5000	—	177.3	22.3	173.0	50.3	9.0
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	1191.3	970.0	2091.0	435.3	350.3
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
水 ¹⁾		0	+	210.7	26.3	189.7	68.7	33.0
M-13		50	+	198.7	18.3	217.3	70.7	29.7
		150	+	166.0	17.3	192.0	60.0	29.3
		500	+	161.3	20.0	188.3	65.7	34.0
		1500	+	163.3	18.7	199.0	62.7	35.3
		5000	+	144.3	16.0	177.3	66.7	30.7
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	1947.0	456.7	598.3	200.0	152.0
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3. 原体中混在物の毒性試験

(1) 急性毒性

(資料 混在毒-01)

1) のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

被験物質:

純 度:

供試動物: SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群: 雌 3匹
投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重: 186~236 g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様にして投与した。

観 察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	試験 3 日に開始 試験 7 日に終了
症状発現・消失時間	投与 3 時間に発現 試験 13 日に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: -
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300

300 mg/kg 投与群では死亡はみられなかった。一般状態の変化として、1 回目の 300 mg/kg 投与群および 2 回目の 300 mg/kg 投与群ではすべての動物で投与 3 時間から立毛がみられた

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

が、いずれも試験 2 日には回復した。

2000 mg/kg 投与群で 2 例の死亡がみられた。1 回目の 2000 mg/kg 投与群では、1 例が試験 3 日に死亡した。この動物では死亡前に、流涎、立毛、頻呼吸、および歩行不安定が認められた。また生存した 2 例の動物では、円背位、立毛、消瘦および歩行不安定がみられ、うち 1 例には頭部の褐色の汚れ、異常歩行、呼吸深大、活動性低下および体緊張の低下が認められたが、これらの症状は試験 13 日までに回復した。2 回目の 2000 mg/kg 投与群では 1 例の動物で円背位、消瘦、異常歩行および歩行不安定、体緊張の低下、活動性の低下が認められ、試験 7 日に切迫屠殺された。生存した 2 例の動物では一般状態の変化が認められなかった。

体重は 1 回目の 2000 mg/kg 投与群の 2 例で試験 1 から 8 日の間に減少が生じたが、その後は回復した。その他の生存動物には両投与群とも順調な推移がみられた。

肉眼的病理検査において、300 mg/kg 投与群の 1 例に胃の小型化および別の 1 例に肺の蒼白化がみられたが、この投与群のその他の動物および 2000 mg/kg 投与群の生存動物には何の変化もみられなかった。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。

2) のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

修正書 1 発行年: 2011 年

被験物質:

純度:

供試動物: SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群: 雌 3匹

投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重: 179~229 g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様に投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	投与 3 時間に発現 投与 5 時間に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000

300 mg/kg 投与群では死亡はみられなかった。一般状態の変化として、300 mg/kg 投与群では 2 回目に投与した 3 例に投与 2 時間に暗色便がみられたが、試験 3 日には消失した。暗色便の所見は、1 回目に投与した 300 mg/kg 投与群の 3 例および 2000 mg/kg 投与群のいずれの動物にもみられなかったことから、被験物質による影響とは考えなかった。

2000 mg/kg 投与群では死亡はみられなかった。一般状態の変化として 1 回目に投与した 2000 mg/kg 投与群の 1 例および 2 回目に投与した 2000 mg/kg 投与群の 1 例で、投与 3~4 時間に立毛がみられたが、投与 5 時間までに消失した。

観察期間中の体重変化は順調に推移し、正常であった。

肉眼的病理検査において、2000 mg/kg 投与群 1 例に胃の小型化(萎縮)がみられた。これらを除き、異常な所見は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性のLD₅₀は、2000 mg/kg以上と推定された。

3) のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

被験物質:

純度:

供試動物: SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群: 雌 3匹
投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重: 190~209 g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様に投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	一般状態に変化なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000

300 mg/kg 投与群では死亡はみられなかった。一般状態の観察において、1 回目の 300 mg/kg 投与群の 3 例に投与 3~4 時間に立毛がみられたが、投与 4~5 時間の観察では消失していた [申請者註: 1 回目の 300 mg/kg 群で見られた立毛は、同日に投与した 2000 mg/kg 投与群にはみられず、偶発的と考えられた。]。2 回目の 300 mg/kg 投与群の動物では、一般状態の変化はみられなかった。

2000 mg/kg 投与群では、死亡および一般状態の異常は認められなかった。

観察期間中の体重変化は順調に推移し、正常であった。

肉眼的病理検査では異常な所見は観察されなかった。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 混在毒-04)

4) のラットにおける急性経口毒性試験 (毒性等級法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

被験物質:

純度:

供試動物: SD系ラット [Cr1:CD (SD)] 雌、1群: 雌 3匹

投与開始時 8~12 週齢、投与開始時体重: 185~220 g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 被験物質を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とした。2群の一晚絶食させた雌ラットに 300 mg/kg 体重を単回経口投与したところ LD₅₀ が 300 mg/kg 体重を超える結果であったことから、さらに別の 2群の絶食させた雌ラットに 2000 mg/kg 体重を同様にして投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前 (試験 1 日)、試験 8 及び 15 日に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 300、2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	投与 2 時間に発現 投与 5 時間に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: -
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000

300 mg/kg 投与群では死亡はみられなかった。一般状態の観察において、1 回目の 300 mg/kg 投与群の 3 例で投与後 4 時間に立毛がみられたが、投与後 5 時間までに全て消失した。2 回目の 300 mg/kg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。

2000 mg/kg 投与群では死亡はみられなかった。一般状態の観察において、2 回目の 2000 mg/kg 投与群の 3 例で投与後 2 時間に立毛がみられたが、投与後 4 時間半までに全て消失した。

観察期間中の体重変化は順調に推移し、正常であった。

肉眼的病理検査では、2000 mg/kg 投与群 1 例に腎臓の蒼白化がみられたことを除いて、その他に異常な所見は観察されなかった。

以上のことから、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) 変異原性

(資料 混在毒-05)

1) の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

被験物質：

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では、15~5000 μg /プレートの範囲の 6 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 被験物質は水に難溶であることから溶媒には DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、S9 Mix の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。1500 μg /プレート以上ではいずれの条件においても、沈殿生成がみられた。

一方、陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μg /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	151.7	26.3	167.7	41.0	13.7
		5	—	156.3	20.3	166.3	43.3	16.7
		15	—	167.3	23.3	155.7	42.0	17.3
		50	—	145.0	22.3	159.7	38.7	13.3
		150	—	138.7	23.3	185.7	41.7	11.7
		500	—	151.0	15.7	179.0	39.3	10.0
		1500	—	163.7 P	20.3 P	120.3 P	42.0 P	12.7 P
		5000	—	147.0 P	18.3 P	147.0 P	37.3 P	12.0 P
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	994.7	1170.3			
	NQO ²⁾	2	—			2106.0		
	2NF ²⁾	2	—				234.7	
	AAC ²⁾	50	—					396.7
DMSO ¹⁾		0	+	156.3	23.0	167.0	51.7	35.0
		5	+	184.3	21.7	189.3	53.7	34.0
		15	+	162.7	20.3	176.7	44.3	36.0
		50	+	144.0	22.3	150.3	61.3	38.3
		150	+	165.7	22.0	179.7	49.0	35.3
		500	+	170.7	17.3	153.7	59.3	37.7
		1500	+	146.3 P	19.7 P	138.3 P	57.0 P	29.3 P
		5000	+	152.0 P	18.7 P	143.3 P	47.7 P	25.7 P
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1199.0	169.0			
		10	+			574.7		
	B[a]P ²⁾	5	+				317.3	168.3

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン,
AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

表 2. 試験 2(プレインキュベーション)結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	113.0	27.0	116.0	39.3	20.7
		15	—	141.3	22.3	127.3	34.0	19.3
		50	—	153.7	23.7	127.0	36.0	17.3
		150	—	138.0	22.7	122.7	37.0	18.7
		500	—	130.0	18.7	121.3	42.3	17.3
		1500	—	132.3 P	18.0 P	122.0 P	35.0 P	17.7 P
		5000	—	126.3 P	21.0 P	130.0 P	32.0 P	12.0 P
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	1222.3	772.3	1402.3	362.0	612.7
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	152.0	25.3	133.7	44.7	35.7
		15	+	181.7	24.3	153.7	44.7	34.0
		50	+	177.7	18.7	141.3	37.3	27.3
		150	+	171.0	19.0	154.0	36.0	32.7
		500	+	169.3	21.7	146.7	40.3	30.3
		1500	+	159.3 P	22.3 P	126.0 P	38.3 P	29.3 P
		5000	+	152.0 P	21.3 P	140.7 P	33.7 P	24.7 P
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	1842.3	176.7	497.7	171.0	176.7
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

2) の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

被験物質：

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では、50~5000 μg /プレートの範囲の 5 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 溶媒には被験物質を溶解する DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9 Mix) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。なお、最高用量の 5000 μg /プレートでは、試験 1 および 2 において S9 Mix 添加の有無にかかわらず、ともに沈殿生成がみられた。

陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	161.3	28.7	146.0	32.7	11.3
		5	—	128.7	23.0	135.0	33.3	9.7
		15	—	159.0	25.3	134.7	38.0	10.7
		50	—	168.3	24.0	162.0	37.7	10.7
		150	—	151.7	28.0	174.0	36.3	10.0
		500	—	163.0	28.7	156.7	32.0	11.3
		1500	—	155.7	23.7	141.3	38.0	7.0
		5000	—	144.3 P	21.0 P	134.3 P	28.3 P	6.7 P
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	538.0	1185.3			
	NQO ²⁾	2	—			1460.3		
	2NF ²⁾	2	—				209.3	
	AAC ²⁾	50	—					445.0
DMSO ¹⁾		0	+	187.3	26.7	151.0	60.3	31.0
		5	+	179.0	21.3	129.3	60.7	29.0
		15	+	156.7	23.0	180.7	49.0	31.7
		50	+	165.3	31.0	173.3	60.3	33.3
		150	+	152.7	17.7	147.3	61.7	29.0
		500	+	155.3	20.0	164.0	48.0	28.0
		1500	+	148.7	21.3	158.3	43.7	35.7
		5000	+	139.0 P	21.0 P	121.0 P	34.3 P	24.7 P
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1820.7	176.7			
		10	+			458.0		
	B[a]P ²⁾	5	+				177.3	164.3

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン
P: 沈殿生成

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. 試験 2 (プレインキュベーション試験) 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	159.7	22.3	107.0	32.7	17.3
		50	—	137.7	29.3	124.0	36.3	15.3
		150	—	131.7	24.7	108.0	32.7	15.7
		500	—	155.3	20.3	105.3	31.3	11.3
		1500	—	134.7	22.0	114.0	27.7	13.3
		5000	—	128.3 P	21.7 P	104.3 P	32.3 P	11.3 P
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	1548.0	1157.0	1098.3	298.7	
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—				968.7	
DMSO ¹⁾		0	+	154.3	28.0	122.0	50.0	30.7
		50	+	153.7	27.7	111.0	47.3	34.0
		150	+	147.7	27.0	133.7	45.7	29.3
		500	+	162.7	27.0	136.3	46.0	32.7
		1500	+	151.0	22.7	122.3	48.7	33.7
		5000	+	122.0 P	22.0 P	110.0 P	43.7 P	26.7 P
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	2161.0	347.3	380.3	185.0	202.0
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

3) の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

被験物質：

純 度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では、5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 溶媒には被験物質を溶解する DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9 Mix) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。なお、500 μg /プレート以上の濃度では、試験 1 および 2 において S9 Mix 添加の有無にかかわらず、ともに沈殿生成がみられた。

陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	147.3	19.7	134.0	33.3	15.3
		5	—	141.3	27.0	118.0	40.3	11.7
		15	—	164.0	21.3	137.3	42.7	14.0
		50	—	155.3	21.0	122.7	37.3	13.3
		150	—	150.7	24.7	134.0	39.0	15.0
		500	—	159.0 P	18.3 P	129.7 P	34.7 P	12.7 P
		1500	—	135.3 P	21.0 P	120.0 P	29.3 P	12.7 P
		5000	—	125.0 P	18.0 P	110.7 P	25.0 P	11.3 P
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	842.0	1046.3	2219.3	207.7	756.3
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	164.0	21.3	164.7	48.7	30.3
		5	+	184.7	16.3	163.3	61.0	27.7
		15	+	159.0	20.3	148.0	49.0	27.3
		50	+	137.3	17.7	172.3	52.0	31.0
		150	+	139.3	21.7	148.3	58.0	27.7
		500	+	161.7 P	21.3 P	131.7 P	46.3 P	27.0 P
		1500	+	149.3 P	16.3 P	136.0 P	43.7 P	26.0 P
		5000	+	125.3 P	15.3 P	112.0 P	41.0 P	23.3 P
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	2023.0	222.0	506.3	219.0	184.7
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

表 2. 試験 2 (プレインキュベーション試験) 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	142.0	24.7	118.7	31.7	10.0
		5	—	123.3	23.0	113.0	35.0	12.0
		15	—	129.0	24.7	118.3	34.3	14.0
		50	—	136.7	22.0	114.3	36.0	7.7
		150	—	152.7	22.7	120.0	33.7	10.3
		500	—	145.0 P	22.7 P	130.0 P	27.0 P	11.7 P
		1500	—	140.3 P	22.7 P	124.7 P	34.3 P	10.3 P
		5000	—	146.3 P	20.3 P	107.0 P	27.7 P	10.3 P
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	900.0	1172.3			
	NQO ²⁾	2	—			1480.3		
	2NF ²⁾	2	—				294.7	
	AAC ²⁾	50	—					702.7
DMSO ¹⁾		0	+	139.7	18.3	162.3	48.3	36.0
		5	+	132.0	21.7	189.7	54.0	30.7
		15	+	153.0	17.0	169.0	38.3	28.3
		50	+	152.7	19.7	167.3	45.0	27.3
		150	+	147.0	19.0	192.7	41.3	30.7
		500	+	154.7 P	18.3 P	113.3 P	34.3 P	22.3 P
		1500	+	144.0 P	18.0 P	163.7 P	42.0 P	30.3 P
		5000	+	136.3 P	18.0 P	151.0 P	39.7 P	23.3 P
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	1690.7	169.3			
		10	+			602.0		
	B[a]P ²⁾	5	+				230.7	157.7

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

4) の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

被験物質：

純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (pKM101) 株を用い、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンが投与されたラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系、肝ミクロソーム (S9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

被験物質を DMSO に溶解し、試験 1 では 5~5000 μg /プレートの範囲の 7 用量で、試験 2 (プレインキュベーション試験) では、15~5000 μg /プレートの範囲の 6 用量で実施した。いずれの試験においても用量あたり 3 枚のプレートを用いた。

用量設定根拠： 溶媒には被験物質を溶解する DMSO を用いた。最高用量はテストガイドラインの限界用量である 5000 μg /プレートとした。

試験結果： 試験 1 の結果を表 1 に、試験 2 の結果を表 2 に示した。

被験物質処理区ではいずれの用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9 Mix) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ各試験菌株の復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。なお、1500 μg /プレート以上の濃度では、試験 1 および 2 において S9 Mix 添加の有無にかかわらず、ともに沈殿生成がみられた。

陽性対照物質はそれぞれの検定菌株で明確な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、被験物質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た。

表 1. 試験 1 結果

化合物		用量 (μ g /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	134.0	22.3	162.0	34.0	10.3
		5	—	143.3	21.3	166.0	38.7	11.3
		15	—	147.3	16.0	154.7	35.3	11.0
		50	—	144.3	18.3	184.0	32.0	11.0
		150	—	112.3	18.7	181.3	37.7	12.3
		500	—	130.7	18.7	193.7	37.3	10.7
		1500	—	151.3 P	26.3 P	169.3 P	23.3 P	12.7 P
		5000	—	147.0 P	18.3 P	187.7 P	26.0 P	11.7 P
陽性 対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	789.0	1058.7	1963.0	215.3	419.0
	NQO ²⁾	2	—					
	2NF ²⁾	2	—					
	AAC ²⁾	50	—					
DMSO ¹⁾		0	+	174.7	18.0	158.0	49.0	29.7
		5	+	174.3	14.7	167.7	45.7	29.7
		15	+	181.3	14.0	180.3	45.0	31.7
		50	+	147.7	17.0	143.0	45.0	28.3
		150	+	170.0	18.7	154.7	45.7	25.7
		500	+	172.7	15.7	140.0	39.0	29.3
		1500	+	170.7 P	17.7 P	159.3 P	45.0 P	27.0 P
		5000	+	167.7 P	16.0 P	156.0 P	33.7 P	27.0 P
陽性 対照	AAN ²⁾	5	+	1437.0	234.7	441.0	267.3	136.0
		10	+					
	B[a]P ²⁾	5	+					

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

表 2. 試験 2 (プレインキュベーション試験) 結果

化合物		用量 (μg /plate)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
				塩基置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} (pKM101)	TA98	TA1537
DMSO ¹⁾		0	—	141.0	18.3	128.3	30.0	11.0
		15	—	145.0	18.3	130.3	31.3	9.0
		50	—	121.3	25.7	132.0	32.3	13.0
		150	—	121.0	21.3	139.3	30.0	8.7
		500	—	129.7	19.3	108.7	29.3	11.3
		1500	—	136.0 P	20.3 P	139.7 P	27.3 P	10.3 P
		5000	—	132.3 P	20.3 P	120.7 P	30.3 P	12.0 P
陽性対照	NaN ₃ ²⁾	2	—	904.0	1190.0			
	NQO ²⁾	2	—			1122.3		
	2NF ²⁾	2	—				261.7	
	AAC ²⁾	50	—					487.3
DMSO ¹⁾		0	+	169.7	18.7	185.3	39.3	31.0
		15	+	139.0	22.7	188.7	46.0	29.3
		50	+	130.7	16.0	193.7	47.7	23.7
		150	+	140.3	19.0	189.7	36.3	30.3
		500	+	142.7	17.0	167.3	32.0	19.7
		1500	+	151.3 P	22.3 P	180.3 P	36.0 P	22.0 P
		5000	+	135.7 P	17.7 P	148.7 P	30.3 P	26.7 P
陽性対照	AAN ²⁾	5	+	1290.3	312.7			
		10	+			584.3		
	B[a]P ²⁾	5	+				211.7	202.7

表中の復帰変異コロニー数は3枚のプレートの平均値

注 1) 溶媒対照

2) NaN₃: アジ化ナトリウム, NQO: 4-ニトロキノリン-1-オキシド, 2NF: 2-ニトロフルオレン, AAC: 9-アミノアクリジン, AAN: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ[a]ピレン

P: 沈殿生成

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4. 製剤毒性

(1) 2.0%粒剤 (ヒエカット1キロ粒剤)

(資料 毒性-36)

1) ラットにおける急性経口毒性試験

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

被験物質: ヒエカット1キロ粒剤 (KUH-071-1kg 粒)

組成: フェノキサスルホン 2.0%
 鉍物質微粉 等 98.0%

供試動物: Wistar 系ラット (Slc:Wistar (SPF)) 雌, 1群: 雌 5匹
 8週齢, 投与時体重: 116~126 g

観察期間: 14 日間

投与方法: 被験物質を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とし、動物は 16 時間以上絶食させた後、胃ゾンデおよびシリンジを用いて 2000 mg/kg 体重を単回強制経口投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	一般状態に変化なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌: 2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌: 2000

観察期間中に死亡および一般状態の変化は認められなかった。

観察期間中の体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査において異常な所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。また GHS 分類では区分外に該当すると判断された。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

被験物質： ヒエカット 1 キロ粒剤 (KUH-071-1kg 粒)

組成： フェノキサスルホン 2.0%
鉍物質微粉 等 98.0%

供試動物： Wistar 系ラット (Slc:Wistar(SPF)) 1 群：雄雌 各 5 匹

10 週齢、投与時体重：雄 221~228 g；雌 150~159 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 被験物質を処理する前日に、動物の躯幹背部 (約 6×7 cm) を刈毛した。2000 mg/kg 体重相当量の被験物質を約 4 × 5 cm のパッチ (ガーゼおよびアルミ箔製) に均一に広げ、適当量の蒸留水で湿らせた。これを刈毛した背部皮膚に貼付し、医療用テープで固定した。暴露時間は約 24 時間とし、暴露終了後に保護材をはずし、蒸留水を用いて残った被験物質を取り除いた。

観察： 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前、投与 7 及び 14 日後に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg 体重)	雄：2000, 雌：2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雄：>2000, 雌：>2000
死亡開始・終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	一般状態に変化なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：2000, 雌：2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：2000, 雌：2000

・観察期間中に死亡および一般状態の変化は認められなかった。

観察期間中の体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査において異常な所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下における被験物質の急性経皮毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。また GHS 分類では区分外に該当すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-38)

3) 急性吸入毒性試験

本剤は気化して施用する農薬ではないため、13 生産第 3986 号記 4 (2) ③イの記載に基づき、試験を省略した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-39)

4) ウサギにおける皮膚刺激性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

被験物質： ヒエカット1キログラム剤 (KUH-071-1kg 粒)

組成： フェノキサスルホン 2.0%

鉍物質微粉 等 98.0%

試験動物： ニュージーランドホワイト種 (Kb1:NZW) ウサギ 1群：雌3匹

17週齢、投与時体重： 3.39~3.56 kg

観察期間：被験物質除去後72時間

投与方法：被験物質 0.5g を 2.45 cm 四方大のリント布に均一に広げた後 0.5mL の蒸留水で湿らせ、剪毛したウサギの背部皮膚に貼付した。貼付4時間後にリント布を除去し、被験物質を蒸留水で除去した。

観察：被験物質除去1, 24, 48, 72時間後に、皮膚刺激性反応を観察し、以下の基準に従って採点した。また、投与前および観察終了日に体重を測定した。

1) 紅斑および痂皮の形成 (最高点 4)

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (辛うじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度または重度の紅斑	3
重度の紅斑 (深紅色) または痂皮形成 (紅斑の採点不能)	4

2) 浮腫の形成 (最高点 4)

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫	1
軽度の浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度の浮腫 (約 1 mm の膨隆)	3
高度の浮腫 (1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

動物 番号	項目	最高 評点	被験物質除去後の経過時間における評点			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合 計		24	2	0	0	0
平 均		8	0.7	0	0	0

被験物質除去 1 時間後の観察で 3 例中 2 例の皮膚に評点 1 の紅斑が認められたが、24 時間後には消失し、72 時間後まで異常は認められなかった。観察終了日の体重は投与直前の体重より 0.02 ~0.05 kg 増加した。

以上の結果から、被験物質はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと考えられた。GHS の分類では「区分外」、Gad and Chengelis の分類では「無刺激物」に分類されると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-40)

5) ウサギにおける眼刺激性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

被験物質： ヒエカット 1 キロ粒剤 (KUH-071-1kg 粒)

組成： フェノキサスルホン 2.0%

鉍物質微粉 等 98.0%

試験動物： ニュージーランドホワイト種 (Kb1:NZW) ウサギ 1 群：雌 3 匹

11 週齢、投与時体重： 2.21~2.41 kg

観察期間：被験物質適用後 72 時間

投与方法：被験物質の微粉末 0.1 g をウサギの右眼の結膜囊内に適用した。投与直後に瞼を緩やかに合わせ約 1 秒間保持した。洗眼は行わなかった。

観察：被験物質適用後 1, 24, 48, 72 時間に眼刺激性反応を観察し、Draize の基準に基づいて採点した。また、眼刺激性の観察と同時に一般状態についても観察を行った。投与直前および観察終了日に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

動物 番号	観察項目	最高評点	適用後経過時間における評点				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
1	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0
		面積	4	0	1	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	0	0
		分泌物	3	1	1	0	0
2	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
3	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0
		面積	4	0	1	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	2	1	0
		浮腫	4	1	1	0	0
		分泌物	3	1	1	0	0
合 計*		330	18	28	6	0	
平 均		110	6.0	9.3	2.0	0.0	

*各動物における「角膜評価の和×5+虹彩評価×5+結膜評価の和×2」の総和

全動物に結膜の発赤、浮腫および分泌物が認められ、角膜混濁の発現動物も認められたが、72時間後では全動物において眼反応が消失した。

観察期間を通じ、一般状態の異常は認められなかった。

観察終了日の体重は、投与直前の体重より 0.06~0.12 kg 増加した。

以上の結果から、被験物質はウサギの眼に対して軽度の刺激性があるものと考えられた。GHS の分類では「区分外」に分類された。Kay and Calandra の分類では初期段階で「Minimally irritating (軽微な刺激性)」に、最終段階で「Mild irritating (軽度刺激性)」に分類された。

6) モルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

被験物質: ヒエカット 1 キロ粒剤 (KUH-071-1kg 粒)

組成: フェノキサスルホン 2.0%

鉍物質微粉 等 98.0%

試験動物: ハートレー系 (Slc: Hartley) モルモット 雌 30 匹 (試験群 20 匹、対照群 10 匹)
7 週齢、体重 368~460 g

観察期間: 30 日間 (惹起処理後 2 日間)

用量設定: 2 匹のモルモットを用いて、用量設定試験を実施した。

各モルモットの皮膚に、被験物質の 50、10 および 2.0%w/v の懸濁液 (媒体: 蒸留水) をそれぞれ 6 時間閉塞貼付した。その結果いずれの濃度においても皮膚反応は観察されなかったことから、調製が可能な濃度である 50% を感作・惹起処理濃度とした。

感作処置: 30 匹のモルモットを用意し、20 匹を感作群、10 匹を非感作群とした。

50%w/v の被験物質液 0.2 mL を塗布した 2×2 cm のリント布を、除毛したモルモットの左側腹部に貼付した。6 時間閉塞貼付した後にパッチを除去した。

同様の操作を 7 日毎に計 3 回行った。対照群には蒸留水を 0.2 mL 処置した。

惹起処置: 最終感作処置後 14 日にモルモットの右腹側部を除毛し、被験物質処置群および対照群ともに 50%w/v の被験物質液 0.2 mL を均一に塗布したリント布を 6 時間閉塞貼付した後パッチを除去した。

試験項目: 惹起処置のパッチ除去 24 時間後及び 48 時間後に皮膚の状態を観察し、以下の基準に従って皮膚反応を採点した。

皮膚反応の判定基準

肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度のびまん性紅斑	2
強度の紅斑および浮腫	3

試験期間中、1 日 1 回、動物の一般状態を観察した。

感作開始日及び観察終了日に動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

試験群	感作処置	惹起処置	動物数	惹起処置後の皮膚反応		
				最小スコア	最大スコア	皮膚感作率 (%)
被験物質処理群	50%w/v 被験物質液	50%w/v 被験物質液	20	0	0	0
陰性対照群	蒸留水	50%w/v 被験物質液	10	0	0	—

被験物質処理群および陰性対照群ともに惹起処理のパッチ除去後24および48時間の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。被験物質の皮膚感作率は0%であった。観察期間を通じ一般状態に異常は認められなかった。試験期間中の体重推移は順調であった。

以上の結果から、本被験物質はモルモットに対して皮膚感作性がないと判断された。

なお、本試験機関における陽性対照物質（1-chloro-2,4-dinitrobenzen（以下、DNCB）、溶媒：エタノール）による参考データを以下に示す。（実施期間：2010年2月10日～3月12日）

試験群	感作処置	惹起処置	動物数	評点別の皮膚反応動物数									
				24 時間				48 時間					
				0	1	2	3	0	1	2	3		
陽性対照群	0.4% DNCB	0.1% DNCB	10				10						10
非感作群	80%エタノール	0.1% DNCB	10	7	3			9	1				

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) 75.0%水和剤 (スパーダ顆粒水和剤)

(資料 毒性-42)

1) ラットにおける急性経口毒性試験

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2012 年

被験物質: スパーダ顆粒水和剤 (KUH-114 顆粒水和剤)

組成: フェノキサスルホン 75.0%
鉍物質微粉等 25.0%

供試動物: Wistar系ラット (Slc:Wistar(SPF)) 雌, 1群: 雌 3匹
8週齢, 投与時体重: 133~138 g

観察期間: 14日間

投与方法: 被験物質を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁させ、投与溶液とした。投与容量を 10 mL/kg 体重とし、動物は 16 時間以上絶食させた後、胃ゾンデおよびシリンジを用いて 2000 mg/kg 体重を単回強制経口投与した。投与したラットに死亡が認められなかったことから、別の雌ラット 3 匹に 2000 mg/kg 体重の用量で被験物質を同様に投与した。

観察: 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg 体重)	雌: 2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雌: >2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	一般状態に変化なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌: 2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌: 2000

観察期間中に死亡および一般状態の変化は認められなかった。

観察期間中の体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査において異常な所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下における被験物質の急性経口毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。また GHS 分類では区分外に該当すると判断された。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質： スパーダ顆粒水和剤 (KUH-114 顆粒水和剤)

組成： フェノキサスルホン 75.0%
鉍物質微粉等 25.0%

供試動物： Wistar 系ラット (Slc:Wistar(SPF)) 1 群：雄雌 各 5 匹

9 週齢、投与時体重：雄 226~243 g；雌 151~156 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 被験物質を処理する前日に、動物の躯幹背部 (約 6×7 cm) を刈毛した。乳鉢と乳棒を用いて粉碎した被験物質の 2000 mg/kg 体重相当量を約 4 × 5 cm のパッチ (ガーゼおよびアルミ箔製) に均一に広げ、これを刈毛した背部皮膚に貼付し、医療用テープで固定した。暴露時間は約 24 時間とし、暴露終了後に保護材をはずし、蒸留水を用いて残った被験物質を取り除いた。

観察： 一般状態及び死亡の有無を 14 日間観察した。体重を投与前、投与 7 及び 14 日後に測定した。観察期間終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg 体重)	雄：2000, 雌：2000
LD ₅₀ (mg/kg 体重)	雄：>2000, 雌：>2000
死亡開始・終了時間	死亡例なし
症状発現・消失時間	一般状態に変化なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：2000, 雌：2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：2000, 雌：2000

観察期間中に死亡および一般状態の変化は認められなかった。

観察期間中の体重変化は正常であった。

肉眼的病理検査において異常な所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下における被験物質の急性経皮毒性の LD₅₀ は、2000 mg/kg 以上と推定された。また GHS 分類では区分外に該当すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-44)

3) 急性吸入毒性試験

本剤は気化して施用する農薬ではないため、13 生産第 3986 号記 4 (2) ③イの記載に基づき、試験を省略した。

4) ウサギにおける皮膚刺激性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質： スパーダ顆粒水和剤 (KUH-114 顆粒水和剤)

組成： フェノキサスルホン 75.0%
 鉍物質微粉等 25.0%

試験動物： ニュージーランドホワイト種 (Kb1:NZW) ウサギ 1 群： 雌 3 匹
 17 週齢、投与時体重： 3.19~3.69 kg

観察期間： 被験物質除去後 72 時間

投与方法： 被験物質 0.5g を 2.45 cm 四方大のリント布に均一に広げた後 0.5mL の蒸留水で湿らせ、剪毛したウサギの背部皮膚に貼付した。貼付 4 時間後にリント布を除去し、被験物質を蒸留水で除去した。

観察： 被験物質除去 1, 24, 48, 72 時間後に、皮膚刺激性反応を観察し、以下の基準に従って採点した。また、投与前および観察終了日に体重を測定した。

1) 紅斑および痂皮の形成 (最高点 4)

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (辛うじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度または重度の紅斑	3
重度の紅斑 (深紅色) または痂皮形成 (紅斑の採点不能)	4

2) 浮腫の形成 (最高点 4)

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫 (辛うじて識別できる)	1
軽度の浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度の浮腫 (約 1 mm の膨隆)	3
高度の浮腫 (1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

動物 番号	項目	最高 評点	被験物質除去後の経過時間における評点			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合 計	24	1	1	0	0
	平 均	8	0.3	0.3	0	0

被験物質除去 1 および 24 時間後の観察で 3 例中 1 例の皮膚に評点 1 の紅斑が認められたが、48 時間後には消失し、72 時間後まで異常は認められなかった。GHS 有害性区分の分類の基準となる 2 匹における 24、48 および 72 時間後の平均評点は紅斑・痂皮で 0.2、浮腫で 0 であった。観察期間中の体重は 3 例とも増加した。

以上の結果から、被験物質はウサギの皮膚に対して Gad and Chengelis の分類では軽微な刺激性があり、GHS の分類では「区分外」に分類されると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性-46)

5) ウサギにおける眼刺激性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質： スパーダ顆粒水和剤 (KUH-114 顆粒水和剤)

組成： フェノキサスルホン 75.0%
鋳物質微粉等 25.0%

試験動物： ニュージーランドホワイト種 (Kb1:NZW) ウサギ 1 群： 雌 3 匹
11 週齢、投与時体重： 2.25~2.46 kg

観察期間： 被験物質適用後 72 時間

投与方法： 被験物質の微粉末 0.1 g をウサギの左眼の結膜囊内に適用した。投与直後に瞼を緩やかに合わせ約 1 秒間保持した。洗眼は行わなかった。

観察： 被験物質適用後 1, 24, 48, 72 時間に眼刺激性反応を観察し、Draize の基準に基づいて採点した。また、眼刺激性の観察と同時に一般状態についても観察を行った。投与直前および観察終了日に体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

動物 番号	観察項目	最高評点	適用後経過時間における評点				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
1	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0
		面積	4	0	1	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	0
		分泌物	3	1	0	0	0
2	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0
		面積	4	0	1	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫	4	1	1	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
3	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩	2	0	0	0	0	
	結 膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
合 計*		330	14	18	4	0	
平 均		110	4.7	6.0	1.3	0.0	

*各動物における「角膜評価の積×5+虹彩評価×5+結膜評価の和×2」の総和

投与 1 時間後の観察で投与部位の結膜の発赤、浮腫および分泌物が認められ、24 時間後には角膜混濁も認められたが、72 時間後までに投与部位の反応が消失した。

観察期間を通じ、一般状態の異常は認められなかった。

観察終了日の体重は、投与直前の体重より増加した。

以上の結果から、被験物質は Kay and Calandra の分類では最も高い平均総合評点 (MTS) は 24 時間後の 6.0 であったが、48 時間後の MTS が 1.3 であったため、最終段階の眼刺激性等級は「Mildly irritating (M2; 軽度刺激性) に分類された。GHS の有害性区分ではいずれの区分にも分類されなかった (「区分外」)。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(資料 毒性 - 47)

6) モルモットにおける皮膚感作性試験 (Buehler 法)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2012 年

被験物質: スパーダ顆粒水和剤 (KUH-114 顆粒水和剤)

組成: フェノキサスルホン 75.0%
鉍物質微粉等 25.0%

試験動物: ハートレー系 (Slc: Hartley) モルモット 雌 30 匹 (試験群 20 匹、対照群 10 匹)
7 週齢、体重 364~445 g

観察期間: 30 日間 (惹起処理後 2 日間)

用量設定: 3 匹のモルモットを用いて、用量設定試験を実施した。

各モルモットの皮膚に、被験物質の 50、10 および 2%w/v の懸濁液 (媒体: 蒸留水) をそれぞれ 6 時間閉塞貼付した。その結果いずれの濃度においても皮膚反応は観察されなかったことから、調製が可能な濃度である 50%w/v を感作・惹起処理濃度とした。

感作処置: 30 匹のモルモットを用意し、20 匹を感作群、10 匹を非感作群とした。

50%w/v の被験物質液 0.2 mL を塗布した 2×2 cm のリント布を、除毛したモルモットの左側腹部に貼付した。6 時間閉塞貼付した後にパッチを除去した。
同様の操作を 7 日毎に計 3 回行った。対照群には蒸留水を 0.2 mL 処置した。

惹起処置: 最終感作処置後 14 日にモルモットの右腹側部を除毛し、被験物質処置群および対照群ともに 50%w/v の被験物質液 0.2 mL を均一に塗布したリント布を 6 時間閉塞貼付した後パッチを除去した。

試験項目: 惹起処置のパッチ除去 24 時間後及び 48 時間後に皮膚の状態を観察し、以下の基準に従って皮膚反応を採点した。

皮膚反応の判定基準

肉眼的に変化なし	0
軽度またはまばらな紅斑	1
中等度のびまん性紅斑	2
強度の紅斑および浮腫	3

試験期間中、1 日 1 回、動物の一般状態を観察した。

感作開始日及び観察終了日に動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

試験群	感作処置	惹起処置	動物数	惹起処置後の皮膚反応		
				最小スコア	最大スコア	皮膚感作率 (%)
被験物質処理群	50%w/v 被験物質液	50%w/v 被験物質液	20	0	0	0
陰性対照群	蒸留水	50%w/v 被験物質液	10	0	0	—

被験物質処理群および陰性対照群ともに惹起処理のパッチ除去後24および48時間の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。被験物質の皮膚感作率は0%であった。観察期間を通じ一般状態に異常は認められなかった。試験期間中の体重推移は順調であった。

以上の結果から、本被験物質はモルモットに対して皮膚感作性がないと判断された。

なお、本試験機関における陽性対照物質（1-chloro-2,4-dinitrobenzen（以下、DNCB）、溶媒：エタノール）による参考データを以下に示す。（実施期間：2012年5月16日～6月15日）

試験群	感作処置	惹起処置	動物数	評点別の皮膚反応動物数								
				24 時間				48 時間				
				0	1	2	3	0	1	2	3	
陽性対照群	0.4% DNCB	0.1% DNCB	10				10				4	6
非感作群	80%エタノール	0.1% DNCB	10	10					10			

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料番号	試験の種類	供試動物等	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																											
運命-1 [GLP]	動物代謝 (予備試験)	ラット	<p>ベンゼン環-U-¹⁴C 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環-³-¹⁴C 標識 (Is 標識) それぞれ 10 mg/kg 単回経口投与</p> <p>1) 排泄 168 時間まで排泄量を測定。 雄雌各 1 匹</p> <p>2) 血漿・全血の薬物動態 血液を尾静脈から採取し、72 時間まで血漿・全血中の放射能濃度を測定。 雄雌各 3 匹</p> <p>3) 代謝 尿および糞抽出物試料を、 HPLC 分析、TLC 分析、酵素処理、および GC-MS 測定により代謝物の同定を行なった。 雄雌各 1 匹</p>	<p>1) 排泄 72 時間までの呼気中 ¹⁴CO₂ 発生量は最大で 1.7% 168 時間までの排泄量(%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>試料</th> <th>Bz 標識</th> <th>Is 標識</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>12.8-12.9</td> <td>20.3-26.4</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>82.3-88.5</td> <td>52.1-60.6</td> </tr> <tr> <td>カーカス</td> <td>0.1-0.2</td> <td>8.7-9.6</td> </tr> <tr> <td>回収率</td> <td>96.8-103</td> <td>94.2-94.9</td> </tr> </tbody> </table> <p>排泄に雄雌の差はない。 Bz 標識では 48 時間以内に、Is 標識では 96 時間以内に大部分が排泄された。</p> <p>2) 血漿中の薬物動態</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Bz 標識</th> <th>Is 標識</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C_{max} *</td> <td>1.37-1.43</td> <td>3.90-4.17</td> </tr> <tr> <td>T_{max} (h)</td> <td>2 - 3</td> <td>8 - 12</td> </tr> <tr> <td>t_{1/2} (h)</td> <td>21 - 43</td> <td>55 - 98</td> </tr> </tbody> </table> <p>* C_{max} の単位は μg eq/g C_{max}、T_{max} の値に雄雌間で大きな差はない。 全血も血漿と同様の傾向であった。</p> <p>3) 代謝：代謝物プロファイルはそれぞれの標識体に特異的。 尿中代謝物：Bz 標識では を同定。 Is 標識では主代謝物として を同定。他は %TAR 以下。 糞中代謝物：主代謝物は 。他に Bz 標識では を同定。</p>	試料	Bz 標識	Is 標識	尿	12.8-12.9	20.3-26.4	糞	82.3-88.5	52.1-60.6	カーカス	0.1-0.2	8.7-9.6	回収率	96.8-103	94.2-94.9		Bz 標識	Is 標識	C _{max} *	1.37-1.43	3.90-4.17	T _{max} (h)	2 - 3	8 - 12	t _{1/2} (h)	21 - 43	55 - 98	(2009)	IX-12
試料	Bz 標識	Is 標識																															
尿	12.8-12.9	20.3-26.4																															
糞	82.3-88.5	52.1-60.6																															
カーカス	0.1-0.2	8.7-9.6																															
回収率	96.8-103	94.2-94.9																															
	Bz 標識	Is 標識																															
C _{max} *	1.37-1.43	3.90-4.17																															
T _{max} (h)	2 - 3	8 - 12																															
t _{1/2} (h)	21 - 43	55 - 98																															
運命-2 [GLP]	動物代謝 (単回投与)	ラット	<p>ベンゼン環-U-¹⁴C 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環-³-¹⁴C 標識 (Is 標識) 単回経口投与</p> <p>1) 排泄 低用量 10 mg/kg 高用量 1000 mg/kg</p>	<p>1) 排泄 低用量： 168 時間までの排泄量(%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>試料</th> <th>Bz 標識</th> <th>Is 標識</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>10.1-11.7</td> <td>18.0-21.6</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>85.7-87.2</td> <td>65.9-71.7</td> </tr> <tr> <td>カーカス</td> <td><0.1</td> <td>3.5-4.5</td> </tr> <tr> <td>回収率</td> <td>97.6-97.7</td> <td>94.6-95.4</td> </tr> </tbody> </table>	試料	Bz 標識	Is 標識	尿	10.1-11.7	18.0-21.6	糞	85.7-87.2	65.9-71.7	カーカス	<0.1	3.5-4.5	回収率	97.6-97.7	94.6-95.4	(2010)	IX-20												
試料	Bz 標識	Is 標識																															
尿	10.1-11.7	18.0-21.6																															
糞	85.7-87.2	65.9-71.7																															
カーカス	<0.1	3.5-4.5																															
回収率	97.6-97.7	94.6-95.4																															

<代謝分解試験一覧表（続き）>

資料番号	試験の種類	供試動物等	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																																																																									
運命-2 [GLP]	動物代謝 (単回投与)	ラット	<p>168 時間まで排泄量を測定。 雄雌各 4 匹</p> <p>2) 胆汁排泄 (雄のみ) 低用量 10 mg/kg 胆管カニューラ挿入ラットから 48 時間にわたり胆汁、尿、糞を採取し放射能濃度を測定。 雄雌各 3 匹</p> <p>3) 血漿・全血の薬物動態 低用量 10 mg/kg 高用量 1000 mg/kg 血液を尾静脈から採取し、120 時間まで血漿・全血中の放射能濃度を測定。 雄雌各 12 匹 (単位は C_{max} が $\mu\text{g eq/g}$、AUC_{all} が $\mu\text{g eq h/g}$、T_{max} は hrs で示した。) 雄雌各 12 匹</p>	<p>高用量： 168 時間までの排泄量(%TAR)</p> <table border="1"> <tr><th>試料</th><th>Bz 標識</th></tr> <tr><td>尿</td><td>2.7-3.2</td></tr> <tr><td>糞</td><td>96.6</td></tr> <tr><td>カーカス</td><td><0.1</td></tr> <tr><td>回収率</td><td>99.3-99.8</td></tr> </table> <p>排泄は主に糞を経由した。雄雌による差はなかった。Bz 標識では 48 時間以内に大部分(>97%)が排泄された。尿中への排泄割合は 10 mg/kg > 1000 mg/kg であった。Is 標識では 48 時間までに投与量の >80%が排泄された。</p> <p>2) 胆汁排泄 48 時間までの排泄量(%TAR)</p> <table border="1"> <tr><th>試料</th><th>Bz 標識</th><th>Is 標識</th></tr> <tr><td>胆汁</td><td>24.6</td><td>31.2</td></tr> <tr><td>尿</td><td>14.3</td><td>7.4</td></tr> <tr><td>糞</td><td>54.5</td><td>51.9</td></tr> <tr><td>吸収率</td><td>39.1</td><td>41.3</td></tr> </table> <p>吸収率は両標識体で同等。 胆汁は排泄の主要な経路。</p> <p>3) 血漿中の薬物動態 Bz 標識、低用量、血漿中濃度</p> <table border="1"> <tr><th></th><th>雄</th><th>雌</th></tr> <tr><td>C_{max}</td><td>0.884</td><td>0.970</td></tr> <tr><td>T_{max}</td><td>4</td><td>4</td></tr> <tr><td>AUC_{all}</td><td>18.6</td><td>24.0</td></tr> </table> <p>Is 標識、低用量、血漿中濃度</p> <table border="1"> <tr><th></th><th>雄</th><th>雌</th></tr> <tr><td>C_{max}</td><td>4.10</td><td>3.74</td></tr> <tr><td>T_{max}</td><td>24</td><td>24</td></tr> <tr><td>AUC_{all}</td><td>268</td><td>274</td></tr> </table> <p>Bz 標識、高用量、血漿中濃度</p> <table border="1"> <tr><th></th><th>雄</th><th>雌</th></tr> <tr><td>C_{max}</td><td>12.6</td><td>12.5</td></tr> <tr><td>T_{max}</td><td>3</td><td>12</td></tr> <tr><td>AUC_{all}</td><td>361</td><td>391</td></tr> </table> <p>Is 標識、高用量、血漿中濃度</p> <table border="1"> <tr><th></th><th>雄</th><th>雌</th></tr> <tr><td>C_{max}</td><td>24.0</td><td>45.8</td></tr> <tr><td>T_{max}</td><td>48</td><td>48</td></tr> <tr><td>AUC_{all}</td><td>1170</td><td>1960</td></tr> </table> <p>各投与量における動態パラメーターは概して雄雌同等。 C_{max} の比率は投与量の増加比率よりも小さい。</p>	試料	Bz 標識	尿	2.7-3.2	糞	96.6	カーカス	<0.1	回収率	99.3-99.8	試料	Bz 標識	Is 標識	胆汁	24.6	31.2	尿	14.3	7.4	糞	54.5	51.9	吸収率	39.1	41.3		雄	雌	C_{max}	0.884	0.970	T_{max}	4	4	AUC_{all}	18.6	24.0		雄	雌	C_{max}	4.10	3.74	T_{max}	24	24	AUC_{all}	268	274		雄	雌	C_{max}	12.6	12.5	T_{max}	3	12	AUC_{all}	361	391		雄	雌	C_{max}	24.0	45.8	T_{max}	48	48	AUC_{all}	1170	1960	(2010)	IX-20
試料	Bz 標識																																																																														
尿	2.7-3.2																																																																														
糞	96.6																																																																														
カーカス	<0.1																																																																														
回収率	99.3-99.8																																																																														
試料	Bz 標識	Is 標識																																																																													
胆汁	24.6	31.2																																																																													
尿	14.3	7.4																																																																													
糞	54.5	51.9																																																																													
吸収率	39.1	41.3																																																																													
	雄	雌																																																																													
C_{max}	0.884	0.970																																																																													
T_{max}	4	4																																																																													
AUC_{all}	18.6	24.0																																																																													
	雄	雌																																																																													
C_{max}	4.10	3.74																																																																													
T_{max}	24	24																																																																													
AUC_{all}	268	274																																																																													
	雄	雌																																																																													
C_{max}	12.6	12.5																																																																													
T_{max}	3	12																																																																													
AUC_{all}	361	391																																																																													
	雄	雌																																																																													
C_{max}	24.0	45.8																																																																													
T_{max}	48	48																																																																													
AUC_{all}	1170	1960																																																																													

<代謝分解試験一覧表（続き）>

資料番号	試験の種類	供試動物等	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										
運命-2 [GLP]	動物代謝 (単回投与)	ラット	<p>4) 組織中分布 低用量 10 mg/kg 高用量 1000 mg/kg 血漿の T_{max}、Half T_{max} 時、定量可能な最終時および 168 時間後の 4 時点で組織を採取し、放射能濃度を測定。 雄雌各 9 匹</p> <p>5) 代謝物の同定 尿、糞、胆汁、血漿、肝臓、腎臓につき、HPLC 分析、TLC 分析、酵素処理による脱抱合化、および LC-MS 測定によって代謝物を同定。血漿中の極性代謝物については、誘導化し HPLC および LC-MS 分析で特徴付け。</p>	<p>C_{max} は Is 標識が Bz 標識より低用量で 4~5 倍、高用量で 2~4 倍高い。</p> <p>4) 組織中分布 組織中の蓄積は低い。組織：血漿の比は総じて 1 より小さい。組織中の濃度は、低用量のとき Is 標識投与で Bz 標識投与より高い。</p> <p>5) 代謝物の同定 糞中代謝物：両標識ともに、他は %TAR。 胆汁中代謝物：両標識ともにが主代謝物、他は %TAR。 尿中代謝物：Is 標識では主な代謝物としてを同定。Bz 標識では %の代謝物なし。少量の代謝物としておよびを同定。 血漿、肝臓、腎臓の主要な代謝物として Bz 標識でを同定。Is 標識のと特徴づけ。</p>	(2010)	IX-20										
運命-3 [GLP]	動物代謝 (反復投与)	ラット	<p>イソキサゾリン環-3-¹⁴C 標識 (Is 標識) 13 日間非標識体を反復投与後、Is 標識体を単回投与。 低用量 10 mg/kg</p> <p>1) 排泄・組織中分布 排泄：168 時間まで排泄量を測定 組織中分布：168 時間後の組織を採取し、放射能濃度を測定 雌 4 匹</p>	<p>1) 排泄・組織中分布 排泄： 168 時間までの排泄量(%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>試料</th> <th>Is 標識</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>18.6</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>72.1</td> </tr> <tr> <td>カーカス</td> <td>3.5</td> </tr> <tr> <td>回収率</td> <td>97.1</td> </tr> </tbody> </table> <p>排泄は主に糞を経由した。最終投与後 48 時間までに投与量の 80.9%が排泄された。 組織中分布：最終投与後 168 時間の組織中の濃度は概して低い。濃度の高い組織は、血漿、全血および赤血球。</p>	試料	Is 標識	尿	18.6	糞	72.1	カーカス	3.5	回収率	97.1	(2010)	IX-51
試料	Is 標識															
尿	18.6															
糞	72.1															
カーカス	3.5															
回収率	97.1															

<代謝分解試験一覧表（続き）>

資料番号	試験の種類	供試動物等	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																														
運命-3 [GLP]	動物代謝 (反復投与)	ラット	<p>2) 血漿・全血の薬物動態 血液を尾静脈から採取し、168時間まで血漿・全血中の放射能濃度を測定。 雌 4 匹 (単位は C_{max} が $\mu\text{g eq/g}$、AUC が $\mu\text{g eq h/g}$、T_{max} および $t_{1/2}$ はいずれも hrs で示した。)</p> <p>3) 代謝 尿および糞抽出物につき、HPLC 分析、TLC 分析、酵素処理による脱抱合化によって代謝物を同定。</p>	<p>2) 血漿中の薬物動態</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>血漿</th> <th>全血</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C_{max}</td> <td>4.85</td> <td>4.27</td> </tr> <tr> <td>T_{max}</td> <td>24</td> <td>24</td> </tr> <tr> <td>AUC</td> <td>518</td> <td>490</td> </tr> <tr> <td>$t_{1/2}$</td> <td>63.2</td> <td>69.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>薬物動態パラメーターの値は Is 標識の単回投与と概して差がない。血漿中放射濃度の半減期は 63.2 時間で、24 時間間隔の反復投与における蓄積率は 4.3 と算出。</p> <p>3) 代謝 尿中代謝物：主な代謝物を同定。他は %。</p>		血漿	全血	C_{max}	4.85	4.27	T_{max}	24	24	AUC	518	490	$t_{1/2}$	63.2	69.6	(2010)	IX-51															
	血漿	全血																																		
C_{max}	4.85	4.27																																		
T_{max}	24	24																																		
AUC	518	490																																		
$t_{1/2}$	63.2	69.6																																		
運命-4 [非 GLP]	動物代謝 (単回投与)	マウス	<p>ベンゼン環-$U-^{14}\text{C}$ 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環-$3-^{14}\text{C}$ 標識 (Is 標識) 単回経口投与 用量 5 mg/kg</p> <p>1) 全血中の薬物動態 血液を尾静脈から採取し、96時間まで全血中の放射能濃度を測定 (単位は C_{max} が $\mu\text{g eq/g}$、AUC が $\mu\text{g eq h/g}$、T_{max} および $t_{1/2}$ はいずれも hrs で示した。) 雄雌各 2 匹</p> <p>2) 排泄 168 時間まで排泄量を測定。 雄雌各 2 匹</p> <p>3) 代謝物の同定 尿、糞、全血、肝臓、腎臓につき、HPLC、TLC および LC-MS で分析し同定した。 糞尿：雄雌各 2 匹 組織：雄雌各 1 匹</p>	<p>1) 全血中の薬物動態</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Bz 標識</th> <th>Is 標識</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C_{max}</td> <td>0.33-0.41</td> <td>2.92-3.82</td> </tr> <tr> <td>T_{max}</td> <td>1 & 10</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>AUC₉₆</td> <td>12.6-14.1</td> <td>100-155</td> </tr> <tr> <td>$t_{1/2}$</td> <td>55-56</td> <td>19-43</td> </tr> </tbody> </table> <p>2) 排泄 96 時間までの排泄量(%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>試料</th> <th>Bz 標識</th> <th>Is 標識</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>48.4-63.8</td> <td>59.0-63.6</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>27.2-44.0</td> <td>28.0-31.7</td> </tr> <tr> <td>カーカス</td> <td>0.7-2.2</td> <td>1.3-1.4</td> </tr> <tr> <td>回収率</td> <td>96.0-96.5</td> <td>94.6-94.7</td> </tr> </tbody> </table> <p>排泄は尿からの割合が糞より多かった。投与 24 時間までに投与量の 75% が排泄され、その後の排泄は緩やかであった。</p> <p>3) 代謝物の同定 糞中代謝物 両標識ともに主代謝物は %。他に Bz 標識では (%TAR) を同定。</p>		Bz 標識	Is 標識	C_{max}	0.33-0.41	2.92-3.82	T_{max}	1 & 10	10	AUC ₉₆	12.6-14.1	100-155	$t_{1/2}$	55-56	19-43	試料	Bz 標識	Is 標識	尿	48.4-63.8	59.0-63.6	糞	27.2-44.0	28.0-31.7	カーカス	0.7-2.2	1.3-1.4	回収率	96.0-96.5	94.6-94.7	(2010)	IX-60
	Bz 標識	Is 標識																																		
C_{max}	0.33-0.41	2.92-3.82																																		
T_{max}	1 & 10	10																																		
AUC ₉₆	12.6-14.1	100-155																																		
$t_{1/2}$	55-56	19-43																																		
試料	Bz 標識	Is 標識																																		
尿	48.4-63.8	59.0-63.6																																		
糞	27.2-44.0	28.0-31.7																																		
カーカス	0.7-2.2	1.3-1.4																																		
回収率	96.0-96.5	94.6-94.7																																		

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表（続き）>

資料 番号	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
運命-4 [非 GLP]	動物代謝 (単回投 与)	マウス	3) 代謝物の同定（続き）	<p>尿中代謝物： 両標識体とも代謝物プロファイルは雄雌間で異なる。 の生成量は、雄で %TAR；雌で %TAR であり雌で多い。他の 主な代謝物は（雄 % TAR；雌 %TAR）および (雄 %TAR；雌 %TAR)。 他に %TAR の代謝物として を同定。 組織中代謝物 全血、肝臓、腎臓に共通の代謝物 として および を 同定。他に、全血で およ び、肝臓で を同定。</p>	(2010)	IX-60
運命-5 [非 GLP]					(2010)	IX-70

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

資料番号	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												
運命-6 [GLP]	植物代謝	イネ	ベンゼン環-U- ¹⁴ C 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環- ³⁻¹⁴ C 標識 (Is 標識) 2%粒剤相当の白試料と混合し、イネの移植後7および35日の2回、水面施用した。試料は、2回目処理の7日後に葉および根を、89-90日後に穂、茎葉および根を、112日後に最終収穫物(玄米、籾殻、稲わらおよび根部)を採取し、放射能濃度、代謝物を分析した。	<p>最終収穫物の放射性残留(%TRR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>溶媒抽出</th> <th>残渣</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>玄米</td> <td>1.4-4.1</td> <td>95.9-98.6</td> </tr> <tr> <td>籾殻</td> <td>9.2-19.8</td> <td>80.2-90.8</td> </tr> <tr> <td>稲わら</td> <td>45.3-53.4</td> <td>46.6-54.7</td> </tr> </tbody> </table> <p>Bz 標識の代謝物 稲わら: (%TRR)、 (%TRR ; ppm) 玄米、籾殻は残留量が少ないため分析せず。</p> <p>Is 標識の代謝物 籾殻および稲わら: (%TRR)、 (%TRR)、 (%TRR)を同定。 玄米は残留量が少ないため分析せず。</p> <p>抽出残渣の特徴付け 玄米: 大部分が 画分に取り込まれた。 籾殻および稲わら: 大部分が 画分に取り込まれた。 代謝経路</p>		溶媒抽出	残渣	玄米	1.4-4.1	95.9-98.6	籾殻	9.2-19.8	80.2-90.8	稲わら	45.3-53.4	46.6-54.7	(2010)	IX-75
	溶媒抽出	残渣																
玄米	1.4-4.1	95.9-98.6																
籾殻	9.2-19.8	80.2-90.8																
稲わら	45.3-53.4	46.6-54.7																
運命-7 [GLP]	土壌中動態 (好氣的湛水土壌)	埴壤土	ベンゼン環-U- ¹⁴ C 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環- ³⁻¹⁴ C 標識 (Is 標識) 400 g ai/ha (0.4 ppm/乾土) 25°Cの暗所で178-179日培養し、この間揮発性物質を捕集した。放射能濃度をLSCで測定し、HPLC/TLCで代謝物を同定、抽出残渣中放射能の特徴付けを行った。	<p>親化合物の半減期: 159-198日 培養終了時の抽出残渣および¹⁴CO₂ (%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>抽出残渣</th> <th>¹⁴CO₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Bz 標識</td> <td>18.4</td> <td>3.0</td> </tr> <tr> <td>Is 標識</td> <td>8.6</td> <td>29.4</td> </tr> </tbody> </table> <p>代謝物 (%TAR)、 (%TAR)および (%TAR)</p> <p>抽出残渣の特徴付け 大部分はヒューミン画分に分画された。</p>		抽出残渣	¹⁴ CO ₂	Bz 標識	18.4	3.0	Is 標識	8.6	29.4	(2009)	IX-88			
	抽出残渣	¹⁴ CO ₂																
Bz 標識	18.4	3.0																
Is 標識	8.6	29.4																

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表(続き)>

資料番号	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									
運命-8 [GLP]	土壌中動態 (好氣的土壌)	埴壤土	ベンゼン環-U- ¹⁴ C 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環- ³⁻¹⁴ C 標識 (Is 標識) 400 g ai/ha (0.4 ppm/乾土) 25°Cの暗所で 179 日培養し、この間揮発性物質を捕集した。放射能濃度を LSC で測定し、HPLC/TLC で代謝物を同定、抽出残渣中放射能の特徴付けを行った。	親化合物の半減期: 243-279 日 培養終了時の抽出残渣および ¹⁴ CO ₂ (%TAR) <table border="1"> <tr> <td></td> <td>抽出残渣</td> <td>¹⁴CO₂</td> </tr> <tr> <td>Bz 標識</td> <td>14.9</td> <td>19.3</td> </tr> <tr> <td>Is 標識</td> <td>11.1</td> <td>25.3</td> </tr> </table> 代謝物 主な放射性成分は のみ。 少量の分解物(%TAR)が Bz 標識で 個、Is 標識で 個検出された。 抽出残渣の特徴付け 大部分はヒューミン画分に分画された。		抽出残渣	¹⁴ CO ₂	Bz 標識	14.9	19.3	Is 標識	11.1	25.3	(2009)	IX-95
	抽出残渣	¹⁴ CO ₂													
Bz 標識	14.9	19.3													
Is 標識	11.1	25.3													
運命-9	土壌中動態 (嫌氣的土壌)	フェノキサスルホンは「土壌中における移動性が低いこと」に該当することから試験を省略した。				IX-101									
物化-14 [GLP]	水中動態 (加水分解動態)	pH 4, 7, 9 緩衝液	非標識被験物質 50°Cの暗所で 5 日間培養	分解率は pH 4-9 で<10%。 25°Cでの半減期は、>1 年と計算された。	(2005)	IX-102									
運命-10 [GLP]	水中動態 (水中光分解動態)	蒸留水、模擬自然水 (フミン酸水溶液)	ベンゼン環-U- ¹⁴ C 標識 (Bz 標識) およびイソキサゾリン環- ³⁻¹⁴ C 標識 (Is 標識) 水中濃度 0.08 mg/L, 25°C下で 7 日間キセノン光を照射した。照射後経時的に 7 時点の試料を採取し、LSC 測定、分解物の HPLC 分析、揮発性物質を捕集し LSC 分析を行った。	物質収支: 85~100% 推定半減期(Bz 標識と Is 標識の値をあわせて計算) <table border="1"> <tr> <td></td> <td>蒸留水</td> <td>自然水</td> </tr> <tr> <td>キセノン光</td> <td>152 hrs</td> <td>210 hrs</td> </tr> <tr> <td>太陽光換算</td> <td>33 日</td> <td>46 日</td> </tr> </table> 分解物 (最大 %TAR)、 (最大 %TAR)。両分解物ともに経時的に増加した。 ¹⁴ CO ₂ の生成は 7 日で最大 %TAR。		蒸留水	自然水	キセノン光	152 hrs	210 hrs	太陽光換算	33 日	46 日	(2009)	IX-104
	蒸留水	自然水													
キセノン光	152 hrs	210 hrs													
太陽光換算	33 日	46 日													
運命-10 参考 [非 GLP]	水中動態 (水中光分解動態)	蒸留水	ベンゼン環-U- ¹⁴ C 標識 水中濃度 0.08 mg/L, 25°C下で 5 日間キセノン光を照射した。4 時点の試料を採取し、LSC 測定、分解物の HPLC 分析。	物質収支: 96~101%TAR 推定半減期 キセノン光 186 時間 太陽光換算 36 日 分解物 (最大 %TAR)	(2009)	IX-111									

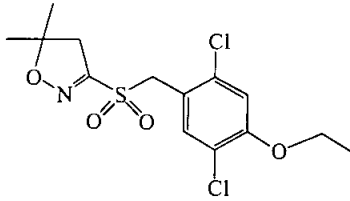
本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表（続き）>

資料番号	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															
物化-13 [GLP]	土壌吸脱着	4種土壌 I： (黒ボク土) II： (灰色低地土) III： (褐色森林土) IV： (灰色低地土)	ベンゼン環- ^{14}C 標識 0.01M- CaCl_2 水溶液試料 設定濃度；0.008, 0.004, 0.002, 0.001, 0.0008 mg/L、25°Cで 24, 48, 72 時間振とう、遠心分離後、上澄み液の放射能濃度を LSC 測定した。 脱着試験も振とう時間を 48 時間とする以外は同様に行った。	物質収支：91.3 – 95.4% TAR 吸着平衡化時間：72 時間 脱着平衡化時間：48 時間 土壌吸着係数・脱着係数 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>K_F^{ads}</th> <th>K_F^{des}</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>I</td> <td>28.8</td> <td>62.2</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>5.1</td> <td>14.5</td> </tr> <tr> <td>III</td> <td>14.5</td> <td>28.9</td> </tr> <tr> <td>IV</td> <td>36.9</td> <td>51.7</td> </tr> </tbody> </table>	土壌	K_F^{ads}	K_F^{des}	I	28.8	62.2	II	5.1	14.5	III	14.5	28.9	IV	36.9	51.7	(2009)	IX-114
土壌	K_F^{ads}	K_F^{des}																			
I	28.8	62.2																			
II	5.1	14.5																			
III	14.5	28.9																			
IV	36.9	51.7																			
物化-12	生物濃縮性	フェノキサルホンの物理的・化学的性質が「n-オクタノール/水分配係数が 3.5 未満の場合」に該当することから試験を省略した。				IX-119															

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

名称 (略称)	化学名	構造式	由来
フェノキサ スルホン KIH-1419	3-[(2,5-dichloro-4-ethoxybenzyl) sulfonyl]-4,5-dihydro-5,5-dimethyl- 1,2-oxazole		親化合物

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解物一覧表（続き）>

名称（略称）	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解物一覧表（続き）>

名称（略称）	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1. 動物代謝に関する試験

(資料 運命-1)

(1) ラットにおける代謝試験 (予備試験)

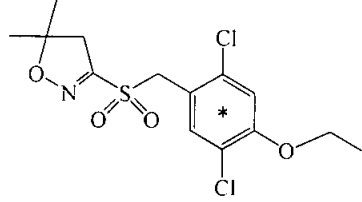
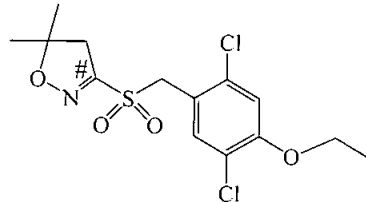
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

修正書 1 発行年: 2009 年

供試標識化合物: ベンゼン環-Uまたはイソキサゾリン環-3位を ^{14}C で標識した。

名称	ベンゼン環-U- ^{14}C フェノキサスルホン	イソキサゾリン環-3- ^{14}C フェノキサスルホン
化学構造	 * ^{14}C 標識の位置	 # ^{14}C 標識の位置
化学名	3-[(2,5-dichloro-4-ethoxy-[ring- ^{14}C (U)]benzyl)sulfonyl]-4,5-dihydro-5,5-dimethyl-1,2-oxazole	3-[(2,5-dichloro-4-ethoxybenzyl)sulfonyl]-4,5-dihydro-5,5-dimethyl-1,2-[3- ^{14}C]oxazole
ロット番号		
比放射能		
放射化学的純度		

[申請者注: 以下、Bz 標識体および Is 標識体と表記した。]

標識位置の設定理由:

供試動物: Han Wistar 系ラット [Cr1:WI(Han)]

週齢: 雄 6 - 10 週齢; 雌 8 - 12 週齢

体重: 雄 201 - 218 g; 雌 191 - 208 g (投与時)

試験方法および結果:

投与方法: Bz 標識体および Is 標識体をそれぞれ 0.5%CMC・1%Tween80 溶液に懸濁させ、ラットに単回経口投与した。ラットには飼料および水を自由に摂取させた (絶食は行わなかった)。

投与量は体重 kg 当り 10 mg とした。

投与経路および投与量の設定根拠: ヒトが被験物質に暴露される経路として経口投与を選択した。投与量は無影響量 (NOEL) と予想される 10 mg/kg を選択した。投与液量は 5 mL/kg とした。

試験の構成:

試験は表 1 に示した試験項目および試験群で実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 1. 試験群の構成

試験群	試験項目	標識体	投与量 (mg/kg)	比放射能 ^a (MBq/mg)	動物数	
					雄	雌
第 1 群	排泄／バランス	I _s 標識体	10	1.95	1	1
第 2 群	同上	Bz 標識体	10	1.82	1	1
第 3 群	血中の薬物動態	I _s 標識体	10	1.95	3	3
第 4 群	同上	Bz 標識体	10	1.82	3	3

^a 比放射能は投与液の dpm から申請者が算出した。

1) 排泄／バランス予備試験 (第 1 および 2 群)

Bz 標識体および I_s 標識体をそれぞれ 10 mg/kg の投与量で、雄および雌ラットに単回経口投与し、投与後 168 時間までに尿、糞および呼気中に排泄される放射エネルギーを調べた。

試料の採取方法：

1 群あたり 2 匹のラット (雄雌各 1 匹) に単回経口投与し、個体別に代謝ケージ (Metabowl[®]) に収容した。

尿： 0 - 6、6 - 24 時間、その後は 24 時間間隔で投与後 168 時間まで、ドライアイスで冷却した受器に個体別に採取した。

糞： 24 時間間隔で投与後 168 時間まで、ドライアイスで冷却した受器に個体別に採取した。

呼気： 24 時間間隔で、エタノールアミン：2-エトキシエタノール (1/3, v/v) を入れた捕集管に捕集した。捕集期間は 24 時間の捕集量が 1% 未満となった投与後 72 時間までとした。

カーカス： ラットは投与後 168 時間に致死させ、放射エネルギーの測定まで保存した。

放射能測定用試料の前処理法：

尿およびケージ洗浄液： 6 時間尿については量が少なかったため純水で希釈した。各採取時期における尿試料の重量を測定し、一部を放射エネルギーの測定に用いた。

糞： 糞試料は遠心分離管に入れ、抽出溶媒とともに均質化した後、遠心分離してその上清を取り出した。抽出はアセトニトリルで 2 回行った後、アセトニトリル／水 (1/1, v/v) で 1 回行った。残渣は風乾、均質化した後、燃焼／放射エネルギー測定を行った。

カーカス： カーカスは、水酸化ナトリウム (80 g/L) を含んだ水、メタノールおよび Triton X-405 混合液 (6/3/1, v/v) で可溶化したのち、放射エネルギー測定を行った。

揮発性物質捕集液： 一部をそのまま放射エネルギー測定に用いた。

放射能測定：

試料中の放射エネルギーは、液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。バックグラウンドレベルの 2 倍を検出限界とした。結果を表 2 に示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 2. Is 標識体および Bz 標識体の 10 mg/kg 投与による尿、糞および呼気中排泄

試料	被験物質 投与量	Bz 標識体		Is 標識体	
		10 mg/kg		10 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
尿					
	0 - 6 h	3.91	3.92	3.61	2.26
	6 - 24 h	7.80	6.74	12.28	11.45
	24 - 48 h	0.87	1.87	4.14	2.68
	48 - 72 h	0.17	0.14	1.91	1.24
	72 - 96 h	0.06	0.05	1.74	0.74
	96 - 120 h	0.02	0.02	1.29	0.77
	120 - 144 h	0.02	0.02	0.76	0.75
	144 - 168 h	0.01	0.01	0.63	0.44
尿合計	0 - 168 h	12.86	12.77	26.36	20.33
ケージ洗浄液	0 - 168 h	1.41	1.29	5.42	2.98
尿+ケージ洗浄液	0 - 168 h	14.27	14.06	31.78	23.31
呼気					
	0 - 24 h	0.02	0.02	0.84	1.16
	24 - 48 h	0.01	nd	0.39	0.34
	48 - 72 h	nd	nd	0.19	0.17
呼気合計	0 - 72 h	0.03	0.02	1.42	1.67
糞					
	0 - 24 h	76.33	81.93	34.34	49.90
	24 - 48 h	5.24	5.47	11.41	5.27
	48 - 72 h	0.46	0.78	2.16	1.87
	72 - 96 h	0.14	0.11	1.38	0.70
	96 - 120 h	0.12	0.08	1.09	1.27
	120 - 144 h	0.02	0.06	0.87	0.91
	144 - 168 h	0.02	0.02	0.81	0.64
糞合計	0 - 168 h	82.33	88.45	52.06	60.56
カーカス	168 h	0.22	0.14	9.59	8.66
総回収率		96.85	102.67	94.85	94.20

表中の数値は、投与量に対する割合 (%TAR) で示した。 nd 検出せず

Bz 標識体を単回経口投与したとき、投与量の大部分 (>94%TAR) が 48 時間以内に尿糞中に排泄された。投与後 168 時間における糞中へ排泄量は 82-88%TAR であった。(ケージ洗浄液を含めた) 尿中への排泄量は雄雌ともに 14%TAR であった。0-72 時間に捕集した呼気中の放射能は 0.1%TAR を下回った。168 時間後にカーカス中に保持された放射エネルギーは Is 標識体よりもはるかに少なく、0.1

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

- 0.2% TAR であった。168 時間での全体の回収率は 97 - 103% TAR であった。

I_s 標識体を単回経口投与したとき、投与量の大部分 (> 73% TAR) が 96 時間以内に尿糞中に排泄された。主だった排泄の経路は糞を経由するもので、168 時間の排泄量は 52 - 61% TAR であった。(ケージ洗浄液を含めた) 尿中への排泄量は 23 - 32% TAR であった。0 - 72 時間の間に捕集した呼気中の放射エネルギーは 1 - 2% TAR であった。投与量のうち、有意な割合を占める量がカーカス中に保持され、168 時間で 9 - 10% TAR を数えた。168 時間での全体の回収率は 94 - 95% TAR であった。

2) 血漿および全血の薬物動態試験 (第 3 および第 4 群)

1 群 6 匹のラット (雄雌各 3 匹) に Bz 標識体または I_s 標識体を 10 mg/kg の投与量で単回経口投与した。動物は雄雌各 1 匹の 3 小群に分けた。血液試料 (約 0.4 mL) を各小群から下記の時間に尾静脈から採取し、放射能濃度を測定した (表 3 および 4)。

小群 1: 投与前、投与後 1、4、12、72 時間

小群 2: 投与後 0.25、2、6、24 時間

小群 3: 投与後 0.5、3、8、48 時間

全体: 投与前、投与後 0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、12、24、48、72 時間

放射能測定用試料の前処理法:

血液試料を遠心分離し血漿を分離した。血漿はそのまま直接、全血は燃焼の後、放射能濃度を測定した。

表 3. Bz 標識体 10 mg/kg を単回投与後の血漿および全血中の放射能濃度

時間 (hours)	血漿		全血	
	雄	雌	雄	雌
投与前	nd	nd	nd	nd
0.25	0.576	0.901	0.320	0.505
0.5	0.960	1.30	0.550	0.764
1	0.863	1.10	0.511	0.655
2	1.01	1.43	0.592	0.881
3	1.37	0.959	1.04	0.606
4	1.17	1.32	0.661	0.821
6	0.871	1.32	0.553	0.790
8	0.780	0.805	0.539	0.526
12	0.824	0.659	0.589	0.490
24	0.234	0.396	0.226	0.322
48	0.120	0.107	0.170	0.136
72	0.107	0.115	0.158	0.182

表中の数値は $\mu\text{g eq/g}$ で示した。nd 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 4. Is 標識体 10 mg/kg を単回投与後の血漿および全血中の放射能濃度

時間 (hours)	血漿		全血	
	雄	雌	雄	雌
投与前	nd	nd	nd	nd
0.25	0.279	0.343	0.213	0.260
0.5	0.297	0.482	0.237	0.374
1	0.495	0.495	0.411	0.409
2	1.12	0.976	0.982	0.854
3	1.97	2.10	1.77	1.85
4	1.95	2.30	1.78	2.12
6	3.06	2.52	2.82	2.31
8	3.90	3.58	3.63	3.30
12	3.26	4.17	3.10	3.97
24	3.36	3.34	3.17	3.13
48	2.58	2.16	2.55	2.12
72	1.59	2.86	1.48	2.64

表中の数値は $\mu\text{g eq/g}$ で示した。

nd 検出せず

表 5. Bz 標識体または Is 標識体の単回投与による血漿および全血における薬物動態パラメーター

	投与量 (mg/kg)	性別	C_{\max} ($\mu\text{g eq/g}$)	T_{\max} (h)	AUC_{72} ($\mu\text{g eq h/g}$)	AUC ($\mu\text{g eq h/g}$)	λ_z (1/h)	$t_{1/2}$ (h)
血漿 Bz 標識体	10	雄	1.37	3	24.3	30.3 ^a	0.0163 ^a	42.5 ^a
		雌	1.43	2	27.3	29.8 ^a	0.0334 ^a	20.8 ^a
	Is 標識体	雄	3.90	8	192	328 ^a	0.0126 ^a	55.1 ^a
		雌	4.17	12	203	543 ^a	0.0071 ^a	97.9 ^a
全血 Bz 標識体	10	雄	1.04	3	20.8	41.2 ^a	0.0075 ^a	93.0 ^a
		雌	0.881	2	21.9	28.9 ^a	0.0195 ^a	35.6 ^a
	Is 標識体	雄	3.63	8	183	314 ^a	0.0125 ^a	55.6 ^a
		雌	3.97	12	192	502 ^a	0.0073 ^a	94.7 ^a

a 統計学的な基準を満たしていないことから、近似的なものである。

C_{\max} : 最大血中濃度、 T_{\max} : 最大血中濃度到達時間、 AUC_{72} : 投与後 72 時間時点までの血中濃度-時間曲線下面積、AUC : 無限大時点の血中濃度-時間曲線下面積、 λ_z : 速度定数、 $t_{1/2}$: 血中半減期

Bz 標識体を雄雌ラットに単回経口投与したとき、血漿および全血中の C_{\max} 、 T_{\max} および AUC_{72} の値

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

は雄および雌いずれも似た数値であり、 T_{max} 値は雄および雌でそれぞれ 3 時間および 2 時間であった。血漿中放射能濃度の最終半減期は雌よりも雄のほうで長かった (20.8 時間に対し 42.5 時間)。(AUC₇₂を用いて計算した)全血:血漿の濃度比は雄および雌でそれぞれ 0.86 および 0.80 であった。

Is 標識体を雄雌ラットに単回経口投与したとき、血漿および全血中の C_{max} 、 T_{max} および AUC₇₂ の値は雄および雌いずれも似た数値であり、 T_{max} 値はそれぞれ雄および雌で 8 時間および 12 時間であった。血漿中放射能濃度の最終半減期は雌よりも雄で短かった (97.9 時間に対し 55.1 時間)。(AUC₇₂を用いて計算した)全血:血漿の比は 0.95 であり、雄雌いずれも同じであった。

暴露の速度および程度を反映する C_{max} および AUC の値は Bz 標識体より Is 標識体のほうが高かった。

3) 代謝 (第 1 および第 2 群)

供試試料:

分析には雄雌ラット別々にブルー保管した表 6 に示す試料を供試した。

表 6. 代謝物の分析に用いた試験群および試料

試料	試験群	標識体	投与量 (mg/kg)	合わせた試料	
				雄	雌
尿	第 1 群	Is 標識体	10	0 - 96 h	0 - 96 h
	第 2 群	Bz 標識体	10	0 - 48 h	0 - 48 h
糞	第 1 群	Is 標識体	10	0 - 48 h	0 - 48 h
	第 2 群	Bz 標識体	10	0 - 48 h	0 - 48 h

試料からの抽出:

尿: 尿試料は濃縮せずに直接分析した。

糞: 抽出液を合わせた試料を 37°C、窒素気流下で濃縮乾固し、移動相に再び懸濁させ、分析に用いた。

尿試料の酵素による脱抱合:

尿試料を 3 本ずつ (各 1 mL) 採り、同量の 0.2 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5) と混合した。1 本目は 37°C で一夜インキュベーションさせ (対照区)、残り 2 本は、 β -グルクロニダーゼ/スルファターゼ (Type H-1, *Herix pomatia*, 約 2000 ユニット)、もしくは、 β -グルクロニダーゼ/スルファターゼと β -グルクロニダーゼの特異的阻害剤 (D-グルカル酸-1,4-ラクトン-水和物) との混合物、のいずれかとインキュベーションさせた。

クロマトグラフ分析および代謝物の同定:

2 種類の異なったクロマトグラフ法、すなわち、逆相系 HPLC および順相系 TLC を用い合成標品と

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

のクロマトグラフ法で代謝物を同定した。

高速液体クロマトグラフ法 (HPLC)

同定は、参照物質とのクロマトグラフ法により、ラジオオートグラムと UV 吸収クロマトグラムとを照合した。定量は、HPLC に試料を注入した後、カラムからの溶出液を 30 秒または 1 分毎に集め放射エネルギーを測定することで行った。

薄層クロマトグラフ法 (TLC)

下記の展開溶媒系 (順相系) を用い参照標品とクロマトグラフ法により照合した。

展開溶媒系 B: クロロホルム/酢酸エチル(1/1)

展開溶媒系 C: クロロホルム/メタノール/水/ギ酸(90%) (75/25/3/3)

展開溶媒系 D: クロロホルム/メタノール/アンモニア (70/30/2)

尿中代謝物 IsU5 の単離および誘導化:

Is 標識体投与から得た 0 - 96 時間の尿試料を、溶媒系 B を用いて TLC プレートに展開した。プレートを phosphor-imager film に密着・感光させて、代謝物 IsU5 のバンドに相当するシリカゲルを削り落とし、溶媒で抽出・精製した。この単離物について GC/MS による検索および μ -クロロベンゾイルクロリドを用いた誘導化を行った。

同定した代謝物:

尿中代謝物のプロファイルを見ると、

Bz 標識体を投与したとき、量の少ない放射性成分が多数検出されたが、その量は %TAR であった。尿試料を酵素およびその阻害剤とともに処理したとき、
の存在が示唆された。同定できた代謝物は、
であった。

Is 標識体を投与したとき、
の放射性成分が検出された。尿試料を酵素およびその阻害剤とともに処理したとき、
の存在が示唆された。主な代謝物
の割合は変化せず、これらの代謝物は
。代謝物
を順相 TLC コクロマトグラフ法および
の GC-MS により
と同定した。ほかに量の少ない
放射性成分が多数検出されたが、その量は %TAR 以下であった。

糞の抽出物では、主な放射性成分は
であり、
%TAR が検出された。
糞中代謝物
は
%TAR であり、Is 標識体では検出
されなかった。この代謝物を順相および逆相のクロマトグラフ法により代謝物
と同定した。
他の代謝物はすべて
%TAR であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 7. Is 標識体および Bz 標識体を 10 mg/kg で単回投与したときの尿および糞中に同定された代謝物

放射性成分	同定代謝物	Bz 標識体、10 mg/kg				Is 標識体、10 mg/kg			
		雄		雌		雄		雌	
		尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
		0-48 h	0-48 h	0-48 h	0-48 h	0-96 h	0-48 h	0-96 h	0-48 h

表中の数値は投与量に対する割合 (%TAR) で示した。

図 1. フェノキサスルホンのラット体内における推定代謝経路