

4) ビーグル犬における 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 38)

検体純度

供試動物

ビーグル犬、1 群雌雄各 4 頭、開始時約 6 ヶ月月齢（体重：雄 7.1～9.4 kg、雌 6.2～8.3 kg）

投与期間

90 日間（2006 年 4 月 26 日～2006 年 7 月 25 日）

投与方法

検体をゼラチンカプセルに充填し、0、100、300 及び 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。対照群には検体を含まない空のカプセルを同様に投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間を通じ死亡動物はみられなかった。また、投与期間を通じて、検体投与に伴う毒性学的意義ある変化は認められなかった。検体を含む便が 1000 mg/kg 群の雌雄全個体でほぼ毎日、300 mg/kg 群の雄 2 匹及び雌 3 匹で散発的に観察された。検体を含む泡沫状の嘔吐物が 1000 mg/kg 群の雄 1 匹で投与 2 週に 1 回観察された。1000 mg/kg 群の雌 1 匹で投与 2 週から脱毛がみられたが、投与 5 週には消失した。

体重変化：

試験期間中（投与開始から 90 日間）に週 1 回、全動物の体重を測定した。

投与期間を通じ、いずれの動物も検体投与に関連する変化はなかった。

摂餌量：

全動物の摂餌量を毎日測定し、1 週間毎の累積摂餌量からその 1 週間の 1 日当りの摂餌量（平均値）を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

投与期間を通じ、いずれの動物も検体投与に関連する変化はなかった。

血液学的検査： 全動物について、投与開始2週前及び1週前、投与7及び13週に、橈側皮静脈より血液を採取し、以下の項目の測定を行った。
赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、網状赤血球率、血小板数、白血球数、白血球百分比、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリノーゲン量
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
MCV (fL)	7週								
	13週								
MCH (pg)	7週								
	13週								
網状赤血球率(%)	13週								
白血球数 ($\times 10^2 \mu\text{L}$)	13週								
好酸球比率(%)	13週								
単球比率 (%)	13週								

多重比較検定 $\uparrow \downarrow$: $p < 0.05$

表中の括弧内の数値は対照群の値を100とした時の値

雄 300 mg/kg 群の MCV 投与開始前値 : 68.6, 68.5

雄 1000 mg/kg 群の MCV 投与開始前値 : 69.7, 69.5

雄 300 mg/kg 群の MCH 投与開始前値 : 23.5, 23.5

雄 1000 mg/kg 群の MCH 投与開始前値 : 23.6, 23.8

MCV 及び MCH の増加が 300 mg/kg 以上、又は 1000 mg/kg 群の雄でみられたが、いずれの値も投与開始前の測定値とほぼ同様の値であった。網状赤血球率、白血球数、好酸球比率及び単球比率について、雄の検体投与群で有意な変動がみられたが、用量相関性がないことから検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液生化学検査：血液学的検査と同時期に血漿及び血清を用いて、以下の項目の測定を行った。

GOT、GPT、LDH、CPK、 γ -GTP、ALP、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸、総ビリルビン、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白質、アルブミン、A/G 比
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
CPK (IU/L)	7 週								
遊離脂肪酸 (mmol/L)	7 週								
尿素窒素 (mg/dL)	7 週								
クレアチニン (mg/dL)	7 週								
GOT (IU/L)	13 週								
γ -GTP (IU/L)	13 週								
アルブミン (g/dL)	13 週								

多重比較検定 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$

表中の括弧内の数値は対照群の値を 100 とした時の値

雌対照群の CPK 投与開始前値：230、210 IU/l

雄対照群の遊離脂肪酸 投与開始前値：1.01、1.00 mmol/l

雄対照群の尿素窒素 投与開始前値：11、11 mg/dl

雄 1000 mg/kg 群のクレアチニン 投与開始前値：0.50、0.62 mg/dl

雄検体投与群の GOT 投与開始前値：

雌 1000 mg/kg 群の γ -GTP 投与開始前値：3、3 IU/l

雌 1000 mg/kg 群のアルブミン 投与開始前値：3.2、3.2 g/dl

投与 7 週に CPK の低値が 1000 mg/kg 群の雌で、遊離脂肪酸の高値が 300 及び 1000 mg/kg 群の雄で、尿素窒素及びクレアチニンの高値が 1000 mg/kg 群の雄でみられた。CPK の低値、遊離脂肪酸の高値及び尿素窒素の高値は対照群の投与開始前又は投与開始後に同様の測定値を示す個体が散見され、クレアチニンの高値は投与開始前値とほぼ同様の値であることから、いずれの項目の測定値も偶発

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

的な変動と判断された。また、投与 13 週に GOT の低下が全検体投与群の雄で、 γ -GTP 及びアルブミンの高値が 1000 mg/kg 群の雌にみられたが、いずれも投与開始前値とほぼ同様の値であり、これらの変動も偶発的な変化と判断された。

尿検査： 全動物について、投与開始 1 週間前、投与 7 週及び 13 週に採取した新鮮尿及び蓄尿(約 22 時間尿)を用いて以下の項目を検査した。

新鮮尿 pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、
ビリルビン、沈渣、色調及び比重

蓄尿 尿量、ナトリウム、カリウム及び塩素

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
ナトリウム (mmol/22h)	13 週								
比重	13 週								

多重比較検定 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$

表中の括弧内の数値は対照群の値を 100 とした時の値

1000 mg/kg 群の雄にナトリウムの低値が、300 mg/kg 群の雌に比重の低値がみられた。ナトリウムの低値は、同様の低値を示す個体が対照群にも認められた。尿比重の低値は、投与開始前値 (1.025) とほぼ同様の値であり、また、1000 mg/kg 群で同様の低値がみられないことから、偶発的な変化と判断された。他の項目についても検体投与の影響はなかった。

眼科学的検査： 投与開始前、投与開始 1 週前、投与 7 週及び 13 週に全動物を対象に眼科学的検査を実施した。

検体投与に関連すると判断される異常は認められなかった。

臓器重量： 13 週間の投与終了時に全動物を対象として、以下の臓器重量(絶対重量)を測定し、剖検時の体重から対体重比(相対重量)を算出した。

脳、下垂体、甲状腺、副腎、胸腺、脾臓、心臓、肺、顎下腺、
肝臓、膵臓、腎臓、精巣、卵巣、精巣上体、子宮、前立腺

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

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。

肉眼的病理検査：13週間の投与終了時に全例の剖検を行った。

検体投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

病理組織学的検査：全動物を対象として、次の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

大脳、小脳、橋、延髄、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、視神経、坐骨神経、眼球（網膜を含む）、涙腺、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、胸腺、脾臓、頸部リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、大動脈（大動脈弓）、鼻部（鼻腔）、喉頭、咽頭、気管、肺（気管支を含む）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル氏板を含む）、盲腸、結腸、直腸、顎下腺、舌下腺、耳下腺、肝臓、胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、精巣上体、子宮、前立腺、陰、乳腺、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）、大腿部骨格筋、皮膚（腹部）

主要な臓器の所見を次頁の表に示す。

各検体投与群にみられたいずれの変化も、その病理組織学的な性状及び発現状況から検体投与に起因するものではない偶発的な変化と判断された。

以上、クロルフタリム原体のビーグル犬を用いた90日間反復経口投与毒性試験の影響は、雌雄ともに高用量の1000 mg/kg/日でも認められなかった。したがって、無毒性量は雌雄とも1000 mg/kg/日と判断された。

病理組織学的検査の結果表 (1/2)

性別		雄				雌			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査動物数									
副 腎	皮質部鉍質沈着								
大腿骨骨髓	仮骨形成 (海綿状骨)								
精巣上体	上皮細胞空胞化								
	上皮細胞内鉍質沈着								
	上体管内細胞残渣								
心 臓	右房室弁毛細血管拡張症								
	動脈炎 (冠状溝)								
	右房室弁に褐色色素沈着								
腎 臓	再生尿細管								
	尿円柱								
	髓質内鉍質沈着								
	間質性細胞浸潤								
	乳頭部上皮細胞過形成								
涙 腺	腺房細胞限局性萎縮								
	間質性細胞浸潤								
肝 臓	微小肉芽腫								
肺	肺胞壁線維化								
	血管周囲性細胞浸潤								
	肺胞内マクロファージ集簇								
	肺胞内出血								
	胸膜の線維性肥厚								
頸部リンパ節	髓質の細胞浸潤								
延 髄	血管周囲性細胞浸潤								
卵 巢	黄体のう胞								

(統計処理は非実施)

病理組織学的検査の結果表(2/2)

性別		雄				雌			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与量 (mg/kg/日)									
検査動物数									
膵 臓	膵島細胞症								
	間質性細胞浸潤								
上皮小体	のう胞								
下垂体	前葉のう胞								
橋	血管周囲性細胞浸潤								
前立腺	未成熟								
耳下腺	異所性粘液細胞								
	腺房細胞限局性萎縮								
	間質性細胞浸潤								
舌下腺	間質性細胞浸潤								
顎下腺	腺房細胞限局性萎縮								
	間質性細胞浸潤								
坐骨神経	ルノー小体								
大腿部骨格筋	限局性細胞浸潤								
腹部皮膚	毛包炎								
脊 髄	血管周囲性細胞浸潤								
脾 臓	髄外造血								
胃	粘膜内鉍質沈着								
精 巢	輸精管萎縮								
	分節低形成								
胸 腺	萎縮								
	小胞形成								
舌	筋層内細胞浸潤								
気 管	粘膜内細胞浸潤								
膀 胱	臍帯動脈遺残								
子 宮	未成熟								
膣	未成熟								

(統計処理は非実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

試験未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(8) 90日間反復吸入毒性

試験未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

試験未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(10) 28日間反復経口投与遅発性神経毒性

試験未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性
試験未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(1 2) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性試験

試験未実施

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料 14)

検体純度

供試動物

SD 系妊娠ラット、1 群 24 匹、67 日齢 (体重 : 175~296g)

投与期間

14 日間 (1982 年 11 月 22 日~1982 年 12 月 22 日)

投与方法

検体をコーンオイルに溶解し、75、150 及び 300 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群にコーンオイルを同様に投与した。雌雄を一晚同居させ、翌朝膣垢標本中に精子が観察されるか膣栓が確認された場合、交配成立とみなしその日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠:

観察・検査項目

母動物 : 一般状態、生死を毎日観察し、妊娠 0、6、10、15 及び 20 日に詳細な身体検査と体重測定を行った。

妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児、吸収胚数を検査した。

生存胎児 : 性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児の 1/2 の胎児については、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

統計処理は次のように行った。

母動物の体重、体重増加量、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、胎児体重、雄及び雌胎児数、着床数に対する生存胎児の割合、着床数に対する吸収胚の割合について、Dunnett の検定又は Dunn の順位和検定を用いて対照群と各検体投与群の対比較を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

死亡率、妊娠率、化骨変異の胎児発生率、外表・内臓・骨格奇形を有する腹の割合、内臓変異を有する腹の割合については、Fisher の直接確率法を用いて対照群と各検体投与群の対比較をおこなった。

試験結果

概要を後ろの表に示す。

母動物： 検体投与による母動物の死亡は認められなかった。対照群、75 mg/kg 群及び 300 mg/kg 群で死亡が各々1、1、2 例発生した。対照群の死亡例では妊娠 10 日から投与が困難となり、同 14 日に瀕死期屠殺した。75 mg/kg 群の死亡例では著しい体重減少のため投与開始前の妊娠 6 日に瀕死期屠殺した。300 mg/kg 群の死亡例では妊娠 4 日の投与開始前及び妊娠 19 日に各 1 匹が死亡した。これら各群の死亡は検体投与とは関連がないと判断された¹⁾。なお、投与開始前に死亡が発生した 75 mg/kg 群及び 300 mg/kg 群には各 1 匹の代替動物が補充された。

流涎過多が妊娠 10 日に 16 例（75、150 及び 300 mg/kg 群で各々1、4 及び 11 例）観察され、妊娠 15 日に 14 例（75、150 及び 300 mg/kg 群で各々3、2 及び 9 例）観察された。これらは検体投与によると考えられた²⁾。その他、鼻汁、ラッセル音、血涙、流涙、脱毛、肛門生殖器域の被毛着色が対照群及び検体投与群に同様の頻度で観察された。

妊娠 6～20 日の体重増加量は 300 mg/kg 群で実測値及び子宮重量で補正した値の両方で統計学的有意差は認められなかったものの対照群の値をわずかに下回り、検体投与による影響と考えられた。その他の検体投与群の体重は対照群と同程度であった。

妊娠率、着床所見（黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数）及び剖検所見について、検体投与に関連する変化は観察されなかった。

胎児： 対照群に比べて 150 mg/kg 以上の群で胎児体重の低下がみられ検体投与による影響と考えられた。性比について、検体投与の影響は認められなかった。

胎児の外表検査において、胎児単位でも腹単位でも対照群と検体投与群に差異は認められなかった。骨格検査において、化骨進行度及び軽度の化骨不整、また、奇形の頻度について、対照群と検体投与群との間に差異は認められなかった。最も多く観察された奇形は波状肋骨であったが、対照群、75、150 及び 300 mg/kg 群の頻度は各々 5、1、0 及び 1 例であった。内臓検査において、変異及び奇形とも検体投与の影響は認められなかった。最も多く観察された異常は腎盂の拡張であり、対照群、75、150 及び 300 mg/kg 群の頻度は各々 13、24、8 及び 10 例であった。

以上、クロルフタリム原体の妊娠ラットを用いた催奇形性試験の影響として、母動物では 300 mg/kg 群で死亡、流産過多及び体重増加抑制が認められた。胎児では、150 mg/kg 以上の群で低体重がみられた。したがって、無毒性量は母動物で 150 mg/kg/日、胎児動物で 75 mg/kg/日と考えられた。また、最高投与量の 300 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼ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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要表 <母動物>

投与量 (mg/kg/日)	0 (溶媒対照)	75	150	300
1 群当りの動物数				
一般状態 流涎過多 妊娠 10 日 15 日				
死亡率 (%) ¹⁾				
体重増加量(g) 妊娠 0-6 日 妊娠 6-20 日 補正なし 補正あり ²⁾				
子宮重量(g)				
妊娠率 (%)				
着床所見	検査動物数			
	黄体数			
	着床数			
	生存胎児数			
	死亡胎児数			
	吸収胚数			
剖検				

¹⁾ 投与開始前の死亡は表中には含めていない (本文参照)。

²⁾ 補正あり：妊娠 20 日の体重から子宮重量を差し引いた値
空欄は異常なし

結果の概要表 <胎児動物>

投与量 (mg/kg/日)		0 (溶媒対照)	75	150	300
1 群当りの動物数					
体重 (g)		雄 雌			
性比：雄/雌					
外表異常	検査腹数(胎児数)				
	発生率 (%) *				
骨格異常	検査腹数(胎児数)				
	化骨遅延				
	奇形				
	発生率(%)*				
内臓異常	検査腹数(胎児数)				
	変異				
	発生率(%)*				
	奇形				
	発生率(%)*				

* : 異常胎児を有する母動物数/総観察母動物数×100

Dunnett の検定 ↑↓ ; P<0.05、空欄は異常なし

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 27)

検体純度

供試動物

日本白色種妊娠ウサギ、1 群 16 匹 (交尾動物)

5 ヲ月齡 (体重 : 3.58~4.87 kg)

投与期間

13 日間 (1990 年 4 月 16 日~1990 年 5 月 8 日)

投与方法

検体を 0.5%トラガントゴム水溶液に懸濁し、5、20 及び 80 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 18 日まで 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.5%トラガントゴム水溶液のみを同様に投与した。雌雄を同居させ、臍垢標本中に精子が観察された雌を交尾動物とみなしその翌日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠 :

観察・検査項目

母動物 : 一般状態及び生死を毎日観察し、体重を妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24 及び 28 日に測定した。妊娠 28 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胚数等を検査した。

生存胎児 : 性別、体重及び外表異常の観察を行った。全生存胎児について脳を含む内臓検査を実施したのち、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

統計処理は次のように行った。胎児に関するデータは腹を単位として解析された。母動物の体重、体重増加量、摂餌量、黄体数、着床後死亡胚数、生存胎児数、胎児体重は、Student-t 検定又は Welch-t 検定を用いて対照群と各検体投与群の対比較を行った。着床前胚死亡率、着床後胚死亡率、総胚死亡率は、Freeman-Tukey の arcsin 変換後に t 検定を用いて対照群と各検体投与群の対比較を行った。

性比は Fisher の直接確率法を用いて検定した。内臓異常及び骨格異常

の発現率、化骨進行度は、Mann-Whitney の U 検定を用いて対照群と各検体投与群の対比較をおこなった。

試験結果 概要を次頁に表示する。

母動物： 母動物の 80 mg/kg 群に眼瞼粘膜及び耳介の蒼白、削瘦等がみられた。20 及び 80 mg/kg 群において、体重の低下又は増加抑制、摂餌量の低下がみられ、無摂餌の母動物も観察された。これらの変化は検体投与による影響と考えられた。20 mg/kg 群の 1 匹が削瘦を示し、妊娠 27 日に死亡した。しかし、80 mg/kg 群では死亡は認められなかったことから、20 mg/kg 群の死亡と検体投与との関連は明らかではなかった。早産動物が妊娠 25 日～28 日までに検体投与群で計 6 例みられた。80 mg/kg 群の 4 例はそれらの動物で認められた体重や摂餌量の低下又は無摂餌に関連していると考察された。一方、5 及び 20 mg/kg 群の各 1 例の早産については出現頻度が少なく、検体投与に関連した変化とは考えにくいと判断された。母動物の肉眼的病理所見では主要な組織器官に特記すべき変化はみられず、着床所見についても対照群と各検体投与群の間に差が認められなかった。

胎児： 胎児動物の体重、性比について対照群と各検体投与群との間に差はみられなかった。外表、内臓及び骨格検査の結果、種々の異常がみられたが、いずれの異常も検体投与に起因する変化とは考えられなかった。化骨進行度について、5 mg/kg 群で仙・尾椎椎体数の有意な増加がみられたが、同様の変化が 20 及び 80 mg/kg 群でみられないことから検体投与に関連する影響とは考えられなかった。

以上、クロルフタリム原体の妊娠ウサギを用いた催奇形性試験における影響として、母動物においては 20 mg/kg 以上の群で体重減少、体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められ、80 mg/kg 群で眼瞼粘膜及び耳介の蒼白、削瘦、早産動物が認められた。一方、胎児動物においては、影響は認められなかった。したがって、無毒性量は母動物で 5 mg/kg/日、胎児動物で 80 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 80 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼ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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果の概要<母動物>

投与量 (mg/kg/日)		0 (溶媒対照)	5	20	80
1 群当り交尾動物数					
一般状態 削瘦 その他					
死亡数					
早産数					
妊娠動物数					
非妊娠動物数					
吸収胚					
体重増加量 (kg)	妊娠 0-6 日				
	妊娠 0-12 日				
	妊娠 0-15 日				
	妊娠 0-18 日				
	妊娠 0-21 日 妊娠 0-24 日 妊娠 0-28 日				
摂餌量 (g)	妊娠 6 日				
	妊娠 12 日				
	妊娠 15 日				
	妊娠 18 日				
	妊娠 21 日 妊娠 28 日				
肉眼的病理所見					
着床所見	検査動物数				
	黄体数				
	着床数				
	生存胎児数 (雄 : 雌)				
	早期死亡胚数				
	後期死亡胚数				
	着床前胚死亡率(%)				
	着床後胚死亡率(%)				
	総胚死亡率(%)				

空欄は異常なし

t 検定 ↓ ↑ : P<0.05、↓↑ : P<0.01、↓↑ : P<0.001

結果の概要<胎児動物>

投与量 (mg/kg/日)		0 (溶媒対照)	5	20	80
検査胎児数					
体重 (g)	雄				
	雌				
性比 (雄/雌)					
外表異常	検査腹数(胎児数)				
	奇形 (発生胎児数)				
骨格異常	検査腹数(胎児数)				
	化骨進行度 仙・尾椎椎体数				
	変異 (胎児数/腹数)				
	奇形 (胎児数/腹数)				
	変異・奇形 発生率 (%)				
内臓異常	検査腹数(胎児数)				
	変異 (胎児数/腹数)				
	奇形 (胎児数/腹数)				
	変異・奇形 発生率 (%)				

空欄は異常なし

Mann-Whitney の U 検定 ↓ ↑ : P<0.05

(13) 変異原性

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験及び Rec Assay

(資料 15)

検体純度

① 細菌を用いる復帰突然変異試験

試験方法

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella Typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *hcr*⁻株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体をジオキササンに溶解し、1000～5000 µg/plate の範囲の 5 濃度で行った。試験は 1 連制で 1 回行われた。

なお、陽性対照として以下の化合物が使用された。

略称	化学名
2-AA	: 2-aminoanthracene
BP	: benzo (a)pylene
4-NO	: 4-nitroquinoline-N-oxide
FF	: furyl furamide
NNN	: N-methyl-N-nitro-nitrosoguanidine
2-NF	: 2-nitrofluorene

試験結果

結果を次頁に表示する。

検体は代謝活性化を含め最高濃度の 5000 µg/plate 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、陽性対照として用いた 2-AA、BP、4-NO、FF、NNN 及び 2-NF では増加を示した。

以上の結果により、クロルフタリム原体は代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

復帰突然変異原性試験の結果表

(表中の数値は1回の値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 <i>hcr</i> ⁻	TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (ジオキサソ)		-						
検体	1000	-						
	2000	-						
	3000	-						
	4000	-						
	5000	-						
溶媒対照 (ジオキサソ)		+						
検体	1000	+						
	2000	+						
	3000	+						
	4000	+						
	5000	+						
陽性対照	薬物名	-						
	$\mu\text{g}/\text{plate}$							
	コロニー数 /plate							
	薬物名	+						
	$\mu\text{g}/\text{plate}$							
	コロニー数 /plate							

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

② Rec Assay

試験方法 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) 及び欠損株 (M-45) を用い DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体を溶解させるため、ジオキサンをを用いた。

試験結果 結果を次表に示す。

薬物	濃度 (mg/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)	評価
		M-45	H-17		
検体	5000 5000				
陰性対照(ジオキサン)	—				
陽性対照(Mitomycin C)	#				

Mitomycin C の濃度が原報に記載されていない。

検体投与群では、両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照群の Mitomycin C では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果により、クロルフタリム原体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断された。

2) 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 16)

検体純度

投与方法

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。

検体を DMSO に溶解し、1~10000 µg/plate の範囲の 8 濃度で試験を実施した。試験は 3 連制とした。

用量設定根拠：

尚、陽性対照として以下の化合物を用いた。

略称	化学名
SA	sodium azide
2-NF	2-nitrofluorene
9-AA	9-aminoacridine
2-AA	2-aminoanthracene

試験結果

結果を次頁に表示する。

検体は代謝活性化を含め、最高濃度である 10000 µg/プレートにおいても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた SA、2-NF、9-AA、2-AA では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニーの増加を示した。

以上の結果より、クロルフタリム原体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

復帰突然変異試験の結果表

(表中の数値は3回の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate							
			塩基置換型		フレームシフト型					
			TA-100	TA-1535	TA-98	TA-1537	TA-1538	TA-98 ¹⁾		
溶媒対照 (DMSO)		-								
検体	1	-								
	10	-								
	100	-								
	500	-								
	1000	-								
	2500	-								
	5000	-								
	10000	-								
溶媒対照 (DMSO)		+								
検体	1	+								
	10	+								
	100	+								
	500	+								
	1000	+								
	2500	+								
	5000	+								
	10000	+								
陽性対照	薬物名	-								
	$\mu\text{g}/\text{plate}$									
	コロニー数 /plate									
	薬物名	+								
	$\mu\text{g}/\text{plate}$									
	コロニー数 /plate									

1) 初回の試験の結果、TA-98 の溶媒対照の値が許容範囲を外れたため、TA-98 についてのみ追加試験を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) チャイニーズハムスターの卵巣(CHO)細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 17)

検体純度

投与方法

チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を検索した。検体は DMSO に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 200 個 (100 個/プレート×2) の分裂中期像について行った。

用量設定根拠：

染色体の異常を染色分体型切断、染色分体間交換 (3 放射状、4 放射状)、染色体切断、無動原体断片、2 個の動原体をもつ、微少染色体、砕けた染色体、内重複及びその他に分類し計測した。

検体処理プレートの異常細胞数と溶媒 (DMSO) 及び陰性対照における異常数を Student-t 検定により比較し、5%以下の危険率でその差が有意の場合、陽性とした。

なお、陽性対照として非活性化法ではマイトマイシン C を活性化法ではシクロフォスファミドを用いた。

試験結果

結果を次頁以降の表 1 (非活性化法) 及び表 2 (活性化法) に示す。

検体投与群は、細胞毒性を示した濃度も含め、濃度と相関した染色体異常の増加は非活性化法及び活性化法ともみられなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びシクロフォスファミドではいずれも顕著な染色体異常の増加がみられた。

以上の結果より、クロルフタリム原体のチャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験は陰性であると判断された。

表 1 (非活性化法) 18 時間検体処理 + 2.5 時間培養

処理	観察細胞数	異常の種類及び数												細胞 1 個当りの異常数	異常を伴う細胞の発生率 (%)	2 個以上の異常を伴う細胞の発生率 (%)
		染色体型						染色体型								
		TB	TD	F	TR	QR	CR	SB	AF	D	R	MT	Other			
陰性対照及び溶媒対照の合計	200															
陽性対照 : Mitomycin C 80 µg/ml	50															
検体	400 µg/ml	200														
	600 µg/ml	200														
	800 µg/ml	200														
	1000 µg/ml	200														

** 溶媒対照及び陰性対照に比べて有意 (P>0.01)

TB : 染色体型切断、
 CR : 複合的再配置、
 PU : 砕けた染色体、
 UC : ほどこけた染色体、
 TD : 染色体型欠失、
 SB : 染色体切断、
 E : 内重複、
 DF : 断片を伴い、2 個の動原体をもつ染色体、
 F : 染色体断片、
 AF : 無動原体断片、
 > : 異常が 11 異常、
 TR : 3 放射状染色体交換、
 D : 2 個の動原体をもつ、
 Other : その他、
 QR : 4 放射状染色体交換、
 R : 環、
 MT : 微小染色体

表2 (活性化法) 2時間検体処理+8.25時間培養

処理	観察細胞数	異常の種類及び数											細胞1個当たりの異常数	異常を伴う細胞の発生率(%)	2個以上の異常を伴う細胞の発生率(%)												
		染色体型					染色体型																				
		TB	TD	F	TR	QR	CR	SB	AF	D	R	MT				PU	E	>	Other								
陰性対照及び溶媒対照の合計	200																										
陽性対照：Cyclophosphamide 50 µg/ml	25																										
検体	400 µg/ml	200																									
	600 µg/ml	200																									
	800 µg/ml	200																									
	1000 µg/ml	200																									

** 溶媒対照及び陰性対照に比べて有意 (P>0.01)

TB: 染色体型切断、 TD: 染色体型欠失、 F: 染色体断片、 TR: 3放射状染色体交換、 QR: 4放射状染色体交換
 CR: 複合的再配置、 SB: 無動原体断片、 AF: 無動原体をもつ、 D: 2個の動原体をもつ、 R: 環、 MT: 微小染色体
 PU: 砕けた染色体、 E: 内重複、 >: 異常が11異常、 Other: その他
 CI: 染色体内交換

4) ラット初代培養肝細胞における不定期 DNA 合成試験

(資料 18)

検体純度

投与方法

成熟ラットの初代培養肝細胞を用いた。検体は DMSO に溶解して用いた。試験前に濃度設定のために実施した細胞毒性についての試験（原報に掲載なし）から、本試験の濃度は 0.5 µg/mL から 251 µg/mL までの 9 段階とした。

約 0.5×10^6 個/プレートの初代培養肝細胞を接種し、³H-チミジン及び DMSO に溶解した検体で処理した。18～19 時間経過後、不定期 DNA 合成 (UDS) の誘発性を正味核内粒子数（総核内粒子数－核外粒子数）を計測することにより判定した。以下の i～iii の基準のいずれかにあてはまる場合、陽性とした。

- i. (検体の平均正味核内粒子数－溶媒対照の平均正味核内粒子数)
 ≥ 6
- ii. 検体の正味核内粒子数から溶媒対照の正味核内粒子数を差し引いた値が 6 以上の細胞数が検査細胞数の 10% 以上の場合。
- iii. 20 個以上の正味核内粒子数を示す細胞が検査細胞数の 2% 以上の場合。

なお、陽性対照として、2-acetyl aminofluorene (2-AAF) を用いた。

試験結果

結果を次頁に表示する。

検体投与群では、251 µg/mL で細胞毒性が著しかった。0.5～100 µg/mL の全 8 濃度において正味核内粒子数の増加は認められなかった。一方、陽性対照である 2-AAF では明らかに正味核内粒子数の増加がみられ、UDS の誘発性が認められた。

以上の結果から、クロルフタリム原体はラットの初代肝細胞不定期 DNA 合成試験において陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

UDS の結果表

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	UDS ¹⁾ 粒子数/核	粒子数/核が 6以上の核の 割合 (%) ²⁾	粒子数/核が 20以上の核の 割合 (%) ²⁾	細胞生存率 (%) ³⁾
溶媒対照 (DMSO)	1%				
陽性対照 (2-AAF)	0.05				
検 体 ⁵⁾	0.5				
	1.0				
	2.5				
	5.0				
	10				
	25				
	50				
	100				

- 1) 3枚のスライドの正味核内粒子数の平均値 (150個 (50×3) の細胞を検査)。
- 2) 3枚のスライドの平均値
- 3) 薬物処理 24 時間後、トリパンプルー染色により生存細胞数を計測した。表中の値は溶媒対照の値を 100%とした場合の相対値
- 4) 検査しなかった。
- 5) 251 $\mu\text{g/mL}$ では細胞毒性が著しく (細胞生存率は溶媒対照に対して 15.6%) 核の粒子数の計測は不可能であった。

5) マウスを用いた小核試験

(資料 39)

検体純度

供試動物

ICR 系雄マウス、8 週齢、体重 31.9～35.4 g、1 群雄各 6 匹

試験方法

検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC-Na) 水溶液に懸濁し、500、1000 及び 2000 mg/kg を約 24 時間間隔で 2 回腹腔内に投与した。なお、陰性対照群には 0.5% CMC-Na 水溶液を同様に投与した。2 回目の投与から約 24 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上に塗抹してメイグリュンワルド・ギムザ染色液で染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群には、1 mg/kg の用量でマイトマイシン C を腹腔内に 1 回投与し、投与後約 24 時間に動物を屠殺し、大腿骨の骨髓を採取して同様に骨髓標本を作製した。各標本について、細胞毒性を調べるために、全赤血球 200 個中における多染性赤血球数及び正染性赤血球数を計数し、同時に多染性赤血球 2000 個に対する小核を有する多染性赤血球数を計数した。

用量設定根拠：

試験結果

骨髓標本の観察結果を次頁に表示する。

各検体投与群で、一般状態の変化は認められなかった。また、2 回目投与日に各検体投与群において用量に関連した体重の低下が認められた。各検体投与群では小核を有する多染性赤血球の出現頻度が、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加を示さず、用量相関性も認

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

められなかった。また、1000 及び 2000 mg/kg 群の全赤血球中に占める多染性赤血球の出現頻度が、陰性対照群と比較して統計学的に有意な低下を示したことから、骨髄細胞の増殖抑制作用が有ると判断した。陽性対照群であるマイトマイシン C の 1 mg/kg 投与では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比べ増加した。

以上の結果から、本試験条件下においてクロルフラリム原体はマウスの骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、*in vivo* 染色体異常誘発性は陰性と判断された。

採取時間 (hr)	薬物	性	投与量 (mg/kg)	投与 回数	観 察 動物数	MNPCE% (平均値±SD)	PCE(%) ¹⁾ (平均値±SD)
24	陰性対照 (0.5% CMC-Na)	雄	0	2	6		
	検体	雄	500	2	6		
		雄	1000	2	6		
		雄	2000	2	6		
	陽性対照 (マイトマイシン C)	雄	1	1	6		

Student-t 検定 ** ; p<0.01、値は平均値

¹⁾PCE (%) : 正染性赤血球数 200 個中の多染性赤血球数の割合(%)

MNPCE : 多染性赤血球 2000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(14) 生体機能影響

1) マウスの行動に対する影響

(資料 28)

検体純度

供試動物 CD-1 系マウス、1 群雄 4 匹、4~6 週齢 (体重 : 22~27 g)

投与方法 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、0、500、1500 及び 5000 mg/kg の用量で一晩絶食したマウスに 1 回強制経口投与し、動物の行動を Irwin の方法に従って 0.5、1、2、4、6、24 時間後に詳細観察した。その後投与後 7 日まで一般状態及び生死を観察した。

試験結果 いずれの投与群においても検体投与に伴う行動の変化はみられず、また、死亡もみられなかった。

以上の結果から、クロルフタリム原体はマウスの Irwin 多元行動観察試験において、マウスの行動に影響を与えないと判断された。

2) マウスの運動協調性に対する影響

(資料 29)

検体純度

供試動物

CD-1 系マウス、1 群雌 10 匹、4~6 週齢 (体重 : 19~28 g)

投与方法

検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁し、0、500、1500 及び 5000 mg/kg の用量で一晩絶食したマウスに経口投与した。投与前及び投与後に回転棒試験を行った。一定に加速回転する回転棒上にマウスをのせ、最長 300 秒間回転棒上にとどまっていた時間 (達成時間) を測定した。なお、陽性対照物質としてメフェネシン (400 mg/kg) を経口投与した。

試験結果

次に投与前の達成時間、及び投与後に実施した 3 回の回転棒試験のうち最も長い達成時間を示す。検体群の値と溶媒対照群の値を統計学的に比較した。

	用量 (mg/kg)	達成時間 (平均値±標準偏差、秒)	
		投与前	投与後
溶媒 (0.5%CMC)	—		
検 体	500		
	1500		
	5000		
メフェネシン	400		

“>”は 300 秒を上回る測定値を示す個体を含むことを示す。

** : P<0.01 (Student-t 分布による共分散分析)

1) : P=0.097 2) : 0.082

検体群では溶媒対照群に比べて達成時間が短かった。統計解析の結果、溶媒対照群に比べて 5000 mg/kg 群では有意差が認められたが、500 mg/kg 群では有意性は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたメフェネシン群は溶媒対照群の値に比べて達成時間の短縮が認められた。

以上の結果より、マウスを用いた回転棒試験においてクロルフラリム原体は運動協調性に影響を及ぼすことが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットの血圧、心電図、心拍数及び呼吸に対する影響

(資料 30)

検体純度

供試動物

SD系ラット、雄3匹、8週齢(体重:260~282g)

投与方法

ペントバルビタール麻酔下でラットに気管カニューレ及び頸動脈カニューレを装着した。検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、十二指腸カニューレを通して始めに0.5%CMC水溶液を投与し、その後検体を5000mg/kgの用量で投与した。呼吸数、呼吸の深さ、血圧(収縮期、拡張期、平均)及び心拍数を測定した。また、心電図(第II誘導)を測定した。0.5%CMC水溶液投与後60分間、つづいて検体投与後120分間、各種パラメータを測定した。

試験結果

いずれの動物においても検体投与に起因する血圧、心電図、心拍数及び呼吸の変化はみられなかった。

以上の結果より、クロルフラリム原体はラットの血圧、心電図、心拍数及び呼吸に影響を及ぼさないと判断された。

4) マウスの胃腸運動に対する影響

(資料 31)

検体純度

供試動物

CD-1系マウス、1群雄10匹、4～6週齢（体重：21～27g）

投与方法

検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、0、500、1500及び5000mg/kgの用量で一晩絶食させたマウスに一回強制経口投与した。検体投与30分後炭末懸濁液を投与し、その正確な30分後に胃腸管を摘出した。投与した炭末の胃幽門部から下部消化管への移動距離を測定した。
なお、陽性対照群として硫酸モルヒネを同様に投与（10mg/kg）した。

試験結果

薬剤	用量 (mg/kg)	炭末移動距離 腸管の長さ × 100 (%) (平均値 ± 標準偏差)
溶媒 (0.5%CMC)	—	
検体	500	
	1500	
	5000	
硫酸モルヒネ (陽性対照)	10	

*** : P<0.001 (分散分析法)

炭末移動距離について、いずれの検体群も溶媒対照群と同程度であった。陽性対照物質として用いた硫酸モルヒネの炭末移動距離は溶媒対照に比べて有意に低下した。

以上の結果から、クロルフタリム原体は、炭末輸送能によって示される胃腸運動に対して影響を及ぼ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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

クロルフラリムの生体機能影響試験の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数/ 群	作用量	無作用 量	結果の概要
中枢神経系 行動の観察 [Irwin 法]	マウス	経口 (0.5% CMC)	0、 500、 1500、 5000	雄 4	—	5000	死亡や一般状態 の変化なし
中枢神経系 運動協調性 [回転棒法]	マウス		0、 500、 1500、 5000	雌 10	5000	1500	5000 mg/kg 群で 回転棒上に留ま った時間が有意 に短縮した。
呼吸・循環器 系 血圧、心電図、 心拍数、呼吸	ラット		5000	雄 3	—	5000	血圧、心電図、 心拍数、呼吸の 深さに影響なし
消化器系 胃腸運動 [炭末輸送能]	マウス		0、 500、 1500、 5000	雄 10	—	5000	炭末輸送能に影 響なし

2. 原体混在物及び代謝物

1) クロルフタリム及び のラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 40)

検体純度

供試動物 SD 系雄ラット、開始時 5 週齢、体重 157~173g

群名	匹数
対照群	17 匹
クロルフタリム投与群	17 匹
投与群	16 匹

投与方法 クロルフタリムは 0.5%トラガントゴム水溶液に懸濁し、投与前日の夕方から絶食させた動物に 1.0 g/kg の用量で単回強制経口投与した。
はオリーブ油に懸濁し、0.49 g/kg の用量*で同様に絶食させた動物に投与した。

観察・検査項目及び結果

一般状態及び死亡率： 中毒症状及び生死を観察した。

投与当日には投与後 6 時間まで、投与後 1 日及び 2 日は 1 日 1 回以上観察した。

クロルフタリム投与群では死亡及び一般状態の変化は認められなかった。一方、投与群では投与後 6 時間から瀕死状態の動物が認められ、投与後 48 時間には死亡が 7 例発生した。また、投与後 10 分から自発運動の低下、チアノーゼ、同 30 分に腹ばい、同 4 時間から横臥がほぼ全例に観察された。投与後 1 日では仰臥が 2 例、貧血がほぼ全例に観察された。

体重変化： 投与直前、投与後 24 時間及び 48 時間に全生存動物の体重を測定した。対照群に比べて、クロルフタリム投与群では体重増加量に差異が認められなかったが、投与群では投与後 24 時間及び 48 時間ともに体重減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

血液学的検査：投与後 6、24 及び 48 時間に各群 4 匹ずつを対象に腹部大静脈から採血し、次の項目を測定した。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、血小板数、ヘマトクリット値、メトヘモグロビン濃度

対照群に比べて統計学的に有意な変化のみられた項目を次表に示す。

項目	投与後時間	対照群	クロルフタリム投与群	投与群
白血球数 ($\times 10^3$)	6 時間			
	24 時間			
	48 時間			
メトヘモグロビン濃度(%)	6 時間			
	24 時間			
	48 時間			

Student の t 検定又は Welch の t 検定 $\downarrow \uparrow$: $P < 0.01$ (申請者が実施)

* 1 例の値

白血球数の増加が 投与群でみられた。メトヘモグロビンは対照群及びクロルフタリム投与群にはみられなかったが、 投与群では投与後 6 時間では 50~60%、同 24 時間では 60~80%、同 48 時間には 30%の生成が認められた。これらの変化は 投与に関連すると考えられた。

剖検及び脾臓重量測定：上記の血液学的検査を行った動物を対象に放血致死後、脾臓を摘出し重量を測定するとともに、剖検を行った。

クロルフタリム投与群に異常はみられなかったが、 投与群では投与後 6 時間及び 24 時間の個体で全身の褐色変が全例に観察された。また、投与後 48 時間では全臓器に暗褐色変、腎臓の腫大、胸水、肝臓及び脾臓の萎縮が観察された。

次頁に脾臓重量 (絶対重量) を表示するが、クロルフタリム投与群は対照群と同程度の脾臓重量であったが、 投与群は重量低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

項目	投与後 時間	対照群	クロルフタリム 投与群	投与群
脾臓重量 (g)	6 時間			
	24 時間			
	48 時間			

Student の t 検定又は Welch の t 検定 ↓↑ : P<0.01 (申請者が実施)

* 1 例の値

以上、
の 0.49g/kg 単回経口投与による影響として、死亡、症状 (自発運動の低下、チアノーゼ、腹ばい、横臥、仰臥、貧血)、体重減少、白血球数増加、メトヘモグロビン発現、全臓器の暗褐色化、腎臓の腫大、胸水、肝臓と脾臓の萎縮、脾臓重量の低下が認められた。一方、クロルフタリムの 1.0g/kg 単回経口投与による影響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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 製剤

(1) 50%水和剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 19)

検体純度 50%水和剤

供試動物 SD系ラット、4～6週齢、体重 雄 127～134g、雌 137～148g、1群雌雄各5匹

観察期間 14日間

投与方法 検体を蒸留水中に懸濁して投与した(投与後0日)。投与前一晚絶食した。

観察・検査項目 中毒症状及び死亡を14日間観察した。体重を投与後0日(投与前)、7日、14日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果

性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>5000	
死亡開始時間及び終了時間	(死亡例なし)	
症状発現及び消失時期	投与後5分以内～投与後1日	
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000	

中毒症状としては、雌雄に立毛がみられた。雌雄各1例の体重増加量が投与後7日においてわずかに低かった。

解剖所見では、主要な組織、器官に特記すべき変化はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒姓試験

(資料 20)

検体純度 50%水和剤

供試動物 CFLP 系マウス、4～6 週齢、体重 雄 22～27 g、雌 20～24 g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間 14 日間

投与方法 検体を蒸留水中に懸濁して投与した（投与後 0 日）。投与前 4 時間絶食とした。

観察・検査項目 中毒症状及び死亡を 14 日間観察した。体重を投与後 0 日（投与前）、7 日、14 日に測定した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果

性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>5000	
死亡開始時間及び終了時間	(検体投与に起因する死亡例なし)	
症状発現及び消失時期	投与後 5 分以内～投与後 1 日	
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000	

中毒症状としては、雌雄に立毛、円背位、及び四肢蒼白がみられた。投与後 7 日に雌 3 例で投与後 14 日に雄 1 例、雌 2 例で体重増加量がわずかに低かった。

解剖所見では、主要な組織、器官に特記すべき変化はみられなかった。尚、投与後 0 日に雌 1 例が死亡したが解剖の結果、投与過誤による死亡と判断された。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 21)

<u>検体純度</u>	50%水和剤
<u>供試動物</u>	SD系ラット、7～10週齢、体重 雄 289～300 g、雌 255～276 g 1群雌雄各5匹
<u>観察期間</u>	14日間
<u>投与方法</u>	検体を刈毛した背部皮膚に24時間閉塞貼布した。貼布除去後、皮膚に付着している検体を微温湯で除去した。
<u>観察・検査項目</u>	中毒症状及び死亡を14日間観察した。体重を投与後0日(投与日)、7日、14日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果

性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間及び終了時間	(死亡例なし)	
症状発現及び消失時期	(症状なし)	
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000	—

中毒症状は、雌雄ともみられなかった。投与後7日に大部分の雌で、14日に雌1例で体重増加量がやや低かった。

解剖所見では、主要な組織、器官に特記すべき変化はみられなかった。

4) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 22)

検体純度 50%水和剤

供試動物 SD系ラット、1群雌雄各5匹、体重：雄200～230g、雌184～209g

観察期間 14日間

投与方法 検体をライト粉塵発生装置を用いてダストを発生させ、ラットを4時間全身暴露した。対照動物には検体を含まないチャンバー内空気のみを暴露した。1回目の吸入試験ではそのままの検体を用いた。2回目の吸入試験では検体を微粉化して用いた。1回目及び2回目の試験とも技術的に可能な最高濃度のダストを発生させた。

暴露条件：

		1回目	2回目
実際濃度* (mg/l)	有効成分	0.17	1.38
	製剤	0.98	2.65
粒子径分布(%)** (重量法)	>5.5	38.2	38.8
	3.5～5.5	11.0	24.2
	2.0～3.5	21.2	24.1
	0.3～2.0	17.7	8.6
	<0.3	11.8	4.3
空気力学的質量中位径(μm)		3.7	5.7
呼吸可能な粒子(<5.5μm)の割合(%)		62	61
チャンバー内容積(l)		120	
チャンバー内通気量(l/分)		25	
暴露条件		ダスト 4時間 全身暴露	

*重量法で5回測定の平均値(設定濃度は原報に報告なし)

**アンダーセン小型サンプラーを用いて重量法で2回測定 of 平均値

観察・検査項目 暴露中(暴露0日)及び暴露終了後14日間、中毒症状及び生死を観察し、観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。
また、肺重量を測定し、その対体重比に計算した。
体重は動物の入荷時より毎日測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験結果

	1 回目	2 回目
実際濃度 (mg/l)	0.98	2.65
LD ₅₀ (mg/l)	>0.98	>2.65
死亡開始時間 及び終了時間	(雌雄とも死亡なし)	
症状発現 及び消失時期	雌雄とも暴露開始 直後～暴露 1 日	雌雄とも暴露開始 直後～暴露 5 日
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/l)	雌雄とも 0.98	雌雄とも 2.65

中毒症状として、0.98 mg/l 群では雌雄とも眼瞼の部分的閉鎖、呼吸促進、円背位、立毛及び喘鳴がみられた。2.65 mg/l 群では雌雄ともに眼瞼の部分的閉鎖及び円背位、また、呼吸数の明らかな増加がみられた。体重は 0.98 及び 2.65 mg/l の雌雄ともに暴露 2 日まで低下ないし増加抑制がみられた。

解剖所見として、主要な組織、器官に特記すべき変化はみられなかった。検体投与群の肺重量及びその対体重比は対照群と同程度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 25)

検体純度 50%水和剤

供試動物 ニュージーランドホワイト種ウサギ、10～13 週齢、
体重 2.3～3.1 kg、1 群 6 匹 (雄 1 匹、雌 5 匹)

観察期間 4 日間

投与方法 検体 0.5 g を蒸留水で湿らせ、2.5 cm のパッチに塗布し、6 匹のウサギの刈毛した背側腰部の皮膚に 4 時間適用した。4 時間後、皮膚に残った検体は水で洗って取り除いた。

観察項目 適用時間終了後 30 分、2 日、3 日及び 4 日後に皮膚反応 (紅斑、痂皮、浮腫) を農林水産省の毒性試験指針 (59 農蚕第 4200 号) に従って観察した。尚、評価の最高点は紅斑及び痂皮 : 4、浮腫 : 4 である。

試験結果 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項 目	投与後時間			
	30 分	2 日	3 日	4 日
紅斑、痂皮	0	0	0	0
浮腫	0	0	0	0

(表中の採点は 6 匹の平均)

以上の結果から、50%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと考えられる。

6) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 23)

<u>検体純度</u>	50%水和剤
<u>供試動物</u>	ニュージーランドホワイト種ウサギ、11～15 週齢、 体重 2.5～3.4 kg、1 群 6 匹 (雄 1 匹、雌 5 匹)
<u>観察期間</u>	7 日間
<u>投与方法</u>	6 匹のウサギの一方の眼に検体 60 mg (0.1ml 相当) を点眼した。もう一方の眼は無処理対照とした。
<u>観察・検査項目</u>	投与後 1 時間、1、2、3、4 及び 7 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を Draize 法に従って観察した。
<u>試験結果</u>	観察した刺激性変化の採点は次頁の表の通りである。 角膜及び虹彩の刺激性変化はみられなかった。結膜の刺激性変化として発赤が投与後 1 時間及び 1 日、浮腫が投与後 1 時間、分泌物が投与後 1 時間及び 1 日でみられた。全ての結膜の刺激性変化は投与後 2 日で消失した。

以上の結果から、50%水和剤はウサギの眼粘膜に対して非常に軽度の刺激性があるものと考えられる*。

* : Kay J. H. & Calandra J. C.の基準に基づく判定
“Interpretation of eye irritation test”, J. Soc. Cos. Chem., 13(6), 281-289, 1962

50%水和剤原末のウサギにおける眼刺激性変化【非洗眼群】

動物 番号	項目		最高 評点 ※	適用後時間					
				1時間	1日	2日	3日	4日	7日
61	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		分泌物	3	1	1	0	0	0	0
149	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	1	0	0	0	0
150	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0
151	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	1	0	0	0	0
152	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	1	0	0	0	0
153	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		分泌物	3	2	1	0	0	0	0

※ 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

50%水和剤原末のウサギにおける眼刺激性変化【非洗眼群】 つづき

	項目		最高 評点 ※	適用後時間					
				1時間	1日	2日	3日	4日	7日
合計	角膜	混濁の程度	24	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	24	0	0	0	0	0	0
	虹彩		12	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	18	8	2	0	0	0	0
		浮腫	24	6	0	0	0	0	0
		分泌物	18	11	5	0	0	0	0
ドレーズ法の評価点*の合計			660	50	14	0	0	0	0
平均	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.3	0.3	0	0	0	0
		浮腫	4	1.0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	1.8	0.8	0	0	0	0
ドレーズ法の評価点*の平均			110	8.3	2.3	0	0	0	0

※判定基準の最高評点

*ドレーズ法の評価点 (最高 110 点/個体) = [(角膜混濁程度)×(角膜混濁範囲)]×5+(虹彩)×5+[(結膜発赤)+(結膜浮腫)+(結膜分泌物)]×2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 24)

検体純度 50%水和剤の 1000 倍水希釈液

供試動物 ニュージーランドホワイト種雌ウサギ、9～15 週齢、体重 2.0～3.7 kg
1 群 6 匹

観察期間 7 日間

投与方法 6 匹のウサギの一方の眼に検体 0.1 ml を点眼した。もう一方の眼は無
処理対照とした。

観察・検査項目 投与後 1 時間、1、2、3、4 及び 7 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変
化を Draize 法に従って観察した。

試験結果 観察した刺激性変化の採点は次頁の表の通りである。
眼の刺激性変化として、結膜の軽度の発赤が投与後 1 時間及び 1 日で
みられた。投与後 2 日でこの変化は消失した。

以上の結果から、50%水和剤の 1000 倍水希釈液は、ウサギの眼粘膜に対して刺激性が
ほとんどないものと考えられる*。

* : Kay J. H. & Calandra J. C.の基準に基づく判定
“Interpretation of eye irritation test”, J. Soc. Cos. Chem., 13(6), 281-289, 1962

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

50%水和剤 1000 倍希釈液のウサギにおける眼刺激性変化【非洗眼群】

動物 番号	項目		最高 評点 ※	適用後時間					
				1 時間	1 日	2 日	3 日	4 日	7 日
984	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
1075	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
1082	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
1083	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
1084	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
1085	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0

※ 判定基準の最高評点

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

50%水和剤 1000 倍希釈液のウサギにおける眼刺激性変化【非洗眼群】つづき

	項目		最高 評点 ※	適用後時間					
				1 時間	1 日	2 日	3 日	4 日	7 日
合計	角膜	混濁の程度	24	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	24	0	0	0	0	0	0
	虹彩		12	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	18	4	1	0	0	0	0
		浮腫	24	0	0	0	0	0	0
		分泌物	18	0	0	0	0	0	0
ドレーズ法の評価点*の合計			660	8	2	0	0	0	0
平均	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0	0	0
		混濁の範囲	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0.7	0.2	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0
ドレーズ法の評価点*の平均			110	1.3	0.3	0	0	0	0

※判定基準の最高評点

*ドレーズ法の評価点 (最高 110 点/個体) = [(角膜混濁程度)×(角膜混濁範囲)]×5+(虹彩)×5+[(結膜発赤)+(結膜浮腫)+(結膜分泌物)]×2

8) モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 26)

検体純度 50%水和剤

供試動物 ハートレー／ダンキン系雌モルモット、体重 325～403 g
1 群 20 匹、但し陽性対照群は 1 群 10 匹

観察期間 惹起後 72 時間

投与方法 Maximisation 法

試験群として次の 4 群を設けた。

- 検体投与群－感作・惹起とも検体を投与、20 匹。
- 検体の刺激性対照群－感作には検体を投与せず、惹起に検体を投与、20 匹。
- 陽性対照群－感作・惹起ともホルマリンを投与、10 匹。
- 陽性対照の刺激性対照群－感作にはホルマリンを投与せず、惹起にホルマリンを投与、10 匹。

用量設定根拠：

従って、投与液の濃度を次のように設定した。

感作：皮内投与－1.0%、経皮貼付－50%

惹起：経皮貼付－25、50%

尚、ホルマリン（水溶液）の濃度は背景データに基づき次のように設定された。

感作：皮内投与－1.0%、経皮貼付－10%

惹起：経皮貼付－1、5%

第 1 回感作：背部を刈毛し、検体投与群では、(1) FCA、0.1 ml、(2) 検体液 0.1 ml、
(3) 検体液+FCA (1 : 1) 0.1 ml を皮内投与した。陽性対照群では、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(1) FCA、0.1 ml、(2) ホルマリン液 0.1 ml、(3) ホルマリン液+FCA
(1:1) 0.1 ml を皮内投与した。

第2回感作：第1回感作の7日後、検体投与群では検体液 0.4 ml を、陽性対照群ではホルマリン液 0.4 ml を48時間経皮貼付した。

尚、検体投与群及び陽性対照群に対する対照群にはそれぞれ検体又はホルマリンを含まない処置を同様に行った。

惹起：第2回感作の14日後、刈毛した。検体投与群及びその対照群では50%検体液 0.2 ml を動物の体側前部に、25%検体液 0.2 ml を動物の体側後部に24時間経皮貼付した。陽性対照群及びその対照群では5%ホルマリン液 0.2 ml を動物の体側前部に、1%ホルマリン液 0.2 ml を動物の体側後部に24時間経皮貼付した。

観察項目 惹起経皮貼付除去24、48及び78時間後に、処理部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

試験結果 結果の概要を次頁の表に示す。
検体投与群において、いずれの観察時間においても皮膚の刺激性変化はみられなかった。一方、陽性対照群ではその対照群に比べて明らかな皮膚の刺激性変化がみられた。

以上の結果から、50%水和剤はモルモットにおける皮膚感作性が陰性であると考えられた。

50%水和剤の皮膚感作性の結果表

群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
				24 時間											
				紅斑 ¹⁾					浮腫 ²⁾						計
				0	1	2	3	4	0	1	2	3			
検体	皮内:1.0%検体 経皮:50%検体	経皮:25%検体	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	
		経皮:50%検体		20	0	0	0	0	20	0	0	0			
	皮内:蒸留水 経皮:蒸留水	経皮:25%検体	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	-	-	
		経皮:50%検体		20	0	0	0	0	20	0	0	0			
陽性対照	皮内:0.1%DNCB 経皮:10%DNCB	経皮:1%DNCB	10	4	5	1	0	0	9	1	0	0	10	100	
		経皮:5%DNCB		0	0	9	1	0	0	6	2	2			
	皮内:蒸留水 経皮:蒸留水	経皮:1%DNCB	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	-	-	
		経皮:5%DNCB		6	4	0	0	0	10	0	0	0			
群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
				48 時間											
				紅斑 ¹⁾					浮腫 ²⁾						計
				0	1	2	3	4	0	1	2	3			
検体	皮内:1.0%検体 経皮:50%検体	経皮:25%検体	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	
		経皮:50%検体		20	0	0	0	0	20	0	0	0			
	皮内:蒸留水 経皮:蒸留水	経皮:25%検体	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	-	-	
		経皮:50%検体		20	0	0	0	0	20	0	0	0			
陽性対照	皮内:0.1%DNCB 経皮:10%DNCB	経皮:1%DNCB	10	5	4	1	0	0	9	1	0	0	10	100	
		経皮:5%DNCB		0	0	9*	0	0	0	4	5	1			
	皮内:蒸留水 経皮:蒸留水	経皮:1%DNCB	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	-	-	
		経皮:5%DNCB		7	3	0	0	0	10	0	0	0			
群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
				72 時間											
				紅斑 ¹⁾					浮腫 ²⁾						計
				0	1	2	3	4	0	1	2	3			
検体	皮内:1.0%検体 経皮:50%検体	経皮:25%検体	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	
		経皮:50%検体		20	0	0	0	0	20	0	0	0			
	皮内:蒸留水 経皮:蒸留水	経皮:25%検体	20	20	0	0	0	0	20	0	0	0	-	-	
		経皮:50%検体		20	0	0	0	0	20	0	0	0			
陽性対照	皮内:0.1%DNCB 経皮:10%DNCB	経皮:1%DNCB	10	5	5	0	0	0	9	1	0	0	10	100	
		経皮:5%DNCB		0	1	8*	0	0	0	4	5	1			
	皮内:蒸留水 経皮:蒸留水	経皮:1%DNCB	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	-	-	
		経皮:5%DNCB		8	2	0	0	0	10	0	0	0			

1) 紅斑の判定基準：紅斑なし_0、軽度の紅斑_1、はっきりした紅斑_2、中等度の紅斑_3
高度紅斑（牛肉様赤色）から僅かな痂皮形成（深部損傷）まで_4

2) 浮腫の判定基準：浮腫なし_0、軽度の浮腫（かろうじて識別できる）_1、はっきりした浮腫（はっきりした膨隆により縁が明確に識別できる）_2、中等度の浮腫（約 1mm の膨隆）_3

*他 1 例は壊死を伴い紅斑の判定不可能であった。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	標識位置 投与方法 処理量	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁
M-1 (GLP)	動物 代謝	ラット 雌雄	¹⁴ C-標識体/単回 経口、2000mg/kg、 コーンオイル溶液 <u>血中濃度試験</u> 全血、血漿、血球濃 度 <u>体内分布試験</u> <u>組織内濃度</u> <u>代謝試験</u> 血中代謝物分析 同定・定量: RI-HPLC 法 <u>排泄試験</u> 糞、尿、呼気	<u>血中濃度推移</u> 全血中薬物動態パラメータ T _{max} (hr): 雌雄とも 24 C _{max} (µg/mL): 雄 258.2、雌 266.1 T _{1/2} (hr): 雄 37.2、雌 31.3 AUC _(0-48hr) (µg·hr/mL): 雄 9780、雌 9876 比較的速やかに吸収され、緩やかに減衰、雌雄 間に差なし。 <u>体内分布(24 時間、単位: µg eq./g or mL)</u> 臓器・組織中の放射能濃度: 80.8~2、878 の範 囲で、雌雄間で差がなし。 血中濃度を超える臓器・組織: 消化管、膵臓、脾 臓、膀胱、副腎、脂肪及び卵巣 <u>代謝(24 時間、単位: µg/mL)</u> <u>排泄(24 時間、単位: 投与 ¹⁴C %)</u> 糞: 雄 10.59、雌 4.41 尿: 雄 12.50、雌 14.45 呼気: 雄 0.01、雌 0.02 投与後 24 時間で 20.5~24.9%が排泄され、尿中に 多く排泄 <u>吸収率(24 時間、単位: 投与 ¹⁴C %)</u> 雄 23.8、雌 27.2		157
M-2 (GLP)		ラット 雌雄	¹⁴ C-標識体/単回 経皮、2000mg/kg、 パラフィンペースト、 閉塞塗布法 <u>血中濃度試験</u> 全血濃度 <u>体内分布試験</u> <u>組織内濃度</u> <u>代謝試験</u> 血中代謝物分析 同定・定量: RI-HPLC 法 <u>排泄試験</u> 糞、尿	<u>血中濃度推移</u> 全血中薬物動態パラメータ T _{max} (hr): 雌雄とも 12 C _{max} (µg/mL): 雄 30.3、雌 51.8 T _{1/2} (hr): 雄 66.4、雌 47.0 AUC _(0-48hr) (µg·hr/mL): 雄 1632、雌 2607 経皮吸収性は雌が雄より高い。 <u>体内分布(96 時間、単位: µg eq./g or mL)</u> 臓器・組織中の放射能濃度: 4.6~3、834 の範囲に あった。 血中濃度を超える臓器・組織: 副腎、腎臓、膀胱、 脂肪、皮膚、雄消化管及び卵巣 <u>代謝(96 時間)</u> <u>排泄(96 時間、単位: 投与 ¹⁴C %)</u> 糞: 雄 11.52、雌 12.35 尿: 雄 6.10、雌 7.51 投与後 4 日で 18.8~21.4%が排泄され、糞中に多く 排泄 <u>吸収率(96 時間、単位: 投与 ¹⁴C %)</u> 雄 21.6、雌 24.7		166

次頁につづく

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	標識位置 投与方法 処理量	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁
省略	植物代謝					172
省略	好氣的 湛水土 壤中 動態					173
M-3 (GLP)	好氣的 土壌中 動態	米国 メー ランド 州 砂壤土 埴壤土 壤土	¹⁴ C-標識体 濃度:10µg/g 温度:18~27℃ 好氣的非滅菌条件 期間:365日 減衰速度測定 放射能分布 分布及び推移 代謝物等分析 同定:TLC-ARG法 定量:TLC-LSC法	<u>減衰速度</u> クロルフタリムの半減期:砂壤土:50日、埴壤土: 40日、壤土:50日 <u>放射能分布(365日、単位:処理¹⁴C%)</u> 抽出性 ¹⁴ C:砂壤土9.2、埴壤土2.1、 壤土9.6 非抽出性 ¹⁴ C:砂壤土69.6、埴壤土62.9、壤土 72.6 ¹⁴ CO ₂ :砂壤土6.2、埴壤土16.2、壤土2.8 揮散性 ¹⁴ C:全ての土壌<0.1 いずれの土壌とも、経時的に抽出性 ¹⁴ Cが減少、 それに伴い非抽出性 ¹⁴ Cが増加したが、91~181日 以降減少 <u>代謝物分析(単位:処理¹⁴C%)</u> クロルフタリムの減衰は速やかで、土壌中で加 水分解、還元、酸化反応等による代謝を経て CO ₂ に無機化された。		174
省略	嫌氣的 土壌中 動態					182
PC-10 (GLP)	加水 分解	緩衝液	非標識体 濃度:0.8mg/L pH:4.0、7.0、 9.0、1.2 緩衝液 温度及び期間: pH 4.0:25℃、96時 間、35℃、64.5時間 pH 7.0:25℃、6.5時 間、35℃、3.25時間 pH 9.0:25℃、0.267 時間、35℃、0.111 時間 pH 1.2:37℃、145 時間 分析:HPLC法 減衰速度測定	<u>減衰速度</u> クロルフタリムの半減期 pH 4.0 25℃:92.6時間、35℃:43.5時間 pH 7.0 25℃:4.81時間、35℃:2.25時間 pH 9.0 25℃:0.193時間、35℃:0.0577時間 pH 1.2 37℃:92.8時間 酸性条件で比較的安定、塩基性条件で容易に分 解		183

次頁につづく

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	標識位置 投与方法 処理量	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁
M-4 (GLP)	加水 分解 動態	緩衝液	¹⁴ C-標識体 濃度:0.2、0.8 mg/L pH:5、7、9 緩衝 液 温度:25℃、 期間:720 時間 減衰速度測定 分解物等分析 同定:TLC-ARG 法 GC-MS 法 定量:TLC-LSC 法	[結果は全て 2 濃度の平均値] 減衰速度 クロルフラリムの半減期 pH 5:82 時間、pH 7:6.2 時間、 pH 9:0.3 時間 <u>¹⁴C 回収率(720 時間、単位:処理 ¹⁴C %)</u> pH 5: 109.6、pH 7: 103.0、pH 9: 108.4 <u>放射能分布(720 時間、単位:分布%)</u> pH 5:(抽出性)94.1、(水溶性) 5.9 pH 7:(抽出性)53.1、(水溶性)46.9 pH 9:(抽出性) 8.2、(水溶性)91.8 代謝物分析等分析(pH 5、7:336 時間、 pH 9:8 時間、単位:処理 ¹⁴ C %) 抽出性 ¹⁴ C 成分 4 種、水溶性 ¹⁴ C 成分 1 種 クロルフラリム: pH 5:6.4、pH 7:6.6、pH 9:0.3		188
PC-11 (GLP)	水中光 分解	滅菌 蒸留水	非標識体 濃度:1mg/L (1%ア セトニトリル含有) 光源:キセノンラン プ(290nm 以上) 光照射照度(290~ 800nm): 631W/m ² 温度:25℃ 期間:80 時間 減衰速度測定	減衰速度(クロルフラリムの半減期) 光照射区:66.6 時間(東京、春、太陽光換算 17.7 日)、遮光区:49.5 時間 試験終了時点の pH 光照射区:5.95、遮光区:6.03 分解の主たる要因は光照射による分解ではな く、加水分解であった。そのため、試験終了時 点の pH の相違により、遮光区の半減期が速くなっ た。		196

次頁につづく

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	標識位置 投与方法 処理量	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載 頁
M-5 (GLP)	水中光 分解 動態	pH 5.0 緩衝液	¹⁴ C-標識体 濃度:0.8 mg/L (0.16%アセトニトリ ル含有) 光源:紫外線ランプ 光強度 (290~1400nm): 13.5~18.0mW/cm ² 温度:25℃、 期間:720 時間 <u>減衰速度測定</u> <u>分解物等分析</u> 同定:TLC-ARG 法 GC-MS 法 定量:TLC-LSC 法	<u>減衰速度</u> クロルフタリムの半減期 光照射区:15.7 時間 (東京、春、太陽光換算 6.9~9.1 日)、遮光区:49.4 時間 <u>¹⁴C 回収率(720 時間、単位:処理 ¹⁴C %)</u> 光照射区:70.0、遮光区:97.1 <u>放射能分布(720 時間、単位:分布%)</u> 光照射区:(抽出性)15.2、(水溶性)84.8 遮光区:(抽出性)87.6、(水溶性)12.4 <u>代謝物分析等分析(168 時間、単位:処理 ¹⁴C %)</u> 抽出性 ¹⁴ C 成分 5 種 、水溶性 ¹⁴ C 成分 1 種 抽出性 ¹⁴ C:光照射区:22.4、遮光区:91.7 クロルフタリム:光照射区:1.8、遮光区:9.7 水溶性 ¹⁴ C:光照射区:75.8、遮光区:7.2		199
M-6 (GLP)	水中光 分解 動態	自然水 (井戸 水:pH 7.80)	¹⁴ C-標識体 濃度:1 mg/L (0.25%ジメチルホル ムアミド含有) 光源:キセノンラン プ(290nm 以上) 光照射照度 (300~800nm): 52.17MJ/m ² /day 温度:25℃ 期間:6 日 <u>減衰速度測定</u> <u>分解物等分析</u> 同定:TLC-RLG 法 RI-HPLC 法 GC-MS 法 定量:TLC-RLG 法	<u>減衰速度</u> クロルフタリムの半減期 光照射区:5.7 時間 (東京、春、太陽光換算 1.5 日) <u>¹⁴C 回収率(144 時間、単位:処理 ¹⁴C %)</u> 光照射区:95.4、遮光区:96.8 <u>放射能分布(144 時間、単位:処理 ¹⁴C %)</u> 光照射区:(抽出性)87.7、(水溶性)7.6 遮光区:(抽出性)96.2、(水溶性)0.5 <u>代謝物分析等分析(144 時間、単位:処理 ¹⁴C %)</u> 抽出性 ¹⁴ C 成分 4 種 クロルフタリム:光照射区:3.1、遮光区:2.4 光照射の有無に係わらず、クロルフタリムは速やかに減衰し、分解物も同様に生成することから、光関与の分解は少なく、加水分解が主な分解要因であった。		206

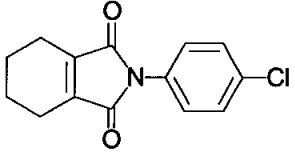
次頁につづく

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	標識位置 投与方法 処理量	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁																														
PC-9 (GLP)	土壌 吸着性	十勝： 壤土 牛久： 砂質埴 壤土 高知： 軽埴土 宮崎： 砂土	非標識体 OECD 106 法に準 拠 温度：25℃、遮光下 濃度：0.01~0.2 µg/mL まで 5 濃度 (0.01M CaCl ₂ 溶液) 土壌/水比：1/25 平衡化時間：4 時間 分析：HPLC 法	物質収支：91.7~97.3% 土壌吸着係数 (K _d 、K' _{oc}) 及びフロインドリッヒ吸 着パラメータ (K _F ^{ads} 、1/n、K _{Foc} ^{ads})： <table border="1"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>K_d</th> <th>K'_{oc}</th> <th>K_F^{ads}</th> <th>1/n</th> <th>K_{Foc}^{ads}</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>十勝</td> <td>15.7</td> <td>641</td> <td>14.3</td> <td>0.960</td> <td>585</td> </tr> <tr> <td>牛久</td> <td>25.8</td> <td>1147</td> <td>33.6</td> <td>1.148</td> <td>1491</td> </tr> <tr> <td>高知</td> <td>23.8</td> <td>1919</td> <td>35.1</td> <td>1.218</td> <td>2833</td> </tr> <tr> <td>宮崎</td> <td>12.6</td> <td>1313</td> <td>29.4</td> <td>1.155</td> <td>3062</td> </tr> </tbody> </table> K _{Foc} ^{ads} は 585~3062 となり、1/n は 0.960~1.218 でほ ぼ線形であった。	土壌	K _d	K' _{oc}	K _F ^{ads}	1/n	K _{Foc} ^{ads}	十勝	15.7	641	14.3	0.960	585	牛久	25.8	1147	33.6	1.148	1491	高知	23.8	1919	35.1	1.218	2833	宮崎	12.6	1313	29.4	1.155	3062		210
土壌	K _d	K' _{oc}	K _F ^{ads}	1/n	K _{Foc} ^{ads}																															
十勝	15.7	641	14.3	0.960	585																															
牛久	25.8	1147	33.6	1.148	1491																															
高知	23.8	1919	35.1	1.218	2833																															
宮崎	12.6	1313	29.4	1.155	3062																															
M-7 (GLP)	土壌 溶脱性	米国 メリー ランド 州 砂土 砂壤土 埴壤土 壤土	¹⁴ C-標識体 濃度：10µg/g 温度：18~27℃ 土壌条件： 無培養 (4 土壌) 30 日間培養 (砂壤 土) 期間：45 日 試料採取 浸出液：カラム高 5 インチ相当量の浸出 液毎に 4 画分 土壌：3 インチ毎に 4 分割 分析 浸出液：LSC 法 土壌：オキシダイ ザー処理-LSC 法	無培養の土壌 (分布%)： <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>砂土</th> <th>砂壤土</th> <th>埴壤土</th> <th>壤土</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>土壌中</td> <td>81.4</td> <td>97.2</td> <td>90.7</td> <td>94.7</td> </tr> <tr> <td>0-6 インチ深</td> <td>63.2</td> <td>92.6</td> <td>69.8</td> <td>81.4</td> </tr> <tr> <td>浸出液</td> <td>18.5</td> <td>2.8</td> <td>9.3</td> <td>5.2</td> </tr> </tbody> </table> 砂土で下方移動が認められたが、その他の土壌は 殆どの放射能が土壌カラム中に存在 培養した土壌 (分布%)： 土壌中に 94.0% 存在し、6.0% が溶出液中に流下 クロルフラリムは土壌中の有機物或いは粘土に吸 着するため、砂土以外の土壌では浸出液への溶 出が少なく、また、培養の有無でも変化がなかった ことから、土壌中における下方移動は殆どないか 僅かであった。		砂土	砂壤土	埴壤土	壤土	土壌中	81.4	97.2	90.7	94.7	0-6 インチ深	63.2	92.6	69.8	81.4	浸出液	18.5	2.8	9.3	5.2		215										
	砂土	砂壤土	埴壤土	壤土																																
土壌中	81.4	97.2	90.7	94.7																																
0-6 インチ深	63.2	92.6	69.8	81.4																																
浸出液	18.5	2.8	9.3	5.2																																
PC-15 (GLP)	生物 濃縮性	ブルー ギル	¹⁴ C-標識体 流水式 濃度：0.92µg/L 取込：30 日 排泄：14 日 代謝：22 日	取込：魚体中濃度は 7~14 日後に最高値 (110~120µg/L) を示し、定常となり、その後減衰し た。 排泄：清浄水中でも緩やかに減少した。 濃縮係数 (BCF)：魚全体 120 (9.3~120) 可食部 2.4~31、 非可食部 16~240 クロルフラリムは BFC が小さく、また清浄水中で体 内から減少し、魚体濃縮性は低かった。 代謝 (魚体中%)： (抽出性) 69.6、(非抽出性) 32.3 抽出性 ¹⁴ C 成分 2 種同定		219																														

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	クロルフタリム	N-(4-クロロフェニル)-1-シクロヘキセン-1、2-ジカルボキシミド	

<代謝分解試験に使用した標識化合物について>

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1. 動物代謝

1) ラットにおける単回経口投与代謝試験 吸収、分布、排泄、代謝

(資料 M-1)

供試標識化合物 :

構造式 ;

化学名 ;

比放射能 ;

放射化学的純度 ;

供試動物 : SD系ラット (8~11週齢)、平均体重:雄 280 g (範囲 257~299 g)、雌 174 g (範囲 163~184 g)、1群 雌雄各 5匹

方 法 :

投与 ; [¹⁴C] クロルフタリムに非標識クロルフタリムを加えコーン油に懸濁させ、一夜絶食したラットに 2000 mg/kg の用量で一回強制経口投与した。放射能量は約 0.37 MBq (約 10 μCi) /kg であった。

【用量設定根拠】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

標識体	用量 (mg/kg)	回数 経路	動物数	検討項目	試料採取時間 (時間)
	2000	単回 経口	雌雄各 5 匹	吸収	血液： 1、2、4、8、16、24、48 臓器・組織：48
雌雄各 5 匹				分布	臓器・組織 消化管内容物、屠体：24
			排泄	尿： 12、24 糞： 12、24 呼気：12、24	
			代謝	血液：24	

吸収 ; 上記の表の試料採取時間に眼窩静脈叢から採血した血液（全血）試料を直接サンプルオキシダイザーで燃焼させ、放射能を $^{14}\text{CO}_2$ として液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した。

分布 ; 投与 24 時間後に供試動物を屠殺し、下記の臓器・組織及び消化管内容物を採取した。また吸収試験の動物について 48 時間（試験終了時）に主な臓器・組織を採取した。得られた試料中の放射能濃度は燃焼法により測定に供した。

採取臓器・組織：血液、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、生殖器（精巣、卵巣）、副腎、脾臓、膵臓、膀胱、消化管、消化管内容物、大腿骨、全脂肪、全筋肉

排泄 ; 尿、糞、呼気：投与 24 時間後まで尿、糞及び呼気を採取した。尿は直接、糞は燃焼法による放射能測定に供した。呼気中の放射能は揮散有機物トラップ（Aquasol-2）及び CO_2 トラップ（1N 水酸化ナトリウム溶液）で捕集した。代謝ケージは試験終了時に蒸留水で洗い、付着残存する放射能を集めた。

代謝 ; 分布/排泄試験に供したラット血液を試験終了時（投与後 24 時間）に採取した。血液を遠心分離により血漿と血球に分け放射能測定に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結 果 :

吸収 ; 血中放射能濃度推移及びそれらの結果より算出した薬物動態パラメーターを以下の表に示す。

全血の血中薬物動態パラメータに関して、最高濃度到達時間 (T_{max}) は雌雄とも 24 時間、最高濃度 (C_{max}) は雄 258.2、雌 266.1 μg クロルフラリム当量/mL、減衰半減期 ($T_{1/2}$) は雄 37.2 時間、雌 31.3 時間、血中薬物濃度下面積 (AUC) は雄 9780、雌 9876 と雄雌で同程度であった。即ち、全血の血中薬物動態パラメータに関して両性間に顕著な相違は認められなかった。これらの結果から、経口投与されたクロルフラリムは雄雌ラットにおいていずれも比較的速やかに吸収されて最高濃度に到達し、穏やかに減衰した。

表 1 [^{14}C] フルオルイミド単回投与後の全血中放射能濃度推移

		全血中濃度、クロルフラリム換算 $\mu\text{g/mL}$	
		2000 mg/kg	
投与量			
性別		雄	雌
経過時間	1 時間	68.6	69.4
	2 時間	104.8	84.3
	4 時間	131.3	144.4
	8 時間	189.8	198.9
	16 時間	238.6	239.9
	24 時間	258.2*	266.1
	48 時間	165.1	156.4

5 匹の平均値、*) 4 匹の平均値 (異常値を示した 1 個体を除外)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表2 $[^{14}\text{C}]$ クロルフタリム単回投与後の全血中薬物動態パラメーター^{a)}

投与量	2000 mg/kg	
	雄	雌
$T_{1/2}(24-48)$, hr	37.2	31.3
T_{\max} , hr	24	24
C_{\max} , $\mu\text{g}/\text{mL}$	258.2	266.1
$\text{AUC}(0-48\text{hr})$, $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$	9780	9876

a) : 申請者が前表の結果より算出した

分布 ; クロルフタリム投与後、最高血中濃度 (C_{\max}) を示した 24 時間の主要臓器及び組織中の放射能濃度及び投与量に対する割合 (%) を以下の表に示す。また血中濃度推移試験で得られた 48 時間の一部の臓器及び組織中濃度の結果も併せて示した。

投与後 24 時間の主要臓器及び組織中の放射能濃度は、雄 80.8 (大腿骨) ~ 2878 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (消化管)、また雌 95.2 (脳) ~ 2662 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (消化管) で同程度の範囲にあった。血中濃度を超える濃度を示した臓器及び組織は、雄雌の消化管、膵臓、脾臓、膀胱、副腎、脂肪及び雌の生殖器であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表3 $[^{14}\text{C}]$ クロルフタリム単回経口投与後の臓器・組織中の放射能濃度及び投与量に対する割合

		臓器・組織中濃度 (μg クロルフタリム当量/mL)				投与量に対する割合 (%)			
		雄		雌		雄		雌	
性別		24h	48h*	24h	48h*	24h	48h*	24h	48h*
経過時間		24h	48h*	24h	48h*	24h	48h*	24h	48h*
血液	血漿	230.1	-	265.3	-	-	-	-	-
	全血	358.4	165.1	410.7	156.4	1.27	-	1.53	-
臓器・組織	肝臓	275.0	104.4	301.7	114.8	0.57	0.22	0.70	0.30
	腎臓	272.1	130.6	364.1	126.8	0.12	0.06	0.16	0.06
	心臓	108.0	49.7	134.7	52.0	0.02	0.01	0.03	0.01
	肺	139.0	61.1	187.0	62.5	0.04	0.01	0.06	0.02
	脳	84.7	30.9	95.2	33.6	0.03	0.01	0.05	0.02
	副腎	875.3	-	744	-	0.01	-	0.02	-
	膵臓	1291	-	1170	-	0.12	-	0.13	-
	生殖器 ¹⁾	105.5	35.5	637.9	97.8	0.06	0.02	0.01	<0.01
	脾臓	503.9	-	1167	-	0.03	-	0.10	-
	大腿骨	80.8	-	111.5	-	0.01	-	0.03	-
	膀胱	1148	-	755.7	-	0.04	-	0.02	-
	全脂肪	662.4	-	534.6	-	1.65	-	1.43	-
	全筋肉	103.3	-	177.5	-	1.83	-	3.31	-
	消化管	2878	-	2662	-	5.53	-	5.12	-
消化管内容物	531.4	-	356.8	-	9.52	-	10.88	-	
合計						19.58		22.05	

¹⁾ 雄：精巣、雌：卵巣

* : 血中濃度推移試験の投与 48 時間後の成績。

- : 試料採取されず

投与後 24 時間の血中放射能の分布を以下の表に示す。

血漿中放射能は、TCA 可溶性画分と TCA 不溶性沈渣画分に概ね 1:2 の濃度比率で分布していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表4 血液中の放射能分布

測定試料		放射能濃度、 μg クロルフルリム当量/mL	
		雄	雌
全血		358.4 [1.27*]	410.7 [1.53*]
血漿 及び 血球	血漿	230.1	265.3
	TCA 上澄**	77.9	82.6
	TCA 沈渣**	148.2	161.6
	血球	405.1	550.4

*: 括弧内の数値は投与量に対する%を示す。

** : 10%トリクロロ酢酸(TCA)で沈殿させた。

排泄 ; 経口投与後の糞、尿あるいは呼気中への放射能の排泄率を以下の表に示す。
雄雌とも 24 時間までに少なくとも投与放射能の 20.5~24.9%が排泄された。呼気中の揮散性有機物及び CO_2 は微量 (<0.01~0.01%) であった。

表5 [^{14}C] クロルフルリム単回投与後の放射能の排泄

投与量 (mg/kg)		投与量に対する割合、%							
		2000							
性別		雄				雌			
測定試料		糞	尿	呼気		糞	尿	呼気	
				$^{14}\text{CO}_2$	揮散性物質			$^{14}\text{CO}_2$	揮散性物質
経過時間	0-12 時間	0.10	4.53	<0.01	<0.01	--	--	<0.01	<0.01
	12-24 時間	10.49	7.97	0.01	<0.01	--	12.58	0.01	0.01
	累計	10.59	12.50	0.01	<0.01	4.41*	14.45	0.01	0.01
小計		23.1				18.9			
ケージ洗浄		1.76				1.60			
総合計		24.9				20.5			

【申請者注】*) 4 匹の平均、申請者算出

--) 測定サンプル数が 2 匹のため記載せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

吸収率^{註*} ; 経口投与後 24 時間のマスバランスを以下の表に示す。

投与後 24 時間までの吸収率は雄 23.8%、雌 27.2%と算出された。

表 6 [¹⁴C] クロルフタリム単回投与後の放射能のマスバランス

測定試料	投与量に対する割合、%	
	雄	雌
尿	12.50	14.45
糞	10.59	4.41*
呼気	0.01	0.02
ケージ洗浄	1.76	1.60
小 計	24.86	20.48
血液・臓器・組織	11.33	12.70
消化管内容物	9.52	10.88
小 計	20.85	23.58
総 合 計	45.71	44.06

【申請者注】*) 4 匹の平均、申請者算出

代謝 ; 代謝物の定量結果を以下の表に示す。

これら血漿及び各画分中の

代謝物濃度に性差は認められなかった。

^{註*}: 吸収率: 尿中、呼気中への排泄放射能量、及び血液・臓器・組織中の残存放射能量の総和を吸収量として、投与放射能量に対する割合として申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 7 血漿中代謝物の定量

結 論 : 経口投与されたクロルフタリムは速やかに吸収されて体内臓器・組織に分布し、尿及び糞中へ排泄された。主排泄経路は尿中であつた。血中薬物動態パラメータは雄雌とも同程度で性差は認めず、また特定の臓器・組織への残留も認められなかつた。投与後 24 時間までに排泄された放射能と体内に残存した放射能から求めた吸収率^{注1)}は、雄雌でそれぞれ 23.8%及び 27.2%と推定された。

次頁に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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

図 クロルフタリムのラット血中における想定代謝経路【申請者作成】

[]: 推定分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ラットにおける単回経皮投与代謝試験
吸収、分布、排泄、代謝

(資料 M-2)

供試標識化合物 :

構造式 ;

化学名 ;

比放射能 ;

放射化学的純度 ;

供試動物 : SD系ラット(9~12週齢)、平均体重:雄 350 g (321~385 g)、雌 244 g (238~251 g)、1群雌雄 各3匹

方 法 :

投与 ; [¹⁴C]クロルフトリムに非標識クロルフトリムを加えパラフィン油ペースト(367-723 mg/mL)を調製し、刈毛したラットの背部皮膚(2-2.5cm x 2-2.5cm)に2000 mg/kgの用量で一回閉塞塗布しビニール包帯で覆った[†]。放射能量は約0.37MBq(約10 μ Ci)/匹であった。

【用量設定根拠】

試験群の構成及び各群における検討項目の概要を以下の表に記す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

標識体	用量 (mg/kg)	回数 経路	動物数	検討項目	試料採取時間 (時間)
	2000	単回 経皮	雌雄各 3 匹	吸収	血液：1、2、6、12、24、48、72
雌雄各 3 匹			分布	臓器・組織・消化管内容物：96	
			排泄	尿：6、12、24、48、72、96 糞：6、12、24、48、72、96 ケージ洗浄液：96	
			代謝	血液：96	

吸収 ; ラットに [^{14}C] クロルフタリムを 2000 mg/kg の用量で閉塞貼付投与後、経時的に眼窩静脈叢から採血した血液（全血）試料を直接サンプルオキシダイザーで燃焼させ、血中放射能を $^{14}\text{CO}_2$ として液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

分布 ; 一群雌雄各 3 匹のラットに [^{14}C] クロルフタリムを 2000 mg/kg の用量で経皮投与し分布及び排泄を調べた。投与 96 時間後に動物を屠殺し、下記の臓器・組織及び消化管内容物を採取した。得られた試料中の放射能濃度は燃焼法により測定に供した。

採取臓器・組織：血液、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、生殖器（精巣、卵巣）、副腎、脾臓、膵臓、膀胱、消化管、消化管内容物、大腿骨、全脂肪、全筋肉、皮膚（投与部位及び周囲）、投与部位皮下組織。

排泄 ; 尿、糞：投与 96 時間後まで尿及び糞を採取した。尿は直接、糞は燃焼法による放射能測定に供した。代謝ケージは試験終了時に蒸留水で洗い、付着残存する放射能を集めた。

代謝 ; 分布/排泄試験に供したラット血液を試験終了時（投与後 96 時間）に採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結 果 :

吸収 ; 血中放射能濃度推移及びこれらの結果より算出した薬物動態パラメーターを以下の表に示す。経皮投与されたクロルフタリムは雄雌ラットにおいて、いずれも比較的速やかに吸収され 12 時間で最高濃度に到達し、以後穏やかに減衰した。

全血の血中薬物動態パラメータに関して、最高濃度到達時間 (T_{max}) は雄雌とも 12 時間、最高濃度 (C_{max}) は雄 30.3 及び雌 51.8 μg クロルフタリム当量/mL、減衰半減期 ($T_{1/2}$) は雄 66.4 及び雌 47.0 時間、また血中薬物濃度下面積 (AUC) は雄 1632 及び雌 2607 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ であった。

クロルフタリムの経皮吸収性は雄に比べ雌が高い傾向であった。

表 1 [^{14}C] フルオリミド経皮投与後の全血中放射能濃度推移

		全血中濃度、クロルフタリム換算 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
		2000 mg/kg	
投与量			
性別		雄	雌
経過時間	1 時間	2.5	3.0
	2 時間	6.0	6.5
	6 時間	17.2	29.5
	12 時間	30.3	51.8
	24 時間	28.8	49.2
	48 時間	22.5	34.4
	72 時間	16.4	21.9

3 匹の平均値

表 2 [^{14}C] クロルフタリム経皮投与後の血中薬物動態パラメーター^{a)}

投与量	2000 mg/kg	
	雄	雌
$T_{1/2}(24-48)$, hr	66.4	47.0
T_{max} , hr	12	12
C_{max} , $\mu\text{g}/\text{mL}$	30.3	51.8
AUC(0-48hr), $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$	1632	2607

a) : 申請者が前表の結果より算出した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

分布 ; クロルフタリム投与後 96 時間の主要臓器及び組織中の放射能濃度及び投与量に対する割合を以下の表に示す。

投与後 96 時間の主要臓器及び組織中の放射能濃度は、雄 4.6 (大腿骨) ~ 3834 µg/mL (副腎)、また雌 6.8 (脳) ~ 2092 µg/mL (皮膚) であった。血液を超える濃度を示した臓器及び組織は、雄雌の副腎、腎臓、膀胱、脂肪及び皮膚 (投与部位・周辺及びその皮下)、雄の消化管、卵巣であった。

表 3 臓器・組織中の放射能濃度及び投与量に対する割合

		臓器・組織中濃度 (µg クロルフタリム当量/mL)		投与量に対する割合 (%)					
		雄	雌	雄	雌				
経過時間		96h	96h	96h	96h				
血液	全血	31.5	36.1	0.09	0.11				
	臓器・組織								
肝臓						28.4	26.7	0.04	0.04
腎臓						41.3	40.6	0.01	0.01
心臓						11.6	17.5	<0.01	<0.01
肺						16.8	21.7	<0.01	0.01
脳						22.5	6.8	0.01	<0.01
副腎						3834	1599	0.03	0.02
膵臓						10.6	33.3	<0.01	<0.01
生殖器 ¹⁾						9.5	445.4	<0.01	0.01
脾臓						10.5	15.9	<0.01	<0.01
大腿骨						4.6	24.5	<0.01	<0.01
膀胱						73.4	49.0	<0.01	<0.01
全脂肪						33.4	66.5	0.07	0.14
全筋肉						12.1	25.0	0.18	0.34
消化管						33.7	33.9	0.07	0.07
消化管内容物						32.2	12.3	0.46	0.25
皮膚						投与部位	1795	2092	0.62
	投与周囲	1305	1707	1.24	1.43				
皮下	投与部位	37.2*	44.3	0.01	0.02				
合計				2.74	3.22				

¹⁾ 雄：精巣、雌：卵巣

* : n=2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

排泄 ; 経皮投与後の糞及び尿中への放射能の排泄率を以下の表に示す。雄雌とも 96 時間までに投与放射能の 17.6~19.9%が糞尿中に排泄され、主要排泄経路は糞中で投与量の 11.5~12.3%であった。

表 4 [¹⁴C] クロルフタリム投与後の放射能の排泄 (経皮投与)

投与量 (mg/kg)		投与量に対する割合 ¹⁾ 、%			
		2000			
性別		雄		雌	
測定試料		糞	尿	糞	尿
経過時間 (hr)	0-6	<0.01	<0.01	<0.01	0.05
	6-12	0.11 (0.11)	0.36 (0.36)	0.19 (0.19)	0.80 (0.85)
	12-24	0.77 (0.88)	1.12 (1.48)	1.79 (1.98)	1.62 (2.47)
	24-48	5.14 (6.02)	2.55 (4.03)	5.13 (7.11)	2.58 (5.05)
	48-72	3.52 (9.54)	1.36 (5.39)	3.44 (10.55)	1.66 (6.71)
	72-96	1.98 (11.52)	0.71 (6.10)	1.80 (12.35)	0.80 (7.51)
小計		17.62		19.86	
組織・臓器		2.74		3.22	
血液		0.09		0.11	
投与皮膚の覆い		66.01		52.41	
ケージ洗浄液		1.13		1.55	
総合計		87.59		77.15	

¹⁾ 括弧内の数値は累積排泄率 (%)

吸収率^{注5)} ; 経皮投与後 96 時間のマスバランスを以下の表に示す。
投与後 96 時間までの吸収率は雄 21.58%、雌 24.74%と算出された。

^{注5)} 吸収率: 尿中、糞中、ケージ洗浄、血液及び臓器・組織中 (消化管内容物を含む) の放射能量の総和を吸収量として、投与放射能に対する割合として申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表5 ^{14}C クロロフタリム単回投与後の放射能のマスバランス

測定試料	投与量に対する割合、%	
	雄	雌
尿	6.10	7.51
糞	11.52	12.35
ケージ洗浄	1.13	1.55
小計	18.75	21.41
血液	0.09	0.11
臓器・組織	2.74	3.22
小計	2.83	3.33
総合計	21.58	24.74

代謝 ;

結論 : 経皮投与されたクロロフタリムは、一部は吸収されて臓器・組織に分布し、尿及び糞中へ排泄された。主排泄経路は糞中で、特定の臓器・組織への残留は認められなかった。また投与後 96 時間までに排泄された放射能と体内に残存した放射能から求めた吸収率は、雄雌とも同程度であった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 植物代謝

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 土壌中動態

1) 好氣的湛水土壌中動態試験

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 好氣的土壤中動態試験

(資料 M-3)

供試標識化合物 :

構造式 ;

化学名 ;

比放射能 ;

放射化学的純度 ;

供試土壌 : 3 種の畑土壌 (砂壤土、埴壤土及び壤土) を使用した。供試土壌の特性は以下の通り。

土壌の由来		土性 ¹⁾	砂 (%)	シルト (%)	粘土 (%)	有機物 (%)	pH	CEC ²⁾	最大容水量 (%)
米国 メリーランド州 農耕地	畑土壌 1	砂壤土	79.9	9.3	10.8	1.4	5.6	2.2	6.80
	畑土壌 2	埴壤土	17.9	63.2	18.8	2.0	7.4	6.7	22.69
	畑土壌 3	壤土	45.9	31.3	22.8	2.2	5.6	6.4	22.23

¹⁾ 国際土壌学会の分類法による、²⁾ 陽イオン交換容量 (meq/100g)

方 法 :

処理 ; 2 mm の篩を通した土壌 750 g (乾重量相当) を試験容器に入れ、土壌濃度が 10 ppm となるように [¹⁴C] クロルフタリム (7.5 mg/63.99 mCi) を添加した。試験容器は暗所 (18~27°C) に静置し、フィルターを通して除菌し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

た滅菌水中に通して3種類の揮散物捕集トラップに順次導いた。エチレングリコール及び1N硫酸水溶液で各々揮散有機物を捕集し、1N水酸化ナトリウム水溶液(2本)で $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した。各トラップは試料採取時に交換した。通気量は約30 mL/min、温度は18~27°Cであった。

【処理量設定の根拠】

試料の採取 ; 処理直後(0日)から処理後1、3、7及び14日、1、3、6及び12ヶ月まで経時的に土壌及び揮散物トラップの捕集を採取し、分析に供した。

放射能の抽出 ;

放射能の測定 ; 液体試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター(LSC)を用いて定量した。抽出残渣及び土壌は燃焼法により $^{14}\text{CO}_2$ としてLSCで放射能を定量した。

代謝物の分析・

非抽出性放射能の特徴付け ; 抽出残渣中の放射能の特徴付けは実施されなかった。

結 果 :

放射能の消長 ; 3種土壌(砂壤土、埴壤土、壤土)における処理放射能の分布及び推移を以下の表に示す。有機溶媒により抽出される放射能は徐々に減衰し、7日後で添加量の45.9~86.1%となった。抽出残渣中の非抽出放射能は3ヶ月以降に60%以上生成し、そのうち最高値に達したのち減衰傾向を示した。 CO_2 は徐々に増加し2.8~16.2%を占め、クロルフタリム

は好氣的条件下で徐々に代謝分解され CO_2 に無機化された。硫酸あるいはエチレングリコールに捕集される揮散性有機物は検出されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表1 砂壤土における放射能の分布及び推移

試験条件	経過日数	添加放射エネルギーに対する割合、%					合計 ¹⁾
		土壌中 ¹⁴ C (直接測定)	土壌中 ¹⁴ C (抽出後測定)		累積揮散性 ¹⁴ C		
			抽出性 ¹⁴ C	非抽出性 ¹⁴ C	¹⁴ CO ₂	その他	
砂壤土	0	113.7	100.5 (94.8)	5.5 (5.2)	-	-	113.7
	1	106.9	95.2 (91.9)	8.4 (8.1)	<0.1	<0.1	106.9
	3	98.2	90.0 (88.9)	11.2 (11.1)	0.3	<0.1	98.5
	7	112.9	86.1 (74.0)	30.3 (26.0)	0.6	<0.1	113.5
	14	112.0	68.0 (65.6)	35.7 (34.4)	2.0	<0.1	114.0
	30	107.4	53.8 (48.5)	57.1 (51.5)	3.3	<0.1	110.7
	91	96.5	22.5 (26.6)	62.1 (73.4)	4.8	<0.1	101.3
	181	92.8	14.9 (12.1)	108.6 (87.9)	5.9	<0.1	98.7
	365	87.3	9.2 (11.7)	69.6 (88.3)	6.2	<0.1	93.5

¹⁾: 土壌中¹⁴C (直接測定) と揮散性¹⁴C の合計

-: 計測せず

申請者注: 括弧内の数値は抽出性¹⁴C+非抽出性¹⁴C の合計を100とした時の割合 (%) を申請者が算出した。

表2 埴壤土における放射能の分布及び推移

試験条件	経過日数	添加放射エネルギーに対する割合、%					合計 ¹⁾
		土壌中 ¹⁴ C (直接測定)	土壌中 ¹⁴ C (抽出後測定)		累積揮散性 ¹⁴ C		
			抽出性 ¹⁴ C	非抽出性 ¹⁴ C	¹⁴ CO ₂	その他	
埴壤土	0	109.8	93.7 (90.5)	9.8 (9.5)	-	-	109.8
	1	90.7	92.5 (85.4)	15.8 (14.6)	<0.1	<0.1	90.7
	3	112.3	81.7 (75.9)	26.0 (24.1)	0.2	<0.1	112.5
	7	110.0	45.9 (43.2)	60.4 (56.8)	0.6	<0.1	110.6
	14	107.6	72.1 (59.6)	48.8 (40.4)	1.4	<0.1	109.0
	30	104.4	29.9 (28.8)	74.1 (71.2)	3.4	<0.1	107.8
	91	95.5	9.4 (10.0)	84.8 (90.0)	4.7	<0.1	100.2
	181	88.5	4.2 (5.0)	79.6 (95.0)	12.6	<0.1	101.1
	365	82.9	2.1 (3.2)	62.9 (96.8)	16.2	<0.1	99.1

¹⁾: 土壌中¹⁴C (直接測定) と揮散性¹⁴C の合計

-: 計測せず

申請者注: 括弧内の数値は抽出性¹⁴C+非抽出性¹⁴C の合計を100とした時の割合 (%) を申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表3 壤土における放射能の分布及び推移

試験条件	経過日数	添加放射能に対する割合、%					合計 ¹⁾
		土壌中 ¹⁴ C (直接測定)	土壌中 ¹⁴ C (抽出後測定)		累積揮散性 ¹⁴ C		
			抽出性 ¹⁴ C	非抽出性 ¹⁴ C	¹⁴ CO ₂	その他	
壤土	0	113.4	98.5 (89.1)	12.1 (10.9)	-	-	113.4
	1	- ²⁾	88.2 (82.4)	18.9 (17.6)	<0.1	<0.1	107.1 ²⁾
	3	112.0	81.4 (74.3)	28.2 (25.7)	0.1	<0.1	112.1
	7	107.5	72.3 (68.7)	33.0 (31.3)	0.2	<0.1	107.7
	14	102.8	58.9 (54.5)	49.1 (45.5)	1.5	<0.1	104.3
	30	100.2	43.1 (41.2)	61.5 (58.8)	2.3	<0.1	102.5
	91	100.4	22.6 (23.9)	72.1 (76.1)	2.6	<0.1	103.0
	181	101.6	18.0 (18.6)	78.6 (81.4)	2.6	<0.1	104.2
	365	100.6	9.6 (11.7)	72.6 (88.3)	2.8	<0.1	103.4

¹⁾: 土壌中¹⁴C (直接測定) と揮散性¹⁴C の合計

²⁾: 土壌中¹⁴C 測定失敗のため、溶媒可溶性¹⁴C と非抽出性¹⁴C の合計を採用

-: 計測せず

申請者注: 括弧内の数値は抽出性¹⁴C+非抽出性¹⁴C の合計を100とした時の割合 (%) を申請者が算出した。

代謝物の同定・定量; co-TLC-ARG 法により放射能スポットを4種検出し、そのうち 3
種が

と同定された。

その他に TLC 原点に留まる極性物質、また数種の未知スポットが検出された。

3種土壌における各々の代謝物の推移を以下の表に示す。

処理放射能に対する割合で、各土壌中の主な放射性成分は未変化のクロロフタリムであり、直後の63.6~81.4%から最終時点に0.1~0.8%まで減少

した。

クロロフタリムの好氣的土壌における減衰半減期は、砂壤土50日、埴壤土40日、壤土50日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 4 砂壤土中代謝物の TLC-ARG による分析結果

代謝物	抽出性放射能中の割合 ¹⁾ 、% (処理放射能に対する割合 ²⁾ 、%)								
	経過日数 (日)								
	0	1	3	7	14	30	91	181	365
クロルフラム	89.5	85.2	84.0	82.1	77.0	64.5	27.6	21.7	9.1
	(81.4)	(77.4)	(62.2)	(67.3)	(51.5)	(32.5)	(5.9)	(3.0)	(0.8)

- ・ 数値は 2 種溶媒系分析結果の平均値
- ・ 14 日及び 30 日は溶媒系 1 のみで分析。数値は溶媒系 1 の分析結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 5 堆壌土中代謝物の TLC-ARG 法による分析結果

代謝物	抽出性放射能中の割合 ¹⁾ 、% (処理放射能に対する割合 ²⁾ 、%)								
	経過日数 (日)								
	0	1	3	7	14	30	91	181	365
クロルフルム	82.6	76.1	75.2	59.5	70.7	44.7	22.8	18.3	6.2
	(73.8)	(63.8)	(55.9)	(29.9)	(47.6)	(13.4)	(1.9)	(0.7)	(0.1)

・数値は2種溶媒系分析結果の平均値

・14日及び30日は溶媒系1のみで分析。数値は溶媒系1の分析結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 6 壤土中の代謝分解物の TLC-ARG 法による分析結果

代謝物	抽出放射能中の割合 ¹⁾ 、% (処理放射能に対する割合 ²⁾ 、%)								
	経過日数 (日)								
	0	1	3	7	14	30	91	181	365
クロルフタリム	83.1	85.3	83.2	79.9	68.4	55.6	37.5	23.1	3.5
	(63.6)	(66.4)	(64.9)	(50.0)	(37.3)	(21.2)	(7.1)	(3.9)	(0.3)

数値は2種溶媒系分析結果の平均値

結 論 : クロルフタリムの減衰は速やかで、土壤中で加水分解、還元、酸化反応等による代謝を経てCO₂に無機化された。
次頁に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及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

図 クロルフタリムの好氣的土壤における想定代謝経路【申請者作成】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) 嫌氣的土壤中動態試験

試験省略