

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

2-1) ラット 24 ヶ月間慢性毒性試験にともなう臓器中のイプロベンホスの分析

(資料A-21)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体の純度：

試験動物：SD ラット、各材料採取時に1群雌雄 5~6 匹

試験期間：104 週間 投与量：0, 1, 10, 100 ppm

投与方法：ラット 24 ヶ月間慢性毒性試験の途中解剖例から材料採取。投与方法の詳細は資料 A-20 を参照のこと。

試験方法：

各濃度群について 13、26、52 週後の解剖時に各群雌雄 5~6 匹より分析用試料として体脂肪、肝臓、腎臓、筋肉および血液を採取し、定法にて抽出後ガスクロマトグラフィーにてイプロベンホス量を測定した。

各臓器の検出限界を以下に示す。

試料	試料重量(g)	最終液量(ml)	注入量(μl)	検出限界(ppm)
体脂肪	6	1	6	0.004
肝臓	10	1	6	0.002
腎臓	1	1	6	0.02
筋肉	2	1	6	0.01
血液	4	1	6	0.005

試験結果：

腎臓、筋肉および血液では全濃度群、全投与時期とも検出限界以下であった。体脂肪および肝臓においても 1 および 10 ppm 群では検出限界以下であった。

組 織	濃度(ppm)	平均組織中濃度(ppm)					
		1 3 週		2 6 週		5 2 週	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
体脂肪	100	0.011	0.026	0.005 <sup>a</sup>	<0.004	0.005 <sup>a</sup>	0.026 <sup>a</sup>
	1000	0.160	0.648	0.135	0.108	0.067	0.066
肝臓	100	0.002 <sup>a</sup>	0.004 <sup>a</sup>	<0.002	<0.002	0.004 <sup>a</sup>	0.044 <sup>a</sup>
	1000	0.022	0.544	0.015	0.108	0.024	0.051

<sup>a</sup>：検出限界以下の分析結果を含む

考察：

イプロベンホスの臓器親和性は体脂肪>肝>筋肉>腎臓、血液の順になるが、10 ppm 群ではすべて検出限界以下であること、100 ppm 群でも体脂肪、肝臓の数例を除けばすべて検出限界以下であること、また、連続曝露による経時的影響はみられず、臓器蓄積性はないものと考えられた。

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

3) イヌを用いた 52 週間経口投与による慢性毒性試験

(資料 A-22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1998 年

検体の純度:

試験動物: ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、約 6 ヶ月齢

投与開始時体重範囲: 雄 7.5~9.8 kg、雌 7.0~8.8 kg

試験期間: 52 週間 (1996 年 6 月 19 日~1997 年 6 月 19 日)

投与方法: 検体をコーン油に溶解しゼラチンカプセルに充填して、毎日 1 回、52 週間経口投与した。投与量はイヌ 4 週間投与による予備毒性試験 (資料 A-22-1) の結果を参考にした。すなわち、検体の 0.05, 0.1, 1, 10 mg/kg/day を 1 群雌雄各 2 匹に 4 週間投与した結果、1 および 10 mg/kg/day 群で血漿コリンエステラーゼ活性が各 20 および 50%減少した。よって、52 週間本試験では、确实中毒量として 10 mg/kg/day を最高用量とし、以下公比 10 で 1 および 0.1 mg/kg/day とした。対照群には検体投与群と同容量のコーン油をゼラチンカプセルに充填して投与した。

試験項目および結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

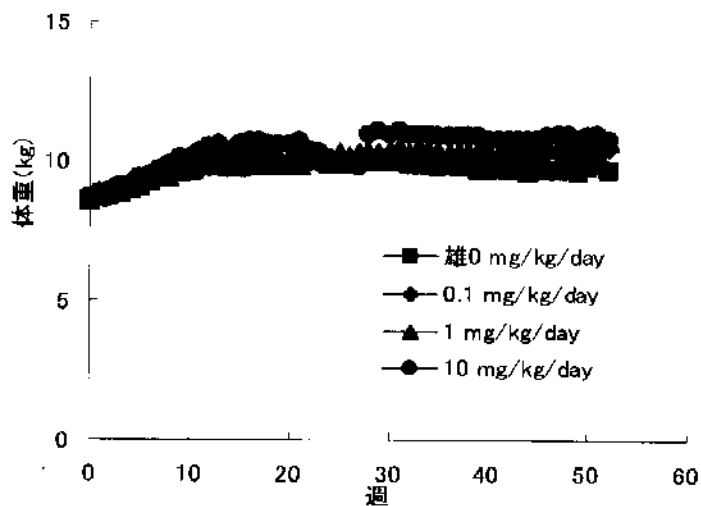
投与期間中に死亡した動物はなかったが、投与 28 週に瀕死状態に陥った 10 mg/kg/day 群の雄 1 匹を切迫屠殺した。検体投与によると考えられる症状は認められなかった。

体重変化; 毎週 1 回全動物の体重を測定した。

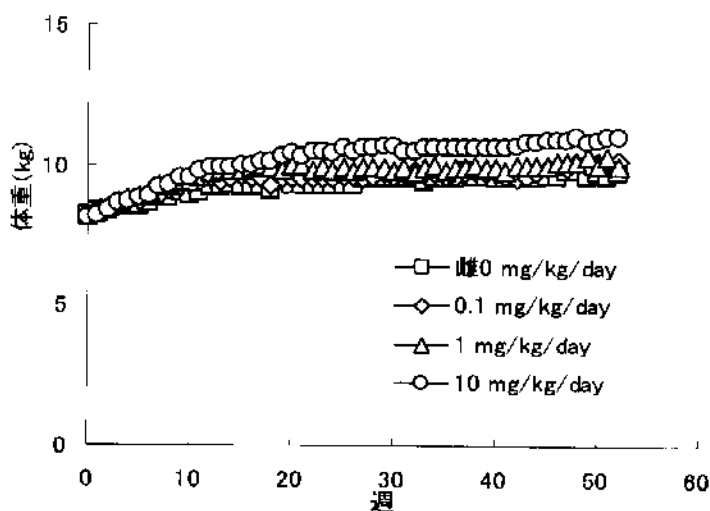
いずれの投与群にも検体投与による体重推移の変化は認められなかった。

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

### 体重変化 (雄)



### 体重変化 (雌)



摂餌量；1日1匹あたり250gを与え、残量から摂餌量を求めた。また水道水を自由摂取させた。  
いずれの投与群にも検体投与による摂餌量の変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前1週と投与開始後26および52週時に全動物の両眼の検眼鏡による検査を行った。  
いずれの投与群にも検体投与による変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前1週と投与開始後26および52週時に全例の橈側皮静脈から採血し、抗凝固剤EDTAを加えた血液を用いて以下の検査を行った。なお、採血時には前夜から絶食させた。

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

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、白血球数、白血球百分率、血小板数、網赤血球率

検体投与に起因するか、または毒性学的に重要と考えられる変化は認められなかった。

血液生化学検査：上記の血液学的検査時に採血し、抗凝固剤を使用せずに得られた血清を用いて以下の検査を行った。

総蛋白、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩素、総コレステロール、ALP 活性、総ビリルビン、総胆汁酸、GPT 活性、GOT 活性、 $\gamma$ -GTP 活性、LDH 活性、糖

全ての血液生化学検査において、検体投与に起因するか、または毒性学的に重要と考えられる変化は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性検査：投与開始前、投与開始後 1, 2, 3, 4, 13, 26, 39 および 52 週に血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性測定を実施し、さらに剖検時に脳コリンエステラーゼ活性測定をした。以下に対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目およびその対照群の数値を 100 としたときの値を示す。

コリンエステラーゼ活性検査							
項目	週	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)			投与量 (mg/kg/day)		
		0.1	1	10	0.1	1	10
血漿	1			↓48		▽87	↓49
	2			↓48		▽85	↓51
	3		▽72	▼47		▽84	↓51
	4		▽71	↓47		▽82	↓47
	13		▽70	↓47		▼77	↓46
	26		▽70	↓41		▽82	↓50
	39		▽72	▼47		▼75	▼52
	52		▼65	▼41		▽73	↓46

△▽：p<0.05 ▲▼：p<0.01 ↑↓：p<0.001 (StudentまたはAspin-Welch t-test)

雌雄とも 1 mg/kg/day 以上の群で血漿コリンエステラーゼ活性が、投与早期より有意に減少した。赤血球および脳コリンエステラーゼ活性には変化がみられなかった。

尿検査：投与開始前 1 週、投与開始後 26 および 52 週時に全動物から 24 時間尿を採取し以下の検査を行った。

色、外観、尿量、pH、比重、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血および尿沈渣

すべての尿検査項目において、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

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

剖検及び臓器重量；投与終了後、動物を麻酔下で放血致死させ、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、脾臓、精巣または卵巣、甲状腺  
検体投与と関連した肉眼的変化および臓器重量変化はいずれの投与群にも認められなかった。

病理組織学的検査；剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、10%緩衝ホルマリン液で固定（眼球は Davidson 液で固定）後、パラフィン切片を作成し、HE染色した後鏡検した。

副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、大動脈、脳、眼球、骨および骨髄、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓、肺（気管支を含む）、リンパ節（頸部および腸間膜）、乳腺、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、顎下腺、耳下腺、坐骨神経、骨格筋（下腿三頭筋）、皮膚、脊髄、脾臓、精巣および精巣上体、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、舌、気管、膀胱、陰および子宮

観察された病理組織学的所見およびその発現数を次頁に示した。

投与 28 週に切迫屠殺した 10 mg/kg/day 群の雄 1 匹では、結節性動脈周囲炎あるいは動脈炎が心臓、脾臓、肝臓等に観察され、これら多発性動脈炎による循環障害が瀕死状態に陥った原因と考えられた。これは自然発生的にまれにみられる病変であり、同群の他の動物には同様の病変がみられなかったことより、検体投与とは関連がないものと考えられた。その他計画屠殺動物の検体投与群にみられた所見は、いずれも自然発生的所見で単発あるいは散発的に発生したもので、検体投与に関連する病理組織変化とは認められなかった。

以上の結果から、本検体の 52 週間経口投与によるイヌの慢性毒性として、雌雄 1 mg/kg/day 以上の群で血漿コリンエステラーゼ活性が減少したが、対照群と比較した活性減少率は 1 mg/kg/day 群で 13 から 35%、10 mg/kg/day 群のそれは 48 から 59%であった。試験期間中の赤血球および屠殺時の脳コリンエステラーゼ活性には変化がみられなく、その他病理検査を含む各種検査項目にも異常は認められなかった。生体に悪影響を及ぼす恐れがあると考えられる血漿コリンエステラーゼ活性減少率は、20%程度と考えられていることから、10 mg/kg/day 群、1 mg/kg/day 群それぞれの血漿コリンエステラーゼ活性の減少率を根拠に、本試験における無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day、無影響量は 0.1 mg/kg/day と判断された。

（申請者註；現在では、血漿もしくは血清コリンエステラーゼの活性は薬物暴露の指標にはなるが、毒性影響の評価には適切ではないとの見解が一般的であることから、本試験の無毒性量は、雌雄ともに 10 mg/kg/day と考えられる）

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

病理組織学的検査										
臓器/組織	所見	性 投与量 (mg/kg/day)	雄				雌			
			対照	0.1	1	10	対照	0.1	1	10
顎下腺	リンパ球浸潤		0	0	2	1	2	3	2	2
下垂体	嚢胞		1	2	0	1	3	2	2	1
甲状腺	嚢胞		0	0	0	1	0	0	0	0
頸部リンパ節	細胞浸潤		0	0	0	1	0	0	1	0
肺	異物反応		0	0	0	2	1	0	0	0
腎	リンパ球浸潤		0	0	1	1	0	2	0	0
	管腔拡張		0	1	0	1	1	0	0	0
	線維化		0	0	0	1	0	0	0	0
	鉍質沈着		4	4	4	2	4	4	4	4
	硝子円柱		2	1	1	0	3	1	2	2
	空胞変性		0	0	0	0	3	3	3	2
副腎	空胞変性		3	4	3	2	2	2	3	2
肝	小肉芽腫		2	3	3	2	1	2	3	2
胆嚢	嚢胞性拡張		0	1	0	0	0	0	0	1
	細胞浸潤		0	0	0	0	0	0	0	1
子宮	内腔拡張		-	-	-	-	0	0	0	1
	内膜細胞増生		-	-	-	-	0	0	0	1
卵巣	嚢胞		-	-	-	-	0	0	0	1
脊髄	鉍質沈着		3	3	4	3	3	1	3	1

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

(12) 繁殖毒性および催奇形性

1) ラットにおける次世代繁殖性試験および催奇形性試験

(資料A-23)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体の純度：

試験動物：Wistar系ラット（6週齢）、1群雌雄各48匹

投与期間：F0世代；投与開始からF1b児離乳時までの26週間  
F1世代；離乳時からF2b児離乳時までの26週間

投与方法：オリーブ油中に溶解した検体を5および300ppmの濃度で粉末飼料に含有させ自由に摂取させた。検体混入飼料は毎週調製した。  
検体の投与量は残留農薬研究所で実施したラット繁殖性予備試験の結果を参考にした。すなわち、10、100および1000ppmで実施した結果、10ppm以上の群で雄親動物に薬物忌避にともなう体重増加と飼料摂取量の抑制がみられた。追加で実施した5ppm群では薬物忌避はみられなかった。1000ppm群では親動物の血中コリンエステラーゼ活性の低下と、児動物の体重増加抑制がみられた。よって、本試験の高薬量は親動物への毒性作用が期待できる300ppmとし、低薬量は無作用量を期待できる5ppmとした。

方法および試験項目：

- 一般状態；全動物の一般状態を観察した。  
交配の確認；交配は雌雄1対1で同居させ、翌日膈栓の存在により確認した。  
繁殖性の指標；下記の指標を算出した。  
交尾率(%) = (交尾動物数/同居動物数) × 100 (雌)  
受胎率(%) = (妊娠動物数/交尾動物数) × 100  
妊娠期間 = 交尾成立から出産まで (雌)  
出産率(%) = (生児出産雌数/妊娠雌数) × 100  
生後3日までの生存率(%) =  
(生後3日(児数調整前)の生児数/生後0日の生児数) × 100

病理および臨床化学検査；F0およびF1世代の親動物は第二産児離乳時に屠殺し、臓器重量測定を含む病理学的検査および血液学、生化学的検査を行った。コリンエステラーゼ活性は、血球および血漿について測定した。

催奇形性試験；F0およびF1の母動物の一部を、F1bおよびF2b出産直前(妊娠20日)に屠殺し、帝王切開にて胎児を摘出した。胎児の半数を骨格検査、残りの半数を内臓標本として奇形の有無を観察し、催奇形性について検討した。

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

方法および検査項目の概要を以下にまとめた。

世代	期間	作業手順	試験項目	
F0	成育 (8週)		体重、摂餌量 (週1回)	
	交配 (2週)	交配：雌雄1対1 交尾確認：膣栓またはメ アで確認 (妊娠0日)	交尾状況確認	
	妊娠 (3週)		体重、摂餌量	
	出産		出産状況の観察：生存および 死亡児数、児性別、児体重	
	哺育 (3週)	児数調整：生後3日に同腹 児数を雌雄各4匹に調整	母動物：体重、摂餌量 児動物：体重	
	離乳		児動物：剖検	
	休養 (2週) 交配 (2週) 妊娠 (3週) 帝王切開	催奇形性試験用に1群9~10 匹の母動物割当	母動物：子宮内検査 胎児：催奇形検査	
F1	出産 哺育 (3週) 離乳	継代選抜：各腹より少 なくとも雌雄1匹、計 各群雌雄各48匹選抜	親動物 (F0 雌雄)：剖検、臓 器重量、病理、臨床化学検査 余剰児動物：剖検	
	成育 (8週) 交配 (2週) 妊娠 (3週) 出産 哺育 (3週) 離乳 休養 (2週) 交配 (2週) 妊娠 (3週) 帝王切開	] (F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)	
	出産 哺育 (3週) 離乳		(F0 世代に準ずる)	
	休養 (2週) 交配 (2週) 妊娠 (3週) 帝王切開		(F0 世代に準ずる)	
	F2	出産 哺育 (3週) 離乳		親動物 (F1 雌雄)：剖検、臓 器重量、病理、臨床化学検査 全児動物：剖検



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

試験結果：

世 代	親 : F0			親 : F1		
	0	5	300	0	5	300
投与群(ppm)						
動物数 雄	48	48	48	48	48	48
雌	48	48	48	48	48	48
一般状態						
体 重						
摂餌量						
飲水量						
交配前検査 雄	0	6.2	358.8	0	7.8	460.8
体総摂取量 雌 (mg/匹)	0	4.3	255.9	0	5.3	315.0
交尾率 a (%)	87.5	87.2	85.0	87.2	77.5	68.3
b	97.3	96.9	86.1	100	▼76.5	▽80.0
受胎率 a (%)	100	94.1	94.1	97.1	90.3	92.9
b	97.2	93.5	96.8	94.3	93.2	100
出産率 a (%)	100	100	100	100	100	100
b	92.3	100	100	95.7	100	88.2
妊娠期間 a (日)	21.5	21.5	21.5	21.5	21.4	21.7
b	21.3	21.4	21.5	21.4	21.4	21.5
血液学的検査						
生化学的検査						
コリンエステラーゼ検査 血漿 雄		▽87	↓72			
雌			↓30			↓52
(コントロール %) 血球 雄			▼83			
雌			↓69			↓66
肉眼的病理検査						
臓器重量						
病理組織検査						

空覧は異常なし。

△▽ : p<0.05 ▲▼ : p<0.01 ↑↓ : p<0.001 (交尾率 : X<sup>2</sup> test、コリンエステラーゼ検査 : Student's t test)

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

世 代		児 : F1			児 : F2		
投与量 (ppm)		0	5	300	0	5	300
母動物数	a	37	33	36	35	34	30
	b	24	20	24	22	19	15
平均産児数	a	11.8	11.4	12.0	12.7	12.7	13.6
	b	13.5	13.5	13.4	14.3	14.6	13.3
児数調整前の性比 (雄/雌)	a	1.116	0.909	1.118	1.060	1.062	1.030
	b	0.912	0.753	1.038	1.072	1.115	0.793
3日目死亡率(%)	a	4.9	15.2	15.3	15.7	19.3	6.2
	b	2.9	0.8	2.3	5.5	10.2	1.5
出産1日目 体重(g)	a 雄	6.0	6.4	5.9	6.1	5.9	▽5.5
		5.5	5.9	5.5	5.7	5.5	5.1
	b 雄	5.8	5.6	5.9	5.6	5.9	5.7
		5.4	5.2	5.5	5.3	5.6	5.5
出産3日目 体重(g)	a 雄	8.0	8.6	8.0	8.1	7.3	▼6.9
		7.5	7.9	7.2	7.5	7.1	6.8
	b 雄	7.4	7.3	7.8	7.1	7.7	7.7
		6.9	7.0	7.2	6.5	△7.2	7.1
離乳時 体重(g)	a 雄	51.4	52.7	48.9	50.5	50.4	48.4
		48.2	48.5	45.2	46.9	48.2	46.0
	b 雄	44.0	45.4	45.3	47.4	47.0	45.1
		42.3	43.0	42.7	44.2	44.8	42.8
肉眼的病理所見							
催 奇	腹 数	9	10	10	10	8	9
	平均着床数	15.7	15.2	15.9	17.3	15.8	17.7
	平均生児数	14.8	13.8	14.5	14.7	13.6	15.7
	平均吸収率(%)	5.7	9.2	8.8	14.5	12.6	10.9
	平均体重(g) 雄	3.69	3.80	△3.93	3.85	3.75	3.90
雌	3.45	3.59	△3.65	3.58	3.49	3.63	
形 性	外表 標本数	133	138	145	147	109	141
	検 査 (例数)				無尾、鎖 肛(1)		
	内 臓 標本数	65	74	75	89	56	96
	検 査 (例数)			水腎症 (1)			水腎症 (1)
	骨 格 標本数	68	64	70	58	53	72
検 査 (例数) 変異	腰肋骨 (2)	頸肋骨 (1) 腰肋骨 (1)	頸肋骨 (1)				
奇形				胸骨癒着 (1)	頸椎異常 (1)		

空覧は異常なし、△▽ : p<0.05 ▲▼ : p<0.01 (X<sup>2</sup> test)

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

F0 および F1 世代を通して検体の 0, 5 および 300ppm を投与した結果、親動物については、検体投与に起因する中毒症状や体重増加抑制はみられなかった。コリンエステラーゼ活性検査の結果、300ppm 投与群で血漿、血球とも減少がみられた。F1 世代では各投薬群の交尾率が僅かに低下していたが、交尾しなかった雌動物はいずれも比較的体重の重い個体であり、生殖器には異常がなかったことより、検体投与に起因するよりも肥満が交尾率に影響をあたえたものと考えられた。受胎率、出産率については全投薬群とも対照群との差は認められなかった。児動物については、F2a のみ僅かに出産時および哺育初期に対照群と比較して体重減少がみられたが、離乳時には対照群と同等であったこと、また F2b では差がなかったことより、検体投与によるものとは考えられなかった。催奇形性検査の結果、子宮中の発育および生存率はすべての投薬群で異常はなかった。また、投与に起因すると思われる胎児奇形および変異はなかった。

以上の結果から、検体の 2 世代にわたる飼料混入投与によるラット繁殖性試験において、親動物の全身性毒性に対する無毒性量は 5 ppm (F0 世代 雄 : 6.2 mg/kg/day 雌 : 4.3 mg/kg/day、F1 世代 雄 : 7.8 mg/kg/day 雌 : 5.3 mg/kg/day)、繁殖能および催奇形性に対する無毒性量は 300 ppm と判断された。

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

2) ラットを用いた次世代繁殖性試験

(資料A-24)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体の純度:

試験動物: Sprague-Dawley 系ラット、1 群雌雄各 25 匹、投与開始時 6 週齢、体重雄 166~198 g、雌 133~157 g

投与期間: F0 世代; 交配前 10 週間、雄は交配期間終了、雌は F1 離乳時まで。  
F1 世代; 離乳から交配前 10 週間、雄は交配期間終了、雌は F2 離乳時まで。

投与方法: 検体を 15, 150 および 1500 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。検体混入飼料 2 週間ごとに調製した。

検体の投与量は (財) 食品農医薬品安全性評価センターで実施したラット繁殖性予備試験の結果を参考にした。すなわち、1000 および 2000 ppm 群の雄親動物、2000 ppm 群の雌親動物で体重増加抑制と摂餌量の低下、出生児については 2000 ppm 群で哺乳期間の体重増加抑制がみられた。よって、本試験の最高薬量は親動物への毒性作用が期待できる 1500 ppm とし、以下公比 10 で 150, 15 ppm とした。

方法および試験項目:

一般状態および死亡率; 全動物の一般状態および生死を観察した。

交配の確認; 交配は雌雄 1 対 1 で同居させ、翌日膣栓または膣スミア中精子の存在により確認した。

繁殖性の指標: 下記の指標を算出した。

交尾率 (%) = (交尾動物数 / 同居動物数) × 100 (雌雄)

受胎率 (%) = (妊娠動物数 / 交尾動物数) × 100 (雌雄)

妊娠期間 = 交尾成立から出産まで (雌)

出産率 (%) = (生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

生後 0 日の生存率 (%) = (生後 0 日の生児数 / 生後 0 日の出生児総数) × 100

生後 4 日の生存率 (%) =

(生後 4 日 (児数調整前) の生児数 / 生後 0 日の生児数) × 100

生後 4 ~ 21 日の生存率 (%) =

(生後 21 日 (児数調整後) の生児数 / 生後 4 日 (児数調整後) の生児数) × 100

病理学的検査; 全動物の剖検を実施した。F0 および F1 親動物は精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、下垂体、肝、脾および肉眼的病変部について、病理組織学的検査を対照群と最高薬量群について実施した。また、F1 雄動物は全用量群各 10 例につき肝臓検査を実施した。

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

精子検査：F0 および F1 雄親動物の剖検時に、各群 10 例について左側精巣上体から精子を採取し、精子活力、精子形態、精子数、精子運動性について検査した。

方法および検査項目の概要を以下にまとめた。

世代	期 間	作 業 手 順	試 験 項 目
F0	成育 (10 週)		体重, 摂餌量 (週 1 回)
	交配 (3 週)	交配: 雌雄 1 対 1 交尾確認: 膣栓またはスマアで確認 (妊娠 0 日)	交尾状況確認
	妊娠 (3 週)		親動物 (F0 雄): 剖検、 病理組織学的検査、精子検査 体重: 妊娠 0, 7, 14, 21 日 摂餌量: 妊娠 0-7, 7-14, 14-21 日の各期間
	出産		出産状況の観察: 生存および死亡児数、児性別、児体重 母動物:
	哺育 (3 週)	児数調整: 生後 4 日に同腹児数を雌雄各 4 匹に調整	体重; 授乳第 0, 7, 14, 21, 22(解剖日)日 摂餌量; 授乳第 0-7, 7-14, 14-21 日の各期間 児動物: 体重; 授乳第 0, 4, 7, 14, 21 日
F1	離乳	継代選抜: 各腹より少なくとも雌雄 1 匹選抜	親動物 (F0 雌): 剖検、 病理組織学的検査 余剰児動物: 剖検 (児数調整時、継代選抜時)
	成育 (10 週) 交配 (3 週) 妊娠 (3 週)	] (F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
	出産		(F0 世代に準ずる)
	哺育 (3 週)		(F0 世代に準ずる)
	F2	離乳	

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

世 代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量(ppm)		0	15	150	1500	0	15	150	1500	
動物数	雄	25	25	25	25	25	24	22	25	
	雌	25	25	25	25	25	24	22	25	
動物	一般状態									
	死亡率									
	体重変化	雄				抑制(全期間)				抑制(全期間)
		雌				抑制(全期間)				抑制(全期間)
	摂餌量	雄				減少(全期間)				減少(全期間)
		雌				減少(全期間)				減少(全期間)
	検体採取量 (mg/kg/日)	雄	0	1.10	10.2	101	0	1.50	15.1	154
		雌	0	1.20	11.5	112	0	1.60	16.0	167
	交尾率 (%)	雄	100	100	100	100	100	96	100	100
		雌	100	100	100	100	100	100	100	100
	受胎率 (%)	雄	100	96	96	100	96	91	73	92
		雌	100	96	96	100	96	91	73	92
	出産率 (%)		100	100	100	100	100	100	100	96
	出産動物数		25	24	24	25	24	21	16	22
	妊娠期間 (日)		22.1	22.2	22.1	22.1	22.4	22.2	22.3	▼22.0
	精子検査									
	肝重量(絶対)	雄								
		雌								▲113%
	肝重量(対体重比)	雄				▲116%				▲119%
		雌				▲112%				▲124%
門脈静脈硬化		雄				0/10	0/10	0/10	10/10	
肝 腺 維 化	雄					0/10	0/10	0/10	10/10	
	雌									
理 空 胞 変 性	雄					0/10	0/10	0/10	9/10	
	雌									
見 明 細 胞 変 異 集 数	雄					0/10	0/10	0/10	5/10	
	雌									
細胞肥大	雄					0/10	0/10	0/10	2/10	
	雌									
児	出産同胞児数	13.3	12.5	12.1	12.2	12.2	10.9	13.0	12.0	
	性比(雄%)	49	50	52	55	43	48	50	56	
	生 授乳0日	雄	100	99.7	100	100	99.7	99.6	99.5	100
		雌	97.9	93.2	95.9	96.2	90.5	87.1	82.6	98.4
	存 授乳4日	雄	97.8	▽86.8	92.9	97.1	90.8	81.9	86.3	△97.5
		雌	97.7	91.0	93.5	100.0	100.0	90.0	100.0	92.0
	率 (見数調整前) (%) 授乳4-21日	雄	99.0	91.7	91.3	100.0	91.2	87.5	100.0	98.9
		雌	99.0	91.7	91.3	100.0	91.2	87.5	100.0	98.9
	授乳0日	雄	6.6	6.6	6.7	6.6	6.9	6.7	▼6	▽6.5
		雌	6.3	6.3	6.4	6.2	6.5	6.2	▼5.7	6.2
授乳4日	雄	9.5	9.4	9.6	9.5	9.2	9.2	8.8	8.9	
	雌	9.0	9.0	9.2	9.1	8.6	8.9	8.4	8.6	
重 授乳7日	雄	14.8	14.6	14.7	14	14.1	13.3	13.0	13.0	
	雌	14.2	13.9	14.1	13.4	13.0	12.6	12.4	12.5	
(g) 授乳14日	雄	30.1	29.9	30.3	▼25.1	29.0	29.0	27.9	▼23.2	
	雌	29.2	28.9	29.2	▼24.3	27.1	27.4	26.7	▼22.2	
授乳21日	雄	50.4	49.8	50.1	▼38.3	47.7	47.5	46.2	▼36.1	
	雌	48.3	47.2	47.8	▼36.8	44.8	44.4	44.2	▼34.7	
陰茎包皮開裂	雄				▽					
膣開口	雌				▼					
剖検所見										

△▽p<0.05 ▲▼p<0.01  
空欄 : 投与による影響なし

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

まず Bartlett の等分散検定を実施し、等分散の場合一元配置分析を実施。分散が有意の場合 Dunnett の多重比較検定を実施。Bartlett の等分散検定で不等分散の場合、Kruskal-Wallis の順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnett の多重比較検定を実施した。出産率、交尾率、受胎率、性比、生後発育検査値はカイ二乗検定を実施した。出生率、児生存率、精子検査値は Mann-Whitney の U 検定を実施した。

試験結果：概要を前頁の表に示した。

親動物に対する毒性は、両世代における 1500 ppm 群での体重増加の抑制、飼料摂取量の減少であった。その他雌では 1500 ppm 群で肝臓重量の増加、F1 雄 1500 ppm 群で肝臓所見が観察された。

児動物では、雌雄 1500 ppm 群で哺育期間後半における体重増加抑制と、それに起因する陰莖包皮開裂および膣開口の遅れが認められた。

繁殖については、親動物の交尾、受精、妊娠率には各世代、各交配で一定した変化はみられず検体投与による影響はないと考えられた。

以上の結果より、2 世代にわたって本検体を飼料中に混入して投与した場合、1500 ppm 群で親動物の体重抑制、飼料摂取量の減少、肝臓重量の増加および肝臓病理所見がみられた。児動物では 1500 ppm 群で発育抑制がみられた。繁殖能については影響はみられなかった。

従って、無毒性量は親動物および児動物に対しては雌雄とも 150 ppm (雄 F0 : 10.2, F1 : 15.1 mg/kg/day, 雌 F0 : 11.5, F1 : 16.0 mg/kg/day)、繁殖能については最高投与 1500 ppm 群においても影響はなかった。

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

3) ラットにおける催奇形性試験

(資料A-25)

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：1999年

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley系ラット、1群雌25匹、交尾時11週齢、体重219～290g

試験期間：交配から帝王切開まで21日間（1999年5月19日から1999年6月15日まで）

試験方法：検体は0.5%CMC-Na溶液中に懸濁し、0, 1, 10および100 mg/kgの投与レベルで妊娠7日から19日までの13日間毎日1回経口投与した。雌雄を同居させ、膣垢中に精子が認められた日を妊娠0日とした。

検体の投与量は、で実施したラット催奇形性予備試験の結果を参考にした。この予備試験において、100および200 mg/kg/day群で投与期間中に流涎がみられ母獣肝臓重量の高値がみられた。本試験では高用量を親動物に影響が期待される100 mg/kgとし、以下公比10で10および1 mg/kgを設定した。

方法及び試験項目：

親動物：一般状態および生死を毎日観察し、体重を妊娠0, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19および20日に測定した。妊娠第20日にエーテル麻酔下で開腹腹部大動脈切断で屠殺後帝王切開し、剖検を行い、卵巣および子宮の状態を観察して黄体数、着床床数、生存胎児数および死亡吸収胚数を検査した。また、心、肺、肝、腎、脾、副腎および卵巣重量を測定した。

生存胎児：性別、体重測定および外形異常の観察をおこなった。

胎児の半数を内臓検査、残る半数を骨格検査に割り当てた。

試験結果：次頁に示した。

母動物への影響として、最高用量100 mg/kgにおいて流涎が10匹にみられ、さらに同群の肝臓相対重量が統計学的に有意な増加を示した。帝王切開成績では、いずれの測定項目にも検体投与の影響は認められなかった。胎児性比および体重に対照群との差はなく、外表、内臓および骨格検査においても検体投与に関連する変化はなかった。

以上の結果から、本検体を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量は10 mg/kg/day、胎児の発生および発育に対する無毒性量は100 mg/kg/dayで、最高用量100 mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を起こさないと判断された。



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

投与群 (mg/kg/日)		0	1	10	100	
1	群動物数	25	25	25	25	
親動物	一般状態				流産	
	死亡率 (%)	0	0	0	0	
	体重変化 (g) (妊娠7-20日)	120±20	118±21	117±23	119±16	
	摂餌量 (g) (妊娠8-20日)	152±15	150±17	151±16	146±13	
	妊娠動物数	25	24	23	23	
	解剖時の肉眼観察					
	肝重量対体重比(対照%)				▲(106)	
	着床黄体数	16.4±1.9	16.4±3.7	16.2±2.1	17.0±3.0	
	着床数	15.3±2.5	14.5±3.4	14.7±2.7	15.1±2.5	
	生存胎児数	14.2±2.7	13.8±3.3	13.4±3.5	14.5±2.6	
動物見	吸収, 死亡率 (%)	7.1±7.7	4.6±5.8	9.3±16.8	4.3±5.9	
	体重 (g) 雄	3.77±0.22	3.77±0.24	3.84±0.36	3.84±0.26	
	雌	3.58±0.21	3.56±0.36	3.64±0.36	3.66±0.25	
	性比(雄/雄+雌)	0.46	0.52	0.51	0.51	
	外形異常	検査動物数	356	330	309	333
	異常胎児数(発生率)					
	全身浮腫			1(0.3)		
	膈帯ヘルニア			1(0.3)		
	内臓異常	検査動物数	171	159	150	162
	異常胎児数(発生率)					
房室口遺残	1(0.6)					
左膈帯動脈遺残		2(1.3)	1(0.7)	1(0.6)		
肝臓奇形結節	3(1.8)	2(1.3)	2(1.3)	3(1.9)		
肺分葉異常	1(0.6)			1(1)		
胸腺頸部残留	10(5.8)	7(4.4)	7(4.7)	5(3.1)		
腎盂拡張	2(1.2)	1(0.6)				
尿管拡張	2(1.2)	1(0.6)				
完全内臓逆位	1(0.6)			1(0.6)		
動物骨格異常	検査動物数	185	171	159	171	
	奇形胎児数(発生率)					
	肋軟骨分離	39(21.1)	38(22.2)	▽13(8.2)	21(12.3)	
	肋軟骨結節			1(0.6)		
	剣状突起分離	17(9.2)	13(7.6)	12(7.5)	12(7.0)	
	変異胎児数(発生率)					
	胸椎椎体分離		2(1.2)	1(0.6)	3(1.8)	
	胸椎椎体クソベル状軟骨	12(6.5)	18(10.5)	6(3.8)	14(8.2)	
	胸椎椎体軟骨分離		1(0.6)	1(0.6)	2(1.2)	
	腰椎横突起位置異常			1(0.6)		
鎖肋骨	3(1.6)			2(1.2)		
腰肋骨	41(22.2)	27(15.8)	21(13.2)	23(12.9)		
14肋骨		1(0.6)				
胸骨核非対称			1(0.6)			

空欄：異常または該当なし、△▽：p<0.05、▲▼：p<0.01 (Dunnett 多重比較検定またはMann-Whitney U検定、体重、摂餌量、黄体数、着床数、生存胎児数、死胎児数、胎児重量、器官重量については多重比較検定を行った。

着床前胚損失率、着床率、胎児生存率、死胎児率、外表異常発現率、内臓骨格異常発現率はMann-WhitneyのU検定を行った。

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

4) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 A-26)

試験機関 :

報告書作成年 : 1977 年

検体の純度 :

試験動物 : ニュージーランドホワイ種ウサギ (体重 2.8~4.6 kg)、1 群雌 14~17 匹

試験期間 : 交配から帝王切開まで 29 日間 (期間)

試験方法 : 検体は蒸留水中に懸濁し、0, 5, 20 および 80 mg/kg/day の投与レベルで妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間毎日 1 回経口投与した。雌雄を同居させ、交配日を妊娠 0 日とした。

試験項目 :

親動物 : 一般状態および生死を毎日観察し、体重を妊娠 0, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 23 および 28 日に測定した。妊娠第 29 日に頸椎脱臼で屠殺後帝王切開し、剖検を行い、卵巣および子宮の状態を観察して黄体数、着床数、生存胎児数および死亡吸収胚数を検査した。

生存胎児 : 性別、体重測定、外表および内臓検査を実施し、内臓検査終了後すべての胎児の内臓を除去し、Dawson 染色の変法により骨格標本を作成し、骨格検査を実施した。

試験結果 : 次頁に示した。

母動物への影響として、最高用量 80 mg/kg/day において食欲不振、投与期間前半部において体重減少または体重増加の抑制がみられた。帝王切開成績では、80 mg/kg/day 群で着床後胚損失の増加がみられた。5 mg/kg/day 群の母動物でも着床後胚損失増加が認められたが、着床初期に全胚損失のみられた 1 例を除き、着床後胚損失率は対照群との差は見られず、また、用量相関性も無いことから検体投与の影響とは考えられなかった。胎児については、胎児性比および体重に対照群との差はなく、外表、内臓および骨格検査においても検体投与に関連する変化はなかった。

以上の結果から、本検体を妊娠ウサギに投与したときの母動物における無毒性量は 20 mg/kg/day、胎児の発生および発育に対する無毒性量は 20 mg/kg/day であった。また、最高用量 80 mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性を起こさないと判断された。

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

投与群 (mg/kg/日)		0	5	20	80	
親動物	1 群 動物数	14	17	14	14	
	一般状態				食欲不振	
	死亡率 (%)	0	0	0	0	
	体重変化				投与後減少 後半に回復	
	妊娠動物数	14	11	14	11	
	解剖時の肉眼観察					
	動物所見	若黄体数	9.9	9.2	9.6	9.5
		着床数	8.4	8.1	8.9	7.6
		生存胎児数	7.3	6.5	8.2	6.2
		早期吸収 (%)	0.6	1.4	0.4	0.9
		後期吸収 (%)	0.5	0.3	0.3	0.5
		着床前損失 (%)	15.8	11.9	7.5	20
		着床後損失 (%)	12.8	20.2	7.3	19
		平均体重 (g)	40.2	41.3	41.6	42.6
児	性比 (雄/雌)	3.1/4.1	3.0/3.5	4.4/3.8	3.5/2.7	
	検査動物数	102	71	116	68	
	外表及び内臓異常 (発生率 %)	無頭症、前肢第2指欠損、尿管拡張、肺縮小		1.4		
		耳頭症、耳介短小、逆位、心房拡張			0.9	
		単眼症、腎変形、心欠損		1.4		
		肺中葉發育不全			2.6	
		脊柱短小		2.8		
		無尾症		2.8		1.5
		胆嚢点状出血	4.9		0.9	4.4
		胆嚢退縮	3.9			
		胆嚢分岐		1.4	0.9	
		胃腸管拡張	4.9	1.4		1.5
		一側性前肢湾曲	1			
		両側性前肢湾曲	1	1.4		
後肢両側性異常回転			2.8			
動物異常 (発生率 %)	検査動物数	103	71	116	68	
	骨格異常	前泉門サイズ大	2.9	1.4	8.6	
		上後頭骨化骨不全				1.5
		上後頭骨異常化骨	1			
		頭部肉眼的異常		2.8	0.9	1.5
		胸椎椎体の化骨不全及び非対称	2.9	4.2		4.4
		胸椎化骨不全	6.8	9.9	8.6	5.9
		尾椎化骨不全	1			
		脊柱の肉眼的異常		5.6		2.9
		単肋骨の一側性分岐	1	1.4		
		肋骨及び胸椎の肉眼的異常		4.2		5.9
		胸骨化骨不全	71.8	81.7	58.6	58.8
		胸骨の發育または癒合異常		2.8	0.9	5.9
		指節及び/または足根骨化骨不全	4.9	8.5	6	20.6
鎖骨変形	1	1.4				
前肢湾曲	2.9	2.8		1.5		
指短縮				1.5		
指短縮と母指發育不全		1.4				
骨盤骨化骨不全		2.8				
後肢異常回転		4.2				
両足結合奇形を伴う人魚状奇形				1.5		

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

(13) 変異原性

1) 細菌を用いたDNA修復試験、復帰変異試験

及びラットを用いた宿主経路試験

(資料A-27)

試験機関:

報告書作成年: 1976年

①枯草菌を用いたDNA修復試験

検体の純度:

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復能保持株 (H-17, rec<sup>+</sup>) 及び欠損株 (M-45, rec<sup>-</sup>) を用い、胞子法により代謝非活性化法によってDNAの損傷の誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

1~100%(v/v) の濃度の検体 0.02 ml を直径 10 mm のろ紙に染み込ませ、各菌株をストリークした平板寒天培地上にのせ、一晚培養し、生育阻止帯を比較した。

試験結果: 結果を次表に示した。

薬物	濃度 % (v/v)	阻止円の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
検体	1	0	0	0
	5	1	<1	<1
	10	1	<1	<1
	25	1	<1	<1
	50	1	1	0
	100	1.5	1	0.5
陰性対照 (Kanamycin)	10 μg/disk	6	4	2
陽性対照 (Mitomycin C)	0.1 μg/disk	12	1	11

検体では、いずれの濃度においても、両菌株間に生育阻止の差が認められなかった。

一方、陽性対照の Mitomycin C では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。また、陰性対照の Kanamycin では両菌株に同程度の生育阻止帯が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下でDNA損傷の誘発性を有しないものと判断された。

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

②ネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰変異原性試験

検体の純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2 her株を用い、Amesらの方法で薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の非存在下の変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解させた。

予備試験を実施、生育阻止の程度を観察し、用量を設定した。

試験濃度は 20~1000  $\mu$ g/plate の範囲で4用量とした。

試験は2速制で1回行った。

試験結果：

表中の数値は2プレートの平均値 (データより申請者が算出)

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ plate)	復帰変異コロニー数/plate					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		WP2her <sup>*</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		21.5	8	131.5	6	14	22.5
検体	20	19	6.5	159	6	8	25
	100	12	7	165.5	7	11.5	22.5
	500	21	8	149	5.5	11.5	26
	1000	17	13 <sup>*1</sup>	46	- <sup>*2</sup>	6.5	9
陽性 対照	AF-2	0.05		974			
		0.1					328
		0.25	1649				
	$\beta$ -PL	50		852			
	9AA	200			>10000		
	2-NF	50				5100	

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

$\beta$ -PL :  $\beta$ -Propiolactone

9-AA : 9-Aminoacridine

2-NF : 2-nitrofluorene

\*1 : 1プレートからデータが得られなかったため1プレートの値

\*2 : 菌株の生育阻止が認められた

検体処理群では、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定された。

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

③ネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰変異原性試験（代謝活性化試験）

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2 hcr 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

予備試験を実施、生育阻止の程度を観察し、用量を設定した。

試験濃度は 20～1000  $\mu$ g/plate の範囲で 3 用量とした。

試験は 2 連性で 1 回行った。

試験結果： 表中の数値は 2 プレートの平均値（データより申請者が算出）

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
検体	20	-	18	6	133	7.5	15.5	25	
	100	-	22.5	16	147	2	17	20	
	500	-	27.5	8.5	164	2	12	23.5	
対照(DMSO)	0	+	18	10	123	5.5	9	19.5	
検体	20	+	13.5	7	180	8	14.5	23.5	
	100	+	14.5	8	194	3	18	23.5	
	500	+	28	9	130.5	7.5	6	14.5	
陽性 対照	2-AA	20	-		9	282.5	26	25.5	34.5
		20	+		330.5	2458	486.5	2233	2235.5
	AF-2	0.05	-			1021			
		0.1	-						264.5
		0.25	-	1578					

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-AA : 2-Aminoanthracene

検体処理群では S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群の 2-AA では代謝活性条件下のみで各試験菌株の復帰突然変異の有意な増加が認められた。また非代謝活性条件下のみで実施した AF-2 でも復帰突然変異の有意な増加が認められた。

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

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

④マウスを用いた宿主経路試験

検体の純度：

試験動物：ICR系マウス、1群 雄6匹、7週齢（体重  $34 \pm 2.2$  g）

試験方法：検体を、100 および 300 mg/kg の用量で、24 時間間隔で2回強制経口投与した。

陽性対照として dimethylnitrosamine (DMN) 50 mg/kg を1回経口投与し、陰性対照群にはコーンオイルを投与した。

2回日の薬物投与直後、対数期のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 株をマウス腹腔内に注入した。処置3時間後に各群のマウスを屠殺し、腹腔内菌液を回収し、生存菌数および復帰変異菌数を測定した。

また、マウスに注入しなかった G46 株を用いて *in vitro* 復帰変異試験を行った。

用量設定根拠：投与量は、予備試験において検体を経口投与した後の臨床症状の観察結果より設定した。

試験結果：

G46 株 復帰変異試験

薬物	濃度 ( $\mu$ g/plate)	復帰変異コロニー数 /plate
検体	0	4.5
	100	3
	500	1
	1000	2
陽性対照 $\beta$ -Propiolactone	1000	112.5

宿主経路試験

群	薬物	総投与量 (mg/kg)	匹数	復帰変異菌数 /ml	生存菌数 $\times 10^{-8}$ /ml	復帰変異菌数/ 生存菌数 $\times 10^{-8}$
対照群	コーンオイル		6	20.28	56.67	0.36
処置群	検体	100 $\times$ 2	6	18.75	59.57	0.33
		300 $\times$ 2	6	17.5	58.07	0.31
陽性対照群	DMN	50	6	5265.56	45.2	$\uparrow$ 115.69

$\uparrow$  :  $p < 0.001$

G46 株を用いた *in vitro* 復帰変異試験の結果は陰性であった。また、宿主経路試験においても検体投与群は、対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では対照群と比較して著大な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、検体を用いた宿主経路試験は陰性と判定された。

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

2) 細菌を用いた DNA 修復試験、復帰変異試験

(資料 A-28)

試験機関：

報告書作成年：1975 年

① 枯草菌を用いた DNA 修復試験

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復能保持株 (H-17, rec<sup>+</sup>) 及び欠損株 (M-45, rec<sup>-</sup>) を用い、孢子法により非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

1000  $\mu$ g/disk を最高用量とする 4 用量 (10~10000  $\mu$ g/disk) の検体を直径 8 mm のろ紙に染み込ませ、各菌株をストリークした平板寒天培地上にのせ、一晚培養し、生育阻止帯を比較した。

試験結果：結果を次表に示した。

薬物	濃度 $\mu$ g/disk	阻止円の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
検体	10	0	0	0
	100	0	0	0
	1000	0	0	0
	10000	2	2	0
陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	15	3	12

検体では、いずれの濃度においても、両菌株間に生育阻止の差が認められなかった。

一方、陽性対照の Mitomycin C では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有しないものと判断された。



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

②ネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰変異原性試験

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1536, TA1537, TA1538 株)およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* (WP2 her<sup>+</sup>および WP2 her<sup>-</sup>株)を用い、Ames ら(1971)の方法で薬物代謝酵素系(S-9Mix)の非存在下の変異原性を検定した。すなわち、試験菌の一晚培養液を寒天培地に広げ、その中央に所定濃度の検体を含むろ紙ディスクを置き、その周辺の復帰変異コロニーを計数した。  
 検体はジメチルスルホキサイド(DMSO)に溶解させた。  
 試験濃度は 100 および 1000  $\mu$ g/plate の 2 用量とした。

試験結果 :

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ plate)	復帰変異コロニー数/plate					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		WP2her <sup>+</sup>	WP2her <sup>-</sup>	TA1535	TA1536	TA1537	TA1538
対照(DMSO)		1	3	10	0	9	13
検体	100	6	8	12	0	8	8
	1000	7	11	6	0	15	13
陽性 対照	$\beta$ -PL	100		342	0	5	7
	AF-2	0.1	21	69			

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

$\beta$ -PL :  $\beta$ -Propiolactone

検体処理群ではいずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照の  $\beta$ -PL では塩基置換型の TA1535 株で、AF-2 では WP2 her<sup>+</sup>および WP2 her<sup>-</sup>の両方の菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定された。

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

3) マウスを用いた宿主経由試験

(資料A-29)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体の純度：

試験動物：ICR-SLC系雌雄マウス、10週齢（平均体重40g）

試験方法：検体をCMC水溶液中に調製し、経口投与群には500mg/kg、筋肉内投与群には750mg/kgの用量で、それぞれ1時間間隔で3回投与した。陽性対照としてdimethyl-nitrosamine(DMNA) 250mg/kgを同様に3回筋肉内投与した。陰性対照群には0.25%CMC水溶液のみを同様に3回経口投与および筋肉内投与した。なお、検体の投与量は、予備試験結果より設定した。1回目の薬物投与直後、対数期のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46株をマウス腹腔内に注入した。処置30分後にマウスを屠殺し、腹腔内菌液を回収し、総菌数および復帰変異菌数を測定した。試験は2反復実施した（試験1および2）。

試験結果：

試験1

性別	群	薬物	投与経路	投与量 (mg/kg)	復帰変異頻度	復帰変異頻度の対対照群比
雄	陰性対照群	CMC	経口投与		$1.5 \times 10^{-9}$	-
			筋肉内投与		$2.5 \times 10^{-9}$	-
	処置群	検体	経口投与	500×3	$4.4 \times 10^{-10}$	0.3
			筋肉内投与	750×3	0	0
陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$2.5 \times 10^{-7}$	100	
雌	陰性対照群	CMC	経口投与		$3.0 \times 10^{-9}$	-
			筋肉内投与		$1.2 \times 10^{-9}$	-
	処置群	検体	経口投与	500×3	$1.0 \times 10^{-10}$	0.03
			筋肉内投与	750×3	$1.0 \times 10^{-11}$	0.008
陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$3.8 \times 10^{-6}$	3167	

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

試験 2

性別	群	薬物	投与経路	投与量 (mg/kg)	復帰変異頻度	復帰変異頻度の 対 対照群比
雄	陰性対照群	CMC	経口投与		$1.0 \times 10^{-9}$	-
			筋肉内投与		$1.1 \times 10^{-9}$	-
	処置群	検体	経口投与	500×3	$1.3 \times 10^{-9}$	1.3
			筋肉内投与	750×3	$2.5 \times 10^{-10}$	0.3
	陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$1.9 \times 10^{-7}$	172.7
雌	陰性対照群	CMC	経口投与		$4.0 \times 10^{-9}$	-
			筋肉内投与		$2.8 \times 10^{-9}$	-
	処置群	検体	経口投与	500×3	$1.0 \times 10^{-10}$	0.03
			筋肉内投与	750×3	$6.3 \times 10^{-9}$	2.3
	陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$2.2 \times 10^{-7}$	78.6

検体投与群では、経口投与、筋肉内投与のいずれにおいても、対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では対照群と比較して顕著な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、検体のマウスを用いた宿主経路試験は陰性と判定された。

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

4) ラットを用いた宿主経路試験

(資料A-30)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体の純度：

試験動物：SD-SLC系雌雄ラット、10週齢（平均体重270g）

試験方法：検体をCMC水溶液中に調製し、経口投与群には200mg/kg、筋肉内投与群には600mg/kgの用量で、それぞれ1時間間隔で3回投与した。陽性対照としてdimethylnitrosamine(DMNA)250mg/kgを同様に3回筋肉内投与した。陰性対照群には0.25%CMC水溶液のみを同様に3回経口投与および筋肉内投与した。なお、検体の投与量は、予備試験結果より設定した。1回目の薬物投与直後、対数増殖期のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 株をラット腹腔内に注入した。処置30分後にラットを屠殺し、腹腔内菌液を回収し、総菌数および復帰変異菌数を測定した。試験は2反復実施した（試験1および2）。

試験結果：

試験1

性別	群	薬物	投与経路	投与量 (mg/kg)	復帰変異頻度	復帰変異頻度の 対 対照群比
雄	陰性対照群	CMC	経口投与		$1.0 \times 10^{-10}$	-
			筋肉内投与		$6.0 \times 10^{-11}$	-
	処置群	検体	経口投与	200×3	$3.3 \times 10^{-11}$	0.3
			筋肉内投与	600×3	$1.9 \times 10^{-10}$	3.2
陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$2.5 \times 10^{-8}$	416.7	
雌	陰性対照群	CMC	経口投与		$1.6 \times 10^{-10}$	-
			筋肉内投与		$1.3 \times 10^{-10}$	-
	処置群	検体	経口投与	200×3	$2.7 \times 10^{-10}$	1.7
			筋肉内投与	600×3	$5.0 \times 10^{-10}$	3.8
陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$1.2 \times 10^{-8}$	92.3	

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

試験 2

性別	群	薬物	投与経路	投与量 (mg/kg)	復帰変異頻度	復帰変異頻度の 対 対照群比
雄	陰性対照群	CMC	経口投与		$4.4 \times 10^{-10}$	-
			筋肉内投与		$6.7 \times 10^{-11}$	-
	処置群	検体	経口投与	200×3	$1.2 \times 10^{-10}$	0.3
			筋肉内投与	600×3	$3.6 \times 10^{-11}$	0.5
	陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$1.7 \times 10^{-8}$	253.7
雌	陰性対照群	CMC	経口投与		$2.0 \times 10^{-11}$	-
			筋肉内投与		$5.4 \times 10^{-10}$	-
	処置群	検体	経口投与	200×3	$8.3 \times 10^{-11}$	4.2
			筋肉内投与	600×3	$3.1 \times 10^{-10}$	0.6
	陽性対照群	DMNA	筋肉内投与	250×3	$2.1 \times 10^{-8}$	38.8

検体投与群では、経口投与、筋肉内投与のいずれにおいても、対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では対照群と比較して顕著な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、検体のラットを用いた宿主経路試験は陰性と判定された。

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

5) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料A-31)

試験機関:

報告書作成年: 1977年

検体の純度:

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98 および TA100 株) を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解させた。

試験濃度は代謝非活性化法では 10~3000  $\mu$ g/plate の範囲で 6 用量、代謝活性化法では 10~1000  $\mu$ g/plate の範囲で 5 用量とした。

試験は 2 連制で 1 回行った。

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

両検体ともに S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は両検体とも代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

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

表中の数値は2プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate		
			塩基置換型 TA100	フレームシフト型 TA98	
対照(DMSO)	0	—	139.5	33	
	10	—	113	29	
	50	—	145	29.5	
	100	—	132	34	
	500	—	128	23	
	1000	—	*	20	
	3000	—	*	21	
	10	—	153.5	26.5	
	50	—	105	20	
	100	—	119	33	
	500	—	140.5	23.5	
	1000	—	*	24.5	
	3000	—	*	8.5	
対照(DMSO)	0	+	163	25.5	
	10	+	116.5	22.5	
	50	+	181	17.5	
	100	+	149	21	
	500	+	137.5	28.5	
	1000	+	104	26	
	10	+	161.5	23	
	50	+	149	17.5	
	100	+	179	28.5	
	500	+	150	21	
	1000	+	114.5	25	
陽 性 対 照	2AA	10	—	139.5	43.5
		10	+	>3000	>2000
	AF-2	0.05	—	1463	431
0.1		—			

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-AA : 2-Aminoanthracene

\* : 菌の生育阻止を認めた。

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

6) 細菌を用いた DNA 修復試験、復帰変異原性試験およびマウスを用いた宿主経路試験

(資料A-32)

試験機関:

報告書作成年: 1977年

①枯草菌を用いた DNA 修復試験

検体の純度:

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復能保持株 (H-17, rec<sup>+</sup>) 及び欠損株 (M-45, rec<sup>-</sup>) を用い、孢子法により非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

1000  $\mu$ g/disk を最高用量とする 4 用量 (10~10000  $\mu$ g/disk) の検体を直径 8 mm のろ紙に染み込ませ、各菌株を接種した平板寒天培地上にのせ、一晚培養し、生育阻止帯を比較した。

試験結果: 結果を下表に示した。

薬物	濃度 $\mu$ g/disk	阻止円の径 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0
	10	0	0	0
	100	0	0	0
	1000	0	0	0
	10000	0	0	0
	10	0	0	0
	100	0	0	0
	1000	0	0	0
	10000	0	0	0
陽性対照 (Mitomycin C)	0.1	19	3	16

両検体とも、いずれの濃度においても、両菌株に対する生育阻止が認められなかった。

一方、陽性対照の Mitomycin C では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、検体は両合成法品とも本試験条件下で DNA 損傷の誘発性を有しないものと判断された。



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

②ネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰変異原性試験

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2 hcr 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。  
試験濃度は 5~500  $\mu$ g/plate の範囲で3用量とし、1回行った。

試験結果：結果の表は以下に示した。

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)	0	—	19	3	168	9	14	23	
検体	5	—	23	3	165	9	9	29	
	50	—	19	0	163	8	12	11	
	500	—	42	2	140	13	6	18	
検体	5	—	14	2	172	11	18	25	
	50	—	15	4	145	5	9	21	
	500	—	35	3	169	6	15	31	
対照 (DMSO)	0	+	21	13	142	12	8	31	
検体	5	+	12	4	205	14	8	38	
	50	+	19	19	173	8	9	21	
	500	+	22	7	158	2	3	18	
検体	5	+	31	13	198	9	12	23	
	50	+	23	9	112	11	15	27	
	500	+	19	11	145	17	8	35	
陽性 対照	$\beta$ -PL	50	—		484				
	9-AA	200	—				1453		
	2-NF	50	—					1728	
	AF-2	0.05	—			975			
		0.1	—						426
		0.25	—	826					
2-AT	20	+		173	1210	223	2230	1624	

$\beta$ -PL :  $\beta$ -propio lactone

9-AA : 9-aminoacridine

2-NF : 2-nitrofluorene

AF-2 : 2-furyl(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-AT : 2-aminoanthracene

検体処理群では、どちらの合成法品でも S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

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

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

③マウスを用いた宿主経路試験

検体の純度 :

試験動物 : ICR 系マウス、1 群 雄 6 匹、8 週齢 (体重 40~45 g)

試験方法 : 検体を、100 および 500 mg/kg の用量で、24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。

陽性対照群には dimethylmitrosamine (DMNA) 50 mg/kg、陰性対照群には 0.25%CMC 水溶液のみを 1 回経口投与した。

2 回日の薬物投与直後、対数期の *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求性株 G46 株 ( $1\sim 2 \times 10^8$ /ml) をマウス腹腔内に注入した。処置 3 時間後に各群のマウスを屠殺し、腹腔内菌液を回収し、生存菌数および復帰変異菌数を測定した。

用量設定根拠 : 投与量は、旧合成法品の宿主経路試験 (資料 A-29) を参照し、設定した。

試験結果 : 申請者が算出した 6 例平均値を以下に示す。

群	薬物	総投与量 (mg/kg)	匹数	復帰変異頻度 ( $10^{-8}$ )
対照群	CMC		6	0.02
処置群		100×2	6	0.02
		500×2	6	0.03
		100×2	6	0.03
		500×2	6	0.03
陽性対照群	DMNA	50	6	444

宿主経路試験においても両検体投与群は、対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では対照群と比較して著名な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果より、両検体を用いた宿主経路試験は陰性と判定された。

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

7) 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料A-34)

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。最高用量 5000  $\mu$  g/plate とし、以下 8 段階 (公比 2.5) で用量設定試験を行なった結果、直説法の TA100、TA1535 および TA1537 株では 320  $\mu$  g/plate 以上の用量で、直接法の TA98、WP2 *uvrA* 並びに代謝活性化法の全菌株では 800  $\mu$  g/plate 以上の用量で生育阻害作用が観察された。従って、本試験では、下記の用量を最高用量とし、試験濃度はそれぞれ 6~7 用量 (公比 2) とした。

試験系	最高用量 ( $\mu$ g/プレート)				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
直接法	400	400	800	800	400
代謝活性化法	800	800	800	800	800

試験は各濃度 2 枚のプレートを用いて行った。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

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

表中の数値は2プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(DMSO)	0	—	20	10	94	7	16
検体	12.5	—		12	100	7	
	25	—	22	13	84	6	17
	50	—	17	17	91	6	20
	100	—	18	15	90	5	17
	200	—	26	12	62 <sup>c)</sup>	8	17
	400	—	15	8 <sup>c)</sup>	52 <sup>c)</sup>	4 <sup>c)</sup>	17 <sup>c)</sup>
	800	—	14 <sup>c)</sup>				14 <sup>c)</sup>
対照(DMSO)	0	+	21	11	107	8	26
検体	12.5	+		12	95	8	
	25	+	21	12	92	10	22
	50	+	25	13	97	7	25
	100	+	22	17	90	13	27
	200	+	28	17	92	12	25
	400	+	20	6 <sup>c)</sup>	66 <sup>c)</sup>	13 <sup>c)</sup>	23 <sup>c)</sup>
	800	+	15 <sup>c)</sup>	7 <sup>c)</sup>	66 <sup>c)</sup>	12 <sup>c)</sup>	22 <sup>c)</sup>
陽 性 対 照	AF-2	0.01			109		
		0.1	—				567
	NaN <sub>3</sub>	0.5	—		421		
	9-AA	80	—			497	
	2-AA	0.5	+			729	378
	1	+					
	2	+		325		130	
	10	+	682				

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN<sub>3</sub> : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine hydrochloride

2-AA : 2-Aminoanthracene

c) : 生育阻害

検体処理群では S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。なお、ネズミチフス菌株の直接法で生育阻害作用が観察された。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下において検体の細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

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

8) チャイニーズハムスター卵巣細胞における *in vitro* 染色体異常試験 (資料A-33)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1986 年

検体の純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞 (CHO-K<sub>1</sub>B<sub>4</sub>) を用い、代謝活性化法および非活性化法 (直接法) によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解した。

用量設定のため、予備毒性試験を以下の要領で実施した。すなわち 0.5~5000  $\mu$ g/ml の用量を、直接法では 24 時間、代謝活性化法では 6 時間処理し、26 時間後に標本を作成したところ、直接法では 50  $\mu$ g/ml で中等度の毒性、167  $\mu$ g/ml で有糸分裂細胞の消滅が認められ、代謝活性化法では 0.5  $\mu$ g/ml 以上で細胞毒性、50  $\mu$ g/ml で有糸分裂細胞の減少が認められた。

以上の結果から、下記の検体用量で本試験を行った。

方法	処理	標本作成	検定に使用した濃度 ( $\mu$ g/ml)
直接法	24 時間	26 時間目	12.5, 25, 50, 100
代謝活性化法	6 時間	26 時間目	6.25, 12.5, 25, 50

各濃度で 200 個の中期分裂像を観察し、染色体数及び染色体の異常を評価した。試験は 2 連制で 1 回行った。

陽性対照として直接法では methylmethansulphonate、代謝活性化法では cyclophosphamide および 2-acetylaminofluorenc を用いた。

試験結果 : 次頁に評価結果を示す。

直接法では染色体異常の誘発は認められなかった。一方、代謝活性化法では、低濃度処理 (6.25  $\mu$ g/ml) および最高濃度処理 (50  $\mu$ g/ml) において 2 プレートとも染色体異常誘発性が認められた。また、1 プレートのみであったが 12.5 および 25  $\mu$ g/ml 処理群においても異常誘発性が記録された。用量相関性は認められなかった。

倍数性細胞数の変化は代謝活性化法、直接法のいずれにおいても確認されなかった。

陽性対照の methylmethansulphonate、cyclophosphamide 及び 2-acetylaminofluorenc では、異常細胞出現頻度の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体のチャイニーズハムスターの卵巣細胞(CHO-K<sub>1</sub>B<sub>4</sub>細胞)における染色体異常誘発性は直接法では陰性、代謝活性化法では陽性であることが認められた。



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

9) チャイニーズ・ハムスターの肺線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料A-35)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体の純度:

試験方法: チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺線維芽細胞 (CHL) を用い、直接法および代謝活性化法によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

用量設定のために実施した細胞分裂抑制試験の結果より、本試験の用量は以下のように設定した。

試験	処理方法	処理用量 ( $\mu$ g/ml)
初回試験	直接法 24 時間	25.0, <u>50.0</u> , <u>100</u> , <u>200</u> , 400
	直接法 48 時間	12.5, <u>25.0</u> , <u>50.0</u> , <u>100</u> , <u>200</u> , 400
	代謝活性化法-S9	31.3, <u>62.5</u> , <u>125</u> , <u>250</u> , 500
	代謝活性化法+S9	31.3, <u>62.5</u> , <u>125</u> , <u>250</u> , 500
確認試験	代謝活性化法+S9	100, <u>150</u> , <u>200</u> , <u>250</u> , <u>300</u> , <u>350</u> , 400

1 用量当たり 2 個のフラスコを用いて培養を行なった。観察は下線を付した用量について各フラスコから 100 個、1 用量当たり 200 個の分裂中期像について行なった。

試験結果: 結果を次頁に示した。

初回試験で代謝活性化法+S9 処理において、最高用量で染色体構造異常の誘発が認められたため、確認試験を行なった。確認試験では、再現性および、用量依存性が認められた。

直接法 (24 時間、48 時間)、代謝活性化法-S9 処理では染色体異常出現頻度の増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では染色体異常出現頻度の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において、検体のチャイニーズ・ハムスターの肺線維芽細胞 (CHL 細胞) に対する染色体異常誘発性は代謝活性化法+S9 処理で陽性と判定した。

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

初回試験

処理方法	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}$ )	観察 細胞 数	染色体異常を有する細胞数						合計 (gap) (%)	倍数体 細胞 (%)	最終 判定
				gap	ctb	csb	cte	cse	oth			
直接法 24時間	溶媒対照 (DMSO)	0	200	3	1	0	0	0	0	0.5	0	-
	検体	50	200	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	-
		100		2	2	0	1	1	0	2.0	1.5	-
		200		2	0	1	0	0	0	0.5	0	-
陽性対照 (MMC)	0.05	200	18	12	62	0	0	0	35.0	0	+	
直接法 48時間	溶媒対照 (DMSO)	0	200	1	1	0	0	0	0	0.5	0	-
	検体	25	200	4	1	0	0	0	0	0.5	0	-
		50		1	0	0	0	0	0	0	0	-
		100		0	0	0	0	0	0	0	4.5	-
		200		1	0	1	0	0	0	0.5	0	-
陽性対照 (MMC)	0.025	200	6	12	49	1	0	0	29.0	0	+	
代謝 活性化法 -S9処理	溶媒対照 (DMSO)	0	200	3	1	1	0	0	0	1.0	0.5	-
	検体	62.5	200	1	1	0	0	0	0	0.5	0	-
		125		0	1	0	0	0	0	0.5	1.0	-
		250		2	2	2	0	0	0	2.0	0	-
陽性対照 (MMC)	0.1	200	16	31	69	1	0	0	44.0	0.5	+	
代謝 活性化法 +S9処理	溶媒対照 (DMSO)	0	200	1	1	0	0	0	0	0.5	0	-
	検体	62.5	200	1	1	0	0	0	0	0.5	0	-
		125		5	1	1	0	1	0	1.5	0	-
		250		10	13	39	0	0	0	24.5	0.5	+
陽性対照 (CP)	12.5	200	7	6	108	0	1	0	56.5	0.5	+	

確認試験

処理方法	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}$ )	観察 細胞 数	染色体異常を有する細胞数						合計 (-gap) (%)	倍数体 細胞 (%)	最終 判定
				gap	ctb	csb	cte	cse	oth			
代謝 活性化法 +S9処理	溶媒対照 (DMSO)	0	200	1	0	0	0	0	0	0	0	-
	検体	150	200	0	0	4	0	0	0	2.0	1.5	-
		200	200	1	0	3	0	0	0	1.5	1.0	-
		250	200	5	7	28	0	1	1	17.0	0.5	+
		300	200	20	22	68	1	0	0	39.5	0	+
		350	92	9	15	44	1	0	0	51.1	2.2	+
	陽性対照 (CP)	12.5	200	11	25	99	1	0	0	52.5	0	+



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

10) マウスを用いた小核試験

(資料A-36)

試験機関：

〔GLP対応〕

報告書作成年：2000年

検体の純度：

試験動物：BDF1系マウス、1群雄5匹、9週齢（体重 25.3～28.2 g）

試験方法：検体を0.5% CMC・Na水溶液に懸濁し、250, 500, 1000 mg/kgの用量で、1日1回2日間経口投与した。陰性対照物質として投与媒体を検体と同様に投与し、陽性対照物質としてMytomicin Cを1回腹腔内投与した。最終投与24時間後にマウスを屠殺し、大腿骨より骨髓細胞を牛胎仔血清を用いて洗い出し、塗抹標本を各動物につき2枚作製した。標本をメタノール固定し、3%ギムザ液で染色した後、鏡検により各動物の多染性赤血球（PCE）2000個中の小核赤血球数および全赤血球500個中の多染性赤血球の割合について計数した。

用量設定根拠：予備試験の結果、最大耐量付近と考えられる1000 mg/kgを最高用量とし、以下公比2をとり250, 500 mg/kgとした。

試験結果：

薬剤	薬量 (mg/ kg)	動物 数	観察多染性 赤血球数/動物	小核多染性赤血 球出現頻度(%)#	2000個PCE当 り小核細胞数 の範囲	多染性赤血球の 割合(%)##
陰性対照	—	5	2000	0.22±0.06	3-6	59.8± 6.5
検 体	250	5	2000	0.19±0.11	1-6	63.3± 1.7
	500	5	2000	0.21±0.08	3-7	57.6± 4.7
	1000	5	2000	0.26±0.05	4-7	▲45.0± 7.6
陽性対照	2	5	2000	▲7.24±1.12	129-183	▲44.0± 4.9

△：p<0.05 ▲：p<0.01

(小核多染性赤血球出現頻度；Kastenbaum and Bowmanの推計学的方法、多染性赤血球の割合；Dunnettの検定)

評価数5匹を確保するため、投与は1群6匹としたが、実際の骨髓評価には1群5匹を使用した。

#：観察多染性赤血球中で小核を有するものの割合(%)

##：多染性赤血球数/観察赤血球数(%)

検体投与群において、小核出現頻度は陰性対照群と同等の値を示した。多染性赤血球の割合は1000 mg/kg群で有意に減少したことより、マウス骨髓細胞が検体に曝露されたものと考えられた。

一方、陽性対照群では小核出現頻度は陰性対照に対して有意な増加を示し、多染性赤血球数も陰性対照に対して有意な減少を示した。

以上の結果から、検体のマウス骨髓細胞に対する小核誘発性は陰性と判断した。

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

(14) 生体の機能に及ぼす影響

1) 一般薬理試験

(資料A-37)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

検体の純度:

①マウスの中樞神経系に及ぼす影響

a) マウスの自発行動に及ぼす影響 (IRWIN 法)

試験動物: 雄性 ICR 系マウス (体重 27~35 g), 1 群 10 匹

方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)生理食塩液に懸濁し, 100, 300, 1000 mg/kg を経口投与し, 一般症状を観察した。

試験結果:

投与量(mg/kg)	対照(CMC 生食液)	100	300	1000
徴候	影響なし	影響なし	影響なし	5分後よりよろめき歩行、流涎、30分後回復

b) イプロベンホス投与マウスに対するアトロピン、グルタチオンおよびPAMの防御効果

試験動物: 雄性 ICR 系マウス (体重 23~33 g), 1 群 5 匹

試験方法: 検体を経口投与し, 7 日間の生存数より LD<sub>50</sub> を Litchfield-Wilcoxon 法(1946)で算出した。さらに検体投与後 10 分および 1 時間の計 2 回 atropine sulfate (硫酸アトロピン) 10 mg/kg、glutathione (グルタチオン) 100 mg/kg および pyridine 2-aldoxime methiodide (PAM) 20 mg/kg を腹注し、検体の LD<sub>50</sub> 値および徴候におよぼす影響を検討した。

試験結果:

投与群	検体	検体+アトロピン	検体+グルタチオン	検体+PAM
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	2920 (2561~3329)	3550 (2863~4402)	2800 (2435~3220)	2940 (2471~3499)

アトロピン処置で LD<sub>50</sub> 値の上昇, 延命効果がみられた。

c) マウスの自発運動量に及ぼす影響 (IRWIN 法)

試験動物: 雄性 ICR 系マウス (体重 25~32 g), 1 群 10 匹

試験方法: 検体を 0.5%CMC 生理食塩液に懸濁し, 100, 300, 1000 mg/kg を経口投与し, 自発運動量を測定した。

試験結果:

投与量(mg/kg)	対照(CMC 生食液)	100	300	1000
運動量	影響なし	影響なし	影響なし	10分後有意な低下 140分後有意な上昇

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

## ②ウサギの呼吸・循環器系に及ぼす影響

試験動物：雄性日本白色種ウサギ（体重 3.1～3.6 kg），1 群 5 匹

試験方法：検体を 0.5%CMC 生理食塩液に懸濁し，0.2, 1, 5, 25 mg/kg を大腿静脈に挿入したカニューレを介し投与し，血圧，呼吸数，呼吸振幅，心拍数，心電図を測定した。さらに，単独作用のみられない 0.2 mg/kg 投与群を用い，Acetylcholine chloride および Adrenaline chloride の反応に対する影響を検討した。

### a) 呼吸，血圧，心拍数および心電図に及ぼす影響

試験結果：

投与量 (mg/kg)	対照 (CMC 生食液)	0.2	1	5	25
血圧				軽度一過性下降	下降後に上昇に 転じ、その後回復
呼吸数			軽度一過性上昇	増加	増加
呼吸振幅			軽度一過性減少	一過性減少	減少
心拍数				軽度一過性減少	一過性減少
心電図					除脈に伴う僅かな R-R 間の延長

註) 空欄は影響なし

### b) Acetylcholine chloride および Adrenaline chloride の反応に対する影響

試験結果：血圧，呼吸数，呼吸振幅，心拍数および心電図の反応に対し，何ら影響を及ぼさなかった。

(結論) 1 mg/kg 以上の投与で呼吸数の増加，5mg/kg 以上の投与で血圧の一過性下降，呼吸振幅の減少，心拍数の一過性減少，25mg/kg 投与で，心電図の変化を認めた。

## ③モルモットおよびラットの平滑筋に及ぼす影響

### a) モルモットの摘出回腸に及ぼす影響

試験動物：雄性 Hartley 系モルモット（体重 360～400 g），1 群 5～6 匹

試験方法：摘出した回腸を Magnus 装置に懸垂し，検体  $10^{-6}$ ～ $3 \times 10^{-4}$  g/ml 投与し，収縮反応を測定した。また，検体  $10^{-6}$ ， $10^{-5}$ ， $10^{-4}$  g/ml 投与後に Acetylcholine chloride (Ach) もしくは Histamine dihydrochloride (Hist) を累積投与し，相互作用による収縮反応を測定した。

試験結果：i) 検体単独では収縮反応に影響を認めなかった。

ii) 検体の  $10^{-5}$ ， $10^{-4}$  g/ml 投与群では Ach および Hist による収縮反応に対し抑制的作用が認められた。

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

b) ラットの摘出子宮に及ぼす影響

試験動物：Wistar 系ラット（体重 155～178 g），1 群 5～6 匹

試験方法：摘出した子宮を Magnus 装置に懸濁し，検体  $10^{-6}$ ～ $3 \times 10^{-4}$  g/ml 投与し，収縮反応を測定した。また，検体  $10^{-6}$ ， $10^{-5}$ ， $10^{-4}$  g/ml 投与後に Acetylcholine chloride (Ach) もしくは oxytocin を累積投与し，相互作用による収縮反応を測定した。

試験結果：i) 検体単独では収縮反応に影響を認めなかった。

ii) 検体の  $10^{-5}$ ， $10^{-4}$  g/ml 投与群では Ach および oxytocin による収縮反応に対し抑制的作用が認められた。

(結論)  $10^{-6}$ ～ $3 \times 10^{-4}$  g/ml の濃度で，モルモット摘出回腸およびラット摘出子宮の収縮に及ぼす影響はなかった。 $10^{-5}$ ， $10^{-4}$  g/ml の濃度で，Ach, Histamine および oxytocin の収縮反応に対し抑制的作用を認めた。

④ラットの肝機能 (BSP 排泄能) に及ぼす影響

供試動物：雄性 Wistar 系ラット（体重 155～178 g），1 群 10 匹

試験方法：検体を 0.5%CMC 生理食塩液に懸濁し，30, 100, 300 mg/kg を経口投与した 30 分後に Bromosulphalcin (BSP) 75 mg/kg を尾静脈より投与し，30 分後にエーテル麻酔下で頸静脈より採血し血清 BSP 濃度を定量して BSP 排泄能を測定した。

試験結果：

投与量(mg/kg)	対照(CMC 生食液)	30	100	300
BSP 排泄能	影響なし	影響なし	影響なし	抑制

(結論) 300 mg/kg 投与で BSP 排泄能の抑制を認めた。

以上の成績より、本検体は比較的大量投与により自発行動の抑制、自発運動量の低下、呼吸数増加、血圧下降、心拍数減少、BSP 排泄能抑制がみられた。これらはいずれも大量投与による非特異的作用と判断された。

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

2) 抗コリンエステラーゼ剤中毒に関する研究 :

有機リン殺菌剤 IBP 中毒に対するアトロピン、PAM の拮抗

(資料 A-38)

文 献 :

(東邦医会誌 35, 257-268, 1988.)

検体の純度 :

①有機リン化合物中毒ラットに対する解毒薬の救命効果

試験動物 : 雄性 Fischer 344 系ラット (体重 132~147 g), 1 群 5 匹

試験方法 : 有機リン化合物のラット 99.9%致死薬量 (イプロベンホス 813 mg/kg, Parathion 6.6 mg/kg) を 1 回経口投与し、イプロベンホス投与後 12 時間後に atropine sulfate (アトロピン) 30~520 mg/kg(SC)、pyridine 2-aldoxime methiodide (PAM) 15~90 mg/kg(iv) を、Parathion 投与後 1 分以内にアトロピン 10~260 mg/kg(SC)、PAM 7.5~90 mg/kg(iv) を投与し、各々解毒薬の 50%生存薬量 (SD<sub>50</sub>) を求めた。

試験結果 :

投 与 群	iprocnpfos +アトロピン	ipobenphos +PAM	Parathion +アトロピン	Parathion +PAM
SD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	110 (60~201)	救命効果なし	48 (28~83)	11 (5.3~22)

②有機リン化合物阻害 Acetylcholinesterase (AChE) 活性に対する PAM の回復効果

試験動物 : 雄性日本白色種ウサギ (体重 2.1~2.4 kg), 1 群 5 匹

試験方法 : 有機リン化合物のウサギ血中 AChE 活性を 50%以上低下させる薬量 (イプロベンホス 250 mg/kg, Parathion 10 mg/kg) を 1 回経口投与後、PAM 100 mg/kg (iv) を 24 時間内に 1~3 回投与し、AChE 活性の回復を観察した。

試験結果 :

投 与 群		イプロベンホス +PAM	Parathion +PAM
AChE 活性	赤 血 球	35~52%	65~86%
回復率*	血 漿	8~15%	64~76%

\*PAM 投与後 1 時間における数値

以上の成績より、イプロベンホスによる中毒に対し、アトロピンの救命効果は認めしたが、PAM の救命効果はなく、AChE 活性回復率も Parathion 中毒に対するものよりかなり低かった。

従って、イプロベンホスによる急性中毒の場合、アトロピン療法を中心に治療がなされるべきと考えられた。

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

イプロベンホス (IBP) 「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験対象 (試験動物)	検査項目	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 (マウス)	一般症状を Irwin 法に 準じ、観察	経口 (0.5% CMC)	100,300, 1000	雄 10	1000	300	よろめき歩行、流涎
	アトピン、ケ ルチオンおよ び PAM の 解毒効果		1600 ~ 6104	雄 5	—	—	アトピン処理により、 IBP の LD50 値は僅か に上昇し、延命効果も みられた。ケルチオンと PAM の効果はなかつ た。
	自発運動量 を測定		100,300, 1000	雄 10	1000	300	10 分後有意な低下、 140 分後有意な上昇が みられた。
循環器系 (ウサギ)	麻酔動物の 呼吸、血圧、 心拍数、心 電図測定 アセチルコリンお よびエピネフ リン反応への 影響	静脈注射 (生理食 塩液)	0.2, 1, 5, 25	雄 5	1	0.2	呼吸数一過性増加、呼 吸振幅および血圧一 過性減少、心拍数一過 性減少。 Ach および Epi 反応へ の影響はなかつた。
自律神経系 平滑筋への 作用 (モレット、 ラット)	摘出回腸の 収縮薬に対 する反応に 及ぼす影響	浸漬 Locke- Ringer 液	$10^{-6}$ ~ $3 \times 10^{-4}$ g/ml	雄モル モット 5 ~ 6	$10^{-5}$ g/ml	$10^{-6}$ g/ml	アセチルコリンおよびヒスタミン による収縮に対し抑制 的に作用した。
	摘出子宮の 収縮薬に対 する反応に 及ぼす影響			雌ラッ ト 5 ~ 6	$10^{-5}$ g/ml	$10^{-6}$ g/ml	アセチルコリンおよびオキトシン による収縮に対し抑制 的に作用した。
肝機能 (ラット)	BSP 排泄能	経口 (0.5% CMC)	30, 100, 300	雄 10	300	100	BSP 排泄抑制がみら れた。

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

3) ヒトを用いた 21 日間経口投与コリンエステラーゼ活性試験 (資料 A-17)

試験機関:

報告書作成年: 1976 年

検体の純度:

被験者数: ヒト、1 群 6 人 (総被験者: 男 25、女 5 名)

年齢: 男 18~56 才、女 33~61 才、体重: 男 54.8~94.2 kg、女 53.8~79.0 kg

試験期間: 投与開始前 7 日間+投薬期間 21 日間+回復期間 17 日間

投与方法: 検体はパイナップル果汁中に懸濁し、1 日あたり薬物摂取量が 0, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg/day となるよう、午前と午後に 1 回ずつ被験者に飲ませた。試験は二重盲検法にて実施した。検体が苦味を有していたので、対照被験者への試料にも同じ味を与えるため硫酸キニンを添加した。

群別人数・平均年齢/体重:

用量群 (mg/kg/day)	0	0.01	0.03	0.1	0.3
人数/性別	男 6	男 6	男 5 女 1	男 2 女 4	男 6
平均年齢	27	26	33	41	29
平均体重	71.2	74.0	71.6	65.5	77.7

試験項目および試験結果:

一般症状; 各被験者は投薬時に症状を報告させた。また、週 1 回の身体検査時に問診した。  
検体投与に関連する症状は認めなかった。

血液学、生化学および尿検査; 投薬期間の 0, 7 および 21 日目に採取した静脈血または尿を用い、以下の検査を行った。

血液学検査; ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、白血球数、白血球像、血小板数

生化学検査; 尿素、糖、総コレステロール、ビリルビン、総蛋白、蛋白分画、GOT、GPT、ALP、LDH、電解質

尿検査 ; pH、比重、蛋白、糖、沈渣

各検査の試験結果、0.1 および 0.3 mg/kg/day 群の 21 日目血小板数が対照群と比較して有意に減少したが、その後の確認試験により、これらの差は明確なものではないことがわかった。その他の検査項目については、検体投与に関連する変化は認めなかった。

血液コリンエステラーゼ活性検査; 試験期間を通して採取した静脈血を用い、血漿、血清、全血および赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。次頁に各群の投与前活性値に対する割合 (%) の表を示す。

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

コリンエステラーゼ活性(各群平均値の投与前平均活性に対する割合%)

項目	投与量 (mg/kg/day)	投与後日数							回復期 (2~14日、範囲)
		1	2	4	7	10	14	21	
血漿	0	92	91	89	101	102	85	86	78~98
	0.01	100	87	79	98	99	84	86	83~97
	0.03 <sup>a)</sup>	99	97	87	93	103	87	92	77~101
	0.1 <sup>b)</sup>	90	92	102	90	86	79	78	78~103
	0.3	82	90	82	86	77	70	79	75~95
血清	0	111	102	101	81	106	83	80	73~97
	0.01	101	103	102	97	103	86	80	78~105
	0.03	103	104	111	90	108	89	76	82~97
	0.1	101	94	113	74	82	100	85	82~99
	0.3	83	83	80	80	74	74	77	68~88
全血	0	98	125	111	109	102	119	113	103~116
	0.01	104	100	105	91	111	126	109	100~117
	0.03	104	94	104	91	113	104	96	97~112
	0.1	109	109	141	109	103	110	119	90~113
	0.3	99	87	101	91	109	106	97	96~104
血球	0	111	73	84	82	100	98	102	95~111
	0.01	112	67	89	90	106	101	89	89~106
	0.03	101	69	87	72	89	95	96	94~104
	0.1	88	128	112	106	108	108	105	103~109
	0.3	114	102	94	111	111	105	101	104~113

a) ♂5 ♀1    b) ♂2 ♀4    他はすべて♂6

血液コリンエステラーゼ活性検査の試験結果、血漿では0.1 mg/kg/day 以上の群、血清では0.3 mg/kg/day 群で対照群と比較して減少傾向がみられたが、最低でも投与前値の70%は確保されており、減少程度は軽度であった。全血および赤血球についてなんら変化は認められなかった。

以上より、血液コリンエステラーゼ活性検査試験結果から考慮し、本試験における無作用量は0.03 mg/kg/day であると判断された。

(申請者註；現在では、血漿もしくは血清コリンエステラーゼの活性は薬物暴露の指標にはなるが、毒性影響の評価には適切ではないとの見解が一般的である。本試験では、血球コリンエステラーゼ活性が最高用量0.3 mg/kgにおいても低下が見られないことから、無毒性量は0.3 mg/kg/day と考えられる。)



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

## 2. 代謝物

### 1) 急性経口毒性およびラットコリンエステラーゼ活性試験 (資料A-18)

試験機関:

報告書作成年: 1976年

#### ①急性経口毒性試験

検体の純度: イプロベンホス (以下、IBP)

試験動物: Wistar系ラット、8周齢、平均体重: 雄 188±8g、雌 138±6g  
 一群雌雄各10匹

試験期間: 7日間観察

投与方法: 検体を0.25%CMC水溶液に懸濁し、胃ゾンデを用いて1回経口投与した。一般症状および死亡動物数を記録し、7日後のLD<sub>50</sub>を求めた。

試験項目および試験結果:

被検物質名	IBP			
動物種	ラット	ラット	ラット	ラット
投与方法	経口	経口	経口	経口
投与量 (mg/kg)	雄: 377, 490, 637, 828 雌: 290, 377, 490, 637	雌雄とも: 500, 1000, 2000	雌雄とも: 1000	雌雄とも: 1000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界値)	雄: 540(484~601) 雌: 522(422~645)	雄: >1000 雌: >2000	雌雄とも>1000	雌雄とも>1000
死亡開始時間 及び終了時間	開始時間不明 投与後3日に終了	開始時間不明 投与後2日に終了	死亡例無し	死亡例無し
症状発現及び 消失時間	投与直後から発現 投与後12時間に消失	投与直後から発現 消失時間不明	投与直後から発現 投与後1日に消失	投与直後から発現 投与後1時間に消失
死亡例の認められ なかった最高投与 量 (mg/kg)	雄: 377 雌: 290	雌雄とも: 500	雌雄とも: 1000	雌雄とも: 1000

中毒症状としてはIBP投与群では、うずくまり自発運動の低下、立毛、体温低下、呼吸促進、腹臥あるいは横臥、下痢、鼻出血等が観察された。

投与群では、うずくまり自発運動の低下、立毛、呼吸促進、下痢、鼻出血、削瘦等が観察された。投与群では、自発運動の低下が観察された。は、うずくまりが観察された。

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

② *in vitro* におけるコリンエステラーゼ活性阻害

検体の純度：イプロベンホス（以下、IBP）

試験酵素：ウシ赤血球コリンエステラーゼ（AChE, Sigma Chemical Co., 50 $\mu$ molar Unit）

雌ラット赤血球コリンエステラーゼ（自家調製）

雌ラット血清コリンエステラーゼ（自家調製）

雌ラット脳コリンエステラーゼ（自家調製）

雌ラット肝コリンエステラーゼ（自家調製）

試験方法：生理食塩水で希釈した各検体を用いた。酵素の阻害実験は前加温法を用いて実施した。酵素活性は Ellman らの DTNB 法による高感度コリンエステラーゼ測定法で測定した。阻害率は対照酵素の活性を 100 として算出し、50%阻害濃度 ( $I_{50}$ ) を求めた。

試験結果：

酵素	基質	50%阻害濃度 ( $I_{50}$ , Mol)			
		IBP			
ウシ赤血球	ASCh <sup>a)</sup>	$3.80 \times 10^{-5}$	$5.58 \times 10^{-4}$	$1.30 \times 10^{-2}$	0% $10^{-2}$
ラット赤血球	ASChI	$6.03 \times 10^{-5}$	$2.63 \times 10^{-5}$	0% $10^{-2}$	0% $10^{-2}$
ラット血清	ASChI	$1.86 \times 10^{-5}$	$2.95 \times 10^{-3}$	$5.20 \times 10^{-3}$	0% $10^{-2}$
ラット脳	ASChI	$3.92 \times 10^{-5}$	$7.00 \times 10^{-4}$	18% $10^{-2}$	0% $10^{-2}$
ラット肝	BuSCh <sup>b)</sup>	$1.82 \times 10^{-5}$	$4.09 \times 10^{-3}$	$2.12 \times 10^{-3}$	2% $10^{-2}$

a) ヨウ化アセチルチオコリン      b) ヨウ化ブチリルチオコリン

考 察： ラットを用いた急性経口毒性試験の試験結果、

および

は、いずれも親化合物

IBP より弱い毒性を示し、動物の生体内での代謝は解毒反応であることが確認された。また、*in vitro* コリンエステラーゼ活性阻害試験においても、各代謝物の抗コリンエステラーゼ作用は親化合物の IBP と比較して極めて弱いか、ほとんど阻害活性をもたないことが明らかとなり、このことから動物生体内での代謝は毒性が低下する方向に行なわれていることが確認された。

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

2) のラットにおける急性経口毒性

(資料A-63)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007年

検体の純度：

試験動物： Crl:CD(SD)系雌ラット 7週齢、体重 167.4~176.7g 1群3匹

試験期間： 14日間観察

試験方法： ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた検体を1回強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：300, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌：300~2000
死亡開始時間及び終了時間	2000 mg/kg： 投与後2日で全例死亡
症状発現時間及び消失時間	2000 mg/kg： 投与後6時間から発現
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：300

2000 mg/kg群での中毒症状としては、立毛、不規則呼吸、浅速呼吸、自発運動の低下、振戦、痙攣、瞳孔反射消失、鼻汁、横臥位、流涙、口の周囲の汚れ、体温下降、が見られた。300 mg/kg群では一般状態の異常は見られず、試験期間を通じて各動物の体重は順調に増加した。

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

3)                    のラットにおける急性経口毒性試験（毒性等級法）

（資料A-65）

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2008 年

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley (CrI:CD (SD)) 系雌ラット、8～9 週齢

体重：180～209 g、1 群 3 匹

試験期間：14 日間観察

試験方法：検体を注射用水に溶解し、300 mg/kg または 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に動物を約 17 時間または 18 時間絶食させた。

試験項目：中毒症状および生死を投与後 15 分、30 分、1 時間、3 時間、6 時間に、その後は 1 日 1 回、14 日間観察した。投与直前、投与翌日、投与 2, 3, 7, 14 日後に体重測定を行った。観察期間終了時に全生存動物を屠殺して肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：300, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 2000
死亡開始時間および終了時間	2000 mg/kg： 投与翌日に 1 例死亡
症状発現時間および消失時間	投与 1 時間後～投与翌日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：300
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：300

2000 mg/kg 群では、自発運動の低下、つま先歩行、よろめき歩行、半眼、閉眼、流涙、体温低下、立毛、円背位、緩徐呼吸、会陰部の汚れ、軟便が見られた。1 例が投与翌日に死亡した。残りの動物 5 例は投与 2 日後に上記の症状は消失し、試験終了まで生存した。

剖検では、死亡例で腺胃に黒色斑がみとめられ、胃壁からの出血痕である可能性を示した。生存例では、体重の減少や剖検での異常は認められなかった。

300 mg/kg 群では、観察期間を通して全動物とも一般状態および体重変化で異常はなく、さらに剖検でも異常は認められなかった。

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

4) のラットにおける急性経口毒性（毒性等級法）

（資料A-66）

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2008 年

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley (CrI:CD (SD)) 系雌ラット、8～9 週齢

体重：185～212 g、1 群 3 匹

試験期間：14 日間

試験方法：検体をオリブ油に溶解し、300 mg/kg または 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前に動物を約 18 時間絶食させた。

試験項目：中毒症状および生死を投与後 15 分、30 分、1 時間、3 時間、6 時間に、その後は 1 日 1 回、14 日間観察した。投与直前、投与翌日、投与 2, 3, 7, 14 日後に体重測定を行った。観察期間終了時に全生存動物を屠殺して肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：300, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌：> 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	2000 mg/kg 群で 投与後 3 時間～6 時間
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：300
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：2000

2000 mg/kg 群では、投与後 3 時間に 6 例中 3 例で軟便が見られたが、そのほかの動物ではなんら異常は認められなかった。体重変化および剖検では、異常は認められなかった。

300 mg/kg 群では、観察期間を通して全動物とも一般状態および体重変化で異常はなく、さらに剖検でも異常は認められなかった。

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

5) のネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-64)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は用量設定試験の結果から 39.1~2500 µg/plate の範囲で各 3 プレート反復とし、再現性を見るため 2 回試験を行った。

試験結果：結果を次ページの表に示した。

検体処理群では、S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群ではすべての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定された。

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

第1回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate (3反復の平均値)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 $uvrA$	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(DMSO)	0	—	124	12	98	12	14
	39.1	—	-	-	-	-	19
	78.1	—	-	12	78	11	20
	156.3	—	137	14	99	10	19
	312.5	—	131	14	96	8	20
	625	—	119	12	97	9	11*
	1250	—	94	5*	55*	3*	-
	2500	—	69*	-	-	-	-
陽性 対照	SA	1.5		327	480		
	ENNG	1.0	—	538			
	2-NF	5.0	—				598
	9-AA	80.0	—			442	
対照(DMSO)	0	+	116	9	120	10	24
	39.1	+	-	-	123	-	26
	78.1	+	-	9	126	11	21
	156.3	+	112	12	123	9	26
	312.5	+	106	10	103	8	22
	625	+	86	8	69*	11	7*
	1250	+	102	3*	-	1*	-
	2500	+	56*	-	-	-	-
陽性 対照	2-AA	1.0	+		476		522
		2.0	+	463	176	117	

\* 生育阻害

陽性対照： SA Sodium azide  
 ENNG N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine  
 2-NF 2-Nitrofluorene  
 9-AA 9-Aminoacridine  
 2-AA 2-Aminoanthracene

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

第2回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate (3反復の平均値)				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 <i>uvrA</i>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(DMSO)	0	—	108	15	102	8	24
	39.1	—	-	-	-	-	23
	78.1	-	-	14	111	5	25
	156.3	—	107	10	115	7	21
	312.5	—	107	11	100	7	21
	625	—	108	13	111	8	14 *
	1250	—	111	6 *	65 *	2 *	-
	2500	—	75 *	-	-	-	-
陽性 対照	SA	1.5		352	534		
	ENNG	1.0	—	658			
	2-NF	5.0	—				571
	9-AA	80.0	—			449	
対照(DMSO)	0	+	109	11	108		22
	39.1	+	-	-	108		22
	78.1	+	-	14	103		27
	156.3	+	112	14	120		26
	312.5	+	106	12	110		23
	625	+	110	14	71 *		16 *
	1250	+	111	5 *	-		-
	2500	+	68 *	-	-		-
陽性 対照	2-AA	1.0	+		447		476
		2.0	+	495	186	186	

\* 生育阻害

陽性対照 : SA Sodium azide  
 ENNG N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine  
 2-NF 2-Nitrofluorene  
 9-AA 9-Aminoacridine  
 2-AA 2-Aminoanthracene



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

6) の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料A-67)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2008 年

検体の純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、フェノバルビタール/5,6-ベンゾフラボンで薬物代謝酵素系を誘導した雄ラットの肝臓から調製した代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らのプレインキュベーション法を用いて変異原性を検索した。

溶媒としてジメチルスルホキシドを用いて検体溶液を調製した。用量設定試験の結果を踏まえて、本試験では-S9 mix および+S9 mix の両条件とも 5000, 2500, 1250, 625, 312.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  で試験を実施した。尚、これらは検体の純度補正による用量である。

1 用量当り 2 枚のプレートを用い、陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に試験した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。

復帰変異コロニー数が陰性対照群の 2 倍以上に増加し、その結果に再現性および用量依存性が認められた場合、または単独な用量で陰性対照群の 2 倍以上に増加し再現性が認められた場合を陽性と判定した。

用量設定根拠: 用量設定試験を S9 mix 存在下および非存在下のいずれも 5000, 1667, 555.6, 185.2, 61.7, 20.6, 6.86  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量で実施した。その結果、各試験菌株において復帰変異コロニー数の増加は認められず、また、生育阻害および検体の沈殿は認められなかった。以上の結果から、S9 mix 非存在下および存在下ともに 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  を最高用量として、公比 2 で上記の 5 用量を設定した。

結果: 結果を次表に示した。検体処理群では、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本検体は、代謝活性化系を含む本試験条件下における遺伝子突然変異誘発性は、陰性と判断された。

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

1. 用量設定試験の結果

(表中の値は plate 2 枚の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvr4	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)		-	131	11	28	22	9	
	6.86	-	139	9	28	25	6	
	20.6		141	8	28	27	6	
	61.7	-	133	13	28	24	6	
	185.2	-	127	12	26	24	4	
	555.6		138	14	23	22	8	
	1667	-	131	12	28	24	8	
	5000	-	110	12	34	20	4	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	447		208		
	SA	0.5	-		404			
	AF-2	0.1					337	
	9-AA	80	-					289
溶媒対照 (DMSO)	-	+	153	13	32	36	16	
	6.86	+	162	15	31	38	14	
	20.6	+	159	12	23	33	10	
	61.7	+	158	13	35	45	17	
	185.2	+	171	7	30	39	16	
	555.6	+	177	11	29	30	16	
	1667	-	167	15	28	41	10	
	5000	-	155	10	32	42	9	
陽 性 対 照	2-AA	0.5	+				547	
		1	+	1107				
		2	+		303			337
		10	+			1098		

(陽性対照群の空欄は試験の該当がない。)

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

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

## 2. 本試験の結果

(表中の値は plate 2 枚の平均値、溶媒対照群は 3 枚の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	122	12	24	22	8
	312.5	-	142	13	27	21	7
	625	-	129	10	24	19	10
	1250	-	131	10	22	22	9
	2500	-	140	12	24	20	8
	5000	-	126	12	22	18	9
陽性 対照	AP-2	0.01	420	404	191	391	300
	SA	0.5					
	AP-2	0.1					
	9-AA	80					
溶媒対照 (DMSO)	-	+	146	10	27	29	17
	312.5	+	168	12	24	34	17
	625	+	154	11	33	36	14
	1250	+	155	10	22	40	17
	2500	+	153	9	29	37	13
	5000	+	164	8	26	38	17
陽性 対照	2-AA	0.5	1058	259	1084	527	321
		1					
		2					
		10					

(陽性対照群の空欄は試験の該当がない。)

AP-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

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

7) の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料A-68)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、フェノバルビタール/5,6-ベンゾフラボンで薬物代謝酵素系を誘導した雄ラットの肝臓から調製した代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らのプレインキュベーション法を用いて変異原性を検索した。溶媒はジメチルスルホキシドを用い、検体溶液を調製した。用量設定試験の結果を踏まえて、本試験では-S9 mix および+S9 mix の TA98 および TA1535 株、ならびに+S9 mix の TA1537 株では、5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.3  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、-S9 mix および+S9 mix の TA100 株ならびに-S9 mix の TA1537 株では 5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.3, 78.1, 39.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、-S9 mix および+S9 mix の WP2uvrA 株では 5000, 2500, 1250, 625, 312.5  $\mu\text{g}/\text{plate}$  で試験を実施した。1 用量につき 2 枚のプレートを用い、陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37°C で 48 時間培養後、復帰変異コロニー数を計数した。

復帰変異コロニー数が陰性対照群の 2 倍以上に増加し、その結果に再現性および用量依存性が認められた場合、または単独な用量で陰性対照群の 2 倍以上に増加し再現性が認められた場合を陽性と判定した。

用量設定根拠：用量設定試験を S9 mix 存在下および非存在下のいずれも 5000, 1667, 555.6, 185.2, 61.7, 20.6, 6.86  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量で実施した。各試験菌株において復帰変異コロニー数の増加は認められず、TA98, TA100, TA1535 ならびに TA1537 株の高用量域では復帰変異コロニー数の減少が認められた。なお、生育阻害ならびに検体の沈殿は認めらなかった。

以上の結果から、S9 mix 非存在下および存在下ともに 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  を最高用量として、公比 2 で上記の各用量を設定した。

結果：結果を次表に示した。検体処理群では、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。TA98, TA100, TA1535 および TA1537 株の高用量域で見られた復帰変異コロニー数の減少は、コロニー形成の阻害作用が誘発された可能性を示唆した。一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本検体は、代謝活性化系を含む本試験条件下における遺伝子突然変異誘発性は、陰性と判断された。

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

1. 用量設定試験の結果

(表中の値は plate 2 枚の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	—	-	94	8	21	18	8	
	6.86	-	109	13	21	14	3	
	20.6	-	101	8	20	16	8	
	61.7	-	106	7	24	22	2	
	185.2	-	83	9	24	15	4	
	555.6	-	81	7	29	18	8	
	1667	-	39	7	26	10	0	
	5000	-	0	0	21	0	0	
陽性 対照	AF-2	0.01	447	404	208	337	289	
	SA	0.5						
	AF-2	0.1						
	9-AA	80						
溶媒対照 (DMSO)	—	-	136	11	26	31	12	
	6.86	+	137	12	31	34	15	
	20.6	+	140	12	23	28	15	
	61.7	+	143	9	27	33	13	
	185.2	+	119	11	32	30	18	
	555.6	+	101	11	31	33	11	
	1667	-	55	6	31	32	8	
	5000	+	0	0	23	0	0	
陽性 対照	2-AA	0.5	+	1107	303	1098	547	337
		1	+					
		2	+					
		10	+					

(陽性対照群の空欄は試験の該当がない。)

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

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

## 2. 本試験の結果

(表中の値は plate 2 枚の平均値、溶媒対照群は 3 枚の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	W12uvrA	TA98	TA1537	
溶媒対照 (DMSO)	—	—	109	12	22	19	9	
	39.1	—	116	-	-	-	8	
	78.1	—	130	-	-	-	5	
	156.3	—	114	14	-	23	7	
	312.5	—	108	8	15	14	6	
	625	—	98	8	20	16	11	
	1250	—	61	8	24	11	6	
	2500	—	26	5	20	6	0	
	5000	—	0	0	23	0	0	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	420	—	191	—	—
	SA	0.5	—	—	404	—	—	—
	AF-2	0.1	—	—	—	—	391	—
	9-AA	80	—	—	—	—	—	300
溶媒対照 (DMSO)	—	—	124	14	24	34	18	
	39.1	—	116	-	-	-	-	
	78.1	—	144	-	-	-	-	
	156.3	—	125	9	-	33	9	
	312.5	+	119	14	24	38	19	
	625	+	95	8	26	25	9	
	1250	+	77	7	22	22	6	
	2500	+	43	9	22	11	3	
	5000	+	0	1	23	0	0	
陽 性 対 照	2-AA	0.5	+	—	—	—	527	—
		1	+	1058	—	—	—	—
		2	+	—	259	—	—	321
		10	+	—	—	1084	—	—

(陽性対照群の空欄は試験の該当がない。)

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

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

### 3-1. 製剤 (17%粒剤; キタジン P 粒剤)

#### (1) 急性経口および経皮毒性

マウス及びラットにおける急性経口、ラットにおける経皮毒性試験 (資料A-42)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体: 17.0%粒剤

[組成] イプロベンホス (IBP) : 17.0%  
鋳物質微粉等 : 83.0%

試験動物 : CD-1 系マウス、10~12 週齢、体重:雄 30~33 g 雌 25~29 g、1 群雌雄各 5  
SD 系ラット、7~11 週齢、体重:雄 145~185 g 雌 148~161 g、1 群雌雄各 5

試験期間 : 14 日間観察

方法 : 経口投与では、検体を粉砕せずにそのまま蒸留水で調製し、ラット、マウスに強制経口投与した。  
経皮投与では、検体を粉砕せずにそのまま蒸留水で湿してラットの刈毛した背中に 24 時間塗布した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。  
体重は投与直前、投与後 8 日および試験終了日に測定した。  
試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

動物/投与方法	マウス/経口
投与量 (mg/kg)	雌雄: 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも: >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例無し
症状発現時間及び消失時間	中毒症状無し
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも: 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも: 5000

試験期間を通じて中毒症状は認められなかった。

体重は順調に増加した。試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

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

結果の続き

動物/投与方法	ラット/経口
投与量 (mg/kg)	雌雄：5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも：>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例無し
症状発現時間及び消失時間	中毒症状無し
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも：5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも：5000

試験期間を通じて中毒症状は認められなかった。

体重は順調に増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

動物/投与方法	ラット/経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄：2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも：>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例無し
症状発現時間及び消失時間	中毒症状無し
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも：2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも：2000

試験期間を通じて中毒症状は認められなかった。

体重は順調に増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。



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

(2) 眼及び皮膚への刺激性

1) ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料A-49)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体：17.0%粒剤

[組成] イプロベンホス (IBP) : 17.0%

鋳物質微粉等 : 83.0%

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、体重：2.34～5.20 kg、一群雌各6匹

試験期間：7日間観察

方 法：検体0.1gを微粉末にすりつぶし、右眼に投与した。左眼は無処置とし対照とした。  
洗眼群については点眼2分後に微温水道水で洗眼した。

試験項目：点眼後1, 24, 48, 72時間後、4および7日後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、  
Draize J.H.の評点法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の群平均点は以下のとおりである。

群	項 目		最高 点	投 与 後 時 間					
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
非洗眼群 (6例 平均)*	角膜	程度	4	0	0.7	0.7	0.3	0.2	0
		混濁 範囲	4	0	2.3	1.7	0.5	0.3	0
	虹 彩		2	0	1	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.3	2.0	0.8	0.7	0.2	0
		浮腫	4	1.7	1.8	0.5	0.3	0.2	0
		分泌物	3	1.8	0.7	0.2	0	0	0
	合計			110	9.7	25.7	11.3	6.2	2.3
洗眼群 (6例 平均)*	角膜	程度	4	0	0	0	0		
		混濁 範囲	4	0	0	0	0		
	虹 彩		2	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	0.8	0	0	0		
		浮腫	4	0	0	0	0		
		分泌物	3	0.7	0	0	0		
	合計			110	3	0	0	0	

\* ; 申請者が計算した各群の平均値

非洗眼群では結膜、虹彩、角膜に刺激性変化が認められたが、7日後には消失した。瞳孔の収縮が1時間後から1日後に観察されたが2日後には消失した。洗眼群では、軽度の結膜刺激が認められたが24時間後には消失した。

以上の結果より、本検体はウサギの眼に対し、中等度の刺激性ありと判断された。なお、洗眼効果が認められた。

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

2) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料A-52)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体：17.0%粒剤

[組成] イプロベンホス (IBP) : 17.0%  
          鉱物質微粉等 : 83.0%

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、体重：2.23～2.69 kg、一群6匹

試験期間：72時間観察

方 法：検体0.5 gを各動物の皮膚(約6 cm<sup>2</sup>)に塗布しガーゼ布で覆った。そのガーゼ布を不透過性の粘着テープで密閉固定した。塗布4時間後にガーゼをはがし、皮膚に残った検体は湿った紙タオルで拭き取った。

試験項目：検体除去後1、24、48および72時間後に塗布部位の刺激性の変化(紅斑および痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下のとおりである。

項 目	最高 値	投 与 後 時 間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑、痂皮	4	0	0.17	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0.17	0	0

注) 表の点数は申請者が計算した6例平均

皮膚刺激性反応は、24時間後に軽度の紅斑が1例で認められた。その他の動物では刺激性は認められなかった。その結果、一次刺激率0.08が得られた。

以上の結果より、本検体はウサギの皮膚に対し軽度の刺激性があると判断された。

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

### (3) 皮膚感作性

モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料A-55)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1986年

検体: 17.0%粒剤

[組成] イプロベンホス (IBP) : 17.0%  
鋳物質微粉等 : 83.0%

試験動物 : Hartley系モルモット、体重: 雌 311~441 g

検体の試験群、陰性対照群および陽性対照物質試験群とも 1 群 20 匹

試験期間 : 23 日間

方法 : [Maximization 法]

検体処理濃度は で行なった予備試験より決定した。すなわち、  
経皮処理では処理可能最高濃度を考慮しつつ、刺激性を示さなかった最高濃度とした。

感 作 : 皮内投与—モルモット肩部を刈毛し、以下の 3 組の皮内注射を刈毛した部分に左右対照に  
0.1 ml ずつ処理した。

1) IBP 粒剤 5.0%(w/v)の蒸留水懸濁液

2) Complete adjuvant(50%v/v の蒸留水溶液)

3) Complete adjuvant 50%v/v 溶液中の IBP 粒剤 5.0% (w/v)の懸濁液

陽性対照物質として 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンを用い、以下の 3 組の皮内注射を 0.1 ml ずつ実施した。

1) 5.0%w/v 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンのコーン油溶液

2) Complete adjuvant(50%v/v のコーン油溶液)

3) Complete adjuvant 50%v/v コーン油溶液中の 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 5.0%(w/v)の懸濁液

経皮処理—皮内注射 7 日後、同じ肩部を再度刈毛し、被験物質 0.3 g をそのまま塗布し濾紙のパッチをかぶせ、閉塞テープで固定して 48 時間放置した。

陰性対照群には溶媒のみ処理した。陽性対照群には 0.1%(w/v) 1-chloro-2,4-dinitrobenzene のコーン油溶液を同様に処理した。

惹 起 : 経皮処理後 14 日目に検体試験および対照群には、検体の 0.3 g をそのまま 2×2 cm の濾紙につけて塗布し、感作が起こるまで放置した。

陽性対照群には 0.1% w/v 1-chloro-2,4-dinitrobenzene のコーン油溶液(0.3 ml)を試験群と同様に処理した。閉塞材料は 24 時間後に取り除いた。

観 察 : 惹起後 24 および 48 時間に適用部位の反応を肉眼的に観察し、皮膚感作性を判定した。

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

結果 : 以下に検体および陽性対照群の惹起後の皮膚反応表を示す。

群	惹起時濃度	観察時間 (hr)	皮膚反応スケールと 症状を示した匹数					陽性動物数
			0	0.5	1	2	3	
検体投与	0.3g	24	20	0	0	0	0	0/20
		48	20	0	0	0	0	0/20
陰性対照	0.3g	24	19	0	1	0	0	1/20
		48	19	1	0	0	0	0/20
陽性対照	0.1% 0.3ml	24	5	12	3	0	0	3/20
		48	2	7	11	0	0	11/20

#### 皮膚反応スケール

0 - 反応なし

0.5 - 軽度のまだらの発赤

1 - 軽度であるが融合性のまだらの発赤または中等度のまだらの発赤

2 - 中等度の発赤

3 - 重度の発赤および浮腫

検体投与群では皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性対照群では明瞭な皮膚反応が認められた。

以上の結果、本検体の皮膚感作性は陰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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 3-2. 製剤 (3%粉剤; キタジン P 粉剤 30DL)

#### (1) 急性毒性

##### 1) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 A-43)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体:

[組成] イブロベンホス (IBP) : 3.0%  
 鉱物質微粉等 : 97.0%

試験動物 : CD-1 系マウス、5~8 週齢、体重: 雄 27~29 g 雌 23~27 g、1 群雌雄各 5

試験期間 : 14 日間観察

方法 : 検体を落花生油で懸濁させ、強制経口投与した。  
 試験前 3~4 時間絶食させた。

試験項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。  
 体重は投与直前、投与後 7 日および試験終了日に測定した。  
 試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも: 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界 mg/kg)	雌雄とも: >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例無し
症状発現時間及び消失時間	中毒症状無し
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも: 5000

試験期間を通じて中毒症状は認められなかった。

体重は順調に増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検で、雌 1 例に肝の白点が観察された。

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

2) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-44)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体：

[組成] イプロベンホス (IBP) : 3.0%  
鉍物質微粉等 : 97.0%

試験動物 : SD系ラット、5~8週齢、体重；雄 146~161g・雌 131~153g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を落花生油で懸濁させ、強制経口投与した。  
試験前一晩絶食させた。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。  
体重は投与直前、投与後7日、14日および死亡時に測定した。  
死亡時または試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも：5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界 mg/kg)	雌雄とも：>5000
死亡開始時間及び終了時間	投与後3日から開始 投与後3日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後4時間後から発現 投与後3日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：5000

中毒症状としてうずくまり、沈静、呼吸緩徐、呼吸困難、運動失調、閉眼、鼻眼周囲の汚れが認められた。生存動物では体重は順調に増加した。

死亡した雌1例の剖検で、肺出血、暗色肝、暗色腎、および胃非腺上皮の腐肉形成が認められた。試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は認められなかった。

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

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料A-46)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991年

検体：

[組成] イプロベンホス (IBP) : 3.0%  
 鉱物質微粉等 : 97.0%

試験動物 : SD系ラット、10~14週齢、体重:雄 216~237g・雌 206~256g  
 1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : ラットの背部(4×5cm)を剪毛し、検体を蒸留水で湿らせて塗布し状態で24時間暴露した。暴露後、検体を取り除き、塗布面を蒸留水で湿らせた脱脂綿で拭き取った。

試験項目 : 中毒症状、生死および皮膚反応を14日間観察した。  
 体重は投与直前、投与後7日および14日に測定した。  
 試験終了時の全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄とも：2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界 mg/kg)	雌雄とも：>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例無し
症状発現時間及び消失時間	中毒症状無し
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも：2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも：2000

試験期間を通じて中毒症状および皮膚反応は認められなかった。

体重は順調に増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は認められなかった。

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

(2) 眼及び皮膚に対する刺激性

1) ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料A-50)

試験機関：

〔GLP対応〕

報告書作成年：1991年

検体：

〔組成〕 イプロベンホス (IBP) : 3.0%  
 鉍物質微粉等 : 97.0%

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、体重：2.52～3.08 kg、一群9匹

試験期間：7日間観察

方法：検体0.1 gを右眼にそのまま投与した。左眼は無処置とし対照とした。  
 洗眼群については点眼2分後に微温水道水で洗眼した。

試験項目：点眼後1、24、48、72時間および7日後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize J.H.の評点法に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の群平均点は以下のとおりである。

群	項目		最高 点	投与後時間				
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日
非洗眼群 (6例 平均)*	角膜	程度	4	0	1.7	1.3	0.5	0
	混濁	範囲	4	2.7	1.7	1.3	0.7	0
	虹彩		2	1	0.7	0	0	0
	結膜	発赤	3	2.0	1.7	0.8	0.3	0
		浮腫	4	1.8	1	0.3	0	0
		分泌物	3	2.8	1	0.2	0	0
	合計		110	18.3	25.7	13.5	4	0
洗眼群 (3例 平均)*	角膜	程度	4	0	0	0	0	
	混濁	範囲	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0.7	0	0	0	
	結膜	発赤	3	2.0	0.8	0	0	
		浮腫	4	1.3	0	0	0	
		分泌物	3	2.3	0	0	0	
	合計		110	14.7	1.3	0	0	

\* ; 申請者が計算した各群の平均値

非洗眼群では結膜、虹彩、角膜に刺激性変化が認められたが、7日後には消失した。角膜光沢の曇りが4例で1時間後に認められたが24時間後には回復した。

洗眼群では、結膜、虹彩に刺激性変化が認められたが48時間後には消失した。

以上の結果より、本検体はウサギの眼に対し、中等度の刺激性ありと判断された。なお、洗眼効果が認められた。



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

2) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料A-53)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1991年

検体:

[組成] イプロベンホス (IBP) : 3.0%  
鋳物質微粉等 : 97.0%

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、約12~16週齢、体重: 2.49~2.70 kg、一群6匹

試験期間: 72時間観察

方法: 検体0.5 gをガーゼパッチ (6.3cm<sup>2</sup>) に塗布し剪毛した動物の背部の皮膚に4時間、半閉塞塗布した。塗布時間終了時に皮膚に残った検体は蒸留水に浸した脱脂綿で軽く拭き取った。

試験項目: 検体除去後1、24、48および72時間後に塗布部位の刺激性の変化(紅斑および痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は以下のとおりである。

項目	最高値	投与後時間			
		(1時間)	24時間	(48時間)	72時間
紅斑、痂皮	4	0.3	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0.3	0	0	0

注) 表の点数は申請者が計算した6例平均

24時間後および72時間後に判定した紅斑および浮腫の評点を用いて皮膚一次刺激指数を求めた。

非常にわずかな紅斑が1時間目の観察で2例に認められたが24時間後には正常であった。

以上の結果より、本検体はウサギの皮膚に対し刺激性なしと判断された。腐食性反応は認められなかった。

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

### (3) 皮膚感作性

#### 1) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料A-56)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1989年

検体:

[組成] イプロベンホス (IBP) : 3.0%  
鉍物質微粉等 : 97.0%

試験動物 : Dunkin-Hertrey系モルモット、約8~12週齢、体重: 305~385 g  
検体投与群; 1群雌20匹、検体対照群; 1群雌10匹  
陽性物質投与群及び対照群; 1群雌10匹

試験期間 : 30日間観察

方法 : [Buehler法]

用量設定根拠; 検体投与濃度は、予備試験より下記のように決定した。

感作濃度; 検体の75%、50%、25%、10%w/w落花生油希釈液0.5 mlをモルモットに6時間閉塞塗布した結果、最高濃度でも皮膚刺激性の徴候がみられなかったため、最高濃度を採選した。

惹起濃度; 検体対照群と同様の感作処理をした動物に、検体の75%、50%(w/w)落花生油調製液を6時間閉塞塗布した結果、最高濃度でも24および48時間後に皮膚刺激性の徴候がみられなかったため、これを選択した。

最高無刺激濃度確保のために75%調製液も同時処理する事とした。

感作 ; 検体投与群の剪毛した左腹側部に、検体の75%(w/w)落花生油希釈液0.5 mlを吸収綿(約15 mm×35 mm)に塗布し、6時間閉塞貼付した。一方、陽性対照物質投与群には2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)の0.25%(w/v)エタノール溶液を、同様に処理した。検体及び陽性物質群の対照群には溶媒のみを処理した。初回感作より7日後及び14日後に同様に計3回感作を行った。

惹起 ; 最終感作の14日後、検体投与群及び検体対照群の剪毛した右腹側部に、検体の75%(w/w)落花生油希釈液0.5 mlを吸収綿(約15 mm×35 mm)に塗布し、6時間閉塞貼付した。陽性物質投与群及び陽性物質対照群には、DNCBの0.1%(w/v)エタノール溶液を、同様に処理した。

観察 ; 惹起後24時間および48時間に適用部位の紅斑の有無等を肉眼的に観察し、皮膚感作性を判定した。

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

結 果 : 以下に検体および陽性物質群の惹起後の皮膚反応表を示す。

群	処理濃度		供試動物数	24時間				重症度	48時間				発生率	
				感作反応動物数					感作反応動物数					
	惹起			皮膚反応評点					皮膚反応評点					
	感作	惹起		0	1	2	3		0	1	2	3		
検体	75%	75%	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0/20
	落花生油		10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0/10
陽性対照	0.25%	0.1%	9	0	0	9	0	2.0	0	3	6	0	1.7	9/9
	落花生油		10	9	1	0	0	0.1	10	0	0	0	0	0/10

#### 皮膚反応スケール

- 0 反応なし
- 1 散在している軽度の発赤
- 2 中等度のび慢性発赤
- 3 強度の発赤と腫脹

試験第11日に陽性対照投与群で動物1匹に足欠損が認められたため屠殺した。この動物の欠落は試験の目的または完全性に影響を与えなかった。

24時間後および48時間後の観察時に、検体投与群及び対照群全ての動物で、いずれの濃度の惹起処置部位にも皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性物質投与群では、全例で陽性物質対照群を上回る皮膚反応がみられた。

以上の結果より、本検体の皮膚感作性は陰性と判断された。

## IX. 動植物および土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
B-1	動物代謝 (全身オートラジオグラフィ)	ラット	<sup>35</sup> S 標識イプロベンホス 1ml(20 $\mu$ Ci,10mg/ラット)を雄ラットに経口投与。投与後 6 および 24 時間の全身 ARG を作成	投与後 6 時間では胃、盲腸、小腸、肝臓、腎臓に分布。 投与後 24 時間で全身の放射能は著しく減少し、盲腸と消化管に僅かに認められた。	(1975)	208
	動物代謝 (吸収・分布および排泄)	ラット	<sup>35</sup> S 標識イプロベンホス 1ml(20 $\mu$ Ci,50mg/kg)を雄ラットに経口投与。尿および糞中排泄は経時的に測定、臓器内分布および血漿中濃度は、動物を 72 時間までに 7 回屠殺して、試料中放射能を測定して調べた。	排泄：投与後 6 時間で尿中 40%、糞中 2%、投与後 24 時間で尿中 85%、糞中 9%。血漿中濃度は投与後 6 時間に最高値を示し以後減少し、12 時間後では 1/2 以下となった。臓器中濃度は肝臓で最も高く、次いで腎臓、精巣、肺臓、脳に分布。投与後 3~6 時間で最大値を示し、その後減少した。		
		マウス	<sup>35</sup> S 標識イプロベンホス 0.5ml(20 $\mu$ Ci,200mg/kg)を雄マウスに経口投与。尿糞排泄は経時的に放射能を測定、臓器内分布および血漿中濃度は、動物を 72 時間までに 7 回屠殺して調べた。	排泄：投与後 6 時間で尿中 40%、糞中 12%、同 24 時間で尿中 67%、糞中 12%。血漿中濃度は投与後 3 時間で最高値を示し、12 時間後では 1/7 以下となった。主要臓器 (腎臓、肝臓、精巣、肺臓) 中濃度は投与後 3 時間で最大値を示し、6 時間後は 1/2 に減少した。		
	動物代謝 (代謝物の同定)	ラット	<sup>35</sup> S 標識イプロベンホス 50mg/kg (20 $\mu$ Ci,10mg/ラット)を雄ラットに経口投与。尿中代謝物を、水溶性画分は TLC 展開後メチル化して GC コロマトで、トルエン画分は TLC で同定。	全放射能の 99%が水溶性画分に、1%がトルエン画分中に分配された。水溶性画分の 54.0%が、21.1%が、14.3%が (合計 89.4%) であり、トルエン画分中の 31.7%が未変化体イプロベンホスで、そのほかは同定できなかった。		
B-6 (GLP)	植物代謝	イネ	イソプロピル-2- <sup>14</sup> C 標識およびベンゼン環-U- <sup>14</sup> C 標識イプロベンホス。粒剤は、両標識体を出穂 7 前に 1 回水面施用し、21 日後に茎葉部と根部を採取、69 日後の登熟期に収穫。DL 粉剤は、ベンゼン環標識体を収穫 21 日前に散布して登熟期に収穫。登熟期試料の玄米、わら、籾殻を分析。残留放射能を測定後、抽出・分画・非抽出画分の酸、アルカリ抽出、HPLC、TLC、LC/MS で代謝物を同定。	両標識体の粒剤処理 TRR：21 日後試料中では類似した。登熟期稲わら以外の試料中ではイソプロピル基標識体と比べベンゼン環標識体でかなり低濃度。粉剤処理 TRR：いずれの部位でも粒剤よりはるかに低濃度。 <sup>14</sup> C 主要残留物：親化合物、 、 、 。代謝は、 の、不安定な中間体の生成、と さらに は に、 は に酸化される。	(2007)	213

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
B-5 (GLP)	土壌代謝 (好氣的湛水土壌)	水田土壌	イソプロピル-2- <sup>14</sup> C およびベンゼン環-U- <sup>14</sup> C イプロベンホス： 処理濃度 8.5ppm、25℃で184日間培養。水層および土壌層に分離してHPLCまたはTLCにより代謝物の定量または同定/特徴付を実施、土壌残留物のフルボ酸、腐植酸およびフミン画分の放射能を測定。	物質収支；イソプロピル基標識体で94.2%、ベンゼン環標識体で93.8%。一次速度式による半減期は、イソプロピル基標識体で201日、ベンゼン環標識体で165日、代謝物として  が同定され、が主要代謝物で184日後に処理量の18.2%を示した。	(2007)	219
C-4 (GLP)	加水分解運命	緩衝液 pH 4, 7, 9	ベンゼン環-U- <sup>14</sup> C イプロベンホス、試験濃度 5µg/ml、25℃で32日間、経時的に緩衝液試料を採取して放射能を測定、HPLCまたは一部TLCで分析。	物質収支回収率は99~100%、32日後の親化合物の回収率は90.1%~91.3%、が8.9%~9.7%生成、一次速度式による推定半減期は各pHで差がなく207日~209日。	(2007)	225
C-5 (GLP)	水中光分解運命	滅菌蒸留水 滅菌河川水	ベンゼン環-U- <sup>14</sup> C イプロベンホス、試験濃度 5 mg/L、キセノン光源で290 nm以下の波長をカット、25℃で120時間照射。経時的に試料を採取して放射能を測定、HPLCまたはLC-MSで分解物を分析。	物質収支はほぼ90%以上。照射区120時間後の親化合物の残存率は、蒸留水区で81.8%、自然水区で55.1%。自然水中分解に光増感物質が関与と考察。最も多い分解物は で 7.8%。分解経路は ～ 部位の 等。	(2007)	228
C-3 (GLP)	土壌吸着	4土壌	非標識イプロベンホス 48時間平衡化を行い、吸着係数を求めた。	Fleundlichの吸着等温式により求めた $K_{Fads,OC}$ は； ：253、：247、： 580、：295、であった。	(2000)	233
C-6 (GLP)	魚類生物濃縮性	コイ 7.3~10.1 cmの当歳魚	イプロベンホス原体を供試、供試魚数：曝露群29尾/群、対照群13尾/群、流水式装置を使用、水温24.1~25.0℃、28日間曝露、曝露濃度；0.944および9.44 µg/L、GC-MS法で分析、脂質含量を魚体分析時に測定した。	魚体中および試験水中の被験物質濃度は、各濃度区、各試料採取日ともほぼ一定濃度で推移した。高濃度区の定常状態における平均試験水中濃度は設定値の102%であり、濃縮係数BCF <sub>ss</sub> は9.44 µg/L区で11、0.944 µg/L区で14であった。魚体中の脂質含量は2.58%~4.75%であった。	(2007)	236

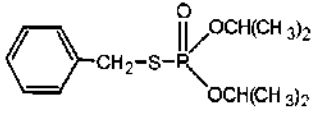
本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

【参考資料】

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
B-2	植物代謝	稲	<sup>32</sup> P 及び <sup>35</sup> S 標識 IBP 処理； ① 茎葉散布(2回) ② 水面施用(2回) 分析；散布直後から経時的に濃度を分析 代謝物同定；稲体から抽出した水溶性画分、トルエン画分の代謝物を同定	茎葉散布並びに成苗初期の水面施用では散布後直ちに葉身部の本剤濃度に換算し最高値 23ppm に達し、その後減少。 成苗後期の水面施用では処理後 10 日で最大値 10ppm となりその後減少。 水溶性画分で を同定。トルエン画分で 及び を同定。	(1973)	239
B-3	土壌代謝 (土壌カラム)	3 種 土壌	<sup>32</sup> P 及び <sup>35</sup> S 標識 IBP 砂土、クレイ土、火山灰土の 3 種の土壌カラム	垂直移動は砂土>クレイ土>火山灰土の順番であった。 リーチングカラムでは砂土、クレイ土ではトルエン可溶性画分として大部分がリーチングした。火山灰土ではリーチングは僅かであった。	(1976)	243
	土壌代謝 (容器内)	3 種 土壌	<sup>32</sup> P 及び <sup>35</sup> S 標識 IBP 砂土、クレイ土、火山灰土の 3 種を使用、クレイ土では嫌気並びに滅菌土の条件を加えた。 200 μg の本剤を 10ml の水に溶解し、20g の各種土壌を加え 5ml の水を加え好気条件とした。嫌気条件はさらに 15ml の水を加えた。処理後経時的に分析。	好気土壌におけるトルエン画分での放射能の減少は砂土>クレイ土>火山灰土の順序であった。嫌気土壌では減少が遅く、滅菌土壌では減少しなかった。 が検出された。		245
B-4	いもち菌代謝	いもち菌	<sup>32</sup> P 及び <sup>35</sup> S 標識 IBP、 <sup>35</sup> S 標識 IBP 感受性・抵抗性いもち菌を用い 3 μg/ml、50 μg/ml 処理し、27°C でインキュベーションし、経時的に分析。	薬剤処理後速やかに投与放射能は培地中に認められる。培地中水溶性画分には が代謝物として同定された。その他 4 種の代謝物が同定された。 トルエン画分では の が認められた。	(1971)	248
C-1	紫外線分解		非標識 IBP 石英試験管内壁に薄膜状に付着させ紫外線照射して生成分解物を同定。	トルエン画分で 9 つの分解物を同定。水溶性画分で 2 つの分解物を同定。	(1976)	250

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

<代謝物・分解物一覧表>

記号	由来	化学名	構造式
	親化合物	<i>S</i> -benzyl <i>O,O</i> -diisopropylphosphorothioate	
	動物 植物 [土壌]		
	[動物] 植物 土壌		
	動物 植物 土壌 加水分解		
	動物 植物		
	[動物] 植物		
	植物		
	[動物] 植物		
	土壌		
	土壌		
	光 [動物]		

(つづく)

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

記号	由来	化学名	構造式
	光 [動物]		
	光		
	光		
	光		
	[動物]		
	[動物]		
	[動物]		
	[動物]		
	[動物]		
	[動物]		
	[動物]		
	[土壤]		

「」；推定または未検出



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

<代謝分解物記号対照表>

資料番号	報告書中で用いている代謝分解物の記号、名称	抄録中で用いた記号
B-1		
B-6		
B-5		
C-4		
C-5		

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

1.  $^{35}\text{S}$  標識イプロベンホスを用いたラット・マウス体内における代謝試験 (資料B-1)

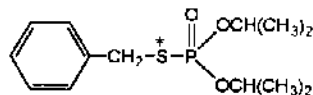
試験機関:

報告書作成年: 1975 年

供試標識化合物: チオリン酸部分を  $^{35}\text{S}$  で標識した。

化学名:  $^{35}\text{S}$  S-benzyl O,O-diisopropyl phosphorothioate

構造式:



\* 標識位置

比放射能: mCi/mmol

放射化学的純度:

(1) ラット全身オートラジオグラフィによる生体内分布

供試動物: Wistar 系雄ラット (6 週齢)、平均体重 200 g

方法:

飼育管理: 温度  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$  で水と飼料を自由に与えて飼育した。

投与:  $^{35}\text{S}$  標識体 86 mg および非標識体 291.4 mg をオリーブ油 30 ml に混合し、経口ゾンデを用いてその 1 ml (20  $\mu\text{Ci}$ , 10 mg/ラット、50 mg/kg 相当) を経口投与した。

試料採取: ラットを投与後 6、24 時間にエーテル麻酔し、 $-50^{\circ}\text{C}$  のドライアイス-アセトン中で凍結死させた。定法に従い全身凍結切片を作成し、乾燥後 X 線フィルムを用いて全身オートラジオグラムを作成した。

結果:

投与後 6 時間では放射能は胃、盲腸および小腸の内部に多く分布し、ついで肝臓と腎臓中に見られたが、その他の臓器にはほとんど認められなかった。投与後 24 時間で全身の放射能は著しく減少し、盲腸と消化管にわずかに認められたに過ぎなかった。

(2) ラット、マウスにおける吸収、分布および排泄

供試動物: Wistar 系雄ラット (6 週齢)、平均体重 200 g

ddY 系雄マウス (6 週齢)、平均体重 20 g

方法:

飼育管理: 温度  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 5\%$  で水と飼料を自由に与えて飼育した。

投与: ラットには標識体 78 mg および非標識体 222 mg をオリーブ油 30 ml に混合し、その 1 ml (20  $\mu\text{Ci}$ , 10 mg/ラット、50 mg/kg 相当) を経口投与した。

マウスには標識体 78 mg および非標識体 42 mg をオリーブ油 15 ml に混合し、その 0.5 ml (20  $\mu\text{Ci}$ , 4 mg/マウス、200 mg/kg 相当) を経口投与した。

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

試料採取；

**尿糞排泄** 投与後 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72 時間に自然排泄尿と糞を採取した。尿は水で希釈し、その 1 ml をシンチレーションカウンターで測定した。糞は湿重量の 3 倍量の 70% アセトンを加えガラスホモジナイザーで磨砕均質化し遠心分離した。同じ抽出操作を 3 回繰り返す、70% アセトン減圧下でアセトンを留去し、水層 1 ml をシンチレーションカウンターで測定した。

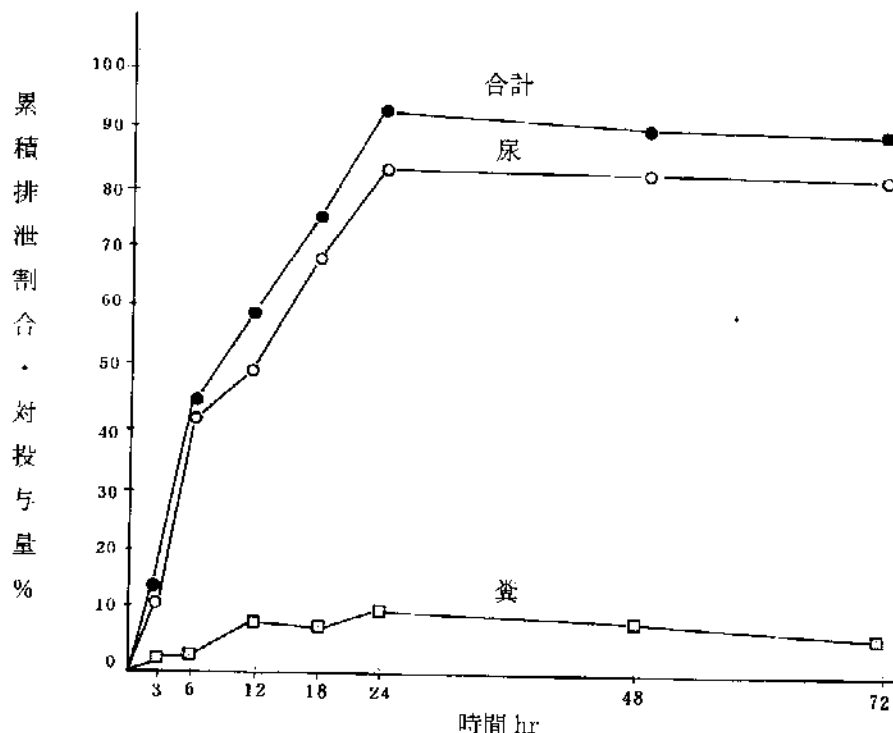
**血中濃度** 投与後 3, 6, 12, 18, 24, 48, 72 時間に屠殺し、採血ののち各臓器・組織を摘出した。全血は 3 倍量の生理食塩水で希釈し、遠心分離後血球と血漿に分離し、血漿層 1 ml をシンチレーションカウンターで測定した。

**組織内分布** 摘出した臓器を生理食塩水で洗浄後、3 倍量の 70% アセトンを加えガラスホモジナイザーで磨砕均質化し遠心分離した。同じ抽出操作を 3 回繰り返す、70% アセトン減圧下でアセトンを留去し、水層 1 ml をシンチレーションカウンターで測定した。

結 果：

①ラットの結果

投与後 6 時間までの尿中に 40%、糞中に 2%、投与後 24 時間までの尿中に 85%、糞中に 9% の放射能が排泄された。排泄は 24 時間でほぼ完了し、放射能の大部分は尿中に排泄され、糞中への排泄はわずかであった。(下図は n=2 の平均値)



組織内分布は各臓器重量 1 g(血漿 1 ml) に分布する  $^{35}\text{S}$  量を親化合物に換算して下表に示した。投与後 3 時間の放射能は肝臓、腎臓、精巣、肺、脳、血漿に多く分布した。各臓器の放射能は投与後 6 時間で最大値を示し、血漿レベルの減少とともに経時的に減少した。血漿中濃度の  $T_{\text{max}}$  は 6 時間、 $T_{1/2}$  は 12 時間以内と考えられた。

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

<sup>35</sup>S 標識イプロベンホス 100 μCi/kg 経口投与後のラット組織内分布

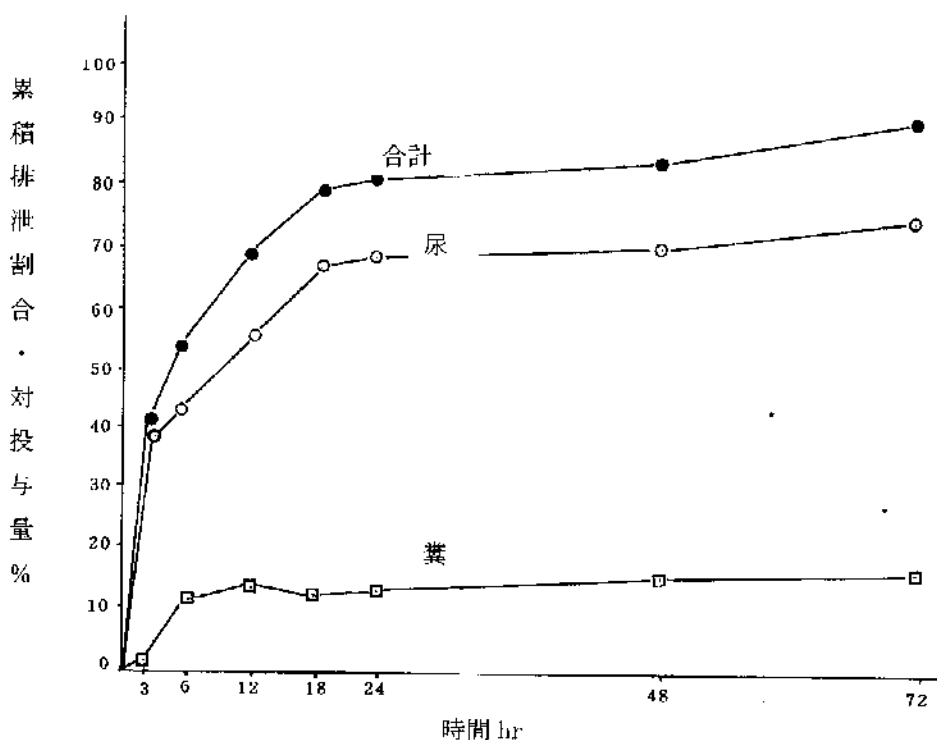
臓器 組織	<sup>35</sup> S-イプロベンホス換算組織内分布割合 (対投与量%)、n=3 の平均値						
	3 時間後	6 時間後	12 時間後	18 時間後	24 時間後	48 時間後	72 時間後
脳	0.046	0.074	0.030	0.020	0.007	0.001	0.001
肺	0.055	0.057	0.029	0.016	0.005	0.001	0.001
心臓	0.032	0.044	0.021	0.004	0.001	<0.001	<0.001
肝臓	1.032	0.987	0.519	0.309	0.095	0.015	0.010
脾臓	0.017	0.028	0.011	0.006	0.002	<0.001	<0.001
膵臓	0.025	0.039	0.017	0.009	0.003	<0.001	<0.001
腎臓	0.307	0.232	0.150	0.089	0.029	0.009	0.008
副腎	0.002	0.003	0.002	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
精巣	0.071	0.108	0.061	0.034	0.012	0.003	0.002
血漿	0.459	0.488	0.222	0.135	0.045	0.008	0.002

[申請者註] 本報告書では Cmax が算出されていないが、以下の通り概算可能と考えられる。

ラットの体重がおよそ 200 g であることから、投与量は、50 mg/kg 体重 ≒ 10 mg/ラット  
 よって、10 mg × 0.488% TAR = 48.8 μg/mL ≒ 50 μg/mL

②マウスの結果

投与後 6 時間までの尿中に 40%、糞中に 12%、投与後 24 時間までの尿中に 67%、糞中に 12% の放射能が排泄された。排泄は 3 日でほぼ完了し、放射能の大部分は尿中に排泄され、糞中への排泄はわずかであった。



組織内分布は各臓器重量 1 g (血漿 1 mL) に分布する <sup>35</sup>S 量を親化合物に換算して下表に示した。投与後 3 時間で放射能は最大値を示し、放射能の多くは腎臓、肝臓、肺、精巣、血漿中に分布し、その他の臓器では低かった。血漿中濃度の推移から Tmax は 3 時間、T1/2 は 8 時間以内と考えられた。

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

<sup>35</sup>S 標識イブロベンホス 1000 μCi/kg 経口投与後のマウス組織分布量

臓器 組織	<sup>35</sup> S-IBP 換算組織内分布割合 (対投与量%)、n=3 の平均値量						
	3 時間後	6 時間後	12 時間後	18 時間後	24 時間後	48 時間後	72 時間後
脳	0.010	0.008	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003
肺	0.035	0.013	0.004	0.002	0.002	0.001	<0.001
心臓	0.008	0.005	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
肝臓	0.387	0.183	0.065	0.027	0.042	0.013	0.008
脾臓	0.010	0.005	0.002	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
膵臓	0.009	0.008	0.003	0.001	0.001	<0.001	<0.001
腎臓	0.402	0.207	0.036	0.012	0.015	0.005	0.004
副腎	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
精巣	0.017	0.011	0.005	0.004	0.004	0.004	0.003
血漿	0.030	0.024	0.004	0.003	0.004	<0.001	<0.001

[申請者註] 本報告書では Cmax が算出されていないが、ラットの Cmax 同様に、以下の通り概算可能と考えられる。

マウスの体重がおよそ 20 g であることから、投与量は、200 mg/kg 体重≒4 mg/マウス  
よって、4 mg×0.030%TAR=1.2 μg/mL

(3) ラットにおける代謝物について

供試動物 : Wistar 系雄ラット (6 週齢)、平均体重 200 g

方 法 :

飼育管理 ; 温度 25°C±1°C、湿度 55±5% で水と飼料を自由に与えて飼育した。

投 与 ; ラットには標識体 78 mg と非標識体 222 mg とをオリーブ油 30 ml に混合し、その 1 ml (20 μCi, 10 mg/ラット、50 mg/kg 相当) を経口投与した。

試料採取 ; 代謝ケージ中で飼育されたラットの自然排泄尿および糞を 24 時間ごとに採取した。尿は裁断した濾紙に吸着させて採取した。代謝物の大部分は尿中に排泄されるので、代謝物の分離同定試料には尿を用いた。

尿の吸着された濾紙をカラムに充填し、アセトン 50 ml を加えて一昼夜放置した。その後アセトン 150 ml で溶出後、カラムに蒸留水 50 ml を加えて一昼夜放置した。その後蒸留水 150 ml で溶出し、アセトン溶出液の溶媒を減圧留去した残渣と併せた。この蒸留水溶出液にトルエン 100 ml を加えて分配し、トルエン可溶性画分と水溶性画分とに分離した。この操作は 2 回繰り返した。トルエン可溶性画分は蒸留水 100 ml で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水した。

水溶性画分 ;

水溶性画分は Plapp(1958)らの方法を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行った。溶出液をフラクションコレクターで分取し、溶出液の放射能はシンチレーションカウンターで測定した。溶出液中の代謝物は、溶出液を TLC 展開し、放射能部位をかき取りアセトン抽出し、ジアゾメタンでメチル化してガスクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

トルエン可溶性画分 ;

トルエン可溶性画分は TLC で二次元展開し、スポットは X 線フィルムに感光させて確認した。溶出液中の代謝物は、放射能部位をかき取りガスクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

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

結 果 :

尿中に排泄された放射能の大部分が水溶性画分であり、トルエン画分のそれは少量であった。水溶性画分からは5種の代謝物が検出された。TLC展開し、放射能部位をメチル化してGC分析した結果、

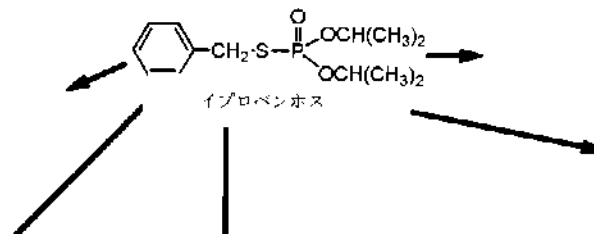
および が 主要代謝物として同定された。

トルエン可溶性画分については二次元TLCにより7つのスポットが確認された。そのうちの1つは親化合物であったが、その他のスポットについては同定に至らなかった。

<sup>35</sup>S 標識イプロベンホス 50 mg/kg, 200 μCi/kg 単回経口投与後ラット尿中代謝物の分析

水溶性画分：TLC・メチル化後 GC コクロマト		トルエン可溶性画分：TLC	
放射能の分布割合：99%		放射能の分布割合：1%	
代謝物	構成比%	代謝物	構成比%
未同定 W-1	4.9	未同定 (原点)	3.0
未同定 W-2	5.7	未同定 T-1	35.9
	54.0	親化合物	31.7
	21.1	未同定 T-3	18.1
		未同定 T-4	2.8
	14.3	未同定 T-5	6.6
		未同定 T-6	2.0

想定されるラット体内代謝経路を下図に示した。



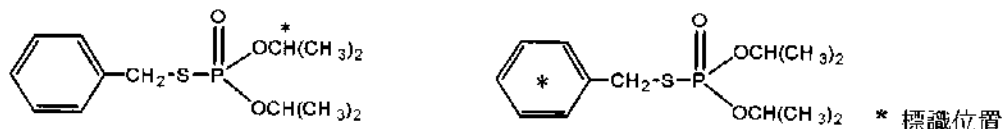
本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2. <sup>14</sup>C 標識イプロベンホスのイネにおける代謝試験

(資料B-6)

試験機関：  
 [GLP 対応]  
 報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：イソプロピル基 2 位の炭素、またはベンゼン環の炭素を <sup>14</sup>C で標識した。



供試標識体	イソプロピル基- <sup>14</sup> C 標識体	ベンゼン環- <sup>14</sup> C 標識体
化学名	<i>S</i> -benzyl <i>O,O</i> -[diisopropyl- <sup>14</sup> C] phosphorothioate	<i>S</i> -[ring- <sup>14</sup> C]benzyl <i>O,O</i> -diisopropyl phosphorothioate
ロット番号	051-60-02	-25/1827-12
放射化学的純度 比放射能	mCi/mmol(          mCi/mg)	mCi/mmol(          mCi/mg)

[以下、イソプロピル基標識体、ベンゼン環標識体と称す。]

標識位置の設定理由：ベンジル基とアルキルりん酸部分とが開裂した場合でも、各々の挙動を追跡して代謝分解を明らかにすることができる。

供試作物：イネ (*Oryza sativa*, Japonica)

栽培試験地：

栽培時期： 2006 年 8 月～収穫 10 月 18 日

試験の設計・処理・収穫の概要：

標識化合物	ベンゼン環標識体		イソプロピル基標識体
	17%粒剤	3%DL 粉剤	
製 剤	17%粒剤	3%DL 粉剤	17%粒剤
処理薬量 g ai/ha	実績値 8,580	実績値 1,214	実績 8,580
処理時期	出穂 7 日前	収穫 21 日前	出穂 7 日前
処理回数・方法	1 回、水面施用	1 回、散布	1 回、水面施用
分析試料のサンプリング・収穫	処理 21 日後； 茎葉部、根部	処理 21 日後； 玄米、わら、 籾殻	処理 21 日後； 茎葉部、根部
	処理 69 日後； 玄米、わら、籾殻		処理 69 日後； 玄米、わら、籾殻
作物の生育状況	すべて対照群と同様に順調に生育、収穫できた。		

試験方法：

試験区；野外に設置した。対照区 1 区、処理区 3 区 (粒剤用 2 区、DL 粉剤用 1 区)、

各区面積 0.5 m<sup>2</sup>

試験土壌；pH 7.8 の壤土、有機物含量 1.8 %

イネの栽培；慣行栽培で収穫約 1 ヶ月前まで湛水状態で栽培し、慣行登熟期に収穫した。

処理薬量；現行登録の最大使用量に従った。17%粒剤、5kg/10a=有効成分量 850g/10a=8500g/ha  
 3%DL 粉剤、4kg/10a=有効成分量 120g/10a=1200g/ha

処理時期；現行登録の使用時期に従った。

処理方法；現行登録の方法に従った。粒剤は水面施用、DL 粉剤は茎葉散布。

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

散布液の調製; 散布薬剤の調製では、標識体イプロベンホスに非標識体を添加し(同位体希釈)、これを各有効成分量%になるように白試料製剤に加え、さらにエーテルを加えて溶媒が蒸発する前に十分に振り混ぜた。

試料の収穫; 粒剤処理 21 日後に、処理区または対照区から茎葉部および根部の約 1/4 を収穫した。粒剤および DL 粉剤処理区の登熟期収穫物を玄米、稲わらおよび籾殻に分けた。試料を凍結保存して分析機関に送付した。

燃焼分析; 試料および抽出後の残渣につき、試料の一部を 4 分間燃焼させ、<sup>14</sup>C 炭酸ガスをカクテルで捕集し、LSC により 5 分間放射能測定を行った。

抽出、測定; 試料の一部にアセトニトリルを加え均質化し、1 時間振とう抽出した。試料を濾過後、抽出を繰り返し、濾液の一部を採り LSC により放射エネルギーを測定した。アセトニトリル抽出後、アセトニトリル:0.2M 塩酸 (1:1) でこの操作を繰り返した。濾液の一部を採り、LSC により放射エネルギーを測定した。

続いて、抽出残渣固体を 1M 水酸化カリウム、1M 塩酸、および/または 1M 水酸化カリウムで還流抽出した。遠心分離し、上澄液の一部を LSC で放射エネルギーを測定した。

抽出残渣固体の定量; アセトニトリルおよびアセトニトリル:0.2M 塩酸抽出後の残渣固体 (PES) 中残留量を求めるため、燃焼を行なった。

HPLC による残留物の分析; イプロベンホスおよび代謝物を逆相 HPLC により定量した。標準化合物の測定波長は 220 nm とした。コンピュータープログラムによってラジオクロマトグラムを作出するのに LSC データを使用した。HPLC 分析は UV/VIS 検出器付き HPLC および手動注入器を用いて行なった。

TLC 法; イプロベンホスおよび代謝物は、参照標準品との TLC (蛍光マーカー 254 nm 入り、シリカゲル、0.25 mm) も併用して行なった。

TLC および HPLC による分析の個々のピークは、ジアゾメタンでメチル化したあと、TLC 標準品とともにシリカゲルにスポットするか、HPLC に注入した。

LC/MS 分析; HPLC 付き LC/MS 装置を使用し、を分析  
した。装置は大気圧/化学イオン化モード (陽イオン) で作動させた。

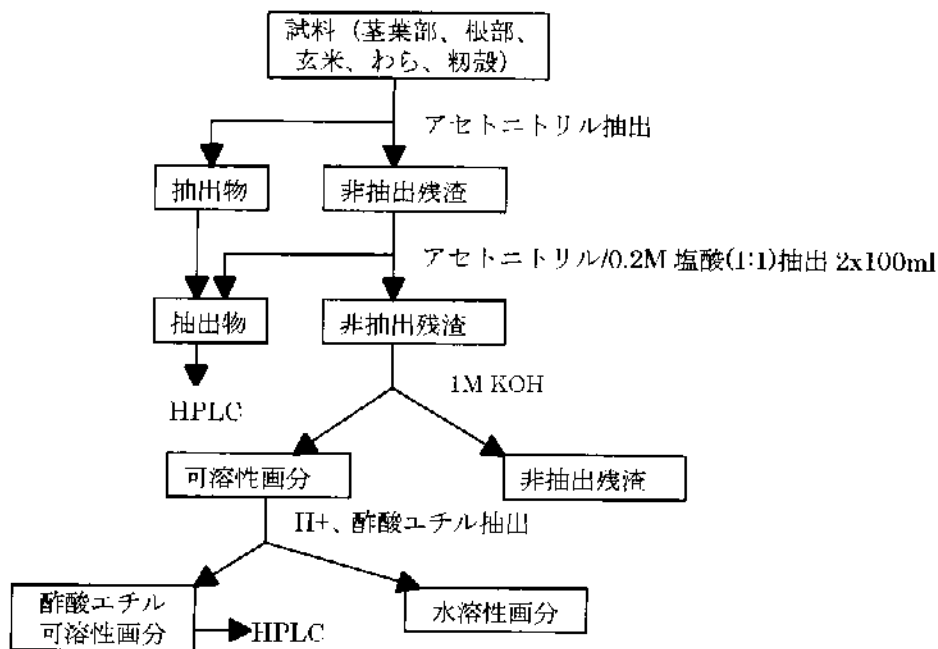
保存安定性; 最初の抽出操作まで保管期間は 30 日以内であったため、保存安定性の分析は実施しなかった。

分析操作のスキームを次ページに示した。

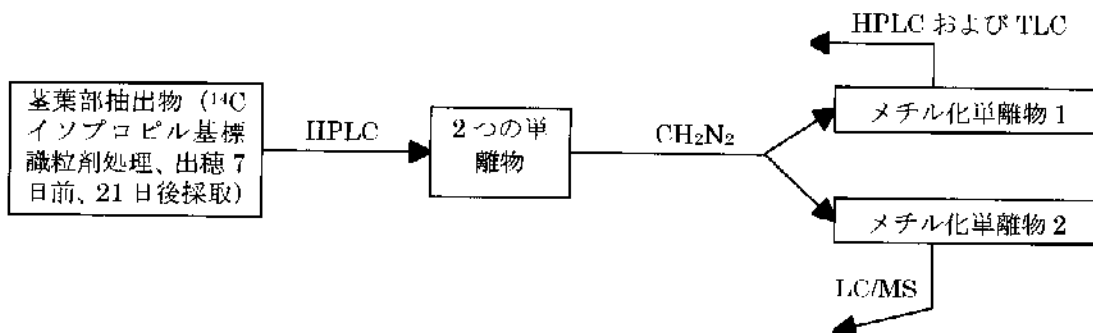
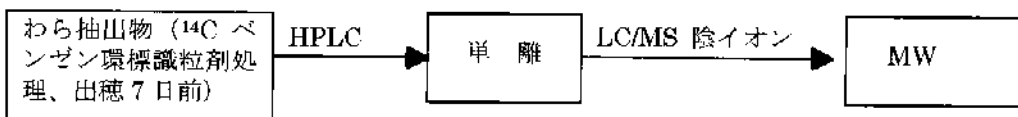
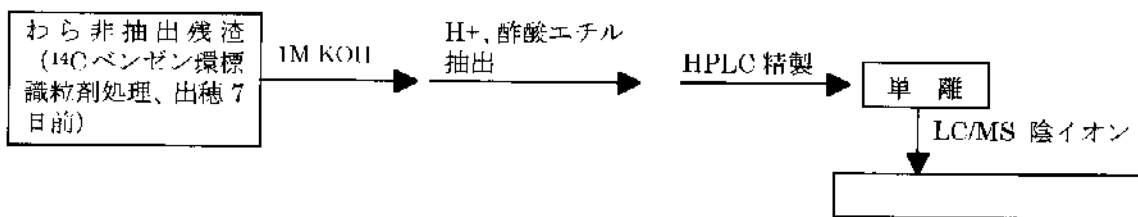


本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

○抽出・分画・分析スキーム



○未知物質の単離、LC/MS による同定スキーム



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

試験結果：

1. 残留放射能 TRR および抽出画分・非抽出残渣中の放射能濃度分布

標識化合物		ベンゼン環標識体						イソプロピル基標識体		
製剤		17%粒剤			3%DL 粉剤			17%粒剤		
試料		TRR ppm	抽出 ppm	残渣 ppm	TRR ppm	抽出 ppm	残渣 ppm	TRR ppm	抽出 ppm	残渣 ppm
処理 21日後	基葉部	39.30	29.23	10.07	—			33.91	26.74	7.17
	根 部	9.77	6.79	2.98	—			7.54	6.87	0.67
登熟期 69日後	玄米	2.67	1.37	1.30	0.09	0.08	0.02	13.96	12.96	1.00
	わら	54.49	40.09	14.40	5.55	4.31	1.24	61.71	36.98	24.73
	籾殻	17.12	8.68	8.44	1.14	0.91	0.23	51.01	40.79	10.22

両標識体の粒剤処理では、21日後の TRR は類似していたが、登熟期の稲わら以外の部位における TRR は、イソプロピル基標識体と比べベンゼン環標識体でははるかに低かった。粉剤処理での TRR は、いずれの部位でも粒剤のそれよりはるかに低かった。

2. ベンゼン環標識体 17%粒剤処理による代謝物の分布

代謝物	処理 21 日後				登熟期 (処理 69 日後)					
	基葉部		根 部		玄 米		わ ら		籾 殻	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
親化合物	12.1	30.8	3.36	34.4	0.02	0.7	9.22	16.3	1.25	7.3
	0.12	0.3	<0.07	<0.7	<0.01	<0.4	0.04	0.1	<0.09	<0.5
抽出	5.47	13.9	1.21	12.4	<0.07	<2.6	4.53	8.0	0.68	4.0
残渣	1.67	4.3	0.40	4.1	0.06	2.2			1.12	6.5
MW 抽出	2.60	6.6	0.38	3.9			12.3	21.8	1.79	10.5
残渣	0.66	1.7								
抽出	1.55	3.9	<0.07	<0.7	0.67	25.1			1.00	5.8
残渣	0.82	2.1			0.16	6.0	7.56	13.4	1.18	6.9
	2.54	6.5	0.60	6.1	0.17	6.4	4.09	7.2	0.96	5.6
	2.37	6.0	0.10	1.0	<0.1	<3.7	<2.0	<3.5	<0.4	<2.3
未同定	1.20	3.1	<0.07	<0.7	0.16	6.0				
					0.25	9.4				
solvent front	0.88	2.2	1.02	10.4	0.02	0.7	8.94	15.8	1.93	11.3
合 計	24.15	61.4	5.27	53.9	0.86	32.2	17.9	31.7	3.89	22.7

3. ベンゼン環標識体 3%DL 粉剤処理による代謝物の分布、収穫期 (処理 21 日後)

代謝物	玄 米		わ ら		籾 殻	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
親化合物	0.03	33.3	1.52	27.4	0.45	39.4
	<0.001	<1	<0.04	<0.7	nd	nd
	0.01	11.1	0.23	4.1	0.06	5.3
MW	nd	nd	nd	nd	0.01	0.9
	0.02	22.2	0.29	5.2	0.04	3.5
	<0.01	<11	0.34	6.1	0.03	2.6
	0.007	7.8	<0.04	<0.7	0.03	2.6
solvent front	0	0	1.12	20.2	0.25	21.0
合 計	0.07	74.4	2.38	42.8	0.61	53.4

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

#### 4. イソプロピル基標識体 17%粒剤処理による代謝物の分布

代謝物	処理 21 日後				登熟期 (処理 69 日後)					
	茎葉部		根 部		玄 米		わ ら		粉 殻	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
親化合物	12.11	35.7	5.52	73.2	0.31	2.2	8.14	13.2	0.69	1.4
	3.32	9.8	0.26	3.4	1.31	9.4	1.29	2.1	0.37	0.7
抽出 残渣	10.08	29.7	0.29	3.8	11.09	79.4	11.91	19.3	37.61	73.7
	5.55	16.4					3.52	5.7		
	0.56	1.7	0.05	0.7	nd	nd	1.55	2.5	0.24	0.5
未同定	0.45	1.3	0.11	1.5			0.74	1.2	0.12	0.2
			0.03	0.4			4.40	7.1		
solvent front	0.11	0.3	0.47	6.2	0.09	0.6	7.47	12.1	—	—
その他最大値	0.08	0.2	0.04	0.5	0.08	0.6	0.37	0.6	0.73	1.4
合 計	26.1	76.9	6.12	81.1	12.71	91.1	22.92	37.1	38.91	76.3

ベンゼン環標識体の粒剤処理では、登熟期の玄米中主要残留物は遊離の (25%TRR) であり、ほかに少量のイプロベンホス (0.7 %TRR) および PES 中に (2 %TRR) が残留した。粉殻中ではイプロベンホス、 MW および が 7-13 %TRR 存在した。

ベンゼン環標識体の粉剤処理 (収穫 21 日前) では、登熟期試料 (稲わら、玄米および粉殻) 中では親化合物が主要残留物であった (27-39%TRR)。 も玄米中では主要代謝物であった (22 %TRR)。 は稲わら、玄米および粉殻中で 4-11 %TRR を示した。

イソプロピル基標識体の粒剤処理では、登熟期の稲わら、玄米および粉殻中の主な残留物は 19-79 %TRR) であった。親化合物は稲わら中では多かった (13%TRR) が、玄米および粉殻中では 1-2%TRR であった。 は玄米中では 9 %TRR であったが、粉殻中では少量であった。

代謝経路:

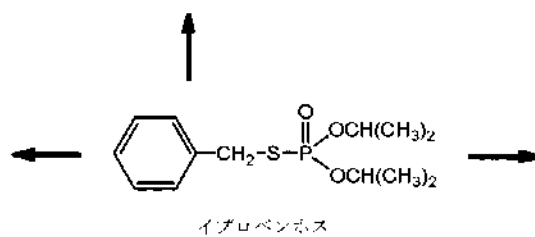
イプロベンホス粒剤または粉剤をイネに処理したあとの主要な <sup>14</sup>C-残留物は、イプロベンホス自体、 MW 、および である。

代謝は の により進行して不安定な中間体が生成され、それが および に開裂していくものと考えられた。 は および MW に され、 はさらに に される。

次ページにイネ体内におけるイプロベンホスの想定代謝経路を示した。

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

イネ体内におけるイプロベンホスの想定代謝経路



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

3. <sup>14</sup>C 標識イプロベンホスの好氣的湛水土壤中運命試験

(資料B-5)

試験機関：  
 [GLP 対応]  
 報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：イソプロピル基 2 位の炭素、またはベンゼン環の炭素を <sup>14</sup>C で標識した。



供試標識体	イソプロピル基-2- <sup>14</sup> C 標識体	ベンゼン環-U- <sup>14</sup> C 標識体
化学名	<i>S</i> -benzyl <i>O,O</i> -[diisopropyl-2- <sup>14</sup> C]phosphorothioate	<i>S</i> -[ring-U- <sup>14</sup> C]benzyl <i>O,O</i> -diisopropyl phosphorothioate
ロット番号	60-02	25/1827-12
放射化学的純度		
比放射能	mCi/mmol      nCi/mg)	mCi/mmol      mCi/mg)

[以下、イソプロピル基標識体、ベンゼン環標識体と称す。]

標識位置の設定理由：ベンジル基とアルキルリン酸部分とが開裂した場合でも、各々の挙動を追跡して代謝分解を明らかにすることができる。

供試土壌：下記の土壌を供試した。

特性項目と測定値		土性分析		
pH(水)	5.0	USDA の分類	砂(%)	23
陽イオン交換容量(CEC) meq/100 g 土壌	13.2		シルト(%)	46
有機物含量(%)	2.3		粘土(%)	31
粘土鉱物成分	クワイ、伊利、カ オク、スモク		土性分類	Clay loam
粘土鉱物成分	クワイ、伊利、カ オク、スモク	飽和 塩基 %	カルシウム	44.2
仮比重(g/cc)	1.15		マグネシウム	16.5
含有水分%	24.4		ナトリウム	2.8
最大容水量(g/100 g 土壌)	38.2		カリウム	2.8
			水素	33.8

土壌は、試験機関に到着後直ちに 2 mm の篩を通し、試験前は冷暗所で保管した。

供試土壌中の微生物活性；好気性細菌、放線菌および糸状菌を試験開始湛水前に調査した。

その結果を次表に示す。

好気性細菌 (TSA) (x 10 <sup>6</sup> CFU*)	放線菌(AIA) (x 10 <sup>6</sup> CFU)	糸状菌(PDA) (x 10 <sup>6</sup> CFU)
2.95	0.91	0.042

\*：土壌 1 グラム当りのコロニー単位

TSA：Trypticase soy agar、

AIA：Actinomycetes isolation agar

PDA：Potato dextrose agar

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

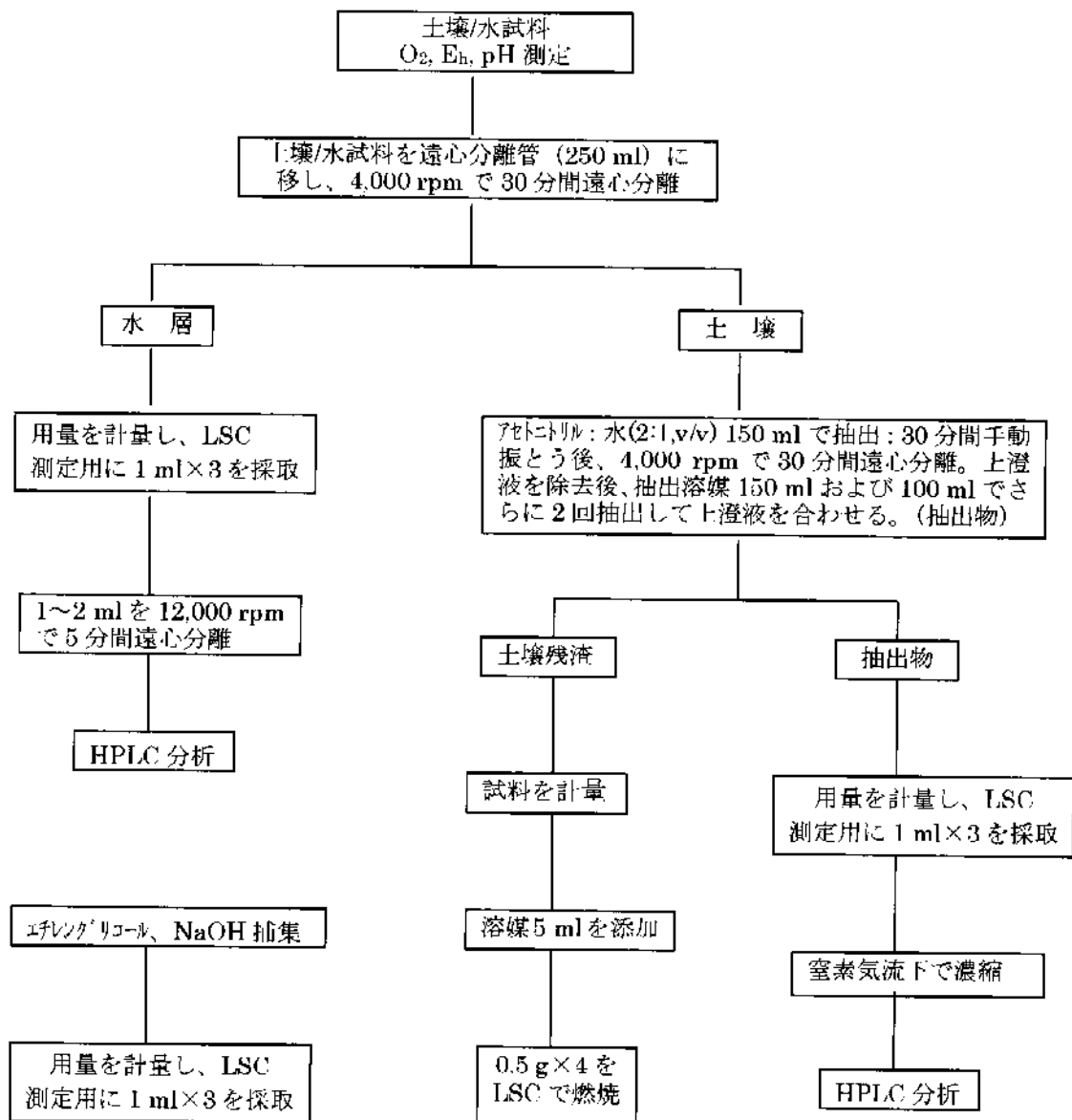
試験方法：

- (1) 試験装置：土壌表面上に1~1.5 cmの水層ができるように脱イオン水を加え、全体で5 cmの深さとした。褐色ガラス瓶に湿潤土壌（乾土換算 65.45 g）を取り、被験物質を添加して試験系を調製した。試験期間中は、捕集容器に土壌試料を常時接続し、10 %水酸化ナトリウム溶液を通して炭酸ガスを含まない湿潤空気を連続して試料容器に送った。
- (2) 培養方法：土壌を薬剤処理前 42 日間、25 °Cで前インキュベーションした。褐色瓶に約 75g の湿土（乾土換算 65.45 g）を秤取り、試験中は水分量をモニターした。  
目標の薬剤処理量は、圃場での最大薬量 8500 g ai/ha を換算して 8.5 ppm とした（土壌密度 1 として、深さ 10 cm に均一分布と仮定）。各標識体保存液の適量に非放射線標準品を加え、アセトニトリルで希釈して土壌に添加した後、ミキサーで均質化した。
- (3) 処理濃度の確認：薬剤処理の前、途中、および後に薬液の一部を採って LSC で放射能を測定し、かつ、薬液の均質性を確認した。ベンゼン環標識体の濃度は 8.884 ppm、イソプロピル基標識体のそれは 8.769 ppm であった。
- (4) 試料の採取：ベンゼン環標識体試験区の試料採取は、0、15、30、62、90、120 および 184 日に行なった。イソプロピル基標識体については 0、30、90、120 および 184 日に採取した。各試料採取時点で、pH、溶存酸素量および酸化還元電位を測定した。
- (5) 放射能の測定と代謝物の同定：水層と土壌層を遠心分離により分離し、水層中の放射能を LSC で測定した。土壌層については一連の抽出を行い、その抽出残渣を燃焼法で放射能を測定した。各捕集液の全液量を測り、放射能測定を行った。  
HPLC または TLC により代謝物の定量あるいは同定／特徴付を行った。
- (6) 土壌抽出残渣の特徴付け：処理量の 10 %以上の放射能が含まれる土壌残留物について、さらに 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液での抽出を行ない、フルボ酸、腐植酸およびフミン両分に分画して、放射能測定をした。

用いた抽出、分画操作のスキームを次ページに示した。

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

試料の調製および抽出・分析操作の流れ



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

試験結果：

(1) 試験系の確認：試料採取時に溶存酸素、酸化還元電位および pH を測定した結果を次表に示す。

(2 反復の平均値、申請者が算出)

標識体	項目	処理後経過日数(日)						
		0	15	30	62	90	120	184
イソプロピル基標識体	溶存酸素量(ppm)	0.66	—	0.11	—	0.14	0.04	0.10
	pH	5.62	—	7.10	—	7.45	7.30	7.11
	酸化還元電位 (mV)	194	—	-194	—	-155	-194	-110
ベンゼン環標識体	溶存酸素量(ppm)	0.22	0.20	0.09	0.30	0.15	0.08	0.08
	pH	5.78	6.89	7.22	7.88	7.42	7.10	6.92
	酸化還元電位 (mV)	192	-183	-153	-175	-68	-46	-49

(2) 放射能の物質収支；結果を次表に示す。

[イソプロピル基標識体]

単位：処理放射能に対する割合%、2 反復の平均値

試料採取時期(日数)	水層	土 壤		揮発性物質捕集		回収合計	
		抽出画分	PES*	EG**	NaOH		
0	30.6	62.9	2.2	NA	NA	95.7	
30	13.3	70.6	10.6	0.4	1.8	96.5	
90	14.5	58.0	13.8	0.8	5.1	92.2	
120	13.2	58.5	15.6	0.7	6.3	94.2	
184	12.4	57.9	11.5	1.1	9.7	92.5	
*抽出残渣 **エチレングリコール NA 測定せず						全平均 ±SD(%)	94.2± 2.0

[ベンゼン環標識体]

単位：処理放射能に対する割合%、2 反復の平均値

試料採取時期(日数)	水層	土 壤		揮発性物質捕集		回収合計	
		抽出画分	PES*	EG**	NaOH		
0	21.3	69.0	3.1	NA	NA	93.3	
15	12.2	67.5	13.4	0.1	1.8	94.9	
30	8.0	60.7	22.8	0.1	3.9	95.3	
62	6.6	52.5	25.2	0.3	9.2	93.6	
90	5.0	55.3	24.9	0.2	9.6	94.9	
120	3.9	48.2	27.8	0.5	12.3	92.5	
184	2.3	38.4	26.8	0.3	24.8	92.5	
*抽出残渣 **エチレングリコール NA 測定せず						全平均 +SD(%)	93.8+ 2.0

物質収支は、何れの標識体でも平均 94% レベルを示し良好であった。

揮発性物質はその殆んどが CO<sub>2</sub> であり、ベンゼン環の開裂やイソプロピル基の分解が進むことを示した。また、いわゆるバウンドレジデュール・PES もベンゼン環標識体で 25% 以上を示しイソプロピル基標識体のそれより約 2 倍多かった。

(3) 代謝分解物の生成および抽出残渣中放射能の特徴付け

各生成物の割合を次ページの表に示す。



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

単位：処理放射能に対する割合%、水層および土壌抽出画の合計、2反復の平均値

標識体	生成物	処理後経過日数(日)						
		0	15	30	62	90	120	184
イソプロピル基標識体	親化合物	89.0	—	70.4	—	49.1	51.3	47.1
		0.6	—	1.7	—	2.0	2.4	2.9
		3.0	—	8.9		17.2	16.2	18.2
		0.0	—	1.1	—	1.4	1.0	0.9
	その他*	1.0	—	1.8	—	2.9	0.9	1.2
ベンゼン環標識体	親化合物	89.2	75.3	66.3	56.2	57.8	49.8	39.0
		0.0	0.9	0.2	0.6	0.5	0.2	0.1
		0.0	0.8	0.9	1.4	1.0	1.1	0.5
	その他*	1.0	2.7	1.1	1.0	1.1	1.1	1.1

：測定せず \* 複数の未同定 HPLC ピークを含む

バウンドレシデュアの分画；フミン酸、フルボ酸およびフミンに分画して放射能の分布を検討した。結果を次表に示す。

単位：処理放射能に対する割合%

標識体	測定試料	抽出残渣	フミン酸	フルボ酸	フミン
イソプロピル基標識体	120日A	13.6	2.3	4.6	6.7
	120日B	17.5	3.3	7.5	6.7
ベンゼン環標識体	184日A	27.3	8.7	4.9	13.7
	184日B	26.2	7.3	5.5	13.4

(4) 分解速度；湛水土壤中におけるイプロベンホスの減衰を、次の二つの速度式で解析した。結果を次に示す。

標識体	用いた数式	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (H)	相関係数
イソプロピル基標識体	一次速度式	201	667	0.757
	Gustafson	189	47,882	0.930
ベンゼン環標識体	一次速度式	165	547	0.787
	Gustafson	160	16,994	0.885

(5) 代謝物の同定およびイプロベンホスの運命

および の同定を LC-MS スペクトル解析から行った結果、 は の 、 は 、 は

、と同定した。異性体構造として、 は 、 は も考えられる。

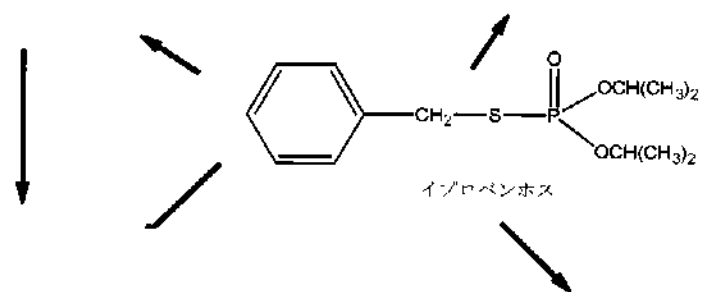
以上のことからイプロベンホスの湛水土壤中運命は、次の通りと考えられる。

(1) の (2)続いて が開裂して CO<sub>2</sub> を生成し、またバウンドレシデュアとなる。

次ページに好氣的湛水土壤中の推定代謝経路を示す。

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

イプロベンホスの好氣的湛水土壤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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### 4. <sup>14</sup>C 標識イプロベンホスの加水分解運命試験

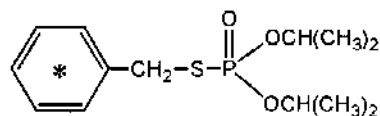
(資料C-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：ベンゼン環を <sup>14</sup>C で均等に標識した。



\*：標識位置

化学名	<i>S</i> -[ring- <sup>14</sup> C]benzyl <i>O,O</i> -diisopropyl phosphorothioate
ロット番号	/1827-12
放射化学的純度	
比放射能	mCi/mmol(            mCi/mg)

標識位置の設定理由：予備試験の結果、分解物が  
であることが分かっているので。

試験系、装置：溶液はすべて脱イオン水または蒸留水で調製した。次の緩衝液を用いた。即ち、pH 4 クエン酸 (0.05 M) -水酸化ナトリウム、pH 7 リン酸一ナトリウム (0.05 M) -水酸化ナトリウム、および pH 9 ホウ酸 (0.05 M) -水酸化ナトリウム、の各緩衝液である。

被験物質を滅菌した HPLC 用の水に溶かし試験系に処理するため、緩衝液に溶かした。容器は滅菌した褐色バイアルで、試料を温度調節可能な部屋に設置した。

緩衝液の調製方法：

**pH 4** クエン酸 (0.05 M) -水酸化ナトリウム：緩衝液それぞれ 100 mL を調製するのに、0.1 N 水酸化ナトリウム 9 mL および 0.1 M クエン酸ナトリウム 50 mL を合わせ、脱イオン水または蒸留水で希釈して最終液量 100 mL とした。

**pH 7** リン酸一ナトリウム (0.05 M) -水酸化ナトリウム：緩衝液それぞれ 100 mL を調製するのに、0.1 N 水酸化ナトリウム 29.64 mL を 0.1 M リン酸一ナトリウム 50 mL と合わせ、脱イオン水または蒸留水で最終液量 100 mL とした。

**pH 9** ホウ酸 (0.05 M) -水酸化ナトリウム：緩衝液それぞれ 100 mL を調製するのに、0.1 N 水酸化ナトリウム 21.3 mL を、0.1 M 塩化カリウムに溶かした 0.1 M ホウ酸 50 mL と合わせ、脱イオン水または蒸留水で最終液量 100 mL とした。

試験方法：

- 1) 緩衝液中平均濃度 5.02 µg/ml で 25 °C、10 日間の予備試験を実施した。本試験では、溶液中イプロベンホス濃度を 5 µg/ml とし、25 ± 1 °C のチャンバー中に設置した。
- 2) 試料の採取：試料 2 点ずつを 0、3、8、14、18、24 および 32 日後に採取した。
- 3) 各試料の一部をとり LSC により放射能を測定し、pH 測定も行った。そのあと HPLC で試料を分析した。
- 4) 放射性標識物質の定量および特徴付け：分解生成物を逆相 HPLC で分析した。HPLC 分析によるイプロベンホスおよび分解生成物の同定は標準品とのコクロマトグラフ法によって行った。試料の一部について TLC による確認を行った。

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

- 5) 溶液の滅菌：試験開始時および終了時の試料につき寒天プレート上で 35 °C で培養し、滅菌検定を行なった。少なくとも 48 時間後に、培養物について微生物生育を評価した。

試験結果：

- 1) 被験物質の放射化学的純度および試験液中の濃度

放射化学的純度は試験開始前が 99.0 % で、処理直後では 99.6 % であり安定であった。

試験液中の濃度は次のとおりで、すべての試験系が均質であることを示した。

処理前、処理中、処理後の処理液中のイプロベンホス平均濃度

	平均濃度 $\mu\text{g/ml}$ 、( )内は相対 SD%		
	pH 4	pH 7	pH 9
予備試験	5.01(1.4)	5.02(2.0)	5.03(1.4)
本試験	5.094(0.8)	5.157(0.7)	4.916(0.5)

- 2) 予備試験結果 イプロベンホスおよび分解物の生成割合 (処理量に対する%)

物質	pH 4		pH 7		pH 9	
	0日	10日	0日	10日	0日	10日
親化合物	96.2	98.0	98.9	96.8	97.7	97.4
	0.0	3.0	0.0	3.3	0.0	3.1
その他	2.9	0.1	1.2	0.0	1.1	0.0

- 3) 本試験の pH 測定および溶液の滅菌

試験期間中の試料の pH は次の範囲にあり、緩衝能は試験期間中維持されていた。

pH 4 試験区：3.93~4.04      pH 7 試験区：6.98~7.05      pH 9 試験区：8.92~9.01

試料採取の各時点での検定では菌株の生育は見られず、試験期間中滅菌状態が保たれていた。

- 4) 放射性物質の収支 水溶液中の回収率(n=2の平均%)

pH	0日	3日	8日	14日	18日	24日	32日	平均回収率 $\pm$ SD
4	99.3	100.3	99.7	100.8	98.6	96.0	100.2	99.2 $\pm$ 1.7
7	100.0	100.9	100.1	101.3	99.7	99.5	100.1	100.2 $\pm$ 0.8
9	100.0	100.1	100.3	100.4	99.7	98.4	99.9	99.8 $\pm$ 0.7

放射能の大部分は水溶液中に回収された。

- 5) 分解生成物の分布 水溶液中の回収率(n=2の平均%)

pH	物質	0日	3日	8日	14日	18日	24日	32日
4	親化合物	98.9	99.1	97.3	96.5	93.5	88.9	91.3
		0.4	1.3	2.5	4.2	4.9	6.5	8.9
	その他	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2	0.6	0.0
7	親化合物	99.6	99.7	97.6	96.6	94.3	92.2	90.4
		0.5	1.3	2.6	4.7	5.5	6.9	9.7
	その他	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.4	0.0
9	親化合物	99.6	98.9	97.5	96.1	94.2	91.2	90.1
		0.4	1.2	2.8	4.3	5.4	6.9	9.2
	その他	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.4	0.7

標準品との逆相 HPLC コクロマトグラフ法により分解生成物

を同定した。また、一部の試料につ

いて一次元 TLC で および の存在を確認した。pH による分解物の生成量に差はなかった。

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

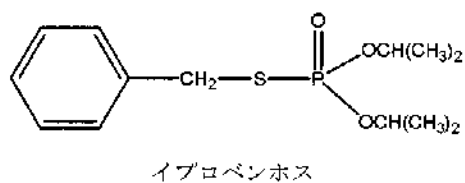
#### 6) 分解速度と分解経路

一次反応速度式を用いて緩衝液中のイプロベンホスの分解速度を計算した結果は以下のとおりで、各 pH における分解速度、半減期に差はなかった。

pH	分解速度定数(days <sup>-1</sup> )	半減期 (日)	R <sup>2</sup>
4	0.00335	207	0.8406
7	0.00333	208	0.9767
9	0.00331	209	0.9521

イプロベンホスの加水分解は、のがで求核的に置換されるのを経て、を生成した。この過程には、pH 条件による影響はなかった。分解経路を以下に示した。

イプロベンホスの加水分解運命経路図



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

5. <sup>14</sup>C 標識イプロベンホスの水中光分解運命試験

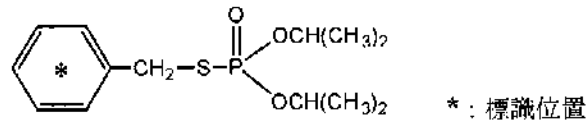
(資料C-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

供試標識化合物：ベンゼン環を <sup>14</sup>C で均等に標識した。

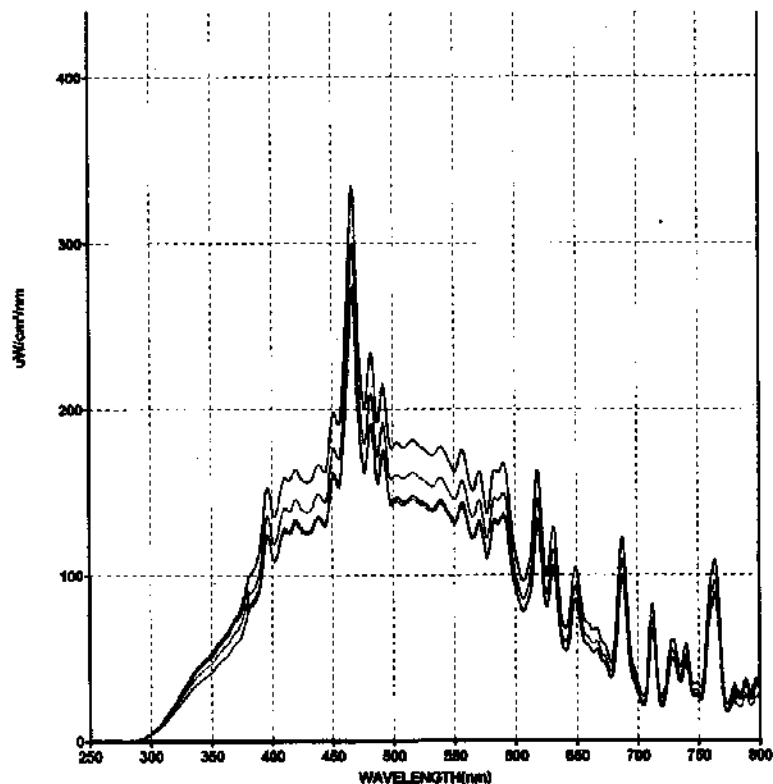


化学名	<i>S</i> -[ring- <sup>14</sup> C]benzyl <i>O,O</i> -diisopropyl phosphorotioate		
ロット番号	34-25/1827-12		
放射化学的純度			
比放射能	mCi/mmol(	mCi/mg,	MBq/mg)

標識位置の設定理由：ベンゼン環に着目して水中光分解運命を明らかにする。

試験系、装置：以下の 2 種類の試験水を使用した。自然水および蒸留水の滅菌は、バイオハザードキャビネット内で滅菌フィルターを通して行った。

- ・自然水： の逆川河川水を使用した。採取した河川水は使用時まで冷蔵保存した。採水日；2006 年 2 月 23 日
- ・蒸留水：高速液体クロマトグラフ用（市販品）を使用した。
- ・試験容器および器具類の滅菌：光照射区は石英ガラス製試験容器を、暗下区はパイレックスガラス製試験管を使用し、アルコール滅菌した。
- ・光分解装置：光分解装置はキセノンアークランプを光源とし、290 nm 以下の波長をカットするコート処理石英ガラスフィルターを備えた光分解装置（卓上型キセノン耐光促進試験機サントスト CPS+、東洋精機製作所）を使用した。分光分布は下図のとおり。
- ・光強度：試験期間を通しての平均放射照度=51.53W/m<sup>2</sup>（波長範囲 300~400nm）



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

- 光照射中の温度管理：光照射区の試料は、水温を  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  に保った。水温はサーモレコーダーで測定した。暗下区は、容器をアルミホイルで覆い  $25^\circ\text{C}$  に設定した恒温庫内に設置した。

方法：

#### 1) 試験溶液の調製

試験溶液濃度を  $5 \text{ mg/l}$  に設定した。調製操作は無菌的に行った。標識体保存溶液の所定量から溶媒を留去した後、一定量の試験水を加え密栓した。超音波により 2 分間搅拌を行い溶解させ、LSC で放射能濃度を測定・確認した。

#### 2) 試料の採取

照射区は、0、6、24、48、72、96 および 120 時間後に一時的に光照射を止めて容器を取り出し、バイオハザードキャビネット内で採取した。暗下区は予備試験の結果で分解が認められなかったことから、120 時間後の試料についてのみ採取し、測定した。

予備試験の結果、揮発性成分の発生が予測されたので、発生する  $^{14}\text{CO}_2$  および揮発性物質を 2N-NaOH 溶液およびエチレングリコールに捕集した。

#### 3) 水質分析

ろ過滅菌後の試験水について物理化学的特性を測定した結果は下表の通りであった。

検査の対象	単位	蒸留水	自然水
pH (16°C)		5.7	7.8
溶存酸素量	mg/L	7.8	8.5
懸濁物質	mg/L	1 未満	1 未満
全蒸発残留物量	mg/L	1 未満	370
電気伝導率	mS/m	0.22	55.2

#### 4) 滅菌維持の確認

被験物質添加直後および最終試料採取時に、微生物検出シート状培地に試験水を滴下して、 $35^\circ\text{C}$  恒温槽内で 24 時間培養し、生育コロニーを計測した。

#### 5) 測定分析方法

- 放射エネルギーの測定：測定は LSC で一試料に対して 1 回 2 連制で 2 回計測し、変動 ( $\pm 10\%$ ) のない限り 1 回目の測定値を報告に用いた。
- 放射性成分の検出および定量：採取試料に対照標準混合溶液を添加し、その一部を HPLC に注入して検出された放射性成分量を全放射性成分の総面積に対する割合から算出することで行った。
- 対照物質：

を供試した。

これらを混合した標準溶液を調製して HPLC 測定条件を定め、保持時間を確認した。

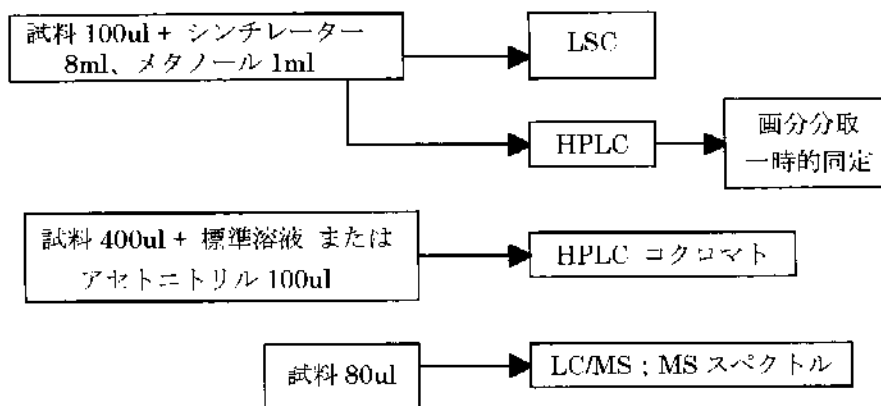
- 同定および特徴付け：上記標準溶液による HPLC コクロマトグラフィー、または、LC/MS を用いた MS スペクトルの測定により分解物の同定を行った。

#### 6) 計算方法

- 放射エネルギーおよび濃度の表示：試料溶液中の放射エネルギーは、濃度および処理量に対する比率 (%) で表示した。2 連操作の平均分析値を報告値とした。
- 半減期および分解速度定数の算出：光照射区における減衰を一次式当てはめ、分解速度を求めた。その速度定数から半減期を算出し、光照射照度から太陽光下（北緯  $35^\circ$ 、東京、春：4～6 月）での推定半減期を算出した。

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

分析スキームを以下に示した。



試験結果：

- 1) 放射化学的純度：TLC 精製後の放射化学的純度は、以下のとおりであることを確認した。

純度測定日	純度(%)
2006年2月17日(本試験実施前)	99.2
2006年4月26日(試験実施後)	99.3

- 2) 滅菌維持の確認：試験終了後に生育コロニー数の増加が認められなかったことから、試験期間を通して滅菌状態は維持されていた。

生育コロニー数 (n=2 平均値、cfu/ml)

試料	蒸留水試験区	自然水試験区
ろ過滅菌前	0	313
ろ過滅菌後	0	0.5
光照射終了後	0	0

- 3) 物質収支：試験溶液中の放射量は、試験期間を通していずれの試験区とも処理放射量のほぼ90%以上が回収され、揮発性物質はいずれの試験区でも1%未満であった。

物質収支  $^{14}\text{C}$ -回収率 (n=2 の平均値、%)

試料、採取時間	蒸留水試験区			自然水試験区		
	試験水	トラップ	合計	試験水	トラップ	合計
光照射区	0	100.0	—	100.0	—	100.0
	6	93.4	—	93.4	—	94.2
	24	93.6	—	93.6	—	93.8
	48	93.2	—	93.2	—	92.8
	72	91.2	—	91.2	—	91.8
	96	93.2	—	93.2	—	89.7
	120	96.3	0.5	96.8	91.2	0.6
暗下区	120	97.9	—	97.9	—	98.8

- 4) イプロベンホスおよび分解物の消長：各試験区における親化合物および分解生成物の変化は下表のとおりであった。

照射区における120時間後の処理放射量に対するイプロベンホスの残存率は、蒸留水試験区で81.8%、自然水試験区で55.1%であり、蒸留水に比べ自然水中での分解が速かった。イプロベンホスの自然水中光分解には、水中の光増感物質が関与しているものと考えられた。処理放射量の10%を超える分解物は何れの試験区からも検出されなかった。蒸留水試験区



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

では、  
 が最大7.8%生成したが、その他の分解物は1%以下であった。  
 自然水試験区では未同定分解物が最大9.2%、次いで が4.6%、 が1.9%、  
 が2.0%、 が2.4%、  
 が2.0%生成したが、その他は1~2%程度の分解物が多数検出された。一方、暗下区では分解は認められなかった。

(1) 蒸留水試験区

分解物	経過時間と生成量 (処理量に対する割合%)							
	光照射区							暗下区
	0	6	24	48	72	96	120	
	<0.1	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
	0.1	0.6	0.9	1.1	0.7	1.0	1.0	0.6
	0.4	0.6	0.3	0.2	0.7	0.2	0.2	0.2
	0.8	1.5	2.6	4.0	5.2	6.7	7.8	0.8
	1.0	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.6	0.8
親化合物	93.4	85.5	84.6	82.7	79.4	79.7	81.8	91.3

(2) 自然水試験区

分解物	経過時間と生成量 (処理量に対する割合%)							
	光照射区							暗下区
	0	6	24	48	72	96	120	
	0.2	1.0	1.6	2.0	1.9	1.9	1.9	0.3
	0.2	0.3	1.4	2.1	2.3	2.4	2.3	0.2
	0.2	1.3	1.8	2.0	1.8	1.6	1.5	0.4
	0.6	1.0	2.1	3.1	3.7	4.1	4.6	0.7
	0.4	0.8	1.4	1.9	1.8	1.8	1.7	0.4
親化合物	96.3	85.5	75.7	66.6	61.8	56.2	55.1	94.8

注：上表には、その他の未同定物質の記載を省略した。

5) 半減期の算出：イプロベンホスの推定半減期は次のとおりであった。

供試水	推定半減期	
	光照射区での試験結果	北緯35°、東京、春、太陽光換算の値
蒸留水	770時間 (32.1日)	212.6日
自然水	154時間 (6.4日)	42.4日

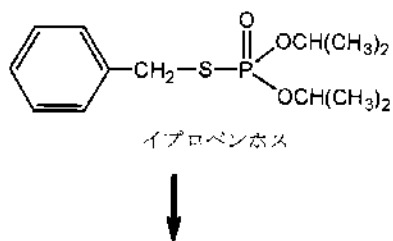
6) 光分解経路：イプロベンホスは、 と との結合が開裂して に分解された後、 の または 部位の酸化を受け、 、 、 または へ至るものと考えられた。

また、未同定の高極性分解物は、フェノール性物質、例えばなどがポリマー化した分解物であると考えられた。

想定分解経路図を以下に示した。

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

イプロベンホスの想定水中光分解経路図



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

6. 土壌吸着性試験

(資料C-3)

試験機関：

[GLP 対応]

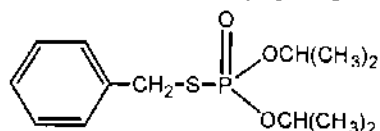
報告書作成年：2000年

供試化合物：

非標識イプロベンホス標品

化学名；S-benzyl O,O-diisopropyl phosphorothiolate

構造式；



供試土壌：以下の4土壌を用いた。

I	土壌	(一般畑地、火山灰)	
II	土壌		火山灰)
III	土壌		畑地)
IV	土壌	(一般水田)	

項目	I	II	III	IV
土壌群名	黒ボク土	黒ボク土	造成土	灰色低地土
土性	SL	CL	CL	LS
砂%	68.0	42.3	51.5	87.5
シルト%	20.8	33.8	29.9	4.4
粘土%	11.2	23.9	18.6	8.1
有機炭素含有率%	3.9	4.3	0.8	0.4
pH (H <sub>2</sub> O)、(KCl)	6.2、5.4	6.4、5.8	7.0、5.7	5.2、4.2
陽イオン交換容量 (me/100g)	15.9	25.8	7.9	3.2
有効態リン酸 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/乾土 100g)	29.7	23.3	36.6	13.6
リン酸吸収係数 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/乾土 100g)	1530	1720	640	150
粘土鉱物の種類	アロフェン	アロフェン	クロライト、イライト、カオリナイト、アロフェン	カオリナイト、アロフェン、クロライト、イライト
OECDの土壌番号 (No.) *	3	2	3	5

\*：有機炭素含有率及び粘土%を主体に分類した場合の土壌番号

試験方法：OECDラストガイドライン 106 に準拠した。

供試土壌の調整；2 mm の篩いを通した土壌を使用

土壌 5 g に水 5 ml を加え 25 ± 1°C で 24 時間コンディショニング

土壌/水比；土壌/水 = 1/5

試験溶液；検体 0.08, 0.4, 1 及び 5 µg/ml 濃度の 0.01M-CaCl<sub>2</sub> 水溶液

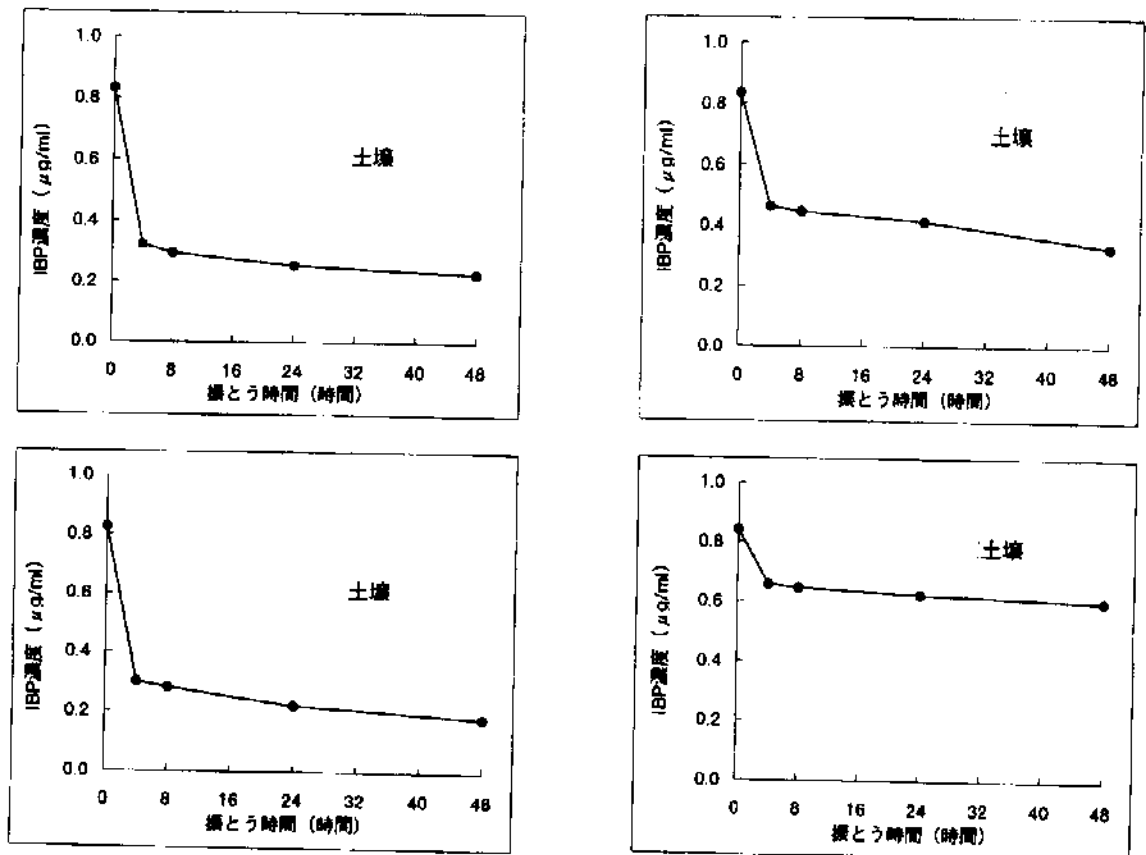
吸着平衡化時間；1.0 µg/ml 濃度、4 土壌で 4, 8, 24, 48 時間振とうし平衡化時間を決定した。

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

物質収支 : 1.0  $\mu\text{g/ml}$  濃度、4 土壌、48 時間振とう試料で測定した。  
 吸着操作 : コンディショニングした土壌に 1 濃度の被験物質溶液を加え、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、暗下で 48 時間振とうした。  
 分析操作 : 土壌と上澄液を遠心分離後、上澄液は酢酸エチルで抽出後、脱水、濃縮乾固し、HPLC でイプロベンホスを定量した。土壌はアセトン抽出を行い、濃縮残渣に水を加えた後、上澄液と同様に操作を行いイプロベンホスを定量した。

試験結果 :

吸着平衡化時間; 下図の通り、4 種土壌で共に平衡となる 48 時間を吸着平衡化時間とした。



物質収支 ; 下表の通り

土壌	振とう時間 (時間)	試料	回収率 (%)		
			上澄液	土壌	合計
I	48	1	22.5	65.6	88.1
		2	23.0	66.2	89.2
II	48	1	17.9	66.7	84.6
		2	17.4	66.4	83.8
III	48	1	34.5	43.3	77.8
		2	32.5	42.8	75.3
IV	48	1	66.3	22.5	88.8
		2	65.3	22.8	88.1

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

吸着試験結果；Freundlich の吸着等温式により求めた吸着係数は下表の通りであった。

土壌	1/n <sup>1)</sup>	K <sub>Fads</sub> <sup>1)</sup>	r <sup>1)</sup>	oc% <sup>2)</sup>	K <sub>Fadsoc</sub> <sup>3)</sup>
I	0.846	9.85	1.00	3.9	253
II	0.791	10.63	1.00	4.3	247
III	0.793	4.64	1.00	0.8	580
IV	0.932	1.18	0.98	0.4	295

1) Freundlich の吸着等温式による定数項と相関係数

2) 土壌中の有機炭素含有率

3) K<sub>Fads</sub> 値を各 oc% で割り求めた有機炭素吸着係数

その他結果；次式によりイプロベンホスのパラメータを求めた。

$$K_{Fads} = K_{oc} \times \text{有機炭素含有割合} + a$$

K<sub>oc</sub> : 傾き a : Y 切片 r : 相関係数

K <sub>oc</sub>	a	r
214	1.556	0.971

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

7. 生物濃縮性試験

(資料C-6)

試験機関：

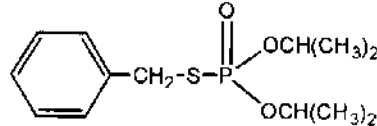
[GLP 対応]

報告書作成年 2007 年

被験物質：イプロベンホス原体

化学名：*S*-benzyl *O,O*-diisopropyl phosphorothiolate

構造式：



供試生物種：コイ *Cyprinus carpio*

試験開始時 曝露群は 1 群各 29 尾、対照群は 13 尾

全長 7.3~10.1 cm の当歳魚、曝露前 25℃の流水中で 66 日間馴化した。

試験方法：

試験用水；地下水（市の試験機関事業所内から揚水）

水質確認；2007 年 7 月 2 日採取、水道法、OECD ガイドライン、水産用水基準、水質汚濁環境基準に適合していることを確認した。

試験及び環境条件；70L 容ガラス製水槽を装備した流水式装置を用い、アクアトロン室で試験を行った。試験温度 24.1~25.0℃、溶存酸素量 7.9~8.4 mg/l、pH 7.7~7.9、白色蛍光灯による人工照明。

曝露期間；28 日間とした。排泄試験は行わなかった。

曝露濃度；LC<sub>50</sub>及び分析 LOQ を考慮して 0.944 及び 9.44 μg/l とした。検体を分散剤 2-メトキシエタノールに溶解して供試した。対照群には同分散剤のみ用いた。

観察、測定；供試魚の健康状態を 1 日 2 回目視観察した。試験水量を 1 日 1 回、試験温度及び溶存酸素量を毎週 1 回、pH を実験期間中に 2 回、それぞれ測定した。また、魚類排泄物、水槽壁の汚れを 1 日 1 回除去した。

濃度分析；試験水及び魚体中被験物質分析を GC-MS 法により行った。魚体中濃度分析は、曝露期間中に 5 回行い、1 回当り 4 尾を採取して 1 反復 2 尾を供試して 2 反復分析を行った[個体別分析では脂質含量測定用試料が十分確保できないため]。

脂質含量；各曝露群では魚体中濃度分析時に同試料について測定した。対照群については、実験開始前と完了後にこれを行った。

試験結果：

1. 魚体中の被験物質濃度

試験濃度 (μg/L)	曝露期間(日)と魚体中濃度 (ng/g、[ ]内は平均値*)				
	8	10	18	21	28
0.944	10.3、13.7 [12.0]	9.15、8.55 [8.85]	11.2、23.1 [17.2]	10.0、12.3 [11.2]	13.8、11.9 [12.8]
9.44	82.1、103 [92.6]	99.1、98.2 [98.6]	125、118 [122]	82.3、107 [94.6]	113、79.8 [96.4]

\* 平均値は申請者が算出した。

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

魚体中の被験物質濃度は、各試験区、各試料採取日ともほぼ一定濃度で推移した。

2. 試験水中の被験物質濃度、n=2 の平均値

試験濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	曝露期間(日)と水中濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )						平均 $\pm$ SD
	0	8	10	18	21	28	
0.944	0.923	0.975	0.960	0.976	0.969	0.896	0.950 $\pm$ 0.0328
9.44	8.78	9.33	8.89	9.95	9.78	9.09	9.30 $\pm$ 0.476

試験水中の被験物質濃度は、各試験区、各試料採取日ともほぼ一定濃度で推移した。

3. 濃縮係数 BCF<sub>ss</sub>

①濃縮係数の変動

試験濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	項目	18 日後	21 日後	28 日後	3 回の 平均 N
0.944	平均濃縮係数	17.680	11.517	13.573	14.257
	N からの乖離率%	24.010	19.218	4.7927	—
9.44	平均濃縮係数	12.958	9.8964	10.048	10.967
	N からの乖離率%	18.152	9.7686	8.3841	—

高濃度区では、N からの乖離率がいずれも 20%未満であったので定常状態に達している  
と判断されたが、低濃度区の 18 日後におけるそれは 20%を超えたため、定常状態  
における濃縮係数を算出しなかった。しかし、その超過率は低く、かつ濃縮係数は 10  
~18 であることから 28 日後には定常状態に達していると考えられた。

②定常状態における濃縮係数

定常状態における平均試験水中濃度は設定値の 102%であり、濃縮係数 BCF<sub>ss</sub> 11  
が得られた。

試験濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	期日 (日)	魚体中濃度 (Cf, ng/g)	平均水中濃度 (Cw, $\mu\text{g/L}$ )	濃縮係数 BCF <sub>ss</sub>				
				BCF <sub>ss</sub>	平均	全平均		
9.44	18	125	9.39	13	13	11		
		118						
	21	82.3	9.54	8.6	9.9			
		107						
	28	113	9.61	12	10			
		79.8						
	全平均 9.61							

[申請者注：低濃度区における濃縮係数は、上記①の 14.257 を採用すると、  
BCF<sub>ss</sub>=14 と考えることができる。]

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

③試験期間全体における濃縮係数

試験濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	曝露期間(日)と平均濃縮係数				
	8	10	18	21	28
0.944	13	9.3	18	12	14
9.44	10	11	13	9.9	10

4. 観察

供試魚の外観観察で、異常は見られなかった。

5. 魚体中の脂質含量

下表の通りであった。

試験濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	開始前	曝露期間(日)と脂質含量(%)					完了後
		8	10	18	21	28	
0.944	-	3.32	3.02	3.39	4.43	3.64	-
		4.26	2.58	3.65	4.03	3.22	
9.44	-	3.69	3.63	4.56	3.79	4.27	-
		3.88	4.75	4.39	3.97	3.59	
対照区	3.80	-	-	-	-	-	4.28

6. 関連事項

本試験に際して使用したイプロベンホスに係るパラメーターは以下のとおり。

- ・水溶解度 : 0.54 g/L
- ・logPow : 3.37 (20°C)
- ・コイ 96 時間 LC<sub>50</sub> : 18.4 mg/L



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

【参考資料】 稲における吸収・移行並びに代謝試験

(資料B-2)

試験機関：

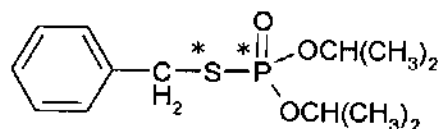
報告書作成年：1973年

供試標識化合物：

$^{32}\text{P}$ ・ $^{35}\text{S}$  標識イプロベンホス

放射化学的純度； $^{32}\text{P}$  は、 $^{35}\text{S}$  は

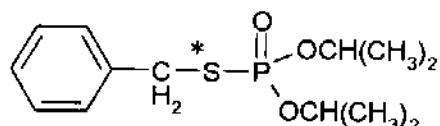
比放射能； $^{32}\text{P}$  は cpm/ $\mu\text{g}$ 、 $^{35}\text{S}$  は cpm/ $\mu\text{g}$



$^{35}\text{S}$  標識イプロベンホス；

放射化学的純度；

比放射能； cpm/ $\mu\text{g}$



供試植物： 水稻 (品種；旭) を 5 月 23 日播種し、7 月 5 日にコンテナ (30×50×40cm) に 40 株を定植した。

方 法：

薬剤処理：・茎葉処理 定植後 24 日(0.95 kg a.i./ha)・67 日(1.36 kg a.i./ha)に処理。  
・水面施用 定植後 25 日(10 kg a.i./ha)・60 日(10 kg a.i./ha)に処理。

試料採取：各処理時期から経時的に葉身部、葉鞘部を分離して採取し、細断し 80%アセトニトリルを加えホモジナイズした。遠心操作で上澄を分離し、減圧留去した残渣にトルエンと水を加えた。遠心分離により水層とトルエン層に分離した。トルエン層については脱色操作を施した。

水溶性画分；Plapp(1958)らの方法を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行った。

溶出液をフラクションコレクターで分取し、溶出液の放射能はシンチレーションカウンターで測定した。溶出液中の代謝物は、コクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

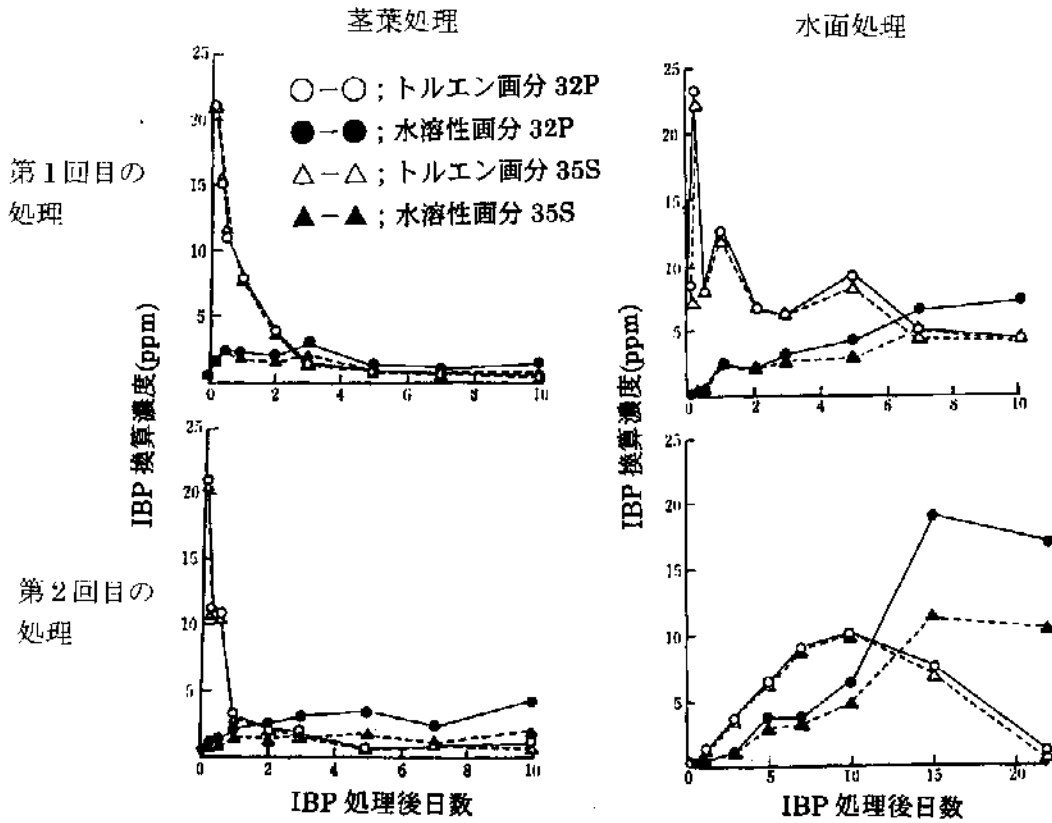
トルエン可溶性画分；

トルエン可溶性画分は TLC で展開し、スポットは X 線フィルムに感光させて確認した。溶出液中の代謝物は、コクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

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

結 果 :

茎葉処理では処理時期による変化は認められず、トルエン可溶性画分は速やかに減少した。一方水面施用では定植後 25 日処理の場合にはトルエン可溶性画分は処理後 24 時間で速やかに最高値 23 ppm を取りその後減少した。定植後 60 日処理では最高値 10 ppm を取るまでに処理後 10 日を要した。経時的变化の図を以下に示す。



IBP 処理時の葉身部トルエン画分ならびに水溶性画分の経時的变化 (IBP 濃度換算 ppm)

水溶性画分の代謝物として、K-III 画分が であ  
 ること、K-IV 画分が であること、K-II  
 画分が と  
 を含むことを同定確認した。

トルエン可溶性画分を TLC 展開したところ葉身部並びに葉鞘部とも 9 スポットを確認した。9  
 つのスポットのうち W 画分は IBP であった。V 画分は と  
 と であることを同定した。

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

葉身部トルエン画分の I B P 換算放射能量(ppm)

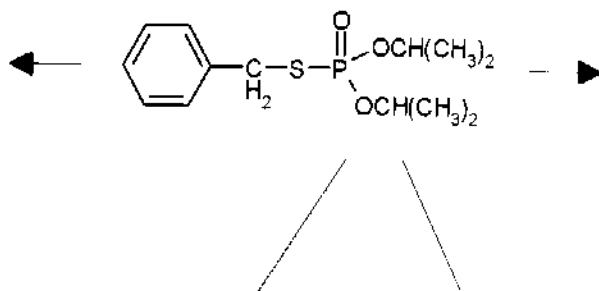
処理	処理後	画分					(IBP)			
茎葉処理	1 時間				痕跡	0.673	20.344	0.020	痕跡	
	6 時間	0.067			痕跡	1.765	13.400	0.030	痕跡	
	12 時間	0.012			痕跡	0.144	11.723	0.096	痕跡	
	1 日	0.066			痕跡	0.233	7.744	0.231	痕跡	
	3 日	痕跡	0.009				1.344	0.011		痕跡
	7 日	0.004					0.589			痕跡
	10 日	0.001					0.299			痕跡
	15 日	0.005	0.001	0.002	痕跡	0.002	0.052	0.001		
水面施用	1 時間	0.022		0.015		0.139	7.071	0.044	痕跡	
	12 時間	0.008		0.024		0.112	7.733	0.072	0.032	
	1 日	0.081		0.876		0.310	12.117	0.067	0.027	
	3 日	0.602		痕跡		痕跡	5.732	痕跡		
	7 日	0.141		0.066		痕跡	4.185	痕跡		
	10 日	0.032		0.027		0.046	4.459	0.018		

葉鞘部トルエン画分の I B P 換算放射能量(ppm)

処理	処理後	画分								
茎葉処理	1 時間	0.084		0.036		0.132	3.739			
	6 時間	0.005		0.003		0.026	0.816	0.003		
	12 時間	0.007		0.021		0.058	1.070	0.003		
	1 日	痕跡		痕跡		0.033	0.312	0.011		
	3 日	0.002		痕跡		痕跡	0.080	0.012		
	7 日	痕跡		0.001		0.001	0.024	0.001		痕跡
	10 日	0.002		0.006		0.004	0.193	0.001		痕跡
	15 日	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	0.015	痕跡		
水面施用	1 時間	0.019	痕跡	痕跡		0.672	17.932	0.056	痕跡	
	12 時間	0.142	痕跡	0.083		0.569	10.946	0.071	0.036	
	1 日	0.030	痕跡	0.030		0.243	9.694	0.142	痕跡	
	3 日	0.147		痕跡		痕跡	2.924	痕跡		
	7 日	0.046		痕跡		痕跡	2.695	痕跡		0.046
	10 日	0.014		痕跡		0.144	2.645	0.017		痕跡

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

想定される代謝経路は次の通りと考えられる。



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

【参考資料】各種土壌における挙動並びに代謝試験

(資料B-3)

(1) 土壌カラムによる垂直移動試験

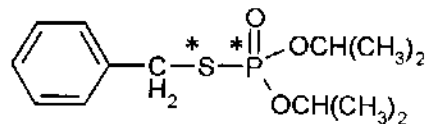
試験機関：

報告書作成年：1976年

供試標識化合物： $^{32}\text{P}$ ・ $^{35}\text{S}$  標識イプロベンホス

放射化学的純度； $^{32}\text{P}$ は、 $^{35}\text{S}$ は

比放射能； $^{32}\text{P}$ は mCi/mM、 $^{35}\text{S}$ は Ci/mM



供試土壌：土壌は砂土、クレイ土、火山灰土の3種類を用いた。

方法：

薬剤処理：内径4 cm、長さ30 cmのカラムに上記土壌8 cmの深さに入れ、湿潤状態を保った。1 mgの本薬剤を含む水50 ml (IBP 20 ppm) をカラムに入れ、余分な水はカラムの下層から排出させ静置カラムを作成した。

試料採取：静置カラム土壌層を1 cmの厚さでカットして試料とした。別の静置カラムでは1000 mlの水を48時間かけてリーチングさせ、リーチングした水を100 mlずつ分画し、土壌はリーチング後静置カラムと同様に1 cmの厚さでカットして試料とした。土壌試料は80%アセトニトリルを加え抽出し、抽出液を減圧留去した後、等量のトルエンと水とを加えて分配した。トルエン層については必要の都度脱色操作を行った。

・水溶性画分；

水溶性画分はPlapp(1958)らの方法を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行った。溶出液をフラクションコレクターで分取し、溶出液の放射能はシンチレーションカウンターで測定した。

・トルエン可溶性画分；

トルエン可溶性画分はTLCで展開し、スポットの放射能はシンチレーションカウンターで測定した。

結果：

各種土壌による垂直移動は、砂土>クレイ土>火山灰土の順番であった。

静置カラムでは、砂土でトルエン可溶性画分が土壌カラム最下層に認められた。一方火山灰土では、水溶性画分が土壌カラム表層に多く認められた。

リーチングカラムでは、砂土で水溶性画分が土壌表層に僅かに認められただけで、速やかにリーチングした水にトルエン可溶性画分が認められた。一方火山灰土では、カラムの全層にわたりトルエン可溶性画分ならびに水溶性画分が認められた。リーチングした水にトルエン可溶性画分が僅かに認められた。

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

図-1 土壤カラムにおける各画分の IBP 換算放射能量( $\mu\text{g}$ )

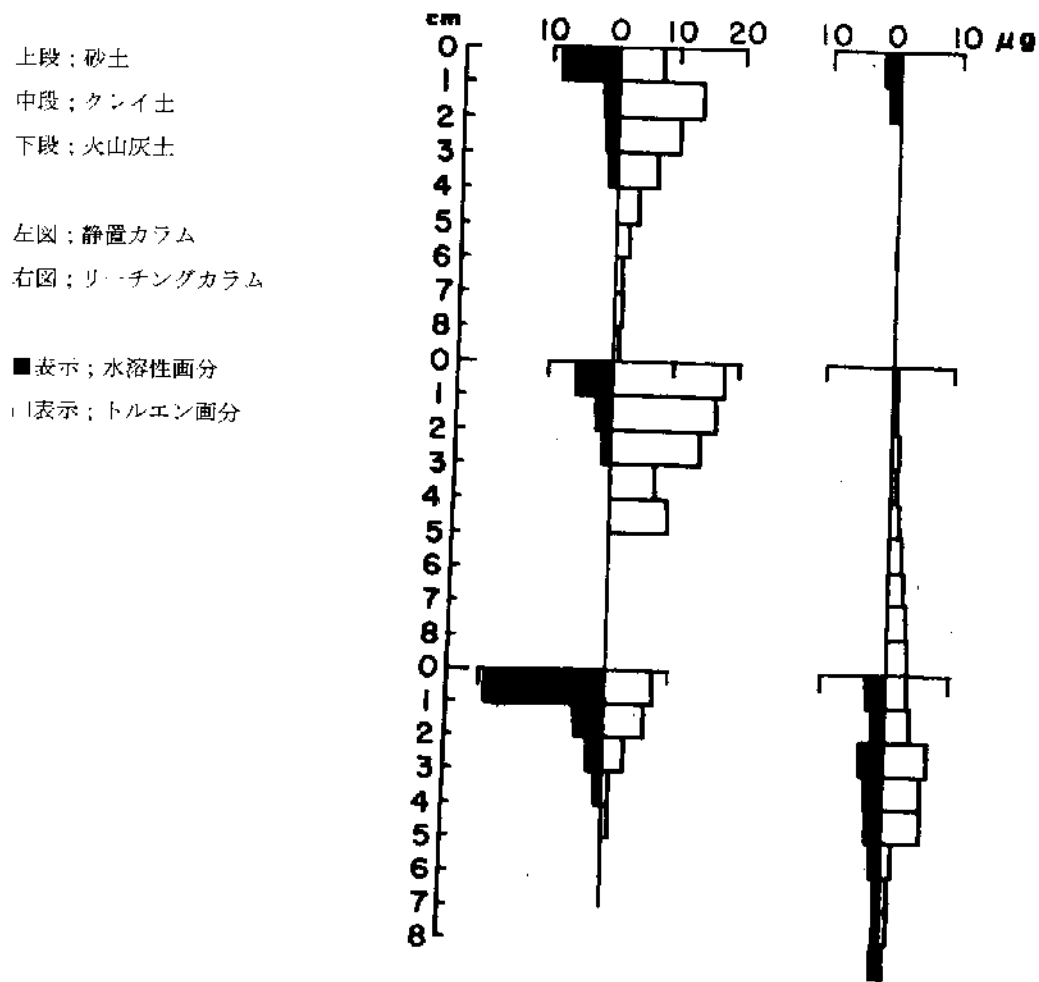
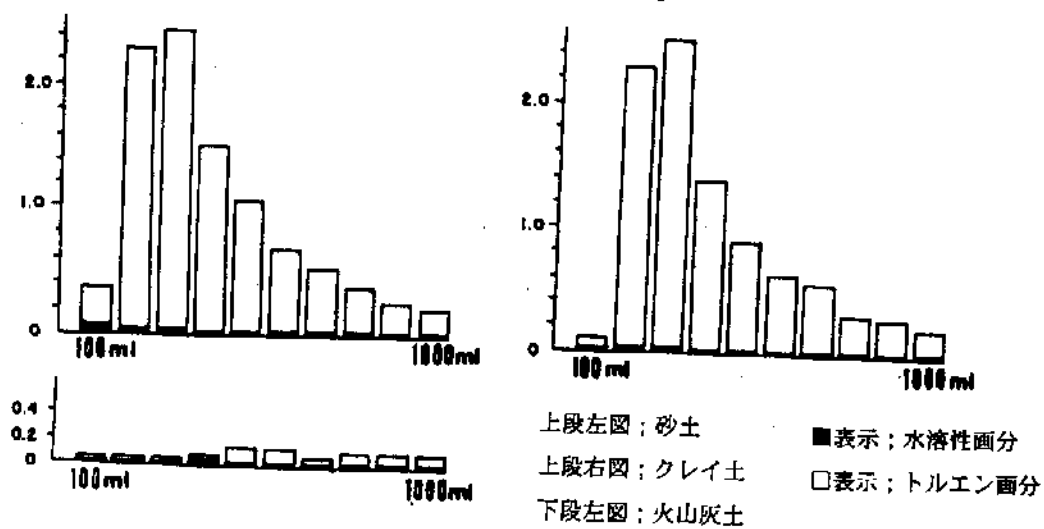


図-2 リーチング水における各画分の IBP 換算放射能量( $\mu\text{g/ml}$ )



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

【参考資料】各種土壌における挙動並びに代謝試験

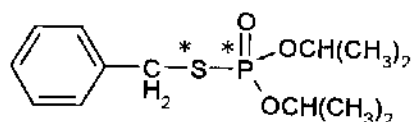
(資料B-3)

(2) 土壌代謝試験

試験機関：

報告書作成年：1976年

供試標識化合物： $^{32}\text{P}$ ・ $^{35}\text{S}$  標識イプロベンホス  
放射化学的純度； $^{32}\text{P}$ は、 $^{35}\text{S}$ は  
比放射能； $^{32}\text{P}$ は mCi/mM、 $^{35}\text{S}$ は mCi/mM



供試土壌：土壌は砂土、クレイ土、火山灰土の3種類を用いた。

方法：

薬剤処理：50 ml のビーカーに上記土壌を 20 g 入れ、200  $\mu\text{g}$  の本剤の入った水 10 ml を加え、 $28 \pm 2^\circ\text{C}$  の好気条件においた。クレイ土については、さらに 15 ml の水を加え嫌気条件としたビーカーも準備した。さらに 1 日間隔で  $100^\circ\text{C}$  1 時間の蒸気滅菌を 3 回施した、無菌ビーカーも準備した。

試料採取：土壌試料は 80% アセトニトリルを加え抽出し、抽出液を減圧留去した後、等量のトルエンと水とを加えて分配した。トルエン層については必要の都度脱色操作を行った。

水溶性画分：

水溶性画分は Plapp(1958)らの方法を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行った。溶出液をフラクションコレクターで分取し、溶出液の放射能はシンチレーションカウンターで測定した。溶出液中の代謝物は、コクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

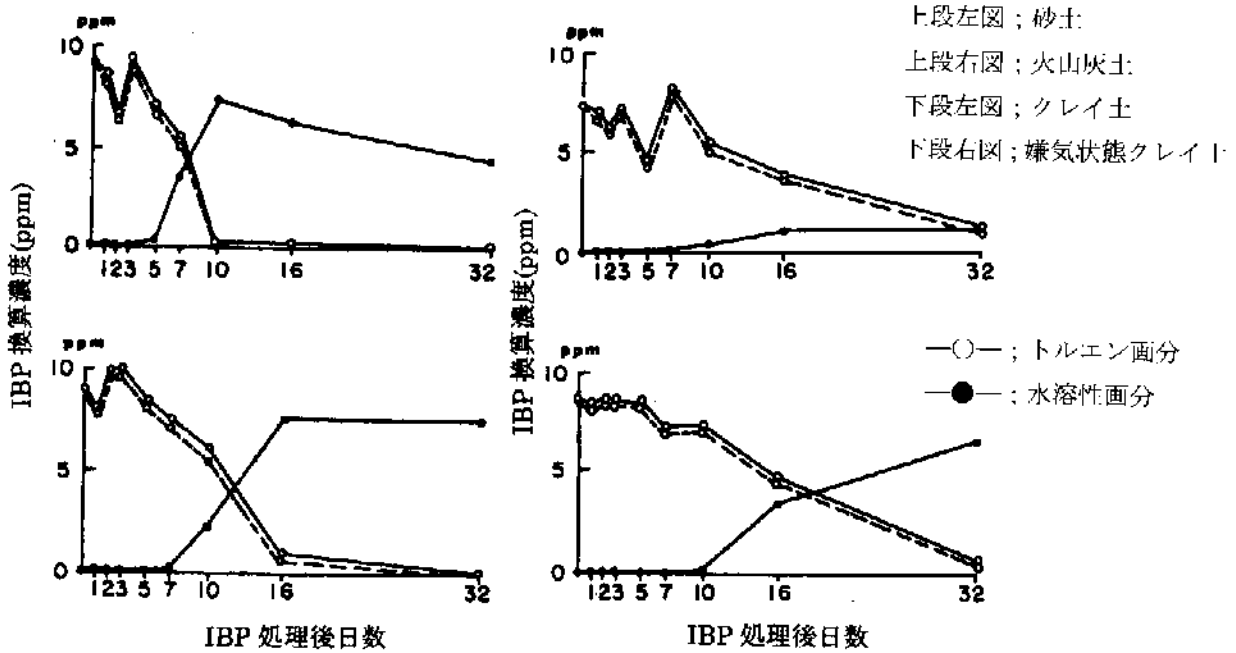
トルエン可溶性画分：

トルエン可溶性画分は TLC で展開し、スポットの放射能はシンチレーションカウンターで測定した。スポットの代謝物は、コクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

結果：

好気条件では、砂土>クレイ土>火山灰土の順番にトルエン可溶性画分が減少した。嫌気条件のクレイ土では好気条件に比較してトルエン可溶性画分の減少が緩やかになる傾向が認められた。滅菌土壌では試験期間(32日)を通じて減少は認められなかった。経時的变化の図を次ページに示す。

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



IBP 処理時の各土壌トルエン画分ならびに水溶性画分の経時的変化 (IBP 濃度換算 ppm)

水溶性画分の代謝物として K-III 画分が であ  
 ることを、K-IV 画分が であることを、  
 K-V 画分が と を含むことを同定した。

トルエン可溶性画分を TLC 展開したところ 6 スポットが確認された。6 つのスポットのうち W 画分は IBP であった。R 画分は Rf 値から と想定した。

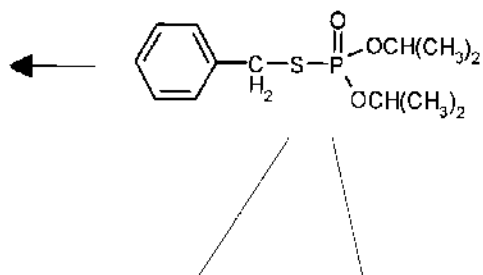
表-1 トルエン画分の放射能比 (%)

土壌	日/スポット	(IBP)					
		0.7	痕跡	1.3	90.0	0.1	痕跡
砂土	1	0.7	痕跡	1.3	90.0	0.1	痕跡
	5	0.1	痕跡	1.2	74.2	0.2	痕跡
	10	0.1	痕跡	0.3	80.4	0.1	
	30	痕跡	痕跡	痕跡	2.0		
火山灰土	1	0.5	痕跡	0.4	42.9	0.3	
	5	0.2	0.1	痕跡	26.5	0.1	
	10	0.1	0.1	0.9	35.9		
	30	痕跡	痕跡	0.3	7.6	痕跡	
クレイ土	1	1.8	痕跡	0.9	93.5	0.6	0.1
	5	0.1	痕跡	0.6	94.1	0.2	痕跡
	10	0.1	痕跡	痕跡	73.4		
	30	痕跡	痕跡	痕跡	2.9	痕跡	
クレイ土 嫌気条件	1	0.8	痕跡	0.5	94.2	0.4	痕跡
	5	1.4	0.1	2.2	95.7	0.3	0.3
	10	0.2	0.1	1.8	95.9	痕跡	痕跡
	30	痕跡	0.1	痕跡	17.4	0.3	
クレイ土 滅菌	1	0.5	痕跡	1.1	98.2	痕跡	痕跡
	5	4.6	痕跡	2.4	92.4	0.6	痕跡
	10	0.2	0.1	0.9	98.7	痕跡	痕跡
	30	0.2	痕跡	1.6	98.2	痕跡	痕跡



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

想定される代謝経路は次の通りである。



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

【参考資料】 いもち菌における吸収・移行並びに代謝試験

(資料B-4)

試験機関：

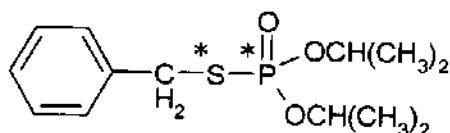
報告書作成年：1973年

供試標識化合物：

$^{32}\text{P}$ ・ $^{35}\text{S}$  標識イプロベンホス

放射化学的純度； $^{32}\text{P}$  は %、 $^{35}\text{S}$  は %

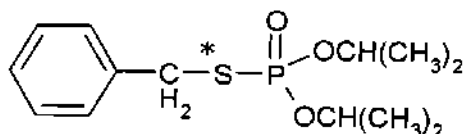
比放射能； $^{32}\text{P}$  は cpm/ $\mu\text{g}$ 、 $^{35}\text{S}$  は cpm/ $\mu\text{g}$



$^{35}\text{S}$  標識イプロベンホス；

放射化学的純度；報告書に記載が無い。

比放射能； cpm/ $\mu\text{g}$



供試菌株： *Pyricularia oryzae* (いもち菌) Hoku373 のイプロベンホス感受性株と抵抗性株とを用いた。イプロベンホス感受性株の MIC は  $<0.05\text{ mM}$  ( $<14.4\ \mu\text{g/ml}$ ) であり、イプロベンホス抵抗性株の MIC は  $0.4\text{ mM}$  ( $115\ \mu\text{g/ml}$ ) であった。

方法：

薬剤処理； 1/30M リン酸緩衝液 (1% のショ糖を含有) 10 ml に 1.5 g のいもち菌を入れ、供試化合物は  $3\ \mu\text{g/ml}$  並びに  $50\ \mu\text{g/ml}$  になるように調製した。イプロベンホス  $3\ \mu\text{g/ml}$  ではいもち菌感受性株でも阻害の生じない濃度であり、 $50\ \mu\text{g/ml}$  では感受性株は増殖阻害を生じるが、抵抗性株では阻害の生じない濃度である。調製後  $27^\circ\text{C}$  で振とう培養を 48 時間実施した。

試料採取； 培養開始後経時的に培養試料を採取し、培養液のトルエン画分と水溶性画分、菌体のトルエン画分と水溶性画分並びに不溶性画分に分けた。

水溶性画分；水溶性画分は Plapp(1958)らの方法を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行った。溶出液をフラクションコレクターで分取し、溶出液の放射能はシンチレーションカウンターで測定した。溶出液中の代謝物は、コクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

トルエン可溶性画分；

トルエン可溶性画分は TLC で展開し確認した。溶出液中の代謝物は、コクロマトグラフィーで標準物質と比較し同定した。

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

結 果 :

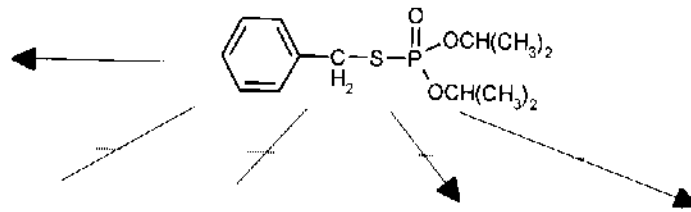
イプロベンホス  $3 \mu\text{g/ml}$  では、感受性株と抵抗性株との間に薬剤減衰の差は認められなかった。イプロベンホス  $50 \mu\text{g/ml}$  では感受性株の培養液の水溶性画分が速やかに増加した。本濃度では感受性株は増殖阻害が認められた。一方、抵抗性株では増殖阻害は生じなかった。

18時間培養を行った培養液の水溶性画分の代謝物としては、(I)が  
 であることを、(V)が であることを、(IV)が  
 であることを、(III)が であることを、(II) が  
 であることを、同定確認した。

菌体からの水溶性画分では上記以外の小さな代謝物ピークが認められたが、同定できなかった。

トルエン可溶性画分を TLC 展開したところいくつかのスポットが確認された。このラジオクロマトグラムは感受性株と抵抗性株との間でパターンに差はなかった。トルエン可溶性画分の主要代謝物 (R 画分並びに S 画分) は菌体内に存在した。R 並びに S 画分は培養液中のトルエン可溶性画分にも認められたことから、IBP の中間代謝物と想定された。代謝物としては S 画分が  
 であることを同定した。

想定される代謝経路は次の通りである。



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

【参考資料】紫外線による分解

(資料C-1)

試験機関：農業技術研究所

報告書作成年：1976年

(日本農薬学会講演要旨(1976年))

方法：イプロベンホス標準品を石英試験管の内壁に薄膜状に付着させ、これに殺菌灯(東芝 GL-15、253.7 nm で最大強度となる)を用い紫外線を照射して生成する分解物を同定した。

結果：トルエン可溶性の光分解生成物として benzyl diisopropyl phosphorothionate, benzyl diisopropyl phosphate, diisopropyl phosphonate, triisopropyl phosphate, S-isopropyl diisopropyl phosphorothiolate, dibenzyl disulfide (H), benzyl alcohol (K), benzaldehyde (I), benzoic acid (F)などが検出された。水溶性の光分解生成物として diisopropyl hydrogen phosphate (C), O,O-diisopropyl hydrogen phosphorothiolate (B)などが検出された。

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

## 代謝分解のまとめ

イプロベンホスの動物（ラット・マウス）、植物（イネ）、土壌および水中運命試験における代謝分解の要約は次のとおりである。また、推定代謝経路および各試験結果の概要をそれぞれ図および表に示した。

### 1. 動物

・ラット全身 ARG では、投与後 6 時間で放射能は胃、盲腸および小腸内部に多く、ついで肝臓と腎臓中に分布し、その他の臓器中にはほとんど認められなかった。投与後 24 時間では全身の放射能は著しく減少し、盲腸と消化管にわずかに認められたに過ぎなかった。

・ラットの排泄、分布試験では、投与後 6 時間までの尿中に投与放射能の 40% が、糞中に 2% が、投与後 24 時間までの尿中に 85%、糞中に 9% が、それぞれ排泄された。排泄は 24 時間でほぼ完了し、尿中への排泄が大部分であった。

組織内放射能は、投与後 3 時間で肝臓、腎臓、精巣、肺、脳、血漿に多く分布し、臓器・組織中の放射能は投与後 6 時間で最大値を示し、血漿レベルの減少とともに経時的に減少した。

・マウスの排泄、分布試験では、投与後 6 時間までの尿中に投与放射能の 40% が、糞中に 12% が排泄され、糞中の累積排泄量はその後一定であった。投与後 24 時間までの尿中には 67% の放射能が排泄され、排泄は 72 時間でほぼ完了し、放射能の大部分は尿中に排泄された。

臓器内放射能は、投与後 3 時間で最大値を示し、腎臓、肝臓、肺、精巣、血漿中に多く分布し、その他の臓器中割合は低かった。血漿レベルの減少とともに臓器中レベルも減少した。

・代謝物：水溶性画分から検出された 5 種代謝物のうち、

および

の 3 種主要代謝物が同

定された。尿中放射能の大部分が水溶性画分へ分配され、その画分中の構成割合は、 $\text{C}_1$  が 54.0%、 $\text{C}_2$  が 21.1%、 $\text{C}_3$  が 14.3% で、合計 89.4% を示した。尿中放射能のトルエン可溶性画分への分配は極く少量で、この画分から 7 種代謝物が確認され 1 つは親化合物であったが、その他については同定に至らなかった。

以上のことから、イプロベンホスは、ラット体内で  $\text{C}_1$  を受け、 $\text{C}_2$  や  $\text{C}_3$  に代謝された。一方、 $\text{C}_1$  も主要代謝経路であった。

### 2. 植物（イネ）

粒剤処理：ベンゼン環標識体の場合、玄米中主要残留物は  $\text{C}_1$  であり、ほかに少量の親化合物および  $\text{C}_2$  が残留した。籾殻中では親化合物、 $\text{C}_2$ 、未同定および  $\text{C}_3$  が 7-13 %TRR 存在した。

イソプロピル基標識体の場合は、玄米、稲わらおよび籾殻中の主な残留物は、 $\text{C}_1$  で 19~79 %TRR 残留した。親化合物は稲わら中では多かった（13%TRR）が、玄米および籾殻中ではごく少量であった。 $\text{C}_2$  は玄米中では 9 %TRR であったが、籾殻中では少量であった。

粉剤処理（収穫 21 日前）：ベンゼン環標識体を処理したが、玄米、稲わらおよび籾殻中では親化合物が主要残留物であった（27-39%TRR）。 $\text{C}_1$  も玄米中では主要代謝物で 22 %TRR を示した。 $\text{C}_2$  は玄米、稲わらおよび籾殻中で 4-11 %TRR を示した。

代謝経路：以上のことから、イプロベンホスをイネに処理したあとの主要な  $^{14}\text{C}$ -残留物は、親化合物、 $\text{C}_1$ 、 $\text{C}_2$ 、未同定  $\text{C}_3$  および  $\text{C}_4$  である。代謝は  $\text{C}_1$  の  $\text{C}_2$  により進行し、不安定な中間体を経て  $\text{C}_3$  および  $\text{C}_4$  に開裂される。 $\text{C}_2$  は  $\text{C}_1$  および  $\text{C}_3$  に、 $\text{C}_3$  はさらに  $\text{C}_4$  に  $\text{C}_5$  される。

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

### 3. 土壌

イプロベンホスの湛水土壌中における一次速度式による減衰半減期  $DT_{50}$  は、イソプロピル標識体では 201 日、ベンゼン環標識体では 165 日、をそれぞれ示した。物質収支は何れの標識体でも平均 94% レベルを示し、揮発性物質はその殆んどが  $CO_2$  であった。また、いわゆるバウンドレシデュールはベンゼン環標識体で % 以上を示し、イソプロピル基標識体のそれより約 2 倍多かった。ベンゼン環標識体でのバウンドレシデュールはフミン画分に多く、次いでフミン酸画分、フルボ酸画分に分布した。イソプロピル基標識体では、フミンおよびフミン酸画分にはほぼ同等に分布し、フルボ酸画分への分布はより少なかった。

イプロベンホスの湛水土壌中運命は、(1) の により、りん酸部分は や となり、この が主要代謝物として 6 か月後に処理量の 18.2% を示した。(2) 続いて が開裂して  $CO_2$  を生成し、また バウンドレシデュールとなる。一方、僅かながら や の生成も見られた。

### 4. 加水分解運命

イプロベンホスの加水分解運命は、 部分の が 求核的に置換された を生成する、かつ、この生成量も 1 か月後でも最大 9.7% と極めて単純な分解プロセスを示した。この過程には、pH 条件による影響はなく、pH 4~9 で の生成量はほぼ同等であった。

### 5. 水中光分解運命

イプロベンホスのキセノン光照射による光分解では、120 時間後の親化合物の残存率は、蒸留水区で 81.8%、自然水区で 55.1% を示したことから、自然水中光分解には光増感物質が関与しているものと考えられた。蒸留水区では が最大 7.8% 生成したが、その他の分解物は 1% 以下であった。自然水区では のほか、 が 2% 程度の生成量であった。光分解経路は、 と の結合が開裂して に分解された後、 の または 部位の を受け、 または へ至るものと考えられた。また、未同定の高極性分解物は、フェノール性物質、例えば などがポリマー化した分解物であると考えられた。

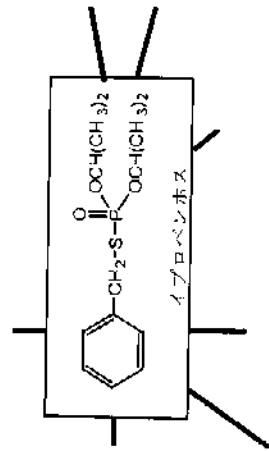
### 6. 土壌吸着性

イプロベンホス標品を用いて、性質の異なる 4 種土壌での吸着性を調べた。Freundlich の吸着等温式により求めた  $K_F^{abs}$  は、 土壌：9.85、 土壌：10.63、 土壌：4.64、 土壌：1.18 であり、この数値を有機炭素含有率で割り求めた  $K_F^{absoc}$  は、 土壌：253、 土壌：247、 土壌：580、 土壌：295 であった。

### 7. 魚類濃縮性

イプロベンホス非標識原体を用いて、設定濃度  $0.944 \mu\text{g/L}$  及び  $9.44 \mu\text{g/L}$  の 2 濃度区による取り込み期間 28 日間のコイの濃縮性試験を行った。取り込み係数 BCF<sub>ss</sub> は  $9.44 \mu\text{g/L}$  区で 11、 $0.944 \mu\text{g/L}$  区で 14 であった。

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



イプロベンホスの動物植物等における代謝分解経路図

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

〈代謝分解の概要〉

動物ラット	代謝分解物		処理量に対する割合% [植物の場合は上段：抽出画分、下段：残液中、...該当なし、nd不抽出]													回収放射能の合計% (**)	対投与量回収率%									
	水溶性画分中の構成比%	トルエン可溶性画分中の構成比%	酸化合物	54.0	21.1	14.3																		未同定	非抽出物	CO <sub>2</sub>
尿	ベンゼン 探標 試体	%TRR	30.8	6.5	6.0	13.9	3.9	0.3													5.6	3.1	25.62		98	
		ppm	12.1	2.54	2.37	5.47	2.1	0.12														1.7	1.20	10.07		1
植物イネ 1日処理	根	%TRR	34.4	6.1	1.0	12.4	<0.7	<0.7													2.60	<0.7	30.5		53.9	
		ppm	3.36	0.60	0.10	4.1	...	<0.07													0.66	<0.07	2.98		5.27	
粉	根	%TRR	0.7	6.4	<3.7	<2.6	25.1	<0.4													...	6.0, 9.4	48.8		32.2	
		ppm	0.02	0.17	<0.1	2.2	5.0	<0.01													...	0.16, 0.25	1.30		0.86	
粉	根	%TRR	16.3	7.2	<3.5	8.0	...	0.1													21.8	...	26.4		31.7	
		ppm	8.22	4.09	<2.0	13.4	...	1.30	0.04												...	...	14.40		17.9	
粉	根	%TRR	7.3	5.6	<2.3	4.0	5.8	<0.5													10.5	...	49.3		22.7	
		ppm	1.25	0.96	<0.4	6.5	6.9	<0.09													1.79	...	8.44		3.85	
粉	根	%TRR	33.3	<11	7.8	11.1	22.2	<1													nd	...	16.7		74.4	
		ppm	0.03	<0.01	0.007	0.01	0.02	<0.001													nd	...	0.02		0.07	
粉	根	%TRR	27.4	6.1	<0.7	4.1	5.2	<0.7													nd	...	22.3		42.8	
		ppm	1.52	0.34	<0.04	0.23	0.29	<0.04													nd	...	1.24		2.38	
粉	根	%TRR	39.4	2.6	2.6	5.3	3.5	nd													0.9	...	20.1		53.4	
		ppm	0.45	0.03	0.03	0.06	0.04	nd													0.01	...	0.23		0.61	



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

<代謝分解の概要>

代謝分解物	処理量に対する割合% (植物の場合は上段：抽出画分、下段：残渣中、...該当なし、nd不検出)											回収放 射能の 合計 % (**)	対投与 量回収 率%	
	親化 合物									未同定	非抽出物			CO <sub>2</sub>
茎葉	%TRR	35.7	8.8	29.7	1.7					1.3	21.1		76.9	
	ppm	12.11	3.32	10.08	0.56					0.45	7.17		26.1	
イソ プロ ピル 基標 識体	%TRR	73.2	3.4	3.8	0.7					1.5	0.4		81.1	
	ppm	5.52	0.26	0.29	0.05					0.11	0.03		6.12	
玄米	%TRR	2.2	9.4	79.4	nd						7.2		91.1	
	ppm	0.31	1.31	11.09	nd						1.00		12.71	
わら	%TRR	13.2	2.1	19.3	2.5					1.2	7.1		37.1	
	ppm	8.17	1.29	11.91	1.55					0.74	4.40		22.92	
粒殼	%TRR	1.4	0.7	73.7	0.5					0.2	20.0		76.3	
	ppm	0.69	0.37	37.61	0.24					0.12	10.22		38.91	

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

<代謝分解の概要>

代謝分解物	処理量に対する割合% [揮物の場合は上段：抽出画分、下段：残渣中、…該当なし、nd不検出]													回収放 射能の 合計 % (**)	対投与 量回収 率%				
	親化 合物															未 向 定	揮 出 物	CO <sub>2</sub>	
好気的 水、 堆 工	ベンゼン環標識体	30日後	66.3	0.2					0.9	8.9						22.8	3.9	95.3	
		90日後	57.8	0.5				1.0	17.2							24.9	9.6	94.9	
		120日後	49.8	0.2				1.1	16.2							27.8	12.3	92.5	
		184日後	39.0	0.1				0.5	18.2							26.8	24.8	92.5	
ベンゼン環標識体		30日後	70.1	1.7				1.1								10.6	1.8	96.5	
		90日後	49.1	2.0				1.4								13.8	5.1	92.2	
		120日後	51.3	2.4				1.0								15.6	6.3	94.2	
		184日後	47.1	2.9				0.9								11.5	9.7	92.5	
加水分解	pH 4	14日後	96.5	4.2															
		32日後	91.3	8.9															
	pH 7	14日後	96.6	4.7															
		32日後	90.4	9.7															
水中光分解	pH 9	14日後	96.1	4.3															
		32日後	90.1	9.2															
	蒸留水	2日後	82.7						4.0	0.7	0.2	1.1	0.6					93.2	
		5日後	81.8						7.8	0.6	0.2	1.0	0.6					96.8	
自然水		2日後	66.6						3.1	1.9	2.0	2.1	2.0					92.8	
		5日後	55.1						4.6	1.7	1.5	2.3	1.9					91.8	

