

14. 生体機能影響

生体機能影響試験

(資料 No. 原体-26)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2009 年

検体純度： %

試験の概要： 検体の生体機能に及ぼす影響を検索するため、雌雄のマウスを用いて一般状態および行動に及ぼす影響を、雄マウスを用いて抗痙攣作用を調べた。また、雄性ウサギを用いて呼吸・循環器系に及ぼす影響、雄性ラットを用いた水および電解質代謝に及ぼす影響を調べた。マウスおよびラットは単回経口投与とし、ウサギは十二指腸内投与した

用量設定根拠：

投与検体の調製： 投与前に検体を所定量秤量し、0.5(w/v)%メチルセルロース・0.4(w/v)%Tween80 含有蒸留水を加えて懸濁ならびに希釈させた。

マウスの一般状態および行動に及ぼす影響

供試動物： Crlj:CD1(ICR)系 SPF マウス 1群雌雄各4匹、4~5週齢、
体重；雄 24.9~28.3g、雌 23.1~26.4g

試験方法： 3~5時間絶食させた雌雄のマウスに溶媒対照、51.2、128、320、800 および 2000mg/kg の各用量を投与容量 10mL/kg で単回経口投与した。検体投与前、検体投与後 30、60、120、240、360分および24時間に Irwin の多次元観察法に従い一般状態および行動を観察した。

結果： 雌雄共に、いずれの投与群においても行動的、神経的および自立神経的

プロフィールに影響は認められず、本試験におけるマウスの一般状態および行動に対する無作用量は雌雄共に 2000mg/kg 以上と考えられた。

マウスの抗痙攣作用に及ぼす影響

供試動物：Cr1j:CD1(ICR)系 SPF マウス 1 群雄 6 匹 4 週齢、体重；雄 26.9~30.8g

試験方法：3~4 時間絶食させた雄のマウスに溶媒対照、500、1000 および 2000mg/kg の用量で投与容量 10mL/kg で単回経口投与した。投与 30 分後に両角膜より電撃痙攣装置を用いて 100V、50mA の電流を 0.2 秒間通電した。誘発される強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣、間代性痙攣および死亡の有無を観察した。

結果： いずれの投与群においても強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣、間代性痙攣および死亡の発現に対照群と有意な差は認めなかった。

雄マウスにおける無作用量は 2000mg/kg 以上と考えられた。

表 マウスの抗痙攣に及ぼす影響 (認められた例数)

性	雄			
	用量 (mg/kg)	0	500	1000
検査動物数	6	6	6	6
強直性屈曲痙攣	6	6	6	6
強直性伸展痙攣	6	6	6	6
間代性痙攣	6	4	4	4
死亡	0	2	2	1

(Fisher 正確確率検定)

ウサギの呼吸・循環器系に及ぼす影響

供試動物：New Zealand White 系雄ウサギ、1 群 3 匹 13~18 週齢、体重 2.77~3.40kg

試験方法：ウサギにペントバルビタールナトリウムを耳静脈内投与して麻酔し、試験中は持続注入して麻酔を維持した。十二指腸内に挿入したカテーテルより溶媒対照、1000 および 2000mg/kg の用量で投与容量 5mL/kg で投与した。

呼吸数および呼吸深度を気管切開して挿入したガラス製気管カニューレに呼吸ピックアップ (45257、日本電気三栄 (株)) を装着し、呼吸数ユニット (2237、日本電気三栄 (株)) に接続して測定した。血圧は大腿静脈に挿入したカニューレに接続した圧トランスデューサー (P23XL、Spectramed 社) を介して測定した。血流量は右総頸動脈に装着した非観血的電磁血流プローブを介し電磁血流計 (MFV-3200、日本光電工業 (株)) で測定した。心電図は四肢第 II 誘導にて針電極により心電図用ヘッドアンプ (1270A、日本電気三栄 (株)) に誘導し、心電計 (カーディサニー D-300、フクダエム・イー工業 (株)) で測定した。心拍数は血圧脈波より瞬時型計数ユニット (1321、日本電気三栄 (株)) を駆動させて測定した。各測定は

検体投与前、検体投与後 10、30、60、90、120、180 および 240 分後に行った。動物は絶食させなかった。

結果： 対照群および 2000mg/kg 投与群では、呼吸数、血圧、心拍数、心電図および総頸動脈血流量に明確な変化はみられなかった。
1000 mg/kg 群では、投与 10 分後の呼吸数で投与前値からの変化率が溶媒対照群に比して有意に高かった。しかし 2000mg/kg 群では変化は無く、用量との関連がみられず、投与前の呼吸数が低値であった事によるものと考えられ検体投与によるものではないと判断された。

以上より、検体のウサギの呼吸・循環器系への無作用量は 2000mg/kg 以上と考えられた。

表. 呼吸数

性 用量 (mg/kg)	雌							
	投与前	10分	30分	60分	90分	120分	180分	240分
溶媒対照	13 (-)	13 (0.34)	12 (-4.79)	12 (-7.01)	12 (-5.13)	14 (8.97)	13 (5.90)	12 (2.22)
1000	9 (-)	12 (33.33*)	11 (22.22)	10 (11.11)	10 (7.41)	10 (7.41)	9 (3.70)	11 (18.52)
2000	13 (-)	13 (-2.17)	11 (-11.47)	9 (-27.14)	11 (-13.86)	9 (-33.09)	10 (-22.34)	9 (-30.71)

呼吸数(回/分)

() 投与前値からの変化量 (%)

* : p<0.05 (Dunnett's test)

ラットの水および電解質代謝に及ぼす影響

供試動物：Cr1:CD(SD)系 SPF 雄ラット、1群6匹、6週齢、体重 219~237g

試験方法：一晩絶食したラットに溶媒対照、500、1000 および 2000mg/kg の用量で投与容量 10mL/kg で経口投与した。その後直ちに 37℃に加温した生理食塩水を 25mL/kg の割合で経口的に負荷し、代謝ケージに個別に収容して 6 時間蓄尿した。採取した尿について尿量、pH および電解質 (Na⁺, K⁺, Cl⁻) を検査した。

結果： いずれの投与群においても尿量、pH および電解質に投与の影響は認めなかった。

以上、検体はマウスの一般状態および行動、抗痙攣作用を指標とした中枢神経系、ならびにウサギの呼吸および循環器系、ラットの腎機能に作用を示さなかった。

検体の無作用量は、マウスおよびラットへの経口投与、ならびにウサギへの十二指腸内投与において、2000mg/kg 以上と考えられた。

表. 生体機能への影響に関する試験の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の 概要
中枢神経系	一般状態 および 行動 [Irwin法]	マウス	経口 (MC/Tween80) 0, 51.2, 128, 320, 800, 2000	雌雄 4	—	雌雄 2000	影響なし
	抗痙攣 [電撃]	マウス	経口 (MC/Tween80) 0, 500, 1000, 2000	雄 6	—	雄 2000	影響なし
呼吸・ 循環器系 ^{a)}	ウサギ	十二指腸内 (MC/Tween80)	0, 1000, 2000	雄 3	—	雄 2000	影響なし
尿および 電解質排泄	ラット	経口 (MC/Tween80)	0, 500, 1000, 2000	雄 6	—	雄 2000	影響なし

^{a)} ペントバルビタール麻酔下で実施

溶媒 (MC/Tween80) : 0.5(w/v)%メチルセルロース・0.4(w/v)%Tween80 含有蒸留水

申請者注 :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

15. その他

(1) ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 原体-27)

試験機関：

報告書作成年： 2004 年

目 的：

検体純度： %以上

供試動物：Wistar Rj: WI(IOPS HAN)系ラット、投与群：1 群雌雄各 5 匹

投与開始時 7 週齢、体重；雄 255～276g、雌 167～193g

投与期間：28 日間（2003 年 12 月 23 日～2004 年 1 月 20 日）

投与方法：検体を 0（対照群）、150、2000 および 7000ppm の濃度で飼料に混入し
28 日間にわたり随時摂食させた。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；全動物について毎日 2 回（週末および休日は 1 回）、死亡
および瀕死状態について確認し、一般状態については少なくとも毎日 1
回記録した。詳細な身体検査を少なくとも週 1 回実施した。

投与に関連する死亡および一般状態の変化は認められなかった。

体 重；全動物の体重を投与期間中週 1 回測定した。最終屠殺時にも絶食させ
た動物の体重を測定した。

7000ppm 群において、雌の平均体重（8 日目以降）および平均体重増加
量（15 日目まで）がわずかに少なく、28 日目における累積体重増加量
が対照群よりも 12%低かったが、いずれも有意差は認めなかった。15
日目までの累積体重増加量の低値でのみ有意差を認めた。

2000ppm では、雌では 15 日目までの平均体重増加量が対照群よりも少
なく、28 日目における累積体重増加量は対照群よりも 16%低かったが

いずれも有意差は認めなかった。

2000ppm および 7000ppm 群の雄では、体重および体重増加量は対照群と同等であった。

150ppm では雌雄いずれにおいても変動を認めなかった。

以下の表に体重推移を示した。

表. 平均体重および平均体重増加量

性		雄			雌		
用量 (ppm)		150	2000	7000	150	2000	7000
体重	8日	100	99	100	100	98	95
	15日	99	99	102	100	96	93
	22日	102	101	105	102	98	96
	28日	102	99	105	103	97	97
#体重増加量	8日	102/100	94/93	96/95	93/90	63/62	50/52
	15日	92/97	105/99	114/104	89/90	70/68	70/*60
	22日	148/106	123/102	168/114	170/102	180/83	210/83
	28日	98/105	81/98	105/112	117/105	83/84	111/88

数値は対照群に対する比(%)

1日あたりの体重増加量 / 累積体重増加量

(Bartlett, Kruskal-Wallis または ANOVA 検定)

摂餌量；全動物の摂餌量を毎週測定した。

雄では摂餌量に変化は認められなかった。

7000ppm 雌では、投与期間中の平均摂餌量が対照群に比べてわずかに少なかった（対照に対して 89~94%；有意差なし）。

2000ppm 雌の 8 日目以降、対照群に比してわずかに少なく（同 89~90%）

28 日目のみ有意（同 84%， $p < 0.01^*$ ）であった。

150ppm では、雌雄いずれも影響を認めなかった。

* Bartlett, Kruskal-Wallis または ANOVA 検定

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		150	2000	7000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	12	154	560
	雌	13	169	648

採血；投与終了後、全ての動物について一晩絶食させて、イソフラン吸入によ

る麻酔下で後眼窩静脈叢穿刺により採血した。血液学的検査用サンプルは EDTA 処理、生化学検査用のサンプルにはリチウムヘパリン処理を行った。また、凝固検査用のサンプルはクエン酸ナトリウム処理を行った。

血液学的検査；採取した血液試料について以下の項目を測定した。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、網状赤血球数 (Ret)、白血球数および白血球百分率、血小板数 (PLT)、プロトロンビン時間 (PT)

また、血液塗抹標本を作製し上記の項目で異常を認めた場合に検査した。

7000ppm および 2000ppm の雌において、赤血球数が有意に増加し、網状赤血球 (%) が有意に少なかった。しかし変化の程度が小さく、明確な用量との影響関係がないことから考えて、これらの変化の毒性学的意義は低いものと考えられた。

その他、投与と関連のある変化は認められなかった

統計学的有意差を認めた項目を以下に示す。

表. 血液学的検査結果

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	150	2000	7000	150	2000	7000
RBC					↑106	↑105	
Ret (数)					↓73		
Ret (%)					↓65	↓73	

↑ ↓ p<0.05、↑↓ p<0.01

(Bartlett, Kruskal-Wallis または ANOVA + Dunn's Rank Sum test または Dunnett's) 表中の数値は対照群に対する比 (%)

生化学的検査；以下の項目について生化学的検査を実施した。

総ビリルビン (TBIL)、グルコース (GLUC)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREA)、総蛋白 (TPRO)、アルブミン (ALB)、総コレステロール (CHOL)、トリグリセリド (TRIG)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ (ALP)

7000ppm 雌において、TPRO および CHOL が有意に高かった。また、わずかではあるが TBIL および ASAT が対照群に比べて有意に低かった^(注)。

(注) 申請者注 これらの値は上昇した時に毒性学的に意味があるものと考えられるため、毒性学的な意義はないものと考えられる。

2000ppm 雌でも CHOL が有意に高かった。

雄の 7000ppm で GLUC が有意に低かったが、個々の動物の数値にばらつきがあることを考慮すると、この変動には毒性学的関連性はないものと考えられた。その他、投与と関連のある変化は認められなかった

統計学的有意差を認めた項目を以下に示す。

表. 生化学的検査結果

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	150	2000	7000	150	2000	7000
GLUC				↓87			
TBIL							↓56
ASAT							↓85
TPRO							↑106
CHOL					↑127		↑131

↑ ↓ p<0.05、▲ ▼ p<0.01

(Bartlett, Kruskal-Wallis または ANOVA + Dunn's Rank Sum test または Dunnett's)

表中の数値は対照群に対する比(%)

臓器重量；最終屠殺に供された全生存動物を対象として副腎、脳、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣および甲状腺（上皮小体を含む）重量を測定した。

平均最終体重には有意な差は認めなかった。

7000ppm 雌雄において、肝重量が統計学的に有意に増加し、雄において、より顕著であった。

2000ppm の雄において肝重量が増加する傾向が観察され対体重比でのみ統計学的有意差が認められた。

臓器重量に関するその他の変化は、いずれも偶発的なものと考えられた。対照群と比べ統計学的有意差の認められた変化を次表に示す。

表. 臓器重量

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	150	2000	7000	150	2000	7000
検査動物数		5	5	5	5	5	5
肝臓	実重量			▲132			↑115
	対体重比		↑111	▲126			▲119
	対脳重量比			▲132	↓86		↑117
脳	実重量				↑107		

↑ ↓ ; p<0.05、▲ ; p<0.01

表中の数値は対照群に対する比(%)

(Bartlett, Kruskal-Wallis または ANOVA + Dunn's Rank Sum test または Dunnett's)

肉眼的病理検査；投与終了後、全ての動物をイソフルラン吸入深麻酔下で屠殺し、主要な臓器および組織、体腔について肉眼的病理検査を行った。

7000ppmにおいて雄5例中4例、雌5例中2例に肝臓肥大が観察された。また、2000ppmの雄1例でも肝臓肥大を認めた。

その他、投与に関連する肉眼的病理所見は認めなかった。

表. 肉眼的に認めた肝肥大の発生数

性別	雄				雌			
	0	150	2000	7000	0	150	2000	7000
用量 (ppm)	0	150	2000	7000	0	150	2000	7000
動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
肝肥大	0	0	1	*4	0	0	0	2

* ; p<0.05 (Fisher 検定/申請者により実施)

病理組織学的検査；全ての動物について、以下の組織を採取した。

副腎、下垂体、脳、脾臓、腎臓、精巣、肝臓、甲状腺（上皮小体を含む）、肺、卵巣、肉眼的病変部

採取した臓器は10%中性緩衝ホルマリン（精巣のみダビドソン固定液）で固定した。全動物の採取した臓器についてパラフィン包埋後に薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した。対照群および高用量群についてはすべての臓器を検査し、中間用量群については肝臓、腎臓、肺、甲状腺および肉眼的病変部を検査した。

7000ppmの雌雄全例および2000ppmの雄5例中2例の肝臓に、軽微ないし軽度の小葉中心性肝細胞肥大が観察された。

雄では対照を含む全動物（7000ppmの1例を除く）で腎臓の近位尿細管上皮内に硝子滴が認められたが、7000ppmにおいてはその程度が対照をわずかに上回った。2000ppmまたは150ppmを投与した雄では、硝子滴のレベルは対照群と同等であった。

雄ラットの腎臓に認められた硝子滴は、ラットに認められる近位尿細管への $\alpha 2\mu$ -グロブリン蓄積に関連したもので、これはヒトに対する潜在的リスクを表すものではないと考えられる。

2000ppm雌および150ppmの雌雄には、投与に関連した所見はなかった。

その他に認めた所見は偶発的で、投与に関連しないものと考えられた。

認められた主な組織所見を次の表に示した。

表. 認められた主な組織所見数

性		雄				雌			
用量 (ppm)		0	150	2000	7000	0	150	2000	7000
検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5
肝：小葉中心性肝細胞肥大		0	0	2	**5	0	0	0	**5
腎：近位尿細管上皮内硝子滴	軽微	3	2	1	0	0	0	0	0
	軽度	2	3	4	2	0	0	0	0
	中等度	0	0	0	2	0	0	0	0
	合計	5	5	5	4	0	0	0	0

** ; $p \leq 0.01$ (Fisher 検定/申請者により実施)

:

表.

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	150	2000	7000	0	150	2000
			114	↑132			109	↑153
			↑430	↑874			647	↑2393
			↑240	↑472			192	↑540

数値は対照群に対する比(%)

↑ ; p<0.01 (Dunnett's 検定/申請者により実施)

本試験において試験期間中、一般状態の変化や死亡は観察されなかった。

7000ppm において、雌の平均体重および平均体重増加が対照群よりもわずかに低く摂餌量もわずかに少なかった。また、雌では総タンパク濃度および総コレステロール濃度が上昇した。

雌雄で肉眼的に肝肥大が観察され、肝重量も増加した。また、病理組織学的検査では、軽微ないし軽度の肝小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

2000ppm において、雌の平均体重増加が対照群よりもわずかに低く摂餌量もわずかに少なかった。また、雌は総コレステロール濃度が高かった。

雄では肝重量が増加し、病理組織学的に軽微な小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

150ppm においては雌雄いずれにおいても、投与に関連した影響は観察されなかった。

以上の結果より、本試験における無毒性量は、雌雄共に 150 ppm (雄 : 12 mg/kg/日、雌 : 13 mg/kg/日) と結論した。

なお、

(2) ラットを用いた免疫毒性試験 (4 週間反復経口投与)

(資料 No. 原体-28)

試験機関:

報告書作成年: 2008 年

目的: 本検体が免疫毒性を持つ可能性について調べるために実施した。

検体純度: %

供試動物: Wistar (Hsd Cpb:WU) 系ラット、投与群: 1 群雌雄各 8 匹
投与開始時約 7 週齢、体重; 雄 170~202g、雌 164~191g

投与期間: 29 (雄) および 30 (雌) 日間 (2008 年 2 月 12 日~2008 年 3 月 12 日)

投与方法: 検体を 0 (対照群)、200、1000 および 7000ppm の濃度で飼料に混入し
4 週間 (雄 29 日間、雌 30 日間) にわたり随時摂食させた。飼料は毎週
調製した。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 全動物について毎日 2 回 (週末および休日は 1 回)、死亡
および一般状態について確認した。また、詳細な観察を週 1 回実施した。

死亡および投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。

体重; 全動物の体重を投与期間中週 2 回測定した。最終屠殺直前にも絶食さ
せた動物の体重を測定した。

7000ppm 雌雄で増体重抑制がみられ、雌において顕著であった。雄では
8 日および最終体重が統計学的有意に低く、雌ではほとんどの時点で
有意に低かった。

1000ppm および 200ppm においては雌雄共に統計学的に有意な差は認め
なかった。

以下の表に体重推移を示した。

表. 平均体重

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	200	1000	7000	200	1000	7000
体重	1日						
	4日						
	8日			↓ 94			↓ 93
	11日						↓ 94
	15日						↓ 93
	18日						
	22日						↓ 92
	25日						↓ 91
	29日			↓ 93			↓ 91

数値は対照群に対する比(%)

↓: p≤0.05、↓: p≤0.01 (Dunnett 検定)

摂餌量および飲水量；摂餌量および飲水量を毎週1回測定した。

7000ppmでは、雌雄ともに摂餌量が統計学的有意に増加^{注)}した。

注) 申請者注

雄7000ppmおよび雌の全投与群で食べこぼしが認められている。

動物1匹あたりの飲水量は、雌雄の群でほぼ同等であった。1000ppmの雄および7000ppmの雌雄では、体重1kgあたりの飲水量がわずかに多かった(雌7000ppmのみ有意)。

表. 摂餌量および飲水量

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	200	1000	7000	200	1000	7000
摂餌量	g/動物/日	↑ 111		↑ 130			↑ 125
	g/kg /日			↑ 138			↑ 135
飲水量	g/動物/日		↑ 111				
	g/kg /日		[109]	[110]			↑ 109

数値は対照群に対する比(%)

[]内の数値は有意差なし

↑ p≤0.05、↑ p≤0.01 (Dunnett 検定/申請者により実施)

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		200	1000	7000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	17.9	82.6	755.6
	雌	20.4	104.5	960.5

免疫毒性；動物の脾臓を用いたプラーク形成細胞試験 (PFCA) を行った。PFCA を実施できるように、剖検の 5 日前にヒツジ赤血球 (SRBC) を動物の静脈に注射して免疫性を付与した。動物は CO₂ 吸入により屠殺した後、剖検して脾臓を摘出した。金属製ふるいを用いて脾臓を粉砕し、単細胞懸濁液を得た。その後の分析のために、これらの懸濁液の細胞数を 1 ml あたり 1×10⁷ 個に調製した。これらの懸濁液からアリコート 4 個を採取し、それぞれ 2 個ずつ (100 μl および 10 μl) を用いて SRBC 特異的 B 細胞の活性化を検出した。各動物について、適量のモルモット補体を用いてインキュベーションしたガラススライド 2 検体における、SRBC 特異的 IgM プラークを測定した。評価は、脾臓細胞 10⁶ 個あたりのプラーク形成細胞 (PFC) の量を計算することにより行った。

脾臓細胞数およびプラーク形成細胞数に統計学的に有意な差は認められず、投与の影響はみられなかった。

表. 脾臓細胞数およびプラーク形成細胞数

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	200	1000	7000	0	200	1000
細胞数 (×10 ⁶ /臓器)	515.8	589.5 (114)	623.4 (121)	588.4 (114)	438.8	456.9 (104)	475.1 (108)	417.5 (95)
プラーク形成細胞数 (/10 ⁶ 脾臓細胞)	1608	1526 (95)	1570 (98)	1628 (101)	1032	1528 (148)	1359 (132)	1410 (137)

()内の数値は対照群に対する比(%)

(Mann Whitney または Wilcoxon 検定)

臓器重量；最終屠殺に脾臓および胸腺重量を測定した。

投与に関連した影響は認められなかった。

本試験において試験期間中、一般状態の変化や死亡は観察されなかった。

7000ppm 群では雌雄共に摂餌量が増加したものの、雄 7000ppm 群および雌の全投与群で食べこぼしが認められた。

7000ppm において、雌雄で増体重抑制がみられ、雌でより顕著であった。

脾臓細胞数、プラーク形成試験および脾臓ならびに胸腺重量に検体投与に関連し

た影響は認めなかった。

以上の結果より、本試験における総合的な無毒性量は、雌雄共に 1000ppm（雄：82.6 mg/kg/日、雌：104.5 mg/kg/日）と結論した。また、本試験条件においては最高濃度 7000ppm でも雌雄共に免疫に対する影響は認められず、免疫毒性の無影響量は 7000ppm（雄：755.6 mg/kg/日、雌：960.5 mg/kg/日）であった。

(3)

(資料 No. 原体-29)

試験機関：

報告書作成年： 2011 年

目的：

検体純度： %

供試動物：Wistar (HsdHan™:WIST) 系雌ラット、7～8 週齢、
体重；約 150g (入手時)、試験開始前 5 日間馴化

試験方法：

各測定項目及び結果：

；

結果を表 1 に示した。

表 1.

↓ p<0.05、↑ p<0.01 (Student's t-test)
数値は対照を 100 とした場合の値
* DMSO

;

表 2.

↑ p<0.05、↑ p<0.01 (Student's t-test)
数値は対照を 100 とした場合の値
* DMSO

;

表 3.

↑ $p \leq 0.05$ 、▲ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)

数値は対照を 100 とした場合の値

* DMSO

;

表 4.

↑ $p \leq 0.05$ 、▲ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)

数値は対照を 100 とした場合の値

* DMSO

;

表 5.

↑ $p \leq 0.05$ 、◆ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)

数値は対照を 100 とした場合の値

* DMSO

(4)

(資料 No. 原体-30)

試験機関：

報告書作成年： 2011 年

目 的：

検体純度： %

：

試験方法：

各測定項目及び結果：

；

結果を表 1 に示した。

表 1.

↓ p≤0.05、↓ p≤0.01 (Student's t-test)
数値は対照を 100 とした場合の値
* DMSO

;

表 2.

< 続 く >

表 2. - 続き -

↑ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)
数値は対照を 100 とした場合の値
* DMSO

;

表 3.

↑ $p \leq 0.05$ 、↓ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)
数値は対照を 100 とした場合の値
* DMSO

;

表 4.

↑ $p \leq 0.05$ 、▲ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)

数値は対照を 100 とした場合の値

* DMSO

;

表 5.

↑ $p \leq 0.05$ 、▲ $p \leq 0.01$ (Student's t-test)

数値は対照を 100 とした場合の値

* DMSO

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

B. 原体混在物および代謝物を用いた試験成績

(1) の細菌を用いた復帰突然変異試験
(資料No. 代混-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2008年

検体純度： % ()

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1537、TA100、TA98、TA102)を用い、ラットの肝臓から調製した代謝活性化系(S-9Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、16、50、158、500、1581及び5000 μg /プレートまでの6濃度を設定した。

陽性対照物質にはsodium azide (NaN_3)、nitrofurantoin (NF)、4-nitro-1,2-phenylene diamine (4-NPDA)、mitomycin C (MMC)、Cumene hydroperoxide (Cumene)、2-aminoanthracene (2-AA)を用いた。

試験は各濃度3連で2回実施し、2度目の試験では37°C・20分間のプレインキュベーションを行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を表1及び2に示した。

最高濃度5000 μg /プレートでも細胞毒性は認めず、代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰コロニー数の増加は認めなかった。また、5000 μg /プレートで検体の沈殿を認めた。

一方、各菌株での陽性対照物質に対しては顕著にコロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本検体は代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異誘発性を有さないものと判断される。

表1 復帰変異試験成績 (1回目試験)

プレート法

(3反復の平均値)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9mix 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	TA102	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	127	9	266	24	7
検体	16		116	8	255	24	7
	50		134	9	250	22	8
	158		142	8	246	29	6
	500		130	10	242	21	9
	1581		145	9	259	23	7
	† 5000		146	8	263	18	7
溶媒対照 (DMSO)	0	+	187	14	315	42	12
検体	16		184	9	329	42	10
	50		194	9	343	37	11
	158		200	11	379	30	10
	500		170	14	355	43	12
	1581		183	10	335	35	9
	† 5000		204	8	351	37	8
陽性 対照	NaN ₃	10		1161			
		20		1278			
	NF	0.2	321				
		0.4	523				
	4-NPDA	0.5				120	
		1				231	
		10					74
	MMC	20					189
		0.2			817		
	2-AA	0.4			922		
3		+	2841	157	837	1619	335
6	2791		114	1588	2173	143	

† : 検体析出 空欄は該当なし

NaN₃ : sodium azide
 NF : nitrofurantoin
 4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine
 MMC : mitomycin C
 2-AA : 2-aminoanthracene

表2 復帰変異試験成績 (2回目試験)

プレインキュベーション法

(3反復の平均値)

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9mix 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	TA102	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	133	12	260	16	12
検体	16		121	10	255	18	7
	50		118	10	284	14	11
	158		111	12	275	14	9
	500		112	9	274	15	7
	1581		116	8	275	15	8
	† 5000		126	8	232	10	6
溶媒対照 (DMSO)	0	+	142	17	396	31	8
検体	16		165	15	413	27	8
	50		131	15	414	32	6
	158		173	12	399	27	8
	500		147	10	369	24	7
	1581		134	12	380	33	9
	† 5000		154	9	386	15	7
陽性 対照	NaN ₃	10		964			
		20		1185			
	NF	0.2	460				
		0.4	864				
	4-NPDA	0.5				135	
		1				227	
		10					82
		20					168
	Cumene	50			532		
		75			559		
2-AA	3	+	2399	168	662	1079	111
	6		2646	122	1632	1407	91

† : 検体析出 空欄は該当なし

NaN₃ : sodium azide

NF : nitrofurantoin

4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine

Cumene : Cumene hydroperoxide

2-AA : 2-aminoanthracene

(2) のチャイニーズハムスターV79 細胞を用いた
in vitro 染色体異常試験

(資料 No. 代混-2)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年： 2008 年

検体純度： % ()

投与方法：チャイニーズハムスターV79 細胞を用い、代謝活性化存在下 (+S9 mix)

および非存在下 (-S9mix) において染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

培養は2連で実施し、1濃度当り 200 個の分裂中期像について観察した。

用量設定根拠；

評価に用いた試験濃度：本試験において得られた生存率および分裂指数に基づいて染色体異常の評価に用いる濃度を以下のとおり選択した。

検体濃度	S9	処理	回収	検体濃度	S9	処理	回収
300 μ g/ml				150 μ g/ml			
600	-	4hr	18hr	300	-	18hr	18hr
900				600			
150							
300	+	4hr	18hr				
600							
900	-	4hr	30hr				
600	+	4hr	30hr				

試験結果：結果を次頁の表に示した。

代謝活性化の有無に関わらず検体の何れの処理においても、異常を有する分裂中期細胞数に生物学的に有意な増加は検出されなかった。

なお、S9 mix 非存在下、4 時間処理、回収 18 時間の 900 μ g/ml でのみ認められた統計学的有意差は背景値の範囲を超えるものではなく、生物学的変動によるものと考えられた。

S9 mix の非存在下 4 時間処理 900 μ g/ml 以上および 18 時間処理 600 μ g/ml で培地に被験物質の沈殿がみられた。4 時間処理の 900 μ g/ml 以上で細胞形態の変化を認め、300 μ g/ml 以上では非吸着細胞を観察した。18 時間処理 600 μ g/ml でも非吸着細胞を観察した。

S9 mix 存在下 900 μ g/ml では被験物質の沈殿が顕著だった。また、300 μ g/ml 以上では非吸着細胞を観察した。

陽性対照のマイトマイシン C およびシクロホスファミドは明白な染色体異常を誘発し、試験系の感受性ならびに使用した S9 mix の活性が確認された。

以上の結果に基づき、検体は本試験条件において哺乳動物細胞に対して染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

結果：

薬物	濃度 (μ g/ml)	S9 mix	処理時間	回収時間	観察細胞数	異常の分類											異常細胞 (%)		
						染色分体型				染色体型				その他			ギャップ		
						g	b	f	d	ig	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含む	除外
溶媒対照	0					1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1.0	0.5
検体	300	-	4	18	200	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1.5	1.5
	600					2	3	2	0	0	1	0	2	2	0	0	0	3.5	3.0
	900					3	5	1	0	0	2	1	2	3	0	0	0	7.0	5.5**
MMC	0.1					4	90	9	0	0	36	4	5	113	27	0	0	79.0	79.0**
溶媒対照	0					1	3	0	0	0	1	1	2	1	0	0	3.5	3.0	
検体	150	+	4	18	200	0	3	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2.0	2.0
	300					2	4	0	0	0	2	0	3	0	0	0	4.5	3.5	
	600					1	0	0	0	0	2	0	2	0	1	0	3.0	2.5	
CP	2					1	87	13	0	0	37	12	2	72	12	1	0	71.0	71.0**
溶媒対照	0					0	0	1	0	0	0	0	2	1	0	0	2.0	2.0	
検体	900	-	4	30	200	0	2	0	0	0	2	0	2	4	2	0	4.5	4.5	
溶媒対照	0					0	1	1	0	0	0	0	2	0	1	0	2.5	2.5	
検体	600	+	4	30	200	0	1	0	0	0	1	0	3	0	1	0	3.0	3.0	
溶媒対照	0					0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	2.0	2.0	
検体	150	-	18	18	200	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.5	0.5
	300					0	2	0	0	0	0	0	1	2	0	0	2.5	2.5	
	600					0	1	1	0	0	0	0	2	3	0	0	2.5	2.5	
MMC	0.03					2	59	7	0	0	19	1	11	51	2	0	0	52.0	51.5**

** :p<0.01 (カイ二乗検定)

MMC：マイトマイシンC、 CP：シクロホスファミド

g：染色分体型ギャップ

ig：染色体型ギャップ

ex：交換

b：染色分体型切断

ib：染色体型切断

maE：交換を含む重複異常

f：染色分体型断片

if：染色体型断片

ma：重複異常

d：染色分体型欠失

id：染色体型欠失

cd：染色体破損

背景値範囲 (1998~2006年/ 128試験)	
異常細胞 (%) (ギャップは除外)	

()

(3) のチャイニーズハムスターV79 細胞を用いた HPRT
前進突然変異試験

(資料 No. 代混-3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2008年

検体純度： % ()

試験方法： 4×10^6 個の V79 細胞をフラスコ中の培地に接種し、16~24 時間培養した。接着後、DMSO で各濃度（用量設定根拠参照）に溶解した検体を含む培地中で代謝活性化(+S9)および非活性化(-S9)条件でそれぞれ 5 時間暴露した。暴露終了後、単層の細胞を PBS で洗浄後、トリプシン処理してシャーレまたはフラスコに再接種した。

シャーレ(培地 5mL)への再接種は 3 枚に各 200 個の細胞を接種し、6 日間培養後コロニー数を計数して、暴露後の細胞毒性を判定した(処理後の細胞生存率)。

フラスコ(培地 20mL)への再接種は 1.5×10^6 個の細胞を接種し、細胞増殖と誘発変異株の発現のために 6 日間培養（発現期間）した(3 日間培養後に別のフラスコに再接種して継代した)。その後、変異株選抜のため、6-チオグアニン(6-TG)を 10 μ g/mL 含有し、ヒポキサンチン無含有の培地 20mL を入れた 8 つのシャーレに 3×10^5 個の細胞を接種し、6~8 日間培養してコロニー数を計数した(6-TG 耐性コロニー数)。また、3 つのシャーレ(培地 5mL)には細胞 200 個をそれぞれ接種し、6~8 日間培養後コロニー数を計数した(コロニー形成率測定用)。

暴露濃度毎に 2 つのフラスコを用い、各条件において試験は 2 回実施した。また、同様の条件で無処理対照および溶媒対照(DMSO)を設けた。陽性対照物質は(-S9)条件ではメタンスルホン酸エチル(EMS)を、(+S9)条件ではジメチルベンズアントラセン(DMBA)を用いた。

各時点の細胞数やコロニー数から以下のパラメータを計算した。

- ・ 処理後の細胞生存率 = $\frac{\text{平均コロニー数 (処理培養)} \times 100}{\text{平均コロニー数 (溶媒対照培養)}}$
- ・ 発現期間中の細胞増殖速度 = 3 日間培養時細胞数 \times 6 日間培養時細胞数
- ・ コロニー形成率(CE) (%) = $\frac{\text{シャーレ当たり平均コロニー数} \times 100}{200}$

$$\cdot \text{変異の頻度}^* = \frac{\text{変異体コロニー総数} \times 100}{\text{評価したシャーレ数} \times 3 \times 10^5 \times \text{CE}}$$

*(細胞 10^6 個当たりの 6-TG 耐性コロニー数)

用量設定根拠；

結果：結果を次表に示す。

代謝活性化条件の有無に係わらず、検体処理による変異コロニー出現頻度の有意な上昇は認められなかった。検体処理群では、培地での溶解度の限界およびそれ以上で試験したが、細胞毒性影響は誘導されなかった。

(-S9) 条件下では $900 \mu\text{g/ml}$ 以上、(+S9) 条件下では $600 \mu\text{g/ml}$ 以上で検体の沈殿が認められた。

無処理および陰性対照における変異体出現頻度はいずれも正常な範囲内であった。陰性対照におけるコロニー形成は良好であった。

陽性対照の EMS (-S9) および DMBA (+S9) では、いずれも変異コロニーの顕著な増加を示した。

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変異原性は認められなかった。

表 試験結果 (1回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 mix	処理後の 細胞生存率 ^a	発現期間中の 細胞増殖速度 ^a	コロニー 形成率(%)	変異 コロニー数	変異の 頻度
無処理対照	0	-	110.4	225.7	66.0	1	0.6
			139.0	271.0	77.5	10	5.4
溶媒対照	0		100.0	100.0	74.3	3	1.7
			100.0	100.0	68.3	4	2.4
検体	75		115.0	90.3	76.2	4	2.2
			131.3	88.9	75.7	5	2.8
	150		92.2	140.2	61.7	4	2.7
			139.3	157.8	77.0	1	0.5
	300		116.3	133.5	70.5	4	2.4
			131.3	93.2	76.0	2	1.1
	600		106.8	221.7	79.0	6	3.2
			108.5	127.7	82.7	8	4.0
	900†		123.5	126.4	63.8	2	1.3
			86.0	94.7	84.0	4	2.0
	1200†	113.0	111.9	82.0	4	2.0	
		98.9	172.9	75.0	16	8.9	
陽性対照 EMS	900	94.1	89.0	45.5	241	220.7	
		51.8	89.3	59.8	871	606.5	
無処理対照	0	+	119.2	192.6	66.3	4	2.5
			142.3	132.6	53.0	3	2.4
溶媒対照	0		100.0	100.0	67.7	1	0.6
			100.0	100.0	65.8	5	3.6
検体	75		117.1	74.4	64.7	7	4.5
			123.7	127.1	61.3	4	2.7
	150		120.1	63.5	55.5	3	2.3
			118.3	71.2	51.5	1	0.8
	300		106.3	58.2	55.0	2	1.5
			121.1	105.3	67.7	5	3.1
	600†		131.1	114.2	64.0	2	1.3
			104.7	52.7	55.3	3	2.3
	900†		113.8	63.0	49.5	1	1.0
			112.0	97.5	48.0	2	1.7
	1200†	130.8	117.1	52.0	1	0.8	
		135.6	79.6	47.3	5	4.4	
陽性対照 DMBA	20	80.5	62.6	55.0	44	38.1	
		47.0	38.4	55.3	50	43.0	

† : 検体析出

a : 対照群に対する割合(%)

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

表 試験結果 (2回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 mix	処理後の 細胞生存率 ^a	発現期間中の 細胞増殖速度 ^a	コロニー 形成率(%)	変異 コロニー数	変異の 頻度
無処理対照	0	-	112.5	59.3	59.2	12	8.5
			134.0	167.2	59.0	6	4.2
溶媒対照	0		100.0	100.0	54.5	7	5.4
			100.0	100.0	60.2	12	8.3
検体	75		121.5	43.1	53.7	8	6.2
			124.3	173.6	53.3	5	3.9
	150		118.8	24.1	67.2	8	5.0
			107.8	111.3	52.5	6	4.8
	300		115.6	33.3	58.2	7	5.0
			94.1	102.7	49.8	5	4.2
600	111.4		53.0	53.5	3	2.3	
	114.6		145.3	55.2	7	5.3	
900†	119.6		47.9	60.7	8	5.5	
	118.3		74.3	67.5	5	4.1	
1200†	107.2	37.1	67.0	13	8.1		
	111.6	99.2	57.2	10	7.3		
陽性対照 EMS	900	23.1	12.6	28.0	199	296.1	
		34.5	25.1	42.0	190	215.4	
無処理対照	0	+	159.9	143.4	77.5	7	3.8
			159.0	258.4	79.2	8	4.8
溶媒対照	0		100.0	100.0	72.5	1	0.6
			100.0	100.0	76.8	0	0.0
検体	75		101.9	58.2	72.7	1	0.6
			102.0	79.5	64.3	0	0.0
	150		118.3	50.3	78.0	0	0.0
			145.2	109.6	64.0	1	0.7
	300		126.2	68.3	72.7	1	0.6
			90.2	87.0	64.5	2	1.3
600†	109.8		41.7	71.5	2	1.2	
	107.9		72.6	63.3	1	0.7	
900†	129.0		58.9	75.8	0	0.0	
	129.2		141.7	67.2	2	1.2	
1200†	159.3	71.4	73.3	1	0.6		
	105.9	206.4	67.7	0	0.0		
陽性対照 DMBA	20	125.9	26.7	69.0	55	38.0	
		88.2	71.8	60.7	68	46.7	

† : 検体析出

a : 対照群に対する割合 (%)

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

(4) の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料No. 代混-4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2009年

検体純度： % ()

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1537、TA100、TA98、TA102)を用い、ラットの肝臓から調製した代謝活性化系(S-9Mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、16、50、158、500、1581および5000 μg /プレートまでの6濃度を設定した。

陽性対照物質にはsodium azide (NaN_3)、nitrofurantoin (NF)、4-nitro-1,2-phenylene diamine (4-NPDA)、mitomycin C (MMC)、Cumene hydroperoxide (Cumene)、2-aminoanthracene (2-AA)を用いた。

試験は各濃度3連で2回実施し、2度目の試験では37°C・20分間のプレインキュベーションを行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を表1および2に示した。

最高濃度5000 μg /プレートでも細胞毒性は認めず、代謝活性化系の有無にかかわらず、復帰コロニー数の増加は認めなかった。また、500 μg /プレート以上で検体の沈殿を認めたが、すべての濃度で評価が可能であった。一方、各菌株での陽性対照物質に対しては顕著にコロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本検体は代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異誘発性を有さないものと判断される。

表1 復帰変異試験成績 (1回目試験)

プレート法

(3反復の平均値)

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9mix 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	TA102	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	111	7	227	44	6
検体	16		104	5	183	36	5
	50		108	7	214	35	5
	158		118	5	207	42	5
	†500		89	3	182	42	5
	†1581		90	6	172	30	6
	†5000		85	6	164	52	5
溶媒対照 (DMSO)	0	+	175	10	311	43	10
検体	16		152	12	296	45	9
	50		160	9	228	27	8
	158		187	9	292	47	7
	†500		127	11	301	45	6
	†1581		105	9	313	33	10
	†5000		101	7	303	35	11
陽性対照	NaN ₃	10		604			
		20		903			
	NF	0.2	373				
		0.4	587				
	4-NPDA	0.5				103	
		1				206	
		10					48
		20					78
	MMC	0.2			1048		
		0.4			1303		
2-AA	3	+	2332	100	1000	1712	89
	6		1554	83	1566	2099	32

† : 検体析出 空欄は該当なし

- NaN₃ : sodium azide
- NF : nitrofurantoin
- 4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine
- MMC : mitomycin C
- 2-AA : 2-aminoanthracene

表2 復帰変異試験成績 (2回目試験)

プレインキュベーション法

(3反復の平均値)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9mix 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	TA102	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	0	-	120	9	209	29	10
検体	16		120	7	198	29	11
	50		123	10	221	22	8
	158		135	8	243	20	9
	†500		123	7	192	18	5
	†1581		112	6	186	21	9
	†5000		127	9	202	20	11
溶媒対照 (DMSO)	0	+	158	10	302	30	10
検体	16		172	12	304	33	12
	50		154	11	306	30	11
	158		173	8	405	45	10
	†500		144	12	278	24	12
	†1581		157	8	344	25	10
	†5000		146	9	310	20	11
陽性 対照	NaN ₃	10		1158			
		20		1487			
	NF	0.2	598				
		0.4	1000				
	4-NPDA	0.5				81	
		1				175	
		10					48
		20					73
	Cumene	50			572		
		75			632		
	2-AA	3	+	3216	133	1015	1683
6		2374		69	1922	2725	52

† : 検体析出 空欄は該当なし

- NaN₃ : sodium azide
- NF : nitrofurantoin
- 4-NPDA : 4-nitro-1,2-phenylene diamine
- Cumene : Cumene hydroperoxide
- 2-AA : 2-aminoanthracene

(5) のチャイニーズハムスターV79細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. 代混-5)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：2009年

検体純度： % ()

投与方法：チャイニーズハムスターV79細胞を用い、代謝活性化存在下 (+S9 mix) および非存在下 (-S9 mix) において染色体異常誘発性を検定した。
 検体はDMSOに溶解して用いた。
 培養は2連で実施し、1濃度あたり200個の分裂中期像について観察した。

用量設定根拠：

以上の結果に基づき、4時間処理、18時間目回収条件 (-S9 および+S9) ならびに18時間処理、18時間目回収条件 (-S9) で15, 30 および60 $\mu\text{g/ml}$ 、4時間処理、30時間目回収条件では (-S9 および+S9) 60 $\mu\text{g/ml}$ の用量で実施し、評価した。

試験濃度を以下の表にまとめた。

検体濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	S9	処理	回収	検体濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	S9	処理	回収
15	-	4hr	18hr	15	-	18hr	18hr
30				30			
60				60			
15	+	4hr	18hr				
30							
60							
60	-	4hr	30hr				
60	+	4hr	30hr				

試験結果：結果を次頁の表に示した。

代謝活性化の有無に関わらず検体の何れの処理においても、異常を有する分裂中期細胞数に生物学的に有意な増加は検出されなかった。

なお S9 mix 非存在下、18 時間処理、回収 18 時間の 30 μ g/ml でのみ認められた統計学的有意差は濃度と関係がなく、背景値の範囲を超えるものでなかったため、意義のあるものとはみなさなかった。

S9 mix の非存在下 4 時間処理 30 μ g/ml 以上および 18 時間処理 60 μ g/ml で培地に被験物質の沈殿がみられた。S9 mix の非存在下および存在下、4 時間処理の 60 μ g/ml で細胞形態の変化を認めた。

陽性対照のマイトマイシン C およびシクロホスファミドは明白な染色体異常を誘発し、試験系の感受性ならびに使用した S9 mix の活性が確認された。

以上の結果に基づき、検体は本試験条件において哺乳動物細胞に対して染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

結果：

薬物	濃度 (μg / ml)	S9 mix	処理 時間	回収 時間	観 察 細 胞 数	異常の分類											異常細胞 (%)		
						染色分体型				染色体型				その他			ギャップ		
						g	b	f	d	ig	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含 む	除 外
溶媒対照	0					0	1	0	0	0	1	0	3	1	0	0	0	3.0	3.0
検体	15	-	4	18	200	0	1	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3.0	3.0
	30					0	2	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	2.0	2.0
	60					0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2.0	2.0
MMC	0.1					2	17	0	0	2	23	1	3	34	1	0	0	32.5	32.0**
溶媒対照	0					0	0	0	0	0	1	0	2	2	1	0	0	2.5	2.5
検体	15	+	4	18	200	0	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	0	2.0	1.5
	30					0	0	0	0	0	1	0	4	4	0	0	0	3.0	3.0
	60					0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	1.5	1.5
CP	2					0	32	3	0	0	37	9	3	66	0	0	0	45.5	45.5**
溶媒対照	0					0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	2.5	2.5	
検体	60	-	4	30	200	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1.5	1.5	
溶媒対照	0					0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1.0	1.0	
検体	60	+	4	30	200	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1.5	1.5	
溶媒対照	0					0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	1.5	1.5	
検体	15	-	18	18	200	0	1	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	3.0	3.0
	30					3	1	0	0	0	1	0	7	3	0	0	0	5.0	5.0*
	60					0	1	0	0	0	1	0	3	1	0	0	0	3.0	3.0
MMC	0.03					1	27	1	0	6	16	1	11	21	1	0	0	33.0	31.0**

** : $p < 0.01$ (カイ二乗検定)

MMC : マイトマイシンC、 CP : シクロホスファミド

g : 染色分体型ギャップ	ig : 染色体型ギャップ	ex : 交換
b : 染色分体型切断	ib : 染色体型切断	maE : 交換を含む重複異常
f : 染色分体型断片	if : 染色体型断片	ma : 重複異常
d : 染色分体型欠失	id : 染色体型欠失	cd : 染色体破損

背景値範囲 (1999~2008年/ 122試験)	
異常細胞 (%) (ギャップは除外)	0.0~8.5

(-S9, 18時間処理、回収18時間、DMSO)

(6) のチャイニーズハムスターV79 細胞を用いた HPRT 前進突然変異
試験

(資料 No. 代混-6)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：2009年

検体純度： % ()

試験方法： 4×10^6 個の V79 細胞をフラスコ中の培地に接種し、16~24 時間培養した。接着後、DMSO で各濃度（用量設定根拠参照）に溶解した検体を含む培地中で代謝活性化(+S9)および非活性化(-S9)条件でそれぞれ 5 時間暴露した。暴露終了後、単層の細胞を PBS で洗浄後、トリプシン処理してシャーレまたはフラスコに再接種した。

シャーレ(培地 5mL)への再接種は 3 枚に各 200 個の細胞を接種し、6~8 日間培養後コロニー数を計数して、暴露後の細胞毒性を判定した(処理後の細胞生存率)。

フラスコ(培地 20mL)への再接種は 1.5×10^6 個の細胞を接種し、細胞増殖と誘発変異株の発現のために 6 日間培養（発現期間）した(3 日間培養後に別のフラスコに再接種して継代した)。その後、変異株選抜のため、6-チオグアニン(6-TG)を $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 含有し、ヒポキサンチン無含有の培地 20mL を入れた 8 つのシャーレに 3×10^5 個の細胞を接種し、6~8 日間培養し、コロニー数を計数した(6-TG 耐性コロニー数)。また、3 つのシャーレ(培地 5mL)には細胞 200 個をそれぞれ接種し、6~8 日間培養後コロニー数を計数した(コロニー形成率測定用)。

暴露濃度毎に 2 つのフラスコを用い、各条件において試験は 2 回実施した。また、同様の条件で無処理対照および溶媒対照(DMSO)を設けた。陽性対照物質は(-S9)条件ではメタンスルホン酸エチル(EMS)を、(+S9)条件ではジメチルベンズアントラセン(DMBA)を用いた。

各時点の細胞数やコロニー数から以下のパラメータを計算した。

- ・ 処理後の細胞生存率 = $\frac{\text{平均コロニー数 (処理培養)} \times 100}{\text{平均コロニー数 (溶媒対照培養)}}$
- ・ 発現期間中の細胞増殖速度 = $\frac{\text{3 日間培養時細胞数} \times \text{6 日間培養時細胞数}}{\text{3 日間培養時細胞数}}$
- ・ コロニー形成率(CE) (%) = $\frac{\text{シャーレ当たり平均コロニー数} \times 100}{200}$

$$\cdot \text{変異の頻度}^* = \frac{\text{変異体コロニー総数} \times 100}{\text{評価したシャーレ数} \times 3 \times 10^5 \times \text{CE}}$$

*(細胞 10^6 個当たりの 6-TG 耐性コロニー数)

用量設定根拠；

結果：結果を次表に示す。

代謝活性化条件の有無に係わらず、検体処理による変異コロニー出現頻度の有意な上昇は認められなかった。検体処理群では、培地での溶解度の限界およびそれ以上で試験したが、細胞毒性影響は誘導されなかった。

(-S9) 条件下では $60 \mu\text{g/ml}$ で検体の沈殿が認められた。

無処理および陰性対照における変異体出現頻度はいずれも正常な範囲内であった。陰性対照におけるコロニー形成は良好であった。

陽性対照の EMS (-S9) および DMBA (+S9) では、いずれも変異コロニーの顕著な増加を示した。

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変異原性は認められなかった。

表 試験結果 (1回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix	処理後の 細胞生存率 ^a	発現期間中の 細胞増殖速度 ^a	コロニー 形成率(%)	変異 コロニー数	変異の 頻度
無処理対照	0	-	112.1	166.8	62.2	1	0.7
			135.5	118.9	58.3	2	1.4
溶媒対照	0		100.0	100.0	66.2	3	1.9
			100.0	100.0	57.5	3	2.2
検体	3		109.2	103.6	64.5	0	0.0
			111.1	68.2	63.0	3	2.0
	6		117.8	120.7	60.3	0	0.0
			110.8	81.0	50.5	2	1.7
	12		87.9	111.1	56.7	2	1.5
			138.0	70.7	62.7	2	1.3
	24		101.7	129.7	54.5	2	1.5
			112.0	87.5	55.2	2	1.5
36	102.6		109.6	53.8	2	1.5	
	91.3		60.5	65.0	0	0.0	
48	120.5	117.3	51.8	4	3.2		
	101.8	76.8	62.2	1	0.7		
60†	110.4	95.6	54.7	5	3.8		
	94.0	82.0	60.3	1	0.7		
陽性対照 EMS	900	25.1	27.2	55.7	812	607.8	
		18.4	19.1	33.8	407	501.2	
無処理対照	0	+	76.1	112.2	63.2	2	1.3
			92.5	191.9	66.0	5	3.2
溶媒対照	0		100.0	100.0	67.8	3	1.8
			100.0	100.0	58.2	11	7.9
検体	3		93.5	74.2	61.5	5	3.4
			93.3	122.3	65.2	3	1.9
	6		82.6	55.1	64.5	2	1.3
			84.0	97.1	58.8	4	2.8
	12		80.1	54.4	69.0	3	1.8
			98.3	201.3	64.0	4	2.6
	24		92.4	58.2	53.7	1	0.8
			86.0	126.7	73.7	2	1.1
36	99.4		65.6	74.2	4	2.2	
	95.6		159.6	71.7	0	0.0	
48	92.2	78.9	62.8	7	4.6		
	90.2	169.1	67.5	5	3.1		
60	95.4	69.7	71.3	3	1.8		
	86.7	181.0	72.0	3	1.7		
陽性対照 DMBA	20	59.8	38.1	55.3	173	130.3	
		60.0	81.8	46.3	137	123.2	

† : 検体析出

a : 対照群に対する割合 (%)

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

表 試験結果 (2回目)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 mix	処理後の 細胞生存率 ^a	発現期間中の 細胞増殖速度 ^a	コロニー 形成率(%)	変異 コロニー数	変異の 頻度
無処理対照	0	-	101.8	107.9	62.3	7	4.7
			120.0	162.5	76.5	9	4.9
溶媒対照	0		100.0	100.0	65.7	8	5.1
			100.0	100.0	55.2	5	3.8
検体	3		108.4	91.4	61.7	2	1.4
			101.4	102.7	54.7	4	3.0
	6		90.7	150.0	54.3	1	0.8
			90.9	89.8	59.3	5	3.5
	12		114.9	102.4	60.7	4	2.7
			104.0	54.0	72.7	6	3.4
	24		128.6	90.2	61.8	4	2.7
			93.3	80.8	63.0	4	2.6
36	128.7		77.9	64.2	4	2.6	
	115.8		113.1	63.7	4	2.6	
48	118.5	81.6	55.7	4	3.0		
	92.1	99.5	68.0	1	0.6		
60†	117.6	74.0	60.2	2	1.4		
	94.0	86.1	62.3	3	2.0		
陽性対照 EMS	900	17.9	28.4	34.2	256	312.2	
		17.0	28.8	37.5	199	221.1	
無処理対照	0	+	102.2	129.8	65.3	1	0.6
			116.4	126.2	59.2	1	0.7
溶媒対照	0		100.0	100.0	58.0	1	0.7
			100.0	100.0	59.7	4	2.8
検体	3		94.4	75.3	66.5	1	0.6
			111.9	98.5	55.3	1	0.8
	6		94.9	71.0	68.5	0	0.0
			103.2	93.7	65.5	2	1.3
	12		91.0	95.8	63.0	1	0.7
			95.8	89.6	68.3	1	0.6
	24		84.5	91.9	63.3	1	0.7
			93.9	87.7	56.7	0	0.0
36	97.8		91.7	65.8	6	3.8	
	96.8		74.5	59.5	1	0.7	
48	97.6	94.7	69.5	1	0.6		
	115.1	88.3	56.0	1	0.7		
60	119.1	75.6	62.5	1	0.7		
	105.6	58.9	65.7	4	2.5		
陽性対照 DMBA	20	99.8	59.7	57.3	119	86.5	
		99.2	47.2	54.0	59	45.5	

† : 検体析出

a : 対照群に対する割合 (%)

EMS : メタンサルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

C. 製剤を用いた試験成績

(1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

(2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

(3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

(4)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

(5)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

(6)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

(7) 22.7%フロアブルのラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-7)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検 体：ペンフルフェン 22.7%フロアブル

供試動物：Hsd Cpb: WU 系 Wistar ラット 各段階 1 群雌 3 匹
投与開始時約 8~12 週齢、体重 173~204g

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を水道水で希釈し、10ml/kg の投与容量で、単回強制経口投与した。
動物は投与 16~24 時間前から投与 2~4 時間後まで絶食させた。

観察・検査項目：投与当日は数回、以降毎日 1 回以上一般症状を観察し、生死を確認した。投与直前および投与 7、14 日目に体重を測定した。全動物について剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	>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	症状認められず
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

投与の影響は認められなかった。

(8) 22.7%フロアブルのラットにおける急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-8)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検 体：ペンフルフェン 22.7%フロアブル

供試動物：Hsd Cpb: WU 系 Wistar ラット 1 群雌雄各 5 匹

投与開始時約 9~13 週齢、体重 雄：291~301g、雌：233~249g

観察期間：14 日間

投与方法：検体をガーゼパッド (6.0 cm×5.0 cm=30 cm²) に塗布し、刈毛したラットの背部に半閉塞固定した。24 時間後、ガーゼパッドを取り除き、石けんを使用して暴露部位をぬるま湯で洗浄した。

観察・検査項目：投与当日は数回、以降毎日 1 回以上一般症状を観察し、生死を確認した。投与直前および投与 7、14 日目に体重を測定した。全動物について剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	雌雄；>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	臨床症状および皮膚反応は認められなかった。
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

投与の影響は認められなかった。

(9) ペンフルフェン 22.7%フロアブルのラットにおける急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-9)

試験成績の提出除外

本剤についての吸入毒性試験成績は、「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)の運用についての「4. 試験成績の提出の除外について」(2) ③のイの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(10) 22.7%フロアブルのウサギを用いた皮膚刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-10)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検 体：ペンフルフェン 22.7%フロアブル

供試動物：Cr1:KBL(NZW)系アルビノウサギ 1群雌3匹

投与開始時体重 2.9 kg~3.0kg

観察期間：14日間

投与方法：検体 0.5ml をガーゼに添付し刈毛した背部の皮膚（約 2.5cm×2.5cm）に半閉塞で貼付した。暴露時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水を用いて洗浄した。1匹目の動物に対しては3段階（暴露時間3分、1時間および4時間）で処理し、4時間の暴露時間が動物愛護の観点から適正であることを確認した。

観察項目：暴露終了1時間、24時間、48時間、72時間、7日後および14日後に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無を観察し、以下の Draize の評価基準に従って評価した。

紅斑および痂皮形成：

- ・ 紅斑なし..... 0
- ・ 極軽度の紅斑（辛うじて識別される）..... 1
- ・ 明確な紅斑..... 2
- ・ 中等度から重度の紅斑..... 3
- ・ 重度の紅斑（beet redness）から軽度の痂皮形成（深部を傷害） 4

浮腫形成：

- ・ 浮腫なし..... 0
- ・ 極軽度の浮腫（辛うじて識別される）..... 1
- ・ 軽度の浮腫（輪郭が明瞭に隆起し、明確に識別される） 2
- ・ 中等度の浮腫（約1mm隆起）..... 3
- ・ 重度の浮腫（1mm以上隆起し暴露部位より広がっている） 4

結果：結果を下表に示す。

紅斑・痂皮及び浮腫の刺激性変化は認められなかった。

動物 1, 2 では処理後 7 日目、動物 3 では処理後 14 日目まで処理部位皮膚に赤色着色が認められたが、被験物質による着色^{注)} であり刺激性に関連した所見とはみなさなかった。

^{注)} 申請者注：試験製剤は赤色色素を含有している。

動物	項目	最高 評点	暴露後時間					
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	14 日
1	紅斑・痂皮	4	*0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	*0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	*0	*0	*0	*0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0	0	0

*被験物質による適用部位の着色により紅斑については評価できなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと判断された。

(11) 22.7%フロアブルのウサギを用いた眼刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-11)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検 体：ペンフルフェン 22.7%フロアブル

供試動物：Cr1:KBL(NZW)BR 系アルビノウサギ 1 群雌 3 匹

投与開始時体重 3.0 kg~3.2 kg

観察期間：72 時間

投与方法：片眼の下眼瞼を緩やかにつまみ眼球から離し検体 0.1ml を結膜嚢に適用した。約 1 秒間、上下の眼瞼を合わせ検体の漏逸を防いだ。もう片方の眼は対照として扱った。検体の施用約 24 時間後に洗眼した。

観察項目：適用後 1 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間に結膜、虹彩、角膜の刺激性変化を観察し、以下の Draize の評価基準に従って採点した。

結膜病変及び分泌物

浮腫（眼瞼結膜及び瞬膜）

- ・ 腫脹なし..... 0
- ・ 正常を越える腫脹（瞬膜を含む）..... 1
- ・ 眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹..... 2
- ・ 眼瞼の1/2未満の閉鎖を伴った腫脹..... 3
- ・ 眼瞼の1/2異常の閉鎖を伴った腫脹..... 4

発赤（眼瞼及び眼球結膜、角膜、虹彩）

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

虹彩

- ・ 正常..... 0
- ・ 明瞭なひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、これらのいずれか又は組み合わせ、虹彩はまだ光に反応する（反応は遅く鈍い）..... 1
- ・ 対光反応消失、出血、著しい組織崩壊..... 2

角膜混濁

混濁の程度（最も濃い部分で判定する）

- ・ 潰瘍又は混濁を認めない..... 0
- ・ 散在性又はびまん性の混濁（通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる。）、虹彩の細部は明瞭に透視可能..... 1
- ・ 透明な部分は残っているが、虹彩の全体がやや不明瞭..... 2
- ・ 真珠様光沢部位があり、虹彩の細胞は不明で瞳孔の大きさが辛うじて見分けられる..... 3
- ・ 角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない..... 4

混濁の範囲

- ・ 0より多く1/4以下..... 1
- ・ 1/4より多く1/2以下..... 2
- ・ 1/2より多く3/4以下..... 3
- ・ 3/4より多く全体以下..... 4

結 果：

項 目			最高 評点	適用後時間						
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	Mi*		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩			2	0	0	0	0	0
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0	
			浮 腫	4	0	0	0	0	0	
		動物 番号 2	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
	面 積			4	0	0	0	0	0	
	虹 彩			2	0	0	0	0	0	
	結 膜		発 赤	3	0	0	0	0	0	
			浮 腫	4	0	0	0	0	0	
	動物 番号 3		角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		面 積		4	0	0	0	0	0	
虹 彩			2	0	0	0	0	0		
結 膜		発 赤	3	0	0	0	0	0		
		浮 腫	4	0	0	0	0	0		
合 計			51	0	0	0	0	0		
平 均			17	0	0	0	0	0		

* 24～72 時間目の平均スコア

いずれの動物にも投与の影響は認められなかった。

以上より、検体は非刺激性と分類された。

(12) 22.7%フロアブルの皮膚感作性

(毒性資料 No. 製剤-12)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

検 体：ペンフルフェン 22.7%フロアブル

供試動物：CBA/J系マウス 1群雌5匹 投与開始時8週齢以上

投与期間：3日間

試験方法：[LLNA 法]

検体を 25、50 および 100%の濃度で 1% Pluronic Acid L92®水溶液に希釈し、各群 5 匹の雌マウスの両耳介外表面に左右各 25µL ずつ 3 日間(試験 0~2 日目)毎日 1 回処理した。溶媒のみ、および 30%α-ヘキシル桂皮アルデヒド(HCA)をそれぞれ別の群に処理し、陰性対照および陽性対照群とした。処理部位皮膚の局所刺激反応の有無、動物の生死、一般状態について毎日観察し、体重を測定した。

試験 5 日目に、20µCi の[メチル-³H]-チミジンを含む 0.9%食塩水 250µL を各動物の尾部より静注し、5 時間後にマウスをと殺し、両耳介リンパ節を採取した。各動物に耳介リンパ節の DPM を測定し、以下の式より各試験群の刺激指数(SI)を求めた。

$$SI = \frac{\text{各試験群の DPM}}{\text{陰性対照群 DPM}}$$

投与群で処理部位に刺激反応が認められず、SI が 3 以上かつ用量相関性が認められた場合に被験物質の感作性を疑った。

結果：

死亡および臨床症状：試験期間中動物の死亡および一般状態の変化は認められなかった。いずれの群においても投与部位の皮膚反応は見られなかった。

体重： 投与の影響は認められなかった。

増殖評価：各群の増殖活性(DPM/リンパ節)および刺激指数は下表の通りであった。

群番号	薬剤	濃度(%)	DPM/リンパ節	SI
1	陰性対照	0	307.1	-
2	検体	25	275.8	0.9
3		50	279.9	0.9
4		100	239.9	0.8
5	陽性対照(HCA)	30	1174.7	3.8

検体による SI はいずれも 3 未満であった。一方、陽性対照の HCA では SI>3 であり、感作性を示した。

以上の結果、本試験において検体は非感作性物質と判断された。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	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	動物代謝 吸収、分布、代謝、排泄 フェニル標識	ラット	<p>単回経口投与 2mg/kg、雄雌(各4匹) (試験群1,2)</p> <p>200mg/kg、雄(4匹) (試験群3)</p> <p>投与72時間後に屠殺</p> <p><u>胆汁排泄/単回経口投与</u> 2mg/kg、雄(4匹) (試験群4)</p> <p>投与48時間後に屠殺</p> <p>尿、胆汁、糞、血漿を経時的に採取。 屠殺後に赤血球、血漿、臓器及び組織^{b)}、皮膚、カーカス、胃腸管を採取。</p> <p>b) 試験群1,2,3の脾臓、肝臓、腎臓、腎周囲脂肪、副腎、精巣、卵巣、子宮、骨格筋、大腿骨、心臓、肺、脳、甲状腺</p>	<p><吸収率、試験群1,2,3> 吸収率は投与量の93.89%で、投与放射能はほぼ完全に吸収された。</p> <p><血漿中動態、試験群1,2,3> 血漿中薬物動態パラメータ/t_{max}(時間)、C_{max}($\mu\text{g/g}$)、$t_{1/2\ elim}$(時間)、$AUC_{0-\infty}$($\mu\text{g/g}\times$時間)を下表に示す。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>mg/kg</th> <th colspan="2">2/単回</th> <th>200/単回</th> </tr> <tr> <th>性/群</th> <th>雄/1</th> <th>雌/2</th> <th>雄/3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>t_{max}</td> <td>0.67</td> <td>1.00</td> <td>1.5</td> </tr> <tr> <td>C_{max}</td> <td>0.74</td> <td>0.75</td> <td>19.19</td> </tr> <tr> <td>$t_{1/2\ elim}$</td> <td>23.6</td> <td>20.4</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>$AUC_{0-\infty}$</td> <td>2.5</td> <td>3.6</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p><臓器及び組織への分布、試験群1,2,3> 試験終了時の放射能濃度は、いずれの試験群においても低かった。そのうち、肝臓への分布が比較的高かった。</p> <p><代謝、試験群1,2,3,4> 親化合物ベンゾフルフェン[P]はラット体内で著しく代謝され、0.03%-1.79%が試験群1-4の糞中から見出されたに過ぎなかった。尿中の主要代謝物として検出されたのは、</p> <p><排泄> 試験終了時までには胆汁排泄群では投与量の96.11%、他の試験群では93.27-94.71%が排泄された。試験終了時の放射能分布(投与量に対する%)を下表に示す。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>mg/kg</th> <th colspan="2">2/単回</th> <th colspan="2">200/単回</th> </tr> <tr> <th>性/群</th> <th>雄/1</th> <th>雌/2</th> <th>雄/3</th> <th>雌/4</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>29.37</td> <td>50.23</td> <td>34.79</td> <td>21.54</td> </tr> <tr> <td>胆汁</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>72.01</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>70.22</td> <td>49.15</td> <td>63.34</td> <td>5.38</td> </tr> <tr> <td>体内</td> <td>0.41</td> <td>0.63</td> <td>1.87</td> <td>1.07</td> </tr> </tbody> </table>	mg/kg	2/単回		200/単回	性/群	雄/1	雌/2	雄/3	t_{max}	0.67	1.00	1.5	C_{max}	0.74	0.75	19.19	$t_{1/2\ elim}$	23.6	20.4	-	$AUC_{0-\infty}$	2.5	3.6	-	mg/kg	2/単回		200/単回		性/群	雄/1	雌/2	雄/3	雌/4	尿	29.37	50.23	34.79	21.54	胆汁	-	-	-	72.01	糞	70.22	49.15	63.34	5.38	体内	0.41	0.63	1.87	1.07	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2009年) [GLP]	代-25
mg/kg	2/単回		200/単回																																																									
性/群	雄/1	雌/2	雄/3																																																									
t_{max}	0.67	1.00	1.5																																																									
C_{max}	0.74	0.75	19.19																																																									
$t_{1/2\ elim}$	23.6	20.4	-																																																									
$AUC_{0-\infty}$	2.5	3.6	-																																																									
mg/kg	2/単回		200/単回																																																									
性/群	雄/1	雌/2	雄/3	雌/4																																																								
尿	29.37	50.23	34.79	21.54																																																								
胆汁	-	-	-	72.01																																																								
糞	70.22	49.15	63.34	5.38																																																								
体内	0.41	0.63	1.87	1.07																																																								

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	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-2	動物代謝 吸収、分布、代謝、排泄 ピラゾール標識	ラット	<p>単回経口投与 2mg/kg、雄(4匹) (試験群1)</p> <p>投与72時間後に屠殺</p> <p>尿、糞、血漿を経時的に採取。 屠殺後に赤血球、血漿、臓器及び組織(a)、皮膚、カーカス、胃腸管を採取。</p> <p>a)脾臓、肝臓、腎臓、腎周囲脂肪、副腎、精巣、骨格筋、大腿骨、心臓、肺、脳、甲状腺</p>	<p><吸収率、試験群1> 吸収率は算出しなかった。投与放射能は短時間に吸収された。</p> <p><血漿中動態、試験群1> 血漿中薬物動態パラメータ/t_{max}(時間)、C_{max}(μg/g)、$t_{1/2\ elim}$(時間)、$AUC_{0-\infty}$(μg/g\times時間)等を下表に示す。</p> <table border="0"> <tr> <td>mg/kg</td> <td>2/単回</td> </tr> <tr> <td>性/群</td> <td>雄/1</td> </tr> <tr> <td>t_{max}</td> <td>0.67</td> </tr> <tr> <td>C_{max}</td> <td>0.59</td> </tr> <tr> <td>$t_{1/2\ elim}$</td> <td>23.1</td> </tr> <tr> <td>$t_{1/2\ abs}$</td> <td>0.07</td> </tr> <tr> <td>$AUC_{0-\infty}$</td> <td>2.4</td> </tr> </table> <p><臓器及び組織への分布、試験群1> 試験終了時の放射能濃度は、いずれの臓器・組織においても低かった。親化合物換算濃度が最も高かったのは、肝臓で(約0.044 μg/g)、次いで赤血球(約0.037 μg/g)、甲状腺(約0.019 μg/g)、腎臓(約0.017 μg/g)であった。その他の器官・組織では、約0.002 から0.007 μg/gであった。</p> <p><代謝></p> <p><排泄> 主要排泄経路は糞で、投与72時間後までに、投与放射能の66.59%が糞中に、27.61%が尿中には排泄された。これらの合計、94.20%の放射能が、投与72時間後までに排泄された。体内残留放射能(0.40%)から、投与放射能は、72時間後までにほぼ排泄されたことが示された。試験終了時の放射能分布(投与量に対する%)を下表に示す。</p> <table border="0"> <tr> <td>mg/kg</td> <td>2/単回</td> </tr> <tr> <td>性/群</td> <td>雄</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td>66.59</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>27.61</td> </tr> <tr> <td>体内</td> <td>0.400</td> </tr> </table>	mg/kg	2/単回	性/群	雄/1	t_{max}	0.67	C_{max}	0.59	$t_{1/2\ elim}$	23.1	$t_{1/2\ abs}$	0.07	$AUC_{0-\infty}$	2.4	mg/kg	2/単回	性/群	雄	尿	66.59	糞	27.61	体内	0.400	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2009年) [GLP]	代-38
mg/kg	2/単回																													
性/群	雄/1																													
t_{max}	0.67																													
C_{max}	0.59																													
$t_{1/2\ elim}$	23.1																													
$t_{1/2\ abs}$	0.07																													
$AUC_{0-\infty}$	2.4																													
mg/kg	2/単回																													
性/群	雄																													
尿	66.59																													
糞	27.61																													
体内	0.400																													

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	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3	動物代謝 定量的全身オートラジオグラフィ フェニール標識	ラット	単回経口投与 3.7mg/kg、雄(8匹) (試験群1) 5.1mg/kg、雌(8匹) (試験群2) 投与1、4、8、24、 48(雌)、72、120、168 時間後に屠殺。 尿、糞、呼気を経時的に採取。	<臓器及び組織への分布> 雄：投与放射能は速やかに体内に広く分布し、鼻粘膜で4時間後に最高濃度を示した以外は、全ての臓器・組織において1時間後に最高濃度に達した。肝臓と腎臓で比較的高い放射能濃度が認められたが、速やかに減衰した。 雌：投与放射能は速やかに体内に広く分布し、全ての臓器・組織において1時間後に最高濃度に達した。肝臓、腎臓、副腎、褐色脂肪で比較的高い放射能濃度が認められたが、速やかに減衰した。 <排泄> 雄：投与120時間後までに糞中に最大67.50%、投与168時間後までに尿中に最大33.45%の放射能が排泄された。呼気へは、48時間後までに<0.06%の放射能が見出された。 雌：投与120時間後までに尿中に最大59.54%、糞中に最大40.96%が排泄された。呼気へは、48時間後までに<0.009%の放射能が見出された。	Bayer CropScience AG (トイッ) (2009年) [GLP]	代-48
代4	動物代謝 定量的全身オートラジオグラフィ ピラゾール標識	ラット	単回経口投与 5.31mg/kg、雄(8匹) (試験群1) 5.42mg/kg、雌(8匹) (試験群2) 投与1、4、8、24、48、 72、120、168時間後に屠殺。 尿、糞、呼気を経時的に採取。	<臓器及び組織への分布> 雄：投与放射能は速やかに体内に広く分布し、全ての臓器・組織において1時間後に最高濃度に達した。肝臓と腎臓で比較的高い放射能濃度が認められたが、速やかに減衰した。 雌：投与放射能は速やかに体内に広く分布し、全ての臓器・組織において1時間後に最高濃度に達した。肝臓、腎臓、Harder腺、褐色脂肪、副腎で比較的高い放射能濃度が認められたが、速やかに減衰した。 <排泄> 雄：投与72時間後までに糞中に最大64.61%、尿中に最大33.93%の放射能が排泄された。呼気へは、48時間後までに<0.069%の放射能が見出された。 雌：投与72時間後までに糞中に最大61.24%、尿中に最大57.37%が排泄された。呼気へは、48時間後までに<0.051%の放射能が見出された。	Bayer CropScience AG (トイッ) (2009年) [GLP]	代-55

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

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-15	好氣的 湛水土 壤代謝 フェニ ル標識 ピラゾ ール 標識	1種類 の水田 土壌 砂壤土	処理量：0.25 kg/ha 試験温度： 25°C±2°C 暗黒下 試験期間：185日間	<代謝分解> ペンフルフェン[P]の代謝変換は、主に結合性 (非抽出性)残留物の生成で、顕著な抽出性代謝成分の生成は無かった。 <推定半減期> 親化合物[P]：1年以上	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2009年) [GLP]	代 -143
代-16	好氣的 土壌 代謝 フェニ ル標識	4種類 の畑地 土壌 シルト質 壤土 砂壤土 壤土	処理量： 647-698 µg a.i /kg 乾土重 試験温度： 19.7±0.2°C 暗黒下 試験期間：120日間	<代謝分解> 試験終了時に親化合物[P]は処理放射エネルギーの49.4-70.6%残存した。 ¹⁴ CO ₂ が1.5-6.5%、揮発性有機物は<0.1%であった。未抽出放射能は時間の経過と共に増加して、試験終了時に11.4-19.3%であった。 <推定半減期> 親化合物[P] 117 - 459日(平均191日)	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2007年) [GLP]	代 -150
代-17	好氣的 土壌 代謝 フェニ ル標識 ピラゾ ール標 識	2種類 の畑地 土壌 シルト質 壤土 砂壤土	処理量：0.11±0.01 µg a.i /g =250 g a.i./ha 試験温度：25°C ±1°C 暗黒下 試験期間：365日間	<代謝分解> シルト質壤土：試験終了時に親化合物[P]は処理放射エネルギーの約40-43%残存した。 。試験終了時に非抽出性放射能残留は約24-25%に、二酸化炭素は約8-10%試験終了まで生成した。 砂壤土：試験終了時に親化合物[P]は処理放射エネルギーの約54-55%残存した。 。試験終了時に非抽出性放射能残留は約18-21%に、二酸化炭素は約8-10%試験終了まで生成した。 <推定半減期> 親化合物[P] 249日：シルト質壤土 432日：砂壤土	Bayer CropScience AG (米国) (2009年) [GLP]	代 -159
代-18	嫌氣的 土壌 代謝 フェニ ル標識 ピラゾ ール標 識	1種類 の畑地 土壌 シルト質 壤土	処理量： 667-695 µg a.i /kg 乾土重 [好気段階] 試験温度：約20°C 暗黒下 試験期間：30日間 [嫌気段階：湛水] 試験温度：約20°C 暗黒下 試験期間：184日間	<代謝分解> 試験終了時に親化合物[P]は処理放射エネルギーの約70-74%残存した。 試験終了時に非抽出性放射能残留は約15%となった。 <推定半減期> 親化合物[P]：1年以上	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2008年) [GLP]	代 -169

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-19	加水分解 フェニ ル標識	滅菌 緩衝液	pH: 4、7、9 試験濃度: 1 mg/L 試験温度: 50°C 試験期間: 7日間	<分解> いずれのpHにおいても親化合物[P]は処理放射能の97%以上残存した。	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2008年) [GLP]	代 -176
代-20	水中 光分解 フェニ ル標識 ピラゾ ール標 識	滅菌 緩衝液	pH: 7 試験濃度: 1 mg/L 試験温度: 25±1°C 光源: キセノンランプ 光強度: 1085-1090W/m ² (300-800nm) 試験期間: 137.5時間	<分解> 試験終了時に親化合物[P]は処理放射能の71-85%残存した。 <推定半減期> 両標識体平均: 17.3日 [84.5日*、130.9日**、163.6日***] 太陽光換算(*フェニックス、**アテネ、***東京: 5月)	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2009年) [GLP]	代 -178
代-21	水中 光分解 フェニ ル標識 ピラゾ ール標 識	滅菌 自然水 (ライ川)	pH: 7.8 試験濃度: 1 mg/L 試験温度: 25°C 光源: キセノンランプ 光強度: フェニル標識体: 1078及び1064 W/m ² (波長範囲 300-800nm) ピラゾール標識体: 1077及び1078 W/m ² (300-800nm) 試験期間: 70時間	<代謝分解> 試験終了時に親化合物[P]は処理放射能の57.6-62.5%残存した。 ¹⁴ CO ₂ がフェニル標識で最高0.7%検出された。 <推定半減期> フェニル標識体: 4.46日 [41.4日*] ピラゾール標識体: 3.50日 [32.7日*] 太陽光換算(*東京、5月)	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2009年) [GLP]	代 -183
代-22	土壌 吸着性 フェニ ル標識 ピラゾ ール標 識	5種類 の非火 山灰土 壌 砂壤土 シルト質 壤土 壤質砂 土 埴壤土	試験濃度: 0.01-1.0 mg/L 試験温度: 20±1°C 土壌水比: 1/10 平衡化時間: 24時間 暗黒下	<吸着係数> K _F ^{ads} = 2.705-6.099 K _F ^{ads} _{oc} = 209.6-409.5	Bayer CropScience AG (ドイツ) (2006年) [GLP]	代 -188
代-23	土壌 吸着性 非標識 原体 (99.2%)	1種類 の火山 灰土壌 黒ボク 土	試験濃度: 0.01-1.0 mg/L 試験温度: 25±1°C 土壌水比: 1/10 平衡化時間: 24時間 暗黒下	<吸着係数> K _F ^{ads} = 15.1 K _F ^{ads} _{oc} = 334	(株)日曹 分析センター (2010年) [GLP]	代 -191

<代謝分解物一覧>

記号	由来	名称	化学名	構造式
P	親化合物	ペンフルフェン BYF14182	<i>N</i> -[2-(1,3-ジメチルチazol-5-フルオロ-1,3-ジメチル-1 <i>H</i> -ピラゾール-4-カルボキシル)フェニル]プロパン-2-イルアミン	
			2'-[(<i>RS</i>)-1,3-ジメチルチazol-5-フルオロ-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキシル]	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称	化学名	構造式

1 動物代謝に関する試験

1) ラットにおける吸収、分布、代謝及び排泄 (ADME、フェニル標識)

(資料No. 代-1)

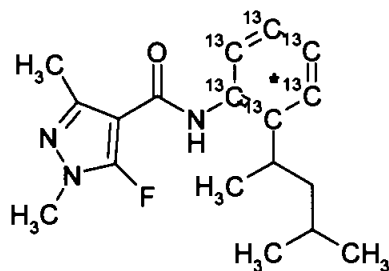
試験機関：Bayer CropScience AG (ドイツ)

報告書作成年：2009年 [GLP 対応]

供試化合物

[フェニル-UL-¹³C₆/¹⁴C] 標識ペンフルフェン (¹⁴C と ¹³C の二重標識体)

構造式；



* : ¹⁴Cの標識位置を示す(フェニル標識)

化学名；

N-[2-(1,3-ジメチルブチル)フェニル]-5-フルオロ-1,3-ジメチル-1*H*-ピラゾール-4-カルボキサミド

比放射能；

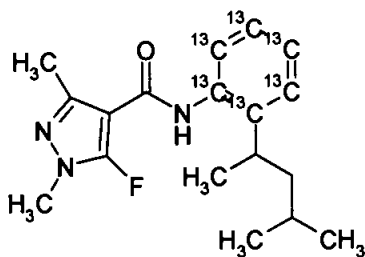
放射化学的純度；

化学的純度；

標識位置の設定理由；

[フェニル-UL-¹³C₆] 標識ペンフルフェン

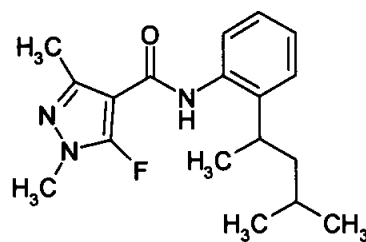
構造式；



化学的純度；

非標識ペンフルフェン

構造式；



化学的純度；

【方法】

1. 供試動物

ウィスター系ラット

試験開始時の齢：雄 6-7週齢、雌 8-9週齢

平均体重：雄 196-211g、雌 198-205g (投与時または屠殺時)

表1に示すとおり各試験群につき雄4匹または雌4匹を供試した。試験群4(胆汁排泄、雄)では胆管にカニューレを挿入した動物を用いた。雄6匹に胆管造瘻処置を行ったが、4匹を供試した。

馴化は7日間行った。

表1 試験群

試験群	投与量 (mg/kg体重)	性/ 匹数	試験 期間 ^{a)}	採取試料/採取時点
1 低用量単回経口	2	雄/4	72 時間	尿、糞、血漿：経時 (表3) 血液、臓器・組織、胃腸管、皮膚、 カーカス：屠殺時
2 低用量単回経口	2	雌/4		
3 高用量単回経口	200	雄/4		
4 胆汁排泄 低用量単回経口	2	雄/4	48 時間	尿、胆汁、糞：経時 (表3) 血液、胃腸管、皮膚、カーカス：屠殺時

^{a)} 標識化合物を投与後から屠殺時までの経過時間。

2. 投与

表1に示すとおり2mg/kg体重(低用量)または200mg/kg体重(高用量)の設定投与量で強制経口投与した。

低用量群の投与液は、標識化合物を0.5%トラガカント水溶液に懸濁して調製した。高用量群の投与液は、標識化合物を非標識化合物と[フェニル-UL-¹³C₆]体の混合物(混合比1:1)を添加して放射能希釈し(希釈比：1:100)、0.5%トラガカント水溶液に懸濁して調製した。

各試験群ラットへの投与放射エネルギーと投与量を以下の表2にまとめた。

表2 各試験群ラットへの投与量

試験群	投与懸濁液								平均ラット体重 [g]
	調製総量			ラットあたり投与量					
	ベン フルフェン [mg]	容量 [ml]	比放射能 [MBq/mg]	ベン フルフェン [mg]	容量 [ml]	放射エネルギー [dpm]	目標投与量 [mg/kg 体重]	実質投与量 [mg/kg 体重]	
1	3.20	16.0		0.42	2		2	2.13	196
2	3.20	16.0		0.41	2		2	2.07	198
3	320.32	16.0		38.10	2		200	191.94	199
4	4.80	12.0		0.42	1		2	2.10	200

3. 試料採取

動物を個別に代謝ケージで飼育し、各動物から尿、糞、胆汁(試験群4のみ)、血漿(試験群4を除く)を複数時点で採取した(表3参照)。血漿は、尾静脈から血液を採取した後、血液を遠心分離して採取した。

また、試験群4は48時間後、他は72時間後に頸部血管を切断して屠殺し、血液、臓器・組織^{a)}、胃腸管、皮膚及びカーカスを採取した。血液を遠心分離して赤血球と血漿を分離した。

^{a)} 脾臓、肝臓、腎臓、腎周囲脂肪、副腎、精巣、卵巣、子宮、骨格筋、大腿骨、心臓、肺、脳、甲状腺。

表3 尿、胆汁、糞及び血漿の採取時期

試料	試験群	採取時点 (標識化合物の投与後時間)
尿	1	4, 8, 12, 24, 48, 72
	2, 3	4, 8, 24, 48, 72
	4	4, 8, 24, 32, 48
糞	1-3	24, 48, 72
	4	24, 48
血漿	1-3	10分, 20分, 40分, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 28, 32, 48, 56, 72
胆汁	4	4, 8, 24, 32, 48
臓器 組織	1-3	72
	4	48

4. 試料調製及び分析

各試料の放射能を測定した。尿、胆汁及び糞抽出物について、親化合物及び代謝物を同定・特性化及び定量した。血漿中濃度の推移を解析し、薬物動態パラメータを算出した。

下の表に尿、胆汁及び糞抽出物の、同定・特性化、及び定量に係る試料の区分(分析した区分のみ)を示した。

表4 尿、胆汁及び糞抽出物の同定・定量試料区分

試験区分	尿	胆汁	糞抽出物
試験群 1 (雄, 2mg/kg 体重)	0-4 時間 4-8 時間 8-12 時間 12-24 時間 24-48 時間		0-24 時間 (通常抽出) 0-24 時間 (過激抽出)
試験群 2 (雌, 2mg/kg 体重)	0-24 時間		0-48 時間 (通常抽出)
試験群 3 (雄, 200mg/kg 体重)	0-72 時間		0-72 時間 (通常抽出) 0-72 時間 (過激抽出)
試験群 4 (胆管挿管雄, 2mg/kg 体重)	0-48 時間	0-48 時間	0-48 時間 (通常抽出)

(1) 糞の抽出

糞を、アセトニトリル/水(8/2; v/v)による抽出3回、次いでアセトニトリルによる抽出1回の順で抽出した。各抽出液を濃縮して合わせ、放射能の測定及び代謝物の分析に供した。

試験群1と試験群3の抽出残渣は、さらにアセトニトリル/水(7/3; v/v)によるマイクロ波抽出(120℃、20分、2回)により、徹底的に抽出し、放射能の測定及び代謝物の分析に供した。

(2) 放射能の測定

尿、胆汁、糞抽出物及び血漿等の液体試料は液体シンチレーションカウンター(LSC)で直接放射能を測定した。小さな臓器(副腎、甲状腺、卵巣、子宮及び腎周囲脂肪等)は可溶化剤に溶解後、LSCで放射能を測定した。それ以外の固形試料はオキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を測定した。

(3) 代謝物の分析

標準物質とのコクロマトグラフィー(HPLC、TLC)により尿、胆汁及び糞抽出物中の親化合物及び代謝物を同定した。尿中の一部の代謝物及び胆汁中の主要な抱合体代謝物をHPLCで分離し、LC/MSにより同定した。胆汁から分離した抱合体代謝物はβ-グルクロニダーゼ及びアリスルファターゼと混合してインキュベートし、得られたアグリコンまたは分解物を分析して同定を確認した。HPLCにより各化合物を定量した。

(4) 血漿中動態解析

ソフトウェアTOPFITを用いて、平均血漿中濃度(有効成分当量濃度)に対する血漿中濃度-時間曲線解析により以下のパラメータを計算した。標準的 2-コンパートメントモデルを濃度曲線のフィッティングに適用した。

表5 計算されたパラメータ

AUC _{0-∞}	経時的血漿中放射能濃度曲線の面積、通常、単回(初回)投与時点0から無限で推定
t _{1/2a}	吸収半減期
t _{1/2e}	排泄半減期(終末相半減期)
C _{max}	単回(初回)投与後の最高血漿中放射能濃度
t _{max}	単回(初回)投与後の最高血漿中放射能濃度到達時間
MRT _{tot}	測定コンパートメントにおける総放射能の平均滞留時間、通常、単回(初回)投与時点0から無限で推定
MRT _{abs}	吸収放射能の平均滞留時間
MRT _{disp}	体内動態平均滞留時間

【結果】

1. 排泄及び放射能収支

試験終了時の排泄物及び動物体内における放射能分布を表6及び表7に、排泄放射能の推移を表8にそれぞれ示す。

試験群1及び3（群1：低用量、群3：高用量、雄）の主要排泄経路は糞で、試験終了時である投与72時間後までに、投与放射能の66.77%、61.10%が糞中に排泄された。尿にはそれぞれ27.89%、33.61%が排泄され、これらの合計、94.66%及び94.71%の放射能が、投与72時間後までに排泄された。体内残留放射能(0.394%、1.795%)から、投与放射能は、72時間後までにほぼ排泄されたことが示された。

試験群2（低用量、雌）における排泄経路は、尿と糞でほぼ同様な値を示し、それぞれ投与放射能の47.28%が尿中に、46.00%が糞中に排泄された。これらの合計値93.27%と、体内残留放射能0.585%から、投与放射能は、72時間後までにほぼ排泄されたことが示された。

試験群4（胆汁排泄、雄）の主要排泄経路は胆汁で、胆汁には投与量の69.94%が排泄された。さらに尿に20.96%、糞に5.21%が排泄され、48時間後までの総排泄量は96.11%であった。

表6 試験終了時の排泄物及び動物体内における放射能分布 (投与量に対する%、平均値)

試験群	1	2	3	4(胆汁排泄)
投与 (mg/kg体重)	2/単回	2/単回	200/単回	2/単回
性	雄	雌	雄	雄
屠殺 (時間)	72	72	72	48
尿	27.89	47.28	33.61	20.96
胆汁	—	—	—	69.94
糞	66.77	46.00	61.10	5.21
排泄物の合計	94.66	93.27	94.71	96.11
胃腸管以外の体内	0.320	0.396	0.597	0.331
胃腸管	0.074	0.189	1.198	0.729
体内の合計	0.394	0.585	1.795	1.060
合計	95.05	93.86	96.50	97.17

—：採取せず。

表7 試験終了時の排泄物及び動物体内における放射能分布 (回収放射能に対する%、平均値)

試験群	1	2	3	4(胆汁排泄)
投与 (mg/kg体重)	2/単回	2/単回	200/単回	2/単回
性	雄	雌	雄	雄
屠殺 (時間)	72	72	72	48
尿	29.37	50.23	34.79	21.54
胆汁	—	—	—	72.01
糞	70.22	49.15	63.34	5.38
排泄物の合計	99.59	99.37	98.13	98.93
胃腸管以外の体内	0.337	0.422	0.620	0.339
胃腸管	0.077	0.204	1.250	0.735
体内の合計	0.414	0.626	1.870	1.074
補正係数	1.053	1.067	1.037	1.030
吸収率 (尿+胆汁+胃腸管以外の体内)				93.89

表8 排泄放射能の推移 (累積排泄率、投与量に対する%)

試験群	1	2	3	4(胆汁排泄)	
投与(mg/kg体重)	2/単回	2/単回	200/単回	2/単回	
性	雄	雌	雄	雄	
尿					
投与後時間	4	13.74	16.89	2.71	n.c.
	8	19.04	21.79	7.08	11.68
	12	23.56	—	—	—
	24	26.69	43.58	12.01	18.97
	32	—	—	—	19.63
	48	27.43	46.71	26.68	20.96
	72	27.89	47.28	33.61	—
胆汁					
投与後時間	4	—	—	—	35.96
	8	—	—	—	51.96
	24	—	—	—	65.01
	32	—	—	—	67.62
	48	—	—	—	69.94
糞	24	62.69	35.04	5.33	4.44
	48	66.30	44.64	37.55	5.21
	72	66.77	46.00	61.10	—
総排泄合計	94.66	93.27	94.71	96.11	

— : 採取せず。n.c. : 計算せず。

2. 吸収率

試験群4(胆汁排泄、雄)の試験終了時の尿、胆汁、及び胃腸管を除く体内の放射能の合計から、吸収率は投与量の93.89%であった。従って、投与放射能はほぼ完全に吸収されたものと結論された。

3. 血漿中動態

血漿中放射能濃度の推移を表9に、血漿中薬物動態パラメータを表10にそれぞれ示す。

血漿中放射能濃度は投与後約0.67時間から1.00時間で最高濃度を示した(tmax)。

最高血中濃度(Cmax)は、雌雄の低薬量投与で約 0.75 µg/ml、雄の高薬量投与で19.19 µg/mlであった。最高血中濃度到達時間は速く、投与から約0.67から1.5時間であった。低薬量投与での最高血中補正濃度は、高薬量投与での濃度の約3.5倍高かった。

血漿中放射能は、投与72時間後において、両低薬量投与試験で最高血中濃度の約1%に、高薬量投与試験では約3.7%に減少した。このことは、被検物質が試験動物体内において蓄積されないことを示唆した。

低薬量投与試験における血漿中濃度曲線は、試験開始初期(=t/2 elim 1)において急速な減衰相を呈した。低薬量投与試験における血漿中濃度は1相性の減衰を示した。これらはTOPFITソフトウェアの、1/y2重み付けによる2-コンパートメントモデルにより計算された。一方、高濃度投与における血漿中濃度曲線は低濃度投与とは異なり、48時間後において第二ピークを示した。

この第二ピークが生じた原因は、高濃度投与では別の吸収プロセス（腸肝循環）が混在したためと考えられた。このため低濃度投与の場合と異なり、高い相関の1相性の減衰が得られないことから、TOPFIT 2-コンパートメントモデルを適用しなかった。

表9 血漿中放射能濃度の推移 (µg/g、有効成分当量濃度)

試験群		1	2	3
投与(mg/kg体重)		2/単回	2/単回	200/単回
性		雄	雌	雄
投 与 後 時 間	0.17 (10分)	0.4189	0.2794	2.560
	0.33 (20分)	0.7340	0.5600	6.826
	0.67 (40分)	0.7380	0.6300	13.450
	1.0	0.5737	0.7508	17.260
	1.5	0.3995	0.5059	19.190
	2	0.2840	0.3982	16.010
	3	0.1804	0.2771	10.910
	4	0.1370	0.2349	8.625
	6	0.1150	0.1409	6.765
	8	0.0875	0.1385	6.407
	24	0.0132	0.0271	2.339
	28	0.0109	0.0226	1.890
	32	0.0092	0.0159	1.697
	48	0.0053	0.0078	11.740
56	0.0050	0.0068	2.859	
72	0.0034	0.0075	0.702	

表10 血漿中薬物動態パラメータ

投与 (mg/kg 体重)	試験群1	試験群2	試験群3
	雄 2	雌 2	雄 200
TOPFIT 計算の重み付け	1/y ²	1/y ²	—
t _{max} [時間] 測定値	0.67	1.00	1.5
t _{max} [時間] 計算値	0.35	0.52	—
C _{max} [µg/ml] 測定値	0.74	0.75	19.19
C _{max} [µg/ml] 計算値	0.59	0.62	—
t _{1/2 abs} [時間]	0.05	0.08	—
t _{1/2 elim 1} [時間]	23.6	20.4	—
AUC _{0-∞} [mg/Lx時間]	2.5	3.6	—
MRT _{tot} [時間]	13.5	14.2	—
MRT _{abs} [時間]	2.7	3.4	—
MRT _{disp} [時間]	10.8	10.8	—

4. 試験終了時の臓器及び組織への分布

試験終了時の臓器及び組織における放射能濃度を表11に示す。

経口投与72時間後の処置時の器官及び組織における放射能残留量は低かった。無視できるほどの微量の放射能が胃腸管において検出されたことから、投与放射能の排泄はほぼ完全に行われたことを示唆した。

高薬量投与区の各器官における放射能残留は、両低薬量投与区のそれと比較して約100倍高かった。放射能の等価濃度（親化合物換算濃度）が最も高かったのは、代謝変換と排泄に関与する肝臓（低薬量投与区で0.02 から 0.06 µg/g、高薬量投与区で6.15 µg/g）、次いで腎臓（低薬量投与区で約0.02 µg/g、高薬量投与区で3.14 µg/g）であった。0.04 µg/g（低薬量投与区）から6.74 µg/g（高薬量投与区）が血液形成成分より見出された。低薬量投与区の雌雄ラットの、その他の器官・組織における残留濃度は低く、0.001 から0.011 µg/gであった。ほとんどの場合、雌ラットの器官・組織における残留量は雄ラットのそれに比較してやや高かった。

表11 試験終了時の臓器・組織における放射能濃度(µg/g:有効成分当量濃度)及び投与量に対する割合[%]

器官/組織	試験群1 雄 2 mg/kg 体重		試験群2 雌 2 mg/kg 体重		試験群3 雄 200mg/kg 体重		試験群4 雄 2 mg/kg 体重 (胆管挿管)	
	µg/g	[%]	µg/g	[%]	µg/g	[%]	µg/g	[%]
赤血球	0.0387	[0.0277]	0.0444	[0.0294]	6.7360	[0.0359]	—	—
血漿	0.0027	[0.0018]	0.0026	[0.0014]	0.5999	[0.0035]	—	—
カーカス	0.0040	[0.1023]	0.0084	[0.2238]	1.0620	[0.2702]	0.0020	[0.0546]
心臓	0.0071	[0.0014]	0.0077	[0.0014]	1.0430	[0.0021]	—	—
脳	0.0012	[0.0005]	0.0028	[0.0012]	0.2733	[0.0011]	—	—
腎臓	0.0186	[0.0071]	0.0168	[0.0058]	3.1420	[0.0121]	—	—
肝臓	0.0574	[0.1341]	0.0234	[0.0505]	6.1470	[0.1701]	—	—
精巣	0.0014	[0.0009]	—	—	0.3662	[0.0026]	—	—
卵巣	—	—	0.0040	[0.0001]	—	—	—	—
子宮	—	—	0.0044	[0.0009]	—	—	—	—
副腎	0.0043	[0.0001]	0.0060	[0.0001]	0.8665	[0.0001]	—	—
甲状腺	n.c.	[n.c.]	0.0108*	[<0.0001]*	1.9070	[0.0001]	—	—
脾臓	0.0079	[0.0010]	0.0095	[0.0010]	1.2330	[0.0013]	—	—
肺	0.0076	[0.0024]	0.0106	[0.0037]	1.3920	[0.0043]	—	—
皮膚	0.0031	[0.0382]	0.0063	[0.0718]	0.7392	[0.0893]	0.0019	[0.0178]
大腿骨**	0.0024	[0.0004]	0.0032	[0.0005]	0.4417	[0.0008]	—	—
腎周囲脂肪組織**	0.0021	[0.0004]	0.0044	[0.0010]	0.6036	[0.0008]	—	—
脚筋**	0.0044	[0.0016]	0.0079	[0.0034]	0.8278	[0.0036]	—	—

— 試料採取無し

* 検出限界値の半値から計算した平均値

n.c. 未計算

** これらの器官・組織は屠殺時にその一部だけを分別採取して分析しているため、投与量に対する%は分析した試料のみに基づいている。採取されなかった部分はカーカスに含まれる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

5. 代謝

尿、胆汁及び糞における放射能の成分分析結果を表12にまとめた。

親化合物 [P] は、ラットにおいて広範に代謝分解を受け、糞中にのみ、微量に検出されたに過ぎなかった(投与量の $\leq 1.79\%$)。

以下に、代謝反応に係る分子内位置を図式的に示した：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[フェニル-UL-¹⁴C] ペンフルフェン (BYF 14182) のラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2) ラットにおける吸収、分布、代謝及び排泄 (ADME、ピラゾール標識)

(資料No. 代-2)

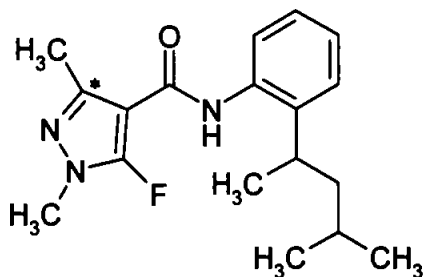
試験機関：Bayer CropScience AG (ドイツ)

報告書作成年：2009年 [GLP 対応]

供試標識化合物

[ピラゾール-3-¹⁴C] 標識ペンフルフェン

構造式；



*：¹⁴Cの標識位置を示す

化学名； N-[2-(1,3-ジメチルブチル)フェニル]-5-フルオロ-1,3-ジメチル-1H-ピラゾール-4-カルボキシミド

比放射能；

放射化学的純度；

化学的純度；

標識位置の設定理由；

【方法】

1. 供試動物

ウイスター系ラット

試験開始時の齢：雄 7週齢

平均体重：203--210g (投与時--屠殺時)

表1に示すとおり試験群1として雄4匹を供試した。馴化は7日間行った。

表1 試験群

試験群	投与量 (mg/kg体重)	性/ 匹数	試験 期間 ^{a)}	採取試料/採取時点
1 低用量単回経口	2	雄/4	72 時間	尿、糞、血漿：経時 (表3) 血液、臓器・組織、胃腸管、皮膚、 カーカス：屠殺時

^{a)} 標識化合物を投与後から屠殺時までの経過時間。

2. 投与

表1に示すとおり2mg/kg体重(低用量)の設定投与量で強制経口投与した。

投与液は、標識化合物を0.5%トラガカント水溶液に懸濁して調製した。

投与放射エネルギーと投与量を以下の表2にまとめた。

表2 各試験群ラットへの投与量

試験群	投与懸濁液								平均ラット体重 [g]
	調製総量			ラットあたり投与量					
	ペン フルフェン [mg]	容量 [ml]	比放射能 [MBq/mg]	ペン フルフェン [mg]	容量 [ml]	放射エネルギー [dpm]	目標投与量 [mg/kg 体重]	実質投与量 [mg/kg 体重]	
1	3.20	16.0		0.38	2		2	1.89	203

3. 試料採取

動物を個別に代謝ケージで飼育し、各動物から尿、糞、血漿を複数時点で採取した(表3参照)。血漿は、尾静脈から血液を採取した後、血液を遠心分離して採取した。

また、72時間後に頸部血管を切断して屠殺し、血液、臓器・組織^{a)}、胃腸管、皮膚及びカーカスを採取した。血液を遠心分離して赤血球と血漿を分離した。

^{a)} 脾臓、肝臓、腎臓、腎周囲脂肪、副腎、精巣、骨格筋、大腿骨、心臓、肺、脳、甲状腺。

表3 尿、糞及び血漿の採取時期

試料	試験群	採取時点 (標識化合物の投与後時間)
尿	1	4, 8, 12, 24, 24, 48, 72
糞	1	24, 48, 72
血漿	1	10分, 20分, 40分, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 28, 32, 48, 56, 72
臓器 組織	1	72

4. 試料調製及び分析

各試料の放射エネルギーを測定した。尿及び糞抽出物について、親化合物及び代謝物を同定・特性化及び定量した。血漿中濃度の推移を解析し、薬物動態パラメータを算出した。

下の表に尿及び糞抽出物の、同定・特性化、及び定量に係る試料の区分 (分析した区分のみ)を示した。尿の48-72時間まとめ試料、糞の24-48時間及び48-72時間まとめ試料は、それらの分画における放射エネルギーが少なかったためHPLCによる定量及び分析に供試しなかった。

表4 尿及び糞抽出物の同定・定量試料区分

試験区分	尿	糞抽出物
試験群1 (雄, 2mg/kg 体重)	0-4 時間 4-8 時間 8-12 時間 12-24 時間 24-48 時間	0-24 時間 (通常抽出) 0-24 時間 (マイクロ波抽出)

(1) 糞の抽出

糞を、アセトニトリル/水(8/2; v/v)による抽出3回、次いでアセトニトリルによる抽出1回の順で抽出した。各抽出液を濃縮して合わせ、放射能の測定及び代謝物の分析に供した。

試験群1と試験群3の抽出残渣は、さらにアセトニトリル/水(7/3; v/v)によるマイクロ波抽出(120℃、20分、2回)により、徹底的に抽出し、放射能の測定及び代謝物の分析に供した。

(2) 放射能の測定

尿、糞抽出物及び血漿等の液体試料は液体シンチレーションカウンター(LSC)で直接放射能を測定した。小さな臓器(副腎、甲状腺及び腎周囲脂肪等)は可溶化剤に溶解後、LSCで放射能を測定した。それ以外の固形試料はオキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を測定した。

(3) 代謝物の分析

標準物質とのコクロマトグラフィー(HPLC、TLC)により尿及び糞抽出物中の親化合物及び代謝物を同定した。尿中の一部の代謝物の主要な抱合体代謝物をHPLCで分離し、LC/MSにより同定した。HPLCにより各化合物を定量した。

(4) 血漿中動態解析

ソフトウェアTOPFITを用いて、平均血漿中濃度(有効成分当量濃度)に対する血漿中濃度-時間曲線解析により以下のパラメータを計算した。標準的 2-コンパートメントモデルを濃度曲線のフィッティングに適用した。

表5 計算されたパラメータ

AUC _{0-∞}	経時的血漿中放射能濃度曲線の面積、通常、単回(初回)投与時点0から無限で推定
t _{1/2a}	吸収半減期
t _{1/2e}	排泄半減期 (終末相半減期)
C _{max}	単回(初回)投与後の最高血漿中放射能濃度
t _{max}	単回(初回)投与後の最高血漿中放射能濃度到達時間
MRT _{tot}	測定コンパートメントにおける総放射能の平均滞留時間、通常、単回(初回)投与時点0から無限で推定
MRT _{abs}	吸収放射能の平均滞留時間
MRT _{disp}	体内動態平均滞留時間

【結果】

1. 排泄及び放射能収支

試験終了時の排泄物及び動物体内における放射能分布を表6及び表7に、排泄放射能の推移を表8にそれぞれ示す。

主要排泄経路は糞で、試験終了時である投与72時間後までに、投与放射能の66.59%が糞中に排泄された。尿には27.61%が排泄され、これらの合計、94.20%の放射能が、投与72時間後までに排泄された。体内残留放射能(0.400%)から、投与放射能は、72時間後までにほぼ排泄されたことが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表6 試験終了時の排泄物及び動物体内における放射能分布 (投与量に対する%、平均値)

試験群	1
投与 (mg/kg体重)	2/単回
性	雄
屠殺 (時間)	72
尿	27.61
糞	66.59
排泄物の合計	94.20
胃腸管を除く体内	0.334
胃腸管	0.066
体内の合計	0.400
合計	94.60

— : 採取せず。

表7 試験終了時の排泄物及び動物体内における放射能分布 (回収放射能に対する%、平均値)

試験群	1
投与 (mg/kg体重)	2/単回
性	雄
屠殺 (時間)	72
尿	29.27
糞	70.31
排泄物の合計	99.58
胃腸管を除く体内	0.353
胃腸管	0.071
体内の合計	0.424
補正係数	1.058

表8 排泄放射能の推移 (累積排泄率、投与量に対する%)

試験群	1	
投与(mg/kg体重)	2/単回	
性	雄	
尿		
投与後時間	4	9.78
	8	20.09
	12	22.46
	24	26.86
	48	27.48
	72	27.61
糞		
投与後時間	24	62.90
	48	66.24
	72	66.59
総排泄合計	94.20	

2. 血漿中動態

血漿中放射能濃度の推移を表9に、血漿中薬物動態パラメータを表10にそれぞれ示す。血漿中放射能濃度は投与後約0.67時間で最高濃度を示した(t_{max})。

最高血中濃度(C_{max})は0.59 $\mu\text{g/ml}$ であった。以降、被検物質濃度は急速に減少した。血漿中の放射能濃度は投与72時間後において最高血中濃度の約0.5%まで減少した。このことは、被検物質が試験動物体内において蓄積されないことを示唆した。

低薬量投与試験における血漿中濃度曲線は、試験開始初期($=t_{1/2 \text{ elim } 1}$)において急速な減衰相を呈した。低薬量投与試験における血漿中濃度は1相性の減衰を示した。これらはTOPFITソフトウェアによる2-コンパートメントモデルにより計算された。AUC $_{0-\infty}$ の計算値は2.4 $\text{mg/L}\cdot\text{時間}$ であった。低薬量投与試験におけるBYF 14182由来の放射能の平均滞留時間(MRT $_{tot}$)は短く、13時間と計算された。

表9 血漿中放射能濃度の推移 ($\mu\text{g/g}$ 、有効成分当量濃度)

試験群		1
投与(mg/kg 体重)		2/単回
性		雄
投与後時間	0.17 (10分)	0.2588
	0.33 (20分)	0.5306
	0.67 (40分)	0.5924
	1.0	0.5606
	1.5	0.4328
	2	0.3193
	3	0.2001
	4	0.1414
	6	0.0877
	8	0.0712
	24	0.0125
	28	0.0102
	32	0.0090
	48	0.0051
56	0.0042	
72	0.0032	

表10 血漿中薬物動態パラメータ

投与 (mg/kg 体重)	試験1雄 2
t_{max} [時間] 測定値	0.67
t_{max} [時間] 計算値	0.45
C_{max} [$\mu\text{g/ml}$] 測定値	0.59
C_{max} [$\mu\text{g/ml}$] 計算値	0.56
$t_{1/2 \text{ abs}}$ [時間]	0.07
$t_{1/2 \text{ elim } 1}$ [時間]	23.1
AUC $_{0-\infty}$ [$\text{mg/L}\cdot\text{時間}$]	2.4
MRT $_{tot}$ [時間]	13.0
MRT $_{abs}$ [時間]	2.7
MRT $_{diss}$ [時間]	10.2

3. 試験終了時の臓器及び組織への分布

試験終了時の臓器及び組織における放射能濃度を表11に示す。

経口投与72時間後の処置時の器官及び組織における放射能残留量は低かった。無視できるほどの微量の放射能が胃腸管において検出されたことから、投与放射能の排泄はほぼ完全に行われたことを示唆した。

放射能の親化合物換算濃度が最も高かったのは、代謝変換と排泄に関与する肝臓であった(約0.044 µg/g)。次いで血液形成成分(約0.037 µg/g)、甲状腺(約0.019 µg/g)、腎臓(約0.017 µg/g)であった。その他の器官・組織における残留濃度は低く、約0.002 から0.007 µg/gであった。尿・糞による排泄及び血漿における総放射能の減衰キネティクス解析から、器官・組織における微量の放射能残留はさらに減衰するものと結論された。

表11 試験終了時の臓器・組織における放射能濃度(µg/g;有効成分当量濃度)及び投与量に対する割合[%]

器官/組織	試験群1 雄 2 mg/kg 体重	
	µg/g	[%]
赤血球	0.0369	[0.0244]
血漿	0.0028	[0.0021]
カーカス	0.0046	[0.1296]
心臓	0.0059	[0.0012]
脳	0.0017	[0.0007]
腎臓	0.0173	[0.0070]
肝臓	0.0442	[0.1093]
精巣	0.0016	[0.0011]
副腎	0.0065	[0.0001]
甲状腺	0.0185	[<0.0001]
脾臓	0.0065	[0.0008]
肺	0.0067	[0.0022]
皮膚	0.0040	[0.0516]
大腿骨*	0.0031	[0.0006]
腎周囲脂肪組織*	0.0025	[0.0005]
脚筋*	0.0049	[0.0022]

*これらの器官・組織は屠殺時にその一部だけを分別採取して分析しているため、投与量に対する%は分析した試料のみに基づいている。採取されなかった部分はカーカスに含まれる。

4. 代謝

尿及び糞における放射能の成分分析結果を表12にまとめた。

親化合物 [P] は糞中にのみ、微量に検出されたに過ぎず(投与量の0.47%)、ラットにおいて広範に代謝分解を受けた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[ピラゾール-3-¹⁴C] ペンフルフェン(BYF 14182)のラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) ラットにおける分布 (定量的全身オートラジオグラフィー (QWBA、フェニル標識))

(資料No. 代-3)

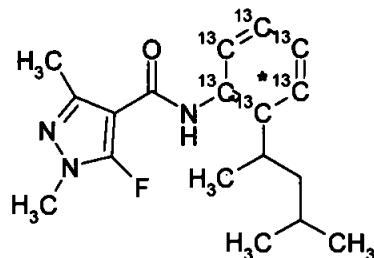
試験機関：Bayer CropScience AG (ドイツ)

報告書作成年：2009年 [GLP 対応]

供試標識化合物

[フェニル-UL-¹³C₆/¹⁴C] 標識ペンフルフェン (¹⁴C と ¹³C の二重標識体：同位体比 ¹²C₆/¹³C₆ = 約 50/50)

構造式；



*：¹⁴Cの標識位置を示す(フェニル標識)

化学名；

N-[2-(1,3-ジメチルピラゾール-5-イル)-5-フルオロ-1,3-ジメチル-1*H*-ピラゾール-4-イル]ベンゼン

比放射能；

放射化学的純度；

化学的純度；

標識位置の設定理由；

【方法】

1. 供試動物

ウィスター系ラット

試験開始時の齢：雄 約6週齢、雌 約8週齢

投与時の平均体重：雄 194g-209g、雌 191g-202g

雄8匹(動物番号119-126)及び雌8匹(動物番号401-408)を供試した。投与前に7日間順化した。

2. 投与

5mg/kg体重の設定投与量で単回強制経口投与した。供試化合物を0.5%トラガカント水溶液に懸濁して投与液を調製し、各動物に投与液2mL(供試化合物約1.0mg)を投与した。

表1 各試験群ラットへの投与量

試験群	投与懸濁液							平均ラット体重 [g]
	調製総量		ラットあたり投与量					
	物質質量 [mg]	容量 [ml]	容量/物質質量	目標投与量 [mg/kg 体重]	放射エネルギー [dpm]	物質質量 [mg]	実投与量 [mg/kg 体重]	
1,雄	13.5	27	2.0 ml/1.0 mg	5	204665497	0.75	3.7	201
2,雌	12.0	24	2.0 ml/1.0 mg	5	273397981	1.00	5.1	196

3. 試料採取

動物を個別に代謝ケージで飼育し、各動物から尿、糞及び呼気を複数時点で採取した(表2参照)。呼気はエタノールアミン/エタノール(1/1)を含む洗ビンに通して、¹⁴C₂O₂及び揮発性物質を捕集した。定量的全身オートラジオグラフィーのため、投与1、4、8、24、48(雌のみ)、72、120及び168時間後に雌雄各1匹を屠殺した。

表2 尿、糞及び呼気の採取時期

動物番号		試験期間 ^{a)}	採取試料/採取時点 (投与後時間)		
雄	雌		尿	糞	呼気
119	401	1h	1	—	—
120	402	4h	4	—	—
121	403	8h	4,8	—	—
122	404	24h	4,8,24	24	—
—	405	48h	4,8,24,48	24,48	24,48
124	406	72h	4,8,24,48,72	24,48,72	24,48
123	407	120h	4,8,24,48,72,96,120	24,48,72,96,120	24,48
126	408	168h	4,8,24,48,72,96,120,144,168	24,48,72,96, 120,144,168	24,48

—: 採取せず。^{a)} 供試化合物を投与後から屠殺時までの経過時間、h=時間。

4. 分析

各試料の放射能を測定した。定量的全身オートラジオグラフィーにより臓器及び組織中の放射能濃度を定量した。

(1) 放射能の測定

尿及び呼気捕集液等の液体試料は液体シンチレーションカウンター(LSC)により放射能を測定した。糞は燃焼後、LSCにより放射能を測定した。

(2) 定量的全身オートラジオグラフィー

屠殺後の動物を約-70℃で凍結し、カルボキシメチルセルロース(7~8%)に包埋後、50µm厚の切片を作成し、24時間凍結乾燥した。切片をイメージングプレートに露光した後、Fuji BAS 5000 Image Analyzerでスキャンした。¹⁴C-添加標準血液を用いて作成した切片を同様に露光・スキャンし、得られた検量線を用いて試料切片について定量した。

【結果】

1. 排泄

排泄放射能の推移を表3(雄)及び表4(雌)に示す。

雄では、投与した放射能の主たる部分(最高で67.5%)が糞中に、次いで尿中(最高で33.45%)に排泄された。投与72時間後までに、放射能は体内からほぼ完全に排泄された。

^{14}C -二酸化炭素及び他の ^{14}C -揮発性成分の呼気中への排泄について、投与48時間まで試験した(動物番号123、124及び126)。総投与量の0.06%以下の放射能の排泄がこの試験期間において見出されたのみであった。

雌では、投与した放射能の主たる部分(最高で60.77%)が尿中に、次いで糞中(最高で40.96%)に排泄された。投与48時間後までに、放射能は体内からほぼ完全に排泄された。

^{14}C -二酸化炭素及び他の ^{14}C -揮発性成分の呼気中への排泄について、投与48時間まで試験した(動物番号405-408)。総投与量の0.009%以下の放射能の排泄がこの試験期間において見出されたのみであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表3 雄の排泄放射能の推移 (累積排泄率、投与量に対する%)

試料/ 採取時期	動物番号及び屠殺時間 ^{a)}							
	119 (1h)	120 (4h)	121 (8h)	122 (24h)	-	124 (72h)	123 (120h)	126 (168h)
呼気	24h					0.041	0.049	0.020
	48h					0.050	0.059	0.028
尿	1h	9.70						
	4h		12.27	9.48	8.39	17.50	10.35	18.03
	8h			21.63	19.14	21.03	19.82	24.73
	24h				26.85	27.02	25.65	32.20
	48h					27.66	26.07	33.25
	72h					27.75	26.13	33.34
	96h						26.18	33.38
	120h						26.23	33.41
	144h							33.43
	168h							33.45
糞	24h	*	*	*	56.61	62.72	62.64	50.61
	48h					66.84	67.00	58.82
	72h					67.31	67.30	59.32
	96h						67.38	59.49
	120h						67.50	59.59
	144h							59.64
	168h							59.67
合計	9.70	12.27	21.63	83.47		95.11	93.79	93.15

空欄：採取せず。h：時間。^{a)} 動物番号を上段、屠殺時間を下段()内に示す。*：採取できず。

表4 雌の排泄放射能の推移 (累積排泄率、投与量に対する%)

試料/ 採取時期	動物番号及び屠殺時間 ^{a)}							
	401 (1h)	402 (4h)	403 (8h)	404 (24h)	405 (48h)	406 (72h)	407 (120h)	408 (168h)
呼気	24h				0.0048	0.0077	0.049	0.039
	48h				0.0056	0.0091	0.062	0.048
尿	1h	4.82						
	4h		30.75	7.18	23.02	13.62	5.54	23.55
	8h			31.03	33.63	32.87	29.53	30.63
	24h				53.66	58.19	54.56	55.76
	48h					60.77	58.68	58.07
	72h					55.87	59.35	58.61
	96h						59.52	58.77
	120h						59.54	58.91
	144h							58.97
	168h							59.00
糞	24h	*	*	*	27.23	31.63	31.85	35.98
	48h					36.42	39.62	39.38
	72h					39.66	40.76	40.01
	96h						40.90	40.12
	120h						40.96	40.18
	144h							40.21
	168h							40.24
合計	4.82	30.75	31.03	80.89	97.19	95.54	100.51	99.25

空欄：採取せず。h：時間。^{a)} 動物番号を上段、屠殺時間を下段()内に示す。*：採取できず。

2. 臓器及び組織への分布

臓器及び組織における放射能濃度の推移を、雄は表5に、雌は表6にまとめた。

雄ラットでは、最高TRR値(=CEQmax:µg 有効成分等価量/gとして表示)には、ほぼ全ての器官及び組織において投与後1時間で到達した。このとき(tmax)における肝臓、腎臓、心筋及び副腎におけるCEQmax濃度は、その他の器官、組織(筋肉、脂肪、脳及び胸腺)における濃度よりも高く、血中濃度よりも高かった。これは、血液から消失し、主に代謝変換に関係する器官(肝臓)及び排泄に関係する器官(腎臓)へ分配されたことを示唆している。

tmaxにおける器官/血液-濃度比が最も高かったのは肝臓(4.60)で、次いで腎臓(2.87)、副腎(1.21)、心筋(1.05)の順であった。比較的取り込みが少なかったのは皮下脂肪(0.30)、硝子体(0.24)、脊髄(0.15)及び脳(0.12)であった

投与168時間後において、器官/血液-濃度比が最も高かったのは肝臓(0.90)で、次いで腎臓(0.46)、肺(0.35)、副腎(0.35)の順であった。低い濃度比として計算されたのは甲状腺(0.18)、骨格筋(0.15)であった。

投与168時間後までに、血液、器官及び組織における等価濃度は著しく減衰した。

- ・血中濃度は最高濃度の約4.0%まで減衰；
- ・肺及び副腎における濃度はそれぞれ最高濃度の約4.8、1.2%まで減衰；
- ・肝臓及び腎臓における濃度はそれぞれ最高濃度の約0.8、0.6%まで減衰；
- ・その他の試料(脂肪組織、すい臓、精巣、脳、脊髄、種々の腺、骨格筋及び脾臓)における濃度はそれぞれ最高濃度の0-1.5%まで減衰。

比較的高い値が肺で(4.76%)、低い値が腎臓(0.64%)でそれぞれ計算された。このように、すべての器官において、CEQmaxに対して著しい放射能残留の減衰が試験終了までに明白に認められた。

雌ラットでは、雄ラットと同様に、最高TRR値には、全ての器官及び組織において投与後1時間で到達した。このとき(tmax)の肝臓、腎臓、褐色脂肪、心筋、すい臓、卵巣及び子宮のようなほとんどの腺器官におけるCEQmax濃度は、血中濃度及びその他の器官、組織(皮下脂肪、骨格筋、脳及び胸腺)における濃度よりも高かった。このことは、血液から消失し、主に代謝変換に関係する器官(肝臓)及び排泄に関係する器官(腎臓)へ分配されたことを示唆している。

tmaxにおける器官/血液-濃度比が最も高かったのは肝臓(3.50)で、次いで副腎、褐色脂肪及び腎臓であった(いずれも約2.3)。比較的取り込みが少なかったのは、鼻粘膜(0.47)、脳(0.39)及び硝子体(0.28)であった。

投与168時間後において、器官/血液-濃度比が最も高かったのは肝臓(0.56)で、次いで肺(0.49)、副腎(0.36)、腎臓(0.35)、鼻粘膜(0.34)の順であった。低い濃度比として計算されたのはHarder腺(0.11)及び脊髄(0.10)であった。

投与168時間後までに、血液、器官及び組織における等価濃度は著しく減衰した。

- ・血中濃度は最高濃度の約4.1%まで減衰；
- ・肺及び鼻粘膜における濃度はそれぞれ最高濃度の約4.5、2.9%まで減衰；
- ・肝臓及び腎臓における濃度はそれぞれ最高濃度の約0.6%まで減衰；
- ・その他の試料(脂肪組織、子宮、卵巣、脳、種々の腺及び骨格筋)における濃度はそれぞれ最高濃度の0-1.3%まで減衰。

比較的高い値が肺で(4.51%)、低い値がHarder腺(0.41%)でそれぞれ計算された。雄ラットと同様に、すべての器官において、CEQmaxに対して著しい放射能残留の減衰が試験終了までに明白に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 5 雄の臓器・組織における放射能濃度 (µg/g、有効成分当量濃度)と CEQ_{max} に対する割合[%]の推移

器官または組織	等価濃度 CEQ [µg 有効成分等価量/g]							CEQ _{max} 血液比 ^{a)}	CEQ _{168h} 血液比 ^{a)}
	動物番号								
	119	120	121	122	124	123	126		
	処置時間		投与後時間						
	1時間	4時間	8時間	24時間	72時間	120時間	168時間		
血液	0.988 [100.00]	0.136 [13.72]	0.128 [12.98]	0.051 [5.16]	0.035 [3.54]	0.042 [4.21]	0.040 [4.01]	1.00	1.00
肝臓	4.542 [100.00]	0.790 [17.40]	0.670 [14.76]	0.179 [3.93]	0.065 [1.42]	0.050 [1.09]	0.036 [0.79]	4.60	0.90
腎皮質	1.947 [100.00]	0.217 [11.16]	0.181 [9.32]	0.038 [1.97]	0.016 [0.80]	0.015 [0.75]	0.013 [0.66]	1.97	0.33
腎髄質	3.727 [100.00]	0.423 [11.36]	0.318 [8.53]	0.100 [2.69]	0.036 [0.97]	0.027 [0.73]	0.023 [0.63]	3.77	0.59
全腎	2.837 [100.00]	0.320 [11.29]	0.250 [8.80]	0.069 [2.44]	0.026 [0.91]	0.021 [0.74]	0.018 [0.64]	2.87	0.46
褐色脂肪	0.768 [100.00]	0.105 [13.68]	0.063 [8.14]	0.011 [1.42]	— n.c.	— n.c.	— n.c.	0.78	n.c.
腎周囲脂肪	0.293 [100.00]	0.143 [48.78]	0.035 [11.87]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.30	n.c.
骨格筋	0.534 [100.00]	0.053 [10.00]	0.036 [6.76]	0.008 [1.58]	<LOQ n.c.	0.005 [0.88]	0.006 [1.12]	0.54	0.15
心筋	1.035 [100.00]	0.095 [9.22]	0.069 [6.70]	0.018 [1.72]	0.007 [0.70]	0.008 [0.73]	0.008 [0.82]	1.05	0.21
肺	0.291 [100.00]	0.063 [21.72]	0.040 [15.91]	0.023 [7.84]	0.009 [2.94]	0.016 [5.64]	0.014 [4.76]	0.29	0.35
脾臓	0.571 [100.00]	0.061 [10.72]	0.047 [8.16]	0.013 [2.23]	0.007 [1.29]	0.009 [1.55]	0.009 [1.53]	0.58	0.22
すい臓	0.775 [100.00]	0.075 [9.67]	0.057 [7.30]	0.009 [1.19]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.78	n.c.
骨髄	0.573 [100.00]	0.057 [9.98]	0.044 [7.64]	0.011 [1.88]	— n.c.	— n.c.	— n.c.	0.58	n.c.
精巣	0.363 [100.00]	0.063 [17.34]	0.033 [9.01]	0.006 [1.55]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.37	n.c.
脳	0.117 [100.00]	0.013 [11.06]	0.008 [6.46]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.12	n.c.
脊髄	0.149 [100.00]	0.012 [8.11]	0.008 [5.59]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	— n.c.	— n.c.	0.15	n.c.
脳下垂体	0.793 [100.00]	0.058 [7.31]	0.050 [6.36]	0.008 0.99	— n.c.	— n.c.	— n.c.	0.80	n.c.
松果体	0.612 [100.00]	0.054 [8.86]	0.042 [6.82]	0.010 1.63	— n.c.	— n.c.	— n.c.	0.62	n.c.
副腎	1.192 [100.00]	0.144 [12.05]	0.108 [9.05]	0.023 1.89	0.014 [1.21]	0.013 [1.13]	0.014 [1.16]	1.21	0.35
胸腺	0.627 [100.00]	0.047 [7.51]	0.039 [6.25]	0.006 1.01	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.63	n.c.
甲状腺	0.954 [100.00]	0.102 [10.64]	0.107 [11.17]	0.026 2.70	0.010 [1.09]	0.013 [1.32]	0.007 [0.75]	0.97	0.18
唾液腺	0.953 [100.00]	0.080 [8.39]	0.069 [7.25]	0.011 1.11	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.97	n.c.
鼻粘膜	0.382 [54.88]	0.696 [100.00]	0.033 [4.73]	0.016 [2.23]	0.010 [1.39]	0.007 [0.99]	0.008 [1.11]	0.70	0.19
ガラス体	0.232 [100.00]	0.034 [14.83]	0.014 [5.82]	0.006 [2.58]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.24	n.c.
Harder腺	0.900 [100.00]	0.089 [9.88]	0.062 [6.92]	— n.c.	— n.c.	— n.c.	— n.c.	0.91	n.c.

—: 通常、ラットの切片において可視の器官または組織、しかしながらラジオルミノグラム上で確認できない。

→: 最高等価濃度 CEQ-値 (= CEQ_{max}) はイタリック太字で表示。n.c.: 計算せず。

^{a)} CEQ_{max}血液比 = 各部位のCEQ_{max} / 血液のCEQ_{max} (CEQ_{max}: 最高濃度)

CEQ_{168h}血液比 = 各部位のCEQ_{168h} / 血液のCEQ_{168h} (CEQ_{168h}: 168時間後の濃度)

[]: 比率 [%] = (各測定時のCEQ / CEQ_{max}) x 100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 6 雌の臓器・組織における放射能濃度 (µg/g、有効成分当量濃度)と CEQ_{max}に対する割合[%]の推移

器官または組織	等価濃度 CEQ [µg 有効成分-等価量/g]								CEQ _{max} 血液比 ^{a)}	CEQ _{168h} 血液比 ^{a)}
	動物番号									
	401	402	403	404	405	406	407	408		
	処置時間 [投与後時間]									
	1時間	4時間	8時間	24時間	48時間	72時間	120時間	168時間		
血液	1.317 [100.00]	0.487 [36.99]	0.390 [29.59]	0.127 [9.61]	0.076 [5.79]	0.071 [5.39]	0.064 [4.87]	0.053 [4.05]	1.00	1.00
肝臓	4.616 [100.00]	2.322 [50.31]	1.631 [35.33]	0.316 [6.85]	0.085 [1.85]	0.057 [1.24]	0.035 [0.77]	0.030 [0.64]	3.50	0.56
腎皮質	2.457 [100.00]	0.952 [38.74]	0.649 [26.42]	0.145 [5.90]	0.034 [1.38]	0.023 [0.94]	0.018 [0.73]	0.013 [0.52]	1.86	0.24
腎髄質	3.476 [100.00]	1.450 [41.70]	0.854 [24.56]	0.207 [5.96]	0.087 [2.51]	0.055 [1.57]	0.043 [1.24]	0.024 [0.69]	2.64	0.45
全腎	2.966 [100.00]	1.201 [40.48]	0.751 [25.33]	0.176 [5.94]	0.061 [2.04]	0.039 [1.31]	0.031 [1.03]	0.018 [0.62]	2.25	0.35
褐色脂肪	2.976 [100.00]	0.645 [21.68]	0.494 [16.59]	0.076 [2.57]	0.014 [0.48]	0.011 [0.38]	0.006 [0.22]	0.007 [0.23]	2.26	0.13
腎周囲脂肪	0.801 [100.00]	0.368 [46.02]	0.361 [45.15]	0.052 [6.49]	0.005 [0.66]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.61	n.c.
骨格筋	1.077 [100.00]	0.343 [31.83]	0.265 [24.60]	0.063 [5.85]	0.019 [1.77]	0.014 [1.27]	0.015 [1.42]	0.014 [1.34]	0.82	0.27
心筋	1.927 [100.00]	0.651 [33.79]	0.461 [23.93]	0.107 [5.55]	0.024 [1.22]	0.015 [0.76]	0.013 [0.67]	0.013 [0.67]	1.46	0.24
肺	0.579 [100.00]	0.341 [58.83]	0.316 [54.52]	0.080 [13.87]	0.033 [5.66]	0.026 [4.56]	0.025 [4.24]	0.026 [4.51]	0.44	0.49
脾臓	1.104 [100.00]	0.341 [30.88]	0.295 [26.76]	0.064 [5.80]	0.017 [1.58]	0.015 [1.38]	0.015 [1.38]	0.013 [1.14]	0.84	0.24
すい臓	1.736 [100.00]	0.489 [28.14]	0.471 [27.12]	0.090 [5.19]	0.013 [0.73]	0.007 [0.41]	0.005 [0.30]	<LOQ n.c.	1.32	n.c.
骨髄	0.997 [100.00]	0.261 [26.15]	0.232 [23.27]	0.049 [4.88]	0.007 [0.66]	— n.c.	— n.c.	— n.c.	0.76	n.c.
卵巣	1.443 [100.00]	0.441 [30.55]	0.348 [24.13]	0.071 [4.91]	0.015 [1.01]	0.009 [0.59]	0.010 [0.67]	0.009 [0.62]	1.10	0.17
子宮	1.380 [100.00]	0.451 [32.70]	0.339 [24.55]	0.092 [6.63]	0.017 [1.21]	<LOQ n.c.	0.006 [0.43]	<LOQ n.c.	1.05	n.c.
脳	0.516 [100.00]	0.099 [19.11]	0.067 [13.05]	0.014 [2.70]	0.006 [1.25]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	0.39	n.c.
脊髄	0.629 [100.00]	0.112 [17.81]	0.079 [12.51]	0.017 [2.65]	0.007 [1.19]	<LOQ n.c.	0.005 [0.81]	0.005 [0.84]	0.48	0.10
脳下垂体	1.434 [100.00]	0.476 [33.21]	0.346 [24.13]	0.078 [5.44]	0.015 [1.02]	0.007 [0.47]	0.006 [0.44]	<LOQ n.c.	1.09	n.c.
松果体	1.277 [100.00]	0.411 [32.21]	0.297 [23.23]	0.077 [6.06]	0.016 [1.27]	0.010 [0.76]	0.007 [0.58]	0.010 [0.82]	0.97	0.20
副腎	3.061 [100.00]	0.797 [26.02]	0.648 [21.16]	0.149 [4.87]	0.031 [1.01]	0.023 [0.74]	0.020 [0.66]	0.019 [0.63]	0.80	n.c.
胸腺	1.052 [100.00]	0.347 [32.96]	0.261 [24.77]	0.055 [5.24]	0.008 [0.74]	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	<LOQ n.c.	1.29	0.13
甲状腺	1.541 [100.00]	0.565 [36.64]	0.399 [25.90]	0.098 [6.35]	0.029 [1.85]	0.013 [0.85]	0.011 [0.72]	0.008 [0.54]		
唾液腺	1.693 [100.00]	0.597 [35.28]	0.433 [25.60]	0.090 [5.34]	0.015 [0.90]	0.009 [0.52]	0.008 [0.45]	0.007 [0.40]		
鼻粘膜	0.625 [100.00]	0.240 [38.36]	0.263 [42.10]	0.068 [10.95]	0.039 [6.29]	0.030 [4.83]	0.023 [3.71]	0.018 [2.86]	0.47	0.34
ガラス体	0.370 [100.00]	0.151 [40.73]	0.118 [31.85]	0.041 [11.09]	0.013 [3.39]	0.006 [1.75]	0.006 [1.59]	<LOQ n.c.	0.28	n.c.
Harder腺	1.477 [100.00]	0.525 [35.56]	0.661 [44.75]	0.121 [8.16]	0.012 [0.83]	0.011 [0.77]	0.009 [0.61]	0.006 [0.41]	1.12	0.11

—: 通常、ラットの切片において可視の器官または組織、しかしながらラジアルミノグラム上で確認できない。

→: 最高等価濃度 CEQ-値 (= CEQ_{max}) はイタリック太字で表示。n.c.: 計算せず。

^{a)} CEQ_{max}血液比 = 各部位のCEQ_{max} / 血液のCEQ_{max} (CEQ_{max}: 最高濃度)

CEQ_{168h}血液比 = 各部位のCEQ_{168h} / 血液のCEQ_{168h} (CEQ_{168h}: 168時間後の濃度)

[]: 比率 [%] = (各測定時のCEQ / CEQ_{max}) x 100