

4) フロメトキンのマウスにおけるコメットアッセイ

(資料 毒-20)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： %

供試動物： 系 SPF マウス 、7週齢 雄、体重；30.1～37.6 g
一群雄 5 匹

試験方法：検体は 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム塩 (CMC-Na) 水溶液に懸濁し、25、50 および 100 mg/kg の用量で投与した。対照群には 0.5%CMC-Na 水溶液を、陽性対照群にはメタンスルホン酸エチル (EMS) を 200 mg/kg の用量で投与した。全ての動物に対して投与3時間前より絶食させ、1日1回、21時間間隔で2回、10 mL/kg の容量で強制経口投与した。

最終投与3時間後に動物を屠殺し、肝臓・十二指腸・回腸を摘出し、コメットアッセイに供した。組織から Mincing buffer 中で細胞 (核) を単離後、アガロースゲルに包埋し、細胞溶解液に浸漬した。翌日に冷暗所 (4°C) の条件下で定電圧電気泳動 (25 V (0.7 V/cm)、287-300 mA、20 分間) を行った。電気泳動後、アガロースゲルを中和液およびエタノールに浸漬し乾燥した。

SYBR Gold 溶液で染色後、B 励起フィルターを付けた蛍光顕微鏡でスライド標本を観察した。コメット像は CCD カメラを通して、コメットアッセイ解析装置に取り込んだ後、画像解析を実施した。一動物一臓器につき各 100 個の DNA 損傷の指標となる % Tail DNA について計測した。

用量設定根拠：

結 果：結果を次表に示した。

一般状態は 25 mg/kg 群に立毛が、50 mg/kg 群に立毛、鎮静、呼吸緩徐、自発運動低下の異常が認められ、試験は適切な用量で行われたことが示された。Dunnett の多重比較検定を危険率 5%以下のレベルで実施した結果、3 臓器のいずれの投与群においても、溶媒対照群と比較して %Tail DNA に統計学的に有意な増加を示さなかった。また Linear trend test による用量相関性も認められなかった。一方、EMS を投与した陽性対照群では、3 臓器とも溶媒対照群と比較して %Tail DNA に統計学的に有意な増加が認められ、明らかな陽性反応を示した。

以上の結果から本試験条件下において、検体はマウスの肝臓・十二指腸・回腸における DNA 損傷性が陰性であると判断される。

| 検体 | 投与量 (mg/kg) | 動物数 | % Tail DNA (Mean±SD) | | |
|-----------------|----------------|-----|----------------------|----------------|--------------|
| | | | 肝臓 | 十二指腸 | 回腸 |
| 0.5% CMC-Na(溶媒) | 0×2 | 5 | 4.15±1.61 | 3.93±0.68 | 4.62±1.42 |
| 検体 | 25×2 | 5 | 3.10±0.88 | 4.67±2.82 | 4.85±3.08 |
| | 50×2 | 5 | 2.75±0.68 | 4.47±1.34 | 3.48±0.82 |
| EMS (陽性対照) | 200×2 | 5 | 13.24±2.41 *** | 13.79±1.47 *** | 9.92±2.30 ** |

EMS: Ethyl methanesulfonate

[統計学的検定]

検体 ; Dunnett の多重比較検定および Linerar trend test

陽性対照 (EMS) ; F 検定後 Student の t 検定あるいは Aspin-Welch の t 検定

** P≤0.01、*** P≤0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

(14) 発がんメカニズム検討

1) マウスにおける小腸の細胞増殖活性の検索 (28日間反復経口投与毒性試験)

(資料 毒-21)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

以上のことから、250 ppm の用量で被験物質を 28 日間にわたって雄マウスに投与すると小腸にびまん性過形成が生じ、病変部では細胞増殖活性も上昇していることが判明した。しかし、その作用にはアポトーシスは関わっていないと考えられた。従って、マウスの発がん性試験の 180 ppm 群の雄で観察された腺癌の増加傾向には、投与初期における細胞増殖活性の増加を伴うびまん性過形成の発生が関与していることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

2) マウスにおける小腸の細胞増殖活性の検索 (90 日間反復経口投与毒性試験)
(資料 毒-22)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

以上のことから、90日間試験の病理組織学的検査では、いずれの投与群においても小腸に変化は観察されていなかったが、250 ppm 群の空腸及び回腸における細胞増殖活性の増加は、マウスの発がん性試験における 180 ppm 群の雄で観察された腺癌の増加傾向との関連性を示唆する変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

(15) 卵巣への影響検討

1) マウス及びラットにおける卵巣の連続切片による卵胞数計測結果

(資料 毒-38)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

以上のように、卵巣の連続切片を用いて卵胞数の計測を実施した結果、いずれにおいても、卵巣の萎縮性変化が観察された高用量群には各卵胞数計測試験でも明らかな卵胞数の減少が確認された。これらの群では卵巣重量も有意に減少しており、卵巣萎縮（卵巣重量変化を含む）が発現する用量と卵胞数の有意な減少がみられた用量は一致していた。また、卵胞数の減少は小型卵胞（原始卵胞）に限らず全世代発育段階において認められ、障害が生じる発達サイクルのステージは明らかではなかった。一方、卵巣萎縮（卵巣重量変化を含む）が認められなかった低い用量群においては、いずれの試験においても大型成熟卵胞の数に影響はみられず、卵胞全体の発育に異常はなかったことが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

2) マウス及びラットにおける卵巣の卵胞数計測結果

(資料 毒-39)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

以上のように、ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験、発がん性試験、および繁殖毒性試験、ただし P 世代のみ)並びにマウスを用いた 90 日間反復投与毒性試験 (IET 09-0019) 及び発がん性試験 (IET 09-0107)にて卵巣の標的と推察される小型卵胞のみについて卵胞数に対する被験物質の影響を評価した結果、ラット及びマウスの 90 日間試験においては、小型卵胞数が高用量群に加え、高中間用量群あるいは中間用量群でも低値となった。反して、マウス発がん性試験の小型卵胞数計測では、高用量群と対照群で計測結果に差がなかった。こちらの検討については、いずれも卵巣の限られた 1 部分を用いての計測であること、中型、大型卵胞数が不明であることを考え合わせると、この結果から被験物質の卵胞数への影響や発育ステージへの影響を明確に判断することは難しいと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

3) ラットでみられた下垂体好塩基細胞肥大の免疫組織学的検査

(資料 毒-40)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

以上のように、発がん性試験および 90 日試験において観察された下垂体の好塩基性に肥大した細胞は抗 LH 抗体に陽性を示し、LH 産生型細胞であることが確認された。

(16) 生体機能影響

1) フロメトキン原体の生体機能への影響に関する試験 (資料 毒-23)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: %

I 一般状態に対する作用

1) マウス及びラットの一般状態に及ぼす影響

供試動物: 系 SPF マウス、投与時 6 週齢、
投与時体重; 雄, 27.5~32.1 g; 雌, 20.5~25.7 g、1 群雄雌 3 匹
系 SPF ラット、投与時 8 週齢、
投与時体重; 雄, 209~231 g; 雌, 152~168 g、1 群雌雄 5 匹

投与方法:

マウス; 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) ナトリウム水溶液に懸濁し、0、50、100 及び 200 mg/kg の投与量 (投与容量、10 mL/kg) で経口投与し、投与前日、投与後 1、5 時間、1、2、3 及び 7 日目に Irwin の多次元観察法に従って一般症状を観察した。動物は 7 日間飼育し、少なくとも 1 日 1 回毒性徴候と死亡について観察した。

ラット; 検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与量 (投与容量、10 mL/kg) で経口投与し、投与前日、投与後 1、5 時間、1、2、3 及び 7 日目に Moser らの多次元観察法(FOB)で症状を観察した。動物は 7 日間飼育し、少なくとも 1 日 1 回毒性徴候と死亡について観察した。

結 果:

マウス; 雌雄マウスの一般状態に対し、用量あるいは経時的変化を示す所見として、検体 200 mg/kg 投与群では、雄に抑制性の体姿勢及び呼吸状態、群居性の低下、よろめき歩行が、雌に空中立ち直り反射の低下が認められた。また雌雄ともに自発運動及び警戒性の低下、体温下降、心拍数の減少、受動性の亢進、反応性の低下が認められた。100 mg/kg 投与群では、雌雄ともに、投与後 1 から 3 日目まで継続して自発運動の低下が認められた。なお、観察期間中に 200 mg/kg 投与群の雌雄が全例死亡した。

ラット; 一般状態に対して、検体 150 mg/kg 投与群では、雄で投与後 5 時間目に探索行動の低下、投与後 2 日目に鼻周囲部の赤色物付着及び立ち上がり回数の減少、投与後 2 及び 3 日目に筋緊張の低下、投与後 2、3 及び 7 日目に取り扱いに対する反応低下及び瞳孔径の増加などが、雌では、投与後 2 及び 7 日目に取り扱いに対する反応の低下、投与後 2 日目に接近反応の低下が、それぞれ統計学的に有意な変化として観察された。また、50 及び 150 mg/kg 投与群の雌雄におい

て投与後 1 時間目に軟便及び下痢便が認められた。なお、観察期間中に 150 mg/kg 群において雄 1 例、雌 2 例の死亡が認められた。

2 呼吸・循環器系に対する影響

1) ラットの呼吸器系に対する作用

供試動物：系 SPF ラット、投与時 8 週齢、
投与時体重；218～237 g、1 群雄 5 匹

投与方法：検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与量（投与容量、10 mL/kg）で経口投与し、投与前日、投与後 1、5 時間、1、2 及び 3 日目に無麻酔で呼吸数モニター装置を用いて呼吸回数を測定し、さらに測定時に呼吸状態を観察した。

結果：150 mg/kg 群の投与後 1 日目に呼吸回数の有意な減少が認められ、さらに、投与後 2 及び 3 日目に呼吸緩徐が認められた。観察期間中、150 mg/kg 群において 2 例の死亡が認められた。

呼吸器系に対する作用の結果を下表に示す。

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 (counts/min) | | | | |
|----------------|------------|--------------------|------------|-------------|------------|------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 |
| 0 | 179 ±32 | 177 ±31 | 167 ±27 | 188 ±25 | 187 ±38 | 173 ±26 |
| 5 | 190 ±15 | 170 ±14 | 185 ±10 | 192 ±15 | 192 ±21 | 195 ±21 |
| 50 | 168 ±25 | 167 ±17 | 176 ±15 | 173 ±12 | 177 ±18 | 193 ±29 |
| 150 | 181 ±25 | 160 ±15 | 155 ±14 | 154↓ ±16 | 130 ±53 | 133 ±50 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、p<0.05 ↑↓、p<0.01

2) ラットの循環器系に対する作用

供試動物：系 SPF ラット、投与時 8 週齢、投与時体重；204～230 g、
1 群雄 5 匹

投与方法：検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与量（投与容量、10 mL/kg）で経口投与し、投与前日、投与後 1、5 時間、1、2 及び 3 日目に無麻酔で、ラット・マウス用無加温型非観血式血圧計を用いて、収縮期血圧及び心拍数を測定した。

結果：50 及び 150 mg/kg 群では投与後 1 及び 2 日目に、また 5 mg/kg 群において投与後 1 日目に血圧の有意な低下が認められた。さらに、150 mg/kg 群では投与後

3日目にも有意な低下が認められた (A-1)。心拍数は、150 mg/kg 群で投与後2及び3日目に有意な減少が認められた (B-1)。

血圧測定値において、検体投与前 (前日) の測定ですでに投与用量 5 mg/kg 群と対照群の間で有意差が認められていたことから、対照群 (0 mg/kg) を含む全ての用量群について、それぞれ測定時点の血圧ならびに心拍数測定値について、投与前の値に対する相対比を算出し再評価した (A-2、B-2)。その結果、血圧は 150 mg/kg 群の投与後2及び3日目における低下、50 mg/kg 群の投与後2日目における低下が有意となり、心拍数は 150 mg/kg 群で投与5時間から3日目までの低下、50 mg/kg 群で投与後1時間での低下が有意となった。よって、投与用量 5 mg/kg 群で投与1日目に認められた血圧低下は、偶発的であると判断した。

循環器系に対する作用の結果を下表に示す

A-1. 血圧 (実測値) (mmHg)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | |
|----------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| | | 1時間 | 5時間 | 1日 | 2日 | 3日 |
| 0 | 126 ±5 | 105 ±21 | 108 ±21 | 120 ±19 | 131 ±8 | 134 ±13 |
| 5 | 103↓ ±18 | 91 ±12 | 97 ±13 | 96↓ ±10 | 116 ±19 | 129 ±11 |
| 50 | 127 ±8 | 92 ±14 | 97 ±12 | 95↓ ±17 | 102↓ ±19 | 124 ±13 |
| 150 | 117 ±15 | 99 ±13 | 90 ±13 | 89↓ ±9 | 85↓ ±14 | 86↓ ±7 |

A-2. 血圧 (投与前の値に対する相対値) (%)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| | | 1時間 | 5時間 | 1日 | 2日 | 3日 |
| 0 | 100 ±0 | 83 ±16 | 86 ±18 | 95 ±17 | 104 ±8 | 106 ±14 |
| 5 | 100 ±0 | 90 ±20 | 96 ±18 | 95 ±20 | 113 ±11 | 127 ±22 |
| 50 | 100 ±0 | 72 ±12 | 76 ±9 | 75 ±15 | 80↓ ±14 | 98 ±11 |
| 150 | 100 ±0 | 85 ±10 | 78 ±13 | 77 ±6 | 73↓ ±12 | 75↓ ±15 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定: ↑↓、p<0.05 ↑↓、p<0.01

B-1. 心拍数 (実測値) (beats/min)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | |
|----------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 |
| 0 | 492 ±19 | 514 ±34 | 519 ±7 | 513 ±19 | 489 ±27 | 507 ±22 |
| 5 | 522 ±50 | 523 ±25 | 527 ±34 | 537 ±28 | 530 ±31 | 501 ±48 |
| 50 | 534 ±32 | 477 ±38 | 481 ±67 | 522 ±28 | 526 ±30 | 496 ±30 |
| 150 | 525 ±21 | 511 ±19 | 460 ±34 | 463 ±45 | 368↓ ±75 | 390↓ ±60 |

B-2. 心拍数 (投与前の値に対する相対値) (%)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | |
|----------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 |
| 0 | 100 ±0 | 104 ±4 | 106 ±3 | 104 ±4 | 99 ±5 | 103 ±4 |
| 5 | 100 ±0 | 101 ±7 | 102 ±10 | 104 ±10 | 103 ±12 | 96 ±7 |
| 50 | 100 ±0 | 89↓ ±5 | 91 ±14 | 98 ±9 | 99 ±7 | 93 ±4 |
| 150 | 100 ±0 | 98 ±4 | 88↓ ±6 | 88↓ ±9 | 70↓ ±14 | 74↓ ±11 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定 : ↑↓、p<0.05 ↓↓、p<0.01

3 中枢神経系・自律神経系・骨格筋に対する影響

1) ラットの中枢神経系、自律神経系及び骨格筋に対する作用

供試動物 : 系 SPF ラット 投与時 8 週齢、投与時体重 ; 219~243 g、
1 群雄 5 匹

投与方法 : 検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与
量 (投与容量、10 mL/kg) で経口投与し、投与前日、投与後 1、5 時間、1、2、
3 及び 7 日目に自発運動量、瞳孔径、体温及び握力を測定した。

結 果 : 各検査項目の方法及び結果を以下に記す。

1)-1 自発運動量

方法 : 遠赤外線方式の検出器を装着した自発運動測定システムを使用して 3 分間測定した。

結果 : 150 mg/kg 群の投与後 1、2 及び 3 日目に有意な自発運動量の低下が認められた。

自発運動量測定の結果を下表に示す。

(counts/3 min)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | | |
|----------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 | 7 日 |
| 0 | 710 ±42 | 496 ±88 | 612 ±108 | 508 ±99 | 500 ±213 | 565 ±173 | 492 ±163 |
| 5 | 696 ±81 | 502 ±41 | 437 ±93 | 453 ±116 | 498 ±97 | 556 ±127 | 504 ±88 |
| 50 | 737 ±77 | 444 ±85 | 526 ±107 | 387 ±126 | 481 ±209 | 502 ±153 | 534 ±140 |
| 150 | 690 ±72 | 433 ±121 | 487 ±87 | 303↓ ±55 | 162↓ ±64 | 177↓ ±92 | 275 ±211 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定 : ↑↓、p<0.05 ↑↓、p<0.01

1)-2 瞳孔径

方法：目盛付き拡大鏡を用いて、左右の瞳孔径を各々測定した。

結果：50 mg/kg 群で投与後 1 時間目に両眼瞳孔径の有意な低下、150 mg/kg 群では投与後 1 時間目に左眼で有意な増加、投与後 1 日目では右眼で有意な増加が認められた。さらに、投与後 2、3 及び 7 日目に両眼で有意な増加が認められた。また、投与前に 50 mg/kg 群および 150 mg/kg 群の右眼で有意な低下がみられた。

瞳孔径測定の結果を下表に示す。

【左側】

(mm)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | | |
|----------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 | 7 日 |
| 0 | 1.2 ±0.1 | 0.9 ±0.1 | 1.0 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.0 ±0.0 | 1.0 ±0.1 |
| 5 | 1.1 ±0.1 | 0.9 ±0.1 | 1.1 ±0.0 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.0 ±0.1 |
| 50 | 1.0 ±0.1 | 0.8↓ ±0.1 | 1.0 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.0 | 1.0 ±0.1 | 1.0 ±0.1 |
| 150 | 1.1 ±0.1 | 1.1↑ ±0.0 | 1.1 ±0.1 | 1.2 ±0.0 | 1.5↑ ±0.3 | 1.6↑ ±0.3 | 1.4↑ ±0.1 |

【右側】 (mm)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | | |
|----------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 1時間 | 5時間 | 1日 | 2日 | 3日 | 7日 |
| 0 | 1.2 ±0.0 | 1.0 ±0.1 | 1.1 ±0.0 | 1.0 ±0.1 | 1.0 ±0.0 | 1.0 ±0.0 | 1.0 ±0.0 |
| 5 | 1.1 ±0.1 | 0.9 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.0 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.0 |
| 50 | 1.1↓ ±0.1 | 0.8↓ ±0.1 | 1.0 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 |
| 150 | 1.1↓ ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.1 ±0.1 | 1.2↑ ±0.1 | 1.2↑ ±0.2 | 1.4↑ ±0.1 | 1.3↑ ±0.1 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、p<0.05 ↑↑、p<0.01

1)-3 体温

方法：Digital laboratory thermometer を用いて、直腸温を測定した。

結果：150 mg/kg 群で投与後 5 時間から 7 日目まで有意な低下を示した。

体温測定の結果を下表に示す。

(°C)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | | |
|----------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | 1時間 | 5時間 | 1日 | 2日 | 3日 | 7日 |
| 0 | 38.5 ±0.3 | 37.8 ±0.2 | 38.4 ±0.3 | 38.1 ±0.1 | 38.5 ±0.3 | 38.5 ±0.2 | 38.8 ±0.3 |
| 5 | 38.6 ±0.2 | 37.7 ±0.3 | 38.1 ±0.4 | 38.1 ±0.4 | 38.2 ±0.5 | 38.2 ±0.5 | 38.3 ±0.3 |
| 50 | 38.3 ±0.2 | 37.6 ±0.2 | 38.0 ±0.5 | 37.7 ±0.1 | 38.2 ±0.4 | 38.1 ±0.2 | 38.2 ±0.3 |
| 150 | 38.3 ±0.3 | 37.6 ±0.2 | 37.6↓ ±0.3 | 36.9↓ ±0.3 | 36.8↓ ±0.4 | 36.6↓ ±0.6 | 37.2↓ ±1.0 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、p<0.05 ↑↑、p<0.01

1)-4 握力

方法：OECD 方式ラット・マウス用握力測定器を用いて、前肢及び後肢について各々測定した

結果：150 mg/kg 群で投与後 2 及び 7 日目に前肢握力の有意な低下と、投与後 2、3 及び 7 日目に後肢握力の有意な低下が認められた。

握力測定の結果を下表に示す。

【前肢】 (g)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | | |
|----------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 | 7 日 |
| 0 | 533 ±34 | 516 ±61 | 551 ±65 | 547 ±66 | 569 ±38 | 526 ±76 | 575 ±52 |
| 5 | 512 ±28 | 515 ±72 | 516 ±48 | 545 ±38 | 544 ±27 | 522 ±49 | 539 ±68 |
| 50 | 537 ±36 | 532 ±55 | 517 ±33 | 541 ±40 | 512 ±52 | 518 ±57 | 556 ±27 |
| 150 | 517 ±50 | 530 ±52 | 508 ±42 | 486 ±37 | 421↓ ±59 | 420 ±75 | 428↓ ±60 |

【後肢】 (g)

| 投与量 (mg/kg) | 投与前 | 投与後時間 | | | | | |
|----------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 時間 | 5 時間 | 1 日 | 2 日 | 3 日 | 7 日 |
| 0 | 422 ±23 | 392 ±25 | 424 ±18 | 413 ±50 | 429 ±24 | 422 ±18 | 419 ±22 |
| 5 | 396 ±17 | 378 ±27 | 401 ±6 | 412 ±26 | 404 ±46 | 420 ±16 | 416 ±15 |
| 50 | 414 ±37 | 402 ±48 | 389 ±34 | 388 ±37 | 404 ±36 | 398 ±44 | 412 ±28 |
| 150 | 409 ±24 | 398 ±33 | 408 ±29 | 384 ±29 | 330↓ ±40 | 340↓ ±41 | 318↓ ±55 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定 : ↑↓、p<0.05 ↓↓、p<0.01

2) マウスの薬物誘発痙攣

供試動物 : 系 SPF マウス

投与時 6 週齢、投与時体重 ; 27.9~36.2 g、

1 群雄 5 匹

投与方法 : 検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、50、100 及び 200 mg/kg の投与量 (投与容量、10 mL/kg) で経口投与し、その 5 時間後にペンチレンテトラゾール (PTZ) を 100 mg/kg [中枢神経抑制作用] あるいは 70 mg/kg [中枢神経亢進作用] の用量で皮下投与し、間代性痙攣及び強直性痙攣の発現時間 (潜時)、さらに死亡の有無を 1 時間観察した。

結果 : 200 mg/kg 群では中枢神経抑制作用及び亢進作用のいずれの検査においても、間代性痙攣誘発までの潜時が有意に延長した。また、中枢神経亢進作用の検査における間代性痙攣の発現率が有意に低下した。投与用量 200 mg/kg 群において PTZ 投与前に 1 例の死亡が認められた。

薬物誘発痙攣作用の結果

| 投与量 (mg/kg) | 【潜時】 (minutes) | | | |
|----------------|--------------------------------|-----------|-------------------------------|----------|
| | PTZ 100 mg/kg 投与 (中枢神経抑制作用) | | PTZ 70 mg/kg 投与 (中枢神経亢進作用) | |
| | 間代性痙攣 | 強直性痙攣 | 間代性痙攣 | 強直性痙攣 |
| 0 | 6 ±4 | 20 ±23 | 16 ±25 | 60 ±0 |
| 50 | 12 ±17 | 39 ±26 | 49 ±24 | 60 ±0 |
| 100 | 20 ±16 | 31 ±25 | 45 ±23 | 60 ±0 |
| 200 | 41↑ ±18 | 38 ±21 | 60↑ ±0 | 60 ±0 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定 : ↑↓、 $p<0.05$ ↑↑、 $p<0.01$

【発現率】

| 投与量 (mg/kg) | PTZ 100 mg/kg 投与 (中枢神経抑制作用) | | PTZ 70 mg/kg 投与 (中枢神経亢進作用) | |
|----------------|--------------------------------|-------|-------------------------------|-------|
| | 間代性痙攣 | 強直性痙攣 | 間代性痙攣 | 強直性痙攣 |
| 0 | 5/5 | 4/5 | 4/5 | 0/5 |
| 50 | 5/5 | 2/4 | 1/5 | 0/5 |
| 100 | 4/4 | 2/3 | 3/5 | 0/3 |
| 200 | 4/5 | 2/3 | 0/4↓ | 0/4 |

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p<0.05$ ↑↑、 $p<0.01$

4 腎機能に対する作用

1) ラットの尿量、尿中電解質及び尿浸透圧

供試動物 : 系 SPF ラット 投与時 8 週齢、投与時体重 ; 207~226 g、

1 群雄 5 匹

投与方法 : 検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与量 (投与容量、10 mL/kg) で経口投与し、その 1 時間後に生理食塩水を 25 mL/kg の容量で 30 分おきに 2 回経口負荷し、1 匹ずつ採尿ケージに入れた。生理食塩水の経口負荷後 3 時間の尿を採取し、遠心分離 (1500 rpm、5 分間) して上清を採取するとともに尿量を測定した。採取した上清を用いて、尿中の Na、K 及び Cl 濃度を自動分析装置を用いて測定し、浸透圧を氷点降下法浸透圧計を用いて測定した。

結果：150 mg/kg 群では、尿中 Na 及び Cl の有意な低下が認められた。また尿浸透圧測定では、投与用量 50 及び 150 mg/kg 群で有意な低下が認められた。なお、尿量に対する影響は認められなかった。

尿量、尿中電解質及び尿浸透圧の結果を下表に示す。

| 投与量 (mg/kg) | 全尿量 (mL) | 浸透圧 (mOsm/kg) | 尿中電解質 | | |
|----------------|-------------|------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | | | [Na ⁺] (mEq/3hr) | [K ⁺] (mEq/3hr) | [Cl ⁻] (mEq/3hr) |
| 0 | 3.9 ±0.5 | 613 ±80 | 0.66 ±0.06 | 0.17 ±0.04 | 0.83 ±0.06 |
| 5 | 5.9 ±2.0 | 504 ±121 | 0.77 ±0.27 | 0.19 ±0.04 | 0.96 ±0.29 |
| 50 | 5.9 ±1.3 | 408↓ ±83 | 0.60 ±0.12 | 0.14 ±0.03 | 0.72 ±0.15 |
| 150 | 5.6 ±2.3 | 359↓ ±81 | 0.31↓ ±0.19 | 0.13 ±0.04 | 0.42↓ ±0.18 |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、p<0.05 ↓↓、p<0.01

5 血液系に対する作用

1) ラットの溶血及び凝固作用

供試動物： 系 SPF ラット、投与時 8 週齢、投与時体重；206～226 g、
1 群雄 5 匹

投与方法：検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与量（投与容量、10 mL/kg）で経口投与し、投与 5 時間後にインフルラン吸入麻酔下で開腹した。後大静脈から採血し、血色素量（Hb）は分光光度計を用い、プロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）は全自動血液凝固分析装置を用いて測定した。

結果：血液系に対する作用として検討したラットの溶血及び凝固作用試験では、150 mg/kg 投与用量まで検体投与の影響は認められなかった。

6 消化器系に対する作用

1) ラットの小腸炭末輸送能

供試動物： 系 SPF ラット、投与時 8 週齢、投与時体重；215～240 g、
1 群雄 8 匹

投与方法：検体を 0.5%CMC ナトリウム水溶液に懸濁し、0、5、50 及び 150 mg/kg の投与量（投与容量、10 mL/kg）で経口投与し、投与 3 時間後に 5%炭末懸濁液を経口投与した。炭末懸濁投与 15 分後にエーテル深麻酔下で消化管（胃から直腸

まで)を摘出して伸展した。幽門から回盲口に至る小腸の全長及び幽門から炭末先端までの長さ(炭末移行長、cm)を測り、小腸の全長に対する炭末移行長を百分率(移行率、%)で表した。

結果: 50 mg/kg 群では炭末移行長及び移行率に、150 mg/kg 群では移行率に、それぞれ有意な低下が認められた。

全小腸長、炭末移行長及び移行率の結果を下表に示す。

| 投与量 (mg/kg) | 炭末移行長 (cm) | 全小腸長 (cm) | 移行率 (%) |
|-------------|------------|-----------|---------|
| 0 | 47±4 | 67±6 | 70±5 |
| 5 | 40±14 | 66±9 | 60±14 |
| 50 | 35±4↓ | 68±7 | 52±8↓ |
| 150 | 41±15 | 74±8 | 55±17↓ |

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較検定: ↑↓、 $p<0.05$ ↓↓、 $p<0.01$

以上のように、本剤の生体機能に及ぼす影響に関してラットあるいはマウスを用いて検討した結果、マウスに本検体を 100 mg/kg 以上経口投与すると、一般状態及び中枢神経系に対し急性薬理作用を示し、ラットでは 50 mg/kg 以上の経口投与で、一般状態、呼吸器系、循環器系、中枢神経・自律神経系及び骨格筋、腎機能及び消化器系に対し、急性薬理作用を示すと判断した。これらの急性作用は全身性状態の悪化に伴う抑制性的変化であると推測された。

生体機能に及ぼす影響一覧表

| 試験項目 | 使用動物 (動物数) | 投与経路 (溶媒) | 用量 (mg/kg) | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果 |
|-----------------|------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------|----------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 一般状態 | Irwin | マウス 雄(3) 雌(3) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) 0, 50, 100, 200 | 100 | 50 | 【200 mg/kg】 雌雄：全例死亡、自発運動低下、 警戒性低下、体温下降、心拍数 減少、受動性亢進、反応性低下 雄：抑制性の体姿勢、抑制性の呼 吸状態、群居性の低下、よろめ き歩行 雌：空中立ち直り反射の低下 【100 mg/kg】 雌雄：自発運動低下 |
| | FOB | ラット 雄(5) 雌(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) 0, 5, 50, 150, | 50 | 5 | 【150 mg/kg】 雌雄：雄1例、雌2例死亡 軟便または下痢便 雄：探索行動低下、鼻周囲部赤色 物付着、筋緊張低下、取り扱い に対する反応低下、瞳孔径 増加、立ち上がり回数減少 雌：取り扱いに対する反応低下、 接近反応低下 【50 mg/kg】 雌雄：軟便または下痢便 |
| 呼吸器系 | 呼吸状態、 呼吸数 | ラット 雄(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) 0, 5, 50, 150 | 150 | 50 | 【150 mg/kg】 2例死亡 呼吸緩徐及び呼吸回数減少 |
| 循環器系 | 血圧、 心拍数 | ラット 雄(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) 0, 5, 50, 150 | 50 | 5 | 【150 mg/kg】 血圧低下及び心拍数減少 【50 mg/kg】 血圧低下 |
| 中枢神経系・ 系・骨格筋 | 自発運動 量、瞳孔径、 握力、体温 | ラット 雄(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) 0, 5, 50, 150 | 50 | 5 | 【150 mg/kg】 自発運動量低下、瞳孔径増加、体 温低下、前肢及び後肢握力低下 【50 mg/kg】 瞳孔径減少 |
| 中枢神経系 | ペンチレン テトラゾールによる薬 物誘発痙攣 | マウス 雄(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) 0, 50, 100, 200 | 200 | 100 | 【200 mg/kg】 ペンチレンテトラゾール(PTZ)投 与前に1例死亡 PTZ に誘発される間代性痙攣誘発 までの潜時延長及び間代性痙攣の 発現率低下 |

| 試験項目 | | 使用動物 (動物数) | 投与経路 (溶媒) | 用量 (mg/kg) | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果 |
|------|-----------------------|---------------|---------------------------------|------------------------|----------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 腎機能 | 尿量・尿中 電解質・尿 浸透圧 | ラット 雄(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) | 0, 5, 50, 150 | 50 | 5 | 【150 mg/kg】 尿浸透圧低下 尿中 Na 及び Cl 低下 【50 mg/kg】 尿浸透圧低下 (尿浸透圧低下及び尿中電解質の変 化は軟便、下痢便などによる二次 的変化であり、直接的作用ではな い) |
| 血液系 | 溶血及び凝 固作用 | ラット 雄(5) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) | 0, 5, 50, 150 | - | 150 | 血液系に対する影響なし |
| 消化器系 | 小腸炭末輸 送能 | ラット 雄(8) | 経口 (0.5%CMC ナトリウム 水溶液) | 0, 5, 50, 150 | 50 | 5 | 【150 mg/kg】 炭末移行率の低下 【50 mg/kg】 炭末移行長及び移行率の低下 |

(17) 解毒及び治療

1) フロメトキンのラットにおける解毒（フロメトキンの治療効果）試験（資料 毒-24）

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度： %

供試動物： 系 SPF ラット 、投与時 8 週齢、
投与時体重； 216～240 g、1 群雄 10 匹

観察期間： 7 日間

投与方法：本検体を 0.5%CMC ナトリウムに懸濁し、150 mg/kg の投与量で経口投与した後、
検体の吸着剤として活性炭を、排泄を促進するための塩類下剤として硫酸マグ
ネシウム (MgSO₄) を投与した。なお、試験動物は投与前一晩絶食させた。実
験群、解毒処置及び使用動物数を以下に示す。

| 実験群 | 検体 投与用量 | 解毒処置 | 使用動物数 |
|--------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 対照群 | 150 mg/kg | なし | 10 |
| 活性炭反復処置群 | 150 mg/kg | 投与直後に活性炭 1.0 g/kg 6、12、18、24 時間後に 活性炭 1.2 g/kg | 10 |
| 活性炭+MgSO ₄ 反復処置群 | 150 mg/kg | 投与直後に 活性炭 1.0 g/kg+ MgSO ₄ 0.4 g/kg 6、12、18、24 時間後に 活性炭 1.2 g/kg+ MgSO ₄ 0.2 g/kg | 10 |

解毒剤の選択理由；本検体は全身状態の悪化に伴う抑制性的の変化によって死亡が生じる
ため、吸収を阻害して排泄を促すことによる解毒方法が有効であると考えられ
た。そこで、当該試験に先立って 1 群 3 匹の雄ラットを用いて予備検討を実施
した。設定した実験群、検体投与用量、解毒処置及び検体投与後 7 日間の累積
死亡率は以下の通りであった。

| 予備検討 実験群 | 検体 投与用量 | 解毒処置 | 死亡率 |
|--------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 対照群 | 200 mg/kg | なし | 3/3 |
| 活性炭処置群 | 200 mg/kg | 投与直後に活性炭 1.0 g/kg | 2/3 |
| 活性炭反復処置群 | 200 mg/kg | 投与直後に活性炭 1.0 g/kg 6、12、24 時間後に 活性炭 1.2 g/kg | 0/3 |
| 活性炭+MgSO ₄ 処置群 | 200 mg/kg | 投与直後に活性炭 1.0 g/kg+ MgSO ₄ 0.4 g/kg | 1/3 |
| 活性炭+MgSO ₄ 反復処置群 | 200 mg/kg | 投与直後に活性炭 1.0 g/kg+ MgSO ₄ 0.4 g/kg 6、12、24 時間後に MgSO ₄ 0.2 g/kg | 0/3 |

予備検討の結果から、効果が期待された検体の吸着剤として活性炭を反復投与する方法と、検体の排泄を促進するための塩類下剤として硫酸マグネシウムを併用する方法を選択した。さらに、検体の投与用量は、症状及び体重の回復が明瞭になるように、死亡は発現するが、全例の死亡はないと予想される 150 mg/kg とした。

観察項目：一般状態、生死について7日間観察した。体重については投与前及び投与後翌日から観察期間終了まで毎日測定した。

結 果：結果を次表に示す。

| 実験群 | 死亡率 | 生存動物の一般状態 | 群平均体重の変化 |
|--------------------------------|------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 対照群 | 3/10 | 自発運動低下、 鎮静、散瞳、軟便、 眼周囲赤色物付着、 被毛の汚れ (外陰部、肛門周囲) | 投与後 2 日から 5 日まで前日 と比較して体重減少が続き、 投与後 7 日に投与前の値まで 回復した。 |
| 活性炭反復処置群 | 0/10 | 散瞳、被毛の汚れ (肛門周囲) | 体重は毎日増加した。 |
| 活性炭+MgSO ₄ 反復処置群 | 0/10 | 散瞳、軟便、 眼周囲赤色物付着、 被毛の汚れ (外陰部、肛門周囲) | 投与後 2 日に前日と比較して 減少が認められた以外は、毎 日増加した。 |

体重増加量 (g)

| 群 | 投与後日数 | | | | | | |
|--------------------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| | 0-1 | 1-2 | 2-3 | 3-4 | 4-5 | 5-6 | 6-7 |
| 対照群 | 7 (10) | -7 (10) | -10 (9) | -5 (9) | -3 (9) | 9 (7) | 2 (7) |
| 活性炭反復処置群 | ↑12 (10) | ↑1 (10) | ↑7 (10) | ↑3 (10) | ↑8 (10) | 6 (10) | 5 (10) |
| 活性炭+MgSO ₄ 反復処置群 | ↑14 (10) | -2 (10) | ↑5 (10) | ↑9 (10) | ↑5 (10) | 8 (10) | 7 (10) |

()検査動物数

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

検体を 150 mg/kg 経口投与した直後に活性炭 1.0 g/kg を、さらに 6、12、18、24 時間後に活性炭 1.2 g/kg を経口投与することにより、死亡率の低下、毒性症状の軽減、体重の順調な増加が認められた。また、活性炭で吸着した検体の排泄を促すために、検体投与直後に 0.4 g/kg、その後は 0.2 g/kg の硫酸マグネシウムを活性炭と併用して投与したところ、活性炭による解毒作用の明確な増強及び阻害は認められなかった。

以上の結果から、本検体のラットにおける毒性作用に対して、活性炭の反復経口投与は有効な解毒作用を示した。

2. 混在物及び代謝物

1) ANMI38-C1 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 毒-25)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: %

供試動物: 系 SPF ラット 雌、投与時 8 週齢、
投与時体重 151~161 g、各段階 3 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体をコーンオイルに懸濁して、一晚絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。投与は 2000 mg/kg で 2 回実施した。

観察・検査項目: 一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間及び 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日あるいは死亡発見時に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法 (農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年; OECD Test Guideline No. 423、2001 年) により評価した。

結果:

| 投 与 方 法 | 経 口 |
|--------------------------------|------------------------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 2000 < LD ₅₀ (GHS カテゴリー5 または区分外) |
| 死亡開始時間 及び終了時間 | 投与後 3 日から発現 投与後 3 日までに 1 例死亡 |
| 症状発現時間 及び消失時間 | 投与後 2 日から発現 回復せずに投与後 3 日までに 1 例死亡 |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | - |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | - |

一般状態の観察において、2000 mg/kg 用量では 1 例で横臥位、昏迷、自発運動低下、呼吸緩徐及び体温下降が観察され、症状は回復せず死亡した。

2000 mg/kg 用量の生存例では、異常は認められず、体重も投与後 7 及び 14 日ともに全例で投与前の値と比べ増加した。

剖検所見においては、2000 mg/kg 用量の死亡例では、腸管の黒色内容物が認められた。

2) ANM138-C5 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 毒-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

供試動物： 系 SPF ラット 、雌、投与時 8 週齢、
投与時体重 150～164 g、各段階 3 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 毒性等級法

投与方法： 検体をコーンオイルに懸濁して、一晚絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。投与は 2000 mg/kg で 2 回実施した。

観察・検査項目： 一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間及び 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日及び 14 日に測定した。試験終了時に全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年；OECD Test Guideline No. 423、2001 年）により評価した。

結果：

| 投 与 方 法 | 経 口 |
|--------------------------------|------------------------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 2000 < LD ₅₀ (GHS カテゴリー5 または区分外) |
| 死亡開始時間 及び終了時間 | 死亡なし |
| 症状発現時間 及び消失時間 | 投与後 6 時間から発現し、投与後 5 日 までに消失 |
| 毒性兆候の認められなかった最高 投与量 (mg/kg) | - |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |

一般状態の観察において、2000 mg/kg 用量では、はいずり姿勢、鎮静、よろめき歩行、体温下降、口周囲部被毛の汚れ、腹部被毛の汚れ、肛門周囲部被毛の汚れ、肛門周囲部被毛の湿潤及び軟便が観察された。

2000 mg/kg 用量では、体重が投与後 7 及び 14 日ともに全例で投与前の値と比べ増加した。

剖検所見においては、2000 mg/kg 用量では異常は認められなかった。

3) ANM138-C9 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 毒-27)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 : %

供試動物 : 系 SPF ラット , 雌、投与時 8 週齢、

投与時体重 147~166 g、各段階 3 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 検体をコーンオイルに懸濁して、一晚絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。投与は 2000 mg/kg で 2 回実施した。

観察・検査項目 : 一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間及び 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日に測定した。試験終了時に全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法 (農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年、2002 年 ; OECD Test Guideline No. 423、2001 年) により評価した。

結果 :

| 投 与 方 法 | 経 口 |
|--------------------------------|-------------------------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 2000 < LD ₅₀ (GHS カテゴリー 5 または区分外) |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 死亡なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | 異常なし |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |

一般状態の観察において、2000 mg/kg 用量では異常は認められなかった。2000 mg/kg 用量では、体重が投与後 7 及び 14 日ともに全例で投与前の値と比べ増加した。

剖検所見においては、2000 mg/kg 用量では異常は認められなかった。

4) ANMI38-C1 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。

検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、試験 I では 6.9~5000 µg/プレート の 5~7 濃度、試験 II では 313~5000 µg/プレート の範囲の 5 濃度で試験を実施した。各濃度につき 3 枚のプレートで行った。

用量設定根拠；代謝活性化系存在下及び非存在下で、5000 µg/プレートを最高用量として公比 4 で 7 用量 (1.2~5000 µg/プレート) を設定し、用量設定試験を実施した。その結果、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株において生育阻害は観察されなかったが、313 µg/プレート以上で検体の析出が観察された。以上の結果から、試験 I では代謝活性化系を用いる場合の TA100 株は 5000 µg/プレートを最高用量として公比 3 の 7 用量 (6.9、20.6、61.7、185、556、1667、5000 µg/プレート) を、その他は 5 用量 (61.7、185、556、1667、5000 µg/プレート) を設定した。試験 II では 5000 µg/プレートを最高用量として公比 2 の 5 用量 (313、625、1250、2500、5000 µg/プレート) を試験濃度に設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

試験 I では、代謝活性化系の有無にかかわらず 556 µg/プレート以上の用量で検体の析出が観察され、試験 II では代謝活性化系の有無にかかわらずすべての用量で検体の析出が認められた。両試験において、生育阻害は認められなかった。試験 I 及び試験 II において、検体はいずれの菌株においても、代謝活性化系の有無にかかわらず、最高用量 (5000 µg/プレート) でも溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、9-アミノアクリジン塩酸塩水和物 (9-AA) 及び 2-アミノアントラセン (2-AA) は、対応する検定菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

試験 I 結果

(表中の数値は 3 反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の 有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|----------------|---------------------------------|------------------|----------------|--------|-----------------|----------|--------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 120 | 10 | 26 | 16 | 6 |
| 検体 | 61.7 | - | 107 | 8 | 21 | 14 | 4 |
| | 185 | - | 108 | 4 | 23 | 15 | 4 |
| | 556 [†] | - | 109 | 6 | 21 | 12 | 3 |
| | 1667 [†] | - | 110 | 5 | 19 | 14 | 5 |
| | 5000 [†] | - | 105 | 11 | 24 | 18 | 3 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 126 | 7 | 23 | 28 | 16 |
| 検体 | 6.9 | + | 147 | / | / | / | / |
| | 20.6 | + | 152 | / | / | / | / |
| | 61.7 | + | 141 | 11 | 24 | 26 | 18 |
| | 185 | + | 156 | 9 | 29 | 27 | 13 |
| | 556 [†] | + | 162 | 7 | 24 | 23 | 17 |
| | 1667 [†] | + | 122 | 8 | 28 | 24 | 12 |
| | 5000 [†] | + | 123 | 9 | 25 | 23 | 6 |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 588 | / | 239 | / |
| | | 0.1 | - | / | / | / | 511 |
| | NaN ₃ | 0.5 | - | / | 589 | / | / |
| | 9-AA | 80 | - | / | / | / | 810 |
| | 2-AA | 0.5 | + | / | / | / | 200 |
| | | 1 | + | 563 | / | / | / |
| | | 2 | + | / | 136 | / | / |
| | | 10 | + | / | / | 234 | / |

[†] : 検体の析出が観察された。

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

試験 II 結果

(表中の数値は3反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | | |
|----------------|---------------------------------|--------------|----------------|--------|-----------------|----------|--------|----|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 123 | 6 | 23 | 17 | 10 | |
| 検体 | 313 [†] | - | 93 | 5 | 22 | 18 | 4 | |
| | 625 [†] | - | 93 | 7 | 26 | 14 | 5 | |
| | 1250 [†] | - | 89 | 4 | 19 | 13 | 3 | |
| | 2500 [†] | - | 97 | 6 | 22 | 15 | 3 | |
| | 5000 [†] | - | 98 | 3 | 25 | 12 | 3 | |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 107 | 9 | 21 | 26 | 15 | |
| 検体 | 313 [†] | + | 145 | 10 | 26 | 30 | 14 | |
| | 625 [†] | + | 143 | 7 | 26 | 23 | 9 | |
| | 1250 [†] | + | 129 | 7 | 28 | 21 | 13 | |
| | 2500 [†] | + | 121 | 7 | 24 | 23 | 14 | |
| | 5000 [†] | + | 117 | 7 | 27 | 20 | 6 | |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 580 | | 212 | | |
| | | 0.1 | - | | | 485 | | |
| | NaN ₃ | 0.5 | - | | 529 | | | |
| | 9-AA | 80 | - | | | | 754 | |
| | 2-AA | 0.5 | + | | | | 218 | |
| | | 1 | + | 608 | | | | |
| | | 2 | + | | 150 | | | 70 |
| 10 | | + | | | 256 | | | |

[†] : 検体の析出が観察された。

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

5) ANM138-C5 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-29)

試験機関：

[安衛法 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S9 mix 非存在下では 156～5000 µg/プレート の範囲の 6 濃度、存在下では 2.44～5000 µg/プレート の範囲の 6～12 濃度で試験を実施した。各濃度につき 2 枚 (溶媒対照群は 3 枚) のプレートで行った。

用量設定根拠；代謝活性化系存在下及び非存在下で、5000 µg/プレートを最高用量として公比 4 で 6 用量 (4.88～5000 µg/プレート) を設定し、用量設定試験を実施した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株において陰性対照値の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数の増加及び生育阻害は観察されなかった。なお、代謝活性化系存在下の TA100 において 19.5 µg/プレート付近で復帰変異コロニー数の増加傾向が認められた。代謝活性化系存在下及び非存在下ともに 5000 µg/プレートで検体の析出が観察された。以上の結果から、代謝活性化を用いない場合では、すべての菌株で 5000 µg/プレートを最高用量として公比 2 の 6 用量 (156、313、625、1250、2500、5000 µg/プレート) を、代謝活性化系を用いる場合では、TA100 株で 5000 µg/プレートを最高用量として公比 2 の 12 用量 (2.44、4.88、9.77、19.5、39.1、78.1、156、313、625、1250、2500、5000 µg/プレート) を、その他の菌株で 5000 µg/プレートを最高用量として公比 2 の 6 用量 (156、313、625、1250、2500、5000 µg/プレート) を試験濃度に設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

本試験では、代謝活性化系の有無にかかわらず、2500 µg/プレート以上の用量で検体の析出が観察された。本試験において、生育阻害は認められなかった。いずれの菌株においても、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、評価したいずれの濃度においても溶媒対照群に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加及びを誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いた2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl (ICR-191) 及び 2-アミノアントラセン (2-AA) は、対応する検定菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

本試験結果 (溶媒対照を除く表中の数値は2反復の平均値、溶媒対照は3反復)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|------------------|---------------------------------|--------------|----------------|--------|-----------------|----------|--------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 111 | 12 | 21 | 20 | 10 |
| 検体 | 156 | - | 114 | 9 | 27 | 16 | 11 |
| | 313 | - | 112 | 16 | 23 | 25 | 15 |
| | 625 | - | 117 | 8 | 28 | 21 | 11 |
| | 1250 | - | 108 | 9 | 25 | 21 | 13 |
| | 2500 [†] | - | 108 | 13 | 26 | 19 | 10 |
| | 5000 [†] | - | 128 | 10 | 22 | 21 | 12 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 113 | 9 | 33 | 37 | 31 |
| 検体 | 2.44 | + | 171 | | | | |
| | 4.88 | + | 161 | | | | |
| | 9.77 | + | 178 | | | | |
| | 19.5 | + | 183 | | | | |
| | 39.1 | + | 162 | | | | |
| | 78.1 | + | 166 | | | | |
| | 156 | + | 145 | 13 | 34 | 37 | 13 |
| | 313 | + | 121 | 9 | 26 | 32 | 18 |
| | 625 | + | 114 | 12 | 27 | 32 | 13 |
| | 1250 | + | 133 | 10 | 29 | 43 | 11 |
| | 2500 [†] | + | 95 | 8 | 25 | 30 | 16 |
| | 5000 [†] | + | 109 | 11 | 31 | 34 | 19 |
| | 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 674 | | 383 |
| 0.1 | | | - | | | 598 | |
| NaN ₃ | | 0.5 | - | | 530 | | |
| ICR-191 | | 0.5 | - | | | | 2194 |
| 2-AA | | 0.5 | + | | | | 327 |
| | | 1 | + | 979 | | | |
| | | 2 | + | | 288 | | |
| | 10 | + | | | 560 | | |

[†] : 検体の析出が観察された。

* : 菌株の生育阻害が認められた。

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)-アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2-AA : 2-アミノアントラセン

6) ANM138-C9 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-30)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検体の純度 : %

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。

検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、試験 I では 2.3~5000 µg/プレート の範囲の 5~6 濃度、試験 II では 9.8~5000 µg/プレート の範囲の 5~6 濃度で試験を実施した。各濃度につき 3 枚のプレートで行った。

用量設定根拠 ; 代謝活性化系存在下及び非存在下で、5000 µg/プレートを最高用量として公比 4 で 7 用量 (1.2~5000 µg/プレート) を設定し、用量設定試験を実施した。その結果、代謝活性化系を用いない場合のネズミチフス菌 4 菌株で 313 µg/プレート以上において生育阻害が観察された。代謝活性化系を用いる場合はすべての菌株において生育阻害は観察されなかった。代謝活性化の有無にかかわらず 5000 µg/プレートで検体の析出が観察された。以上の結果から、代謝活性化を用いない場合の試験 I では、ネズミチフス菌株で 2.3、6.9、20.6、61.7、185、556 µg/プレートの 6 用量、大腸菌株で 61.7、185、556、1667、5000 µg/プレートの 5 用量を設定した。代謝活性化系を用いる場合の試験 I では、TA100 株で 20.6、61.7、185、556、1667、5000 µg/プレートの 6 用量、その他の菌株は 61.7、185、556、1667、5000 µg/プレートの 5 用量を設定した。代謝活性化を用いない場合の試験 II では、ネズミチフス菌株で 9.8、19.5、39.1、78.1、156、313 µg/プレートの 6 用量、大腸菌株で 313、625、1250、2500、5000 µg/プレートの 5 用量を設定した。代謝活性化系を用いる場合の試験 II では、すべての菌株で 313、625、1250、2500、5000 µg/プレートの 5 用量を設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

試験Ⅰでは、代謝活性化系の有無にかかわらず、5000 µg/プレートの用量で検体の析出が認められ、試験Ⅱでは代謝活性化系を用いない場合は5000 µg/プレートの用量で、代謝活性化を用いる場合は2500 µg/プレート以上の用量で検体の析出が観察された。代謝活性化系を用いない場合のネズミチフス菌4菌株で156 µg/プレート以上において生育阻害が観察された。代謝活性化系を用いない場合の大腸菌株及び代謝活性化系を用いる場合のすべての菌株において生育阻害は観察されなかった。

試験Ⅰ及び試験Ⅱにおいて、検体はいずれの菌株においても、代謝活性化系の有無にかかわらず、最高用量（5000 µg/プレート）でも溶媒対照群に比べて2倍以上の復帰変異コロニー数の増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いた2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、9-アミノアクリジン塩酸塩水和物 (9-AA) 及び2-アミノアントラセン (2-AA) は、対応する検定菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

試験1結果

(表中の数値は3反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の 有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|----------------|---------------------------------|------------------|----------------|--------|-----------------|----------|--------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 121 | 6 | 25 | 17 | 8 |
| 検体 | 2.3 | - | 119 | 9 | / | 15 | 8 |
| | 6.9 | - | 126 | 4 | / | 21 | 12 |
| | 20.6 | - | 132 | 7 | / | 13 | 9 |
| | 61.7 | - | 110 | 8 | 24 | 15 | 10 |
| | 185 | - | 119* | 8* | 28 | 15* | 8* |
| | 556 | - | 110* | 8* | 22 | 25* | 6* |
| | 1667 | - | / | / | 22 | / | / |
| | 5000 [†] | - | / | / | 19 | / | / |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 116 | 7 | 27 | 21 | 18 |
| 検体 | 20.6 | - | 142 | / | / | / | / |
| | 61.7 | + | 179 | 8 | 22 | 31 | 18 |
| | 185 | + | 186 | 9 | 27 | 24 | 15 |
| | 556 | + | 158 | 7 | 26 | 30 | 13 |
| | 1667 | + | 142 | 9 | 26 | 25 | 15 |
| | 5000 [†] | + | 149 | 8 | 30 | 26 | 11 |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 570 | / | 228 | / |
| | | 0.1 | - | / | / | / | 502 |
| | NaN ₃ | 0.5 | - | / | 565 | / | / |
| | 9-AA | 80 | - | / | / | / | 995 |
| | 2-AA | 0.5 | + | / | / | / | 226 |
| | | 1 | + | 614 | / | / | / |
| | | 2 | + | / | 170 | / | / |
| | | 10 | + | / | / | 263 | / |

[†]: 検体の析出が観察された。

*: 菌株の生育阻害が認められた。

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

NaN₃: アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA: 2-アミノアントラセン

試験 II 結果

(表中の数値は 3 反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の 有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|----------------|---------------------------------|------------------|----------------|--------|-----------------|----------|--------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 127 | 8 | 26 | 16 | 8 |
| 検体 | 9.8 | - | 120 | 8 | / | 18 | 9 |
| | 19.5 | - | 119 | 8 | / | 15 | 7 |
| | 39.1 | - | 105 | 9 | / | 15 | 7 |
| | 78.1 | - | 110 | 9 | / | 17 | 8 |
| | 156 | - | 115 * | 5 * | / | 15 * | 7 * |
| | 313 | - | 108 * | 7 * | 23 | 14 * | 8 * |
| | 625 | - | / | / | 20 | / | / |
| | 1250 | - | / | / | 18 | / | / |
| | 2500 | - | / | / | 18 | / | / |
| | 5000 [†] | - | / | / | 21 | / | / |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 119 | 7 | 27 | 20 | 16 |
| 検体 | 313 | + | 160 | 6 | 20 | 20 | 15 |
| | 625 | + | 140 | 6 | 22 | 26 | 10 |
| | 1250 | + | 142 | 7 | 19 | 28 | 11 |
| | 2500 [†] | + | 127 | 8 | 22 | 27 | 8 |
| | 5000 [†] | + | 117 | 7 | 23 | 18 | 8 |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 618 | / | 198 | / |
| | | 0.1 | - | / | / | / | 459 |
| | NaN ₃ | 0.5 | - | / | 535 | / | / |
| | 9-AA | 80 | - | / | / | / | 691 |
| | 2-AA | 0.5 | + | / | / | / | 231 |
| | | 1 | + | 605 | / | / | / |
| | | 2 | + | / | 142 | / | / |
| | | 10 | + | / | / | 218 | / |

[†] : 検体の析出が観察された。

* : 菌株の生育阻害が認められた。

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

7) MI のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 毒-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

供試動物： 系 SPF ラット 、雌、投与時 8 週齢、

投与時体重 149~173 g、各段階 3 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 毒性等級法

投与方法： 検体をコーンオイルに懸濁して、一晚絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。投与は 2000 mg/kg で 2 回実施した。

観察・検査項目： 一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間及び 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日及び 14 日に測定した。試験終了時に全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年；OECD Test Guideline No. 423、2001 年）により評価した。

結果：

| 投 与 方 法 | 経 口 |
|--------------------------------|-------------------------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 2000 < LD ₅₀ (GHS カテゴリー 5 または区分外) |
| 死亡開始時間及び終了時間 | 死亡なし |
| 症状発現時間及び消失時間 | 異常なし |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |

一般状態の観察において、2000 mg/kg 用量では異常は認められなかった。2000 mg/kg 用量では、体重が投与後 7 及び 14 日ともに全例で投与前の値と比べ増加した。剖検所見においては、2000 mg/kg 用量では異常は認められなかった。

8) MI の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒-32)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に懸濁・溶解し、試験 I では 61.7~5000 µg/プレート、試験 II では 313~5000 µg/プレートの範囲のそれぞれ 5 濃度で試験を実施した。各濃度につき 3 枚のプレートで行った。

用量設定根拠：代謝活性化系存在下及び非存在下で、5000 µg/プレートを最高用量として公比 4 で 7 用量 (1.2~5000 µg/プレート) を設定し、用量設定試験を実施した。その結果、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株において生育阻害は観察されなかったが、313 µg/プレート以上で検体の析出が観察された。以上の結果から、試験 I では 5000 µg/プレートを最高用量として公比 3 の 5 用量 (61.7、185、556、1667、5000 µg/プレート) 及び試験 II では 5000 µg/プレートを最高用量として公比 2 の 5 用量 (313、625、1250、2500、5000 µg/プレート) を試験濃度に設定した。

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

試験 I では、代謝活性化系を用いない場合の 185 µg/プレート以上及び代謝活性化系を用いる場合の 556 µg/プレート以上の用量で検体の析出が認められ、試験 II では代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての用量で検体の析出が観察された。両試験において、生育阻害は認められなかった。

試験 I 及び試験 II において、検体はいずれの菌株においても、代謝活性化系の有無にかかわらず、最高用量 (5000 µg/プレート) でも溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、9-アミノアクリジン塩酸塩水和物 (9-AA) 及び 2-アミノアントラセン (2-AA) は、対応する検定菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

試験 I 結果

(表中の数値は 3 反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|----------------|---------------------------------|--------------|----------------|--------|--------------------|----------|--------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 136 | 7 | 23 | 18 | 7 |
| 検体 | 61.7 | - | 124 | 10 | 26 | 12 | 9 |
| | 185 [†] | - | 117 | 6 | 19 | 14 | 6 |
| | 556 [†] | - | 125 | 9 | 21 | 16 | 6 |
| | 1667 [†] | - | 118 | 8 | 12 | 18 | 10 |
| | 5000 [†] | - | 105 | 7 | 18 | 14 | 7 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 121 | 8 | 19 | 26 | 16 |
| 検体 | 61.7 | + | 129 | 5 | 22 | 22 | 11 |
| | 185 | + | 138 | 5 | 18 | 27 | 17 |
| | 556 [†] | + | 146 | 8 | 25 | 28 | 11 |
| | 1667 [†] | + | 145 | 10 | 25 | 26 | 13 |
| | 5000 [†] | + | 148 | 7 | 24 | 27 | 10 |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 597 | | 226 | |
| | | 0.1 | - | | | | 452 |
| | NaN ₃ | 0.5 | - | | 508 | | |
| | 9-AA | 80 | - | | | | 808 |
| | 2-AA | 0.5 | + | | | | 218 |
| | | 1 | + | 564 | | | |
| | | 2 | + | | 144 | | |
| 10 | | + | | | 203 | | |

[†] : 検体の析出が観察された。

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

試験 II 結果

(表中の数値は 3 反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート) | S9mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | |
|----------------|---------------------------------|--------------|----------------|--------|--------------------|----------|--------|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | - | 136 | 9 | 23 | 19 | 11 |
| 検体 | 313 [†] | - | 141 | 8 | 24 | 24 | 7 |
| | 625 [†] | - | 133 | 10 | 19 | 18 | 13 |
| | 1250 [†] | - | 137 | 9 | 22 | 19 | 13 |
| | 2500 [†] | - | 134 | 10 | 19 | 15 | 7 |
| | 5000 [†] | - | 119 | 9 | 14 | 16 | 11 |
| 溶媒対照 (DMSO) | - | + | 129 | 6 | 26 | 25 | 16 |
| 検体 | 313 [†] | + | 152 | 7 | 24 | 31 | 13 |
| | 625 [†] | + | 159 | 10 | 30 | 30 | 13 |
| | 1250 [†] | + | 171 | 10 | 32 | 27 | 15 |
| | 2500 [†] | + | 161 | 9 | 31 | 29 | 15 |
| | 5000 [†] | + | 176 | 10 | 24 | 26 | 11 |
| 陽性 対照 | AF-2 | 0.01 | - | 611 | | 209 | |
| | | 0.1 | - | | | | 421 |
| | NaN ₃ | 0.5 | - | | 515 | | |
| | 9-AA | 80 | - | | | | 800 |
| | 2-AA | 0.5 | + | | | | 229 |
| | | 1 | + | 622 | | | |
| | | 2 | + | | 141 | | |
| | | 10 | + | | | 254 | |

[†] : 検体の析出が観察された。

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

3. 製剤

1) フロメトキン水和剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 毒-33)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：フロメトキン水和剤

フロメトキン原体 %

界面活性剤、水等 %

供試動物：系 SPF ラット、雌、投与時 8 週齢、

投与時体重 161~180 g、各段階 3 匹

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を注射用水に懸濁して、一晩絶食させたラットに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。投与は 300 mg/kg で 2 回、2000 mg/kg で 1 回実施した。

観察・検査項目：一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間及び 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日あるいは死亡発見時に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年；OECD Test Guideline No. 423、2001 年）により評価した。

結果：

| 投 与 方 法 | 経 口 |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 300 (2 ステップ)、2000 (1 ステップ) |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 300 < LD ₅₀ ≤ 2000 (GHS カテゴリー 4) |
| 死亡開始時間 及び終了時間 | 300 mg/kg：投与後 1 日に 1 例死亡 2000 mg/kg：投与後 3 時間までに全例死亡 |
| 症状発現時間 及び消失時間 | 300 mg/kg：投与後 6 時間から発現し、 消失することなく 1 例死亡 2000 mg/kg：投与後 3 時間までに発現し、 消失することなく全例死亡 |
| 毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | - |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | - |

一般状態の観察において、300 mg/kg 用量では 1 例で鎮静、呼吸緩徐、体温下降、腹部被毛の湿潤、肛門周囲部被毛の湿潤及び軟便が観察された。2000

mg/kg 用量では 1 例で横臥位、昏睡、自発運動低下、呼吸困難、体温下降、肛門周囲部被毛の湿潤及び軟便が観察された。

300 mg/kg 用量の生存例では、体重が投与後 7 及び 14 日ともに全例で投与前の値と比べ増加した。

剖検所見においては、300 mg/kg 用量の死亡例では腸管の赤色化が認められた。生存例では異常は認められなかった。2000 mg/kg 用量の死亡例では、胃の液状内容物貯留、胃のガス貯留及び肛門周囲部被毛の湿潤が認められた。

2) フロメトキン水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 毒-34)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: フロメトキン水和剤

フロメトキン原体 %

界面活性剤、水等 %

供試動物: 系 SPF ラット、雌雄、投与時 雄 10 週齢、雌 11 週齢

投与時体重 雄 412~420 g、雌 265~293 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 2000 mg/kg の検体を 4×5 cm のパッドの上に均一に載せ、前日剪毛したラットの背部中央に当ててサージカルテープで固定し閉塞貼付にて 24 時間投与した。投与終了後、残存する検体を微温湯で除去した。

観察・検査項目: 一般状態及び死亡の有無を投与当日は投与 1、3 及び 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは少なくとも 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日に測定した。試験終了時に全生存動物を剖検し肉眼的病理検査を行なった。

結果:

| 投 与 方 法 | 経 皮 |
|--------------------------------|--------------------|
| 投与量 (mg/kg) | 2000 |
| LD ₅₀ (mg/kg) | 雄 >2000 雌 >2000 |
| 死亡開始時間 及び終了時間 | 死亡例なし |
| 症状発現時間 及び消失時間 | 一般状態の変化なし |
| 毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |
| 死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg) | 2000 |

雌雄ともに死亡は認められず、毒性を示す臨床症状も認められなかった。体重は 7、14 日とも投与前の値と比べて増加していた。剖検においては、雌雄ともに異常は認められなかった。

3) フロメトキン水和剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 毒-35)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：フロメトキン水和剤

フロメトキン原体 %

界面活性剤、水等 %

供試動物： 種 SPF ウサギ、雌、投与時 19 週齢、投与時体重 3237~3380 g、1 群 3 匹

観察期間：3 日間

投与方法：剪毛したウサギの背側部（約 2.54 cm 四方）にガーゼパッチを置き、1 動物あたり 0.5 mL の検体を直接投与し、リント布及びサージカルテープを用いて半閉塞貼付した。投与 4 時間後に貼付物を除去し、検体を脱イオン水を用いて洗い流した。

観察項目：検体除去後 1、24、48 及び 72 時間に適用部分の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察し、農林水産省毒性試験指針（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-4、2000 年）に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

| 動物番号 | 項目 | 最高 評点* | 暴露後の時間 | | | |
|------|-------|-----------|--------|-------|-------|-------|
| | | | 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 | 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 |
| 合計 | 紅斑・痂皮 | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 12 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 平均 | 紅斑・痂皮 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 浮腫 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* 判定基準の最高評点

検体除去後 1、24、48 及び 72 時間の観察時点で、いずれの動物にも皮膚刺激反応及び臨床症状は認められず、すべての動物で体重が増加した。

以上の結果から、4 時間の皮膚暴露において、検体はウサギの皮膚に対して無刺激性であると判断された。

4) フロメトキン水和剤のウサギにおける眼刺激性試験 (資料 毒-36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: フロメトキン水和剤
 フロメトキン原体
 界面活性剤、水等

供試動物: 種 SPF 雌ウサギ、投与時 11 週齢、
 投与時体重 2481~2602 g、非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 検体 0.1 mL を片眼に適用した。洗眼群は 30 秒後に微温湯で 30 秒間洗眼した。
 非洗眼群は洗眼しなかった。検体を適用しなかった側の眼を無処理対照とした。

観察項目: 適用後、1、24、48 及び 72 時間後に、角膜、虹彩及び結膜を観察し、その刺激性変化を農林水産省試験指針 (農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-5、2000 年) に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

| 項目 | | | 最高 評点* | 適用後の時間 | | | | |
|------|----------------|----------|-----------|--------|-------|-------|-------|-----|
| | | | | 1 時間 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 | |
| 非洗眼群 | 動物 番号 1 | 角膜 混濁 | 程度 | 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 |
| | 動物 番号 2 | 角膜 混濁 | 程度 | 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 |
| | 動物 番号 3 | 角膜 混濁 | 程度 | 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 |
| | 合計 | | | 39 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| | 平均 | | | 13 | 2.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | 洗眼群 (3 匹平均) | 角膜 混濁 | 程度 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 虹彩 | | 2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | | |
| 結膜 | | 発赤 | 3 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | |
| | | 浮腫 | 4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | |
| 合計 | | | 39 | 3 | 0 | 0 | | |
| 平均 | | | 13 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | | |

*: 判定基準の最高評点

非洗眼群及び洗眼群ともに角膜及び虹彩に対する刺激性変化は認められなかった。非洗眼群では適用後 1 時間の全例で結膜の刺激性変化（発赤：評点 1、浮腫：評点 1）が、また 2 例で正常よりわずかに多い分泌物が認められた。これら刺激性変化は適用後 24 時間までにすべて消失した。洗眼群では適用後 1 時間の全例で結膜の発赤（評点 1）が、また 1 例で正常よりわずかに多い分泌物が認められた。これら刺激性変化は適用後 24 時間までにすべて消失した。適用 30 秒後の洗眼による刺激性の明確な軽減効果が認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼の結膜に対して投与後 24 時間までに消失するごく軽度の刺激性を有し、GHS の眼刺激性分類基準では区分外と評価された。

5) フロメトキン水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料 毒-37)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: フロメトキン水和剤
フロメトキン原体 %
界面活性剤、水等 %

供試動物: 系 SPF 雌モルモット
第1回感作投与時7週齢、投与時体重410~491g、
検体処理群20匹、非感作検体処理群10匹、
陽性対照群10匹、非感作陽性対照群5匹

観察期間: 惹起経皮貼付除去後48時間(第1回感作投与後30日間)

試験操作: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作: 7日おきに3回感作投与を行った。投与前日に左肩部被毛を剪毛・剃毛した。検体処理群及び陽性対照群では、閉塞性サージカルテープ上にのせたリント布パッチに検体100%液あるいは陽性物質(ヘキシルシンナムアルデヒド、HCA)100%液0.2 mLを滴下し、投与部位にあて、閉塞貼付した。各非感作群ではそれぞれ検体、HCAを用いず同様の処置を行った。貼付物は約6時間後に除去した。

惹起: 第1回感作投与後28日に実施した。剪毛・剃毛した側腹部に、検体処理及び非感作検体処理群には検体100%液0.2 mLを、陽性対照及び非感作陽性対照群にはHCA50%流動パラフィン溶液0.2 mLを閉塞貼付した。貼付物は約6時間後に除去した。

観察項目: 皮膚反応については、第1回感作投与後1、8及び15日に、さらに惹起貼付物除去後24及び48時間に、適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。紅斑、浮腫等の判定は農林水産省毒性試験ガイドラインの基準に従った。臨床症状は、毎日1回観察し、体重は、第1回感作投与直前及び惹起貼付物除去後48時間に観察した。

結果：

惹起による皮膚反応；各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

| 群 | 感作 | | 供試動物数 | 感作反応動物数 | | | | | | | | | 陽性率 ²⁾ (%) | | | | |
|----------|----------|---------|-------|---------|---|---|---|-----------------|--------|---|---|---|-----------------------|-------|-------|----|----|
| | | | | 24 時間後 | | | | | 48 時間後 | | | | | 24 時間 | 48 時間 | | |
| | | | | 皮膚反応評点 | | | | 計 ¹⁾ | 皮膚反応評点 | | | | 計 ¹⁾ | | | | |
| | | | | 0 | 1 | 2 | 3 | | 0 | 1 | 2 | 3 | | | | | |
| 検体処理 | 100% 検体 | 100% 検体 | 20 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 非感作 検体処理 | パッチのみ | 100% 検体 | 10 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 陽性対照 | 100% HCA | 50% HCA | 10 | 2 | 0 | 8 | 0 | 8 | 1.6 | 2 | 1 | 7 | 0 | 8 | 1.5 | 80 | 80 |
| 非感作 陽性対照 | パッチのみ | 50% HCA | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

HCA: α -ヘキシルシンナムアルデヒド

¹⁾計:非感作動物の最高評点よりも高い評点を示した陽性動物数の合計 (平均評点)

²⁾感作陽性率: 陽性動物数/供試動物数 \times 100

24 時間及び 48 時間後の検体処理群において、惹起投与で 20 例全例が評点 0 (肉眼的に変化なし) であり、非感作検体処理群 10 匹がすべて評点 0 であることから、検体処理群の皮膚感作率は 0%であった。

一方、陽性対照群において、24 時間後は 10 例中 2 例が評点 0、8 例が評点 2 (中等度びまん性の紅斑) であり、48 時間後は 10 例中 2 例が評点 0、1 例が評点 1 (散在性または斑状の紅斑)、7 例が評点 2 であり、非感作陽性対照群 5 例がすべて評点 0 であることから、感作陽性率は 80%であった。

感作による皮膚反応；検体処理及び非感作検体処理群並びに HCA 非感作陽性対照群では何れの観察時点においても全例が評点 0 であった。HCA 陽性対照投与群では何れの観察時点においても全例が評点 2 であった。

臨床症状及び体重；臨床症状には観察期間中全動物で異常は認められず、また惹起後の全動物の体重は、投与前に比べ増加した。

以上の結果から、検体は Buehler 法による評価において皮膚感作性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

6) 急性吸入毒性試験

試験成績提出除外理由

「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知）の運用について（13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知）の「4. 試験成績の除外について」の（2）の③のイの規定に基づき、下記の理由により試験を省略した。

・本剤は成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であるため、試験成績提出の除外に該当。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

| 資料 No. | 試験の種類 | 供試動物等 | 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 |
|-----------|-----------------------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------|
| 代-1 (GLP) | 動物代謝に関する試験 標識体 フロメトキン | ラット雌雄 | 試験項目：排泄試験 供試標識化合物：フロメトキン 試験方法： ラット雌雄に 2mg/kg または 20mg/kg の用量で単回経口投与。 投与 168 時間後に屠殺し、カーカス、消化管（内容物を含む）及びケージ洗液の放射能を測定。 尿：投与 6,12,24,48,72,96,120,144 及び 168 時間後に、糞：投与 24,48, 72,96,120,144 及び 168 時間後に採取、糞尿中の代謝物を HPLC、TLC 及び LC-MS(/MS) で同定、定量。 胆汁排泄実験では、投与 48 時間後に屠殺し、カーカス、消化管（内容物を含む）及びケージ洗液の放射能を測定。 胆汁、尿：投与 6,24 及び 48 時間後、糞：投与 24 及び 48 時間後に採取、胆汁中の代謝物を HPLC、LC-MS(/MS) で同定、定量。 | 1フロメトキンは投与後 168 時間までにほとんどが排泄された。性・用量に関わらず、尿（約 6~8%AD）及び糞（89~91%AD）へ排泄、主排泄経路は糞中排泄であった。 糞尿中の主代謝物は、 が検出された。 1.5%AD 以下で検出され、尿中には検出されなかった。 胆汁排泄実験では、投与したフロメトキンは投与後 48 時間までに速やかに排泄され、胆汁中へ 2mg/kg 群では約 36~39%AD、20mg/kg 群では約 20%AD であった。吸収率（胆汁、尿及びカーカス）は 2mg/kg 投与群で約 50~54%AD、20mg/kg 投与群で約 30%AD と算出され、吸収されたフロメトキンの大部分は胆汁を経由して排泄されることが示された。 胆汁中の主代謝物は、 なお、別途実施したフロメトキン及びフロメトキンをを用いた予備試験において、呼気中から顕著な量（1%AD レベル）の放射能が検出されなかったため、呼気の実験は実施しなかった。 | | IX-9 |
| 代-2 (GLP) | 動物代謝に関する試験 標識体 フロメトキン | ラット雌雄 | 試験項目：薬物動態 供試標識化合物：フロメトキン 試験方法： ラット雌雄に 2mg/kg または 20mg/kg の用量で単回経口投与。 投与 0.5、1、2、4、8、12、24、48、72、96 時間後(2mg/kg)、1、3、6、12、18、24、36、48、72、96 時間後 (20mg/kg)の全血及び血漿中の放射能を測定 試験項目：組織分布 供試標識化合物：フロメトキン 試験方法： ラット雌雄に 2mg/kg または 20mg/kg の用量で単回経口投与。 投与 8、48、168 時間後 | 血漿中の薬物動態パラメータは以下の通りであった。 <2mg/kg> Tmax：8 時間（雄）、4 時間（雌） Cmax：0.659 µg eq/g（雄）：0.866 µg eq/g（雌） AUC _{last} ：18.55 µg eq/g.h（雄）：24.79 µg eq/g.h（雌） 半減期：14.8 h（雄）：15.9 h（雌） 分布容積：2264.4 g/kg（雄）：1816.1 g/kg（雌） <20mg/kg> Tmax：24 時間（雄）、36 時間（雌） Cmax：10.97 µg eq/g（雄）：9.83 µg eq/g（雌） AUC _{last} ：412.1 µg eq/g.h（雄）：523.7 µg eq/g.h（雌） 半減期：15.1 h（雄）：16.2 h（雌） 分布容積：1031.8 g/kg（雄）：856.9 g/kg（雌） 2mg/kg では、全組織中の最大濃度は投与後 8 時間（T _{max} ）に見られた。T _{max} 時点で濃度が高かった組織は以下の通りであった。 GI 管及び内容物：7.389 µg-eq./g（雄）：8.139 µg-eq./g（雌） 肝臓：3.557 µg-eq./g（雄）：3.097 µg-eq./g（雌） 腎臓：2.513 µg-eq./g（雄）：1.787 µg-eq./g（雌） 心臓：1.477 µg-eq./g（雄）：2.057 µg-eq./g（雌） 副腎：1.926 µg-eq./g（雄）：1.784 µg-eq./g（雌） 血漿：1.245 µg-eq./g（雄）：1.251 µg-eq./g（雌） 168 時間後までに肝臓：0.117 µg-eq./g（雄）：0.124 µg-eq./g（雌）を除く全組織で 0.08 µg-eq./g 未満 | | IX-18 |

| 資料 No. | 試験の 種類 | 供試動 植物等 | 試験項目・ 試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 記載 頁 |
|--------------|--------------------|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------|
| | | | (2mg/kg)、24、72、168 時間後 (20mg/kg) に屠殺し、組織中の放射能を測定。 | <p>となった。</p> <p>組織及びカーカス中放射能の投与量に対する回収率 (%AD) は、投与 8 時間後で 67.68% (雄)、68.07% (雌)、48 時間後で 10.14% (雄)、12.48% (雌)、168 時間後で 1.03% (雄)、0.98% (雌) であった。投与 8 時間後及び 48 時間後で、%AD が高かった組織は、GI 管及び内容物、肝臓並びにカーカスであった。</p> <p>20mg/kg では、全組織中の最大濃度は投与後 24 時間 (T_{max}) に見られた。T_{max} 時点で濃度が高かった組織は以下の通りであった。</p> <p>GI 管及び内容物：92.792 µg-eq./g (雄)：106.220 µg-eq./g (雌)</p> <p>肝臓：31.870 µg-eq./g (雄)：20.293 µg-eq./g (雌)</p> <p>腎臓：11.754 µg-eq./g (雄)：7.693 µg-eq./g (雌)</p> <p>副腎：19.369 µg-eq./g (雄)：14.350 µg-eq./g (雌)</p> <p>血漿：13.868 µg-eq./g (雄)：9.858 µg-eq./g (雌)</p> <p>168 時間後までに肝臓：1.614 µg-eq./g (雄)：1.570 µg-eq./g (雌) を除く全組織で 0.60 µg-eq./g 未満となった。</p> <p>組織及びカーカス中放射能の投与量に対する回収率 (%AD) は、投与 24 時間後で 64.35% (雄)、69.01% (雌)、72 時間後で 8.93% (雄)、10.88% (雌)、168 時間後で 1.73% (雄)、1.59% (雌) であった。投与 24 時間後及び 72 時間後で、%AD が高かった組織は、GI 管及び内容物、肝臓並びにカーカスであった。</p> | | |
| 代-3 (GLP) | 植物代謝 に関する 試験 | トマト | <p>試験項目：分布、移行、代謝 供試標識化合物： フ ロメトキン</p> <p>試験方法： 1.5mg/ポット (300 g a.i./ha 相当量) で 2 回散布処理した。最終散布 7 日後に果実を採取し、14 日後に果実及び葉を採取して、放射能を測定。また、HPLC、LC-MS(/MS)及び TLC で代謝物を同定、定量。</p> | <p>トマト果実の TRR レベルは最終散布 7 日後、14 日後でそれぞれ 0.49ppm 及び 0.46ppm であった。散布 14 日後試料では、0.12ppm (26%) が抽出残渣に存在した。</p> <p>最終散布 7 日後のトマト果実においては、フロメトキンは</p> <p>トマト葉の TRR レベルは 7.247ppm であった。葉においてはフロメトキンは 3.484ppm (48.6%) であり、検出された。</p> <p>※カッコ内の数値は TRR%を示す。</p> | | IX-31 |

| 資料 No. | 試験の種類 | 供試動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 記載頁 |
|-----------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------|
| 代-4 (GLP) | 植物代謝に関する試験 標識体 フロメトキン フロメトキン | キャベツ | 試験項目：分布、移行、代謝 供試標識化合物：フロメトキン及びフロメトキン 試験方法：フロメトキンまたはフロメトキンを 7.5 mg/区画 (300 g a.i./ha 相当) で 2 回散布処理。最終散布 7 日後に 処理試料のみ、14 日後に 体及び 処理試料両方のキャベツ試料を採取し、放射能を測定。また、HPLC 及び TLC で代謝物を同定、定量。 | キャベツ全体における TRR レベルは最終散布 7 日後で 1.92ppm であり、14 日後で 1.06ppm 及び 1.56ppm であった。その内外葉部では 0.094ppm~0.13ppm (6.0~10.4%) が、結球部では 0.033ppm~0.122ppm (1.7~7.8%) が抽出残渣に存在した。 最終散布 7 日後においては、フロメトキンが最も多く、表面洗浄液、外葉部、結球部にそれぞれ 0.877ppm (45.7%)、0.172ppm (9.0%) 及び 0.215ppm (11.2%) 検出された。最終散布 14 日後においてもフロメトキンが最も多く、 体では表面洗浄液、外葉部、結球部にそれぞれ 0.204ppm (19.2%)、0.123ppm (11.5%) 及び 0.162ppm (15.3%) 検出され、 体ではそれぞれ 0.243ppm (15.5%)、0.077ppm (4.9%) 及び 0.498ppm (31.8%) 検出された。 ※カッコ内の数値は TRR%を示す。 | | IX-40 |
| 代-5 (GLP) | 植物代謝に関する試験 標識体 フロメトキン | オレンジ | 試験項目：分布、移行、代謝 供試標識化合物：フロメトキン 試験方法：700 g a.i./ha 相当量 で 2 回散布処理。最終処理 14 日後に果実、42 日後に果実及び葉部を採取して、放射能を測定。また、HPLC 及び TLC で代謝物を同定、定量。 | オレンジにおける TRR は最終散布 14 日後及び 42 日後の果実でそれぞれ 0.576 及び 0.655ppm であり、その大部分が表面洗浄液 (14 日後：0.361ppm (62.7%)、42 日後：0.315ppm (48.1%)) 及び果皮 (14 日後：0.200ppm (34.7%)、42 日後：0.320ppm (48.8%)) に認められ、果肉及び果汁における TRR は極めて低レベルであった。表面洗浄液における 最終散布 14 日後の果皮においては、フロメトキンは 0.072ppm (12.5%)、 葉部の TRR レベルは 16.2ppm であり、その主要成分は ※カッコ内の数値は TRR%を示す。 | | IX-47 |
| 代-6 | 土壌中動態に関する試験 (好氣的湛水土壌) | 本剤は水田において使用されないため、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知) の別表 2 「土壌中動態に関する試験成績」の (1) の規定に基づき、試験を省略した。 | | | | IX-54 |
| 代-7 (GLP) | 土壌中動態に関する試験 (好氣的土壌) 標識体 フロメトキン | 畑地土壌 | 供試標識化合物：フロメトキン 試験方法：0.35 mg/kg (慣行施用量 350g a.i./ha 相当) で処理。25℃でインキュベートし、0,1,3,7,28,56,84,126, 168 日後の放射能を測定。また、HPLC, TLC で代謝物を定量、同定。また、揮発性成分の捕集も行った。 | DT ₅₀ は 2.3 日、DT ₉₀ は 36.2 日であり、主代謝物として を生成して速やかに分解した。CO ₂ への無機化率は 4.0%であった。フロメトキンは 168 日後には 3.6%まで減少した。 | | IX-55 |

| 資料 No. | 試験の種類 | 供試動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 記載頁 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|---------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------|-----|-----|-----|----|------------------|------|------|------|------------------|------|-------|------|-----|------------------|----------|------------------|------|------------------|-----|------|------------------|-----|------------------|-----|-----|----------|------------------|------|------|------|-----|------------------|-----|-----|-----|-----|--------|--|--|--|--|--|--|--|------|--|------------|--|-----|-----|-----|-----|----------|------------------|------|-----|-----|----|------------------|-----|-----|----|----|----------|------------------|------|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|----|----|--|-------|
| 代-8 | 土壌中動態に関する試験 (嫌氣的土壌) | | | 好氣的土壌中動態試験の結果から、当該農薬の成分物質等の土壌中での推定半減期が 100 日を超えない。また、水溶解度が 10 mg/L 以下であるため、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知) の運用について (13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知) の「4. 試験成績の除外について」の (2) の⑥のエ. 及びオ. の規定に基づき、試験を省略した。 フロメトキンをを用いた好氣的土壌中動態試験における主要代謝物 M1 の水溶解度が 10mg/L 以下であるため、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知) の運用について (13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知) の「3. 試験を実施するに当たって必要とされる条件について」の (1) の④のウ. の (イ) の規定に基づき、試験を省略した。 | | IX-64 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 代-9 (GLP) | 水中動態に関する試験 (加水分解動態試験) 標識体 フロメトキン | 緩衝液 (pH 4、7、9) | 供試標識化合物： フロメトキン 試験方法： 5.0 ng/mL となるように各緩衝液に添加し、10、25 及び 50℃ で最大 30 日間インキュベートした。経時的に試料を採取し、HPLC 及び HPLC/RAM/MS で分解物の定量、同定。 | 各 pH 及び温度における DT ₅₀ 及び DT ₉₀ は以下の通りであった。 <table border="1"> <thead> <tr> <th>温度 (°C)</th> <th></th> <th>pH4</th> <th>pH7</th> <th>pH9</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">10</td> <td>DT₅₀</td> <td>10.2</td> <td>31.8</td> <td>29.0</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>33.8</td> <td>105.7</td> <td>96.3</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">25</td> <td>DT₅₀</td> <td>2.5</td> <td>10.8</td> <td>2.1</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>8.2</td> <td>36.0</td> <td>6.9</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">50</td> <td>DT₅₀</td> <td>0.3</td> <td>2.1</td> <td>0.09</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>1.1</td> <td>6.9</td> <td>0.30</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">単位：日</p> | 温度 (°C) | | pH4 | pH7 | pH9 | 10 | DT ₅₀ | 10.2 | 31.8 | 29.0 | DT ₉₀ | 33.8 | 105.7 | 96.3 | 25 | DT ₅₀ | 2.5 | 10.8 | 2.1 | DT ₉₀ | 8.2 | 36.0 | 6.9 | 50 | DT ₅₀ | 0.3 | 2.1 | 0.09 | DT ₉₀ | 1.1 | 6.9 | 0.30 | | IX-65 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 温度 (°C) | | pH4 | pH7 | pH9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | DT ₅₀ | 10.2 | 31.8 | 29.0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 33.8 | 105.7 | 96.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 25 | DT ₅₀ | 2.5 | 10.8 | 2.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 8.2 | 36.0 | 6.9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | DT ₅₀ | 0.3 | 2.1 | 0.09 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 1.1 | 6.9 | 0.30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 代-10 (GLP) | 水中動態に関する試験 (水中光分解動態試験) 標識体 フロメトキン フロメトキン | 緩衝液 (pH 7) 河川水 | 供試標識化合物： フロメトキン及び フロメトキン 試験方法： フロメトキン又はフロメトキンを 5.0 ng/mL となるように添加し、25℃ で平均 47.46 W/m ² (300-400nm) の光強度で 10 日間又は 15 日間照射した。経時的に試料を採取し、HPLC、HPLC/RAM/MS 及び TLC で定量、同定。 また、揮発性成分の捕集も行った。 | 緩衝液と自然水における DT ₅₀ 及び DT ₉₀ は以下の通りであった。 <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="6">フロメトキン</th> </tr> <tr> <th rowspan="2"></th> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">試験条件</th> <th colspan="2">太陽光 (東京、春)</th> </tr> <tr> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">加水分解補正あり</td> <td>DT₅₀</td> <td>0.45</td> <td>0.80</td> <td>2.7</td> <td>4.9</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>1.5</td> <td>2.6</td> <td>9.1</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">加水分解補正なし</td> <td>DT₅₀</td> <td>0.43</td> <td>0.67</td> <td>2.2</td> <td>2.3</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>1.4</td> <td>2.2</td> <td>7.4</td> <td>7.6</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="6">フロメトキン</th> </tr> <tr> <th rowspan="2"></th> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">試験条件</th> <th colspan="2">太陽光 (東京、春)</th> </tr> <tr> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">加水分解補正あり</td> <td>DT₅₀</td> <td>0.99</td> <td>2.0</td> <td>6.1</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>3.3</td> <td>6.8</td> <td>20</td> <td>41</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">加水分解補正なし</td> <td>DT₅₀</td> <td>0.88</td> <td>1.4</td> <td>3.4</td> <td>3.1</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>2.9</td> <td>4.6</td> <td>11</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">単位：日</p> | フロメトキン | | | | | | | | 試験条件 | | 太陽光 (東京、春) | | 緩衝液 | 河川水 | 緩衝液 | 河川水 | 加水分解補正あり | DT ₅₀ | 0.45 | 0.80 | 2.7 | 4.9 | DT ₉₀ | 1.5 | 2.6 | 9.1 | 16 | 加水分解補正なし | DT ₅₀ | 0.43 | 0.67 | 2.2 | 2.3 | DT ₉₀ | 1.4 | 2.2 | 7.4 | 7.6 | フロメトキン | | | | | | | | 試験条件 | | 太陽光 (東京、春) | | 緩衝液 | 河川水 | 緩衝液 | 河川水 | 加水分解補正あり | DT ₅₀ | 0.99 | 2.0 | 6.1 | 12 | DT ₉₀ | 3.3 | 6.8 | 20 | 41 | 加水分解補正なし | DT ₅₀ | 0.88 | 1.4 | 3.4 | 3.1 | DT ₉₀ | 2.9 | 4.6 | 11 | 10 | | IX-79 |
| フロメトキン | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 試験条件 | | 太陽光 (東京、春) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 緩衝液 | 河川水 | 緩衝液 | 河川水 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 加水分解補正あり | DT ₅₀ | 0.45 | 0.80 | 2.7 | 4.9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 1.5 | 2.6 | 9.1 | 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 加水分解補正なし | DT ₅₀ | 0.43 | 0.67 | 2.2 | 2.3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 1.4 | 2.2 | 7.4 | 7.6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| フロメトキン | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 試験条件 | | 太陽光 (東京、春) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | 緩衝液 | 河川水 | 緩衝液 | 河川水 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 加水分解補正あり | DT ₅₀ | 0.99 | 2.0 | 6.1 | 12 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 3.3 | 6.8 | 20 | 41 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 加水分解補正なし | DT ₅₀ | 0.88 | 1.4 | 3.4 | 3.1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | DT ₉₀ | 2.9 | 4.6 | 11 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| 資料 No. | 試験の種類 | 供試動植物等 | 試験項目・試験方法等 | 試験結果の概要 | 試験機関 (報告年) | 記載頁 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|---------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|--------|----|----|----|----|---------|---|---|---|---|---|----------------|-----|-----|-----|-----|----|-----------------|--------|-------|------|------|--------|--|-------|
| 代-11 (GLP) | 土壌吸着性試験 | 砂壤土 (青森) 壤土 (福島) シルト質壤土 (栃木) シルト質埴土 (埼玉) 砂土 (徳島) | <p>供試標識化合物： フロメトキン</p> <p>フロメトキンが速やかに分解されること、及びその水溶解度が低い (0.012 µg/mL) ことから、フロイントリッヒの吸着等温線の作成は困難であったため、以下の条件で吸着係数Kocを求めた。</p> <p>土/水比：0.02~0.30 濃度：0.006 µg/mL 温度：25°C 吸着平衡化時間：3時間</p> | <p>(吸着パラメータ)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>福島</th> <th>青森</th> <th>埼玉</th> <th>栃木</th> <th>徳島</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>OECDタイプ</td> <td>5</td> <td>3</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td>K_d</td> <td>460</td> <td>313</td> <td>204</td> <td>415</td> <td>94</td> </tr> <tr> <td>K_{oc}</td> <td>104569</td> <td>11013</td> <td>5840</td> <td>4751</td> <td>134677</td> </tr> </tbody> </table> <p>※上記吸着パラメータは放射能として算出した数値である。</p> | | 福島 | 青森 | 埼玉 | 栃木 | 徳島 | OECDタイプ | 5 | 3 | 2 | 4 | 7 | K _d | 460 | 313 | 204 | 415 | 94 | K _{oc} | 104569 | 11013 | 5840 | 4751 | 134677 | | IX-95 |
| | 福島 | 青森 | 埼玉 | 栃木 | 徳島 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| OECDタイプ | 5 | 3 | 2 | 4 | 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| K _d | 460 | 313 | 204 | 415 | 94 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| K _{oc} | 104569 | 11013 | 5840 | 4751 | 134677 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 代-12 (GLP) | 土壌吸着性試験 | 砂土 (徳島) 壤土 (福島) 砂壤土 (青森) シルト質埴土 (埼玉) シルト質壤土 (栃木) | <p>供試標識化合物： [¹⁴C] M1</p> <p>吸着キネティクスは、全土壌について、脱着キネティクス及び等温線の作成は福島及び徳島土壌について、以下の試験条件で実施。</p> <p>吸着/脱着キネティクス； 土/水比：0.025 濃度：0.005µg/mL 温度：25°C 吸着平衡化時間：24、48時間 脱着平衡化時間：4、24時間</p> <p>フロイントリッヒの吸着/脱着等温線作成； 土/水比：0.025 濃度： 徳島土壌 0.00005~0.005µg/mL 福島土壌 0.00025~0.005µg/mL の5段階濃度 温度：25°C 吸着平衡化時間：4、24時間 脱着平衡化時間：4、24時間</p> | | | IX-101 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 代-13 | 生物濃縮性試験 | コイ | <p>供試化合物：フロメトキン</p> <p>暴露条件：流水式 試験期間：28日間 試験区： <第1濃度区> 0.00020mg/L 被検物質溶液 (0.1 ml/L アセトン/ポリオキシエチレン (10) 硬化ヒマシ油=8/2溶液) <第2濃度区> 0.0020mg/L 被検物質溶液 (0.1 ml/L アセトン/ポリオキシエチレン (10) 硬化ヒマシ油=8/2溶液) <対照区></p> | <p>低濃度区：濃縮倍率 最大 5.4 (試験濃度 0.00020 mg/L)</p> <p>高濃度区：濃縮倍率 最大 1.6 (試験濃度 0.0020 mg/L)</p> <p>低濃度区、高濃度区のうちいずれについても定常状態が認められず、BCF_{ss} は求められなかった。期間中の最大の濃縮倍率で示した。</p> | | IX-107 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

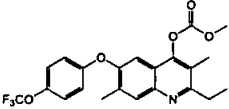
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

| 資料 No. | 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 |
|------------|---------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------|--------|
| | | | 0.1 ml/L アセトン/ポリオキシエチレン (10) 硬化ヒマン油=8/2 溶液 | | | |
| 代-14 (GLP) | 生物濃縮性試験 | コイ | 供試化合物：M1 暴露条件：流水式 試験期間：18日間 試験区： <第1濃度区> 0.0018mg/L 被検物質溶液 (0.1 ml/L <i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド) <第2濃度区> 0.0018mg/L 被検物質溶液 (0.1 ml/L <i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド) <対照区> 0.1 ml/L <i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド | | | IX-113 |

試験機関名称略称：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

| 記号 | 由来 | 名称 (略称) | 化学名 | 構造式 |
|--------|------|---------|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| フロメトキン | 親化合物 | ANM-138 | 2-ethyl-3,7-dimethyl-6-[4-(trifluoromethoxy)phenoxy]-4-quinolyl methyl carbonate |  |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seika ファルマ株式会社及び日本化薬株式会社にある。

< フロメトキンの合成法 > * : ^{14}C 標識位置

< フロメトキンの合成法 > * : ^{14}C 標識位置

1. 動物代謝に関する試験

(1) ^{14}C -標識フロメトキンを用いたラットにおける代謝試験
(吸収・排泄・バランス・代謝物同定)

(資料 代-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物： ^{14}C -標識フロメトキン

| | |
|-----------|--------|
| 名称 | フロメトキン |
| 構造式及び標識位置 | |
| 化学名 | |
| 比放射能 | |
| 放射化学的純度 | |

標識位置の設定理由：

非標識化合物：フロメトキン、純度； %

供試動物： 系ラット雌雄、
 投与時週齢：排泄実験；約9週齢、胆汁排泄実験；12～13週齢
 投与時体重（各用量群の平均）：
 排泄実験；雄 196.7～199.2 g、雌 132.4～136.5 g、
 胆汁排泄実験；雄 223.1～235.2 g、雌 150.8 g

試験方法：
 投与；非標識フロメトキンで同位体希釈したフロメトキンを0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して投与液を調製した。低用量は2 mg/kg、高用量は20 mg/kgとし、約10 mL/kgの容量で単回強制経口投与した。各投与時における投与液の放射化学的純度はHPLC分析により測定した。
 用量設定根拠；

試験構成；本試験の概要を表1に示す。

表1. 試験の概要

| 検討項目 | 標識体 | 用量 (mg/kg) | 回数・経路 | 動物数 | 試料採取時点 (時間) | 最終時点 (時間) |
|----------|--------|------------|----------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 排泄 | フロメトキン | 低用量 2 | 単回 経口 | 雌雄 各4匹 | 尿：6、12、24、48、72、96、 120、144、168 糞：24、48、72、96、120、 144、168 ケージ洗液：168 臓器・組織：168 | 168 |
| | | 高用量 20 | | | | |
| 胆汁 排泄 | フロメトキン | 低用量 2 | 単回 経口 | 雌雄 各4匹 | 胆汁：6、24、48 尿：6、24、48 糞：24、48 ケージ洗液：48 臓器・組織：48 | 48 |
| | | 高用量 20 | | | | |

1) 排泄試験

フロメトキンを投与後、金網床型ケージ（ステンレス鋼製）で個別飼育の雌雄ラットから、各採取時点で尿及び糞試料を採取した。最終調査時点では、尿及び糞の採取後代謝ケージ内を水及びメタノールで洗浄し、ケージ洗液を採取した。次いで、ラットは、イソフルランによる深麻酔下で後大静脈から採血し、屠殺後、消化管（内容物を含む）とカーカスを採取した。

なお、予備試験において、投与後24時間までの呼気中から顕著な量（1%ADレベル）の放射能が検出されないことが確認されていたため、呼気の捕集は実施しなかった。

2) 胆汁排泄試験

胆管カニューレを外科的に挿入した雌雄ラットにフロメトキンを投与後、金網床型ケージ（ステンレス鋼製）で個別飼育の雌雄ラットから、各採取時点で胆汁試料をカニューレから採取した。尿、糞、ケージ洗液、血液、消化管（内容物を含む）及びカーカスは、各採取時点で排泄実験と同様の方法で採取した。

なお、胆管カニューレ挿入ラットは日本チャールズリバー株式会社から購入した。

3) 胆汁、尿及び糞中の放射性代謝物の分析

4)

放射能の測定：

尿；ろ紙でろ過し、ろ過尿は液体シンチレーション計数（LSC）により、ろ紙上残渣は酸化燃焼/LSCにより放射能を測定した。ろ過尿とろ紙上残渣の放射能の合計を尿中放射能とした。

糞；糞重量の約6倍の冷水で均質化した糞ホモジネートを可溶化後、LSCにより放射能を測定した。

ケージ洗液；ろ紙でろ過し、残渣をメタノール/水（1/1、v/v）で洗浄後、ろ液と洗液と

を合わせた。ろ液は LSC により、ろ紙上残渣は酸化燃焼/LSC により放射能を測定した。ろ液とろ紙上残渣の放射能の合計をケージ洗液中放射能とした。

胆汁；LSC により放射能を測定した。

臓器・組織；消化管は塩酸/2-プロパノール (1/2、v/v) 中で、約 50°C、18 時間加熱して溶解・均質化後、LSC により放射能を測定した。カーカスは2-プロパノール/水 (1/1、v/v) 中で、磨砕・均質化後、酸化燃焼/LSC により放射能を測定した。

代謝物の分析：

下記試料の一定割合を混合して調製したプール試料を用いて代謝物の分析をした。

| | |
|-----------------|-------------------------------------------------------|
| 胆汁 (胆汁排泄実験)： | 投与 0-48 時間後 |
| ろ過尿 (排泄実験)： | 投与 0-96 時間後 (2 mg/kg 群)、 投与 0-120 時間後 (20 mg/kg 群) |
| 糞ホモジネート (排泄実験)： | 投与 0-120 時間後 |

① 放射性代謝物の定量

胆汁及びろ過尿試料は、直接 UV 検出器及び放射能検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC) により分析して、試料中の放射性成分を定量した。

糞試料は、一部 2 点を下記の溶媒及び回数で抽出し、それぞれ遠心分離後上澄液を分取し、各画分を LSC 測定して放射能を求めた。

試料中の放射性成分は、2 点の
分析して定量した。

を合わせ、濃縮後 HPLC

② 放射性代謝物の同定/特徴付け

放射性代謝物の同定/特徴付けは、参照標準品との HPLC コクロマトグラフィーにより行った。さらに、胆汁、尿及び糞プールの適切な試料を HPLC で分取・精製した単離品について、参照標準品との HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーならびに質量分析 (LC-MS/MS) で同定/特徴付けを行った。また、抱合体代謝物は、β-グルクロニダーゼ加水分解後、HPLC コクロマトグラフィー及び LC-MS/MS により同定/特徴付けを行った。

結果：

- 1) フロメトキンの投与液の放射化学的純度
2及び20 mg/kgの用量群の投与液の放射化学的純度は何れも100.0%であった。
- 2) フロメトキンのラットへの実際投与量
フロメトキンのラットへの投与量は、低用量群で2.00～2.01 mg/kg、高用量群で20.07～20.10 mg/kgであった。
- 3) 吸収・排泄
 - ① 排泄試験

投与後168時間までの各採取時点における累積排泄量を表2に、投与後168時間までの放射能の累積回収率を表3に示す。

表2-1 尿・糞排泄試験 (2 mg/kg 群) (投与量比、%AD)

| 時間 (hr) | 累積排泄量 (%AD) | | | | | | | |
|------------|-------------|-------|-----------|-------|------|-------|-----------|-------|
| | 2 mg/kg | | | | | | | |
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 尿 | 糞 | ケージ 洗液 | 計 | 尿 | 糞 | ケージ 洗液 | 計 |
| 6 | 0.44 | - | - | 0.44 | 0.34 | - | - | 0.34 |
| 12 | 1.38 | - | - | 1.38 | 1.12 | - | - | 1.12 |
| 24 | 4.17 | 36.15 | - | 40.32 | 3.46 | 15.31 | - | 18.77 |
| 48 | 6.49 | 74.67 | - | 81.16 | 5.94 | 66.82 | - | 72.76 |
| 72 | 7.17 | 84.04 | - | 91.21 | 6.94 | 79.62 | - | 86.55 |
| 96 | 7.41 | 87.21 | - | 94.62 | 7.36 | 84.96 | - | 92.32 |
| 120 | 7.51 | 88.33 | - | 95.84 | 7.53 | 87.41 | - | 94.94 |
| 144 | 7.56 | 88.81 | - | 96.37 | 7.60 | 88.26 | - | 95.86 |
| 168 | 7.58 | 89.07 | 0.31 | 96.96 | 7.63 | 88.65 | 0.24 | 95.52 |

表中数値は4匹の平均値、-：試料なし。

表2-2 尿・糞排泄試験 (20 mg/kg 群) (%AD)

| 時間 (hr) | 累積排泄量 (%AD) | | | | | | | |
|------------|-------------|-------|-----------|-------|------|-------|-----------|-------|
| | 20 mg/kg | | | | | | | |
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 尿 | 糞 | ケージ 洗液 | 計 | 尿 | 糞 | ケージ 洗液 | 計 |
| 6 | 0.06 | - | - | 0.06 | 0.07 | - | - | 0.07 |
| 12 | 0.19 | - | - | 0.19 | 0.25 | - | - | 0.25 |
| 24 | 0.77 | 17.87 | - | 18.64 | 0.82 | 2.98 | - | 3.80 |
| 48 | 3.52 | 64.70 | - | 68.22 | 3.76 | 38.55 | - | 42.31 |
| 72 | 4.91 | 83.03 | - | 87.94 | 5.80 | 68.61 | - | 74.42 |
| 96 | 5.35 | 87.81 | - | 93.16 | 6.58 | 81.62 | - | 88.20 |
| 120 | 5.55 | 89.92 | - | 95.47 | 7.01 | 86.52 | - | 93.53 |
| 144 | 5.62 | 90.70 | - | 96.32 | 7.16 | 88.03 | - | 95.19 |
| 168 | 5.66 | 91.03 | 0.35 | 97.04 | 7.23 | 88.69 | 0.28 | 96.19 |

表中数値は4匹の平均値、-：試料なし。

表 3 尿・糞排泄試験 (概要)

| 投与 168 時間後 | 投与量比 (%AD) | | | |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | 2 mg/kg | | 20 mg/kg | |
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 尿 | 7.58 | 7.63 | 5.66 | 7.23 |
| 糞 | 89.07 | 88.65 | 91.03 | 88.69 |
| ケージ洗液 | 0.31 | 0.24 | 0.35 | 0.28 |
| 総排泄量 | 96.96 | 96.52 | 97.04 | 96.19 |
| 消化管 (内容物を含む) | 0.19 | 0.32 | 0.21 | 0.30 |
| カーカス | 1.43 | 1.23 | 1.77 | 1.69 |
| 総回収率 | 98.57 | 98.07 | 99.02 | 98.19 |

投与放射能は、いずれの試験群においても主に糞経路で速やかに排泄された。性・用量に関わらず、尿及び糞への放射能の排泄率は、それぞれ約 6~8%AD 及び約 89~91%AD であり、主排泄経路は糞中排泄であった。また、投与 168 時間後時点において体内に残留していた放射能は、消化管 (内容物を含む) 及び残部体組織 (カーカス) において、それぞれ約 0.2~0.3%AD 及び約 1.2~1.8AD% であり、体内残留量は僅かであった。投与後 168 時間までの放射能の総回収率は、両投与群で約 98~99%AD であった。

② 胆汁排泄試験

投与後 48 時間までの各採取時点における放射能の累積排泄量を表 4 に、投与後 48 時間までの放射能の累積回収率を表 5 に示す。

表 4-1 胆汁排泄試験 (2 mg/kg 群) (投与比、%AD)

| 時間 (hr) | 累積排泄量 (%AD) | | | | | | | | | |
|---------|-------------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| | 2 mg/kg | | | | | | | | | |
| | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
| | 胆汁 | 尿 | 糞 | ケージ洗液 | 計 | 胆汁 | 尿 | 糞 | ケージ洗液 | 計 |
| 6 | 5.11 | 0.12 | - | - | 5.23 | 3.94 | 0.12 | - | - | 4.06 |
| 24 | 31.19 | 2.54 | 21.27 | - | 54.99 | 28.48 | 2.50 | 16.10 | - | 47.08 |
| 48 | 39.29 | 5.67 | 40.28 | 0.25 | 85.48 | 36.37 | 4.92 | 37.75 | 0.18 | 79.22 |

表中数値は 4 匹の平均値、- : 試料なし。

表 4-2 胆汁排泄試験 (20 mg/kg 群) (投与比、%AD)

| 時間 (hr) | 累積排泄量 (%AD) | | | | | | | | | |
|---------|-------------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|
| | 20 mg/kg | | | | | | | | | |
| | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
| | 胆汁 | 尿 | 糞 | ケージ洗液 | 計 | 胆汁 | 尿 | 糞 | ケージ洗液 | 計 |
| 6 | 1.25 | 0.04 | - | - | 1.29 | 0.80 | 0.09 | - | - | 0.89 |
| 24 | 10.91 | 0.43 | 14.95 | - | 26.29 | 9.08 | 0.53 | 24.55 | - | 34.16 |
| 48 | 19.66 | 1.98 | 54.25 | 0.21 | 76.10 | 20.45 | 2.21 | 58.59 | 0.17 | 81.42 |

表中数値は 4 匹の平均値、- : 試料なし。

表 5 胆汁排泄試験 (概要)

| 投与後 48 時間 | 投与量比 (%AD) | | | |
|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | 2 mg/kg | | 20 mg/kg | |
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 胆汁 | 39.29 | 36.37 | 19.66 | 20.45 |
| 尿 | 5.67 | 4.92 | 1.98 | 2.21 |
| 糞 | 40.28 | 37.75 | 54.25 | 58.59 |
| ケージ洗液 | 0.25 | 0.18 | 0.21 | 0.17 |
| 総排泄量 | 85.48 | 79.22 | 76.10 | 81.42 |
| 消化管 (内容物を含む) | 5.10 | 8.07 | 17.58 | 11.08 |
| カーカス | 8.71 | 8.68 | 7.87 | 9.14 |
| 総計 | 99.30 | 95.97 | 101.55 | 101.64 |
| 吸収量* | 53.66 | 49.96 | 29.50 | 31.80 |

* : 胆汁+尿+カーカス

投与放射能は、いずれの試験群においても胆汁及び糞の両経路を介して速やかに排泄された。胆汁中への排泄率 (投与後 48 時間まで) は、2 mg/kg 群では約 36~39%AD、20 mg/kg 群では約 20%AD であった。投与後 48 時間までの投与放射能の総回収率は 2 mg/kg 群で約 96~99%、20 mg/kg 群で約 102% であった。

フロメトキンの吸収率は胆汁、尿及びカーカス中放射能の合計として求めた。投与後 48 時間までの推定吸収率は 2 mg/kg 群で約 50~54%AD、20 mg/kg 群では約 30%AD と算出され、吸収されたフロメトキンの大部分は胆汁を経由して排泄されることが示された。従って、いずれの試験群でも胆汁排泄を経由した糞排泄がフロメトキンの主要な排泄経路であることが明らかとなった。フロメトキンの推定吸収率は 2 mg/kg 群において高い値を示し、用量依存的に減少する傾向であった。

4) 放射性代謝物の同定・定量

① 尿及び糞中の放射性代謝物の同定・定量

尿及び糞中の放射性代謝物の同定・定量を表 6 に示す。

尿及び糞中の代謝物プロファイルは比較的類似していた。尿中で検出された代謝物は、
であった。一方、糞中では、尿
中で検出された放射能に加えてフロメトキン、
が検出された。これら
代謝物のうち、
は構造決定ができなかった (第 5) 項)。

いずれかの試験群において投与量の 5% を超えて尿及び糞中に検出された主要代謝物は

表 6-1 尿及び糞中の放射性代謝物の同定・定量 (2 mg/kg 群)

| HPLC Reg.# | 代謝物 | 投与量比 (%AD) | | | | | |
|------------------------|--------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | | 2 mg/kg | | | | | |
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 尿 | 糞 | 計 | 尿 | 糞 | 計 |
| 25 | | | | | | | |
| 26 | | | | | | | |
| 29 | | | | | | | |
| 32 | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | |
| 36 | | | | | | | |
| 37 | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | |
| 42 | | | | | | | |
| 44 | | | | | | | |
| 50 | フロメトキン | < 0.18 | 0.56 | 0.56 | < 0.21 | 0.50 | 0.50 |
| 小計 (同定) ** | | 6.26 | 64.45 | 70.71 | 5.90 | 63.49 | 69.38 |
| その他 (未同定) (最大未同定画分) | | 0.92 (0.34) | 13.11 (2.44) | 14.04 (2.77) | 1.25 (0.25) | 14.43 (2.83) | 15.68 (3.07) |
| 糞抽出液 () | | / | 3.32 | 3.32 | / | 3.22 | 3.22 |
| 残渣* | | 0.23 | 7.45 | 7.68 | 0.22 | 6.27 | 6.49 |
| 未プール画分 | | 0.17 | 0.74 | 0.90 | 0.27 | 1.24 | 1.51 |
| 合計 (0-168 hr) | | 7.58 | 89.07 | 96.65 | 7.63 | 88.65 | 96.28 |

* : 尿 ; ろ過残渣、糞 : 抽出残渣、** : 糞試料は
HPLC Reg# : HPLC における溶出画分 No. (分析メソッド 2)。

表 6-2 尿及び糞中の放射性代謝物の同定・定量 (20 mg/kg 群)

| HPLC Reg.# | 代謝物 | 投与量比 (%AD) | | | | | |
|------------------------|--------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| | | 20 mg/kg | | | | | |
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 尿 | 糞 | 計 | 尿 | 糞 | 計 |
| 25 | | | | | | | |
| 26 | | | | | | | |
| 29 | | | | | | | |
| 32 | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | |
| 36 | | | | | | | |
| 37 | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | |
| 42 | | | | | | | |
| 44 | | | | | | | |
| 50 | フロメトキン | < 0.19 | 1.51 | 1.51 | < 0.30 | 1.24 | 1.24 |
| 小計 (同定) ** | | 4.58 | 70.68 | 75.26 | 5.91 | 62.53 | 68.45 |
| その他 (未同定) (最大未同定画分) | | 0.51 (0.28) | 12.16 (1.97) | 12.67 (2.25) | 0.84 (0.35) | 15.25 (2.30) | 16.09 (2.30) |
| 糞抽出液 | | / | 2.99 | 2.99 | / | 3.85 | 3.85 |
| 残渣* | | 0.46 | 4.08 | 4.54 | 0.25 | 4.89 | 5.15 |
| 未プール画分 | | 0.11 | 1.11 | 1.22 | 0.22 | 2.17 | 2.39 |
| 合計 (0-168 hr) | | 5.66 | 91.03 | 96.69 | 7.23 | 88.69 | 95.92 |

* : 尿 ; ろ過残渣、糞 : 抽出残渣、** : 糞試料は
HPLC Reg# : HPLC における溶出画分 No. (分析メソッド 2)。

② 胆汁中の放射性代謝物の同定・定量
胆汁中の放射性代謝物の同定・定量を表 7 に示す。

表 7 胆汁中の放射性代謝物の同定・

| HPLC Reg.# | 代謝物 | 投与量比 (%) | | | |
|------------------------|-----|-----------------|-----------------|----------------|----------------|
| | | 2 mg/kg | | 20 mg/kg | |
| | | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| (24-1) | | | | | |
| (24-2) | | | | | |
| 26 | | | | | |
| 28 | | | | | |
| 40 | | | | | |
| 小計 (同定) | | 21.63 | 18.41 | 11.46 | 11.13 |
| その他 (未同定) (最大未同定成分) | | 17.65 (2.11) | 17.96 (2.65) | 8.20 (1.47) | 9.32 (1.69) |
| 合計 (0-48 hr) | | 39.29 | 36.37 | 19.66 | 20.45 |

* : 〃、抱合部位が異なる
(〃として)と推定)。

HPLC Reg.# : HPLC における溶出画分 No.。

HPLC Reg.#24-1 及び 24-2 は、別の HPLC システム (分析メソッド 4) で 2 成分に分離。

胆汁中で、性・用量に関わらず投与量の 5% を超えて検出された主要代謝物は M5-GA (HPLC Reg.# 28 : 5.03~9.51%AD) のみであった。 には 〃 が異なる異性体も確認された (HPLC Reg.# 24-1 : 1.69~3.44%AD)。この 〃 は : 〃 または : 〃 である 〃として)と推定される。また、未変化のプロメトキンは検出されなかった (<0.11~<0.21%)。

5) 放射性成分の同定/特徴付け

参照標準品との HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーにより同定された放射性成分は以下である。

6) 代謝

フロメトキンのラットにおける代謝反応は、加水分解的に生成した を初発代謝物として経由し、さらに

及びこれらの組み合わせにより、進行すると考えられた。これにより、 が により生成された。

これらの代謝物はいずれも主に糞を経由して、速やかに体外へ排泄されたと考えられた。尿中の主要代謝物は であったが、その生成量は僅かであった。また、胆汁中には が主要な代謝物として検出された。

フロメトキンのラットにおける推定代謝経路を図1に示す。

図1 フロメトキンのラットにおける推定代謝経路

(2) ^{14}C -標識フロメトキンを用いたラットにおける代謝試験
—薬物動態及び組織分布

(資料代-2)

試験機関： (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物： ^{14}C -標識フロメトキン

| | |
|------------|--------|
| 名称 | フロメトキン |
| 構造式および標識位置 | |
| 化学名 | |
| 比放射能 | |
| 放射化学的純度 | |

標識位置の設定理由：

供試動物： 系ラット雌雄、投与時約9～10週齢
投与時体重（各用量群の平均） 雄 194～207 g、雌 140～153 g

試験方法：
投与； フロメトキンを0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して投与液を調製した。低用量は2 mg/kg、高用量は20 mg/kgとし、10 mL/kgの容量で単回強制経口投与した。各投与時における施用液の放射化学的純度はHPLC分析により、測定した。

用量設定根拠；

試験構成；本試験の概要を表1に示す。

表 1. 試験の概要

| 標識体 | 用量 (mg/kg) | 回数 ・ 経路 | 動物数 | 検討項目 | 試料採取時点 (時間) | 実験終了 時点 (時間) |
|------------|---------------|---------------|---------------|------|-------------------------------------|--------------------|
| フロメト キン | 低用量 2 | 単回 経口 | 雌雄 各 5 匹* | 薬物動態 | 血液 : 0.5、1、2、4、8、 12、24、48、72、96 | 96 |
| | 高用量 20 | | 雌雄 各 5 匹* | | 血液 : 1、3、6、12、18、 24、36、48、72、96 | 96 |
| フロメト キン | 低用量 2 | 単回 経口 | 雌雄 各 9 匹** | 組織分布 | 組織 : 8、48、168 | 168 |
| | 高用量 20 | | 雌雄 各 9 匹** | | 組織 : 24、72、168 | 168 |

* 5匹からの血液採取が困難な場合は少なくとも4匹から採取。

** 各採取時点で雌雄各3匹から採取した。

全試験において、尿および糞を24時間毎に終了時間まで、ケージ洗液を終了時間で採取したが、放射能の測定は実施しなかった。

1) 薬物動態

頸静脈カニューレを外科的に挿入した雌雄ラット4匹を用いて2および20 mg/kgの用量で予備試験を実施し、得られた血中濃度推移データに基づき本試験での血液の採取時点を決した。本試験では、頸静脈カニューレを外科的に挿入した雌雄ラットにフロメトキンを投与後、各採取時点で血液試料をカニューレから抗凝固剤(K₂EDTA)を入れた管に採取した。採取後ラットには生理食塩液を注入した。採取血液試料は、一部を分取し、ヘマトクリット値を測定した。全血中の放射能を燃焼/LSC分析により測定後、血漿と赤血球を分離し、血漿中放射能をLSC測定した。

なお、頸静脈カニューレ挿入ラットは Charles River Breeding Laboratories, Inc. から購入した。

2) 組織分布

各試料採取時間で3匹のラットから、血液をCO₂/O₂麻酔下で腹部大動脈から採取後、屠殺して以下の組織を採取した。

全血、血球、血漿、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、骨髓(大腿骨)、副腎、下垂体、甲状腺/上皮小体、骨(大腿骨)、骨格筋、心筋、脳、脊髄、前立腺(雄)、精巣上体(雄)、精巣(雄)、子宮(雌)、卵巣(雌)、眼、脂肪組織、皮膚(皮毛を含む)、腎臓、肝臓、膀胱、GI管(内容物を含む)、肺、膵臓、カーカス

血液中の放射能は燃焼/LSC分析により測定した。

その他の組織およびカーカス中の放射能は、試料を可溶化後、その一部2点または全量をLSC測定した。

結果：

- 1) フロメトキンの施用液の放射化学的純度
2 および 20 mg/kg の用量群の施用液の放射化学的純度は何れも 95%以上であった。

- 2) フロメトキンのラットへの実際投与量

フロメトキンのラットへの投与量は、薬物動態試験では、雄の低用量群で 2.22～2.28 mg/kg (平均 2.25 mg/kg)、雌の低用量群で 2.18～2.28 mg/kg (平均 2.24 mg/kg)、雄の高用量群で 19.90～21.32 mg/kg (平均 20.43 mg/kg)、雌の高用量群で 19.90～20.38 mg/kg (平均 20.06 mg/kg) であった。

組織分布試験では、雄の低用量群で 2.02～2.13 mg/kg (平均 2.08 mg/kg)、雌の低用量群で 2.00～2.08 mg/kg (平均 2.05 mg/kg)、雄の高用量群で 19.79～20.75 mg/kg (平均 20.25 mg/kg)、雌の高用量群で 19.49～20.78 mg/kg (平均 20.32 mg/kg) であった。

- 3) 血中濃度推移

① ヘマトクリット値

結果を次表に示す。

| 性\投与量 | ヘマトクリット値 | |
|-------|----------|----------|
| | 2 mg/kg | 20 mg/kg |
| 雄 | 0.42 | 0.43 |
| 雌 | 0.39 | 0.41 |

表中数値は 4～5 匹の平均値。

② 血中濃度推移

全血、血漿および赤血球中の放射能濃度測定結果を表 2 および図 1 に、これらのデータから算出した薬物動態パラメーターを表 3 に示す。

表 2 血中放射能濃度

| 投与量 (mg/kg) | 時間 (hr) | 放射能濃度(μg eq./g) | | | | | |
|----------------|------------|-----------------|-------|--------|-------|-------|-------|
| | | 全血 | | 血漿 | | 赤血球 | |
| | | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 2 | 0.5 | 0.072 | 0.085 | 0.100 | 0.140 | 0.040 | 0.015 |
| | 1 | 0.115 | 0.153 | 0.223 | 0.287 | 0.004 | 0.007 |
| | 2 | 0.240 | 0.360 | 0.448 | 0.637 | 0.008 | 0.035 |
| | 4 | 0.351 | 0.410 | 0.632 | 0.866 | 0.009 | ND |
| | 8 | 0.360 | 0.432 | 0.659 | 0.817 | 0.014 | ND |
| | 12 | 0.354 | 0.393 | 0.641 | 0.767 | 0.058 | ND |
| | 24 | 0.191 | 0.281 | 0.283 | 0.397 | 0.043 | 0.070 |
| | 48 | 0.056 | 0.090 | 0.086 | 0.125 | 0.013 | 0.028 |
| | 72 | 0.025 | 0.038 | 0.029 | 0.049 | 0.021 | 0.019 |
| 96 | 0.011 | 0.016 | 0.012 | 0.019 | 0.010 | 0.010 | |
| 20 | 1 | 0.692 | 1.145 | 1.328 | 1.672 | 0.086 | 0.523 |
| | 3 | 1.474 | 1.894 | 3.014 | 3.627 | 0.009 | 0.116 |
| | 6 | 2.488 | 2.430 | 4.540 | 5.158 | 0.337 | ND |
| | 12 | 3.306 | 3.152 | 7.152 | 6.672 | ND | 0.211 |
| | 18 | 3.963 | 3.849 | 7.811 | 7.209 | ND | 0.085 |
| | 24 | 6.002 | 5.292 | 10.970 | 8.343 | 0.074 | 0.969 |
| | 36 | 4.377 | 5.647 | 7.719 | 9.832 | 0.316 | ND |
| | 48 | 2.401 | 5.930 | 3.584 | 7.749 | 0.723 | 2.601 |
| | 72 | 0.943 | 1.909 | 1.288 | 2.546 | 0.372 | 0.815 |
| 96 | 0.373 | 0.841 | 0.462 | 1.000 | 0.263 | 0.593 | |

ND：検出せず

表中数値は4～5匹の平均値。

赤血球中濃度は、全血、血漿およびヘマトクリット値を用いて算出した。

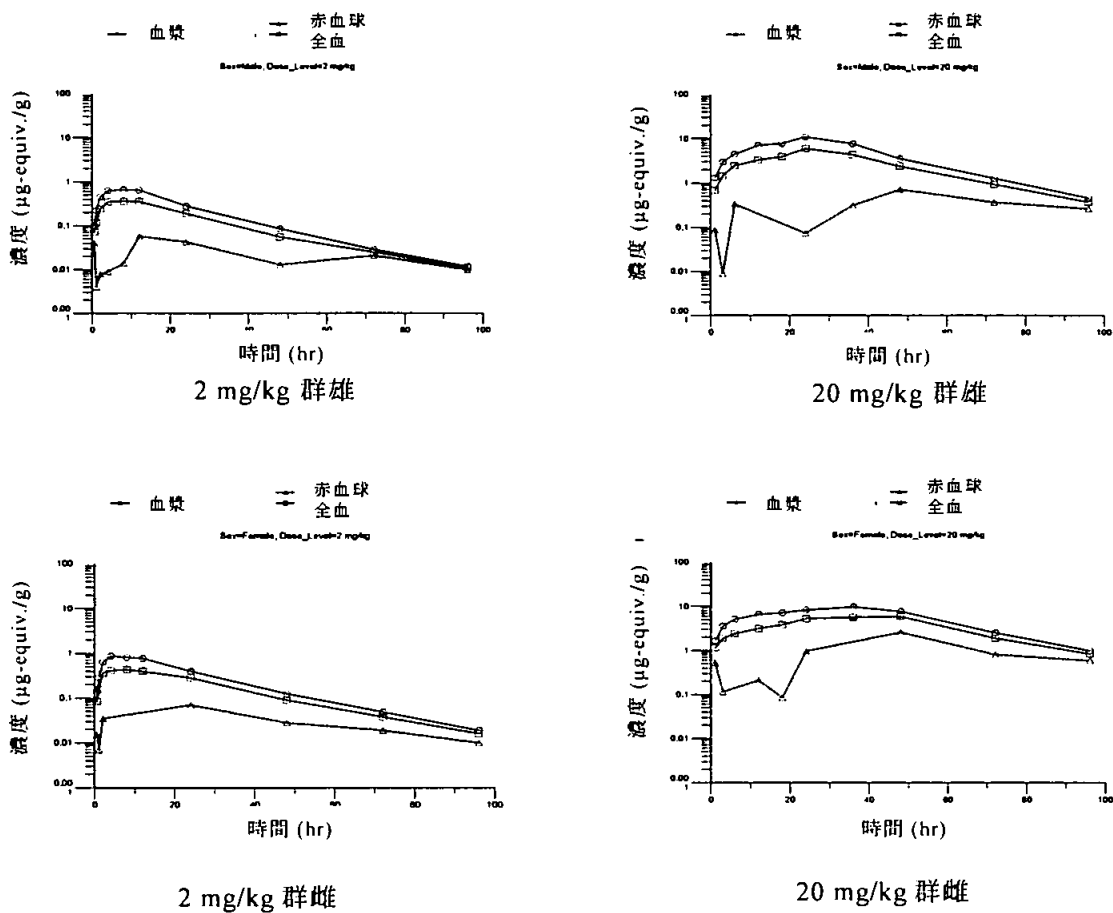


図1 全血、血漿および赤血球中放射能濃度の経時的変化

表 3 血液中の薬物動態パラメータ

| 投与量 (mg/kg) | 項目 | 全血 | | 血漿 | | 赤血球 | |
|----------------|--------------------------------------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| | | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 2 | T _{max} (hr) | 8 | 8 | 8 | 4 | 12 | 24 |
| | 半減期 (hr) | 16.8 | 17.6 | 14.8 | 15.9 | 42.7 | 32.3 |
| | C _{max} (µg eq./g) | 0.360 | 0.432 | 0.659 | 0.866 | 0.058 | 0.070 |
| | AUC _{last} (hr*µg eq./g) | 11.321 | 15.121 | 18.547 | 24.793 | 2.292 | 3.273 |
| | AUC _{0-∞} (hr*µg eq./g) | 11.588 | 15.527 | 18.803 | 25.228 | 2.908 | 3.739 |
| | 分布容積 (g/kg) | 4184.126 | 3267.979 | 2264.418 | 1816.059 | 42364.447 | 24933.758 |
| 20 | T _{max} (hr) | 24 | 48 | 24 | 36 | 48 | 48 |
| | 半減期 (hr) | 17.1 | 17.0 | 15.1 | 16.2 | 32.9 | 22.5 |
| | C _{max} (µg eq./g) | 6.002 | 5.930 | 10.970 | 9.832 | 0.723 | 2.601 |
| | AUC _{last} (hr*µg eq./g) | 236.401 | 337.434 | 412.061 | 523.730 | 33.690 | 107.150 |
| | AUC _{0-∞} (hr*µg eq./g) | 245.606 | 358.101 | 422.122 | 547.172 | 46.173 | 126.403 |
| | 分布容積 (g/kg) | 2009.481 | 1372.529 | 1031.818 | 856.860 | 20559.744 | 5136.968 |

T_{max} : 最高濃度到達時間、C_{max} : 最高濃度、半減期 : WinNonlin により算出、
AUC_{last} : 最終測定時間までの[濃度-時間]曲線下面積。

雌雄ラットの全血および血漿における C_{max} は、10 倍の用量増加に対して、正比例より大きく増加した（全血；13.7～16.7 倍、血漿；11.4～16.6 倍）。赤血球では雄では用量にほぼ比例して（12.5 倍）増加したが、雌では大きかった（37.2 倍）。

全血、血漿および赤血球における AUC_{last} は、10 倍の用量増加に対して、正比例より大きく増加した（全血；20.9～22.3 倍、血漿；21.1～22.2 倍、赤血球；14.7～32.7 倍）。

各試料および投与量内では、C_{max} は、20mg/kg 投与群の赤血球（雌>雄）を除き、雌雄間で同様であった。

4) 組織分布

組織中放射能の濃度を表 4～5 に、投与量に対する回収率を表 6～7 に、組織対血漿比を表 8～9 に示す。

2 mg/kg 投与群；

全組織中の最大濃度は投与後 8 時間 (T_{max}) にみられた。 T_{max} 時点で濃度が高かった組織は、GI 管および内容物、肝臓、腎臓、心臓、副腎および血漿であった。168 時間後までに肝臓 (雄；0.117 $\mu\text{g}\cdot\text{eq./g}$ 、雌；0.124 $\mu\text{g}\cdot\text{eq./g}$) を除く全組織で 0.08 $\mu\text{g}\cdot\text{eq./g}$ 未満となった。

組織およびカーカス中放射能の投与量に対する回収率 (%AD) は、投与 8 時間後で雄 67.68%、雌 68.07%、48 時間後で雄 10.14%、雌 12.48%、168 時間後で雄 1.03%、雌 0.98%であった。投与 8 時間後および 48 時間後で、%AD が高かった組織は、GI 管および内容物、肝臓並びにカーカスであった。

20 mg/kg 投与群；

全組織中の最大濃度は投与後 24 時間 (T_{max}) にみられた。 T_{max} 時点で濃度が高かった組織は GI 管および内容物、肝臓、腎臓、副腎および血漿であった。168 時間後までに肝臓 (雄；1.614 $\mu\text{g}\cdot\text{eq./g}$ 、雌；1.570 $\mu\text{g}\cdot\text{eq./g}$) を除く全組織で 0.60 $\mu\text{g}\cdot\text{eq./g}$ 未満となった。

組織およびカーカス中放射能の投与量に対する回収率 (%AD) は、投与 24 時間後で雄 64.35%、雌 69.01%、72 時間後で雄 8.93%、雌 10.88%、168 時間後で雄 1.73%、雌 1.59%であった。投与 24 時間後および 72 時間後で、%AD が高かった組織は、GI 管および内容物、肝臓並びにカーカスであった。

表 4 2 mg/kg 投与群における組織中放射能の濃度

| 投与量 2 mg/kg | 濃度 (µg-eq./g) | | | | | |
|----------------|---------------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| 採取時間 | 8 hr | 48 hr | 168 hr | 8 hr | 48 hr | 168 hr |
| 血液 | 0.804 | 0.109 | 0.007 | 0.805 | 0.130 | 0.008 |
| 血漿 | 1.245 | 0.151 | 0.002 | 1.251 | 0.179 | 0.001 |
| 赤血球 | 0.476 | 0.084 | 0.007 | 0.451 | 0.102 | 0.008 |
| 脾臓 | 0.699 | 0.114 | 0.002 | 0.651 | 0.132 | 0.006 |
| 胸腺 | 0.608 | 0.096 | 0.008 | 0.678 | 0.119 | 0.008 |
| 腸間膜リンパ節 | 0.803 | 0.107 | 0.008 | 0.785 | 0.149 | 0.012 |
| 骨髄 | 0.403 | 0.042 | 0.077 | 0.376 | 0.088 | <0.001 |
| 副腎 | 1.926 | 0.287 | 0.028 | 1.784 | 0.365 | 0.046 |
| 下垂体 | 0.565 | 0.165 | 0.008 | 0.592 | 0.149 | <0.001 |
| 甲状腺/上皮小体 | 0.811 | 0.116 | 0.008 | 0.846 | 0.143 | 0.008 |
| 骨 | 0.613 | 0.072 | <0.002 | 0.573 | 0.083 | <0.002 |
| 骨格筋 | 0.779 | 0.100 | 0.004 | 0.617 | 0.113 | 0.006 |
| 心臓 | 1.477 | 0.188 | 0.001 | 2.057 | 0.237 | <0.002 |
| 脳 | 0.124 | 0.036 | 0.003 | 0.137 | 0.042 | 0.006 |
| 脊髄 | 0.168 | 0.053 | 0.003 | 0.115 | 0.059 | 0.009 |
| 前立腺 | 0.649 | 0.112 | 0.009 | NA | NA | NA |
| 精巣上体 | 0.767 | 0.140 | 0.011 | NA | NA | NA |
| 精巣 | 0.348 | 0.075 | 0.002 | NA | NA | NA |
| 子宮 | NA | NA | NA | 0.616 | 0.096 | 0.009 |
| 卵巣 | NA | NA | NA | 0.709 | 0.146 | 0.018 |
| 眼 | 0.230 | 0.042 | 0.004 | 0.223 | 0.054 | 0.004 |
| 脂肪 | 0.778 | 0.084 | 0.015 | 0.677 | 0.101 | 0.018 |
| 皮膚 | 0.591 | 0.116 | 0.013 | 0.547 | 0.106 | 0.011 |
| 腎臓 | 2.513 | 0.293 | 0.029 | 1.787 | 0.271 | 0.025 |
| 肝臓 | 3.557 | 0.637 | 0.117 | 3.097 | 0.619 | 0.124 |
| 膀胱 | 0.483 | 0.100 | 0.007 | 0.577 | 0.201 | 0.008 |
| GI 管および内容物 | 7.389 | 0.932 | 0.035 | 8.139 | 1.116 | 0.026 |
| 肺 | 1.109 | 0.157 | 0.011 | 0.921 | 0.179 | 0.009 |
| 膵臓 | 0.957 | 0.076 | <0.002 | 0.812 | 0.079 | 0.002 |
| カーカス | 0.460 | 0.073 | 0.011 | 0.424 | 0.076 | 0.010 |

表中数値は3匹の平均値、NA：該当なし。

組織中の T_{max} : 8 時間

表 5 20 mg/kg 投与群における組織中放射能の濃度

| 投与量 20 mg/kg | 濃度 (µg-eq./g) | | | | | |
|-----------------|---------------|-------|--------|---------|-------|--------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| 採取時間 | 24 hr | 72 hr | 168 hr | 24 hr | 72 hr | 168 hr |
| 血液 | 7.693 | 0.906 | 0.112 | 5.711 | 1.220 | 0.106 |
| 血漿 | 13.868 | 1.152 | 0.066 | 9.858 | 1.369 | 0.067 |
| 赤血球 | 6.527 | 0.722 | 0.088 | 4.135 | 0.957 | 0.084 |
| 脾臓 | 2.405 | 1.040 | 0.094 | 1.557 | 1.339 | 0.030 |
| 胸腺 | 5.633 | 0.805 | 0.090 | 4.535 | 1.072 | 0.118 |
| 腸間膜リンパ節 | 8.105 | 1.226 | 0.309 | 5.723 | 1.581 | 0.351 |
| 骨髄 | 3.435 | 3.068 | 0.101 | 4.692 | 1.773 | <0.001 |
| 副腎 | 19.369 | 2.449 | 0.506 | 14.350 | 3.443 | 0.595 |
| 下垂体 | 9.339 | 1.681 | 0.046 | 5.868 | 1.402 | 0.025 |
| 甲状腺/上皮小体 | 6.201 | 0.933 | 0.140 | 4.942 | 1.240 | 0.136 |
| 骨 | 3.574 | 0.323 | <0.013 | 2.054 | 0.624 | 0.035 |
| 骨格筋 | 5.475 | 0.792 | 0.118 | 3.616 | 0.925 | 0.143 |
| 心臓 | 8.726 | 1.481 | 0.086 | 6.408 | 2.118 | 0.080 |
| 脳 | 1.256 | 0.333 | 0.078 | 0.865 | 0.397 | 0.073 |
| 脊髄 | 1.528 | 0.581 | 0.134 | 1.250 | 0.593 | 0.150 |
| 前立腺 | 6.577 | 0.970 | 0.131 | NA | NA | NA |
| 精巣上体 | 6.046 | 1.172 | 0.175 | NA | NA | NA |
| 精巣 | 2.689 | 0.702 | 0.120 | NA | NA | NA |
| 子宮 | NA | NA | NA | 4.758 | 1.089 | 0.312 |
| 卵巣 | NA | NA | NA | 6.203 | 1.314 | 0.293 |
| 眼 | 1.850 | 0.348 | 0.079 | 1.459 | 0.485 | 0.074 |
| 脂肪 | 8.402 | 0.849 | 0.389 | 2.647 | 1.440 | 0.457 |
| 皮膚 | 5.776 | 1.031 | 0.334 | 3.364 | 1.032 | 0.258 |
| 腎臓 | 11.754 | 1.855 | 0.456 | 7.693 | 1.643 | 0.288 |
| 肝臓 | 31.870 | 5.271 | 1.614 | 20.293 | 5.374 | 1.570 |
| 膀胱 | 3.932 | 0.764 | 0.118 | 4.864 | 1.521 | 0.210 |
| GI 管および内容物 | 92.792 | 5.856 | 0.290 | 106.220 | 8.082 | 0.327 |
| 肺 | 7.430 | 1.271 | 0.151 | 4.301 | 1.485 | 0.151 |
| 膵臓 | 4.655 | 1.267 | 0.233 | 3.295 | 1.505 | 0.218 |
| カーカス | 4.145 | 0.845 | 0.233 | 2.823 | 1.075 | 0.195 |

表中数値は3匹の平均値、NA：該当なし。

組織中の T_{max} : 24 時間

表 6 2 mg/kg 投与群における組織中放射能の投与量に対する回収率 (%AD)

| 投与量 2 mg/kg | %AD | | | | | |
|----------------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| 採取時間 | 8 hr | 48 hr | 168 hr | 8 hr | 48 hr | 168 hr |
| 血液 | 2.46 | 0.34 | 0.02 | 2.49 | 0.41 | 0.03 |
| 血漿 | 2.40 | 0.30 | <0.005 | 2.44 | 0.36 | <0.005 |
| 脾臓 | 0.09 | 0.01 | <0.005 | 0.08 | 0.02 | <0.005 |
| 胸腺 | 0.04 | 0.01 | <0.005 | 0.06 | 0.01 | <0.005 |
| 腸間膜リンパ節 | 0.16 | 0.03 | <0.005 | 0.12 | 0.03 | <0.005 |
| 骨髄 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.0001 |
| 副腎 | 0.03 | <0.005 | <0.005 | 0.05 | 0.01 | <0.005 |
| 下垂体 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.0001 |
| 甲状腺/上皮小体 | 0.02 | <0.005 | <0.005 | 0.03 | <0.005 | <0.005 |
| 骨 | 0.13 | 0.01 | <0.0001 | 0.14 | 0.02 | <0.0001 |
| 骨格筋 | 0.66 | 0.09 | <0.005 | 0.44 | 0.10 | 0.01 |
| 心臓 | 0.27 | 0.04 | <0.005 | 0.41 | 0.04 | <0.0001 |
| 脳 | 0.05 | 0.02 | <0.005 | 0.07 | 0.02 | <0.005 |
| 脊髄 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 |
| 前立腺 | 0.06 | 0.01 | <0.005 | NA | NA | NA |
| 精巣上体 | 0.10 | 0.02 | <0.005 | NA | NA | NA |
| 精巣 | 0.22 | 0.05 | <0.005 | NA | NA | NA |
| 子宮 | NA | NA | NA | 0.09 | 0.02 | <0.005 |
| 卵巣 | NA | NA | NA | 0.03 | 0.01 | <0.005 |
| 眼 | 0.01 | <0.005 | <0.005 | 0.02 | <0.005 | <0.005 |
| 脂肪 | 0.15 | 0.02 | <0.005 | 0.19 | 0.02 | <0.005 |
| 皮膚 | 0.54 | 0.08 | 0.01 | 0.72 | 0.13 | 0.01 |
| 腎臓 | 0.98 | 0.12 | 0.01 | 0.69 | 0.11 | 0.01 |
| 肝臓 | 7.25 | 1.32 | 0.25 | 5.52 | 1.20 | 0.24 |
| 膀胱 | 0.01 | <0.005 | <0.005 | 0.02 | 0.01 | <0.005 |
| GI 管および内容物 | 33.70 | 4.50 | 0.17 | 37.47 | 6.10 | 0.14 |
| 肺 | 0.35 | 0.05 | <0.005 | 0.32 | 0.07 | <0.005 |
| 膵臓 | 0.10 | 0.01 | <0.0001 | 0.08 | 0.01 | <0.005 |
| 組織中計 | 47.38 | 6.73 | 0.48 | 49.04 | 8.36 | 0.45 |
| カーカス | 20.30 | 3.40 | 0.55 | 19.02 | 4.12 | 0.52 |
| 総回収率 | 67.68 | 10.14 | 1.03 | 68.07 | 12.48 | 0.98 |

表中数値は3匹の平均値、NA：該当なし。

血液および血漿：終了時の体重に基づきラット全身に外挿。

組織中計：血漿を除く全組織の合計。

カーカス：カーカス中の残存血液分で補正。

表 7 20 mg/kg 投与群における組織中放射能の投与量に対する回収率 (%AD)

| 投与量 20 mg/kg | %AD | | | | | |
|-----------------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| 採取時間 | 24 hr | 72 hr | 168 hr | 24 hr | 72 hr | 168 hr |
| 血液 | 2.26 | 0.28 | 0.04 | 1.72 | 0.38 | 0.03 |
| 血漿 | 2.57 | 0.23 | 0.01 | 1.87 | 0.27 | 0.01 |
| 脾臓 | 0.03 | 0.01 | <0.005 | 0.02 | 0.02 | <0.005 |
| 胸腺 | 0.04 | 0.01 | <0.005 | 0.04 | 0.01 | <0.005 |
| 腸間膜リンパ節 | 0.17 | 0.03 | 0.01 | 0.11 | 0.02 | 0.01 |
| 骨髄 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.0001 |
| 副腎 | 0.04 | <0.005 | <0.005 | 0.04 | 0.01 | <0.005 |
| 下垂体 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 |
| 甲状腺/上皮小体 | 0.03 | <0.005 | <0.005 | 0.02 | <0.005 | <0.005 |
| 骨 | 0.07 | 0.01 | <0.0001 | 0.04 | 0.01 | <0.005 |
| 骨格筋 | 0.47 | 0.06 | 0.01 | 0.28 | 0.09 | 0.01 |
| 心臓 | 0.19 | 0.03 | <0.005 | 0.12 | 0.04 | <0.005 |
| 脳 | 0.05 | 0.01 | <0.005 | 0.05 | 0.02 | <0.005 |
| 脊髄 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 | <0.005 |
| 前立腺 | 0.05 | 0.01 | <0.005 | NA | NA | NA |
| 精巣上体 | 0.08 | 0.02 | <0.005 | NA | NA | NA |
| 精巣 | 0.18 | 0.05 | 0.01 | NA | NA | NA |
| 子宮 | NA | NA | NA | 0.14 | 0.02 | 0.01 |
| 卵巣 | NA | NA | NA | 0.02 | <0.005 | <0.005 |
| 眼 | 0.01 | <0.005 | <0.005 | 0.01 | <0.005 | <0.005 |
| 脂肪 | 0.16 | 0.02 | 0.01 | 0.07 | 0.04 | 0.01 |
| 皮膚 | 0.46 | 0.07 | 0.03 | 0.44 | 0.13 | 0.02 |
| 腎臓 | 0.45 | 0.08 | 0.02 | 0.30 | 0.07 | 0.01 |
| 肝臓 | 5.54 | 1.17 | 0.35 | 3.35 | 1.14 | 0.30 |
| 膀胱 | 0.01 | <0.005 | <0.005 | 0.01 | <0.005 | <0.005 |
| GI 管および内容物 | 37.25 | 2.86 | 0.14 | 49.72 | 4.49 | 0.16 |
| 肺 | 0.28 | 0.04 | 0.01 | 0.15 | 0.06 | 0.01 |
| 膵臓 | 0.03 | 0.01 | <0.005 | 0.04 | 0.01 | <0.005 |
| 組織中計 | 47.83 | 4.78 | 0.63 | 56.71 | 6.59 | 0.59 |
| カーカス | 16.51 | 4.15 | 1.10 | 12.30 | 4.29 | 1.00 |
| 総回収率 | 64.35 | 8.93 | 1.73 | 69.01 | 10.88 | 1.59 |

表中数値は3匹の平均値、NA：該当なし。

血液および血漿：終了時の体重に基づきラット全身に外挿。

組織中計：血漿を除く全組織の合計。

カーカス：カーカス中の残存血液分で補正。

表 8 2 mg/kg 投与群における組織中放射能の対血漿比

| 投与量 2 mg/kg | 組織対血漿比 | | | | | |
|----------------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| 採取時間 | 8 hr | 48 hr | 168 hr | 8 hr | 48 hr | 168 hr |
| 血液 | 0.643 | 0.725 | 2.302 | 0.637 | 0.729 | 2.691 |
| 血漿 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| 赤血球 | 0.383 | 0.554 | 2.125 | 0.363 | 0.574 | 2.329 |
| 脾臓 | 0.561 | 0.753 | 1.193 | 0.521 | 0.744 | 3.106 |
| 胸腺 | 0.489 | 0.633 | 2.561 | 0.537 | 0.660 | 2.432 |
| 腸間膜リンパ節 | 0.647 | 0.707 | 1.696 | 0.625 | 0.838 | 7.317 |
| 骨髄 | 0.324 | 0.254 | 12.663 | 0.310 | 0.477 | 0.000 |
| 副腎 | 1.546 | 1.904 | 12.173 | 1.416 | 2.037 | 15.842 |
| 下垂体 | 0.452 | 1.104 | 0.000 | 0.476 | 0.829 | 0.000 |
| 甲状腺/上皮小体 | 0.650 | 0.770 | 2.827 | 0.680 | 0.803 | 2.561 |
| 骨 | 0.491 | 0.476 | 0.000 | 0.463 | 0.460 | 0.000 |
| 骨格筋 | 0.626 | 0.663 | 1.482 | 0.492 | 0.634 | 2.013 |
| 心臓 | 1.180 | 1.236 | 0.000 | 1.647 | 1.319 | 0.000 |
| 脳 | 0.100 | 0.238 | 1.523 | 0.109 | 0.237 | 2.302 |
| 脊髄 | 0.135 | 0.348 | 1.636 | 0.092 | 0.330 | 3.099 |
| 前立腺 | 0.522 | 0.740 | 3.031 | NA | NA | NA |
| 精巣上体 | 0.616 | 0.924 | 3.888 | NA | NA | NA |
| 精巣 | 0.280 | 0.498 | 0.706 | NA | NA | NA |
| 子宮 | NA | NA | NA | 0.493 | 0.540 | 3.704 |
| 卵巣 | NA | NA | NA | 0.555 | 0.820 | 5.933 |
| 眼 | 0.185 | 0.277 | 1.437 | 0.180 | 0.307 | 1.278 |
| 脂肪 | 0.628 | 0.570 | 6.102 | 0.534 | 0.560 | 4.134 |
| 皮膚 | 0.475 | 0.765 | 4.632 | 0.438 | 0.594 | 5.057 |
| 腎臓 | 2.017 | 1.939 | 10.082 | 1.428 | 1.506 | 6.966 |
| 肝臓 | 2.854 | 4.228 | 38.519 | 2.483 | 3.482 | 41.703 |
| 膀胱 | 0.386 | 0.667 | 2.198 | 0.469 | 1.112 | 3.626 |
| GI 管および内容物 | 5.937 | 6.169 | 7.413 | 6.778 | 6.352 | 7.231 |
| 肺 | 0.891 | 1.040 | 3.731 | 0.754 | 1.001 | 2.887 |
| 膵臓 | 0.769 | 0.520 | 0.000 | 0.657 | 0.447 | 0.000 |
| カーカス | 0.369 | 0.484 | 3.712 | 0.331 | 0.420 | 2.916 |

表中数値は、8 および 48 時間では雌雄 3 匹、168 時間では雄 2 匹、雌 1 匹の平均値、
NA : 該当なし。

表 9 20 mg/kg 投与群における組織中放射能の対血漿比

| 投与量 20 mg/kg | 組織対血漿比 | | | | | |
|-----------------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|
| | 雄 | | | 雌 | | |
| 採取時間 | 24 hr | 72 hr | 168 hr | 24 hr | 72 hr | 168 hr |
| 血液 | 0.553 | 0.786 | 2.046 | 0.581 | 0.880 | 1.566 |
| 血漿 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |
| 赤血球 | 0.468 | 0.630 | 1.349 | 0.420 | 0.691 | 1.246 |
| 脾臓 | 0.170 | 0.895 | 2.038 | 0.167 | 0.986 | 0.476 |
| 胸腺 | 0.406 | 0.693 | 1.815 | 0.458 | 0.799 | 1.741 |
| 腸間膜リンパ節 | 0.585 | 1.072 | 5.574 | 0.582 | 1.174 | 5.220 |
| 骨髄 | 0.246 | 2.576 | 1.211 | 0.528 | 1.478 | 0.000 |
| 副腎 | 1.389 | 2.118 | 8.817 | 1.470 | 2.539 | 8.868 |
| 下垂体 | 0.679 | 1.463 | 0.549 | 0.556 | 1.134 | 0.334 |
| 甲状腺/上皮小体 | 0.446 | 0.808 | 2.643 | 0.501 | 0.912 | 2.015 |
| 骨 | 0.255 | 0.303 | 0.000 | 0.214 | 0.466 | 0.464 |
| 骨格筋 | 0.394 | 0.685 | 2.088 | 0.362 | 0.690 | 2.127 |
| 心臓 | 0.642 | 1.295 | 1.478 | 0.669 | 1.560 | 1.225 |
| 脳 | 0.091 | 0.289 | 1.426 | 0.088 | 0.296 | 1.107 |
| 脊髄 | 0.110 | 0.505 | 2.389 | 0.129 | 0.452 | 2.227 |
| 前立腺 | 0.474 | 0.838 | 2.347 | NA | NA | NA |
| 精巣上体 | 0.435 | 1.022 | 3.163 | NA | NA | NA |
| 精巣 | 0.195 | 0.611 | 2.240 | NA | NA | NA |
| 子宮 | NA | NA | NA | 0.475 | 0.817 | 4.610 |
| 卵巣 | NA | NA | NA | 0.632 | 0.987 | 4.343 |
| 眼 | 0.133 | 0.303 | 1.436 | 0.147 | 0.351 | 1.091 |
| 脂肪 | 0.600 | 0.784 | 6.743 | 0.263 | 1.080 | 6.858 |
| 皮膚 | 0.405 | 0.896 | 5.169 | 0.320 | 0.771 | 3.808 |
| 腎臓 | 0.838 | 1.650 | 8.247 | 0.822 | 1.267 | 4.274 |
| 肝臓 | 2.305 | 4.603 | 29.651 | 2.045 | 4.032 | 23.354 |
| 膀胱 | 0.282 | 0.652 | 2.422 | 0.486 | 1.127 | 3.078 |
| GI 管および内容物 | 6.707 | 5.053 | 4.923 | 11.194 | 6.200 | 4.883 |
| 肺 | 0.540 | 1.097 | 2.750 | 0.444 | 1.100 | 2.210 |
| 膵臓 | 0.340 | 1.119 | 4.193 | 0.332 | 0.990 | 3.194 |
| カーカス | 0.297 | 0.714 | 4.194 | 0.289 | 0.732 | 2.891 |

表中数値は3匹の平均値、NA：該当なし。