

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。

農薬抄録

フルフェナセット（除草剤）

平成24年7月23日作成

バイエルクロップサイエンス株式会社

（作成責任者・所属） 登録センター部長

連絡先	（社名）	（担当部）	（担当者名）	（TEL）
	バイエルクロップサイエンス(株)	登録センター部		

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。

目次

I. 開発の経緯、外国における使用状況及び生物活性	1
II. 物理的・化学的性状	2
III. 生物活性	12
IV. 適用および使用上の注意	13
V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係	16
VI. 有用動植物等に及ぼす影響	49
VII. 使用時安全上の注意	59
VIII. 毒性	毒- 1
1. 原体	
(1) 急性毒性	毒- 8
(2) 皮膚及び眼に対する刺激性	毒- 18
(3) 皮膚感作性	毒- 22
(4) 急性神経毒性	毒- 26
(5) 急性遅発性神経毒性	毒- 32
(6) 90日間反復経口投与毒性	毒- 33
(7) 21日間反復経皮投与毒性	毒- 72
(8) 90日間反復吸入毒性	毒- 77
(9) 反復経口投与神経毒性	毒- 78
(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性	毒- 88
(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性	毒- 89
(12) 繁殖毒性及び催奇形性	毒- 151
(13) 変異原性	毒- 175
(14) 生体の機能への影響	毒- 191
(15) その他	毒- 196
2. 代謝物	
(1) 急性毒性	毒- 230
(2) 変異原性	毒- 234
3. 製剤	
(1) 急性毒性	毒- 252
(2) 皮膚及び眼に対する刺激性	毒- 255
(3) 皮膚感作性	毒- 259
IX. 動植物及び土壌等における代謝分解	代- 1
1. 動物代謝試験	
ラット	代- 9

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. 植物代謝試験

小麦	代-	24
だいず	代-	31
とうもろこし	代-	43
ばれいしょ	代-	49

3. 土壌中動態試験

好気土壌	代-	54
嫌気土壌	代-	65

4. 水中動態試験

加水分解	代-	72
水中光分解	代-	75

5. 土壌吸着試験

土壌吸脱着	代-	81
土壌吸着	代-	84

代謝のまとめ	代-	86
--------	----	----

代謝の概要	代-	91
-------	----	----

推定代謝経路	代-	93
--------	----	----

開発年表	附-	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。

I. 開発の経緯、外国における使用状況及び生物活性

フルフェナセットは、ドイツ国バイエル社（現バイエルクロップサイエンス社）での酸アミド系化合物の探索において、主としてイネ科雑草への除草活性が見出された化合物であり、1988年6月に特許出願された。

その後、種々試験を実施し、1997年にヨーロッパを中心に登録申請され、1998年ドイツ、フランス、ベルギー及び米国等において上市された。その後、他のヨーロッパ諸国をはじめ、カナダ、東南アジア諸国においても順次上市されている。

なお2003年にはEU Annex I にリストアップされている。

本剤の適用作物としては麦類、とうもろこしが主要作物であり、その他には大豆、稲、ばれいしょ、野菜等で使用されている。

フルフェナセットは酸アミド系化合物であり、作用機作はC20以上の超長鎖脂肪酸生合成阻害である。この作用により、雑草の発芽抑制あるいは幼芽部の伸長抑制が起こり枯死に至る。植物による吸収部位は根部及び幼芽部であるため、土壌処理のほか2～3葉期位までは雑草茎葉処理によっても効果を発現する。

本剤の対象雑草としては、スズメタネボウ、メシガ、ヒエ類、スズメカササ、エノコログサ等のイネ科雑草を中心に、ナズナ、ホトケク、ヤムグル等の広葉雑草にも活性を示す。

本剤は広範な雑草に対し除草効果を発現するため、単剤でも使用されるが、広葉雑草については効果の低い種があるため、広葉剤との混合剤もしくは現地混用が普及している。

[諸外国での評価]

評価国	評価年	mg/kg/日	不確実係数(UF)	設定の根拠に用いた試験成績
欧州	2003	ADI:0.005	250	1年間反復経口毒性/発がん性併合試験(毒性資料No. 原体-18)
米国	2007	CRFD;0.0017	1000	ラットの発達神経毒性試験(毒性資料No. 原体-30)

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。

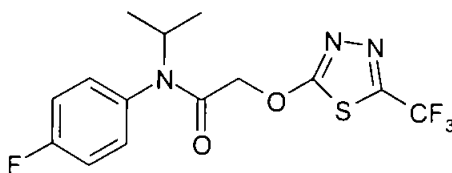
II. 物理的・化学的性状

1. 有効成分の名称及び化学構造

- 1) 一般名 フルフェナセト
 flufenacet [ISO名]
- 2) 別名 商品名：リベレーターフロアブル
 試験名：BCH081
 コード番号：FOE5043
- 3) 化学名 4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジazol-2-イルオキシ]アセトアミド (IUPAC名)
 4'-fluoro-N-isopropyl-2-[5-(trifluoromethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yloxy]acetanilide

 N-(4-フルオロフェニル)-N-(1-メチルエチル)-2-[[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジazol-2-イル]オキシ]アセトアミド (CAS名)
 N-(4-fluorophenyl)-N-(1-methylethyl)-2-[[5-(trifluoromethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]oxy]acetamide

4) 構造式



- 5) 分子式 C₁₄H₁₃F₄N₃O₂S
- 6) 分子量 363.33
- 7) CAS No. 142459-58-3

2. 有効成分の物理的・化学的性状

- 1) 外観・臭気 無色微細結晶性粉末・微臭
 官能試験
 [、1995年報告]
- 2) 密度 1.45 g/mL
 OECDガイドライン109、浮きばかり法
 [、1995年報告、GLP]

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) 融点 76~79°C
OECDガイドライン102、溶融顕微鏡法
[、1992年報告、GLP]
- 4) 沸点 提出除外理由書 (150~160°Cで分解するため測定不可能)
- 5) 蒸気圧 9×10^{-7} hPa (20°C)
 2×10^{-6} hPa (25°C)
OECDガイドライン104、気体流動法
[、1994年報告、GLP]
- 6) 溶解度 (水および有機溶媒)
- 水 (20°C) 56 mg/L (pH4及び7)、53mg/L (pH9)
OECDガイドライン105、フラスコ法
[、1992年報告、GLP]
- 有機溶媒 (20°C)
- | | |
|-------------|----------|
| n-ヘキサン | 8.7 g/L |
| トルエン | >200 g/L |
| ジクロロメタン | >200 g/L |
| 2-プロパノール | 170 g/L |
| 1-オクタノール | 88 g/L |
| ホリエフレングリコール | 74 g/L |
| アセトン | >200 g/L |
| ジメチルホルムアミド | >200 g/L |
| アセトニトリル | >200 g/L |
| ジメチルスルホキシド | >200 g/L |
- OECDガイドライン105、フラスコ法
[、1992年報告、GLP]
- | | |
|-------------|----------|
| メタノール | >280 g/L |
| n-ヘプタン | 6.4 g/L |
| キシレン | >280 g/L |
| 1,2-ジクロロエタン | >280 g/L |
| アセトン | >280 g/L |
| 酢酸エチル | >280 g/L |
| ジメチルスルホキシド | >280 g/L |
- OECDガイドライン105、フラスコ法
[、2012年報告、GLP]
- 7) 解離定数 解離せず
OECDガイドライン112、滴定法
[、1992年報告、GLP]
- 8) 分配係数 (オクタノール/水) $\log P_{ow} = 3.20$ (24°C)
OECDガイドライン107、フラスコ振とう法
[、1992年報告、GLP]

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。

9) 安定性

- ①熱 150~160°Cで分解
OECDガイドライン113、DTA/TGA法
[、1993年報告、GLP]
- ②加水分解性 半減期 (25±1°C) 14835日 (pH5)
1547日 (pH7)
654日 (pH9)
EPAガイドライン Subdivision N、Section 161-1
[、1992年報告、GLP (加水分解動態試験[環1])]]
- ③水中光分解性 半減期 (25±1°C、680W/m²、波長300-800nm)
pH5緩衝液：分解せず
自然水：2978~9532日 (東京春換算)
EPAガイドライン Subdivision N、Section 161-2
[、1995年報告、GLP(自然水は非GLP) (水中光分解動態試験[環2])]]

- 10) 土壌吸着係数 ①K_{oc} = 213~742 (22°C)
[、1992年報告、GLP (土壌吸着試験[環3])]]
- ②K_{oc} = 160.8及び426.5 (25°C)
[、2010年報告、GLP (土壌吸着試験[環4])]]

- 11) 生物濃縮性 提出除外理由書 (log Powが3.5未満であるため)

- 12) UV、赤外、MS、NMR等のスペクトル
供試標準品の純度：99.5% [、1993年報告]

① UVスペクトル：図1 (濃度 0.55 x 10⁻⁴ mol/Lアセトリル溶液のチャート)
極大吸収波長は認められず (測定波長範囲；200~400nm)

② 赤外スペクトル：図2 (KBr法)

波数 (cm ⁻¹)	帰属
3468、3073	芳香環 C-H伸縮振動
2985、2963、2937、2876	脂肪族 C-H伸縮振動
1680	アミド C=O伸縮振動
1509	アミド CO-NH変角振動
1227	芳香環 C-F伸縮振動

③ MSスペクトル：図3 (EI法)

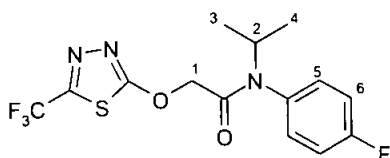
m/z	帰属
363	M ⁺
211	C ₅ H ₂ F ₃ N ₂ O ₂ S ⁺
151	C ₉ H ₁₀ FN ⁺
43	C ₃ H ₇ ⁺

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 NMR スペクトル

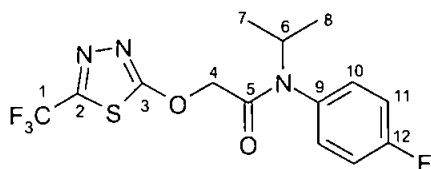
¹H-NMRスペクトル：図4

σ (化学シフト: ppm, Hz/MHz)	多重度	帰属
4.73	一重線	1
4.95	七重線	2
1.08	二重線	3
1.08	二重線	4
7.26-7.29	多重線	5
7.16-7.26	多重線	6



¹³C-NMRスペクトル：図5

σ (化学シフト: ppm, Hz/MHz)	多重度	帰属
118.7	四重線	1
151.6	四重線	2
176.7	一重線	3
69.7	三重線	4
164.2	一重線	5
46.9	二重線	6
20.5	四重線	7
20.5	四重線	8
131.8	一重線	9
131.9	二重の二重線	10
116.8	二重の二重線	11
162.8	二重線	12



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。

図1 UVスペクトル

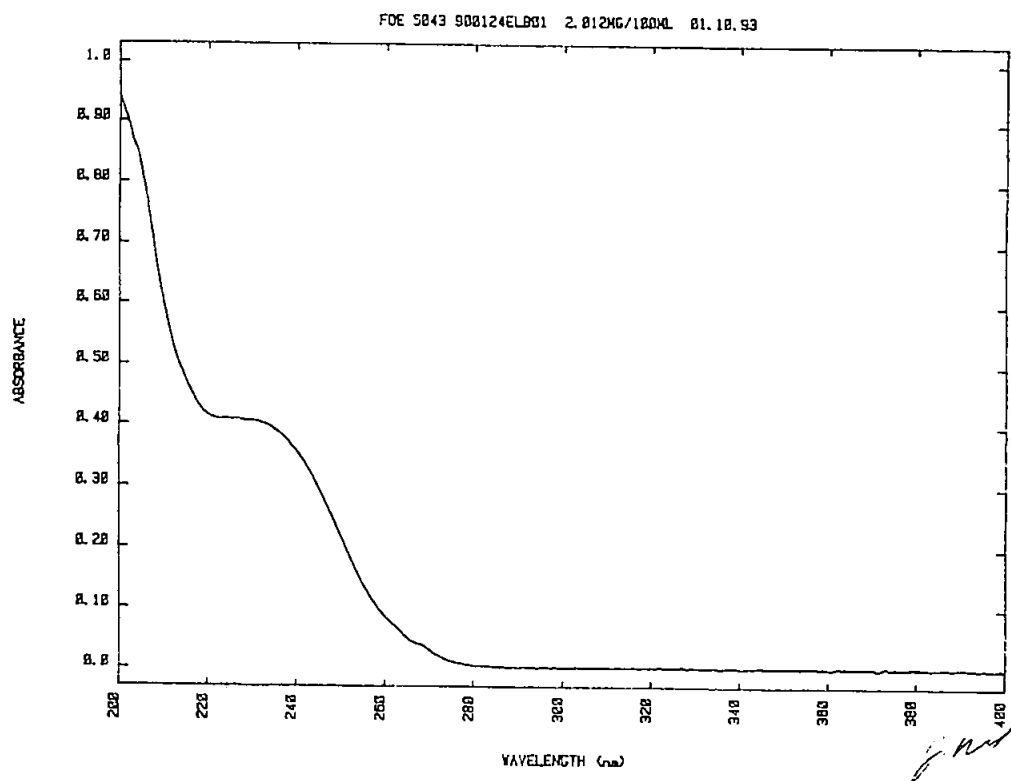
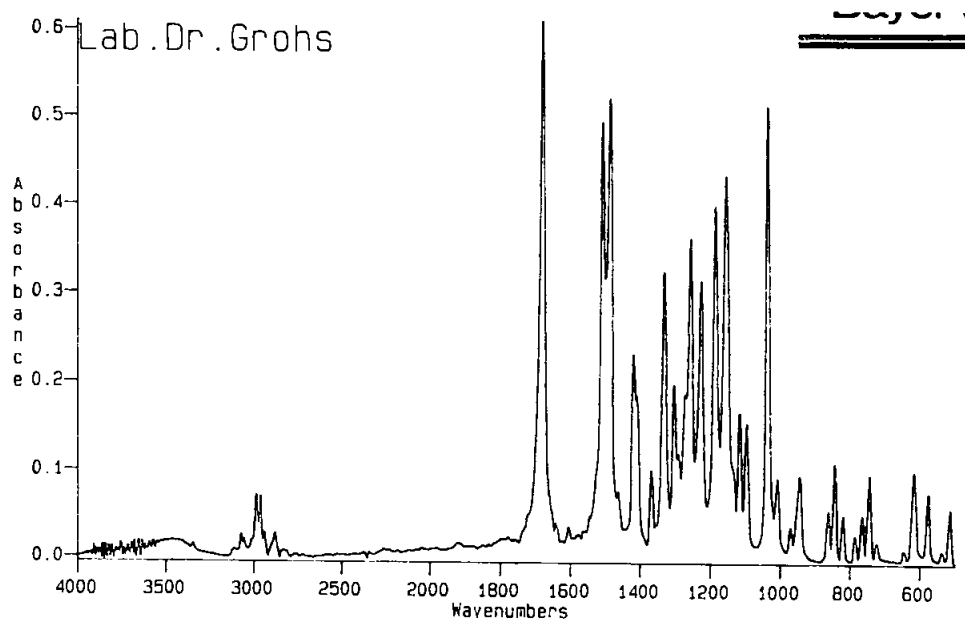


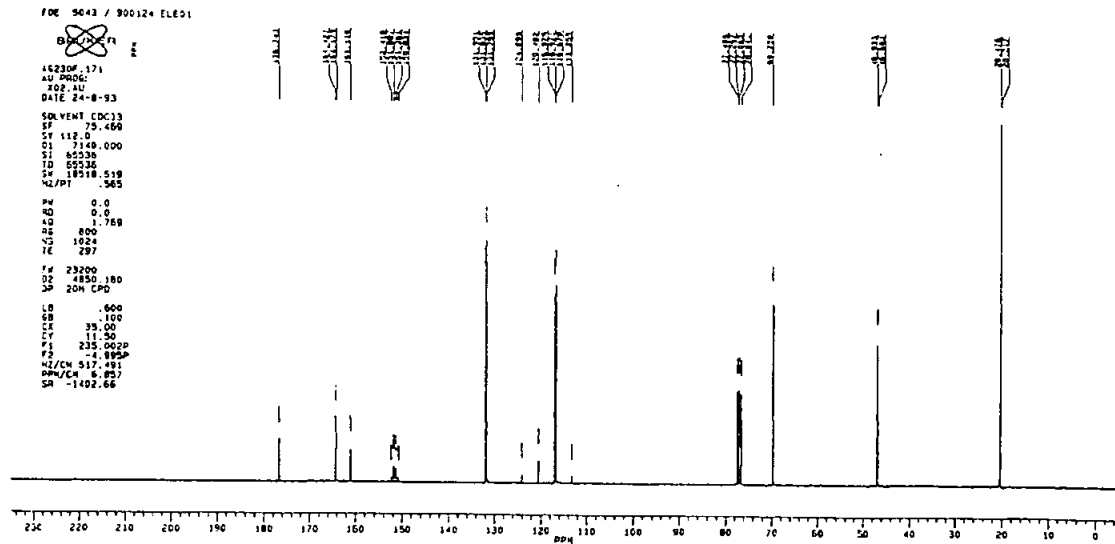
図2 赤外スペクトル



測定機器：バイオラッドFTIR-分光光度計FTS7、試料調製方法：KBr法

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。

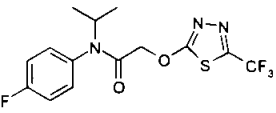
図5 ^{13}C -NMRスペクトル



測定機器 : Bruker AM-300、溶媒 : CDCl₃、基準物質 : TMS

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. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量(%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値又はレンジ
有効成分	フルフェナセット	4'-フルオロ-N-イソプロピル -2-[5-(トリフルオロメチル) -1,3,4-チアジアゾール-2-イル オキシ]アセチアリド		C ₁₄ H ₁₅ F ₄ N ₃ O ₂ S	363.33		
原体 混 在 物							

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。

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量(%)	
	一般名	化学名				規格値	通常値又はレンジ
原体混在物							

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. 製剤の組成

① 33.6%水和剤

ジフルフェニカン	8.4%	(w/w)
フルフェナセット	33.6%	(w/w)
水、界面活性剤等	58.0%	(w/w)

② 0.6%粒剤

ジフルフェニカン	0.2%	(w/w)
フルフェナセット	0.6%	(w/w)
鉍物質等	99.2%	(w/w)

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。

Ⅲ. 生物活性

活性の範囲

フルフェナセットは、雑草の発生前からイネ科雑草の1葉期までに処理することにより、高い除草効果を示す。

スズメノカタビラ、スズメノテッポウ、メヒシバ、イヌビエを始めとする一年生イネ科雑草に対しては、発生前土壌処理および1～2葉期までの茎葉兼土壌処理で、強い殺草活性を示し、ナズナ、ヤエムグラ、ハキダメギク、カヤツリグサなどの一年生広葉およびカヤツリグサ科雑草に対しては、発生前土壌処理で強い殺草活性を示す。一方、ナデシコ科、タデ科の雑草に対する殺草活性は弱い。

作用機構

フルフェナセットは、酸アミド系の除草剤で、長鎖脂肪酸の生合成を阻害し、結果として細胞分裂を阻害する。雑草は発芽後、土壌に形成された処理層を通過する際に、根部および幼芽部からフルフェナセットを吸収し、細胞分裂阻害に伴う生育抑制や濃緑化の症状を呈してやがて枯死する。

作用特性と防除の利点

本剤は、小麦・大麦に対して安全性を示しつつ、一年生イネ科雑草に高い殺草活性を有することを特長とする。近年、問題となっている除草剤抵抗性スズメノテッポウを始めとした難防除イネ科雑草を発生前土壌処理からイネ科雑草1葉期までの茎葉兼土壌処理で枯殺することができる。

本剤は、麦類以外に、豆類、とうもろこし、ばれいしょなどにも選択性を有している。

IV. 適用および使用上の注意

<リベレーターフロアブル> ジフルフェニカン(8.4%)・フルフェナセット(33.6%)水和剤

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用 雑草名	使用時期	適用土壌	使用量		本剤の 使用 回数	使用方法	適用地帯
				薬量	希釈 水量			
小麦 (秋播栽培)	一年生 雑草	は種後 ～麦3葉期 (雑草発生前 ～イネ科雑草1葉 期まで)	全土壌 (砂土を 除く)	60～80 mL/10a	100L/10a	1回	雑草茎葉 散布 または 全面土壌 散布	全域
大麦 (秋播栽培)								全域 (北海道 を除く)

ジフルフェニカンを含む 農薬の総使用回数	フルフェナセットを含む 農薬の総使用回数
1回	1回

2. 使用上の注意事項

- (1) 本剤は雑草の発生前からイネ科雑草1葉期まで有効なので、時期を失ないように散布すること。
- (2) 砕土、整地は丁寧に言い、覆土深が2～3cmとなるように細かく砕いた土を用いて丁寧に覆土を行うこと。
- (3) 砂質土壌での使用は、薬害を生ずる恐れがあるので避けること。
- (4) 大麦の出芽揃期の使用において、高薬量では薬害を生じる場合があるので注意すること。
- (5) 水田裏作の麦類に使用する場合、排水不良田等土壌がしめりすぎていると砕土や覆土が不十分となり効果むらや薬害の原因となることがあるので、過湿状態での使用は避けること。
- (6) 処理後に大量の降雨が予想される場合は使用を避けること。
- (7) 本剤の使用により麦の葉身に白化や黄化等が見られる場合があるが、その後出てくる葉には認められず回復する。
- (8) 散布薬液の飛散あるいは本剤の流出によって有用植物に薬害を生ずる恐れがあるので、散布の際には隣接作物にかからないように注意すること。特に風の強い時の使用は避けること。
- (9) 本剤を散布した圃場で後作物を栽培する場合には、耕起を十分に行うこと。
- (10) 本剤散布に用いた器具類は、タンクやホース内に薬液が残らないよう使用後できるだけ早く水でよく洗浄し、他の用途に使用する場合、薬害の原因にならないように注意すること。
- (11) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

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. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

- (1) 水産動植物（藻類）に影響を及ぼす恐れがあるので、河川、養殖池等に飛散、流入しないように注意して使用すること。
- (2) 使用残りの薬液が生じないように調製を行い、使い切ること。散布器具および容器の洗浄水は、河川等に流さないこと。また、空容器等は水産動植物に影響を与えないよう適切に処理すること。

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。

<リベレーターG> ジフルフェニカン(0.2%)・フルフェナセット(0.6%)粒剤

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

作物名	適用雑草名	使用時期	適用土壌	使用量	本剤の使用回数	使用方法	適用地帯
小麦 (秋播栽培)	一年生 雑草	は種後 ～麦2葉期 (雑草発生前 ～イネ科雑草1葉 期まで)	全土壌 (砂土を 除く)	4～5kg/10a	1回	全面土壌 散布	全域 (北海道 を除く)
大麦 (秋播栽培)							

ジフルフェニカンを含む 農薬の総使用回数	フルフェナセットを含む 農薬の総使用回数
1回	1回

2. 使用上の注意事項

- (1) 本剤は雑草の発生前からイネ科雑草1葉期まで有効なので、時期を失ないように散布すること。
- (2) 砕土、整地は丁寧に行い、覆土深が2～3cmとなるように細かく砕いた土を用いて丁寧に覆土を行うこと。
- (3) 砂質土壌での使用は、薬害を生ずる恐れがあるので避けること。
- (4) 水田裏作の麦類に使用する場合、排水不良田等土壌がしめりすぎていると砕土や覆土が不十分となり効果むらや薬害の原因となることがあるので、過湿状態での使用は避けること。
- (5) 処理後に大量の降雨が予想される場合は使用を避けること。
- (6) 本剤の使用により麦の葉身に白化や黄化等が見られる場合があるが、その後出てくる葉には認められず回復する。
- (7) 散布薬液の飛散あるいは本剤の流出によって有用植物に薬害を生ずる恐れがあるので、散布の際には隣接作物にかからないように注意すること。特に風の強い時の使用は避けること。
- (8) 本剤を散布した圃場で後作物を栽培する場合には、耕起を十分に行うこと。
- (9) 本剤散布に用いた器具類は、内部に薬剤が残らないよう使用後できるだけ早く水でよく洗浄し、他の用途に使用する場合、薬害の原因にならないように注意すること。
- (10) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法などを誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には病虫害防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

- (1) 水産動植物（藻類）に影響を及ぼす恐れがあるので、河川、養殖池等に飛散、流入しないように注意して使用すること。
- (2) 散布器具の洗浄水は、河川等に流さないこと。また、空袋等は水産動植物に影響を与えないよう適切に処理すること。

V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

1. 作物残留試験

1) 分析法の原理と操作概要

アセトンで抽出し、C₁₈ミニカラムで精製した後、液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて定量する。

2) 分析対象化合物

フルフェナセット [A]

化学名：4-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジアゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド

分子式：C₁₄H₁₃F₄N₃O₂S

分子量：363.33

定量限界：0.01ppm

FOEオキサレート []

化学名： [(4-フルオロフェニル)(1-メチルエチル)アミノ]オキソ酢酸

分子式：C₁₁H₁₂FN₂O₃

分子量：225.22

定量限界：0.02ppm (親化合物換算)

親化合物換算係数：1.61

FOEスルホン酸 () []

化学名：4-フルオロ-N-(1-メチルエチル)アニリンスルホンアセトアニリド

分子式：C₁₁H₁₄FN₂O₃S

分子量：275.30

定量限界：0.02ppm (親化合物換算)

親化合物換算係数：1.32

FOEチオグリコレートスルホキシド () []

化学名： [N-(4-フルオロフェニル)-N-(1-メチルエチル)アセトアニリド]-2-スルフィニル酢酸

分子式：C₁₃H₁₆FN₂O₃S

分子量：301.34

定量限界：0.02ppm (親化合物換算)

親化合物換算係数：1.21

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

3) 残留試験結果

作物名 (分析部位) (栽培形態) 年度	剤型 (有効成分量) 使用量 使用方法	試料調製場所	使用回数	経過日数	分析結果 (ppm)									
					財団法人 残留農薬研究所									合計
					707777		FOEチキレート		FOEスルホ酸		FOEチオグリコレート スルホジド			
					最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値		
小麦 (種子) 露地 [GLP] 平成21年度	707777 (33.6%)	日植調 研究所	0	-	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
			1	136	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
			1	143	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
			1	150	<0.01	<0.01	0.02	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.07	
		日植調 東海	0	-	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07
			1	119	<0.01	<0.01	0.13	0.13	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.18
			1	125	<0.01	<0.01	0.13	0.13	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.18
			1	133	<0.01	<0.01	0.13	0.13	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	0.18
大麦 (種子) 露地 [GLP] 平成21年度	80ml/10a 散布	日植調 研究所	0	-	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
			1	119	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
			1	126	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
			1	133	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07	
		日植調 福岡	0	-	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07
			1	113	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07
			1	120	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07
			1	127	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.07

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. 家畜代謝試験

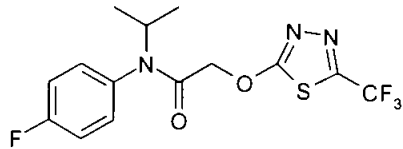
(1) 泌乳ヤギにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド
(以下、¹⁴C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物；

泌乳ヤギ1頭 (*Capra hircus*、3歳、体重46kg)

試験方法；

投与；700mgの非標識フルフェナセットを予め量り取った遠沈管に、¹⁴C標識フルフェナセット原液29.8ml及び¹³C標識フルフェナセット原液8.0ml（各々フルフェナセットとして118mg及び201mgを含む）を加える。窒素気流で溶媒を留去した後、残留物を4mlのエタノールで再溶解する。これを投与液とする（255mg/ml）。

この溶液0.90mlをゼラチンカプセルに封入し、朝の搾乳後に投薬器を用いて強制経口投与した。

投与は1日1回、3日間反復投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は5mg/kgとした。これは飼料中濃度としては167ppmに相当し、最大投下薬量（0.9kg a. i. /ha）で処理した飼料作物中の予想最大残留量の301倍の濃度である。

試料採取；

最終投与4時間後に屠殺し、脂肪組織、筋肉、腎臓及び肝臓を採取した。

乳汁に関しては朝の投与前及び夕刻の2回搾乳した。また最終投与後屠殺直前にも搾乳した。初回投与日夕刻及び2日目投与前の試料を合わせたものをDay-1試料、2日目夕刻及び最終投与前の試料を合わせたものをDay-2試料、屠殺直前に搾乳した試料をDay-3試料とした。

試料中の放射能測定；

乳汁試料及び抽出液は、シンチレーションカクテルを加えた後、液体シンチレーションカウンターにより直接放射能を測定した。

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。

臓器・組織試料は、サンプルオキシゲナーで燃焼し、発生した¹⁴C₂O₂を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

放射能の抽出及び定性・定量；

脂肪組織及び筋肉試料は、アセトニトリル及びヘキサンで順次抽出した。筋肉試料についてはさらにメタノール抽出を行なった。腎臓試料はメタノール抽出を行なった。

肝臓試料についてはメタノール抽出を行なった後、抽出液を濃縮し、メタノール、ヘキサンおよび水を加え液-液抽出した。残渣は2N塩酸で還流抽出したのち酢酸エチルで抽出、水層をpH14に調整したのち再度酢酸エチルで抽出した。

また乳汁については凍結乾燥後、メタノール抽出を行なった。Day-2以降の試料については抽出液を濃縮後、メタノール、ヘキサンおよび水を加え液-液抽出した。

抽出液をHPLC及びTLCに供し、標準品とのクロマトグラフにより代謝物の定性及び定量を行った。また、LC/MSにより化学構造の確認を行った。

結果：

臓器・組織内分布

最終投与4時間後に供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

腎臓及び肝臓中に高い放射能が認められた。脂肪組織及び筋肉中の放射能濃度は臓器に比べて低く、1/10以下であった。残存放射能の大部分は、いずれの臓器・組織中においても抽出性放射能であった

また乳汁への移行も認められ、放射能濃度は試験期間中経時的に上昇した。

臓器・組織及び乳汁中の放射能濃度を表1に示した。

表1 臓器・組織中の放射能濃度（フルフェネット換算値として）

	抽出性放射能濃度 (ppm)			非抽出性放射能濃度 (ppm)	合計 (ppm)
	アセトニトリル	ヘキサン	メタノール		
脂肪組織	0.246	0.011	-	0.019	0.276
筋肉	0.224	0.003	0.033	0.005	0.265
腎臓	-	-	3.622	0.151	3.773
肝臓	-	0.186	3.352	0.186	3.724
乳汁					
Day-1	-	-	0.121	0.027	0.148
Day-2	-	0.020	0.193	0.009	0.222
Day-3	-	0.009	0.280	0.012	0.301

-：該当せず

代謝物のプロフィール；

各試料中の代謝物のプロフィールについて検討した。

泌乳ヤギにおける重要な一次代謝物は、であった

の開裂を受け、主代謝物である

が生成された。

は され である へと代謝された。 の

開裂後、に、さらに の開裂を受け

へと分解された。

各試料中の代謝物プロフィールを表2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。

表 2 各試料中の代謝物濃度 (フルフェナセット換算値 ppm)

	脂肪	筋肉	腎臓	肝臓	乳汁		
					Day-1	Day-2	Day-3
フルフェナセット[A]	0.006	0.005	ND	ND	ND	ND	ND
合計							

ND：検出されず

まとめ：

泌乳ヤギに投与された放射能は吸収された後、臓器・組織中に分布し、乳汁へも移行した。腎臓や肝臓中の放射能濃度は、脂肪、筋肉等の組織中濃度と比較して明らかに高かった。乳汁中の濃度は組織中濃度と同等であった。

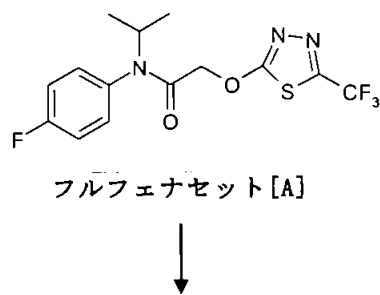
投与量が飼料作物における予想最大濃度の301倍であったことから、予想最大濃度での投与においては肝臓及び腎臓では約0.01ppm、脂肪、筋肉及び乳汁中では0.001ppm以下になると推定された。

泌乳ヤギ体内におけるフルフェナセットの重要な一次代謝は であった
は肝臓中にも確認されたが、 代謝物である
は、供試した全ての試料中（肝臓を除く）において最も高濃度で検出された。
は腎臓中にも認められたが、ラットの代謝試験において本代謝物が尿中放射能の主要な代謝物であったことから、泌乳ヤギにおいても同様に尿中排泄放射能の主要な代謝物であると推察された。

泌乳ヤギにおける推定代謝経路を図1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。

図1 泌乳ヤギ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。

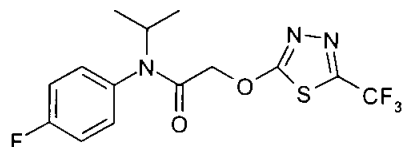
(2) 泌乳ヤギにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド
(以下、¹⁴C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物；

泌乳ヤギ1頭 (*Capra hircus*、3歳、体重49kg)

試験方法；

投与；¹⁴C標識フルフェナセット原液26.0ml (フルフェナセットとして404mgを含む)を遠沈管に量り取り、窒素気流で溶媒を留去した後、非標識フルフェナセット680mgを加え、4mlのエタノールで再溶解する。これを投与液とする(271mg/ml)。この溶液0.90ml (フルフェナセットを244.0mg含有)を、予め1.5gの α -ラクトスの入ったゼラチンカプセルに移し、ドラフト内で溶媒を蒸発させたのち封入し、朝の搾乳後に投薬器を用いて強制経口投与した。投与は1日1回、3日間反復投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は5mg/kgとした。これは飼料中濃度としては166ppmに相当し、最大投下葉量(0.9kg a. i. /ha)で処理した飼料作物中の予想最大残留量の約300倍の濃度である。

試料採取；

最終投与4時間後に屠殺し、脂肪組織(大網脂肪、腎周囲脂肪及び皮下脂肪の混合試料)、筋肉(脇腹筋、脚筋及び腰部筋肉の混合試料)、腎臓及び肝臓を採取した。乳汁に関しては朝の投与前及び夕刻の2回搾乳した。また最終投与後屠殺直前にも搾乳した。初回投与前夕刻及び2日目投与前の試料を合わせたものをDay-1試料、2日目夕刻及び最終投与前の試料を合わせたものをDay-2試料、屠殺直前に搾乳した試料をDay-3試料とした。

試料中の放射能測定；

乳汁試料及び抽出液は、シンチレーションカウンタを加えた後、液体シンチレーションカウンタにより直接放射能を測定した。

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。

臓器・組織試料は、サンプルオキシゲナーで燃焼し、発生した¹⁴C₂O₂を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し、放射能を測定した。

放射能の抽出及び定性・定量；

脂肪組織及び筋肉試料は、アセトニトリル及びヘキサンで順次抽出した。ヘキサン抽出液についてはアセトニトリルによる液-液抽出を行なった。アセトニトリル抽出液を合わせ濃縮し、HPLCに供した。腎臓試料はメタノールで2回抽出を行なった。抽出液を合わせ濃縮し、HPLCに供した。肝臓試料については水抽出を行なったのち試料を遠心分離し、上清をHPLCに供した。残渣にメタノールを加え超音波抽出したのち試料を遠心分離した。この操作をさらに2回繰り返して、各上清を合わせ、濃縮した後HPLCに供した。

また乳汁についてはメタノールを加え超音波抽出した後試料を遠心分離した。この操作をさらに2回繰り返して、各上清を合わせ、濃縮した後HPLCに供した。

各臓器・組織試料の抽出残渣及びDay-3乳汁試料については、さらにメタノール：水（4：1）による還流抽出及び6N塩酸による加熱還流抽出を行なった。

また、抱合体の生成を確認するため、臓器及び乳汁の抽出液の一部をβ-グルクロン酸処理に供した。

HPLCにおいては、標準品とのクロマトグラフにより代謝物の定性及び定量を行った。また、GC/MS及びLC/MSにより化学構造の確認を行った。

結果：

臓器・組織内分布

最終投与4時間後に供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。残存放射能の大部分は、いずれの臓器・組織中においても抽出性放射能であった。

また乳汁への移行も認められ、放射能濃度は試験期間中経時的に上昇した。

臓器・組織及び乳汁中の放射能濃度を表1に示した。

表1 臓器・組織中の放射能濃度（フルフェネット換算値として）

	抽出性放射能濃度 (ppm)				非抽出性放射能濃度 (ppm)	合計 (ppm)
	アセトニトリル	ヘキサン	メタノール	水		
脂肪組織	2.476	0.142	-	-	0.228 メタノール：水還流：0.171 6N塩酸加熱還流：0.028	2.846
筋肉	-	0.038	3.625	-	0.153 メタノール：水還流：0.191 6N塩酸加熱還流：0.153	3.816
腎臓	-	-	19.797	-	0.612 メタノール：水還流：0.408 6N塩酸加熱還流：0.097	20.409
肝臓	-	-	6.274	7.969	2.713 メタノール：水還流：1.526 6N塩酸加熱還流：0.339	16.956
乳汁						
Day-1	-	-	0.224	-	0.034	0.258
Day-2	-	-	0.532	-	0.053	0.585
Day-3	-	-	0.710	-	0.106 メタノール：水還流：0.041 6N塩酸加熱還流：0.033	0.816

-：該当せず

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。

代謝物のプロフィール；

各試料中の代謝物のプロフィールについて検討した。

泌乳ヤギにおける重要な一次代謝物は

た。 はさらに

の生成であっ

へと代謝さ

れた。

その他数種類の代謝物が認められたが、生成量が僅かであり同定には至らなかった。

また、未変化のフルフェナセットは認められなかった。

各試料中の代謝物プロフィールを表 2 に示した。

表 2 各試料中の代謝物濃度 (フルフェナセット換算値 ppm)

	脂肪	筋肉	腎臓	肝臓	乳汁		
					Day-1	Day-2	Day-3
フルフェナセット [A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
合計							

ND：検出されず

まとめ：

泌乳ヤギに投与された放射能は速やかに吸収され、臓器・組織中に分布した。乳汁へも速やかに移行した。腎臓や肝臓中の放射能濃度は、脂肪、筋肉等の組織中濃度と比較して明らかに高かった。乳汁中の濃度は組織中濃度よりも低かった。

投与量が飼料作物における予想最大濃度の約300倍であったことから、予想最大濃度での投与においては肝臓では約0.06ppm、腎臓では約0.07ppm、脂肪及び筋肉では約0.01ppm、乳汁中では約0.003ppmになると推定された。

泌乳ヤギ体内におけるフルフェナセットの重要な一次代謝は

の生成であった。

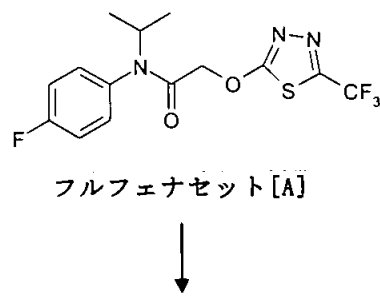
を受けた。

両代謝物はラットにおける尿中の主要代謝物であり、泌乳ヤギにおいても腎臓及び乳汁中に認められたことから、同様に尿中排泄における主要な代謝物であると推察された。

泌乳ヤギにおける推定代謝経路を図 1 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。

図1 泌乳ヤギ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。

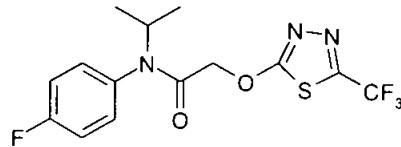
(3) 産卵鶏における代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；4'-フルオロ-N-(1,3,4-ジアゼピン-2-イル)アセチド
(以下、¹⁴C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物；

産卵鶏10羽 (*Gallus gallus*、60週令、平均体重1689g)

試験方法；

投与；196mgの非標識フルフェナセットを予め量り取った遠沈管に、¹⁴C標識フルフェナセット原液8.48ml及び¹³C標識フルフェナセット原液2.22ml (各々フルフェナセットとして28.7mg及び55.9mgを含む)を加える。窒素気流で溶媒を留去した後、残留物を4mlのエタノールで再溶解する。これを投与液とする (70mg/ml)。

この溶液0.121mlを、予め0.3gのα-ラクトスを詰めたゼラチンカプセルに注入し、経口で嚥嚥に投与した。

投与は1日1回、3日間反復投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は5mg/kgとした。これは飼料中濃度としては78ppmに相当し、最大投下薬量 (0.9kg a. i./ha) で処理した飼料作物中の予想最大残留量の867倍の濃度である。

試料採取；

最終投与3~4時間後に屠殺し、脂肪組織、筋肉及び肝臓を採取した。

卵に関しては、初回及び2回目投与の24時間後及び最終投与後屠殺直前に採取した。

試料中の放射能測定；

卵試料及び抽出液は、シンチレーションカウテルを加えた後、液体シンチレーションカウンターにより直接放射能を測定した。

臓器・組織試料は、サンプルオキシゲナーで燃焼し、発生した¹⁴CO₂を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

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。

放射能の抽出及び定性・定量；

筋肉

アセトリル飽和ヘキサン及びヘキサン飽和アセトリルで順次磨砕抽出した。抽出液を分液漏斗に合わせ、1分間振とう後静置分液し、アセトリル層及びヘキサン層に分けた。各層の一部を放射能測定に供した。またアセトリル層についてはHPLCにも供した。

抽出残渣はさらにメタノールで2回磨砕抽出した。抽出液及び残渣は放射能測定に供した。

脂肪

ヘキサン飽和アセトリル及びアセトリル飽和ヘキサンで順次磨砕抽出した。抽出液を分液漏斗に合わせ、1分間振とう後静置分液し、アセトリル層及びヘキサン層に分けた。各層の一部を放射能測定に供した。またアセトリル層については濃縮後HPLCに供した。

抽出残渣は放射能測定に供した。

肝臓

メタノールで3回磨砕抽出を行なった。各抽出液を合わせ、一部を放射能測定に供した後、溶媒を減圧留去し、残渣をヘキサン、メタノール、水の順で溶解した。各溶液を分液漏斗に合わせ、1分間振とう後静置分液し、メタノール・水混液層及びヘキサン層に分けた。各層の一部を放射能測定に供した。メタノール・水混液層については濃縮後HPLCに供した。ヘキサン層については濃縮後メタノールで溶解し再び放射能を測定した。

メタノール抽出残渣は、2N塩酸で18時間程度加熱還流により抽出した。抽出液をろ過し、残渣は乾燥させたのち放射能測定に供した。ろ液は酢酸エチルで2回液-液抽出した。酢酸エチル層を合わせ、一部を放射能測定に供したのち濃縮しHPLCに供した。水層は50%水酸化ナトリウムでpH14に調整後、酢酸エチルで2回液-液抽出した。酢酸エチル層を合わせ、一部を放射能測定に供したのち濃縮しHPLCに供した。

水層の一部を分取しアセトリルを加えて供沸濃縮し、濃縮残渣にメチル化剤（エタノール、2N水酸化ナトリウム及び硫酸ジメチルの混合液）を加え16時間加熱還流した。冷後2N塩酸を加えpHを中性にし、ろ過した。ろ液を減圧濃縮し、残渣を水に懸濁したのちアセトクロホルム（2:1, v/v）で2回液-液抽出した。有機層及び水層に分け、各層を放射能測定に供した。また有機層については濃縮後TLCにも供した。

卵

アセトで3回磨砕抽出を行なった。各抽出液を合わせ、一部を放射能測定に供した後、溶媒を減圧留去し、残渣をアセトリル飽和ヘキサン、ヘキサン飽和アセトリルの順で溶解した。各溶液を分液漏斗に合わせ、1分間振とう後静置分液し、アセトリル層及びヘキサン層に分けた。アセトリル層を分取し、ヘキサン層に新たにアセトリルを加え再び液-液分配を行った。各層の一部を放射能測定に供した。アセトリル層については濃縮後HPLCに供した。

抽出残渣は、一部を放射能測定に供した後、2N塩酸で18時間程度加熱還流により抽出した。冷後、抽出液をろ過し、残渣は乾燥させたのち放射能測定に供した。ろ液は酢酸エチルで2回液-液抽出した。酢酸エチル層を合わせ、一部を放射能測定に供した。投与2日目試料に関しては、さらに濃縮しHPLCに供した。

水層は50%水酸化ナトリウムでpH14に調整後、酢酸エチルで2回液-液抽出し、酢酸エチル層を合わせた。各層の一部を放射能測定に供した。2及び3日後試料については、酢酸エチル層にトリフルオロ酢酸を1ml加えた後、減圧濃縮しHPLCに供した。

HPLC及びTLCにおいては、標準品とのクロマトグラフにより代謝物の定性及び定量を行った。また、GC/MSあるいはLC/MSにより化学構造の確認を行った。

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

結果：

臓器・組織内分布

最終投与3~4時間後に供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。肝臓中に高い放射能が認められた。筋肉中の放射能濃度は脂肪組織に比べて低く、1/2以下であった。残存放射能の大部分は、いずれの臓器・組織中においても抽出性放射能であった。また卵への移行も認められた。なお本試験における投与量は、飼料作物中の予想最大残留量と比較すると867倍に相当する。この投与量において予想最大残留量を投与した場合と放射能分布に差異が生じないと仮定すると臓器・組織及び卵中の放射能はいずれも0.002ppm以下となる。臓器・組織及び卵中の放射能濃度を表1に示した。

表1 臓器・組織中の放射能濃度 (フルフェナセット換算値として)

	抽出性放射能濃度 (ppm)					非抽出性放射能濃度 (ppm)	合計* (ppm)
	メタノール	ヘキサン	アセトニトリル	アセトン	2N塩酸加熱還流		
肝臓	0.895	0.111	-	-	0.332	0.041	1.379
脂肪組織	-	0.004	0.412	-	-	0.027	0.443
筋肉	0.020	<0.002	0.169	-	-	0.012	0.201
卵(2-day)	-	0.004	0.053	-	0.042	0.009	0.108

- : 該当せず、* : 報告書中の数値との違いは数字の丸め方によるものである。

代謝物のプロフィール；

各試料中の代謝物のプロフィールについて検討した。

産卵鶏における重要な一次代謝物は、

と推測された。

が生成された。また

代謝された。

へと代謝された。

を受け、その後
に代謝された。

に、あるいはを受け

へと分解された。

一方

に代謝された。

未変化のフルフェナセットは組織及び卵中には認められたが、肝臓中には認められなかった。

各試料中の代謝物プロフィールを表2に示した。

表2 各試料中の代謝物濃度 (フルフェナセット換算値ppm)

	肝臓	脂肪組織	筋肉	卵 (Day-2)
フルフェナセット [A]	ND	0.244	0.006	0.008
合計				

ND : 検出されず

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。

まとめ：

産卵鶏に投与された放射能は吸収され臓器・組織中に分布し、また卵にも移行した。肝臓中の放射能濃度は、脂肪、筋肉等の組織中濃度と比較して明らかに高かった。卵中の濃度は他と比較して低かった。

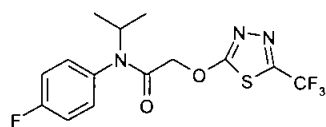
投与量が飼料作物における予想最大濃度の867倍であったことから、予想最大濃度での投与においては全ての試料中放射能は0.002ppm以下になると推測された。

産卵鶏体内におけるフルフェナセツの重要な一次代謝は、
と推測された。
を受け主代謝物である
に代謝された。となり、さらに高次代謝を受けた。

産卵鶏におけるフルフェナセツの推定代謝経路を図1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。

図1 産卵鶏における推定代謝経路



フルフェナセット [A]

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。

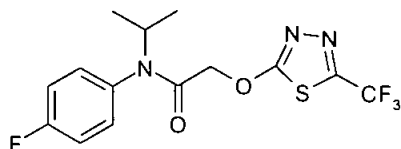
(4) 産卵鶏における代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；4'-フルオロ-N-(2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアミド)
(以下、¹⁴C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物：

産卵鶏10羽 (*Gallus domesticus*, 52週令、平均体重1476g)

試験方法：

投与；¹⁴C標識フルフェナセット原液5.6ml (¹⁴C標識フルフェナセットを95.6mg含有)を遠沈管に量り取る。窒素気流で溶媒を留去した後、非標識フルフェナセット167mgを加え、さらに4mlのエタノールを加え溶解し、これを投与液とする。
この溶液0.114mlを、予めα-ラクトスを詰めたゼラチンカプセルに注入し、経口で嚥嚥に投与した。
投与は1日1回、3日間反復投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は5mg/kgとした。これは飼料中濃度としては78ppmに相当し、飼料作物中の予想最大残留量 (0.090ppm) の867倍の濃度である。

試料採取；

最終投与4時間後に屠殺し、脂肪組織、筋肉及び肝臓を採取した。
卵に関しては、初回及び2回目投与の24時間後及び最終投与後屠殺直前に採取した。

試料中の放射能測定；

卵試料及び抽出液は、シンチレーションカクテルを加えた後、液体シンチレーションカウンターにより直接放射能を測定した。
臓器・組織及び卵試料は、サンプルオキシゲナーで燃焼し、発生した¹⁴CO₂を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

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。

放射能の抽出及び定性・定量；

筋肉

試料をヘキサン飽和アセトリルで磨砕抽出した。抽出液を遠心分離し、上清を移した。沈殿物に水を加え、再び磨砕抽出した。抽出液を遠心分離し、上清を先の抽出液に合わせた。抽出液をろ過後、放射能測定及びHPLCに供した。

抽出残渣については一部を放射能測定に供したのち、メタノール/水 (4:1, v/v) で4時間加熱還流した。抽出液をろ過後濃縮し、放射能測定及びHPLCに供した。さらに、残渣に6N塩酸を加え8時間加熱還流した。抽出液をろ過した後、ろ液をジクロロメタン/アセトン (3:2, v/v) で4回液/液抽出した。水層の一部を放射能測定に供した。また、抽出液については、各抽出液を合わせ濃縮した後、放射能測定及びHPLCに供した。

脂肪

試料をヘキサン飽和アセトリルで磨砕抽出した。抽出液をろ過し、残渣に新たにヘキサン飽和アセトリルを加え再び磨砕抽出した。抽出液をろ過し、残渣にアセトリル飽和ヘキサンを加え磨砕抽出した。アセトリル抽出液を合わせ、そこにヘキサン抽出液を加え、液/液分配した。アセトリル層を分取し、新たにヘキサンを加え再び液/液分配した。ヘキサン層を合わせた後、アセトリルを加え液/液分配した。ヘキサン層を放射能測定に供した。各アセトリル層は、全て合わせた後、濃縮し、放射能測定及びHPLCに供した。

抽出残渣については一部を放射能測定に供したのち、メタノール/水 (4:1, v/v) で4時間加熱還流した。抽出液をろ過後濃縮し、放射能測定及びHPLCに供した。さらに、残渣に6N塩酸を加え8時間加熱還流した。抽出液をろ過した後放射能測定に供した。

肝臓

磨砕試料にメタノール/水 (4:1, v/v) を加え超音波抽出した。抽出液を遠心分離し、上清を移した。沈殿物に新たにメタノール/水 (4:1, v/v) を加え再び超音波抽出した。抽出液を遠心分離し、上清を先の上清に合わせた。抽出液をろ過後、放射能測定及びHPLCに供した。

抽出残渣については一部を放射能測定に供したのち、メタノール/水 (4:1, v/v) で4時間加熱還流した。抽出液をろ過後濃縮し、放射能測定及びHPLCに供した。さらに、残渣に6N塩酸を加え8時間加熱還流した。抽出液をろ過した後、ろ液をジクロロメタン/アセトン (3:2, v/v) で4回液/液抽出した。水層の一部を放射能測定に供した。また、抽出液については、各抽出液を合わせ濃縮した後、放射能測定及びHPLCに供した。

また各メタノール/水 (4:1, v/v) 抽出液については抱合体の有無を確認するため酵素による加水分解に供した。抽出液の一部を分取し、窒素気流により濃縮乾固し、 β -グルクロンゲル及びリン酸緩衝液を加え37°Cで16時間インキュベートした。反応液に非標識アトロン標準液を添加し、HPLCに供した。

卵

磨砕試料にメタノール/ジエチルエーテル (1:2, v/v) を加え振とう抽出した。抽出液を遠心分離し、上清を移した。沈殿物に新たにメタノール/ジエチルエーテル (1:2, v/v) を加え、同様の抽出操作を2回繰り返した。各上清を合わせ、ろ過後、放射能測定及びHPLCに供した。

抽出残渣については一部を放射能測定に供したのち、メタノール/水 (4:1, v/v) で4時間加熱還流した。抽出液をろ過後濃縮し、放射能測定及びHPLCに供した。さらに、残渣に6N塩酸を加え8時間加熱還流した。抽出液を放射能測定に供した。

機器分析

HPLCにおいては、標準品とのクロマトグラフにより代謝物の定性及び定量を行った。また、GC/MSあるいはLC/MSにより化学構造の確認を行った。

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

結果：

臓器・組織内分布

最終投与4時間後に供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。肝臓中に高い放射能が認められた。フルオロフェニル標識体の試験結果と異なり、筋肉及び脂肪組織中の放射能濃度は同程度であった。残存放射能の大部分は、いずれの試料中においても抽出性放射能であった。非抽出性放射能については、更なる還流抽出及び酸加水分解操作により大部分が溶出した。なお本試験における投与量は、飼料作物中の予想最大残留量と比較すると867倍に相当する。この投与量において予想最大残留量を投与した場合と放射能分布に差異が生じないと仮定すると臓器・組織及び卵中の放射能は0.001ppm～0.01ppm程度となる。臓器・組織及び卵中の放射能濃度を表1-1～2に示した。

表1-1 臓器・組織及び卵中の抽出性放射能濃度（フルフェナセット換算値として）

	抽出性放射能濃度 (ppm)				非抽出性放射能濃度 (ppm)	合計 (ppm)
	メタノール/水	メタノール/ジエチルエーテル	アセトニトリル	ヘキサン		
筋肉	-	-	1.920*	-	0.313	2.230
脂肪組織	-	-	1.700	0.036	0.054	1.790
肝臓	9.560	-	-	-	0.831	10.400
卵(1-day)		0.105	-	-	0.012	0.117
卵(2-day)		0.466	-	-	0.052	0.518
卵(3-day)		0.653	-	-	0.106	0.759

-：該当せず

*：アセトニトリル抽出の後、水抽出を行いその合計値を記載

表1-2 臓器・組織及び卵中の非抽出性放射能の高次抽出（フルフェナセット換算値として）

	一次抽出 (ppm)				高次抽出 (ppm)	
	メタノール/水	メタノール/ジエチルエーテル	アセトニトリル	ヘキサン	メタノール/水加熱還流	6N塩酸加熱還流
筋肉	-	-	1.561*	-	0.558	0.112 有機溶媒可溶性：0.067 水溶性：0.045
脂肪組織	-	-	1.557	0.179	0.054	0.009
肝臓	9.944	-	-	-	1.040	0.416 有機溶媒可溶性：0.208 水溶性：0.208
卵(3-day)		0.676	-	-	0.076	0.008

-：該当せず

*：アセトニトリル抽出の後、水抽出を行いその合計値を記載

代謝物のプロフィール；

各試料中の代謝物のプロフィールについて検討した。

産卵鶏における重要な一次代謝物は、の生成
であった。は抽出性放射能の大部分を占めており、他の代謝物はほとんど認められなかった。

なお、は一部肝臓中でを受け、
が生成された。

また、未変化のフルフェナセットが脂肪組織中にのみに認められた。
各試料中の代謝物プロフィールを表2-1～2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。

表 2-1 各試料中の代謝物濃度 (フルフェナセット換算値 ppm)

	筋肉	脂肪組織	肝臓	卵		
				Day1	Day2	Day3
フルフェナセット[A]	ND	0.268	ND	ND	ND	ND
合計						

ND：検出されず、—：分析せず

表 2-2 各抽出液中の代謝物濃度 (フルフェナセット換算値 ppm)

	筋肉	脂肪組織	肝臓	卵 (Day3)
フルフェナセット[A] 一次抽出	ND	0.251	ND	ND
メタノール/水加熱還流	ND	ND	ND	ND

ND：検出されず、—：分析せず、各試料の一次抽出液は表 1 と同一

まとめ：

産卵鶏に投与された放射能は吸収され臓器・組織中に分布し、また卵にも移行した。肝臓中の放射能濃度は、脂肪、筋肉等の組織中濃度と比較して明らかに高かった。卵中の濃度は他と比較して低かった。

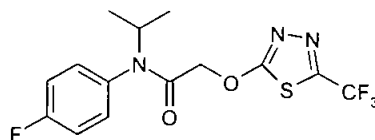
投与量が飼料作物における予想最大濃度の867倍であったことから、予想最大濃度での投与においては全ての試料中放射能は最大でも0.01ppm程度に留まると推測された。

産卵鶏体内におけるフルフェナセットの重要な一次代謝は

の生成であった。 はさらに肝臓内で
が生成された。

産卵鶏におけるフルフェナセットの推定代謝経路を図 1 に示した。

図 1 産卵鶏における推定代謝経路



フルフェナセット[A]

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) 泌乳ヤギにおける [] の代謝

試験機関：Bayer Corp. (米国)
報告書作成年：1995年 [GLP]

試験の目的：

飼料作物でもある小麦、だいず及びとうもろこしにおけるフルフェナセットの植物体内運命試験において、主代謝物として共通に認められた [] については、動物体内運命試験において代謝物としては認められていない。
本試験の目的は、フルフェナセットの動物体内運命試験では知見を得られなかった飼料由来の [] を、家畜が摂取した場合の代謝運命を調べることにある。

供試標識化合物：

構造式；

化学名；

(以下、¹⁴C標識)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物：

泌乳ヤギ1頭 (*Capra hircus*、3歳、体重41kg)

試験方法：

投与；¹⁴C標識 原液33.2ml (として111mgを含む) を遠沈管に量り取り、窒素気流で溶媒を留去した後、811mgの非標識 を加える。これを4mlのエタノール/水 (3:1) で再溶解し、投与液とする (230mg/ml)。
この溶液0.91mlをゼラチンカプセルに封入し、朝の搾乳後に投薬器を用いて強制経口投与した。投与は1日1回、3日間反復投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は5.12mg/kgとした。これは飼料中濃度としては171ppmに相当し、最大投下薬量 (0.9kg a. i. /ha) で処理した飼料作物中の予想最大残留量の308倍の濃度である。

試料採取；

最終投与4時間後に屠殺し、脂肪組織、筋肉、腎臓及び肝臓を採取した。
乳汁に関しては、初回投与後24時間以内に搾乳した試料を合わせたものをDay-1試料、2日目投与後24時間以内に搾乳した試料を合わせたものをDay-2試料、屠殺直前に搾乳した試料をDay-3試料とした。また尿も乳汁と同様に採取した。

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

試料中の放射能測定；

乳汁および尿試料及び抽出液は、ソフレーションカクテルを加えた後、液体ソフレーションカウンターにより直接放射能を測定した。

臓器・組織試料および抽出残渣は、サンプルオキシゲイターで燃焼し、発生した¹⁴CO₂を捕集した捕集液を液体ソフレーションカウンターに供し放射能を測定した。

放射能の抽出及び定性・定量；

脂肪組織は、アセトニトリル/水（9:1）で抽出したのちヘキサンで抽出し、これら抽出液で液-液分配した。筋肉および腎臓試料についてはメタノール抽出を行なったのち、メタノール/水（4:1）により再度抽出を行なった。

肝臓試料についてはメタノール抽出を行なったのち、抽出液を濃縮後、アセトニトリル/水（4:1）で溶解し、ヘキサンを加えて液-液抽出した。残渣をメタノール/水（1:1）で還流抽出し、抽出液を先のアセトニトリル/水（4:1）に合わせた。還流抽出残渣に20%硫酸を加え、さらに還流抽出を行った。ろ過抽出液に50%水酸化ナトリウムを加えpH7に調整し、生成した沈殿塩をろ過した。ろ液にクロホルム/アセトン（3:2）を加え液-液抽出した。また沈殿塩は水に再溶解した。

また乳汁についてはDay-2試料についてのみ抽出操作を行った。乳汁試料を凍結乾燥し、メタノールで抽出した。残渣に水を加えよく混合した後アセトンを加え混合し、ろ過した。ろ液からアセトンを留去し、クロホルム/メタノール（1:1）を加え液-液抽出した。水層を先のメタノール抽出液に合わせた。

尿試料についてはろ過のみ行った。

抽出液および尿試料をHPLCに供し、標準品とのクロマトグラフにより代謝物の定性及び定量を行った。また、GC/MSにより化学構造の確認を行った。

結果：

臓器・組織内分布

最終投与4時間後に供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

腎臓において他より高い放射能が認められた。残存放射能の大部分は、いずれの臓器・組織中においても抽出性放射能であった

また乳汁への移行も認められ、放射能濃度は試験期間中経時的に上昇した。

臓器・組織及び乳汁中の放射能濃度を表1-1~2に示した。

表1-1 臓器・組織中の放射能濃度

臓器・組織	抽出分画	%TRR	濃度 (ppm)
脂肪	アセトニトリル/水 (9:1)	98	0.035
	ヘキサン	<1	<0.001
	残渣	2	0.001
	合計	100	0.036
腎臓	メタノール	99	1.192
	メタノール/水 (4:1)	<1	0.001
	残渣	1	0.012
	合計	100	1.205

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1-1 臓器・組織中の放射能濃度（続き）

臓器・組織	抽出分画	%TRR	濃度 (ppm)
肝臓	メタノール	86	0.198
	メタノール/水 (1:1) 還流	3	0.007
	20%硫酸還流		
	ろ液-クロホルム/アセトン (3:2)	2	0.005
	水層	7	0.016
	沈殿塩水溶液	<1	0.001
	残渣	2	0.005
	合計	100	0.232
筋肉	メタノール	96	0.042
	メタノール/水 (4:1)	2	0.001
	残渣	2	0.001
	合計	100	0.044

表1-2 乳汁中の放射能濃度

試料	抽出分画	%TRR	濃度 (ppm)
Day-2	メタノール (メタノール抽出後の水/アセトン抽出液を含む)	68	0.007
	残渣	32	0.004
	合計	100	0.011

代謝物のプロフィール；

各試料中の代謝物のプロフィールについて検討した。

各臓器・組織の抽出液および尿中の放射能については、HPLCラジオクロマトグラム上1つのピークしか認められず、それは未変化の []であった。

乳汁中の放射能についても、主要放射能は未変化の []であり、他に2つの代謝物が認められたが、生成量は極僅かであり同定には至らなかった。

尿中の放射能については、尿中総放射能の88~96%が未変化の []であった。

まとめ：

泌乳ヤギに投与された []は、吸収されたのち臓器・組織中に分布し、乳汁への移行および尿中への排泄も認められた。臓器・組織中の放射能濃度に比較し乳汁中の濃度は低かった。

投与量が飼料作物における予想最大濃度の308倍であったことから、予想最大濃度での投与においては、全試料で0.004ppm以下になると推定された。

また、 []は吸収後も殆ど代謝を受けず、未変化のまま尿あるいは乳汁を介して体外に排泄された。

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。

(6) 産卵鶏における [] の代謝

試験機関：
報告書作成年：1995年 [GLP]

試験の目的：

飼料作物でもある小麦、だいず及びとうもろこしにおけるフルフェナセットの植物体内運命試験において、主代謝物として共通に認められた [] については、動物体内運命試験において代謝物としては認められていない。

本試験の目的は、フルフェナセットの動物体内運命試験では知見を得られなかった飼料由来の [] を、家畜が摂取した場合の代謝運命を調べることにある。

供試標識化合物：

構造式；

化学名；

(以下、¹⁴C標識)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物：

産卵鶏10羽 (Babcock White Leghorn、52週齢、体重1352~1637g)

試験方法：

投与；¹⁴C標識 原液9.2ml () として26.65mgを含む)を遠沈管に量り取り、窒素気流で溶媒を留去した後、226mgの非標識フルフェナセットを加える。これを4mlのエタノールで再溶解し、投与液とする (63.2mg/ml)。

この溶液を) として7.60mgとなるようゼラチンカプセルに封入し、カプセルを強制的に素嚢に投与した。投与は1日1回、3日間反復投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は5mg/kgとした。これは飼料中濃度としては78mg/kgに相当し、最大投下薬量 (0.9kg a. i. /ha) で処理した飼料作物中の予想最大残留量の867倍の濃度である。

試料採取；

最終投与4時間後に屠殺し、脂肪組織、筋肉及び肝臓を採取した。

卵に関しては、初回投与後24時間以内に産卵されたものをDay-1試料、2日目投与後24時間以内に産卵された卵をDay-2試料、最終投与後屠殺直前までに産卵された卵をDay-3試料とした。

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。

試料中の放射能測定；

抽出液は、シンチレーションカクテルを加えた後、液体シンチレーションカウンターにより直接放射能を測定した。

臓器・組織試料および抽出残渣は、サンプルキタガワで燃焼し、発生した¹⁴C₂O₂を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

放射能の抽出及び定性・定量；

脂肪組織は、アセトニトリル/水（9:1）で抽出したのちヘキサンで抽出し、これら抽出液で液-液分配した。筋肉および肝臓についてはメタノール抽出を行なった。

卵についてはアセトン抽出を行なった後、残渣をメタノール/水（4:1）で還流抽出した。還流抽出液を先のアセトン抽出液に合わせ濃縮し、アセトニトリル/水（9:1）に再溶解したのちヘキサソで液-液分配した。アセトニトリル/水（9:1）層を濃縮し、XAD-4樹脂カラムに移した。メタノールで溶出し、さらに水で溶出した。

抽出液をHPLCに供し、標準品とのクロマトグラフにより代謝物の定性及び定量を行った。また、GC/MSにより化学構造の確認を行った。

結果：

臓器・組織内分布

最終投与4時間後に供試動物を屠殺し、臓器および組織中の残存放射能を測定した。

肝臓において他より高い放射能が認められた。残存放射能の大部分は、いずれの臓器・組織中においても抽出性放射能であった

また卵への移行も認められ、放射能濃度は試験期間中経時的に上昇した。

臓器・組織及び卵中の放射能濃度を表1に示した。

表1 臓器・組織中の放射能濃度

臓器・組織	抽出分画	%TRR	濃度 (ppm)
脂肪	アセトニトリル/水（9:1）	97	0.044
	ヘキサン	1	<0.001
	残渣	2	0.001
	合計	100	0.045
肝臓	メタノール	93	0.168
	残渣	7	0.013
	合計	100	0.181
筋肉	メタノール	94	0.034
	残渣	6	0.002
	合計	100	0.036
卵 Day-1	アセトン抽出液+メタノール/水（4:1）還流抽出液	100	0.003
	アセトニトリル/水（9:1）層		
	XAD-4 メタノール溶出液	95	0.003
	水溶出液	5	<0.001
	ヘキサン層	<1	<0.001
卵 Day-2	アセトン抽出液+メタノール/水（4:1）還流抽出液	100	0.006
	アセトニトリル/水（9:1）層		
	XAD-4 メタノール溶出液	97	0.006
	水溶出液	3	<0.001
	ヘキサン層	<1	<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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表1 臓器・組織中の放射能濃度（続き）

臓器・組織	抽出分画	%TRR	濃度 (ppm)
卵 Day-3	アセトン抽出液+メタノール/水 (4:1) 還流抽出液		
	アセトリル/水 (9:1) 層		
	XAD-4 メタノール溶出液	90	0.010
	水溶出液	4	<0.001
	ヘキサン層	2	<0.001
	メタノール/水 (4:1) 還流抽出残渣	4	<0.001
	合計	100	0.011

代謝物のプロフィール；

各試料中の代謝物のプロフィールについて検討した。

全試料中の放射能については、HPLCラジオクロマトグラム上1つのピークしか認められず、それは未変化の []であった。

代謝物の生成は認められなかった。

まとめ：

産卵鶏に投与された []は、吸収されたのち臓器・組織中に分布し、卵への移行も認められた。臓器・組織中の放射能濃度に比較し卵中の濃度は低かった。

投与量が飼料作物における予想最大濃度の867倍であったことから、予想最大濃度での投与においては、全試料で0.001ppm以下になると推定された。

また、 []は吸収後、産卵鶏の体内では代謝を受けなかった。

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

(7) 泌乳ヤギにおける [] の代謝

試験機関：
報告書作成年：2002年 [GLP]

試験の目的：

飼料作物でもある、だいずにおけるフルフェナセットの植物体内運命試験において、

については、動物体内運命試験において代謝物としては認められていない。
本試験の目的は、フルフェナセットの動物体内運命試験では知見を得られなかった飼料由来の [] を、家畜が摂取した場合の代謝運命を調べることにある。

供試標識化合物：

構造式；

化学名；

(以下、¹⁴C標識)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物：

泌乳ヤギ 1 頭 (pygmy goat、2.5歳、体重18.6kg)

試験方法：

投与； 3つのバイアル中の ¹⁴C標識 をメタノールに溶解し合わせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去した後、再びメタノール0.550mlで溶解した。

この溶液を、ラクトースが充填されたゼラチンカプセルに移し、室温で溶媒を蒸発させた。カプセルを投薬器を用いて強制経口投与した。投与は単回投与とした。

投与量の設定根拠；

投与量は0.432mg/kg体重とした。これは飼料作物中の予想最大残留量の34倍の濃度である。

試料採取；

投与168時間後に屠殺し、血液、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪組織及び消化管を採取した。尿及び糞については、投与後6 (尿のみ)、12 (尿のみ)、24、48、72、96、120、144及び168時間に採取した。

乳汁に関しては、投与後屠殺するまでの間、午前午後の1回ずつ、1日2回採取した。

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

試料中の放射能測定；

乳汁および尿試料及び抽出液は、シンチレーションカクテルを加えた後、液体シンチレーションカウンターにより直接放射能を測定した。

臓器・組織試料および抽出残渣は、サンプルオキシゲイターで燃焼し、発生した¹⁴C₂O₂を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

放射能の抽出及び定性・定量；

尿： 各採取試料についてHPLCにより各成分の定量を行った後、全ての試料を合わせ放射能測定及びHPLCに供した。個々の成分は単離し、LC/MS及び¹⁹F-NMRにより同定を行った。

糞： 24、48及び72時間後に採取された試料をアセトニトリル：水（9：1, v/v）で攪拌抽出した後、遠心分離を行い、上清を分取する。この操作をさらに3回繰り返し、各上清を合わせて一部を放射能測定に供し、残りをC18のSPEにより精製した。溶出液を窒素気流で溶媒を留去し濃縮した。

濃縮液の一部を放射能測定に供し、遠心後、上清を再びSPEにより精製した。溶出液を窒素気流下で濃縮乾固しアセトニトリル：水（9：1, v/v）5.00mlに溶解した。この溶液を放射能測定及びHPLC分析に供した。

抽出残渣は放射能測定後、250mlのメタノールを加え18時間加熱還流した。冷後混合物をろ過し、ろ液を放射能分析に供した。残渣は風乾し、250mlの1N塩酸に懸濁し18時間加熱還流した。冷後混合物をろ過し、ろ液を放射能分析に供した。残渣は風乾し、250mlの2N水酸化ナトリウムに懸濁し18時間加熱還流した。冷後混合物をろ過し、ろ液を放射能分析に供した。残渣は風乾し、放射能分析に供した。なお、代謝物の同定はLC/MSにより行った。

乳汁： 処理後1日目の乳汁試料約45gを凍結乾燥し、これにメタノール100mlを加えて3分間攪拌した。遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、カクテルで濃縮後、残渣をアセトニトリル：水（1：9, v/v）4.00mlに懸濁させ、遠心分離した後得られた上清を放射能測定及びHPLCに供した。なお、代謝物の同定はHPLCにおけるコクロマトグラフィーにより試みた。

血液： 約100gの反復試料にそれぞれアセトニトリル50mlを加え、遠心分離した。上清を合わせ、放射能を測定したのち濃縮し、窒素気流で乾固した。アセトニトリル：水（1：9, v/v）10mlで懸濁し、遠心分離した後、上清を放射能測定及びHPLCに供した。なお、代謝物の同定はLC/MSにより試みた。

肝臓： 試料約50gをアセトニトリル：水（9：1, v/v）100mlで攪拌抽出した後、遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、一部を分取し放射能を測定した後、窒素気流下で濃縮した。残渣をアセトニトリル30mlに溶解し、n-ヘキサン100mlで3回液-液分配した。n-ヘキサン層を合わせ放射能測定した。アセトニトリル層は、放射能を測定した後、窒素気流下で濃縮乾固した。残渣をアセトニトリル：水（1：9, v/v）2.00mlに溶解しHPLCに供した。なお、代謝物の同定はLC/MSにより試みた。

腎臓： 試料約25gをアセトニトリル：水（9：1, v/v）50mlで攪拌抽出した後、遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、一部を分取し放射能を測定した後、窒素気流下で濃縮した。残渣をアセトニトリル：水（1：9, v/v）10mlに溶解し、放射能測定及びHPLCに供した。なお、代謝物の同定はHPLCにおけるコクロマトグラフィーにより試みた。

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。

筋肉：約50gの4反復試料を各々n-ヘキサン飽和アセトリル100mlで攪拌抽出した後、遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、一部を分取し放射能を測定した後、HPLCに供した。なお、代謝物の同定はLC/MSにより試みた。

脂肪：約25gの反復試料を各々アセトリル飽和n-ヘキサン100mlで攪拌抽出した後、遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、n-ヘキサン飽和アセトリル100mlで2回液-液分配した。各々の層を放射能測定に供した。

抽出残渣をn-ヘキサン飽和アセトリル100mlで攪拌抽出した後、遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、一部を分取し放射能を測定した後HPLCに供した。

n-ヘキサン抽出液の液-液分配アセトリル層及びアセトリル抽出液を合わせHPLCに供した。なお、代謝物の同定はLC/MSにより試みた。

消化管：約50gの反復試料を各々アセトリル100mlで攪拌抽出した後、遠心分離により上清と沈殿物に分けた。これらの操作をさらに2度繰り返し、3つの上清を合わせ、一部を分取し放射能を測定した後、HPLCに供した。なお、代謝物の同定はHPLCにおけるクロマトグラフィーにより試みた。

結果：

放射能分布；

投与168時間後に供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

投与放射能の約70%が尿中に排泄された。糞中への排泄量を考慮すると、投与168時間後には、投与放射能の約80%が体外に排泄された。

乳汁中にも放射能は認められたが、合計でも投与放射能の1%に満たなかった。

また臓器・組織中への放射能の分布は少なく、肝臓で投与放射能の1%、消化管に3%、血中に2%及びカーカスに6%残存したが、他の臓器・組織では1%未満であった。

屠殺時の放射能分布を表1-1に示した。また、排泄物中放射能の経時的な変化を表1-2に示した。

表1-1 投与168時間後の放射能分布

	回収放射能割合 (%)	投与放射能割合 (%)
排泄物		
尿	79	72
糞	8	7
ケージ洗液	<1	<1
臓器・組織		
肝臓	1	1
腎臓	<1	<1
筋肉	<1	<1
脂肪	<1	<1
消化管	3	3
胆汁	<1	<1
血液	2	2
カーカス	7	6
乳汁	<1	<1
合計	100	91

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1-2 排泄物中の経時的な放射能割合

	投与後時間	投与放射能割合 (%)
尿	0-6	<1
	6-12	-
	12-24	14
	24-48	21
	48-72	12
	72-96	9
	96-120	7
	120-144	5
	144-168	4
	合計	72
糞	0-24	2
	24-48	2
	48-72	1
	72-96	<1
	96-120	<1
	120-144	<1
	144-168	<1
	合計	7

代謝物の同定；

尿及び糞中の代謝物について同定を試みた。

尿中には4種類の代謝物が認められた。主代謝物は

(投与放射能の37%)であった。他には

(投与放射能の4%)、

(投与放射能の7%)及び

(投与放射能の7%)が同定された。その

他6種類の代謝物が認められたが、その生成量のごく僅かであり、同定には至らなかった。

また未変化の [P5]も認められ、投与放射能の12%であった。

以上、尿中放射能については90%以上(投与放射能の67%)が同定された。

糞中においては、代謝物として のみが同定された。生成量は僅かであった(投与放射能の1%)。その他9種類の代謝物が認められたが、その生成量のごく僅かであり、同定には至らなかった。

表2 排泄物中の放射能

	ピーク番号	代謝物記号	投与放射能割合 (%)
尿	U2		41*
	U3		7
	U8	[]	12
	U9		7
	合計		67
糞	F9		1
	F10	[]	1
	合計		2

*: 混合ピークであり、 は37%、 は4%である。

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。

まとめ：

泌乳ヤギに投与された [] は、吸収されたのち、その70%以上が尿中へ排泄された。糞中への排泄割合は低く、7%程度であった。胆汁中の放射能が極めて低かったことから、糞中放射能は未吸収のまま排泄されたものと考えられる。

また、臓器・組織中への分布は少なかった。乳汁への移行も少なく、投与放射能の1%未満であった。

投与後、泌乳ヤギ体内に吸収された [] はラットと異なり代謝を受け、主に [] へと代謝された。また、 []、あるいは [] も認められた。 [] の生成も認められた。

ただし、 [] については、少量だが糞中にも認められているため、尿中の [] が、体内で [] から代謝されたものではなく、消化管内の微生物叢により分解されたものを吸収した可能性も考えられる。

泌乳ヤギにおける [] の推定代謝経路を図1に示した。

図1 泌乳ヤギにおける [] の推定代謝経路

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。

3. 土壌残留試験

1) 分析法の原理と操作概要

乾土20g相当の試料を量り取り、アセトニトリル：0.1M塩酸（50：50，v/v）100mlを加えて振とう抽出する。ろ過後適宜アセトニトリル：0.1M塩酸（50：50，v/v）で希釈し、直接LC-MS/MSで測定する。

2) 分析対象化合物

フルフェナセツト[A]

化学名： 4'-フルオロ-N'-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジアゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド

分子式： $C_{14}H_{13}F_4N_3O_2S$

分子量： 363.33

定量限界：0.01ppm

FOEキサレート[]

化学名： [(4-フルオロフェニル)(1-メチルエチル)アミノ]オキソ酢酸

分子式： $C_{11}H_{12}FNO_3$

分子量： 225.22

定量限界：0.01ppm

親化合物換算係数：1.61

FOEスルホン酸() []

化学名： 4-フルオロ-N'-メチルエチルアニリンスルホアセトアミド

分子式： $C_{11}H_{14}FNO_4S$

分子量： 275.30

定量限界：0.01ppm

親化合物換算係数：1.32

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) 残留試験結果

①畑地圃場試験（水和剤）：

推定半減期；フルフェナセット

洪積土 72.7日（SF0モデル）

火山灰土 28.9日（DFOPモデル）

分析機関：

資料調製 および 採取場所	被験物質の 処理方法		経過 日数	分析値 (mg/kg)					
	処理量	回数		フルフェナセット		FOEネチレート		FOEネチン酸	
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
日植調 福島 (洪積・ 埴壌土) 畑地 平成21年度	水和剤 (33.6%)	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	0	0.17	0.17	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	7	0.18	0.18	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	14	0.18	0.18	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	30	0.12	0.12	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	61	0.08	0.08	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	90	0.07	0.07	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
日植調 研究所 (火山灰・ 埴土) 畑地 平成21年度	80ml/10a 水量 100L/10a	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	0	0.39	0.38	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	7	0.32	0.32	<0.01	<0.01	0.01	0.01
		1	14	0.29	0.28	<0.01	<0.01	0.02	0.02
		1	30	0.16	0.16	<0.01	<0.01	0.01	0.01
		1	60	0.13	0.13	<0.01	<0.01	0.02	0.02
		1	90	0.13	0.13	<0.01	<0.01	0.02	0.02
畑地 平成21年度	100L/10a	1	120	0.08	0.08	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	180	0.05	0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	270	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

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

②畑地圃場試験（粒剤）：

推定半減期；フルフェナセット

洪積土 26.0日（SF0モデル）

火山灰土 84.1日（SF0モデル）

分析機関：

資料調製 および 採取場所	被験物質の 処理方法		経過 日数	分析値（mg/kg）					
	処理量	回数		フルフェナセット		FOE特許剤		FOEスルホ酸	
				最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
日植調 福島 (洪積・ 埴埴土) 畑地 平成24年度	粒剤 (0.6%)	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	0	0.09	0.09	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	1	0.17	0.16	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	製品 5kg/10a	1	3	0.17	0.16	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	7	0.15	0.14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	14	0.08	0.08	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	畑地	1	30	0.07	0.07	<0.01	<0.01	0.01	0.01
		1	60	0.02	0.02	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	90	0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	平成24年度	1	120	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	180	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
日植調 茨城 (火山灰・ 軽埴土) 畑地 平成24年度	粒剤 (0.6%)	1	0	0.35	0.34	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	1	0.56	0.54	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	3	0.58	0.58	0.02	0.02	<0.01	<0.01
	製品 5kg/10a	1	7	0.45	0.44	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	14	0.40	0.38	<0.01	<0.01	0.01	0.01
		1	30	0.45	0.44	0.02	0.02	0.03	0.03
	畑地	1	58	0.33	0.32	<0.01	<0.01	0.01	0.01
		1	90	0.22	0.22	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		1	120	0.20	0.20	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	平成24年度	1	180	0.06	0.06	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

番号	試験の種類・被験物質	供試生物	1群当たりの供試数	試験方法	試験水温(°C)	LC ₅₀ 又はEC ₅₀ 値* (mg/L)				試験機関(報告年)	備考頁
						24h	48h	72h	96h		
1 GLP	魚類急性毒性試験 原体 (%)	コイ	10	半止水式	21.8~ 23.0	>11.4 [‡]	>11.4 [‡]	>11.4 [‡]	>11.4 [‡]	(2010年)	50
2 GLP	ミジンコ類急性遊泳障害試験 原体 (%)	オオミジンコ	20	止水式	19.9~ 20.2	37.2 [‡]	30.3 [‡]	-	-	(1994年)	52
3 GLP	藻類生長障害試験 原体 (%)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	初期濃度; 1×10 ⁶ cell/mL	振とう培養法	21.2~ 22.5	ErC ₅₀ (0h-72h): 134µg/L NOErC (0h-72h): 0.138µg/L				(2010年)	53
4	魚類急性毒性試験 フロアブル	コイ	10	止水式	20.7~ 21.8	66.1	66.1	66.1	54.9	(2010年)	54
5 GLP	ミジンコ類急性遊泳障害試験 フロアブル	オオミジンコ	30	止水式	20.2~ 20.6	127.1	68.2	-	-	(2010年)	56
6 GLP	藻類生長障害試験 フロアブル	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	初期濃度; 1×10 ⁶ cell/mL	振とう培養法	21.8~ 21.9	ErC ₅₀ (0h-72h): 8.85µg/L NOEC (0h-72h): 0.916µg/L				(2009年)	57

*: 原体: 実測濃度に基づく値, 製剤: 製剤濃度に基づく値

‡: 時間加重平均により算出した平均濃度により算出

[‡]: 平均濃度(幾何平均)に基づく

フロアブル: フルフェナセット33.6%(w/w)+ジフルフェニカン8.4%(w/w)フロアブル

水産動植物への影響に関する試験

原体

1) 魚類急性毒性試験

コイを用いた急性毒性試験

(資料 No. 1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体 : フルフェナセット原体 (純度)
 供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*)
 一群各 10 尾, 平均全長 : 4.8cm, 平均体重 : 1.6g
 方法 : 暴露条件は半止水式とし(48 時間で換水)、検体を 96 時間暴露させた。収容密度は 0.40g 魚/L であった。
 検体はジメチルホルムアミド(DMF)に溶解させた。DMF の最終濃度は 0.1mL/L であった。
 試験水温 : 21.8~23.0°C
 溶存酸素 : 79~102%
 pH : 6.9~7.4
 明暗周期 : 明期 16 時間 暗期 8 時間

結果 :

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0(対照, 溶媒対照), 6.41, 12.8, 25.6, 51.3 および 103		
	設定濃度*	0(対照, 溶媒対照), 6.25, 12.5, 25.0, 50.0 および 100		
	実測濃度** (平均)	0(対照, 溶媒対照), 5.87, 10.7, 11.4, 7.98, 5.60		
LC ₅₀ (mg/L) (95%信頼限界)	24 時間	> 10~12 (-) ***	>11.4 (-) **	
	48 時間	> 10~12 (-) ***	>11.4 (-) **	
	72 時間	> 10~12 (-) ***	>11.4 (-) **	
	96 時間	> 10~12 (-) ***	>11.4 (-)	
NOEC (mg/L)	< 6.41			
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L) ***	>10~12			

* : 有効成分換算値

** : 時間加重平均に基づく (申請者により算出)

*** : 飽和濃度に基づく

分析濃度は設定値の 6.9(設定濃度 103mg/L)~94%(設定濃度 6.41mg/L)であることを示した。回収率は設定濃度が低いほど高値を示し、低いほうの 2 段階の濃度における平均回収率は、それぞれ 94 および 86%であった。設定濃度 25.6mg/L 以上で被験物質の析出がみられ、本試験暴露条件下において 25.6mg/L 以上は溶解度 (飽和濃度) を超えていることが明らかとなった。分析の結果、試験水中のフルフェナセットの最高濃度は 15.7mg/L(設定濃度 25.6mg/L) であることが明らかになり、また、4 日間の平均濃度は、25.6mg/L で 11.7mg/L であった。こ

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。

これらの結果に基づいて暴露条件下における被験物質の溶解度は約 10~12mg/L であると推定された。

今回試験した全濃度区において死亡例はみられなかったことから、死亡率 100% (96 時間) を引き起こす最低濃度は飽和濃度 (10~12mg/L) よりも高かった。

また暴露期間内に動物の死亡を引き起こさない最高濃度 (NOLEC) は、飽和濃度 (10~12mg/L) であった。

また無影響濃度 (NOEC) は 6.41mg/L (被験物質の設定濃度) 未満であり、認められた症状は、以下のとおりであった。

- 水槽の底に異常に長時間とどまる。
- 努力呼吸を示す。
- 不活発または異常に活動性が低い。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No. 2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体 : フルフェナセット原体 (純度)
¹⁴C-フルフェナセット (純度 , 比放射能)
 供試生物 : オオミジンコ (*Daphnia magna*), 一群各 20 頭(生後 24 時間以内の個体)
 方法 : 暴露条件は止水式とし、検体を 48 時間暴露させた。
 検体はアセトン(最終濃度 0.5mL/L)に溶解させた。
 試験水温 : 19.9~20.2°C
 溶存酸素 : 8.2~8.8mg/L
 pH : 7.9~8.3
 明暗周期 : 明期 16 時間 暗期 8 時間

結果① : 平均実測濃度 (算術平均) 報告書に基づく

試験濃度	設定濃度	0(対照, 溶媒対照), 6.6, 11, 18, 30, 50	
(mg/L)	実測濃度 (平均)	0(対照, 溶媒対照), 6.38, 10.8, 17.7, 29.0, 47.9	
EC ₅₀ (mg/L) * (95%信頼限界)	24 時間	37.3(29.0 - 47.9)	
	48 時間	30.9(29.0 - 47.9)	
NOEC (mg/L) *	17.7		

* : 結果の算出は平均実測濃度に基づく

結果② : 平均実測濃度 (幾何平均: 申請者により実施)

試験濃度	設定濃度	0(対照, 溶媒対照), 6.6, 11, 18, 30, 50	
(mg/L)	実測濃度 (平均)	0(対照, 溶媒対照), 6.38, 10.8, 17.7, 29.0, 47.8	
EC ₅₀ (mg/L) * (95%信頼限界)	24 時間	37.2(32.3 - 43.0)	
	48 時間	30.3(26.9 - 34.3)	

* : 結果の算出は平均実測濃度に基づく

暴露期間中、29.0 および 47.9mg/L で遊泳阻害がみられ(底にとどまるおよび/あるいはほとんど動かない)、47.9mg/L では 18 例の死亡がみられた。

試験期間中の検体の平均実測濃度は設定濃度の 96 から 98%であった。いずれのチャンバーにおいても沈殿は認められなかった。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 No. 3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体：フルフェナセット原体（純度 5%）
 供試生物：淡水藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)
 初期濃度 10000 細胞/mL

方法：振とう培養法で検体を 72 時間以下に示す条件下で検体に暴露させた。検体はジメチルホルムアミドに溶解させた。

試験水温：21.2～22.5℃
 pH：7.8～8.5
 照度：7930～8840 Lux

結果：

試験濃度 ($\mu\text{g/L}$)	設定濃度*	0(対照, 溶媒対照), 0.0905, 0.289, 0.923, 2.95, 9.42, 30.1, 96.1, 307, 980, 3130, 10,000
	実測濃度 (幾何平均**)	0(対照, 溶媒対照), 0.138, 0.416, 1.25, 3.71, 11.1, 34.4, 102, 322, 984, 3127, 8605
ErC ₅₀ ($\mu\text{g/L}$) (95%信頼限界)	(0h～72h)	134 (72.9 - 256)
LOErC($\mu\text{g/L}$)		0.416
NOErC ($\mu\text{g/L}$)		0.138

*, **有効成分換算値

上記表に示すように、本検体の ErC50 は 134 $\mu\text{g/L}$ (95%信頼限界: 72.9 - 256 $\mu\text{g/L}$)であり、NOErC(0 - 72h)は 0.138 $\mu\text{g/L}$ であった。

緑藻の形態学的な変化はいずれの試験濃度においても認められなかった。

尚、評価期間内に対照群の生物量は 16 倍以上に増加し、対照群において、0-1 日、1-2 日および 2-3 日の区間生長速度の平均変動係数パーセントは 35%を超えず、また対照群の各反復間の平均生長速度の変動係数パーセントは 7%を超えなかった。

処理 0 日目の処理群のフルフェナセットの分析濃度は、設定値の 88 から 158%(平均 110%)であった。処理 3 日目の処理群のフルフェナセットの分析濃度は、設定値の 84 から 147%(平均 113%)であった。

製剤

1) 魚類急性毒性試験

(資料 No. 4)

コイを用いた急性毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体 : フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤

組成 : フルフェナセット ; 33.6%(w/w)

ジフルフェニカン ; 8.4%(w/w)

界面活性剤、水等

供試生物 : コイ (*Cyprinus carpio*)

一群各 10 尾, 平均全長 : 4.2cm, 平均体重 : 1.0g

方法 : 暴露条件は止水式とし、検体を 96 時間暴露させた。暴露日に検体を濃度区ごとに適当量秤量後、試験水 40L に投入し、十分に攪拌して、各濃度区を調製した。0mg/L(対照区)については試験水のみとした。下記の環境条件下に維持した。

試験水温 : 20.7~21.8℃、

pH : 6.9~7.4

溶存酸素濃度 : 85~100%

明暗周期 : 明期 16 時間 暗期 8 時間

症状観察及び観察期間 : 暴露開始後 1、3、6、24、48、72 および 96 時間に死亡個体数、毒性の徴候あるいは異常の有無を記録した。

結果 :

試験濃度*1 (mg/L)	0, 3.13, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100	
LC ₅₀ (mg/L) *1 (95%信頼限界)	24 時間	66.1 (38.2~247)
	48 時間	66.1 (38.2~247)
	72 時間	66.1 (38.2~247)
	96 時間	54.9 (43.7~72.1)
NOEC (mg/L) *1	12.5	
死亡例の認められなかった最高濃度(mg/L) *1	25.0	

*1 : 各値は製剤濃度に基づく

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

毒性症状は暴露 4 時間後から 25mg/L 以上の区でみられ、その症状は水槽の底部に異常に長い時間滞在、運動性の低下あるいは不動、努力呼吸であった。

死亡は、暴露 72 時間までいずれの濃度区でも認められなかったが、暴露 96 時間後において 50mg/L 区で 3 例、100mg/L 区で全例の死亡が認められた。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No. 5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2010年

検体：フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤

組成：フルフェナセット；33.6%(w/w)

ジフルフェニカン；8.4%(w/w)

界面活性剤、水等

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)，一群各 30 頭(生後 24 時間以内の個体)

方法：暴露条件は止水式とし、検体を 48 時間暴露させた。暴露日に検体を濃度区毎に秤量し、各濃度区の試験水調製用ビーカーに直接加え、試験水を調製した。

1 容器あたり、5 頭ずつミジンコを投入した。

試験水温：20.2～20.6℃、

pH：7.8～7.9

溶存酸素濃度：8.8～8.9mg/L

明暗周期：明期 16 時間 暗期 8 時間

症状観察及び観察期間：暴露開始後 24、48 時間にミジンコの遊泳状態を観察した。

結果：

試験濃度*1 (mg/L)	0, 12.5, 25.0, 50.0, 100, 200, 400	
EC ₅₀ (mg/L) *1 (95%信頼限界)	24 時間	127.1 (68.2～237)
	48 時間	68.2 (51.5～90.4)
NOEC (mg/L) *1	24 時間	25.0
	48 時間	25.0

*1：各値は製剤濃度に基づく

遊泳阻害は暴露後 48 時間、72 時間共に 50mg/L 区以上で認められた。その他の影響としては、触角の動きの低下や活動性の低下などがみられた。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 No. 6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

検体 : フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤
組成 : フルフェナセット ; 33.6%(w/w)
ジフルフェニカン ; 8.4%(w/w)
界面活性剤、水等

供試生物 : 単細胞緑藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)
初期濃度 10000cells/mL

方法 : 振とう培養法で検体を 16 時間照明 (平均 8090 ルックス) で、72 時間暴露させた。暴露日に予め 29.8mg を秤量し、栄養培地 1000g に加え、マグネティックスターラーで 3 分間攪拌した。この保存溶液をもとに栄養培地を用いて使用濃度まで希釈した。検体濃度区については濃度毎 3 反復で行い、対照区は 6 反復で行った。対照区には細胞浮遊液のみを用いた。尚、培養装置内の温度、照度の偏りを考慮し、暴露後 24 時間毎に試験容器のローテーションを行った

試験水温 : 21.8~21.9°C、

pH : 暴露開始時 ; 8.0~8.2, 終了時 ; 8.1~8.8

計測及び観察 : 暴露後 24、48、72 時間に細胞濃度を測定した。また暴露終了時に細胞観察し形態異常及び細胞凝集の有無の観察を行った。

結果 :

試験濃度*1 (µg/L)	0, 0.286, 0.916, 2.93, 9.38, 30.0
ErC ₅₀ (µg/L)*1 (95%信頼限界)	0~72 時間 ; 8.85 (1.57~62.5)
NOEC (µg/L) *1	0~72 時間 ; 0.916

*1 : 各値は製剤濃度に基づく

暴露終了時における藻類の形態観察の結果、全ての濃度区において形態異常や細胞凝集は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利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. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1 ミツバチ

No.	供試生物 (齢期)	1群あたり 供試数	被験物質	処理量/試験方法	結果	試験機関 (報告年)
1	ミツバチ (3~5週齢)	10頭 3反復	原体 ()	接触毒性 ; $\mu\text{g}/\text{頭}$ 1.563, 3.125, 6.25, 12.5, 25	LD50 >25 $\mu\text{g}/\text{頭}$ (48時間)	(1996年)

2-2 蚕

No.	供試生物 (齢期)	1群あたり 供試数	被験物質	処理量/試験方法	結果	試験機関 (報告年)
2	蚕 錦秋×鐘和 4齢起蚕	20頭 3反復	原体 ()	320mg/L (製品80ml/ 100L相当) の試験溶液 に浸漬し風乾させた 桑葉を給餌した。	繭重が若干減少 した以外は、殆 ど影響を及ぼさ なかった。	(2010年)

2-3 天敵昆虫等

No.	供試生物 (齢期)	1群あたり 供試数	被験物質	処理量/試験方法	結果	試験機関 (報告年)
3	コモリグモ (<i>Pardosa agrestis</i>)	1匹 20反復	60%顆粒 水和剤	製剤1kg/ha相当の処 理溶液による噴霧	影響は認めら れない	(1995年)
4	カブリダニの一種 (<i>Typhlodromus pyri</i>) 第一若虫	25匹 5反復	60%顆粒 水和剤	製剤1kg/ha相当とな るよう、処理溶液を 試験容器のガラス面 に噴霧	72時間後死亡 率 100%	(1995年)
5	オサムシ (<i>Poecilus cupreus</i>)	6匹 5反復	60%顆粒 水和剤	製剤1kg/ha相当の処 理溶液による噴霧	影響は認めら れない	(1995年)

2-4 鳥類

No.	試験の 種類・ 被験物質	供試 生物	1群 当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 及び 無影響量	観察された影響等	試験機関 (報告年)
1 GLP	急性経口 毒性試験 原体 (97.4%)	コソ ウズラ	雌雄 各5羽	単回強制 経口投与 14日間 観察	0, 500, 1000, 2000	LD ₅₀ >2000 mg/kg 無影響量 2000 mg/kg	中毒症状, 死亡例, 剖検 検体投与に関連した影響は 認められなかった。	Bayer crop sciee. (ドイツ) (2010年)

VII. 使用時安全上の注意

<リベレーターフロアブル> ジフルフェニカン(8.4%)・フルフェナセット(33.6%)水和剤

1. 使用時安全上の注意事項

- (1) 誤飲、誤食などのないように注意すること。誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当てを受けさせること。本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当てを受けること。
- (2) かぶれやすい体質の人は取り扱いに十分注意すること。
- (3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。

2. 解毒法および治療法

特になし

3. 製造時、使用時等における事故例

特になし

VIII 毒性

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期 間	供試生物	一群当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒 性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
1 GLP	急性毒性 (14日間 観察)	ラット	♂♀各5 ♂対照10	経口	*♂:0, 46, 138, 600, 1146, 4560 *♀:0, 46, 325, 514, 664, 1292	♂:1617 ♀:589	(1993年)	毒-8
2 GLP	急性毒性 (14日間 観察)	ラット (非絶食)	♂各5	経口	♂:312, 625, 1250, 2500,	♂:683	(1992年)	毒-10
3 GLP	急性毒性 (14日間観察)	マウス	♂♀各5	経口	*♂:474 663, 669, 1388, 2850 *♀:663, 669, 1032, 1388, 2850	♂:1331 ♀:1756	(1991年)	毒-12
4 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀:2000	♂♀:>2000	(1992年)	毒-14
5 GLP	急性吸入	ラット	♂♀各6	流動式 (4時間)	エーロゾル *♂♀:0(空気/ 溶媒対照), 3260, 3740 (mg/m ³)	♂♀:>3740 mg/m ³	(1990年)	毒-16
6 GLP	皮膚刺激性 (3日間観察)	ウサギ	♂6	背部に貼 付	500mg/パッチ	刺激性なし	(1992年)	毒-18
7 GLP	眼刺激性 (7日間観察)	ウサギ	♂6	眼に 強制投与	0.1mL/眼 (約54mg)	刺激性あり	(1992年)	毒-20
8 GLP	皮膚感作性 Maximiza- tion法 (24日間観察)	モルモット	♂20 対照群10	感作 皮内注射 5%液 貼付 50%液	惹起 50及び25%液	感作性あり	(1994年)	毒-22
9 GLP	急性神経 毒性	ラット	♂♀各12	経口	♂:0, 75, 200, 450 ♀:0, 25, 50, 75, 150, 300	♂:75 ♀:50	(1995年) (1998年追加)	毒-26
10 除外	急性遅発性 神経毒性	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関などからみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外						毒-32

*:分析値

資料 No.	試験の種類 期間	供試生物	一群当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒 性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁	
11 GLP	90 日間反復 経口投与毒 性 (90 日間)	ラット	♂♀各 15	飼料添加	0, 100, 400, 1600, 3000 ppm ♂: 0, 6.0, 24.3, 109.1, 191.2 ♀: 0, 7.2, 28.8, 127.2, 224.5 mg/kg/日	♂♀: 100ppm ♂: 6.0mg/kg/日 ♀: 7.2mg/kg/日	(1995 年)	毒 - 33	
12 GLP	90 日間反復 経口投与毒 性 (13 週間)	イヌ	♂♀各 4	飼料添加	0, 50, 200, 800, 2400ppm ♂: 0, 1.67, 7.20, 27.21, 96.91 ♂: 0, 1.70, 6.90, 28.00, 93.23 mg/kg/日	♂: 200ppm ♀: 50ppm ♂: 7.20 ♀: 1.70 mg/kg/日	(1995 年)	毒 - 46	
13 GLP	90 日間反復 経口投与毒 性 (13 週間)	マウス	♂♀各 15	飼料添加	0, 100, 400, 1600, 4000ppm ♂: 0, 18.2, 64.2, 275.1, 823.8 ♂: 0, 24.5, 91.3, 431.7, 1133.8 mg/kg/日	♂♀: 400ppm ♂: 64.2 ♀: 91.3 mg/kg/日	(1995 年)	毒 - 64	
14 GLP	3 週間反復 経皮投与 毒性 (週 5 回投与 + 2 週間回復)	ラット	♂♀各 8	経皮	♂♀: 0, 20, 150, 1000 mg/kg/日 回復群 0, 1000 mg/kg/日	♂♀: 1000mg/kg	(1995 年)	毒 - 72	
15 除外	90 日間反復 吸入毒性	急性吸入毒性に関する試験成績の結果から、強い吸入毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外						(1995 年)	毒 - 77
16 GLP	反復経口投 与神経毒性 (13 週間)	ラット	♂♀各 12	経口	0, 120, 600, 3000ppm ♂: 0, 7.30, 38.1, 219 ♀: 0, 8.40, 42.6, 247 mg/kg/日	♂♀: 120ppm ♂: 7.30 ♀: 8.40 mg/kg/日	(1995 年)	毒 - 78	
17 除外	28 日間反 復投与遅 発性神経 毒性	遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関などからみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験除外							毒-88

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 期	供試生物	一群当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無 毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
18 GLP	1年間反復 経口投与発 がん性併合 (2カ年)	ラット	♂♀各 50+10 50+20* *0, 800ppm 群のみ	飼料添加	0, 25, 400, 800ppm ----- ♂: 0, 1.2, 19.3, 39.0 ♀: 0, 1.5, 24.4, 49.8 mg/kg/日	♂♀: 25ppm ♂: 1.2 ♀: 1.5 mg/kg/日 発がん性なし	(1995年)	毒-89
19 GLP	1年間反復 経口投与 毒性 (1カ年)	イヌ	♂♀各4	飼料添加	0, 40, 800, 1600ppm ----- ♂: 0, 1.29, 27.75, 62.24 ♀: 0, 1.14, 26.82, 58.79 mg/kg/日	♂♀: 40ppm ♂: 1.29 ♀: 1.14 mg/kg/日	(1995年)	毒-117
20 GLP	発がん性 (20カ月)	マウス	♂♀ 各50	飼料添加	0, 50, 200, 400 ppm ----- ♂: 0, 7.4, 30.4, 62.2 ♀: 0, 9.4, 38.4, 77.2 mg/kg/日	♂: <50ppm ♀: 50ppm ♂: <7.4 ♀: 9.4 mg/kg/日 発がん性なし	(1995年)	毒-138
21 GLP	繁殖試験 (2世代)	ラット	各世代 ♂♀ 各30	飼料添加	0, 20, 100, 500ppm ----- P世代 ♂: 0, 1.4, 7.4, 37.5 ♀: 0, 1.5, 8.2, 41.2 F1世代 ♂: 0, 1.4, 7.3, 37.2 ♀: 0, 1.5, 8.2, 41.5	親動物 ; ♂500ppm ♀100ppm P世代 ; ♂: 37.5 ♀: 8.2 F1世代 ♂: 37.2 ♀: 8.2 mg/kg/日 児動物 ; 500ppm 繁殖性 ; 500ppm 繁殖に対する影 響なし	(1995年)	毒-151
22 GLP	催奇形性	ラット	♀ 30	経口 (妊娠 6 ~ 15 日)	0, 5, 25, 125 mg/kg/日	親; 25mg/kg 胎児; 25g/kg 催奇形性作用 なし	(1995年)	毒-162
23 GLP	催奇形性	ウサギ	♀ 20	経口 (妊娠 6 ~ 18 日)	0, 5, 25, 125, 200 mg/kg/日	親; 25mg/kg 胎児; 25g/kg 催奇形性作用 なし	(1995年)	毒-168
24-1 GLP	変異原性 復帰突然 変異	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537		<u>in vitro</u>	0, 16, 50, 158, 500, 1581, 5000 μg/プレート	変異原性なし	(1995年)	毒-175

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 期	供試生物	一群当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無 毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁		
24-2 GLP	変異原性 復帰突然 変異	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102		in vitro	0, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 µg/7 ^レ プレート	変異原性なし	(2010年)	毒-177		
25 GLP	変異原性 前進突然 変異	チャイニーズハム スター由来肺培養 細胞 (V79)		in vitro	代謝非活性化 0, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250 代謝活性化 0, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL	変異原性なし	(1994年)	毒-180		
26 GLP	変異原性 UDS	ラット肝初代培養 細胞		in vitro	0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 60 80 µg/mL	DNA 損傷作用 なし	(1992年)	毒-183		
27 GLP	変異原性 染色体異常	チャイニーズ ^ス ハムスター 卵巣培養細胞(CHO)		in vitro	0, 8, 40, 200 µg/mL	染色体異常誘発 作用なし	(1995年)	毒-186		
28 GLP	変異原性 小核	マウス	♂♀各5	腹腔内 投与 in vivo	0, 250mg/kg を 1回投与後 16, 24, 48 時間後 観察	変異原性なし	(1993年)	毒-189		
29	生体 の機能 への影 響	中枢 神経系	一般症状 (Irwin)	マウス	♂:4 ♀:4	経口	♂♀ 0, 25.6, 64.0, 160, 400, 1000	NOEL ♂♀:64.0	(2009年)	毒-191
		抗痙攣	マウス	♀:6	経口	0, 25.6, 64.0, 160, 400, 800	NOEL ♀:800			
		呼吸 循環器 系	呼吸数	麻酔 ウサギ	♀: 1または3	十二指腸	0, 25.6, 64.0, 160, 400, 800	NOEL ♀:64.0		
			心拍数					NOEL ♀:64.0		
			血圧					NOEL ♂:800		
腎機能	尿量, 尿 中電解質, 定性 分析	ラット	♀:6	経口	0, 25.6, 64.0, 160, 400, 800	NOEL ♂:25.6				

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。

資料 No.	試験の種類 期間	供試生物	一群当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無 毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
30 GLP	発達神経 毒性 (約96日間)	ラット	♀各25	経口	0, 20, 100, 500ppm ♀: 妊娠期間/ 1.7, 8.3, 40.8 哺育期間/ 3.0, 15.4, 76.7 mg/kg/日	♀: 20ppm 妊娠期間; 1.7 哺育期間; 3.0 mg/kg/日	(2000年)	毒-196
31 GLP							(1995年, 1996年)	毒-211
32 GLP							(1995年)	毒-223

2. 原体中の混在物および代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類 期 間	供試生物	一群当り 動物数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無 毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝物 1 GLP	急性毒性 代謝物[0]	ラット	♂♀各5	経 口	♂:1650 ♀:600	♂:<1650 ♀:<600	(1993年)	毒-230
代謝物 2 GLP	急性毒性 代謝物[X]	ラット	♂♀各5	経 口	♂♀: 500, 2000	♂:>2000 ♀:>2000	(1998年)	毒-232
代謝物 3 GLP	変異原性 復帰突然 変異 代謝物[0]	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102		<u>in vitro</u>	0, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(2011年)	毒-234
代謝物 4 GLP	変異原性 復帰突然 変異 代謝物[W]	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102		<u>in vitro</u>	0, 16, 50, 158, 500, 1581, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(2009年)	毒-237
代謝物 5 GLP	変異原性 前進突然 変異 代謝物[W]	チャイニーズハム スター由来 V79 細胞		<u>in vitro</u>	0, 150, 300, 600, 1200, 1800, 2400 µg/mL	変異原性なし	(2010年)	毒-240
代謝物 6 GLP	変異原性 染色体異常 代謝物[W]	チャイニーズハム スター由来 V79 細胞		<u>in vitro</u>	0, 600, 1200, 2400 µg/mL	染色体異常誘 発作用なし	(2009年)	毒-243
代謝物 7 GLP	変異原性 復帰突然 変異 代謝物[X]	ネズミチフス菌; TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102		<u>in vitro</u>	0, 16, 50, 158, 500, 1581, 5000 µg/プレート	変異原性なし	(2000年)	毒-246
代謝物 8 GLP	変異原性 前進突然 変異 代謝物[X]	チャイニーズハム スター由来 V79 細胞		<u>in vitro</u>	代謝非活性化 0, 50.5, 101.0, 201.9, 403.8, 604.8, 807.5 代謝活性化 0, 101.0, 201.9, 403.8, 807.5, 1615.0, 3230.0 µg/mL	変異原性なし	(2009年)	毒-249

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. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁	
1 GLP	急性毒性 (フロアブル)* (14日間観察)	ラット	♂♀各3	経口	♂: 500 ♀: 500, 2000	LD ₅₀ >500 <2000	(2002年)	毒-252	
2 GLP	急性毒性 (フロアブル)* (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 4000	LD ₅₀ ♂♀: >4000	(2002年)	毒-253	
3 除外	急性吸入 (フロアブル) (14日間観察)	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試験除外						(2002年)	毒-254
4 GLP	皮膚刺激性 (フロアブル)* (3日間観察)	ウサギ	♂3	背部に貼布	0.5mL/パッチ	無刺激物	(2001年)	毒-255	
5 GLP	眼刺激性 (フロアブル)* (3日間観察)	ウサギ	非洗眼群: ♂3	片側眼に強制投与	0.1mL/眼	實際上刺激性なし	(2001年)	毒-257	
6 GLP	皮膚感作性 (フロアブル)** LLNA OECDガイドラインno. 429	マウス	♀4	0, 25, 50, 100%		皮膚感作性なし	(2012年)	毒-259	

*フルフェナセット 33.6%(w/w)+ジフルフェニカン 16.8%(w/w)フロアブル

**フルフェナセット 33.6%(w/w)+ジフルフェニカン 8.4%(w/w)フロアブル

1. 原体

(1) 急性毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-1)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993 年

検体の純度 :

供試動物 : SD(Sas:CD(SD)BR)系雌雄ラット,
1 群雌雄各 5 匹 (ただし雄対照群のみ 10 匹)
試験開始時 ; 雄 約 6~8 週齢 (162~255g)
雌 約 6~8 週齢 (172~213g)

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体を 2% (v/v) Cremophor EL 含有脱イオン水に懸濁して経口投与した。
投与容量は、体重 100g あたり 2mL とした。投与前一晚絶食させた。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、週日は 1 日 2 回、週末及び祝日は 1 日 1 回注意深く臨床観察を行った。体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。また死亡例については死亡発見時に体重を測定した。死亡動物については発見後速やかに、観察終了時に生存動物していた全動物については二酸化炭素吸引により窒息死させた後、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量* (mg/kg)	雄：0, 46, 138, 600, 1146, 4560 雌：0, 46, 325, 514, 664, 1292
LD50 [95%信頼限界] (mg/kg)	雄：1617 [706 - 7010] 雌：589 [349 - 928]
死亡開始時間及び 終了時間	雄：投与日開始, 投与後 5 日終了 雌：投与後 1 日
症状発現時間及び 消失時間	雄：投与日開始, 投与後 9 日 [†] 終了 雌：投与日開始, 投与後 6 日終了
毒性徴候の認められなかった最 高投与量 (mg/kg)	雄：46 雌：46
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：600 雌：325

投与日：0 日

*：投与液中の有効成分を分析してこれに基づき投与量を計算。

†：雄 600mg/kg 群 1 例で鼻の周りの赤い汚れが 14 日目にも観察されているが、高用量群では消失していることから、他の動物に比べこの消失に時間がかかっていることについては、偶発的なものと考えた。従って他で認められた最長の回復時期を記載した。尚、これらの中毒症状は 0~1 日に最も顕著であった。

一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状として、運動失調、努力呼吸、活動性の低下、被毛の汚れ、分泌亢進などが投与日からみられた。

死亡は投与日から投与後 5 日以内にみられた。更に、死亡例では流涙、流涎などが確認された。生存動物の体重については、最高用量群の雄 1 例で一時的な体重減少(0-7 日)が認められた他は、雌雄ともに順調な体重増加がみられた。また一時的な体重減少が認められた雄 1 例も、その後は順調な体重増加を示した。

剖検

死亡例では流涎、流涙の影響と思われる被毛の汚れが認められた他、肺に赤色域がみられた。14 日まで生存した動物では異常な肉眼所見は何ら認められなかった。

ラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度：

供試動物：SD(Sas:CD(SD)BR)系雄ラット、
1 群各 5 匹
試験開始時；雄 約 8 週齢(239~335g)

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 2%(v/v)Cremophor EL 含有脱イオン水に懸濁して経口投与した。
投与容量は、体重 100g あたり 2mL とした。絶食はさせなかった。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察し、週日は 1 日 2 回、週末及び祝日は 1 日 1 回注意深く臨床観察を行った。体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。また死亡例については死亡発見時に体重を測定した。死亡動物については発見後速やかに、観察終了時に生存動物していた全動物については二酸化炭素吸引により窒息死させた後、肉眼的病理検査を行った。

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

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：312, 625, 1250, 2500
LD50[95%信頼限界] (mg/kg)	雄：683 [350 - 1150]
死亡開始時間及び終了時間	雄：投与日開始, 投与後1日終了
症状発現時間及び消失時間	雄：投与後1日開始, 4日終了
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：312

投与日:0日

一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状として、活動性の低下、流涙、紅涙、流涎、天然孔周囲の汚れなどが投与日から投与1日後に明らかであった。これらの症状は投与後3日まで認めら。

死亡は投与日から投与後1日以内にみられた。生存動物においては順調な体重増加がみられた。

剖検

死亡例では流涎、流涙の影響と思われる被毛の汚れが認められたが、死亡例、生存例ともに臓器及び組織に異常な肉眼所見は何ら認められなかった。

マウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 原体-3)

試験機関： (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度 :

供試動物 : CD-1 系雌雄マウス,
1 群雌雄各 5 匹
試験開始時 ; 雄 約 8 週齢 (27~36g)
雌 約 8 週齢 (19~31g)

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体を 2% (v/v) Cremophor EL 含有脱イオン水に懸濁して経口投与した。
投与容量は、体重 10g あたり 0.2mL とした。投与前一晚絶食させた。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、週日は 1 日 2 回、週末及び祝日は 1 日 1 回注意深く臨床観察を行った。体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。死亡動物については発見後速やかに、観察終了時に生存動物していた全動物については二酸化炭素吸引により窒息死させた後、肉眼的病理検査を行った。

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

結果：

投与方法	経口
投与量* (mg/kg)	雄：474, 663, 669, 1388, 2850 雌：663, 669, 1032, 1388, 2850
LD50 [95%信頼限界] (mg/kg)	雄：1331 [908 - 2611] 雌：1756 [1218 - 4322]
死亡開始時間及び終了時間	雄：投与日開始, 投与後1日終了 雌：投与後1日
症状発現時間及び消失時間	雄：投与後1日開始, 9日消失 雌：投与日開始, 投与後4日消失
毒性徴候の認められなかった最 高投与量 (mg/kg)	雄：－ (全群で徴候あり) 雌：669
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：663 雌：669

投与日:0日

*: 投与液中の有効成分を分析してこれに基づき投与量を計算,

一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状として、活動性の低下、反応性の亢進、痙れん、粗毛、流涎、流涙などが投与日にみられた。

死亡は投与日から投与後1日以内にみられた。生存動物においては雌雄ともに順調な体重増加がみられた。

剖検

死亡例では流涎、流涙の影響と思われる被毛の汚れが認められた。14日まで生存した動物では異常な肉眼所見は何ら認められなかった。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 原体-4)

試験機関： (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度 :

供試動物 : SD(Sas:CD(SD)BR)系雌雄ラット,
1 群雌雄各 5 匹
試験開始時 ; 雄 約 9 週齡(278~331g)
雌 約 11 週齡(249~284g)

観察期間 : 14 日間

投与方法 : 検体を水道水で湿らせ、剪毛した背部皮膚に 24 時間塗布した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察し、週日は 1 日 2 回、週末及び祝日は 1 日 1 回注意深く臨床観察を行った。体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。また死亡例については死亡発見時に体重を測定した。死亡動物については発見後速やかに、観察終了時に生存動物していた全動物については二酸化炭素吸引により窒息死させた後、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD50 (mg/kg)	雄：>2000 雌：>2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：－（死亡例なし） 雌：－（死亡例なし）
症状発現時間及び 消失時間	雄：－（症状なし） 雌：投与後2日開始，6日消失
毒性徴候の認められなかった最 高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：－（徴候あり）
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

投与日：0日

一般症状の観察及び体重の測定

死亡例は認められなかった。検体に関連すると考えられた中毒症状は雄では認められなかった。雌の2例で投与後2日～5日にかけて尿による被毛のよごれがみられ、投与による影響が窺われた。順調な体重増加が雌雄共にみられた。

剖検

剖検において、雌雄共に検体に起因する所見は認められなかった。

ラットにおける急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-5)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年：1990年

検体の純度：

供試動物：SD(Sas:CD(SD)BR)系雌雄ラット，1群雌雄各6匹
 試験開始時；雄 約 7～9 週齢(235～304g)
 雌 約 7～9 週齢(186～227g)

暴露方法：

検体を溶媒（アセトンとポリエチレングリコール400の50：50混合物，V/V）中に溶解して（1：5，W/V）噴霧装置を用い、エアロゾル化し、ラットの鼻部に4時間1回暴露した。チャンバー内のラットの呼吸ゾーン近くで暴露空気を Millipore HA WG フィルタ（孔径 0.45µm）を用いて採取し、液体クロマトグラフィーにより実際濃度を求めた。

暴露条件；

	1群	2群	3群	4群
設定濃度 (mg/m ³)	0	0	30900	17500
実際濃度 (重量分析値) (mg/m ³)	空気対照	溶媒対照	3260	3740
粒子径分布 (%)				
<1µm	—	<5	<5	8
<2µm	—	52	56	64
空気力学的質量中位径 (µm)	—	1.96	1.84	1.68
呼吸可能な粒子の割合 (<2µm) %		52	56	64
チャンバー容積 (L)	27			
給気流量 (L/分)	15			
暴露条件	エアロゾル 4時間 鼻部暴露			

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を14日間観察し、週日は1日2回、週末及び祝日は1日1回注意深く臨床観察を行った。体重測定は、検体暴露直前、暴露後3日、7日及び14日に行った。また観察終了時に生存していた全動物については二酸化炭素吸引により窒息死させた後、肉眼的病理検査を行った。

【結果】

投与方法	吸 入
曝露濃度 (実測濃度 ; mg/m ³)	0(空気対照, 溶媒対照), 3260, 3740
LC50 (mg/m ³)	雄 : >3740 雌 : >3740
死亡開始時間及び 終了時間	雄 : - (死亡例なし) 雌 : - (死亡例なし)
症状発現時間及び 消失時間	雄 : 暴露日～暴露後 3 日 雌 : 暴露日～暴露後 4 日
死亡例の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³)	雄 : 3740 雌 : 3740

暴露日 : 0 日

一般症状の観察及び体重の測定

死亡例は認められなかった。

検体に関連して、運動失調、首を傾げる、流涙、瀕死、鼻汁、ラッセル音、尿による被毛の汚れおよび粗毛などがみられた。体重では、空気対照群は順調な増加がみられたが、検体群では、暴露後 3 日に雄では 3260mg/m³ 群、雌では 3260 及び 3740mg/m³ 群で軽度な減少がみられた。しかし、雄ではより高濃度の 3740mg/m³ 群で同じく暴露後 3 日目に増加が認められた。一方、溶媒対照群では同じく暴露後 3 日目に雄では体重が減少し、雌では体重の増加がみられないというように、検体群と溶媒対照群では体重増加に差が認められなかった。従って、暴露後 3 日にみられた体重の減少は、本検体に起因した変化ではなく、むしろ溶媒に起因した変化と考えられた。

剖検

肉眼所見は何ら認められなかった。

(2)皮膚および眼に対する刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(毒性資料 No. 原体-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1992年

検体の純度：

供試動物：New Zealand White 系雄ウサギ, 1群6匹
試験開始時；約12週齢

観察期間：3日間

試験方法：

検体 0.5g を水道水で湿らせ、刈毛した動物の背中の皮膚（約 6cm²）に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は4時間とし、皮膚に残った検体は、皮膚を傷つけることなく水道水で湿らせたペーパータオルを用いて拭き取った。

観察項目：

暴露終了後30分から1時間、24時間、48時間、72時間に塗布部位の刺激性変化（紅斑、浮腫）の有無等を観察し、EPAガイドライン*の判定基準に従って採点した。また、個々に暴露終了後30分から1時間、24時間、48時間、72時間の数値の総和を4で除した値の平均値を一次刺激指数（P. I. I.）として求めた。

結果：

暴露終了後30分から1時間、24時間、48時間及び72時間の観察において、皮膚刺激症状はいずれの動物にも認められなかった（表参照）。

*US-EPA-FIFRA Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F, Hazard Evaluation: Human and Domestic Animals, November 1984 (Guideline, 81-5)

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。

動物 番号	項目	最高 評点 ¹⁾	暴露終了後			
			30～60分	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
4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計	8	0	0	0	0

1) 判定基準の最高評点

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判断された。

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

ウサギを用いた眼刺激性試験

(毒性資料 No. 原体-7)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年月日 : 1992 年

検体の純度 :

供試動物 : New Zealand White 系雄ウサギ, 1 群 6 匹
試験開始時 ; 約 12 週齢

観察期間 : 7 日間

試験方法 :

6 匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体 0.1 mL (54 mg) をその結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間、眼瞼を緩やかに合わせ保持した。右側の眼は未処理の対照眼とした。

観察項目 :

検体投与後 1 時間、24 時間、48 時間、72 時間に、角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、EPA ガイドライン*の判定基準に従って採点した。72 時間に回復が認められなかった例については 7 日にも観察した。

眼にみられた以外の変化についても観察した。

結果 :

観察期間を通じて、角膜および虹彩にはいずれのウサギにも刺激性は認められなかった。

結膜発赤 (投与後 48 時間あるいは 72 時間まで) は全例に認められ、浮腫はそのうち 5 例 (投与後 24 時間まで) に、また分泌物は 3 例 (いずれも投与後 1 時間時のみ) にみられた。

結膜発赤、結膜浮腫および分泌物は全ての動物でそれぞれ 7 日、48 時間および 24 時間で消失した。従って、投与後 7 日には全ての眼の症状が消失し、回復性がみられた。

中毒症状も認められなかった。

EPA ガイドライン*の判定基準に従うと、いずれの項目についても陽性反応はみられず (結膜発赤及び浮腫は 2 以上が陽性)、また 7 日までに全ての刺激症状は認められず、刺激性なしと評価された。

申請者注) 結膜発赤、結膜浮腫および分泌物は全動物でみられ、全ての眼の症状が消失したのは投与後 7 日であったことから、申請者は本検体には「眼に対して刺激性あり」と考えた。

*US-EPA-FIFRA Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F, Hazard Evaluation: Human and Domestic Animals, November 1984 (Guideline, 81-4)

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。

項目			最高 評点 ¹⁾	適用後時間				
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日
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	1	0	0	-
		浮 腫	4	0	0	0	0	-
		分泌物	3	0	0	0	0	-
動物 番号 2	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	1	0
		浮 腫	4	1	1	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0
動物 番号 3	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	1	0
		浮 腫	4	1	1	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0
動物 番号 4	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	-
	虹 彩		2	0	0	0	0	-
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	0	-
		浮 腫	4	1	1	0	0	-
		分泌物	3	0	0	0	0	-
動物 番号 5	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	-
	虹 彩		2	0	0	0	0	-
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	0	-
		浮 腫	4	1	1	0	0	-
		分泌物	3	0	0	0	0	-
動物 番号 6	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	-
	虹 彩		2	0	0	0	0	-
	結 膜	発 赤	3	1	1	1	0	-
		浮 腫	4	1	1	0	0	-
		分泌物	3	3	0	0	0	-
合計 ²⁾			660	32	22	10	4	0
平均 ²⁾			110	5.3	3.7	1.7	0.7	0

- : 検査せず

1) 判定基準の最高評点

2) Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)、申請者の計算による

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(毒性資料 No. 原体-8)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年

検体の純度 :
供試動物 : Hsd win:DH (旧名 Bor:DHPW)系雄モルモット、1群 20 匹(対照群 10 匹)
試験開始時; 5~6 週齢(322~390g)
観察期間 : 24 日間 (1994 年 9 月 27 日~10 月 21 日)

試験方法 :

Maximization 法により行った。

試験濃度設定の根拠

0、1、2.5 及び 5%の濃度で、各々 0.1mL を 1 匹に皮内注射を行い、注射後 24 時間及び 48 時間にその注射部位の皮膚症状を調べた。その結果、0 から 2.5%の濃度では、いずれも皮膚反応は認められず、5%のみで膨疹がみられた。また、別の 4 匹に 6、12、25 及び 50%の濃度について、その各 0.5mL を 24 時間閉塞貼付した結果、貼付開始後 48 時間及び 72 時間において、皮膚反応は 4 匹とも認められなかった。更に、本試験の惹起 1 週間前の感作期間中に無感作群として同様の処置をした動物 5 匹に、検体濃度 6、12、25 及び 50%の濃度についてその各 0.5mL を 24 時間閉塞貼付したとき、塗布後 48 時間、72 時間共に、いずれの濃度においても皮膚反応は認められなかった。

従って、感作濃度は皮内注射が 5%、貼付が 50%、惹起濃度は 50%と 25%とした。

検体試料の調製

検体投与前に、検体を Cremophor EL®を 2%含有した滅菌生理食塩水で懸濁させた。

1. 皮内感作

投与 1 日前に刈毛した試験動物の背頸部の各長軸方向に、平行に 3ヶ所皮内注射を行った。第一注射部位と第二注射部位の間隔はできるだけ隣接させ、第二注射部位と第三注射部位間の距離は約 2 cmとした。注射部位あたりの投与容量は 0.1mL とした。

a) 感作群 (検体群)

第一注射部位 (頭方)

Freund の完全アジュバントと滅菌生理食塩水の 1:1 混液

第二注射部位 (中央)

Cremophor EL®を 2%含有した滅菌生理食塩水で調製した検体の 5%液

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。

第三注射部位（尾方）

Cremophor EL®を 2%含滅菌生理食塩水で調製した検体液と Freund の完全アジュバントを含む滅菌生理食塩水との等量混合液(検体の最終濃度：5%)

b) 無感作群

無感作群の動物は、検体群と同様に処理したが、第二と第三注射部位の調製液には検体が含まれていなかった。

2. 貼付感作（皮内注射 1 週間後）

貼付部位には貼付感作 1 日前に刈毛し、ラウリル硫酸ナトリウム 10%を含むワセリンを塗布した。貼付感作日に低アレルギー性のパッチ(2×4 cm)を注射部位間及びその部位上に貼付し、アルミホイルで覆い、Fermoflex の粘着性テープで皮膚に 48 時間固定した。

パッチは次のように処理した。

a) 感作群：50%検体 Cremophor EL®を 2%含有した滅菌生理食塩水，0.5mL

b) 無感作群：Cremophor EL®を 2%含有した滅菌生理食塩水，0.5mL

48 時間の閉塞貼付後、塗布部位に残った検体を滅菌生理食塩水で取り除いた。

3. 貼付惹起（皮内注射から 3 週間後）

惹起操作 1 日前に動物の背部と腹側部を刈毛した。惹起時に感作群と無感作群の左腹側部に検体の 50%と 25%溶液で湿らせた低アレルギー性のパッチを動物毎に頭側、尾側を換えて貼付した。また、同じく検体を含まない調製媒体のみで湿らせた低アレルギー性のパッチを 2 パッチ準備し、右腹側部の 2 部位（頭側、尾側）に貼付した。塗布時間は 24 時間とし、投与容量はそれぞれ 0.5mL とした。貼付除去 21 に時間後に塗布部を刈毛した。

4. 反応の評価

惹起開始後 48 時間と 72 時間の皮膚反応を、肉眼的に下記の基準に従って評価した。

0 = 反応なし

1 = 軽度の部分的な紅斑

2 = 中程度の融合性の紅斑

3 = 強い紅斑及び浮腫

5. 一般観察

全試験期間を通じて一日一回臨床観察を行った。

体重測定は、投与開始前と最終日(24 日目)に行った。

試験結果：

結果の要約は以下の通りである。

皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
				惹起後 48 時間				惹起後 72 時間				48 時間	72 時間	48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
				皮膚反応評点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	皮内;5 貼付;50	25	20	8	12	0	0	11	9	0	0	0.6	0.45	12	9	60	45
		50		9	9	2	0	8	9	3	0	0.65	0.75	11	12	55	60
無感作	皮内;0 貼付;0	25	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		50		10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0

惹起後、無感作群では皮膚反応は認められなかった。

一方、感作群では皮膚反応が認められ、25%惹起群では惹起後 48 時間、惹起後 72 時間の陽性率はそれぞれ、60%及び 45%であった。50%惹起群では、惹起後 48 時間、惹起後 72 時間の陽性率はそれぞれ、55%及び 60%であった。

一般観察及び体重増加において、感作群と対照群との差は認められなかった。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は陽性であると判断した。

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。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 2-メルカプトベンゾチアゾール[#]について、別の時期に実施した Maximization 法による試験結果を次に示す。(系統および実施施設は本試験と同一)

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 2-メルカプトベンゾチアゾールには明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性が確認された。

[#];2-メルカプトベンゾチアゾール

OECD で推奨されている軽度から中等度の感作性を有する既知の陽性対照物質の一つ

(4) 急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-9)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年(本試験)

: 1998 年(追加試験)

検体純度 : 本試験 :

追加試験 :

[本試験、追加試験ともに同一バッチを使用]

供試動物 : Fisher 344 CDF(F-344)/BR 系ラット、一群雌雄各 12 匹

投与時 9 週齢、投与時体重(群平均) 雄 ; 175~182g、雌 ; 130~133g

観察期間 : 本試験 ; 14 日間、追加試験は 1 日間

投与方法 : 本試験では、雄の投与用量は、0 (調製媒体)、75、200 及び 450mg/kg、また雌の投与用量は 0 (調製媒体)、75、150 及び 300mg/kg とし、強制的に単回経口投与を行った。しかし、この試験では雌において、最低用量の 75mg/kg で検体に関連したと考えられる臨床症状が認められたため、雌においてのみ、0 (調製媒体)、25 及び 50mg/kg の用量で追加試験(臨床観察及び機能観察検査)を実施した。投与液はいずれも 2% (v/v) Cremophor EL 含有脱イオン水で調製した。投与容量は、10mL/kg とした。

用量設定根拠 :

観察・検査項目：

ラットを用いた急性経口毒性試験（資料 No. 原体-1）の結果から、検体の神経行動学的影響がみられる時間は投与後 3 時間から 8 時間と判断した。尚、追加試験では下記に示す検査項目のうち、臨床観察及び FOB（投与後約 3 時間）のみ検査し、他の検査項目については本試験で NOEL が確認されていることから実施しなかった。

死亡率及び一般状態；少なくとも 1 日 1 回、生死の確認と詳細な一般状態の観察を実施し記録した。

最高用量群では、雄 4 例(450mg/kg)、雌 12 例(300mg/kg)が投与後 3 日以内に死亡した。その他の群では雌雄ともに死亡例は見られなかった。

検体投与に関連した臨床所見として、200mg/kg 以上の雄群で歩行失調、活動性の低下がみられ、450mg/kg 雄群ではこれらの症状に加え、流涙や口、眼、生殖器周囲の被毛の汚れ(流涙、尿による)、体表の熱(温)感(投与当日のみ)などがみられた。雄の 75mg/kg では何ら所見は認められなかった。一方 75mg/kg 以上の雌群では歩行失調、活動性の低下および尿による生殖器周囲の被毛の汚れが認められ、300mg/kg では更に、流涙、口周囲の汚れ、生殖器周囲の汚れ、体表の熱(温)感、が認められた。

上記臨床症状は主に投与日にみられ、投与後 5 日以内にはそのほとんどが消失した。

これらの結果から、臨床所見の無影響量(NOEL)は雄では 75mg/kg であったが、雌では 75mg/kg 以下の用量となり設定できなかった。

雌の NOEL 確認のため追加実施した試験では、50mg/kg 群を含むいずれの群でも異常所見は認められなかった。これらのことから、雌における臨床所見の NOEL は 50mg/kg と設定した。

体重変化；本試験の動物について FOB の一環として週 1 回測定した。尚、本試験において雌雄ともに体重についての NOEL が確認されていることから、追加試験においては、個体ごとの投与量を設定するため、投与開始前のみ体重を測定した。

雌雄いずれの投与群においても体重増加に、投与による変化は認められなかった。

FOB(機能観察検査)；本試験では投与開始 1 週間前、投与後約 3 時間、7 日及び 14 日に、全動物を対象として、Moser¹により記述された一連の試験法に準拠し、以下の項

¹ V. C. Moser, "Screening Approaches to Neurotoxicity : A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 1989, 8, pp. 85-93

目について検査を行った。

飼育ケージ内観察：体位，立毛，歩行異常，不随意運動，異常発声，その他

ハンドリングによる観察：ケージからの取り出しやすさ，取扱い時の反応，筋緊張，眼瞼閉鎖，瞳孔径，瞳孔反射，流涙，流涎，その他

オープンフィールドでの観察：立毛，呼吸異常，体位，不随意運動，常同行動，奇異行動，歩行異常，異常発声，立ち上がり，その他

反射／生理学的観察及び測定：接近反応，接触反応，聴覚反応，テイルピンチ反応，正向反射，握力，開脚着地幅，体重，体温

追加試験では投与後約3時間から全動物を対象としてFOBを実施したが、体重、握力、体温(結腸温)及び開脚着地幅については実施しなかった。

本試験の結果では、投与日(0日)に、雄の中間用量(200mg/kg)及び最高用量(450mg/kg)で、雌の中間用量(150mg/kg)及び最高用量(300mg/kg)で、検体に関連した影響が認められたが、最低用量である75mg/kgでは雌雄ともに影響は認められなかった。これらの影響は臨床観察において明らかとなった症状と一致していた。このうち、対照群に比べ統計学的に有意差の認められた症状は、雌雄ともにケージ内での活動性の低下と体温(結腸温)の上昇に限られており、活動性の低下は最高用量群で、体温(結腸温)は中間用量及び最高用量群で、それぞれ対照群に比べ統計学的に有意な差がみられた。雌でみられた尿による生殖器周囲の被毛のよごれを除いて、全ての毒性症状は次の観察時期である7日には消失していた。

追加試験では、いずれの用量においても検体に関連した影響は認められなかった。

以上、FOBに関するNOELは、雌雄ともに、75mg/kgであった。

表1. 統計学的に有意差のみられた項目(投与0日)

性別	雄				雌			
	0	75	200	450	0	75	150	300
投与量(mg/kg)								
活動性の低下(ケージ内) ^{a)}	0	0	2	4*	0	0	0	3*
体温(結腸温)℃	37.1	37.1	37.8*	38.0*	36.6	37.0	37.6*	38.0*

*p≤ 0.05 (Anova+Dunnetts), a);表中の数値は動物数

運動能試験；本試験では投与開始1週間前、投与0日(FOBの後に実施し、遅くとも投与6時間後には終了)、7日及び14日に、全動物を対象として運動能試験を行った。測定には8の字型迷路による自動化運動能測定装置を用い、各々10分間隔で90分間検査した。自発運動能は、試験時間中に赤外線ビームを遮断する回数を計測して測定した。移動運動能は、ラットが迷路中で場所を移動し、別のビームの一つを遮断する回数を計測して測定した。尚、90分間のセッション間中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

本試験の自発運動能及び移動運動能の試験結果の要約を以下に示す。

表2 自発運動能 - 90 分間セッション- (赤外線ビームを遮断する回数)

用量	投与前	%	投与0日	%	投与後7日	%	投与後14日	%
雄								
0mg/kg	522 ± 152	-	209 ± 77	-	559 ± 179	-	535 ± 110	-
75mg/kg	467 ± 118	89	144 ± 54	69	493 ± 124	88	464 ± 135	87
200mg/kg	553 ± 193	106	123 ± 60	59	492 ± 152	88	474 ± 100	89
450mg/kg	471 ± 107	90	114 ± 58	55	417 ± 145	75	511 ± 223	96
雌								
0mg/kg	753 ± 226	-	275 ± 99	-	756 ± 304	-	849 ± 307	-
75mg/kg	770 ± 237	102	258 ± 119	94	700 ± 247	53	798 ± 240	94
150mg/kg	665 ± 202	88	229 ± 69	83	575 ± 166	76	645 ± 235	76
300mg/kg	719 ± 155	95	228 ± 171	83	/	/	/	/

表中の数値(平均値±標準偏差)

表中の%値；変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたもの。

ANOVA検定実施 (有意水準; p ≤ 0.05)

表3 移動運動能 - 90 分間セッション- (赤外線ビームを連続して2回遮断する回数)

用量	投与前	%	投与0日	%	投与後7日	%	投与後14日	%
雄								
0mg/kg	207 ± 63	-	70 ± 21	-	207 ± 74	-	204 ± 46	-
75mg/kg	184 ± 48	89	53 ± 23	76	186 ± 57	90	169 ± 61	83
200mg/kg	222 ± 68	107	40 ± 20	57	185 ± 61	89	170 ± 36	83
450mg/kg	198 ± 54	96	36 ± 9	51	157 ± 61	76	191 ± 85	94
雌								
0mg/kg	295 ± 113	-	77 ± 28	-	279 ± 120	-	303 ± 98	-
75mg/kg	298 ± 67	101	79 ± 24	103	271 ± 111	97	308 ± 109	102
150mg/kg	251 ± 78	85	63 ± 18	82	222 ± 57	80	242 ± 90	80
300mg/kg	267 ± 64	91	40 ± 19	52	/	/	/	/

表中の数値(平均値±標準偏差)

表中の%値；変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたもの。

ANOVA検定実施 (有意水準; p ≤ 0.05)

自発運動能、移動運動能ともに、セッション、インターバルでの評価において、対照群に比べ、いずれの検体投与群においても、統計学的な有意差は認められなかった。しかし、投与0日において雌雄ともに中用量、高用量において自発運動能及び移動運動能の低下がわずかにみられた。これらの低下は14日までに完全な回復がみられた。

雄では、投与 0 日において、高用量群の雄の自発運動能及び移動運動能が最初の 2 つのインターバルにおいて対照群より低下した。全体のセッションで見ると、自発運動能及び移動運動能はそれぞれ対照群に比較して 55% (表 2)、51% (表 3) と減少した。一方、雄の低用量群における活性のわずかな低値(対照群に対する割合; 自発運動能 69%, 移動運動能 76%)は、投与に起因したものとは考えられなかった。この様に結論した理由は以下の通りである。①他の検査(例えば、臨床所見及び死亡)では雌のほうが雄より本検体に感受性高いが、雌では、最低用量である 75mg/kg において、自発運動量に影響は認められなかった。②これらの雄の運動能は Fisher 344 を用いて最近実施した二試験の対照群の雄(以下の表参照)と同等であった。③これらの雄の自発運動能は、投与前を含む他の測定時においても対照群より低かった(対照群の 87-89%)。

また、中間用量及び最高用量において生存した雄では、14 日後には当該対照群及び個々の投与前の値とほぼ同等であったことから、自発運動能は投与後 14 日以内に完全に回復したものと考えられた。

本試験における対照群及び低用量群の雄の運動能 (赤外線ビームを遮断する回数)

用量	運動能	移動運動能
0mg/kg	209	70
75mg/kg	144	53

既存試験における雄の対照群の運動能 (赤外線ビームを遮断する回数)

他試験	運動能	移動運動能
①(1994 年報告)	176	61
②(1994 年報告)	137	49

一方雌では、投与日においてセッション自発運動能、移動運動能は平均で、それぞれ中用量群は対照群の 83%及び 82%と減少し、最高用量群ではそれぞれ対照群の 83%及び 52%と減少した。このように、高用量群では、自発運動能より移動運動能のほうにより大きな影響がみられた。一方、雌の低用量では自発運動能と移動運動能は全ての測定日において同等であった(すなわち、対照群の 94%から 103%)。尚、14 日に対照群に比べ、雌の中用量群で認められたセッション自発運動能及び移動運動能の多少の減少(20-24%)は、偶発的なものと考えられ、完全な回復性が認められたと判断した。この理由は①14 日目の両運動能は、この群の投与前と同等であったこと、②この 14 日目の低値は、対照群において投与前と比較して 14 日の活性が比較的高かったことを反映しているものと考えられた。

慣れについては、雌雄ともに検体の影響は認められなかった。

これらの結果から、自発運動能及び移動運動能の NOEL は雌雄ともに 75mg/kg であった。今回認められたような一時的な測定値の低下は、明らかな毒性徴候が認め

られた濃度でのみ認められ、また神経毒性を有さない物質でも起こりうることから、一般毒性に起因したもので、神経毒性に起因したものではないものと考えられた。

剖検；最終生存例において剖検を実施した。雌の最高用量群については、投与後3日以内に死亡したため、剖検を行わなかった。

雌雄共に検体投与に起因する肉眼的所見は認められなかった。

脳重量；最終生存例について、脳重量及び最終体重を測定し、対体重比を計算した。

雌雄共に、脳重量及び最終体重に検体の影響は認められなかった。

尚、雄の低用量群（75mg/kg）において脳実重量においてのみ統計学的に有意な増加（108%、Anova+Dunnetts test, $p \leq 0.05$ ）が認められた。しかし、200 および 450mg/kg 群の雄の脳実重量は、対照雄とほぼ同程度であったことから、雄の低用量群（75mg/kg）においてのみみられた脳実重量の統計学的に有意な増加は偶発的な変化と考えた。

病理組織学的検査；生存例について、病理組織学的検査を行った。実施した臓器及び組織は脳（8カ所）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、馬尾、後根神経節、ガッセル神経節、眼球、視神経、腓腹筋、末梢神経組織であった。尚、高用量群の雄及び中用量の雌について検体に関連した病理学的異常所見が認められなかったため、低用量群については雌雄ともに病理組織学的検査は実施しなかった。

いずれの投与群においても検体に関連した所見は認められなかった。

本試験条件下では、歩行失調、活動性の低下、尿による生殖器周囲の被毛のよごれなどが雄では200mg/kg以上で、雌では75mg/kg以上認められた。追加試験において雌の50mg/kg群では臨床症状に何ら以上は認められなかった。運動能の測定において、運動能の低下が雄では200mg/kg以上、雌では150mg/kg以上で認められた。

以上のことから、検体の本試験における総合的なNOELは、雄では75mg/kg、雌では50mg/kgと判断した。

病理組織学的検査において、神経組織、筋肉、眼に異常所見は認められず、また認められた運動能の低下や臨床症状は一時的であり、特に神経毒性を有さない物質でも認められることから、本剤は神経毒性を有さないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利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) 急性遅発性神経毒性

急性遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-10)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての急性遅発性神経毒性試験成績は、「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「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) の⑧のイ」の試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本急性遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

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。

(6)90 日間反復経口投与毒性

ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料No.原体-11)

試験機関：

報告書作成年： 1995 年

検体の純度：

試験動物：Fisher 344(CDF[F-344]/BR)ラット雌雄各群 15 匹

試験開始時； 雌雄約 8 週齢(平均体重；雄 189g, 雌 127g)

投与期間：90 日間(1990 年 9 月 3 日～1990 年 12 月 5 日)

投与方法：

検体をアセトン/コーン油に溶解後、0、100、400、1600 及び 3000ppm の用量になるように飼料中に混合し 90 日間投与した。尚、対照群(0ppm)の餌は検体を含まない以外は全て投与群の飼料と同様に調製した。

投与用量設定の根拠；

観察・検査項目及び結果：

1. 一般症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも1日2回（週末と祝祭日は1回）観察した。個々の動物の詳細な観察として、例えば体表、天然孔、姿勢、一般行動、呼吸及び排泄物などについて、毎週1回実施した。

その結果、1600ppm及び3000ppm群の雌雄では食べこぼしの頻度[頻度(投与用量昇順)；雄-0, 0, 0, 3, 3；雌-1, 0, 0, 10, 11]が散発的に増加した。その他、本検体投与によると考えられる異常所見は認められなかった。

死亡率については雌雄共に投与群と対照群との間に差は認められなかった。

2. 体重

各動物の体重を、初回投与前に測定し、その後は週1回測定した。加えて計画した剖検の直前にも体重を記録し、臓器対体重比の計算に用いた。

その結果、週毎の平均体重の総平均について検体投与群と対照群で比較したところ、1600ppm群の雌では6%、3000ppm群の雄では5%、雌では8%の低値を示した。1600ppm以下の雄群、400ppm以下の雌群では検体投与の影響は認められなかった。体重増加状況を図1、図2に示す。

申請者注

週毎の平均体重において、雄では1600ppm群で試験12週目に、3000ppm群で試験9週目以降に対照群に比べ低値を示し統計学的に有意であった。一方、雌では1600ppm群で試験5週目以降に、3000ppm群で試験3週目以降に(4週目を除く)対照群に比べ低値を示し、統計学的に有意であった。また、下記の表(表1)に示すとおり試験12週までの増体重は、雌雄ともに1600ppm以上で顕著な抑制が認められた。これらのことから、申請者は、雄の1600ppmで見られた増体重抑制も検体の影響と考え、雌雄共に1600ppm以上の群で検体に起因した増体重抑制が認められたものと考えた。

表1. 体重増加量(g)

投与用量 (ppm)	雄			雌		
	0日目(g)	12週(g)	増体重(g)	0日目(g)	12週(g)	増体重(g)
0	186.6	293.3	106.7	127.6	167.4	39.8
100	184.4	295.4	111.0	125.1	161.9	36.8
400	188.8	294.5	105.7	126.2	159.4	33.2
1600	190.3	↓272.8	82.5	126.8	↓147.7	20.9
3000	193.9	↓256.1	62.2	128.3	↓136.3	8.0

↓ : p<0.05 (Anova + Dunnetts test)

図1 体重 雄

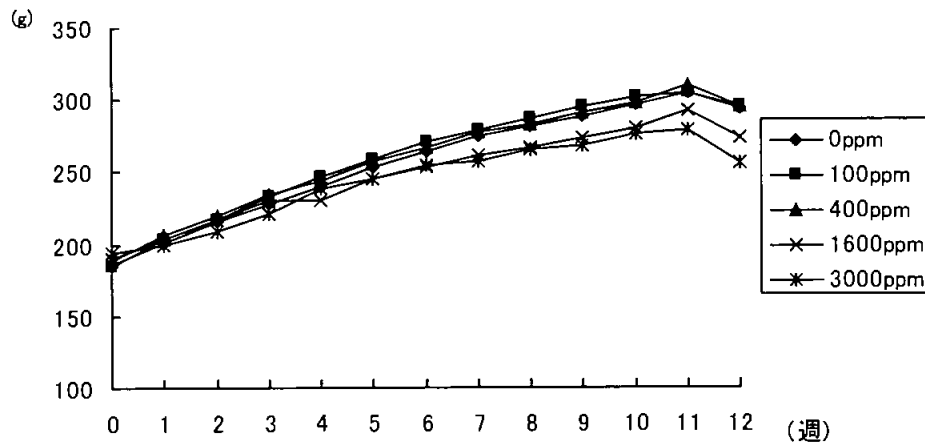
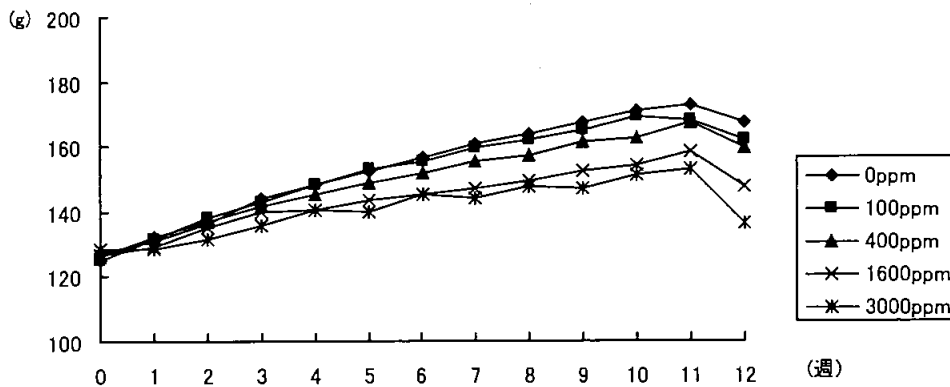


図2 体重 雌



3. 摂餌量及び検体摂取量

摂餌量を個体毎に週1回測定した。検体摂取量を表2に示した。

その結果、100及び400ppm群の雌雄では摂餌量に影響は認められなかった。1600ppm以上の雌雄群では摂餌量(体重kg当り)に統計学的に有意な増加が散発的に認められ、摂餌効率の低下が示唆されたが、これらの変化は、これらの群での食べこぼしの量が多かった要因も加味された変化と考えられた。

表2 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)		100	400	1600	3000
検体摂取量	雄	6.0	24.3	109.1	191.2
	雌	7.2	28.8	127.2	224.5

4. 眼科学的検査

試験開始前は全例について、また試験終了時の屠殺前に生存例について半暗室内で眼科学的検査を実施した。眼底は集光レンズを用い、倒像検眼鏡にて検査した。

瞳孔反射試験ではペンライトあるいは透光器を用いて行い、結膜、角膜、眼房水及び水晶体についてはスリットランプ検眼鏡を用い検査した。更に、散瞳剤を各々の眼に点眼し瞳孔を散大させた後、水晶体、硝子体液および視神経円板について検眼鏡を用いて検査した。

検体の投与に関連した眼科学的異常所見は認められなかった。

5. 臨床検査

試験 84 日目に一晚絶食させた動物の後眼窩静脈叢から採取した血液を用いた。

5-1. 血液学的検査

血液学的検査用の血液サンプルは、抗凝固剤 EDTA ニナトリウムで処理し、以下の項目について測定又は算定した。

白血球数, 赤血球数, ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値(HCT), 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), 平均赤血球容積(MCV), 血小板数, 白血球分画, 赤血球形態, 網状赤血球数, ハイנטツ小体

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表 3 に示す。

表 3 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌			
	100ppm	400ppm	1600ppm	3000ppm	100ppm	400ppm	1600ppm	3000ppm
白血球		↑ 114	↑ 124	↑ 125				
赤血球		↓ 97	↓ 92	↓ 88		↓ 96	↓ 89	↓ 85
Hb	↓ 97 ^k	↓ 96 ^k	↓ 93 ^k	↓ 90 ^k		↓ 97	↓ 90	↓ 86
HCT		↓ 96	↓ 94	↓ 93			↓ 91	↓ 88
MCV			↑ 102	↑ 105		↑ 101	↑ 102	↑ 103
MCH	↓ 98			↑ 102				
MCHC	↓ 98		↓ 98	↓ 98	↓ 99 ^k		↓ 98 ^k	↓ 98 ^k
血小板数			↑ 112	↑ 114				↑ 113
単球				↑ 3%				
網状赤血球			↑ 2.4%	↑ 2.8%			↑ 3.0%	↑ 2.7%

↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett, two-sided, ^k; Bartlett, Kruskal-Wallis+Mann Whitney-U)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの

網状赤血球は実測値を記載; 対照群雄 1.4%, 雌 1.7%

単球は実測値を記載; 対照群雄 1%

表に示されているように、赤血球系では、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビンの低下が認められた。統計学的に有意差がみられたのは、赤血球では 400ppm 以上の雌雄群、ヘマトクリットでは雄は 400ppm 群以上、雌では 1600ppm 以上の群、ヘモグ

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。

ロビンにおいては、雄では 100ppm 以上の群、雌では 400ppm 以上の群であった。しかし、雄の 100ppm でみられたヘモグロビンの統計学的に有意な低下は、背景データ範囲内にあり、有意な変化とは考えられなかった*。(申請者による追記)。一方、網状赤血球の統計学的に有意な増加が 1600ppm 以上の群雌雄で認められた。これらは検体投与に関連した変化と考えられた。尚、赤血球恒数に統計学的に有意な変動がみられたが、その変動は軽微であり、いずれも背景データ範囲内*にあったことから、検体投与に関連したものとは考えられなかった(申請者による追記)。ハイツ小体は対照群及び投与群共に認められなかった。

白血球数は、400ppm 以上の雄群で統計学的に有意な増加が認められた。しかし、動物は感染症を示唆する一般状態の変化を一切示さず、血清中の好中球及びリンパ球は試験したいずれの用量でも変化が認められなかったので、この白血球数の増加については毒性学的な意味合いは低いものと考えられた。雌においては対照群に比べ統計学的に有意な差は認められなかった。

凝固系として、血小板の統計学的に有意な増加が 3000ppm 群雌雄でみられた。尚雄の 1600ppm 群でも統計学的に有意な増加が認められたが、この群の個体データが全て背景データ範囲内*にあることから、検体投与に起因したものとは考えなかった。

以上、赤血球系に認められた変化は動物の貧血状態を示唆するものと考えられた。後述するように、脾臓において重量増加及び褐色の顆粒状色素(ヘモジデリン)の蓄積を特徴とする変化が認められていることから、これらは検体が赤血球の産生に直接影響した結果というよりはむしろ検体により損傷を受けた赤血球の破壊が亢進した結果として現れた溶血性貧血と考えられた。また、1600ppm 群以上では雌雄ともに網状赤血球の増加が確認され骨髄の造血機能の亢進を伴っていた。慢性毒性/発がん性併合試験(毒性資料 No. 原体-18)において、メトヘモグロビンの増加が認められていることから、メトヘモグロビン血症による貧血の可能性のあるものと考えられた。また、血小板数の増加は、赤血球が損傷した後に鉄欠乏ないしは慢性的な血液損失による貧血に伴ってみられることが多いこと**から、雌雄最高用量でみられた血小板の増加は、貧血状態を説明する上で関連しているものとも考えられた。

申請者による追記

5-2. 血液生化学的検査

血液学的検査で採取した血液を用いた。これらの血液サンプルは、抗凝固処理は行わなかった。以下の項目について測定した。

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), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT), クレアチンキナーゼ(CK), 乳酸脱水素酵素(LDH), γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ(GGT), アルブミン(Alb), グロブリン(Glob), 総ビリルビン(t-Bil), コレステロール(Chol), クレアチニン(Crea), 総蛋白(Prot), トリグリセリド(Trig), グルコース(Gluc), 尿素窒素(BUN), 尿酸(Uric-A), 塩素(CL), カルシウム(Ca), リン(P), カリウム(K), ナトリウム(Na), トリヨードチロニン(T3), チロキシン(T4)

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表4に示す。

表4 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

項目/投与量	雄				雌			
	100ppm	400ppm	1600ppm	3000ppm	100ppm	400ppm	1600ppm	3000ppm
ASAT		↓ 83	↓ 81	↓ 76				
ALAT		↓ 82	↓ 78	↓ 84			↓ 82 ^s	↓ 84 ^s
GGT (U/L)		↑ 200 (2)	↑ 300 (3)				↑ 200 (4)	↑ 250 (5)
ALP		↓ 90	↓ 91	↓ 83	↓ 84	↓ 84	↓ 84	↓ 89
t-Bil (mg/dL)	↑ 200(0.2)	↑ 100(0.1)	↑ 200(0.2)		↑/(0.2)	↑/(0.1)	↑/(0.2)	
Prot			↑ 108	↑ 114			↑ 104	
Alb			↑ 106	↑ 106	↓ 94	↓ 94		
Glob			↑ 110	↑ 118			↑ 111	↑ 111
Trig		↓ 84 ^s	↓ 31 ^s	↓ 31 ^s	↑ 150	↑ 172	↑ 125	↑ 125
Chol			↑ 120	↑ 167	↑ 113	↑ 118	↑ 143	↑ 163
Gluc				↓ 81		↓ 89	↓ 87	↓ 82
BUN					↓ 86	↓ 90	↓ 90	↓ 90
Uric-A		↑ 117 ^s (0.7)	↑ 133 ^s (0.8)	↑ 150 ^s (0.9)		↑ 133 (1.2)		↑ 133 (1.2)
Na		↓ 98	↓ 97	↓ 99				
K					↑ 108	↑ 110	↑ 112	↑ 115
CL		↓ 98	↓ 98	↓ 98		↓ 98	↓ 98	↓ 98
P	↑ 107		↑ 107	↑ 114				
Ca		↓ 97	↓ 97					
T4	↓ 86	↓ 67	↓ 56	↓ 38		↓ 82	↓ 67	↓ 82
T3		↓ 75	↓ 67	↓ 67				↑ 122

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの、

()は実測値、

対照群値

[雄 GGT:1U/L, t-Bil:0.1mg/dL, Uric-A:0.6mg/dL, 雌 GGT:2U/L, t-Bil:0.0mg/dL, Uric-A:0.9mg/dL]

↑ ↓ : p<0.05 ANOVA+Dunnett

ただし、雄;Uric-A, Trig, LD / 雌;CK, ALT は、Bartlett 検定により不等分散のため、以下の方法により統計処理を実施した。

↑ ↓ : p<0.05 (^sANOVA+Dunnett and Kruskal-Wallis+Mann Whitney-U , ^s;Kruskal-Wallis+Mann Whitney-U)

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。

雌の全投与群で対照群に比べ、カリウムの統計学的に有意な増加が認められた。しかし、全ての群の値は背景データの範囲内であった(5.63±1.29(2SD) mmol/L)。また、高カリウム血症は組織の壊死、タンパク異化作用の亢進、腎臓障害、酸血症およびインスリン欠乏と関連していることが多いとされているが、今回の試験では、カリウムの増加を何らかの限定した標的部位に帰する証拠は得られなかった。これらのことから、雌の全群でみられたカリウムの有意な増加の毒性学的に重要な所見とは考えられず、検体投与による変化とも考えられなかった。

リンの統計学的に有意な増加が雄において400ppmを除いた投与群で認められた^{*後述の申請者注参照}。雌では統計学的に有意な差は認められなかった。

グルコースの減少が雄の3000ppm群、雌の400ppm以上の群で統計学的有意差を伴って認められた^{**後述の申請者注参照}。しかしこの現象は、慢性毒性/発がん性併合試験(毒性資料No. 原体-18)では再現されなかった。

尿酸の濃度の統計学的な増加が1600ppm群の雌を除き、400ppm以上の雌雄で認められた。しかし、尿酸についても、慢性毒性/発がん性併合試験(毒性資料No. 原体-18)では再現されなかった。

コレステロールの統計学的に有意な増加が雄では1600ppm以上の群で、雌では全投与群で認められた。尚、雌の100ppm群及び400ppm群での値は背景データ範囲内(44.43-124.79mg/dL)にあり、投与との関連性はないものと考えられた。

トリグリセリドの統計学的に有意な減少が400ppm以上の雄群で認められた。一方、雌では全投与群で統計学的に有意な増加が認められた。この雌での変化は用量に関連した増加ではないことから、投与との関連性はないものと考えられた。

総蛋白、グロブリン及びアルブミン濃度が雄の1600ppm以上の群でわずかに増加し、統計学的に有意であった。1600ppm群の総蛋白及びグロブリン値及び1600ppm以上の群のアルブミン値の増加は背景データ範囲内(総蛋白;6.10-8.81g/dL, アルブミン;2.19-6.01g/dL, グロブリン;1.97-4.73g/dL)であったことから、検体に関連した変化とは考えられなかった。一方雌では総蛋白は1600ppm群でのみ統計学的に有意な増加、アルブミンは400ppm以下の群で統計学的に有意な低下、グロブリンは1600ppm以上の群で有意な増加がみられた。雌でのこれらの影響は背景データ範囲内(総蛋白;6.07-8.22g/dL, アルブミン;2.00-6.32g/dL, グロブリン;1.49-4.48g/dL)であり、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

肝臓障害時逸脱酵素にみられた統計学的有意差を伴った低下は、毒性学的に意味のある所見とは考えられず、検体投与の影響とは考えられなかった。

雄では、T4については全投与群で統計学的に有意な低下^{*後述の申請者注参照}がみられた。T3については400ppm以上の群で統計学的に有意な低下がみられた。雌ではT4については400ppm以上の群で統計学的に有意な低下がみられたが、明らかな用量依存性はみられ

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

なかった^{*後述の申請者注参照}。T3 については 3000ppm 群で統計学的に有意な増加がみられた^{*後述の申請者注参照}。これらの変化は病理組織学的には甲状腺の変化を伴っていなかった。

その他統計学的に有意差の認められた項目は、用量に関連した変化が認められず、検体投与との関連性はないものと考えられた。

*[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。

統計学的に有意な増加が、そして雄の 1600ppm 以上、雌の 3000ppm で対体重比の統計学的に有意な増加が認められた。尚、甲状腺でも雄の 3000ppm で実重量の統計学的に有意な増加が、そして雄の 1600ppm 以上、雌の 3000ppm で対体重比の統計学的に有意な増加が認められたが、関連する病理組織学的変化を伴っていなかった。

その他の臓器において 1600ppm 以上で認められた統計学的に有意な変化は、低体重によるものと考えられた。また、雄の 400ppm 以下で腎、100ppm で心の対体重比に統計学的有意な変化が認められたが、実重量の変化を伴わず、また用量に依存した変化がみられなかったことから検体投与の影響とは考えられなかった。

表 5 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		100	400	1600	3000	100	400	1600	3000
体重				↓92	↓87			↓90	↓84
脳	実重量			↓96	↓95			↓96	↓96
	対体重比				↑109				↑115
副腎	対体重比				↑120				↑119
心	実重量							↓92	↓89
	対体重比	↑104		↑107	↑110				
腎	実重量			↓89	↓85			↓89	↓83
	対体重比	↓97	↓96	↓96					
肝	実重量			↑117	↑120			↑118	↑116
	対体重比		↑108	↑127	↑139			↑131	↑139
肺	対体重比				↑116				↑120
脾	実重量				↑118				
	対体重比			↑112	↑135				↑114
精巣	対体重比			↑107	↑114	/	/	/	/
卵巣	実重量	/	/	/	/				↓79
甲状腺	実重量				↑116				
	対体重比			↑117	↑133				↑128
胸腺	実重量			↓84	↓74			↓86	↓80

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Dunnett)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

8. 病理組織学的検査

以下の臓器について 10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定した。尚、個体識別標、眼窩外涙腺及び陰核腺/包皮腺を除き、常法通りにパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオシン (H&E) で染色した。病変の更に厳密な特徴把握が必要な場合には、電子顕微鏡による検査を実施した。

副腎、大動脈、骨(大腿骨、肋骨/肋軟骨接合部、胸骨)、骨髓、脳(大脳、小脳、橋/延髄)、陰核腺、精巣上部、食道、眼、眼窩外涙腺、関節(大腿骨/脛骨)、ハーダー氏腺、心臓、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、盲腸、結腸、直腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リン

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。

パ節(頸部, 腸間膜), 乳腺, 視神経, 卵巣, 膵臓, 脳下垂体, 包皮腺, 前立腺, 唾液腺, 坐骨神経, 精のう, 筋肉, 皮膚, 頭蓋骨, 脊髄(頸部, 胸部及び腰部), 脾臓, 胃, 精巣, 胸腺, 甲状線, 上皮小体, 気管, 膀胱, 子宮, 膈, 外耳道腺, 個体識別部位, そして肉眼所見を有するすべての臓器・組織

本検体に起因したと考えられた所見は肝臓、脾臓及び腎臓で認められ、その病理組織学的所見を表6に示した。

肝臓では、400ppm以上の雌雄群において肝細胞肥大の発現頻度が上昇した。この病変は核及び細胞質の肥大を特徴とし、用量の増加に伴いより重症度が増した。3000ppm群動物の一部について電子顕微鏡で検査すると、肝細胞の肥大は滑面小胞体の顕著な増殖と関連していた。更に、雄の400ppm以上、雌の1600ppm以上で、単細胞壊死の頻度の増加がみられた。

腎臓では、雄では400ppm群以上で、雌では1600ppm群以上で、近位尿細管の軽度の損傷が高い頻度で観察された。雄では、この病変は尿細管細胞の細胞質における多様なサイズの硝子滴の沈着を特徴としていた。核はしばしば極くわずかに肥大し、少数の尿細管上皮細胞の変性が進行していた。また腎盂上皮の軽微ないし軽度の過形成も認められ、これらの動物は鉍質沈着を伴っていた。雌では、病変は近位尿細管上皮細胞における褐色色素の沈着を特徴とした。

脾臓では400ppm以上の雌雄群において、赤脾髄内への褐色顆粒状色素蓄積を示す頻度の増加がみられた。特殊な染色により、ヘモジデリンの沈着が示唆された。

表6 主要な病理組織学的所見

性	雄					雌				
	0	100	400	1600	3000	0	100	400	1600	3000
用量(ppm)	0	100	400	1600	3000	0	100	400	1600	3000
検査動物数	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
肝	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
肝細胞肥大	0	0	15*	15*	15*	0	0	15*	15*	15*
空胞化	15	12	15	9	0*	0	1	0	0	0
単細胞壊死	0	0	1	12*	15*	0	0	7*	13*	15*
腎臓	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
色素沈着(褐色)	0	0	0	0	0	0	0	0	12*	15*
硝子滴沈着	0	0	5*	15*	15*	0	0	1	0	0
鉍質沈着	0	0	2	11*	10*	0	2	2	4	3
腎盂上皮過形成	0	0	2	11*	10*	0	2	2	4	3
脾臓	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
色素沈着(ヘモジデリン)	0	1	13*	15*	15*	4	6	12*	15*	15*
髄外造血の増加	1	1	0	0	2	1	2	1	2	0

* : p<0.05 (Fisher 検定)

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。

以上、本試験における検体の影響として、3000ppm では雌雄群で血小板の増加が、雄群で蛋白及びグロブリンの増加、脾、甲状腺の実重量の増加が、雌群で脾、甲状腺の対体重比の増加、T3 の増加が認められた。1600ppm 以上の雌雄群で体重増加抑制、摂餌量の低下及び網状赤血球の増加、コレステロールの増加、肝実重量の増加がみられた。1600ppm 以上の雄群でT4 の減少、脾対体重比及び甲状腺対体重比の増加、鉍質沈着を伴う腎盂上皮の過形成、及び肝臓で単細胞壊死の発生率の増加を示す発生率の増加がみられた。1600ppm 以上の雌群で、ヘマトクリットの低下、肝体重比の増加、近位尿細管で色素沈着を示す例の増加がみられた。400ppm 以上の雌雄群で赤血球、ヘモグロビンの低下、尿酸の増加、肝細胞腫大の発生率の増加、脾臓の色素沈着(ヘモジデリン)の発生率の増加がみられた。400ppm 以上の雄群でヘマトクリット、トリグリセリド及びT3 の減少、肝体重比の増加、腎臓の近位尿細管で硝子体を示す発生頻度の増加がみられた。400ppm 以上の雌群で、肝に単細胞壊死の発生率の増加がみられた。

従って、本試験における無毒性量*は、雌雄共に 100ppm (雄: 6.0mg/kg 体重/日, 雌: 7.2mg/kg 体重/日) であると判断した。

*申請者注

イヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-12)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

試験動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹

供試時月齢；5～7 ヶ月齢*，供試時平均体重；雄 8.1kg，雌 7.3kg

*購入時が 4～6 ヶ月齢、馴化期間が 3 週間ということに基づいた。

投与期間： 13 週間(1990 年 9 月 10 日～1990 年 12 月 12 日)

投与方法：

検体を 0(対照群)、50、200、800、2400ppm となるように均質に飼料に混ぜ 13 週間投与した。飼料と混合する際に、飼料重量比 1%のコーンオイルを検体の媒体として用いた。毎日飼料を与え、自由に摂取させた。検体を添加した飼料は、1 週間に 1 回調製した。

投与用量設定の根拠；

試験項目及び結果：

1. 臨床症状

病的状態及び死亡に関する観察を週末及び休日を含め、少なくとも 1 日 1 回行い、結果を記録した。毒性による一般状態の変化について、詳細な検査を週 1 回行った。

検体に関連した症状は 2400ppm で認められ、それらは軟便及び削瘦であった。

2. 死亡率

13 週間の試験期間中、死亡は認められなかった。

3. 体重変化 (図 1, 図 2)

週に 1 回体重を測定した。

平均体重または体重増加量に関して、検体投与に関連したと考えられる影響は雌雄い

ずれの群においても認められなかった。

申請者注)

図1. 体重(雄)

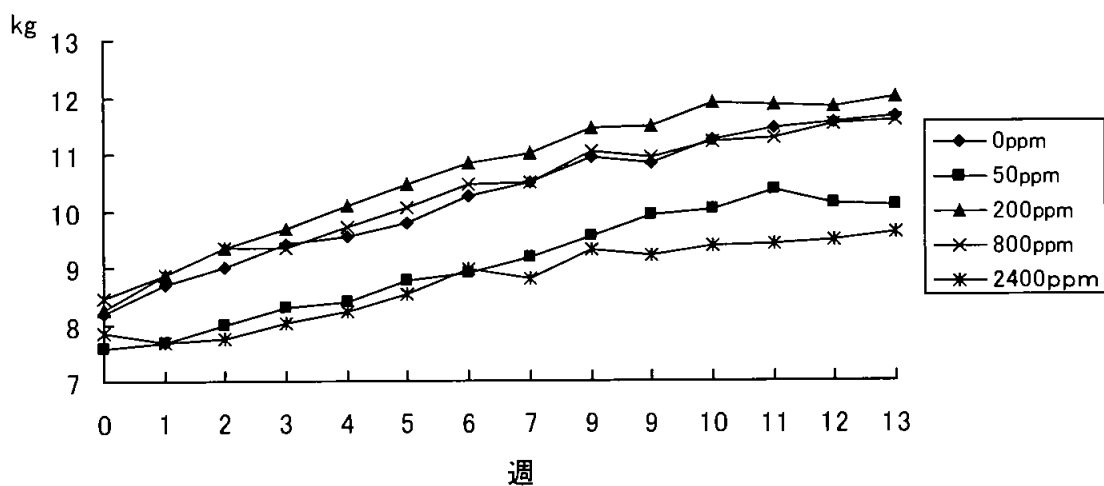
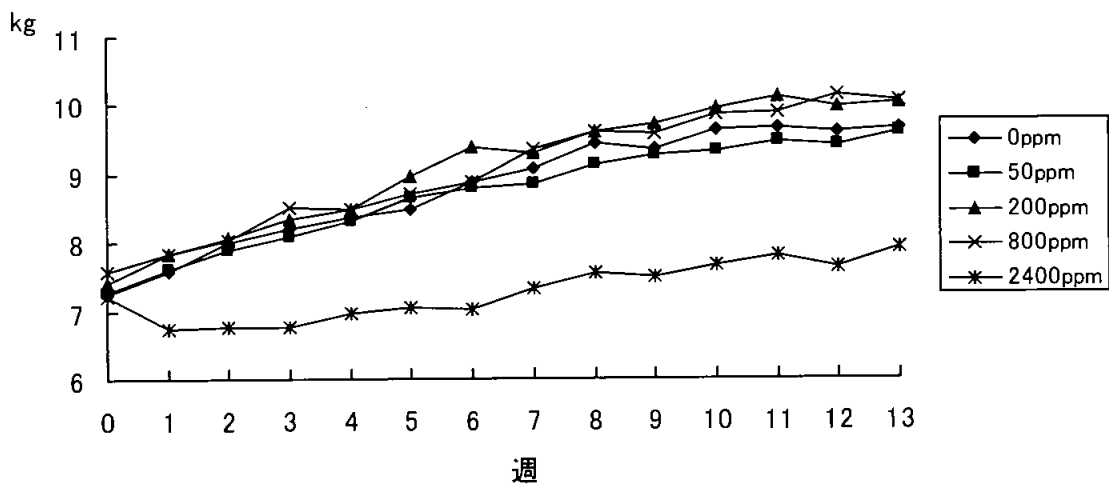


図2. 体重(雌)



4. 摂餌量及び検体摂取量 (表 1)

摂餌量については、個体別に毎日測定した。

摂餌量については全用量群とも対照群と同等であった。

投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)は以下のとおりであった。

表 1 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与用量 (ppm)		50	200	800	2400
検体摂取量	雄	1.67	7.20	27.21	96.91
	雌	1.70	6.90	28.00	93.23

5. 眼科学的検査

検体投与開始前及び試験終了時の剖検前に、全例について眼科学的検査を実施した。

検体に起因する所見は認められなかった。

6. 臨床検査

投与開始 1 週前(6 日前, 尿検査は 5 日前)、1 ヶ月後、2 ヶ月後及び 3 ヶ月後の試験終了の直前に、血液一般検査、血液生化学検査及び尿検査を実施した。尚、採血前に全動物を一晩絶食させた。

6-1. 血液一般検査

以下の項目について検査した。

白血球数, 赤血球数, ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値(HCT), 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), 血小板(THRO), 白血球百分率, 赤血球形態

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 2 に示す。

8 週目に 2400ppm 群の雌雄において、検体との関連性を示唆する赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCHC に統計学的に有意な減少がみられ、更に雌では MCV と MCH についても統計学的に有意な減少が見られた。しかしこれらの減少は、13 週に回復性がみられた。13 週目に 2400ppm 雌雄群における血小板数の増加は、検体の投与に関連して、軽度の再生性貧血が認められていたことを示しているものと考えられた(後頁に申請者注にて追記記載)。

その他の赤血球系の項目、白血球系の項目及び血液形態像については、統計学的な有意差がいくつか散見されたが生物学的に重要な変化とは考えられなかった。

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

表2 血液学的検査（有意差の認められた項目）

用量	50ppm				200ppm				800ppm				2400ppm				
	検査週	-1	4	8	13	-1	4	8	13	-1	4	8	13	-1	4	8	13
雄																	
白血球						↑125					↑143		↑134		↑164		↑157
赤血球								↑114			↑109	↑115					↓87
Hb								↑112									↓83
HCT																	↓86
MCH																	↓93
MCHC				↑103			↓99	↑101				↓98					↓96 ↓97
THRO								↓82									↑132
NucRBC*	↓0.0									↓0.0					↓0.0		
好酸球*		↓2					↓2				↓2				↓2		
AtyLymph*											↓0.3	↓1					↓0.5
雌																	
赤血球								↑114					↑116				↓86
Hb																	↓79
HCT																	↓82
MCV								↓94	↓93			↓94	↓92				↓96
MCH							↓94	↓93	↓93		↓94	↓92	↓91		↓93	↓91	↓93
MCHC												↓99		↓98	↓96	↓96	
THRO															↑140	↑159	
Retic*											↑1.1						
Band*																	↑2

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

*ただし以下の項目については実測データを記載

NucRBC(有核赤血球/白血球100個):雄対照群;

好酸球(%):雄対照群;

Atylymph(異型リンパ球(%)):雄対照群;

Retic(網状赤血球(%)):

Band(桿状核球(%)):

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。

*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。

表 - 雄 -

項目	ppm	0			50		200		800		2400		背景データ	
		平均	平均	&	平均	&	平均	&	平均	&	平均	2SD		
THRO (10 ³ /mm ³)	①	400	400	100	303	76	308	77	378	95				
	②	388	328	85	310	80	320	82	430	111				
	③	382	338	88	312	82	355	93	459	120				
	④	358	333	93	293	↓82	353	99	473	↑132				
RBC (10 ⁶ /mm ³)	①	5.58	5.83	104	6.00	108	6.15	110	5.78	104				
	②	6.05	5.93	98	6.38	105	6.50	107	5.38	89				
	③	6.18	6.43	104	6.77	110	6.76	↑109	5.36	↓87				
	④	6.13	6.58	107	7.00	↑114	7.03	↑115	6.28	102				
Hb (g/dL)	①	12.4	13.1	106	12.7	102	12.8	103	12.2	98				
	②	13.6	13.6	100	13.9	102	13.8	101	11.5	85				
	③	14.4	15.1	105	15.2	106	14.6	101	11.9	↓83				
	④	14.3	15.7	110	16.0	112	15.2	106	13.8	97				
HCT (%)	①	35.8	37.7	105	37.0	103	37.2	104	35.0	98				
	②	40.0	39.3	98	40.5	101	40.6	102	34.2	86				
	③	41.0	43.4	106	44.0	107	42.5	104	35.3	↓86				
	④	40.8	44.3	109	45.3	111	43.8	107	41.0	100				
MCV (μm ³)	④	66.6	67.4	101	64.9	97	62.5	94	65.5	98				
MCH (pg)	④	23.3	23.9	103	22.9	98	21.6	↓93	22.1	95				
MCHC (g/dL)	④	34.9	35.5	↑102	35.3	↑101	34.6	99	33.7	↓97				
骨髓 ^{#1} (頻度)		0	0	0	0	0	2							
脾臓 ^{#2} (頻度)		0	0	0	0	1	4*							

①試験開始6日前, ②試験31日, ③試験57日, ④試験87日

^{#1}:赤芽球系過形成を示した例数(4例中) ^{#2}:色素沈着(ヘモジデリン)を示した例数(4例中)

&:表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの,

↑↓: p<0.05 (ANOVA+Student-T), *: p<0.05 (Fisher 検定)

THRO; 血小板, RBC; 赤血球, Hb; ヘモグロビン, HCT; ヘマトクリット, RETI; 網状赤血球

- 雌 -

項目	ppm	0			50		200		800		2400		背景データ	
		平均	平均	&	平均	&	平均	&	平均	&	平均	&	平均	2SD
THRO (10 ³ /mm ³)	①	348	380	109	373	107	388	111	343	99				
	②	315	350	111	338	107	388	123	340	108				
	③	318	341	107	326	103	384	121	444	↑140				
	④	308	320	104	340	110	370	120	490	↑159				
RBC (10 ⁶ /mm ³)	①	5.85	6.23	106	6.03	103	6.28	107	6.28	107				
	②	6.25	6.75	108	6.43	103	6.65	106	6.05	97				
	③	6.84	7.00	102	6.76	99	7.23	106	5.87	↓86				
	④	6.45	7.03	109	7.35	↑114	7.48	↑116	6.00	93				
Hb (g/dL)	①	14.2	13.6	96	13.3	94	13.9	98	14.0	99				
	②	14.7	15.4	105	14.2	97	14.7	100	13.2	90				
	③	16.6	16.3	98	15.3	92	16.1	97	13.1	↓79				
	④	15.8	16.5	104	16.8	106	16.6	105	13.7	87				
HCT (%)	①	38.8	38.9	100	38.3	99	39.6	102	40.1	103				
	②	42.5	44.2	104	41.3	97	43.0	101	39.0	92				
	③	47.4	46.3	98	43.9	93	46.8	101	38.8	↓82				
	④	44.9	47.0	105	47.6	106	47.7	106	40.6	90				
MCV (μm ³)	④	69.5	66.9	96	64.7	↓93	63.8	↓92	67.7	97				
MCH (pg)	④	24.5	23.5	96	22.8	↓93	22.2	↓91	22.8	↓93				
MCHC (g/dL)	④	35.2	35.1	100	35.3	100	34.7	↓99	33.7	↓96				
骨髓 ^{#1} (頻度)		0	0	0	0	0	0	0	2					
脾臓 ^{#2} (頻度)		0	0	2	2	2	2	4*						

①試験開始 6 日前, ②試験 31 日, ③試験 57 日, ④試験 87 日

^{#1}: 赤芽球系過形成を示した例数 (4 例中), ^{#2}: 色素沈着 (ヘモジデリン) を示した例数 (4 例中)

&: 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの,

↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Student-T), * : p<0.05 (Fisher 検定)

THRO ; 血小板, RBC ; 赤血球, Hb ; ヘモグロビン, HCT ; ヘマトクリット, RETI : 網状赤血球

6-2. 血液生化学的検査 (表 3)

以下の項目について検査した。

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), γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT), 乳酸脱水素酵素 (LDH), クレアチンキナーゼ (CK), 血糖 (GLUC), コレステロール (CHOL), トリグリセリド (TRIGL), クレアチニン (CREA), 尿素窒素 (UN), 総ビリルビン (T-BIL), 総蛋白 (T-PROT), アルブミン (ALB), グロブリン, Na, K, Ca, CL, P 並びにトリヨードチロニン (T3), チロキシン (T4)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 3 に示す。

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

表 3 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

用量	50ppm				200ppm				800ppm				2400ppm			
検査週	-1	4	8	13	-1	4	8	13	-1	4	8	13	-1	4	8	13
雄																
K																↓ 85
CL					↑ 104				↑ 102	↑ 103			↑ 104	↑ 104		
UN													↑ 131			
GLUC							↓ 87		↓ 84	↓ 88	↓ 80		↓ 82	↓ 85	↓ 76	
CREA				↓ 89												↓ 89
CHOL		↓ 75														
LDH		↓ 78											↑ 168	↑ 252		
ASAT									↓ 74		↓ 78		↓ 82			
ALAT		↓ 52			↓ 37	↓ 58	↓ 54		↓ 22	↓ 37	↓ 36		↓ 25	↓ 26	↓ 24	
ALP													↑ 193	↑ 270	↑ 338	
T-BIL*			↓ 0.1	↓ 0.1			↓ 0.1	↓ 0.1						↓ 0.1	↓ 0.1	
ALB					↓ 91	↓ 94	↓ 94		↓ 91	↓ 90	↓ 88		↓ 81	↓ 84	↓ 81	
Ca		↓ 96											↓ 95	↓ 91	↓ 94	
T3									↓ 66		↓ 63		↓ 49	↓ 70	↓ 66	
T4	↑ 146			↓ 74	↑ 141	↓ 60		↓ 52	↑ 119	↓ 31	↓ 30	↓ 30	↑ 134	↓ 29	↓ 38	↓ 25
雌																
Na									↑ 101				↑ 102			
K												↑ 109	↓ 88	↓ 89		
UN					↓ 75							↑ 140			↑ 147	
GLUC		↑ 115			↑ 109		↓ 85				↓ 81		↓ 90	↓ 81	↓ 72	
CREA*					↓ 0.8		↓ 0.9	↓ 0.9					↓ 0.8	↓ 0.8	↓ 0.8	
CHOL																
CK															↓ 63	
LDH				↑ 167				↑ 177				↑ 154				↑ 284
ASAT									↓ 85				↓ 75	↓ 70		
ALAT					↓ 67	↓ 67	↓ 70	↓ 78	↓ 43	↓ 42	↓ 46		↓ 27	↓ 36	↓ 41	
ALP														↑ 187	↑ 301	
T-PROT								↑ 109								
ALB										↓ 94	↓ 91		↓ 88	↓ 84	↓ 79	
P		↑ 107			↑ 110				↑ 112				↑ 118			
Ca									↓ 97		↓ 96		↓ 92		↓ 91	
GLOB							↑ 108	↑ 124		↑ 108	↑ 112		↑ 117	↑ 115	↑ 128	
T3					↑ 148				↑ 133	↓ 77			↓ 35	↓ 61	↓ 59	
T4						↓ 73		↓ 68		↓ 47		↓ 47		↓ 32		↓ 29

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

ただし以下の項目については実測データを記載

T-BIL : 雄対照群 ;

CREA : 雌対照群 ;

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

雄では 2400ppm 群で、雌では 200ppm 以上の群で統計学的に有意にみられた LDH の上昇は、検体投与に関連した変化と考えられた。尚、雌の 50ppm において 13 週目に LDH について統計学的に有意な上昇がみられたが、1 例が高値を示した結果、平均値が上昇したためであり、またその個体の 13 週目の値は投与 1 週前の値よりも低値であった。これらのことから、雌の 50ppm 群における統計学的に有意な LDH の上昇は、検体投与に関連した変化とはみなさなかつた。

ALP の統計学的に有意な上昇が 2400ppm 群の雌雄群で認められ、検体の影響と考えられた。

アルブミンの統計学的に有意な低下が 200ppm 以上の雄群ならびに 800ppm 以上の雌群で認められたが、総蛋白に異常はみられないことから、検体の影響とは考えられなかつた。

血糖の有意な低下が 800ppm 以上の雄ならびに 200ppm 以上の雌群において認められた。尚、雄の 200ppm 群においても血糖の低下が認められたが、背景データ範囲内にあり、検体による影響ではないものと考えられた。

800ppm 以上の雌雄群における T₃ の減少*、200ppm 以上の雌雄群における T₄ の減少* は検体投与に関連している可能性が示唆されたが、これに関連するコレステロール及びトリグリセリドの上昇がなく、また粘液水腫が認められないことから、甲状腺に直接作用したと考えるよりは、肝クリアランスの増大などによる二次的な影響が示唆された。

200、800 および 2400ppm の雌雄において、血清チロキシン (T₄) の減少が認められた。800 および 2400ppm の雌雄におけるトリヨードチロニン (T₃) の減少も検体の投与と関連している可能性が高い。

その他に認められた統計学的に有意差は、用量反応関係がなかつたり、投与前の値と同等であつたり、背景データ範囲内であつたりしたことから、検体投与との関連性はないものと考えられた。

*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。

表 4-1 T4 値 (µg/dL)-雄-

90 日間反復経口							
ppm	平均	*	幅 min-max				
- 6 日							
0	2.07	/	1.43-2.38				
50	3.02	↑	2.39-3.35				
200	2.92	↑	2.62-3.15				
800	2.47	-	2.05-2.91				
2400	2.77	↑	2.16-3.05				
4 週							
0	3.05	/	2.73-3.22				
50	2.49	-	1.72-3.20				
200	1.83	↓	1.47-2.27				
800	0.95	↓	0.62-1.66				
2400	0.87	↓	0.66-1.03				
8 週							
0	2.42	/	1.88-2.89				
50	2.37	-	2.12-2.60				
200	1.60	-	0.59-2.17				
800	0.72	↓	0.26-1.02				
2400	0.93	↓	0.74-1.35				
13 週							
0	3.25	/	3.16-3.39				
50	2.40	↓	1.91-3.03				
200	1.70	↓	1.36-2.22				
800	0.99	↓	0.82-1.12				
2400	0.81	↓	0.57-1.07				

-- 背景データなし, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

太字: 検体の影響

HCD 1993 = 背景データ (イヌにおける慢性毒性試験に収載), HCD 2006 = 背景データ (2006 年まで)

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 4-2 T4 値(μg/dL)-雌-

90 日間反復経口							
ppm	平均	*	幅 min-max				
- 6 日							
0	2.22	/	1.29-2.81				
50	2.22	-	1.20-2.82				
200	3.13	-	2.00-4.43				
800	2.30	-	1.88-2.66				
2400	2.97	-	2.65-3.37				
4 週							
0	2.62	/	1.94-3.11				
50	2.07	-	1.35-3.21				
200	1.90	↓	1.36-2.25				
800	1.23	↓	0.82-1.46				
2400	0.84	↓	0.68-1.13				
8 週							
0	2.11	/	1.57-2.51				
50	1.45	-	0.54-2.12				
200	1.41	-	1.23-1.53				
800	1.81	-	1.40-2.30				
2400	1.43	-	1.00-2.54				
13 週							
0	2.39	/	1.72-2.77				
50	2.25	-	1.64-2.71				
200	1.62	↓	1.38-1.78				
800	1.13	↓	0.70-1.44				
2400	0.69	↓	0.23-1.01				

— 背景データなし, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)
 太字: 検体の影響

表 5-1 T3 値 (ng/dL) - 雄 -

90 日間反復経口							
ppm	平均	*	幅 min-max				
- 6 日							
0	0.58	/	0.52-0.65				
50	0.67	-	0.47-0.96				
200	0.71	-	0.61-0.83				
800	0.59	-	0.53-0.68				
2400	0.66	-	0.59-0.79				
4 週							
0	0.77	/	0.64-0.94				
50	0.71	-	0.52-0.92				
200	0.66	-	0.57-0.81				
800	0.51	↓	0.39-0.73				
2400	0.38	↓	0.32-0.43				
8 週							
0	0.63	/	0.48-0.75				
50	0.67	-	0.53-0.88				
200	0.66	-	0.60-0.75				
800	0.50	-	0.43-0.60				
2400	0.44	↓	0.34-0.56				
13 週							
0	0.79	/	0.55-0.96				
50	0.69	-	0.55-0.97				
200	0.65	-	0.54-0.71				
800	0.50	↓	0.45-0.53				
2400	0.52	↓	0.43-0.58				

-- 背景データなし, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

太字: 検体の影響

HCD 1993 = 背景データ

表 5-2 T3 値(ng/dL)-雌-

90 日間							
ppm	平均	*	幅 min-max				
- 6 日							
0	0.54	/	0.44-0.64				
50	0.61	-	0.53-0.72				
200	0.80	↑	0.62-0.94				
800	0.72	↑	0.60-0.80				
2400	0.65	-	0.53-0.79				
4 週							
0	0.69	/	0.64-0.73				
50	0.70	-	0.55-0.80				
200	0.67	-	0.55-0.75				
800	0.53	↓	0.43-0.59				
2400	0.24	↓	0.19-0.29				
8 週							
0	0.59	/	0.49-0.72				
50	0.69	-	0.60-0.83				
200	0.69	-	0.52-0.77				
800	0.57	-	0.45-0.75				
2400	0.36	↓	0.22-0.46				
13 週							
0	0.68	/	0.41-0.84				
50	0.67	-	0.58-0.73				
200	0.67	-	0.60-0.80				
800	0.55	-	0.45-0.64				
2400	0.40	↓	0.26-0.56				

-- 背景データなし, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

太字: 検体の影響

HCD 1993 = 背景データ

6-3. 尿検査(表 4)

以下の項目について検査した。

尿の透明性, 色調, 比重, pH*, 蛋白*, 糖*, ケトン体*, ビリルビン(Bil)*, 潜血*,
ウロビリノーゲン(Uro)*, 尿沈渣 *;尿試験紙により検査

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6 尿検査 (有意差の認められた項目)

用量	50ppm				200ppm				800ppm				2400ppm			
検査週	-1	4	8	13	-1	4	8	13	-1	4	8	13	-1	4	8	13
雄																
pH		↓8.0								↓7.5				↓6.0		
Bil	↑1															
比重	↑102			↓97	↑102		↑101	↓98				↓98				↓98
蛋白			↓0								↓0					↓0
潜血							↑0.4									
Uro			↓0.1				↓0.1				↓0.1					↓0.1
雌																
pH			↓7.1						↓6.4	↓8.0						↓7.8
比重				↑101						↓98						↓98

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

ただし以下の項目については実測データを記載

pH:

Bil:

蛋白:

潜血:

Uro:

その結果、用量に関連した変化が認められず、従って検体の影響は認められなかった。

7. 剖検

試験終了時に、全動物について剖検を行った。

その結果、本検体に関連したと考えられる異常所見は認められなかった。

8. 臓器重量

全例について、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、甲状腺、副腎、脳、下垂体の重量を測定し、対体重比を算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 7 に示す。

表 7 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別 用量 (ppm)	雄				雌			
	50	200	800	2400	50	200	800	2400
最終体重				↓82				(82)
腎 対体重比				↑130		↑112		↑160
肝 実重量				↑137			↑135	↑128
対体重比				↑166			↑163	↑197

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

() は統計学的に有意差なし

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

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。

2400ppm 群の雌雄及び 800ppm 群の雌において、肝臓の実重量及び対体重比に統計学的に有意な増加が認められた。また、2400ppm 群の雄ならびに 200ppm 及び 2400ppm 群の雌において、腎臓の対体重比に統計学的に有意な増加がみられた。200ppm 群で認められた雌の腎臓での増加は、800ppm 群で統計学的に有意な増加がみられず、病理組織学的所見を伴っていないことから偶発的な変化と考えられた。

8. 病理組織学的検査

全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製した。

副腎、大動脈、骨(大腿骨、肋骨/肋軟骨接合部、胸骨)、骨髄、脳(大脳-中脳、小脳、橋/延髄)、精巣上部、食道、眼、胆のう、大腿脛骨関節、心臓、内耳、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、盲腸、結腸、直腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(咽頭後、腸間膜)、乳腺、鼻咽頭、鼻部、神経(視神経、坐骨神経)、卵巣、膵臓、脳下垂体、前立腺、唾液腺、筋肉、皮膚、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状線、上皮小体、気管、膀胱、子宮、個体識別部位、そして肉眼所見を有するすべての臓器・組織

ブアン固定液に浸漬した眼球、視神経、精巣、卵巣、精巣上部を除き、その他の臓器については 10%緩衝ホルマリン液に浸漬した。染色はヘマトキシリン及びエオジン(H&E)を用いた。

検体投与によると考えられた病理所見を表 8 に示した。

2400ppm 群において雌雄各 2 匹で骨髄過形成が明らかとなり、全例で脾臓にヘモジデリン沈着の増加が認められた。更に 800ppm 群の雌雄及び 200ppm の雌でも脾臓にヘモジデリン沈着を示す例の増加がみられた。

800 及び 2400ppm 群の雄ならびに 2400ppm 群の雌において、腎乳頭の表面に配列する上皮細胞の過形成がみられた。800 及び 2400ppm 群の雌において、集合管の上皮細胞に軽微ないし軽度の細胞質空胞化が認められた。

肝臓では、2400ppm の雌雄において微まん性の肝細胞肥大がみられ、同群雌では色素沈着が認められた。雌雄共に 800ppm 以下にみられた肝細胞肥大は以下の理由により検体投与との関連性はないものと考えられた。1)雄では 800ppm 以下で平均の程度が 2.0 以下であり、雄の対照群の示した程度(2.0)と変わるものではなかった。2)雌については対照群では肝細胞肥大が認められなかったことから、対照群および投与群間の程度の比較は不可能であるものの、200ppm と 800ppm ではその程度に用量に関連した変化がみられず、また 800ppm で認められた平均程度は 1.5 であり、雄の対照群の示した程度(2.0)より軽度であり、200ppm での平均の程度も雄の対照群と同じ 2.0 であった。

脳では 2400ppm 群のすべての雌雄において、空胞が大脳皮質の主の一部の脳回の皮質毛帯にみられたが、解剖学上特定の領域に存在するものではなかった。鏡検では、これらの空胞は神経網に存在し、いずれの神経細胞とも明確な関係はなかった。一部の空胞は神経細胞の内部または近くに存在し、空胞の周囲の核が歪んでいるように見えた。しかし、ミクログリア細胞の浸潤はなかった。空胞は水腫様にみえたが、ホルマリン固定

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。

ではそれを確認することはできなかった。電子顕微鏡 (EM) を用いた観察により、ミエリン様膜及び空胞が存在することが確認されたが、壊死や細胞内小器官の形態変化を起こした形跡はなかった。

甲状腺では 2400ppm の雌 2 例において、ろ胞細胞が対照群と比べてより立方形を呈し、どちらかといえば大きなろ胞を伴っていた。その変化は軽微といえる程度のものであったが、血液生化学検査における甲状腺ホルモンの変動の減少と関連している可能性があるものと考えられた。

その他にみられた変化は検体の影響とは考えられなかった。

表 8 明らかな病理組織学的所見

性別 用量 (ppm)	雄					雌				
	0	50	200	800	2400	0	50	200	800	2400
試験動物数	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
骨髄 過形成	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
脾 色素沈着 (ヘモジデリン)	0	0	0	1	4*	0	0	2	2	4*
(程度)	-	-	-	1.0	1.0	-	-	1.0	1.0	1.5
腎 乳頭上皮細胞過形成	0	1	0	2	4*	1	0	3	1	3
(程度)	-	1.0	-	1.5	2.3	1.0	-	1.0	1.0	2.0
腎 集合管細胞質空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4*
(程度)	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0	1.3
肝 肝細胞肥大	1	2	1	2	4*	0	0	3	2	3
(程度)	2.0	1.5	2.0	2.0	3.0	-	-	2.0	1.5	3.0
肝 色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4*
脳 大脳皮質の空胞化	0	0	0	0	4*	0	0	0	0	4*
甲状腺 ろ胞細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

* : $p < 0.05$ (χ^2 検定, Fisher's Exact Test)

程度の判断基準: 1 ; 軽微, 2 ; 軽度, 3 ; 中等度, 4 ; 顕著 (程度 3 から明らかな細胞の傷害を伴う。)

以上の結果から、本剤の影響としてみられた所見として、2400ppm の雌雄群では、低体重がみられ、軽度の貧血とそれに対する骨髄反応が赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCHC の減少、血小板の増加などにより確認された。また同群雌雄でアルカリホスファターゼの増加、T3、T4 の低下、腎臓の対体重比の増加、骨髄過形成、大脳皮質の空胞化、中等度のびまん性の肝細胞肥大がみられた。またこれらに加え、雄では 2400ppm 群で、乳酸脱水素酵素の上昇、肝臓の実重量及び対体重比の増加がみられ、一方同群雌では、腎臓上皮細胞過形成、肝に色素沈着、更に軽微な甲状腺ろ胞細胞の肥大がみられ、甲状腺ホルモンの変動と関連していることが示唆された。

800ppm 群以上の雄では、血糖の低下、脾臓にヘモジデリン沈着及び腎乳頭上皮細胞過形成がみられた。また 800ppm 群以上の雌では肝臓の実重量及び対体重比の増加及び腎集合管の細胞質の空胞化がみられた。

200ppm 群以上の雌では乳酸脱水素酵素の上昇、血糖の低下、脾臓にヘモジデリン沈着が認められた。

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。

これらのことから、本試験における無毒性量は雄では 200ppm (7.20mg/kg 体重/日)、雌では 50ppm (1.70mg/kg 体重/日) であると判断した。