

(23) クロチアニジン1キロ粒剤のラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 3-23)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
 [GLP対応]
 報告書作成年：1999年

検体の純度：1.0%粒剤

試験動物：Crj:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄209~221g、雌143~159g)、
 1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に約16時間絶食させた動物に、金属製胃ゾンデを用いて体重100g当たり2mLを1回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみを同量投与した。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、5000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000	5000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。
 体重では、雄で投与翌日に増加抑制が認められた。
 剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

(24) クロチアニジン1キロ粒剤のマウスを用いた急性経口毒性試験 (資料 3-24)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
 [GLP対応]
 報告書作成年：1999年

検体の純度：1.0%粒剤
 試験動物：Crj:CD-1(ICR)系マウス(7週齢、体重：雄32.1~34.5g、雌21.8~24.1g)、
 1群雌雄各5匹
 試験期間：14日間観察
 方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に
 3~4時間絶食させた動物に、金属製胃ソンドを用いて体重10g当たり0.2mLを
 1回強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同量投与した。
 試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与前、投与後1、2、3、7、
 10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査
 を行った。
 試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、5000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	投与後約15分から発現 投与後2時間に消失	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000	5000

試験期間中、死亡例は認められなかった。
 中毒症状としては、自発運動の低下が観察されたが、投与後2時間には全例回復した。
 体重及び剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

(25) クロチアニジン1キロ粒剤のラットを用いた急性経皮毒性試験 (資料 3-25)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]
報告書作成年：1999年

検体の純度：1.0%粒剤

試験動物：Crj:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄226~247g、雌172~194g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：乳鉢で微粉末とした検体を蒸留水で湿らせて、刈毛した背部皮膚約30cm²(5×6cm)にリント布約20cm²(4×5cm)を用いて塗布後、サージカルテープで被覆固定した。塗布24時間後に皮膚に残った検体を温水で湿らせたガーゼを用いて拭き取った。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000	2000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに投与部位の皮膚を含めた剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(26) クロチアニジン 0.5%粉剤DLのラットを用いた急性経口毒性試験 (資料 3-26)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：0.5%粉剤

試験動物：Cri:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄214~231g、雌148~161g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に約16時間絶食させた動物に、胃ゾンデを用いて体重100g当たり1mLを1回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみを同量投与した。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(27) クロチアニジン 0.5%粉剤DLのラットを用いた急性経皮膚毒性試験 (資料 3-27)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：0.5%粉剤

試験動物：Crj:CD(SD) IGS系ラット (7週齢、体重：雄 254~266g、雌 167~183g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を蒸留水で湿らせて、刈毛した背部皮膚約 30cm² (5×6cm) にリント布約 20cm² (4×5cm) を用いて 24 時間塗布した後、粘着性伸縮テープで被覆固定した。塗布 24 時間後に皮膚に残った検体を温水で湿らせたガーゼを用いて拭き取った。

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 1、2、3、7、10 及び 14 日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法 性別	経皮	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに投与部位の皮膚を含めた剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(28) クロチアニジン 0.5%粉剤DLのウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 3-28)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：0.5%粉剤

試験動物：日本白色種ウサギ(15週齢、体重：2.75~2.98kg)、雌6匹

試験期間：3日間観察

方法：検体を洗眼群3匹及び非洗眼群3匹の動物の左眼の結膜嚢内に1匹当たり0.1g適用し、適用後検体の漏出を防ぐため、約1秒間閉眼させた。右側は対照として無処置とした。その後洗眼群の3匹については適用30秒後に100mLの注射用水を用いて30秒間洗眼した。対照眼についても同様に洗眼した。

試験項目：検体適用1、24、48及び72時間後に眼の角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法の基準に従って採点した。また、一般状態は適用直後、適用6時間後までは1時間ごとに、適用翌日以降は1日1回観察し、体重は検体適用日及び観察終了日(適用3日後)に測定した。

試験結果：刺激性変化の採点を以下の表に示した。

項目		最高 評点	適用後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1.0	0	0	0
		合計	110	2.0	0	0	0
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
		合計	110	0	0	0	0

非洗眼群において、適用 1 時間後の観察で眼脂分泌が認められたが適用 24 時間後の観察以降にはすべて消失した。また、眼のその他の変化として閉眼が適用直後に観察された。

洗眼群においては、眼刺激性変化は認められなかった。また、眼のその他の変化はいずれの動物においても観察されなかった。

以上の結果より、クロチアニジン 0.5%粉剤DLは、ウサギの眼粘膜に対して実質上刺激性なしと判断され、洗眼効果が認められた。

(29) クロチアニジン 0.5%粉剤DLのウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 3-29)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：0.5%粉剤

試験動物：日本白色種ウサギ(18週齢、体重：3.25~3.57kg)、雌3匹

試験期間：3日間観察

方法：動物の背部を左右2箇所刈毛し、左側には油紙を裏打ちしたリント布(2.5×2.5cm)へ検体0.5gを等量の注射用水で湿らせてから貼付した。右側にはリント布(2.5×2.5cm)のみを貼付し、その上から自着性弾性包帯で固定した。適用4時間後にリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿を用いて残った検体を拭き取った。

試験項目：検体の除去1、24、48及び72時間後に皮膚の刺激性変化(紅斑及び痂皮形成と浮腫の形成)を観察し、Draize法の基準に従って採点した。また、一般状態は検体適用直後、適用1、4及び5時間後に、適用翌日以降は1日1回観察し、体重は検体適用日及び観察終了日(適用3日後)に測定した。

試験結果：刺激性変化の採点を以下の表に示した。

刺激性変化	最高 評点	検体除去後			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は3匹の平均値である。

検体適用部位において、刺激性変化は認められなかった。皮膚一次刺激性指数(P.I.I)は0であり、「無刺激物」に分類された。一般状態及び体重の推移については検体適用による影響は何ら認められなかった。

以上の結果より、クロチアニジン 0.5%粉剤DLは、ウサギの皮膚に対して無刺激物と判断された。

(30) クロチアニジン 0.5%粉剤DLのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料 3-30)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：0.5%粉剤

試験動物：Hartley系白色モルモット雌(7週齢、体重：362~440g)

検体処置群 20匹、検体対照群 10匹

試験期間：30日間観察

方法：Buehler法に準じた。

検体は注射用水を用いて所定濃度に調製した。

感作：感作開始前日に5×5cmの大きさに刈毛、剃毛した動物の左側胴部に50%濃度の検体0.2mLを直径2.5cmのパッチを用いて6時間閉塞貼布し、その上をポリエチレンフィルムのテープで固定した。貼付6時間後にパッチを除去し、注射用水で湿らせた脱脂綿で投与部位を清拭した。この操作を感作開始日、7日後及び14日後の3回行った。検体対照群には注射用水のみを使用した。

誘発 感作開始から27日後に動物の右側胴部5×5cmの大きさに刈毛、剃毛し、翌日その部位に50%濃度の検体0.2mLを直径2.5cmのパッチを用いて6時間閉塞貼布し、その上をポリエチレンフィルムのテープで固定した。貼付6時間後にパッチを除去し、注射用水で湿らせた脱脂綿で投与部位を清拭した。

試験項目：誘発貼付除去24及び48時間後に、適用部位の紅斑及び浮腫の有無について肉眼的観察し、Magnusson & Kligmanの基準に従って採点した。また一般状態は感作開始から皮膚反応の終了までの30日間について1日1回観察し、体重については感作開始日(0日)、最終感作日(14日後)、誘発日(28日後)及び観察終了日(30日後)に測定した。

試験結果：各観察時間における皮膚反応が認められた動物数及びその採点を以下の表に示した。

群	供試動物数	検体あるいはDNCB濃度 感作 / 誘発	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率
			24時間				48時間				24時間	48時間		
			皮膚反応評点											
			0	1	2	3	0	1	2	3				
検体処置群	20	50% / 50%	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0%
検体対照群	10	0% / 50%	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0%
DNCB処置群	10	1% / 0.25%	0	0	8	2	0	6	2	2	2.2	1.6	10	100%
		1% / 0%	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0		
DNCB対照群	5	0% / 0.25%	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0%
		0% / 0%	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0		

検体除去 24 及び 48 時間後において、検体処置群及び検体対照群のいずれの動物にも皮膚反応は認められず感作率は 0%であった。また、一般状態及び体重の推移には検体適用による影響は認められなかった。

なお、本試験機関では 6 か月に 1 回、皮膚感作性試験において一般的な陽性対照物質である DNCB を用いた試験を実施（最近時：2001 年 5 月 9 日～7 月 9 日）し、安定した陽性反応が検出されることを確認している。

以上の結果より、クロチアニジン 0.5%粉剤DLのモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断される。

(31) クロチアニジン粒剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 3-31)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：0.5%粒剤

試験動物：Crj:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄 207~213g、雌 160~167g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に約16時間絶食させた動物に、金属製胃ゾンデを用いて体重100g当たり2mLを1回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみを同量投与した。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、5000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000	5000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(32) クロチアニジン粒剤のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 3-32)

試験機関：(株)ポソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：0.5%粒剤

試験動物：Crj:CD-1(ICR)系マウス(7週齢、体重：雄32.5~34.1g、雌23.7~25.7g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に3~4時間絶食させた動物に、金属製胃ゾンデを用いて体重10g当たり0.2mLを1回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみを同量投与した。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、5000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000	5000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(33) クロチアニジン粒剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 3-33)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度：0.5%粒剤

試験動物：Crj:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄234~254g、雌170~185g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：乳鉢で微粉末とした検体を蒸留水で湿らせて、刈毛した背部皮膚約30cm²(5×6cm)にリント布約20cm²(4×5cm)を用いて24時間塗布した後、サージカルテープで被覆固定した。塗布24時間後に皮膚に残った検体を温水で湿らせたガーゼを用いて拭き取った。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量(mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000	2000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに投与部位の皮膚を含めた剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(34) クロチアニジン粉剤 DL のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 3-34)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：0.15%粉剤

試験動物：Crj:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄207~220g、雌150~163g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に約16時間絶食させた動物に、金属製胃ソンドを用いて体重100g当たり2mLを1回強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同量投与した。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量(mg/kg)	0、5000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000	5000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重及び剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(35) クロチアニジン粉剤 DL のマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 3-35)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：0.15%粉剤

試験動物：Crj:CD-1(ICR)系マウス(7週齢、体重：雄33.6~35.5g、雌23.7~27.5g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、所定濃度に調製後、投与前に3~4時間絶食させた動物に、金属製胃ゾンデを用いて体重10g当たり0.2mLを1回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみを同量投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与前、投与後1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、5000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>5000	>5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(36) クロチアニジン粉剤 DL のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 3-36)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：0.15%粉剤

試験動物：Crl:CD(SD) IGS系ラット(7週齢、体重：雄232~242g、雌184~208g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：乳鉢で微粉末とした検体を蒸留水で湿らせて、刈毛した背部皮膚約30cm²(5×6cm)にリント布約20cm²(4×5cm)を用いて塗布後、サージカルテープで被覆固定した。塗布24時間後に皮膚に残った検体を温水で湿らせたガーゼを用いて拭き取った。

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1、2、3、7、10及び14日に測定した。試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量(mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ 値(mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時間 及び消失時間	発現例なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000	2000

試験期間中、中毒症状及び死亡例は認められなかった。また、体重並びに投与部位の皮膚を含めた剖検所見にも特記すべき変化は認められなかった。

(37) クロチアニジン粉剤 DL のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 3-37)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：0.15%粉剤

試験動物：日本白色種ウサギ(15週齢、体重：2.44~3.15kg)、雌9匹

試験期間：3日間観察

方法：予め乳鉢を用いて微粉末とした検体を洗眼群3匹及び非洗眼群6匹の動物の左眼の結膜嚢内に1匹当たり0.1g宛適用し、適用後検体の漏出を防ぐため、約1秒間閉眼させた。右側は対照として無処置とした。その後洗眼群の3匹については適用2~3分後に適量(約200mL)の微温湯を用いて1分間洗眼した。対照眼についても同様に洗眼した。

試験項目：検体適用前、適用1、24、48及び72時間後に眼の角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法の基準に従って採点した。また、一般状態は適用6時間後までは1時間ごとに、その後は適用24、48及び72時間後に観察し、体重は検体適用前及び適用72時間後に測定した。

試験結果：刺激性変化の採点を以下の表に示した。

項目			最高 評点	適用後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (6匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0.2	0	0
		面積	4	0	0.2	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0.7	0.7	0	0
		浮腫	4	0.3	0	0	0
		分泌物	3	1.7	0	0	0
	合計		110	5.3	2.2	0	0
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	0.3	0	0
		浮腫	4	0.3	0	0	0
		分泌物	3	1.0	0	0	0
	合計		110	4.7	0.7	0	0

非洗眼群において適用 1~24 時間後に角膜混濁、結膜の発赤、浮腫及び眼脂分泌が認められた。これらの刺激反応は適用 48 時間後の観察ではすべて消失した。また、洗眼群においては結膜の発赤、浮腫及び眼脂分泌が認められたが、投与 48 時間後にはすべて消失した。

以上の結果より、クロチアニジン粉剤 DL はウサギの眼粘膜に対して、極く軽度の刺激性があるものと判断され、洗眼効果が認められた。

(38) クロチアニジン粉剤 DL のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 3-38)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：0.15%粉剤

試験動物：日本白色種ウサギ(15週齢、体重：2.89~3.19kg)、雌6匹

試験期間：3日間観察

方法：動物の背部を左右2箇所刈毛し、左側には予め乳鉢を用いて微粉末とした検体0.5gを0.5mLの注射用水で湿らせ塗布したリント布(2.5×2.5cm)を、また右側には同量の注射用水で湿らせたリント布(2.5×2.5cm)をそれぞれ適用して油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。適用4時間後に皮膚に残った検体を注射用水で湿らせた脱脂綿を用いて拭き取った。

試験項目：検体の除去1、24、48及び72時間後に皮膚の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)を観察し、Draize法の基準に従って採点した。また、一般状態は適用6時間後までは1時間ごとに、その後は除去24、48及び72時間後に観察し、体重は検体適用前及び除去72時間後に測定した。

試験結果：刺激性変化の採点を以下の表に示した。

刺激性変化	最高 評点	検 体 除 去 後			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は6匹の平均値である。

動物には何ら皮膚の変化は認められなかった。また、一般状態及び体重の推移には検体適用による影響は認められなかった。

以上の結果より、クロチアニジン粉剤 DL はウサギの皮膚に対して、刺激性はないものと判断される。

(39) クロチアニジン粉剤 DL のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 3-39)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
[GLP対応]

報告書作成年：1999年

検体の純度：0.15%粉剤

試験動物：Hartley系モルモット雌(6~7週齢、体重：340~460g)

検体処置群 20匹、検体対照群 20匹

試験期間：30日間観察

方法：Buehler法に準じた。

検体は注射用水に懸濁し、使用した。

感作：前日に5×5cmの大きさに刈毛、剃毛した動物の左側胴部に検体の50%懸濁液0.2mLを塗布したリント布を6時間閉塞貼布した。初回感作より7日及び14日後に同様に計3回感作を行った。検体対照群には注射用水のみを使用した。

誘発：最終感作の13日後に5×5cmの大きさに刈毛、剃毛し、その翌日動物の右側胴部に検体の50%懸濁液0.2mLを塗布したリント布を24時間閉塞貼布した。

試験項目：誘発のための閉塞貼布除去24及び48時間後に、適用部位の紅斑及び浮腫の有無について肉眼的に観察し、Draize法の基準に従って採点した。

試験結果：各観察時間における皮膚反応が認められた動物数及びその採点を以下の表に示した。

群	供試動物数	検体濃度 感作 / 誘発	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数	感作陽性率		
			24時間					48時間					24時間	48時間				
			皮膚反応採点															
			0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
検体処置群	20	50% / 50%	紅斑	20	0	0	0	0	紅斑	20	0	0	0	0	0	0	0	0%
			浮腫	20	0	0	0	0	浮腫	20	0	0	0	0				
検体対照群	20	0% / 50%	紅斑	20	0	0	0	0	紅斑	20	0	0	0	0	0	0	0	0%
			浮腫	20	0	0	0	0	浮腫	20	0	0	0	0				

群	供試動物数	DNCB濃度 感作 / 誘発	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数	感作陽性率		
			24時間					48時間					24時間	48時間				
			皮膚反応評点															
			0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
DNCB 処置群	10	1% / 0.25%	紅斑	0	5	2	3	0	紅斑	0	3	5	2	0	2.3	2.4	10	100%
			浮腫	5	5	0	0	0	浮腫	5	5	0	0	0				
DNCB 対照群	5	0% / 0.25%	紅斑	5	0	0	0	0	紅斑	5	0	0	0	0	0	0	0	0%
			浮腫	5	0	0	0	0	浮腫	5	0	0	0	0				

検体除去 24 及び 48 時間後において検体処置群及び検体対照群のいずれの動物にも皮膚反応はみられず検体の感作率は 0% であった。

また、一般状態及び体重の推移には検体適用による影響は認められなかった。

なお、本試験機関では 6 か月に 1 回、皮膚感作性試験において一般的な陽性対照物質である DNCB を用いた試験を実施（最近時：1999 年 7 月 7 日～8 月 6 日）し、安定した陽性反応が検出されることを確認している。

以上の結果より、クロチアニジン粉剤 DL のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断される。

IX. 動物植物及び土壌等における代謝分解

<代謝試験一覧>

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
I-1	吸収・分布 排泄 (動物)	ラット (雌雄)	経口投与 静脈内投与 (吸収率測定)	供試化合物 [C^{14}]-クオチアジン [C^{14}]-クオチアジン 投与方法：単回投与 投与量： 低用量：5 mg/kg 高用量：250 mg/kg	[吸収 (低用量投与)] ● 標識位置および雌雄にかかわらず経口投与した C^{14} は速やかに吸収され、投与2時間後に血漿中 C^{14} 濃度が最大 (1.81~2.16 $\mu\text{g/g}$) に達した後、3.2~3.8時間の半減期で消失した。 ● 血漿中の C^{14} 濃度推移は全血中のそれとほぼ同様の傾向を示した。 ● 体内吸収率 (AUC 経口/AUC 静脈) は、94.0~99.7%であり、投与した C^{14} はほぼ定量的に体内に吸収されることが示唆された。 [組織内分布] ● 低用量で投与した場合、標識位置および雌雄にかかわらず投与2時間後にはすべての組織において C^{14} が分布し、それ以降、血中 C^{14} 濃度の消失に伴い各組織中 C^{14} 濃度は消失した (投与7日後： $\leq 0.08\mu\text{g/g}$)。 ● 高用量で投与した場合、投与後7日目において低用量投与時と比較して一部の組織において投与量比を超えて C^{14} が検出されたが、投与14日後には、投与量比以下の C^{14} 濃度を示した。 [排泄] ● 低用量で投与した場合、標識位置および雌雄にかかわらず、投与した C^{14} は速やかに体外に排泄された (投与1日以内に体外に排泄された C^{14} 量=93.3~98.2%)。 ● 高用量で投与した場合、低用量投与と比較して体外への排泄が若干遅かったが、標識位置および雌雄にかかわらず、投与2日以内に投与した C^{14} の大部分が体外に排泄 (93.9~99.9%) された。 ● 投与量、標識位置および雌雄にかかわらず、主要排泄経路は尿 (低用量：92.0~95.8%、高用量：90.6~93.4%、投与7日後までに排泄された C^{14} 量)、であり、糞 (低用量：4.4~6.0%、高用量：4.6~8.2%) および呼気中 (低用量： $< 0.1\%$ 、高用量：0.1~0.3%) に排泄された C^{14} 量はわずかであった。	武田薬品工業 (2000年)	347

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
I-2	代謝 (動物)	ラット (雌雄)	経口投与	<p>供試化合物 [¹⁴C]クロチアジソン [¹⁴C]クロチアジソン</p> <p>投与方法： 単回投与 反復投与 (低用量) * *14 日間 Cold+15 日目 ¹⁴C 化合物投与</p> <p>投与量： 低用量；5 mg/kg 高用量；250 mg/kg</p>	<p>[排泄 (反復投与)]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 単回投与の場合と同様、標識位置および雌雄にかかわらず投与した ¹⁴C は速やかに対外に排泄され、主要排泄経路は尿であった。 <p>[代謝]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 投与方法、標識位置および雌雄にかかわらず投与した ¹⁴C の大部分は未変化のクロチアジソンであった (低用量：71.2～79.2%、高用量：62.9～71.3%、反復：78.7～83.1%) ● 糞尿中に排泄された主要代謝物は、TZNG (4.9～17.9%)、MNG (5.5～9.7%) および MTCA (4.9～10.0%) であり、その他に TZMU、TMG、NTG、TZU および MG が同定された。 ● クロチアジソンのラット体内における主要代謝経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、チアゾリルメチルとグアニジン間の N-C 結合の開裂およびそれに続くグルタチオン抱合化であった。 	武田薬品工業 (2000年)	364
I-3 (GLP)	代謝 (動物)	ラット (雌雄)	経口投与	<p>供試化合物 [¹⁴C]クロチアジソン [¹⁴C]クロチアジソン</p> <p>投与方法： 単回投与 反復投与 (低用量) * *14 日間 Cold+15 日目 ¹⁴C 化合物投与</p> <p>投与量： 単回投与 低用量；2.5 mg/kg 5 mg/kg 高用量；250 mg/kg 反復投与；25 mg/kg</p>	<p>[吸収]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 低用量および反復投与した場合、経口投与後速やかに体内に吸収され、低用量投与群では投与 1.5 時間後、反復投与群では 4 時間後に最高濃度に達した。 ● 低用量および反復投与した場合、血漿からのクリアランス値 (CL) は非常に高く (3.59～5.73 mL/分)、平均滞留時間 (MRT) は短かった (7.14～13.3 時間)。 ● 高用量で投与した場合、血漿中 ¹⁴C 濃度は、飽和吸収により投与 1 時間後から 32 時間後まで 45.58～79.49 μg/mL の濃度で推移したが (極大値は投与 6 時間目および 32 時間後に確認)、72 時間後には 0.360 μg/mL まで消失した。 <p>[組織分布]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 投与 1 時間後にはすべての組織に ¹⁴C が分布し、血液中 ¹⁴C 濃度 (3.00 μg/g) を超えて ¹⁴C が分布したのは、腎臓 (2.892～4.075 μg/g)、肝臓 (3.434 μg/g)、鼻腔粘膜 (5.641 μg/g) および膀胱 (5.998 μg/g) であった。 ● 各組織に分布した ¹⁴C は速やかに消失し、投与 48 時間後には多くの組織で定量限界以下であった。 	Bayer AG (2000年)	369-1

資料 No.	試験の種類	供試動物 植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
					<p>[排泄]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 低用量および反復投与した場合には投与 24 時間以内に、高用量で投与した場合には 48 時間以内に投与した ¹⁴C の 90% 以上が体外に排泄された。 ● 主要排泄経路は尿であり、糞、尿および呼気中に排泄された ¹⁴C 量はそれぞれ 3.3~8.6%、89.1~94.6%および ≤0.1% であった。 ● 尿中に排泄された ¹⁴C 量には、標識位置および投与方法による差は認められなかったが、雌の方が雄より若干尿中排泄率が高かった。 <p>[代謝]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 糞尿中代謝物プロファイルにおいて、投与方法、性および標識位置による顕著な差は認められなかった。 ● 排泄物中の主要成分は未変化の親化合物であり、投与 ¹⁴C 量の 55.6~74.0% であった。 ● 尿中主要代謝物は、TZNG (7.0~11.3%)、MNG (7.8~13.2%) および MTCA (8.5%) であり、糞中の主要代謝物は TMG (0.6~2.2%) であった。 ● クロチアニジンのラット体内における主要代謝経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、チアノリルメチルとグアニジン間の N-C 結合の開裂およびそれに続くグルタチオン抱合化であった。 		
I-4	吸収・分布 代謝・排泄 (動物)	マウス (雌雄)	経口投与	供試化合物 [トイシノ- ¹⁴ C]クロチアニジン 投与方法： 単回投与 投与量： 低用量；5 mg/kg	<p>[吸収・排泄]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 雌雄にかかわらず、投与 1 日後までに投与した ¹⁴C の大部分が体外に排泄され (>90%AR)、投与 7 日後までに尿および糞中にそれぞれ 5.0~6.8% および 92.4~93.7% が排泄された。 <p>[組織内分布]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 投与 7 日後の雌雄の肝臓、雄の副腎および血液、並びに雌の体毛において ¹⁴C 濃度は 0.02 μg/g であったが、他の組織では 0.01 μg/g 未満であった。 ● 各組織中 ¹⁴C 量は、<0.01~0.02% であり、組織中に ¹⁴C が残留する可能性は非常に低い。 <p>[代謝]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 尿中の主要成分は未変化のクロチアニジン (36.8~38.3%AR)、TZNG (29.2~30.2%)、MNG (8.7~9.0%) および NTG (10.7~11.3%) であった。 	武田薬品工業 (2000 年)	369-12

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁																											
					<ul style="list-style-type: none"> ● 糞中には未変化のクロチアニジン (1.5~1.4%) の他に、TZNG (1.3~0.9%)、TMG (1.0~0.8%)、MNG (0.2%) および NTC (0.4~0.2%) が認められた。 ● クロチアニジンのマウスにおける主要代謝経路は、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化、チアゾリルメチルとグアニジン間の N-C 結合の開裂および脱ニトロ化であった。 																													
II-1	代謝・分解 (植物)	水稻	葉身部処理 土壌処理	供試化合物 [¹⁴ C]クロチアニジン [¹⁴ C]チアゾール-2-14C]クロチアニジン 葉身部塗布処理 1.0 μg/cm ² (10 g/10 a 相当) の 1 回処理 処理 7、14、21、28、35、48 日後に収穫 土壌混和処理 1.5 μg/cm ² (15 g/10 a 相当、300 μg/ポット) の 1 回処理 処理 30、60、130 日後に収穫	[葉身部塗布処理] <ul style="list-style-type: none"> ● 出穂直後の止め葉表面に塗布処理し、完熟期までの 48 日間栽培した試料では、処理 ¹⁴C の 84.4~91.0% は処理葉身部に残留し、非処理葉身部および玄米に移行した ¹⁴C はそれぞれ 0.3~0.4% および 0.2% と僅かであった。 ● ¹⁴C 量およびクロチアニジン残留濃度 (ppm、括弧内は %TRR)。 <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>処理葉身部</th> <th>非処理葉身</th> <th>葉鞘</th> <th>玄米</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>40.46-47.25</td> <td>0.03</td> <td><0.01-0.01</td> <td>0.02</td> </tr> <tr> <td>クロチアニジン</td> <td>33.41-38.33 (81.3-82.7)</td> <td>0.01-0.02 (40.0-49.1)</td> <td><0.01 (41.4-42.9)</td> <td><0.01 (10.8-11.0)</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ● 主要代謝分解物は MG (玄米：12.4%TRR) および TZMU (非処理葉身：16.1~16.2%TRR、葉鞘：10.5~13.3%TRR) であり、その他に TMG、TZU、MNG、TZNG および NTC が同定されたが、その生成量はいずれも 9.1%TRR 以下であった。 [土壌混和処理] <ul style="list-style-type: none"> ● 処理 130 日後の土壌には、処理 ¹⁴C の 88.0~91.9% が分布し、葉身および玄米に移行した ¹⁴C はそれぞれ 3.4~4.5% および <0.1~0.2% であった。 ● ¹⁴C 量およびクロチアニジン残留濃度 (ppm、括弧内は %TRR)。 <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>葉身部</th> <th>葉鞘</th> <th>玄米</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>0.72-0.95</td> <td>0.04-0.07</td> <td>0.02</td> </tr> <tr> <td>クロチアニジン</td> <td>0.07-0.15 (10.0-16.3)</td> <td><0.01-0.02 (19.5-22.5)</td> <td><0.01 (12.7-15.5)</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ● 主要代謝分解物は MG (葉身：11.2%TRR)、TZMU (玄米：6.3~13.3%TRR、葉身：15.3~15.7%TRR、葉鞘：14.4~16.9%TRR) および TMG (葉身：13.1~13.3%TRR) であり、その他に TZU、TZNG および MNG が同定されたが、その生成量はいずれも 		処理葉身部	非処理葉身	葉鞘	玄米	¹⁴ C	40.46-47.25	0.03	<0.01-0.01	0.02	クロチアニジン	33.41-38.33 (81.3-82.7)	0.01-0.02 (40.0-49.1)	<0.01 (41.4-42.9)	<0.01 (10.8-11.0)		葉身部	葉鞘	玄米	¹⁴ C	0.72-0.95	0.04-0.07	0.02	クロチアニジン	0.07-0.15 (10.0-16.3)	<0.01-0.02 (19.5-22.5)	<0.01 (12.7-15.5)	武田薬品工業 (2000年)	370
	処理葉身部	非処理葉身	葉鞘	玄米																														
¹⁴ C	40.46-47.25	0.03	<0.01-0.01	0.02																														
クロチアニジン	33.41-38.33 (81.3-82.7)	0.01-0.02 (40.0-49.1)	<0.01 (41.4-42.9)	<0.01 (10.8-11.0)																														
	葉身部	葉鞘	玄米																															
¹⁴ C	0.72-0.95	0.04-0.07	0.02																															
クロチアニジン	0.07-0.15 (10.0-16.3)	<0.01-0.02 (19.5-22.5)	<0.01 (12.7-15.5)																															

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁												
					<p>5.6%TRR 以下であった。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● イネにおけるクロチアニジンの代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。 														
II-2	代謝・分解 (植物)	トマト	果実部処理 葉部処理 茎葉散布 土壌処理	<p>供試化合物 [¹⁴C]クロチアニジン [¹⁴C]クロチアニジン</p> <p>果実・葉部処理 2.5 μg/cm² (25 g/10 a 相当) の 1 回処理 処理 7、14、21、28 日後に収穫</p> <p>茎葉散布 16 g/10 a、収穫 17 および 3 日前の 2 回処理 2 回目散布 3 日後に収穫</p> <p>土壌処理 15 mg/株 [粒剤処理] の 1 回処理 処理 97 日後に収穫</p>	<p>[果実処理]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 処理 28 日後の果実には、処理 ¹⁴C の 97.8~98.6% が残留し、未変化のクロチアニジンは同 87.9~90.0% 残留していた。 ● 果実における代謝分解物として、TZNG、TZMU、MNG、TMG、MG、TZU および NTG が検出されたが、その生成量はいずれも処理 ¹⁴C の 2.9% 以下であった。 <p>[葉部処理]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 処理 28 日後の葉部には、処理 ¹⁴C の 95.4~95.6% が残留し、未変化のクロチアニジンは同 86.8~90.0% 残留していた。 ● 葉部における代謝分解物として、TZNG、TZMU、MNG、TMG、MG、TZU および NTG が検出されたが、その生成量はいずれも処理 ¹⁴C の 3.4% 以下であった。 <p>[茎葉散布]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● ¹⁴C 量およびクロチアニジンの残留濃度 (ppm、括弧内は %TRR) <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th colspan="2">果実</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>0.57</td> </tr> <tr> <td>クロチアニジン</td> <td>0.55 (96.6)</td> </tr> </tbody> </table> <p>[土壌処理]</p> <ul style="list-style-type: none"> ● ¹⁴C 量およびクロチアニジンの残留濃度 (ppm、括弧内は %TRR) <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th colspan="2">果実</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>0.014</td> </tr> <tr> <td>クロチアニジン</td> <td>0.009 (66.1)</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ● 果実における代謝分解物として MNG (17.7%TRR, 0.002 ppm) および TZNG (8.4%TRR, 0.001 ppm) が同定された。 	果実		¹⁴ C	0.57	クロチアニジン	0.55 (96.6)	果実		¹⁴ C	0.014	クロチアニジン	0.009 (66.1)	武田薬品工業 (2000年) Bayer AG (1998, 2000年)	377
果実																			
¹⁴ C	0.57																		
クロチアニジン	0.55 (96.6)																		
果実																			
¹⁴ C	0.014																		
クロチアニジン	0.009 (66.1)																		

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁									
II-3	代謝・分解 (植物)	茶	葉部処理	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニン [チゾール- ¹⁴ C]クロチアニン 3.5 μg/cm ² /葉 (35 g/10 a 相当) の1回処理 処理 7、14、21、28 日後に収穫	<ul style="list-style-type: none"> ● トマトにおけるクロチアニジンの代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。 ● 処理 ¹⁴C の 97.0% は処理葉に残留し、非処理葉に移行した ¹⁴C 量は 0.1% と僅かであった。 ● 処理 28 日後の葉部には、未変化のクロチアニジンは処理 ¹⁴C の 88.2~90.5% 残留していた。 ● 葉部での代謝分解物として、TZMU、TMG、MG、MNG、TZU および TZNG が検出されたが、その生成量はいずれも処理 ¹⁴C の 2.9% 以下であった。 ● 茶におけるクロチアニジンの代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。 	武田薬品工業 (2000年)	384									
II-4 (GLP)	代謝・分解 (植物)	りんご	茎葉散布	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニン 8.3 μg/樹 (40 g/10 a 相当)、収穫 99 および 14 日前の 2 回散布 最終散布 14 日後に収穫	<ul style="list-style-type: none"> ● ¹⁴C 量およびクロチアニジンの残留濃度 (ppm、括弧内は %TRR) <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>果実</th> <th>葉部</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>0.076</td> <td>6.45</td> </tr> <tr> <td>クロチアニン</td> <td>0.046 (61.5)</td> <td>3.51 (54.5)</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ● 果実における主要代謝分解物は TZMU (10.6%TRR、0.009 ppm) であり、微量代謝分解物として THMN-Glc、TZNG および THMN が同定されたが、その生成量はいずれも 3.7%TRR 以下であった。 ● 葉では代謝分解物として、TZMU、THMN-Glc、TMG、MNG、MG、TZNG、TZU および NTG が同定されたが、その生成量はいずれも 7.2%TRR 以下であった。 ● リンゴにおけるクロチアニジンの代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解、チアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂および二級アミンの水酸化とそれに続くグルコース抱合化であった。 		果実	葉部	¹⁴ C	0.076	6.45	クロチアニン	0.046 (61.5)	3.51 (54.5)	Bayer AG (1999年)	388-1
	果実	葉部														
¹⁴ C	0.076	6.45														
クロチアニン	0.046 (61.5)	3.51 (54.5)														

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁												
II-5 (GLP)	代謝・分解 (植物)	てんさい	種子処理	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニン 19 g/10 a の1回処理 処理 48、55、144 日 後に収穫	<ul style="list-style-type: none"> ● 処理 144 日後の ¹⁴C 量およびクロチアニジンの残留濃度 (ppm、括弧内は%TRR) <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>根部</th> <th>葉部</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>0.034</td> <td>0.886</td> </tr> <tr> <td>クロチアニン</td> <td>0.008 (24.4)</td> <td>0.038 (4.3)</td> </tr> </tbody> </table> ● 収穫期の根における主要代謝分解物は TZNG (9.8%TRR) であり、その他の微量代謝分解物として MG、TMG、TZMU および MNG が同定されたが、その生成量はいずれも 6.2%TRR 以下であった。 ● 収穫期の葉における主要残留物は MG (28.6%TRR) および TMG (27.0%TRR) であり、その他の代謝分解物として TZMU、MNG、TZNG、TZU および NTG が同定されたが、その生成量はいずれも 4.3%TRR 以下であった。 ● クロチアニジンのてんさいにおける代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解ならびにチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。 		根部	葉部	¹⁴ C	0.034	0.886	クロチアニン	0.008 (24.4)	0.038 (4.3)	Huntington Life Sciences (2000年)	388-7			
	根部	葉部																	
¹⁴ C	0.034	0.886																	
クロチアニン	0.008 (24.4)	0.038 (4.3)																	
II-6 (GLP)	代謝・分解 (植物)	とうもろこし	種子処理	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニン [チアゾール-2- ¹⁴ C]クロチアニン 1.06~2.52 mg/種子 (4.2~10 g/10 a 相当) の1回処理 青刈り：処理 60 または 63 日後に収穫 成熟試料：処理 145 または 160 日後に収穫	<ul style="list-style-type: none"> ● ¹⁴C 量およびクロチアニジンの残留濃度 (ppm、括弧内は%TRR) <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>青刈り</th> <th>茎葉部</th> <th>穀粒</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>¹⁴C</td> <td>0.130-0.89</td> <td>0.170-3.06</td> <td>0.006-0.063</td> </tr> <tr> <td>クロチアニン</td> <td>0.056-0.57 (42.9-64.5)</td> <td>0.034-1.21 (20.1-39.5)</td> <td>0.001-0.037 (14.4-58.5)</td> </tr> </tbody> </table> ● 青刈り、茎葉部および穀粒における主要代謝分解物は MG (青刈り：7.4%TRR、茎葉部：14.8%TRR、穀粒：21.7%TRR) であり、その他代謝分解物として、TZMU、TMG、MNG、TZNG、TZU および CTCA が同定されたが、いずれも 9.2%TRR 以下であった。 ● クロチアニジンのとうもろこしにおける代謝分解経路は、メチルニトログアニジン部分の脱メチル化および脱ニトロ化、ニトロイミノ基の加水分解、チアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。 		青刈り	茎葉部	穀粒	¹⁴ C	0.130-0.89	0.170-3.06	0.006-0.063	クロチアニン	0.056-0.57 (42.9-64.5)	0.034-1.21 (20.1-39.5)	0.001-0.037 (14.4-58.5)	Bayer AG (2000年)	388-13
	青刈り	茎葉部	穀粒																
¹⁴ C	0.130-0.89	0.170-3.06	0.006-0.063																
クロチアニン	0.056-0.57 (42.9-64.5)	0.034-1.21 (20.1-39.5)	0.001-0.037 (14.4-58.5)																

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁												
III-1	代謝・分解 (土壌)	湛水土壌 (茨城、香川、真壁)	土壌混和	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニジン [チゾール- ¹⁴ C]クロチアニジン 処理濃度 0.225 ppm (乾土換算)	<ul style="list-style-type: none"> ● 消失半減期： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>茨城</th> <th>香川</th> <th>真壁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>好氣的条件下</td> <td>49日</td> <td>62~72日</td> <td>53~58日</td> </tr> <tr> <td>嫌氣的条件下</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>44日</td> </tr> </tbody> </table> ● 処理180日後の物質収支、揮発性成分生成量および抽出残渣中の¹⁴C量はそれぞれ処理¹⁴C量の95.1~102.4% (好気：95.1~102.4%、嫌気：98.9%)、0.7~4.3% (好気：0.7~4.3%、嫌気：1.8%) および71.0~80.3% (好気：71.0~80.0%、嫌気：80.3%) であり、土壌抽出残渣中の¹⁴Cは主にヒューミンおよびフルボ酸画分に分布した。 ● 湛水土壌中におけるクロチアニジンの主要代謝分解物はTMG (最大：11.4%、嫌気状態、処理60日後)であった。その他の代謝分解物は同定されたTZNG、TZMU およびMNGを含め処理¹⁴C量の2.9%以下であった。 ● 湛水土壌中におけるクロチアニジンの主要代謝分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱ニトロ化であり、その他メチルニトログアニジン部分の脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間のC-N結合の開裂等の代謝分解を受け、最終的に二酸化炭素まで無機化されるかあるいは土壌に強固に吸着された。 		茨城	香川	真壁	好氣的条件下	49日	62~72日	53~58日	嫌氣的条件下	—	—	44日	武田薬品工業 (2000年)	389
	茨城	香川	真壁																
好氣的条件下	49日	62~72日	53~58日																
嫌氣的条件下	—	—	44日																
III-2	代謝・分解 (土壌)	畑地土壌 (茨城、香川、真壁)	土壌混和	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニジン [チゾール- ¹⁴ C]クロチアニジン 処理濃度 0.5 ppm (乾土換算)	<ul style="list-style-type: none"> ● 消失半減期： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>茨城</th> <th>香川</th> <th>真壁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>好氣的条件下</td> <td>193日</td> <td>198~217日</td> <td>198~210日</td> </tr> <tr> <td>嫌氣的条件下</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>217~231日</td> </tr> </tbody> </table> ● 処理180日後の物質収支、揮発性成分生成量および抽出残渣中の¹⁴C量はそれぞれ処理¹⁴C量の93.2~104.3% (好気：93.2~101.8%、嫌気：101.6~104.3%)、0.7~8.5% (好気：0.7~8.5%、嫌気：0.9~5.1%) および40.0~45.2% (好気：40.7~45.2%、嫌気：40.0~44.8%) であり、土壌抽出残渣中の¹⁴Cは主にフルボ酸画分に分布した。 ● 畑地土壌中におけるクロチアニジンの主要代謝分解物はMNG (最大：3.4%、真壁土壌、処理180日後)であった。そ 		茨城	香川	真壁	好氣的条件下	193日	198~217日	198~210日	嫌氣的条件下	—	—	217~231日	武田薬品工業 (2000年)	394
	茨城	香川	真壁																
好氣的条件下	193日	198~217日	198~210日																
嫌氣的条件下	—	—	217~231日																

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
					<p>他の代謝分解物は同定された TZNG、TZMU および NTG を含め処理 ^{14}C 量の 1.9% 以下であった。</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 畑地土壌中におけるクロチアニジンの代謝経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、加水分解、およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂等の代謝分解を受け、最終的に二酸化炭素まで無機化されるかあるいは土壌に強固に吸着された。 		
IV-1	分解要因 (土壌表面光分解)	真壁土壌	土壌薄層プレート (厚さ: 0.5 mm) に処理	<p>供試化合物 [ニトロイミノ-^{14}C]クロチアニジン</p> <p>処理濃度 0.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$</p> <p>光源 キセノンランプ</p> <p>光強度 4.0 mW/cm^2 (波長範囲 360~480 nm)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 処理 14 日後の土壌におけるクロチアニジンの残留量は処理 ^{14}C 量の 73.0% であった (暗対照区: 85%)。 ● 代謝分解物の生成量は同定された MNG、TZNG および TZMU を含めて処理 ^{14}C 量の 1.3% であった。 ● クロチアニジンの土壌表面光分解における分解経路はメチルニトログアニジン部分の脱メチル化、ニトロイミノ基の加水分解およびチアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂であった。 	武田薬品工業 (2000 年)	398
V-1	土壌吸着性	茨城、香川、真壁、宮崎	土壌-水系に添加	<p>供試化合物 [ニトロイミノ-^{14}C]クロチアニジン</p> <p>処理濃度 0.05、0.2、0.8、2、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● 予備試験より吸着平衡化時間を 24 時間とした。 ● 有機炭素吸着係数 [K_p^{*25} oc] : 164 (平均、90~250) 	武田薬品工業 (2000 年)	401

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁																					
VI-1	土壌移行性 (土壌カラム移行性)	茨城、香川、真壁	土壌カラム (直径 5 cm × 長さ 30 cm の土壌カラム上に処理土壌 (20 g) を積層)	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニジン 処理濃度 茨城・香川; 4.9 ppm 真壁; 2.2 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ● Non-Aged 土壌において、有機物含量の多い茨城および真壁土壌では処理した ¹⁴C の大部分が土壌カラム上層部 (処理部および 0~12 cm 画分) に分布したが、有機物含量の少ない香川土壌では処理した ¹⁴C の一部が下方に移行し、溶出液中に溶出した ¹⁴C 量は処理 ¹⁴C 量の 7.4% であった。 ● 供試した全ての Aged 土壌において、下方への移行量は減少し、溶出液中に溶出した ¹⁴C 量は処理 ¹⁴C 量の 2.5% 以下 (茨城: 0.1%、香川: 2.5%、真壁: <0.1%) であった。 	武田薬品工業 (2000年)	404																					
VII-1	水中運命 (加水分解)	緩衝液 (pH 4, 5, 7, 9) 蒸留水 自然水 (pH 7.8)	水に添加 溶解助剤: アセトニトリル (0.1%)	供試化合物 [ニトロミノ- ¹⁴ C]クロチアニジン [チアゾール-2- ¹⁴ C]クロチアニジン 処理濃度 1 mg/L	<ul style="list-style-type: none"> ● 半減期 <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th>pH</th> <th>25°C</th> <th>50°C</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4.0</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>5.0</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>7.0</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>9.0</td> <td>1.5 年</td> <td>14 日</td> </tr> <tr> <td>蒸留水</td> <td>—</td> <td>93 日</td> </tr> <tr> <td>自然水</td> <td>9 年</td> <td>73 日</td> </tr> </tbody> </table> <p style="margin-left: 20px;">—: 算出不可</p> ● クロチアニジンの加水分解にともない生成した主要分解物は、ACT (最大生成量: 69.8%、pH9 緩衝液: 50°C、12 週後)、CTNU (同: 7.8%、pH9 緩衝液: 25°C、6 ヶ月後)、TZMU (同: 24.6%、pH9 緩衝液: 50°C、12 週後) および二酸化炭素 (同: 80.4%、pH9 緩衝液: 50°C、12 週後) であった。 ● クロチアニジンの加水分解における分解経路は、メチルニトログアニジン部分の C-N 結合の開裂による脱メチルアミンおよび脱ニトロアミン反応と、それに続く脱炭酸であった。 	pH	25°C	50°C	4.0	—	—	5.0	—	—	7.0	—	—	9.0	1.5 年	14 日	蒸留水	—	93 日	自然水	9 年	73 日	武田薬品工業 (2000年)	406
pH	25°C	50°C																										
4.0	—	—																										
5.0	—	—																										
7.0	—	—																										
9.0	1.5 年	14 日																										
蒸留水	—	93 日																										
自然水	9 年	73 日																										

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁																	
VII-2	水中運命 (水中光分解)	蒸留水 自然水 (鬼怒川河川水:pH 7.4、霞ヶ浦湖水:pH 7.7、真壁灌漑用水:pH 7.8)	水に添加 溶解助剤: アセトニトリル (0.1%)	供試化合物 [ニトロイミノ- ¹⁴ C]クロチアジソン [チアゾール- ¹⁴ C]クロチアジソン 処理濃度 1 mg/L 光源 キセノンランプ 光強度 1.8 mW/cm ² (波長範囲 360~480 nm)	<ul style="list-style-type: none"> ● 半減期 <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">供試水</th> <th colspan="2">半減期</th> </tr> <tr> <th>実験条件下</th> <th>東京春換算</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>蒸留水</td> <td>40~42 分</td> <td>31~33 分</td> </tr> <tr> <td>鬼怒川河川水</td> <td>46~47 分</td> <td>36~37 分</td> </tr> <tr> <td>霞ヶ浦湖水</td> <td>54~58 分</td> <td>42~46 分</td> </tr> <tr> <td>真壁灌漑用水</td> <td>49~54 分</td> <td>36~42 分</td> </tr> </tbody> </table> ● 水中光分解において生成した主要分解物は、TZMU (最大生成量: 40.6%、蒸留水、240 分後)、MAI (同: 31.6%、霞ヶ浦湖水、240 分後) および TMG (同: 9.8%、真壁灌漑用水、240 分後) であり、その他の分解物は同定された MG、HMIO、MU、TMHG、MAC および MIO を含め 6.5% 以下であった。また、揮散成分として二酸化炭素が最大 7.4% (蒸留水、240 分後) 認められた。 ● クロチアジソンの水中光分解における主要分解経路は、メチルニトログアニジン部分の加水分解、ならびに脱ニトロ化に続く分子内環化であり、その他イミノ窒素への水酸基の付加とそれに続く脱ニトロ化反応、チアゾリルメチルとグアニジン間の C-N 結合の開裂を経て最終的に二酸化炭素まで無機化された。 	供試水	半減期		実験条件下	東京春換算	蒸留水	40~42 分	31~33 分	鬼怒川河川水	46~47 分	36~37 分	霞ヶ浦湖水	54~58 分	42~46 分	真壁灌漑用水	49~54 分	36~42 分	武田薬品工業 (2000 年)	411
供試水	半減期																							
	実験条件下	東京春換算																						
蒸留水	40~42 分	31~33 分																						
鬼怒川河川水	46~47 分	36~37 分																						
霞ヶ浦湖水	54~58 分	42~46 分																						
真壁灌漑用水	49~54 分	36~42 分																						

代謝分解試験に供試したクロチアジソンの標識位置設定理由:

<代謝物一覧>

由来	名称(略語)	化学名	構造式
親化合物	クロチアニジン TI-435 I	(<i>L</i>)-1-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-3-methyl-2-nitroguanidine	
動物代謝物 植物代謝物 土壌中分解物 土壌光分解物	TZNG II		
動物代謝物 植物代謝物 土壌中分解物 土壌光分解物 加水分解物 水中光分解物	TZMU III		
動物代謝物 植物代謝物 土壌中分解物 土壌光分解物	MNG IV		
動物代謝物	MTCA V		
動物代謝物 植物代謝物 土壌中分解物 水中光分解物	TMG VI		
動物代謝物 植物代謝物 水中光分解物	MG VII		
水中光分解物	MAI VIII		

由来	名称(略語)	化学名	構造式
動物代謝物 植物代謝物	TZU IX		
動物代謝物 加水分解物	ACT X		
動物代謝物 植物代謝物 土壌中分解物	NTG XI		
加水分解物	CTNU XII		
水中光分解物	HMIO XIII		
水中光分解物	MIO XIV		
水中光分解物	MU XV		
水中光分解物	TMHG XVI		
水中光分解物	MAC XVII		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

由来	名称(略語)	化学名	構造式
動物代謝物 植物代謝物	THMN XVIII		
動物代謝物 植物代謝物	CTCA XIX		
動物代謝物	TZG XX		

I. 動物体内運命に関する試験

I-1. クロチアニジンのラットにおける吸収、分布及び排泄性試験

(資料 I-1)

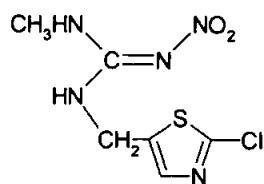
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

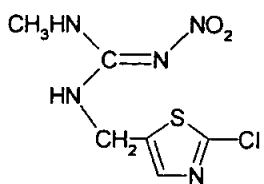
比放射活性；

放射化学的純度；

合成法； 次頁に示した。

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

合成法； 次頁に示した。

なお、両標識化合物とも非標識クロチアニジン (Lot)により適度に希釈して用いた。

純度

標識位置設定根拠

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

供 試 動 物 : Wistar系ラット (体重:雄 219.74~266.20 g、雌 164.30~177.13 g、
8 週齢)

試 験 方 法 :

1) 吸収排泄性

① 血中濃度測定;ラット雌雄各 3 匹よりなる群に、標識位置の異なる 2 種の化合物 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン及びTh-¹⁴C-クロチアニジン) をそれぞれ 5 mg/kg の割合で単回経口投与または単回静脈内投与し、投与後 0.25~48 時間に適度な間隔で血液を採取し、全血及び血漿部分を分析に供した。

② 吸収排泄試験;ラット雌雄各 5 匹よりなる群に、標識位置の異なる 2 種の化合物をそれぞれ 5 mg/kg または 250 mg/kg の割合で単回経口投与した。投与後のラットは代謝ケージに收容し、24 時間間隔で 7 日間、尿及び糞を採取した。呼気は投与後 2 日間 (低薬量) 及び 3 日間 (高薬量) 採取して分析に供した。

2) 組織内分布試験;定量的な組織内分布の測定のために、ラット雌雄各 3 匹よりなる群に、標識位置の異なる 2 種の化合物をそれぞれ 5 mg/kg または 250 mg/kg の割合で単回経口投与し、適度な間隔で屠殺して、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓等の主要臓器をはじめ、脂肪、筋肉、坐骨神経等の組織及び血液を採取し、試料燃焼法により放射活性を測定した。また、定性的な組織内分布をしらべるため、ラット雌雄各 3 匹よりなる群に、標識位置の異なる 2 種の化合物をそれぞれ 5mg/kg の割合で単回経口投与し、投与後 2 時間~7 日目に適度な間隔で屠殺して、全身オートラジオグラムを作製した。

試 験 結 果 :

1) 吸収排泄性

① 血中濃度測定;(図 1、表 1-1~1-4、2-1~2-2 参照) Ni-¹⁴C-クロチアニジンを低薬量で経口投与した場合、全血中の放射活性の濃度は、雌雄とも投与後 2 時間目に最大値 [親化合物換算: 1.86(雄)~2.36(雌)µg/mL] を与えた後、雄では半減期 約 3.8 時間、雌では約 2.9時間で減少した。また、血漿中における放射活性濃度の変化のパターンは、全血中のそれとほぼ同様の傾向を示した。

Th-¹⁴C-クロチアニジンを低薬量で経口投与した場合、全血中の放射活性の濃度は、雌雄とも投与後 2 時間目に最大値 [親化合物換算: 2.15(雄)~2.08(雌)µg/mL] を与えた後、雄では半減期約 4.0 時間、雌では約 3.8 時間で減少した。血漿中における放射活性濃度の変化のパターンは、全

血中のそれとほぼ同様な傾向を示した。

Ni-¹⁴C-クロチアニジンを低薬量で静脈内投与した場合、投与後 0.25 時間目の全血中の放射活性濃度は、雌雄いずれにおいても 5.11µg/mL を示し、投与後 10 時間目までは雄では半減期約 2.4 時間、雌では約 1.8 時間で減少した。また、血漿中における放射活性濃度の変化のパターンは、全血中のそれとほぼ同様な傾向を示した。

Th-¹⁴C-クロチアニジンを低薬量で静脈内投与した場合、投与後 0.25 時間目の全血中の放射活性濃度は雄では 4.73 µg/mL、雌では 4.94 µg/mL を示し、投与後 10 時間目までは雄では半減期 2.2 時間、雌では約 1.9 時間で減少した。また、血漿中における放射活性濃度の変化のパターンは、全血中のそれとほぼ同様な傾向を示した。

両標識化合物を 5 mg/kg (低薬量) の割合で雌雄ラットに単回経口 (p.o.) 及び静脈内投与 (i.v.) したときの投与後 48 時間までの全血中濃度・時間曲線下面積比 (AUC 比) [= AUC(p.o.) / AUC(i.v.)] は 0.940 ~ 0.997 を示し、経口投与された ¹⁴C の吸収率は 94.0% ~ 99.7% と求められた。

表 1-1 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量 (5 mg/kg) 単回経口投与による血中の ¹⁴C-濃度の変化 [親化合物換算 (µg/mL)]

性別	組織	投 与 後 時 間 (時間)									
		0.25	0.50	0.75	1	2	4	6	10	24	48
雄	全血	0.92	1.11	1.24	1.62	1.86	1.68	1.64	0.78	0.04	0.01
	血漿	0.89	1.04	1.33	1.62	1.81	1.64	1.62	0.77	0.03	0.01
雌	全血	0.75	1.14	1.41	1.62	2.36	1.92	1.32	0.44	0.02	0.01
	血漿	0.82	1.04	1.28	1.52	2.16	1.76	1.26	0.44	0.02	0.01

表 1-2 Th-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量 (5 mg/kg) 単回経口投与による血中の ¹⁴C-濃度の変化 [親化合物換算 (µg/mL)]

性別	組織	投 与 後 時 間 (時間)									
		0.25	0.50	0.75	1	2	4	6	10	24	48
雄	全血	1.38	1.47	1.75	1.93	2.15	1.67	1.14	0.52	0.05	0.03
	血漿	1.33	1.51	1.72	1.86	2.14	1.71	1.18	0.51	0.04	0.03
雌	全血	0.61	0.80	1.14	1.49	2.08	1.86	1.32	0.30	0.05	0.03
	血漿	0.47	0.69	1.00	1.21	2.01	1.86	0.80	0.30	0.02	0.01

表 1-3 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量 (5 mg/kg) 単回静脈内投与による血中の¹⁴C-濃度の変化 [親化合物換算 (μg/mL)]

性別	組織	投 与 後 時 間 (時間)									
		0.25	0.50	0.75	1	2	4	6	10	24	48
雄	全血	5.11	4.98	4.61	4.33	3.14	1.62	0.90	0.31	0.04	0.02
	血漿	5.01	4.76	4.42	4.19	2.99	1.63	0.91	0.32	0.03	0.01
雌	全血	5.11	5.02	4.72	4.28	2.88	1.13	0.46	0.13	0.02	0.01
	血漿	4.78	4.60	4.51	4.07	2.71	1.08	0.46	0.13	0.02	0.01

表 1-4 Th-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量 (5 mg/kg) 単回静脈内投与による血中の¹⁴C-濃度の変化 [親化合物換算 (μg/mL)]

性別	組織	投 与 後 時 間 (時間)									
		0.25	0.50	0.75	1	2	4	6	10	24	48
雄	全血	4.73	4.57	4.37	3.96	2.83	1.35	0.67	0.26	0.04	0.03
	血漿	4.62	4.29	4.06	3.75	2.74	1.28	0.66	0.26	0.04	0.03
雌	全血	4.94	4.61	4.34	3.91	2.45	0.98	0.47	0.17	0.05	0.03
	血漿	4.57	4.42	4.12	3.85	2.41	0.92	0.45	0.16	0.04	0.03

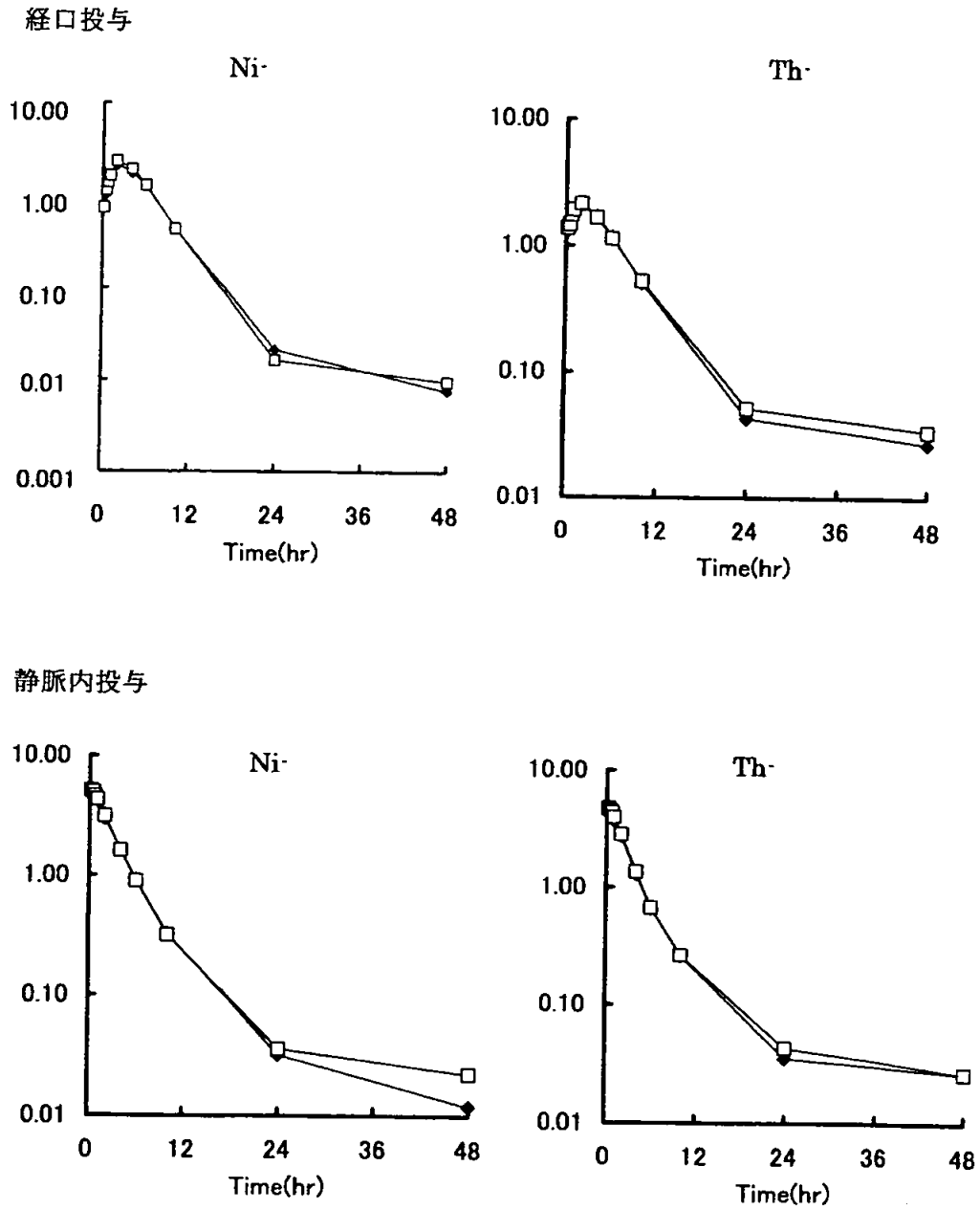


図1 Ni-及び Th-¹⁴C-クロチアニジンを雄性ラットに経口または静脈内投与した時の全血及び血漿中における¹⁴C濃度の推移
—□— : 全血、—◆— : 血漿

表 2-1 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量 (5 mg/kg) 単回経口及び静脈内投与による薬物動態パラメータ

性別	投与経路	組織	Tmax (時間)	Cmax ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T _{1/2} (時間)	AUC ₀₋₄₈ * ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)
雄	経口	全血	2.0	1.86	3.8	20.80
		血漿	2.0	1.81	3.6	—
	静脈内	全血	0.0	5.62**	2.4	21.50
		血漿	0.0	5.38**	2.4	—
雌	経口	全血	2.0	2.36	2.9	16.38
		血漿	2.0	2.16	3.2	—
	静脈内	全血	0.0	5.19**	1.8	17.43
		血漿	0.0	4.96**	1.8	—

* : 全血中濃度-時間曲線下面積

** : 0.25 及び0.5 時間の結果を直線回帰して算出

表 2-2 Th-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量 (5 mg/kg) 単回経口及び静脈内投与による薬物動態パラメータ

性別	投与経路	組織	Tmax (時間)	Cmax ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T _{1/2} (時間)	AUC ₀₋₄₈ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)
雄	経口	全血	2.0	2.15	4.0	19.20
		血漿	2.0	2.14	3.8	—
	静脈内	全血	0.0	4.90	2.2	19.47
		血漿	0.0	4.95	2.3	—
雌	経口	全血	2.0	2.08	3.8	17.08
		血漿	2.0	2.01	3.6	—
	静脈内	全血	0.0	5.26	1.9	17.13
		血漿	0.0	4.73	1.9	—

* : 全血中濃度-時間曲線下面積

** : 0.25 及び0.5 時間の結果を直線回帰して算出

② 排泄 ;(表 3-1~3-4 参照) 両標識化合物を雌雄ラットに低薬量で投与した場合、投与後 7 日間に投与量の 98.0~100.5%が尿及び糞中に排泄され、その大部分 (93.3~98.2%) は投与後 1 日目以内に回収された。投与後 7 日間に両標識化合物とも雄では尿中に 92.0~92.3%、糞中に 5.7~6.0%、雌では尿中に 95.0~95.8%、糞中に 4.4~4.7%が排泄され、雌雄とも尿中への排泄率が糞中のそれよりも顕著に高く、性差は認められなかった。なお、呼気中の放射活性は両標識体の場合とも殆ど (<0.1%) 認められなかった。

高薬量投与の場合、投与後 7 日間に投与量の 97.2~101.8%が尿及び糞中に排泄され、大部分 (93.9~99.9%) は投与後 2 日間の尿及び糞中

に排泄された。投与後 7 日間に両標識化合物とも尿中に 90.6~93.4%、糞中に 4.6~8.2%が排泄され、性差に関係なく、尿中への排泄率は糞中へのそれを大きく上回った。

表 3-1 Ni-¹⁴C-クロチアニジン単回経口投与による ¹⁴C-累積排泄率 (雄) [対投与量(%)]

投与量 雄	試料	投与後時間						
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
低薬量	尿	91.5	92.0	92.2	92.3	92.3	92.3	92.3
	糞	4.9	5.6	5.6	5.7	5.7	5.7	5.7
	呼気	<0.1	<0.1	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)
	合計	96.4	97.6	97.8	98.0	98.0	98.0	98.0
高薬量	尿	44.4	88.0	89.3	90.3	90.4	90.5	90.6
	糞	0.6	6.1	6.8	6.9	6.9	6.9	6.9
	呼気	<0.1	<0.1	0.1	(0.1)	(0.1)	(0.1)	(0.1)
	合計	45.1	94.2	96.2	97.3	97.4	97.5	97.6

注) (): 測定せず

表 3-2 Ni-¹⁴C-クロチアニジン単回経口投与による ¹⁴C-累積排泄率 (雌) [対投与量(%)]

投与量 雌	試料	投与後時間						
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
低薬量	尿	93.2	94.2	94.5	94.7	94.9	95.0	95.0
	糞	3.8	4.3	4.4	4.4	4.4	4.4	4.4
	呼気	<0.1	<0.1	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)
	合計	97.0	98.5	98.9	99.1	99.3	99.4	99.4
高薬量	尿	52.3	89.7	90.9	92.2	92.3	92.4	92.5
	糞	0.4	4.1	4.6	4.6	4.6	4.6	4.6
	呼気	<0.1	<0.1	0.1	(0.1)	(0.1)	(0.1)	(0.1)
	合計	52.7	93.9	95.6	96.9	97.0	97.1	97.2

注) (): 測定せず

表 3-3 Th-¹⁴C-クロチアニジン単回経口投与による ¹⁴C-累積排泄率 (雄) [対投与量(%)]

投与量 雄	試料	投与後時間						
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
低薬量	尿	89.1	91.4	91.6	91.8	91.9	91.9	92.0
	糞	4.2	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	呼気	<0.1	<0.1	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)
	合計	93.3	97.3	97.6	97.8	97.9	97.9	98.0
高薬量	尿	60.2	92.0	93.0	93.2	93.3	93.3	93.4
	糞	1.7	7.7	8.1	8.2	8.2	8.2	8.2
	呼気	0.1	0.2	0.2	(0.2)	(0.2)	(0.2)	(0.2)
	合計	62.0	99.9	101.3	101.6	101.7	101.7	101.8

注) (): 測定せず

表 3-4 Th-¹⁴C-クロチアニジン単回経口投与による ¹⁴C-累積排泄率 (雌) [対投与量(%)]

投与量 雌	試料	投与後時間						
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
低薬量	尿	94.3	95.3	95.6	95.7	95.8	95.8	95.8
	糞	3.9	4.6	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7
	呼気	<0.1	<0.1	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)	(<0.1)
	合計	98.2	99.9	100.3	100.4	100.5	100.5	100.5
高薬量	尿	60.6	90.9	91.8	92.3	92.5	92.6	92.7
	糞	1.2	5.5	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7
	呼気	0.1	0.3	0.3	(0.3)	(0.3)	(0.3)	(0.3)
	合計	61.9	96.7	97.8	98.3	98.5	98.6	98.7

注) (): 測定せず

2) 組織内分布試験: 低薬量 (5 mg/kg) 単回投与の場合 (表 4-1~4-4 参照)、Ni-¹⁴C-クロチアニジンでは、雌雄とも血中の放射活性濃度が最大値を示す投与後 2 時間目にはほとんどの組織中に放射活性が分布した。胃及び腎臓に比較的高い放射活性が認められたが、各組織とも経時的に減少し、投与後 7 日目では全ての組織中における放射活性濃度はいずれも 0.02 µg/g 以下であった。また、投与後 7 日目の各組織における放射活性はいずれも対投与量の 0.02% 以下であった。

Th-¹⁴C-クロチアニジンでも雌雄とも血中の放射活性濃度が最大値を示す投与後 2 時間目にほとんどの組織に放射活性が分布し、胃及び腎臓に比較的高い放射活性が認められたが、各組織とも経時的に減少し、投与後 7 日目では、全ての組織中における放射活性濃度はいずれも 0.08 µg/g 以下であった。また、投与後 7 日目の各組織における放射活性は対投与量の 0.07% 以下であった。

これらの結果は全身オートラジオグラフィによる結果とほぼ同様の傾向を示し、投与後 7 日目のオートラジオグラムには組織内分布試験で測定した以外の組織中にも放射活性の残留は認められなかった。

高薬量 (250 mg/kg) 単回投与の場合 (表 5-1~5-4 参照)、投与後 7 日目の各組織中の放射活性濃度を、低薬量 (5 mg/kg) 投与時と比較すると、Ni-¹⁴C-クロチアニジンを投与した場合は雌雄ラットの全血及び坐骨神経、雄性ラットの皮膚、雌性ラットの肝臓及び体毛で、Th-¹⁴C-クロチアニジンを投与した場合は雌雄ラットの肝臓、雄性ラットの坐骨神経、皮膚及び甲状腺、雌性ラットの副腎、全血及び胃で、高薬量と低薬量の投与量比である 50 倍 (250 mg/kg : 5 mg/kg) を僅かに越える値を示したが、雄性ラットの投与後 14 日目における各組織中の放射活性濃度は投与後 7 日目よりも更に減少していずれの組織においても投与比である 50 倍を下回った。また、低薬量投与における組織残留性には性差が

ないことから、高薬量投与においても雌雄ラットの組織中に¹⁴Cが残留する可能性は低いものと推察された。

表 4-1 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量単回経口投与による組織中¹⁴C濃度
[親化合物換算 (μg/g)]

投与量	組織	雄			雌		
		時 間			時 間		
		2 時間	1 日	7 日	2 時間	1 日	7 日
単回 投与 5mg/kg	副 腎	2.80	0.04	0.01	2.94	0.18	<0.01
	血 液	1.95	0.03	0.01	2.23	0.08	0.01
	脳	0.55	0.01	<0.01	0.54	0.03	<0.01
	盲 腸	1.55	0.14	<0.01	1.39	0.17	<0.01
	脂 肪	0.26	<0.01	<0.01	0.27	0.02	<0.01
	体 毛	0.01	0.03	0.02	0.06	0.04	<0.01
	心 臓	2.36	0.03	<0.01	2.60	0.10	<0.01
	腸	1.15	0.04	<0.01	1.36	0.05	<0.01
	腎 臓	5.69	0.09	<0.01	5.04	0.18	<0.01
	肝 臓	3.92	0.14	0.02	4.23	0.24	0.01
	肺	2.20	0.03	<0.01	2.44	0.08	<0.01
	筋 肉	1.66	0.02	<0.01	1.82	0.06	<0.01
	卵 巣	—	—	—	1.79	0.05	<0.01
	膀	1.52	0.02	<0.01	1.51	0.06	<0.01
	坐 骨 神 経	0.74	0.02	<0.01	0.85	0.06	<0.01
	皮 膚	2.05	0.05	<0.01	1.50	0.10	<0.01
	脊 髓	0.64	0.01	<0.01	0.56	0.02	<0.01
	脾 臓	1.99	0.03	<0.01	2.14	0.07	<0.01
	胃	7.17	0.03	<0.01	7.96	0.09	<0.01
	精 巣	1.54	0.02	<0.01	—	—	—
甲状腺	1.64	0.02	<0.01	1.25	0.05	0.01	
子宮	—	—	—	1.36	0.05	<0.01	

注) — : 該当せず

表 4-2 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量単回経口投与による組織中の¹⁴C-分布率
[対投与量 (%)]

投与量	組織	雄			雌		
		時 間			時 間		
		2 時間	1 日	7 日	2 時間	1 日	7 日
単回 投与 5mg/kg	副 腎	0.01	<0.01	0.01	0.02	<0.01	<0.01
	血 液	2.78	0.05	0.01	3.33	0.12	0.01
	脳	0.06	<0.01	<0.01	0.09	<0.01	<0.01
	盲 腸	0.09	<0.01	<0.01	0.10	0.01	<0.01
	脂 肪	0.27	<0.01	<0.01	0.29	0.02	<0.01
	体 毛	<0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	<0.01
	心 臓	0.13	<0.01	<0.01	0.17	0.01	<0.01
	腸	0.34	0.01	<0.01	0.54	0.02	<0.01
	腎 臓	0.81	0.01	<0.01	0.78	0.03	<0.01
	肝 臓	3.39	0.14	0.02	3.61	0.20	<0.01
	肺	0.18	<0.01	<0.01	0.23	0.01	<0.01
	筋 肉	13.53	0.18	<0.01	15.50	0.51	0.01
	卵 巢	—	—	—	0.02	<0.01	<0.01
	膵	0.08	<0.01	<0.01	0.10	<0.01	<0.01
	坐 骨 神 経	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	皮 膚	9.22	0.26	<0.01	7.02	0.48	<0.01
	脊 髓	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	脾 臓	0.10	<0.01	<0.01	0.11	<0.01	<0.01
	胃	0.66	<0.01	<0.01	0.67	0.01	<0.01
	精 巢	0.29	<0.01	<0.01	—	—	—
甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
子宮	—	—	—	0.05	<0.01	<0.01	
残 渣	NA	NA	0.30	NA	NA	0.25	

注) — : 該当せず、NA : 測定せず

表 4-3 Th-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量単回経口投与による組織中¹⁴C-濃度
[親化合物換算 (μg/g)]

投与量	組織	雄			雌		
		時 間			時 間		
		2 時間	1 日	7 日	2 時間	1 日	7 日
単回 投与 5mg/kg	副 腎	2.69	0.05	0.01	1.88	0.06	<0.01
	血 液	1.94	0.07	0.02	1.81	0.09	0.01
	脳	0.58	<0.01	<0.01	0.42	0.01	<0.01
	盲 腸	1.08	0.09	0.01	0.81	0.06	<0.01
	脂 肪	0.43	0.01	<0.01	0.10	<0.01	<0.01
	体 毛	0.04	0.04	0.08	0.04	0.06	0.03
	心 臓	2.13	0.04	<0.01	1.86	0.05	<0.01
	腸	1.37	0.03	<0.01	1.01	0.04	<0.01
	腎 臓	6.83	0.25	0.02	5.65	0.31	0.02
	肝 臓	3.76	0.18	0.02	3.21	0.17	0.01
	肺	2.10	0.04	<0.01	1.72	0.05	<0.01
	筋 肉	1.51	0.02	<0.01	2.33	0.03	<0.01
	卵 巢	—	—	—	1.12	0.03	<0.01
	脾	2.01	0.03	<0.01	1.21	0.03	<0.01
	坐 骨 神 経	0.45	<0.01	<0.01	0.35	0.01	<0.01
	皮 膚	1.21	0.05	0.01	1.12	0.04	<0.01
	脊 髄	0.58	<0.01	<0.01	0.31	0.01	<0.01
	脾 臓	1.92	0.04	<0.01	1.54	0.04	<0.01
	胃	9.98	0.08	<0.01	11.20	0.10	<0.01
	精 巢	1.36	0.03	<0.01	—	—	—
甲状腺	0.83	0.02	<0.01	0.44	0.02	0.02	
子宮	—	—	—	0.44	0.03	<0.01	

注) — : 該当せず

表 4-4 Th-¹⁴C-クロチアニジンの低薬量単回経口投与による組織中の¹⁴C-分布率
[対投与量 (%)]

投与量	組織	雄			雌		
		時 間			時 間		
		2 時間	1 日	7 日	2 時間	1 日	7 日
単回 投与 5mg/kg	副 腎	0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	血 液	2.63	0.10	0.03	2.48	0.12	0.02
	脳	0.08	<0.01	<0.01	0.07	<0.01	<0.01
	盲 腸	0.08	0.01	<0.01	0.07	<0.01	<0.01
	脂 肪	0.42	0.01	<0.01	0.10	<0.01	<0.01
	体 毛	0.02	0.02	0.04	0.02*	0.03	0.02
	心 臓	0.13	<0.01	<0.01	0.12	<0.01	<0.01
	腸	0.58	0.01	<0.01	0.40	0.02	<0.01
	腎 臓	1.11	0.04	<0.01	0.88	0.05	<0.01
	肝 臓	3.85	0.16	0.02	2.72	0.13	0.01
	肺	0.18	<0.01	<0.01	0.17	<0.01	<0.01
	筋 肉	11.75	0.16	0.02	18.11	0.20	0.03
	卵 巢	—	—	—	0.01	<0.01	<0.01
	脾	0.12	<0.01	<0.01	0.07	<0.01	<0.01
	坐 骨 神 経	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	皮 膚	5.18	0.21	0.07	4.81	0.17	0.02
	脊 髓	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	脾 臓	0.10	<0.01	<0.01	0.07	<0.01	<0.01
	胃	1.08	0.01	<0.01	1.27	0.01	<0.01
	精 巢	0.26	<0.01	<0.01	—	—	—
甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
子宮	—	—	—	0.02	<0.01	<0.01	
残 渣	NA	NA	0.70	NA	NA	0.15	

注) — : 該当せず、NA : 測定せず

表 5-1 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの高薬量単回経口投与による組織中¹⁴C濃度
[親化合物換算 (μg/g)]

投与量	組織	雄		雌
		時間		時間
		7 日	14 日	7 日
単回 投与 250 mg/kg	副 腎	0.23	0.20	0.41
	血 液	0.63	0.36	0.52
	脳	0.11	0.03	0.03
	盲 腸	0.16	0.10	0.10
	脂 肪	0.28	0.03	0.17
	体 毛	0.49	0.48	0.61
	心 臓	0.10	0.09	0.12
	腸	0.45	0.08	0.12
	腎 臓	0.33	0.17	0.35
	肝 臓	0.86	0.28	0.67
	肺	0.11	0.11	0.21
	筋 肉	0.15	0.11	0.17
	卵 巢	—	—	0.04
	膵	0.08	0.05	0.14
	坐 骨 神 経	0.55	0.11	0.62
	皮 膚	0.62	0.17	0.13
	脊 髓	0.10	0.03	0.02
	脾 臓	0.12	0.11	0.14
	胃	0.11	0.05	0.09
	精 巢	0.13	0.10	—
甲状腺	0.33	0.21	0.10	
子宮	—	—	0.07	

注) — : 該当せず

表 5-2 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの高薬量単回経口投与による組織中の¹⁴C-分布率
[対投与量 (%)]

投与量	組織	雄		雌
		時間		時間
		7 日	14 日	7 日
単回 投与 250 mg/kg	副 腎	<0.01	<0.01	<0.01
	血 液	0.02	0.01	0.01
	脳	<0.01	<0.01	<0.01
	盲 腸	<0.01	<0.01	<0.01
	脂 肪	0.01	<0.01	<0.01
	体 毛	<0.01	<0.01	<0.01
	心 臓	<0.01	<0.01	<0.01
	腸	0.01	<0.01	<0.01
	腎 臓	<0.01	<0.01	<0.01
	肝 臓	0.02	<0.01	0.01
	肺	<0.01	<0.01	<0.01
	筋 肉	0.03	0.02	0.03
	卵 巢	—	—	<0.01
	脾	<0.01	<0.01	<0.01
	坐 骨 神 経	<0.01	<0.01	<0.01
	皮 膚	0.07	0.02	0.01
	脊 髓	NA	NA	NA
	脾 臓	<0.01	<0.01	<0.01
	胃	<0.01	<0.01	<0.01
	精 巢	<0.01	<0.01	—
甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	
子宮	—	—	<0.01	
残 渣	0.16	0.13	0.56	

注) — : 該当せず、NA : 測定せず

表 5-3 Th-¹⁴C-クロチアニジンの高薬量単回経口投与による組織中¹⁴C濃度
[親化合物換算 (μg/g)]

投与量	組織	雄		雌
		時間		時間
		7 日	14 日	7 日
単回 投与 250 mg/kg	副 腎	0.13	0.25	0.59
	血 液	0.95	0.53	0.79
	脳	0.06	0.07	0.08
	盲 腸	0.15	0.23	0.06
	脂 肪	0.07	0.02	0.06
	体 毛	0.61	0.58	0.63
	心 臓	0.13	0.13	0.40
	腸	0.16	0.08	0.17
	腎 臓	0.57	0.23	0.57
	肝 臓	1.34	0.38	0.59
	肺	0.18	0.14	0.42
	筋 肉	0.08	0.08	0.08
	卵 巢	—	—	0.05
	膵	0.11	0.08	0.21
	坐 骨 神 経	0.53	0.33	0.22
	皮 膚	0.64	0.24	0.40
	脊 髓	0.08	0.20	0.05
	脾 臓	0.16	0.13	0.21
	胃	0.48	0.23	0.70
	精 巢	0.19	0.12	—
甲状腺	0.64	0.25	0.11	
子宮	—	—	0.13	

注) — : 該当せず

表 5-4 Th-¹⁴C-クロチアニジンの高薬量単回経口投与による組織中の¹⁴C-分布率
[対投与量 (%)]

投与量	組織	雄		雌
		時間		時間
		7 日	14 日	7 日
単回 投与 250 mg/kg	副 腎	<0.01	<0.01	<0.01
	血 液	0.03	0.02	0.02
	脳	<0.01	<0.01	<0.01
	盲 腸	<0.01	<0.01	<0.01
	脂 肪	<0.01	<0.01	<0.01
	体 毛	<0.01	<0.01	<0.01
	心 臓	<0.01	<0.01	<0.01
	腸	<0.01	<0.01	<0.01
	腎 臓	<0.01	<0.01	<0.01
	肝 臓	0.02	0.01	0.01
	肺	<0.01	<0.01	<0.01
	筋 肉	0.01	0.01	0.01
	卵 巢	—	—	<0.01
	膵	<0.01	<0.01	<0.01
	坐 骨 神 経	<0.01	<0.01	<0.01
	皮 膚	0.06	0.03	0.03
	脊 髓	NA	NA	NA
	脾 臓	<0.01	<0.01	<0.01
	胃	<0.01	<0.01	<0.01
	精 巢	<0.01	<0.01	—
甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	
子宮	—	—	<0.01	
残 渣	0.60	0.32	0.62	

注) — : 該当せず、NA : 測定せず

1-2. クロチアニジンのラットにおける代謝試験

(資料1-2)

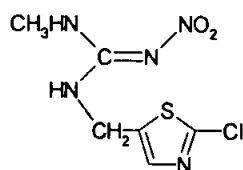
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



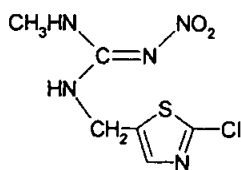
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

なお、両標識化合物とも非標識クロチアニジン (Lot 純度) により適度に希釈して用いた。

標識位置設定根拠：

供試動物：Wistar系ラット (体重；雄 209.01~266.84 g、雌 162.30~194.80 g、8週齢)

試験方法：吸収排泄性試験で用いた2種の標識化合物を、5 mg/kg (低薬量) 及び 250 mg/kg (高薬量) の割合でラットに単回経口投与し、投与後7日間 に得られた尿及び糞を分析した。また、非標識TI-435を5 mg/kg/dayの

割合でラットに 14 日間連続投与し、15 日目に 2 種の標識化合物を 5 mg/kg の割合で単回経口投与し、投与後 14 日間に得られた尿及び糞を分析した。尿は減圧濃縮後、メタノール及びエタノールを加えて不溶物を除き、糞は含水メタノール及びエタノールで抽出し、各可溶性画分を標品とともに二次元TLC・オートラジオグラフィー及び HPLC に供し放射線代謝物を同定した。

投与量設定根拠：

試験結果：Ni- または Th-¹⁴C-クロチアニジン を 5 mg/kg で雌雄ラットに経口投与すると、尿中に排泄された¹⁴C(対投与量：92.0~95.8%)の大部分は未代謝のクロチアニジン(同：68.4~77.4%)であり、主要代謝物として、II:TZNG(同：4.9~8.2%)、IV:MNG(同：7.5~7.8%)及びV:MTCA(同：5.3~5.4%)が、その他の代謝物としてIII:TZMU(同：0.8~1.0%)、VI:TMG(同：0.3~1.6%)、IX:TZU(同：1.5~2.3%)及びXI:NTG(同：0.8~1.5%)が認められた。その他の未知代謝物 RM-Ni-1、-2、-3、RM-Th-2、-3、-4、-6 はいずれも僅かであった(同：0.2~2.3%)。また、糞中に排泄された¹⁴C(同：4.4~6.0%)中に、クロチアニジン(同：1.2~2.8%)、主要代謝物としてVI(同：1.7~2.5%)が、その他にII(同：<0.1~0.2%)、IV(同：0.1%)、V(同：0.1~0.3%)及びVII(同：0.2~0.3%)が認められた。また、その他の未知代謝物 RM-Th-3、-4、-5 はいずれも僅かであった(同：0.1~0.2%)。

両標識化合物を 250 mg/kg の割合で雌雄ラットに経口投与すると、低薬量投与時と同様に尿中に排泄された¹⁴C(投与量の 90.6~93.4%)の大部分は未代謝のクロチアニジン(同：61.4~69.9%)であり、主要代謝物として、II(同：13.0~17.5%)、IV(同：8.4~9.6%)及びV(同：7.7~9.8%)が、その他の代謝物としてIII(同：0.4~0.9%)、VI(同：0.5~2.1%)、IX(同：0.3~1.2%)及びXI(同：1.7~2.3%)が認められた。その他の未知代謝物 RM-Th-1、-3、-4 はいずれも僅かであった(同：0.2~1.8%)。また、糞中に排泄された¹⁴C(同：4.6~8.2%)中にはクロチアニジン(同：1.2~2.5%)、主要代謝物としてVI(同：1.5~2.9%)が、その他にII(同：0.2~0.5%)、III(同：<0.1~0.1%)、IV(同：0.1%)、V(同：0.1~0.2%)、VII(同：0.1~0.2%)及びIX(同：0.1~0.2%)が認められた。また、その他の未知代謝物 RM-Th-1、-4 はいずれも僅かであった(同：0.1~0.7%)。

クロチアニジンを低薬量で 15 日間連続経口投与(14 日間非標識化合物を連続投与し、15 日目に両標識化合物を投与)した場合も、単回経口投与の場合と同様に、尿に排泄された¹⁴C(投与量の 92.3~95.5%)の大部分は未代謝のクロチアニジン(同：76.5~79.6%)であり、主要代謝物として、II(同：5.6~8.3%)、IV(同：5.3~6.9%)及びV(同：4.9~6.0%)が、その他の代謝物としてIII(同：<0.1~0.7%)、VI(同：0.4~2.9%)、IX

(同：0.2～0.6%) 及びX I (同：0.3～0.6%) が認められた。その他の未知代謝物 RM-Th-3、-4、-5 はいずれも僅かであった(同：0.4～0.6%)。また、糞中に排泄された¹⁴C (同：5.5～10.0%) 中に、クロチアニジン (同：2.2～5.7%)、主要代謝物としてVI(同：1.9～3.6%) が、その他にII (同：<0.1～0.3%)、III(同：ND～0.1%)、IV(同：<0.1～0.2%) 及び VII(同：<0.1～0.1%) が認められた。また、その他の未知代謝物 RM-Th-5は僅かであった (同：0.3%)。

以上のように、投与されたクロチアニジンは、低薬量、高薬量及び連続投与のいずれにおいても、その大部分が代謝を受けることなく未変化体として尿中に排泄された。また代謝物の種類は雌雄ラットでほぼ共通であり代謝分解性に性差は認められず、単回投与及び連続投与による代謝分解性にも差は認められなかった。

表1 Ni-¹⁴C-クロチアニジンの単回及び連続経口投与における尿及び糞中の代謝物

投与量	性別	試料	クロチアニジン	代謝物											合計
				II	III	IV	VI	VII	IX	XI	未同定 (RM-Ni-)			非抽出	
											1	2	3		
5 mg/kg × 1	雄	尿	72.2	7.1	1.0	7.5	0.3	ND	1.5	1.5	0.5	0.5	0.2	ND	92.3
		糞	1.8	0.1	ND	0.1	2.5	0.3	ND	ND	ND	ND	ND	0.9	5.7
	雌	尿	77.4	4.9	0.8	7.8	0.4	ND	1.6	0.8	0.4	0.6	0.3	ND	95.0
		糞	1.8	<0.1	ND	0.1	1.8	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	0.5	4.4
250 mg/kg × 1	雄	尿	61.4	13.5	0.5	9.6	2.1	ND	1.2	2.3	ND	ND	ND	ND	90.6
		糞	2.5	0.5	0.1	0.1	2.6	0.2	0.1	ND	ND	ND	ND	0.8	6.9
	雌	尿	65.5	14.4	0.4	8.4	1.0	ND	1.1	1.7	ND	ND	ND	ND	92.5
		糞	1.6	0.2	0.1	0.1	1.5	0.1	0.1	ND	ND	ND	ND	0.9	4.6
5 mg/kg × 15	雄	尿	78.7	7.1	0.2	5.3	2.2	ND	0.6	0.6	ND	ND	ND	ND	94.7
		糞	3.5	0.2	ND	0.2	1.9	0.1	ND	ND	ND	ND	ND	1.4	7.3
	雌	尿	79.6	5.6	<0.1	6.9	2.9	ND	0.2	0.3	ND	ND	ND	ND	95.5
		糞	2.6	<0.1	ND	<0.1	2.3	<0.1	ND	ND	ND	ND	ND	0.5	5.5

表2 Th-¹⁴C-クロチアニジンの単回及び連続経口投与における尿及び糞中の代謝物

投与量	性別	試料	クロチアニジン	代謝物											合計	
				II	III	V	VI	IX	未同定 (RM-Th-)							非抽出
									1	2	3	4	5	6		
5 mg/kg × 1	雄	尿	68.4	8.2	0.9	5.3	1.2	2.1	ND	2.3	1.2	1.2	ND	1.2	ND	92.0
		糞	2.8	0.2	ND	0.3	1.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.0	6.0
	雌	尿	75.7	6.0	0.8	5.4	1.6	2.3	ND	ND	1.1	1.1	ND	1.8	ND	95.8
		糞	1.2	0.1	ND	0.1	2.0	ND	ND	ND	0.1	0.2	0.1	ND	0.9	4.7
250 mg/kg × 1	雄	尿	61.7	17.5	0.9	9.8	0.5	0.3	1.8	ND	0.6	0.3	ND	ND	ND	93.4
		糞	1.2	0.2	<0.1	0.2	2.9	0.2	0.3	ND	ND	0.7	ND	ND	2.5	8.2
	雌	尿	69.9	13.0	0.5	7.7	0.5	0.3	0.4	ND	0.2	0.2	ND	ND	ND	92.7
		糞	1.4	0.2	0.1	0.1	2.0	0.1	0.1	ND	ND	0.1	ND	ND	1.6	5.7
5 mg/kg × 15	雄	尿	77.4	8.3	0.7	4.9	0.4	0.3	ND	ND	0.4	0.4	0.4	ND	ND	93.2
		糞	5.7	0.3	0.1	ND	3.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.4	10.0
	雌	尿	76.5	7.1	0.3	6.0	1.4	0.4	ND	ND	0.6	ND	ND	ND	ND	92.3
		糞	2.2	0.1	<0.1	ND	3.6	ND	ND	ND	ND	ND	0.3	ND	0.6	6.9

注) ND: 検出されず。

以下の代謝物は、分析用標準品とのTLC及びHPLCクロマトグラフィーにより同定した。

代謝物II :

代謝物III :

代謝物IV :

代謝物V :

代謝物VI :

代謝物VII :

また、以下の代謝物については、分析用標準品とのTLCクロマトグラフィーにより仮同定した。

代謝物IX :

代謝物XI :

本試験において認められた代謝物を基に、推定されるラットにおける代謝経路を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

クロチアニジンのラットにおける推定代謝経路

I-3. クロチアニジンのラットにおける代謝試験

(資料 I-3)

試験機関: Bayer AG

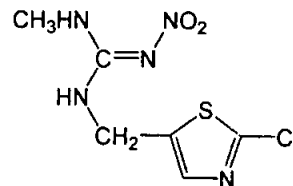
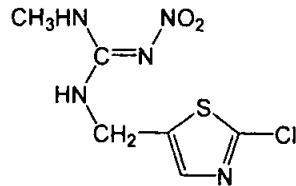
[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物: [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン

[チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジン

構造式:



[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン [チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジン

化学名:

	[ニトロイミノ- ¹⁴ C] クロチアニジン	[チアゾリル-2- ¹⁴ C] クロチアニジン
標識位置		
比放射能		
放射化学的純度		

供試動物: SD系 Cr1:CD BR ラット 8~9 週齢

体重: 雄; 196~228 g、雌; 207~213 g

方法:

投与方法: [ニトロイミノ-¹⁴C]または[チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジンのアセトニトリル溶液を非標識クロチアニジン(純度:)と混合して同位体希釈を行い、溶媒を留去させた後、0.5%トラガカント水溶液を加え、約70℃の水浴中で約20分間超音波処理を行って、0.5、5および50 mg/2 mLの投与懸濁液を調製し、投与液量は2 mL/ラットとした。各試験群に投与した標識体、投与量および投与回数、動物数および性別、試験期間、および検出項目を表1に示す。

表 1 各試験群の検討項目

試験群	標識体	投与量および 投与回数	動物数お よび性別	期間	検討項目
1 予備試験群	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]	2.5 mg/kg 単回経口投与	雄 4 匹	72 時間	尿、糞および呼気中排泄 残屍体中残留量
2 低用量群	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]	2.5 mg/kg 単回経口投与	雄 4 匹	72 時間	尿および糞中排泄 組織中残留量 血漿中 ¹⁴ C 濃度 尿および糞中代謝物
3 低用量群	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]	2.5 mg/kg 単回経口投与	雌 4 匹	72 時間	尿および糞中排泄 組織中残留量 血漿中 ¹⁴ C 濃度 尿および糞中代謝物
4 高用量群	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]	250 mg/kg 単回経口投与	雄 4 匹	72 時間	尿および糞中排泄 組織中残留量 血漿中 ¹⁴ C 濃度 尿中代謝物
5 反復投与群 ^a	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]	非標識体 14 日 間経口投与後 25 mg/kg 単回経口投与	雄 4 匹	72 時間	尿および糞中排泄 組織中残留量 血漿中 ¹⁴ C 濃度 尿中代謝物
6 全身分布群	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]	5.0 mg/kg 単回経口投与	雄 6 匹	1~72 時間	全身オートラジオグラ フィー (ラジオルミノグラフ フィー)
7 低用量群	[チアゾリル-2- ¹⁴ C]	2.5 mg/kg 単回経口投与	雄 4 匹	72 時間	尿および糞中排泄 組織中残留量 血漿中 ¹⁴ C 濃度 尿および糞中代謝物
8 代謝物分析	[チアゾリル-2- ¹⁴ C]	25 mg/kg 単回経口投与	雄 1 匹		尿および糞中代謝物

a : 非標識クロチアニジン 25 mg/kg/日を 14 日間経口投与後、[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン 25 mg/kg を単回経口投与した。

試料の採取 :

糞・尿・呼気の捕集 ; [ニトロイミノ-¹⁴C]または[チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジンを投与後、ラットを代謝ケージに収容し、投与 4、8、24、48 および 72 時間後に尿を採取した。各採取終了時に、尿採取用の漏斗を脱塩水で洗浄し、洗浄液は尿と合わせた。糞は、投与後 0~24、24~48 および

48～72 時間の間隔で採取した。また、予備試験群では、投与後 0～4、4～8、8～24、24～48 および 48～72 時間の間隔で、呼気中 ^{14}C をエタノールアミン/エタノール (1:1) 溶液に捕集した。

血漿の捕集；血漿中 ^{14}C 濃度を測定するため、投与 0.08～72 時間後に経時的に血液を採取し、採取した血液は遠心法により血漿と血球に分離した。

組織の採取；ラットは投与 72 時間後に頸部血管切断により放血致死させ、組織を摘出した。

全身オートラジオグラム；全オートラジオグラムは、投与 1、4、8、24、48 および 72 時間後にラットを屠殺し、定量的全身オートラジオグラフィに供した。

分析方法：

^{14}C 量の定量；

尿、血漿、および ^{14}C 捕集液中の ^{14}C 量は、液体シンチレーションカウンタ (LSC) により測定した。糞は、凍結乾燥させてホモジナイズし、燃焼分析および LSC に供し ^{14}C 量を定量した。副腎、甲状腺、卵巣、腎脂肪および子宮は組織可溶化剤を加えて可溶化させ、LSC により ^{14}C 量を測定した。皮膚、消化管、残屍体、およびその他の組織は凍結乾燥させてホモジナイズし、燃焼分析および LSC に供し ^{14}C 量を定量した。

代謝物の同定・定量；

尿中代謝物の同定・定量は、HPLC および TLC を用いた標品とのクロマトグラフィにより行った。

低用量単回経口投与群から得られた糞は、含水有機溶媒を用いた溶媒抽出後 n-ヘキサンとの分配操作に供し、調製した画分を HPLC による標品とのクロマトグラフィに供し、代謝物を同定・定量した。

さらに、主要代謝物は、HPLC により分離した後、質量分析により同定した。

結果：

吸収： [ニトロイミノ- ^{14}C]または[チアゾリル-2- ^{14}C]クロチアニジンを経口投与した場合の血漿中 ^{14}C 濃度推移を表 2 に、血漿中 ^{14}C 濃度から求めた薬物動態パラメーターを表 3 に示す。

投与後、血漿中 ^{14}C 濃度は速やかに上昇し、低用量投与群では投与 1.5 時間後、反復投与群では 4 時間後に最高濃度に達した。低用量投与群および反復投与群の血漿中放射能濃度から求めた薬物動態パラメーターにおいて、吸収遅延時間 ($t_{1/2a}$) は 0.0451～0.0775 時間、吸収相の半減期 ($t_{1/2\beta}$) は 0.00364～0.513 時間であり、経口投与後 ^{14}C は速やかに吸収されることが示された。最高血漿中濃度 (C_{max}) は、低用量群で 1.27～1.82 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったのに対し、

反復投与群では 15.0 µg/mL と低用量群の約 10 倍となり、投与量とほぼ比例した値であった。血漿からのクリアランス値 (CL) は低用量群および反復投与群ともに非常に高く、平均滞留時間 (MRT) は短かったことから、¹⁴C の速やかな消失が示された。分布相における平均滞留時間 (MRT_{dis}) については、[チアゾリル-2-¹⁴C]標識体 (9.18 時間) では、[ニトロイミノ-¹⁴C]標識体 (4.32 ~ 5.89 時間) の約 2 倍であり、それぞれの標識部位固有の代謝物の排泄挙動が異なるためと考えられた。

高用量群における血漿中 ¹⁴C 濃度は、低用量投与群および反復投与群と大きく異なり、投与 1 時間後から 32 時間後まで 45.58~79.49 µg/mL の高濃度で推移したが (吸収が飽和しているため、極大値は投与 6 時間目および 32 時間後に確認)、48 時間後には 1.483 µg/mL、72 時間後には 0.360 µg/mL まで減少した。

表 2 [¹⁴C] クロチアニジンをラットに経口投与後の血漿中 ¹⁴C 濃度

投与後時間	血漿中放射能濃度 (µg クロチアニジン換算/g 血漿)				
	[ニトロイミノ- ¹⁴ C]標識体			[チアゾリル-2- ¹⁴ C]標識体	
	低用量群		高用量群	反復投与群	低用量群
	雄	雌	雄	雄	雄
0.08	0.129	0.101	3.105	1.031	0.099
0.16	0.363	0.356	9.082	2.921	0.370
0.33	0.870	0.679	18.020	5.088	0.536
0.66	1.470	1.100	33.340	8.137	0.860
1	1.742	1.225	45.580	10.710	1.133
1.5	1.829	1.311	57.510	12.372	1.262
2	1.716	1.283	63.820	12.555	1.255
3	1.411	1.022	71.340	14.350	1.133
4	1.143	0.728	74.340	15.115	1.024
6	0.628	0.431	79.490	10.995	0.707
8	0.358	0.247	78.470	7.325	0.446
24	0.014	0.012	23.870	0.122	0.028
32	0.006	0.012	47.810	0.065	0.019
48	0.005	0.007	1.483	0.042	0.013
56	0.006	0.006	0.623	0.039	0.014
72	0.007	0.005	0.360	0.029	0.010

数値は 4 匹のラットの平均値を示す。

表3 ^{14}C クロチアニジン投与における薬物動態パラメーター

パラメーター	[ニトロイミノ- ^{14}C]標識体			[チアゾリル-2- ^{14}C]標識体
	低用量群		反復投与群	低用量群
	雄	雌	雄	雄
AUC ($\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$)	10.3	7.28	116	10.2
$t_{1/2 a}$ (時間)	0.513	0.270	0.0220	0.00364
$t_{1/2 e(1)}$ (時間)	1.20	1.49	1.89	0.882
$t_{1/2 e(2)}$ (時間)	54.1	22.6	28.3	37.0
$t_{1/2 a}$ (時間)	0.0451	0.050	0.0604	0.0775
CL (mL/分)	4.05	5.73	3.59	4.08
t_{max} (時間)	1.50	1.35	2.70	2.08
C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1.82	1.29	15.0	1.27
MRT (時間)	9.41	7.71	7.14	13.3
MRT _{obs} (時間)	3.52	2.19	2.82	4.12
MRT _{disp} (時間)	5.89	5.52	4.32	9.18
V_{ss} (L)	1.42	1.90	0.929	2.25
腎排泄 (投与量に対する%)	89.10	94.56	92.99	89.25

各パラメーターの値は、4匹のラットの血漿中放射能濃度の平均値 (0~48時間) から求めた。

組織分布：[ニトロイミノ- ^{14}C]クロチアニジンを 5 mg/kg の用量で経口投与した場合のラットにおける全身オートラジオグラフィにより求めた組織中総 ^{14}C 残留量 (TRR) の経時変化を表 4 に、 ^{14}C クロチアニジンを経口投与 72 時間後の各組織における組織中 ^{14}C 濃度を表 5 に示す。

全身オートラジオグラフィから求めた組織中総 ^{14}C 残留量 (TRR) の経時変化；

投与 1 時間後において、 ^{14}C は全ての組織に分布し、その ^{14}C 濃度は排泄器官である、腎臓 (2.892~4.075 $\mu\text{g}/\text{g}$)、肝臓 (3.434 $\mu\text{g}/\text{g}$)、鼻腔粘膜 (5.641 $\mu\text{g}/\text{g}$) および膀胱 (5.998 $\mu\text{g}/\text{g}$) を除いて血液中 ^{14}C 濃度 (3 $\mu\text{g}/\text{g}$) 以下であった。

投与 4 および 8 時間後には、投与 1 時間後と類似の分布パターンを示したが、ほとんどの組織で ^{14}C は減少し、投与 24 時間後には ^{14}C 濃度は著しく低下しており、体内に吸収された ^{14}C は速やかに体外に排泄されることが示された。投与 48 および 72 時間後にはさらに ^{14}C 濃度は低下し、腎臓、肝臓、副腎、鼻腔粘膜および眼でわずかに検出されたのみであった。いずれの組織にも ^{14}C が蓄積する傾向は認められなかった。

表4 [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを経口投与後のラットにおける定量的全身オートラジオグラフィによる組織中総放射能残留量 (TRR) の経時変化

組織	組織中 TRR (μg/g)					
	屠殺時期 (投与後時間)					
	1 時間	4 時間	8 時間	24 時間	48 時間	72 時間
副腎	2.943	1.925	0.641	0.025	0.010	0.010
血液	3.000	1.140	0.376	0.010	0.004 <LOQ	0.005 <LOQ
骨髄	0.908	0.687	0.240	0.004 <LOQ	0.001 <LOD	0.001 <LOD
脳	0.338	0.250	0.116	0.002 <LOD	0.000 <LOD	0.000 <LOD
褐色脂肪	1.854	1.330	0.331	0.018 <LOQ	0.004 <LOD	0.004 <LOD
眼 (硝子体)	0.009	0.550	0.324	0.112	0.048	0.020
心臓	1.993	1.174	0.428	0.007	0.002 <LOQ	0.001 <LOD
腎臓 (皮質)	4.075	2.472	0.778	0.020	0.009	0.008
腎臓 (髄質)	2.892	4.389	0.870	0.019	0.004	0.002 <LOQ
腎臓 (全体)	3.721	3.587	0.864	0.023	0.008	0.006
肝臓	3.424	2.229	0.821	0.065	0.026	0.021
肺	0.492	0.148	0.215	0.006	0.001 <LOD	0.001 <LOD
筋肉	1.877	1.132	0.392	0.006 <LOQ	0.001 <LOD	0.001 <LOD
鼻腔粘膜	5.641	3.816	4.306	0.072	0.040	0.022
下垂体	1.878	1.082	0.354	0.006	---	---
松果体	1.348	0.878	0.318	0.007	---	---
唾液腺	2.215	1.497	0.544	0.008	0.002 <LOD	0.002 <LOD
皮膚	2.239	1.337	0.556	0.013	0.004 <LOQ	0.003 <LOQ
脊髄	0.276	0.205	0.105	0.002 <LOD	0.000 <LOD	0.000 <LOD
脾臓	1.532	0.959	0.316	0.006	0.002 <LOD	0.001 <LOD
精巣	0.656	0.533	0.211	0.004	0.001 <LOD	0.000 <LOD
胸腺	1.370	0.861	0.282	0.004 <LOQ	0.001 <LOD	0.001 <LOD
甲状腺	2.340	1.531	0.472	0.006	0.003 <LOQ	0.001 <LOD
舌	2.231	1.333	0.398	0.007	0.002 <LOD	0.001 <LOD
膀胱	5.998	6.169	5.987	---	0.018	0.002 <LOQ

<LOQ = 定量限界以下

<LOD = 検出限界以下

--- : 測定値なし

[¹⁴C]クロチアニジンを経口投与 72 時間後の各組織における組織中 ¹⁴C 濃度 ; 組織中 ¹⁴C 濃度は、投与量、投与方法および標識位置にかかわらず肝臓および腎臓で血漿と比較してやや高く、さらに[チアゾリル-2-¹⁴C]標識体投与群では、消化管でもやや高かった。一方、他の組織では、¹⁴C 濃度は血漿中 ¹⁴C 濃度とほぼ同等かそれよりも低い濃度であった。

表5 ^{14}C クロチアニジンを経口投与72時間後のラットにおける組織中放射能濃度

組織	組織中放射能濃度 (μg クロチアニジン換算/g 組織)				
	[ニトロイミノ- ^{14}C]標識体				[チアゾリル-2- ^{14}C]標識体
	低用量群 (雄)	低用量群 (雌)	高用量群 (雄)	反復投与群 (雄)	低用量群 (雄)
赤血球	0.0056	0.0044	0.789	0.0537	0.0119
血漿	0.0033	0.0027	0.361	0.0257	0.0079
脾臓	0.0020	<LOQ ^a	0.263	<LOQ	0.0047
消化管	0.0021	0.0031	0.245	<LOQ	0.0234
肝臓	0.0313	0.0167	2.880	0.2077	0.0329
腎臓	0.0093	0.0070	0.864	0.0693	0.0380
精巣	0.0011	---	0.167	0.0124	0.0031
骨格筋	<LOQ	<LOQ	0.235	<LOQ	0.0028
骨(大腿骨)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.0041
心臓	0.0022	0.0022	0.318	0.0219	0.0046
肺	0.0042	0.0037	0.560	0.0400	0.0084
脳	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.0018
皮膚	0.0035	0.0034	0.317	<LOQ	0.0104
残屍体	0.0020	0.0021	0.254	0.0267	0.0037

数値は4匹の平均値を示す。

a: <LOQ = 定量限界以下

副腎、副腎脂肪および甲状腺、および、雌の卵巣および子宮は、定量限界以下であった。

排泄: [ニトロイミノ- ^{14}C]クロチアニジンを2.5 mg/kg または 250 mg/kg で単回経口投与(予備試験群、低用量群、高用量群)した場合、非標識体を14日間投与後に[ニトロイミノ- ^{14}C]クロチアニジンを25 mg/kg で1回経口投与(反復投与群)した場合、または[チアゾリル-2- ^{14}C]クロチアニジンを2.5 mg/kg で単回経口投与(低用量群)した場合のラットにおける ^{14}C の累積排泄量を表6および7に、[ニトロイミノ- ^{14}C]または[チアゾリル-2- ^{14}C]クロチアニジンを経口投与72時間後のラットの排泄物中および体内残留 ^{14}C 量を表8に示す。

投与した ^{14}C は速やかに体外へと排泄され、低用量群および反復投与群では投与24時間以内に、高用量群では48時間以内に投与した ^{14}C の大部分が排泄された。投与72時間後までに排泄された ^{14}C の割合は、95.37~99.58%であった。主要排泄経路は尿であり、投与した ^{14}C の89.10~94.56%が尿中に排泄された。従って、2.5~250 mg/kgの用量で経口投与したクロチアニジンの約90%以上が吸収されたことが示された。なお、糞中および呼気中(予備試験)に排泄された ^{14}C 量はそれぞれ3.291~8.577および0.017%であった。投与72時間後の屠殺時における体内残留放射能は、投与した ^{14}C の0.093~

0.327%であった。尿中に排泄された ^{14}C 量には、標識位置および投与方法による差は認められなかったが、雌の方が雄より若干尿中排泄率が高い傾向が認められた。

表6 [ニトロイミノ- ^{14}C]クロチアニジンを単回経口投与したラット(予備試験群、低用量群)における ^{14}C の累積排泄量

投与後 時間	累積排泄量 (投与量に対する%)						
	[ニトロイミノ- ^{14}C]標識体						
	予備試験群 (雄)			低用量群 (雄)		低用量群 (雌)	
	尿	糞	呼気	尿	糞	尿	糞
4	27.12	-	0.005	34.90	-	43.09	-
8	53.97	-	0.005	71.62	-	78.20	-
24	90.60	6.56	0.013	88.21	5.99	93.32	2.90
48	91.24	6.80	0.015	88.80	6.18	94.21	3.20
72	91.48	6.89	0.017	89.10	6.27	94.56	3.29
総計 (72時間)	98.39			95.37		97.85	

表7 [^{14}C]クロチアニジンを経口投与したラットにおける ^{14}C の累積排泄量

投与後 時間	累積排泄量 (投与量に対する%)					
	[ニトロイミノ- ^{14}C]標識体				[チアノリル-2- ^{14}C]標識体	
	高用量群 (雄)		反復投与群 (雄)		低用量群 (雄)	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞
4	3.01	-	16.32	-	32.65	-
8	21.31	-	56.62	-	66.47	-
24	57.17	3.49	91.33	6.18	87.85	7.02
48	88.86	7.82	92.57	6.35	88.88	7.34
72	90.47	8.58	92.99	6.60	89.25	7.79
総計 (72時間)	99.05		99.58		97.04	

表8 [^{14}C]クロチアニジンをラットに経口投与72時間後の排泄物中および体内残留 ^{14}C 量

	投与量に対する放射能の割合 (%)					
	[ニトロイミノ- ^{14}C]標識体					[チアノリル-2- ^{14}C]標識体
	予備試験群 (雄)	低用量群 (雄)	低用量群 (雌)	高用量群 (雄)	反復投与群 (雄)	低用量群 (雄)
呼気	0.017	-	-	-	-	-
尿	91.48	89.10	94.56	90.47	92.99	89.25
糞	6.887	6.273	3.291	8.577	6.598	7.791
体内残留量	0.154	0.116	0.093	0.172	0.096	0.327
総計	98.54	95.49	97.95	99.22	99.68	97.37

代謝： [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを 2.5 mg/kg (低用量群) または 250 mg/kg (高用量群) で単回経口投与した場合、および非標識体を 14 日間投与後に [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを 25 mg/kg で 1 回経口投与 (反復投与群) した場合の尿および糞中代謝物の割合を表 9 に、[チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジンを 2.5 mg/kg で単回経口投与 (低用量群) した場合の尿および糞中代謝物の割合を表 10 に示す。

[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン投与群は、いずれも同様の代謝物プロファイルを示し、排泄物中の主要成分は未変化の親化合物 (55.6~74.0%、対投与 ¹⁴C%) であった。クロチアニジンの代謝に伴い生成した尿中主要代謝物は、TZNG (7.0~11.3%)、MNG (7.8~13.2%) および MTCA (8.5%) であり、糞中の主要代謝物は TMG (0.6~2.2%) であった。他に少量代謝物として、TZG、TZU、THMU、Urea、MG、ACT および CTCA が認められたが、それぞれ投与量の 2%未満であり、合計しても 8%未満であった。

表 9 [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを経口投与したラットの尿および糞中代謝物の割合

代謝物	代謝物の割合 (投与量に対する%)							
	低用量群 (雄)			低用量群 (雌)			高用量群 (雄)	反復投与群 (雄)
	尿 0~24h	糞 0~24h	合計	尿 0~24h	糞 0~48h	合計	尿 0~48h	尿 0~24h
クロチアニジン	54.65	0.90	55.55	73.49	0.53	74.02	59.98	66.53
TZG	ND	0.36	0.36	ND	0.19	0.19	ND	ND
TMG	0.11	1.44	1.55	0.13	0.60	0.73	0.19	0.16
TZU	0.52	0.12	0.63	0.49	0.07	0.56	0.64	0.67
THMN	0.11	ND	0.11	0.12	ND	0.12	0.09	0.17
TZMU	0.16	0.10	0.26	0.10	0.03	0.13	0.29	0.06
TZNG	11.25	0.14	11.39	7.01	0.06	7.07	12.48	10.18
Urea	0.25	ND	0.25	0.13	ND	0.13	0.06	0.09
NTG	3.92	ND	3.92	1.42	ND	1.42	3.49	1.92
MNG	13.21	ND	13.21	7.75	ND	7.75	9.46	8.78
MG	0.45	ND	0.45	0.30	ND	0.30	0.30	0.24
HPLC 極性面分 (MG、NTG、MNG)	ND	0.60	0.60	ND	0.34	0.34	ND	ND
未同定代謝物	3.58	0.29	3.87	2.38	0.24	2.62	1.86	2.48
合計 ^a	88.20	3.95	92.16	93.32	2.06	95.38	88.85	91.30

a : 分析した試料中の放射能の合計を示す。

ND: 未検出

表 10 [チアゾリル-2-¹⁴C]クロチアニジンを経口投与した
ラットの尿および糞中代謝物の割合

代謝物	代謝物の割合 (投与量に対する%)		
	低用量群 (雄)		
	尿 (0~24h)	糞 (0~72h)	合計
クロチアニジン	59.83	1.51	61.33
TZG	ND	0.54	0.54
TMG	0.20	2.17	2.37
TZU	0.21	0.20	0.42
TZMU	0.19	ND	0.19
TZNG	10.44	0.18	10.62
ACT	1.02	0.28	1.31
CTCA	0.89	0.06	0.94
MTCA	8.52	0.02	8.54
未同定代謝物	6.55	0.41	6.96
合計 ^a	87.85	5.37	93.22

a : 分析した試料中の放射能の合計を示す。

ND: 未検出

推定代謝経路：クロチアニジンのラットにおける主要代謝経路は、酸化的脱メチル化による TZNG の生成、ならびにチアゾリルメチル基とニトロイミノ基の間の N-C 結合の開裂にともなう MNG (NTG) および CTCA の生成であり、この生成した CTCA はさらにグルタチオン結合を受け MTCA にまで代謝を受けた (図 1)。

その他に同定された代謝物からマイナーな経路として、分子内の開裂による ACT の生成、nitroimino 基の加水分解にともなう尿素化合物 TZMU および TZU の生成、脱ニトロ化をともなうグアニジン化合物 TMG および TZG の生成、およびアミノ基の酸化に伴う THMN の生成が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

図1 クロチアニジンのラットにおける推定代謝経路

I-4. クロチアニジンのマウスにおける代謝試験

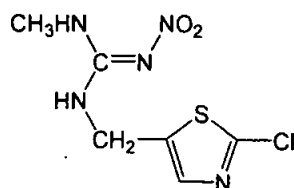
(資料 I-4)

試験機関：武田薬品工業(株)

報告書作成年：2000年

供試標識化合物：[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジン

構造式：



化学名：

標識位置：

放射化学的純度：

比放射能：

供試動物：ICR系マウス (Charles River Japan) 9週齢 (投与時)

平均体重：雄；34.4 g、雌；27.7 g (購入時)、1群雌雄各5匹 (但し、組織残留性は、雌雄各3匹で検討)

方法：

投与方法：[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンをジメチルホルムアミドに溶解後、コーンオイルに懸濁させて投与液を調製した。調製した投与液は各マウスに5 mg/kg¹⁾の用量で、胃ゾンデを用いて経口投与した。

試料の採取：[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを投与後、マウスを個別に代謝ケージに收容し、24時間ごとに尿および糞を分別採取した。投与7日後に、マウスを麻酔して放血させ、副腎、脳、盲腸、脂肪、体毛、心臓、腸、腎臓、肝臓、肺、筋肉、膵臓、坐骨神経、皮膚、脊髄、脾臓、胃、甲状腺、精巣、卵巣および子宮を摘出した。

¹⁾ 申請者注：

分析方法：

¹⁴C 定量；

- ・ 血液（全血）に水を加えて溶血後、水酸化ナトリウム水溶液、過酸化水素溶液、酢酸およびシンチレーターを加え、液体シンチレーションカウンター（LSC）により ¹⁴C 量を定量した。
- ・ 尿中の ¹⁴C 量は一部を採取し、シンチレーターを加えて LSC で定量した。
- ・ 3 倍量の蒸留水を加えホモジナイズした糞ホモジネートの一部を採取・風乾後、試料燃焼法および LSC で糞中の ¹⁴C 量を定量した。
- ・ 採取した組織の一部／全体を風乾後、試料燃焼法および LSC で組織中の ¹⁴C 量を定量した。

代謝物の同定・定量

- ・ 尿はメタノールおよびエタノールを用いて抽出したエタノール可溶性画分を、合成標準品との二次元展開 TLC コクロマトグラフィーに供して、尿中代謝物を同定・定量した。
- ・ 糞は 50%メタノールおよびメタノールを用いて抽出したメタノール可溶性画分を、合成標準品との二次元展開 TLC コクロマトグラフィーに供して、糞中代謝物を同定・定量した。一方、抽出残渣中の ¹⁴C は、試料燃焼法および LSC により定量した。

結果：

排泄： [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを 5 mg/kg の用量で単回経口投与したマウスにおける ¹⁴C の累積排泄量を表 1 に示す。

雌雄ラットに投与した ¹⁴C は速やかに体外に排泄され、投与 1 日以内に排泄された ¹⁴C 量は、投与 ¹⁴C 量の 94.5～95.3%であり、投与 7 日後までに排泄された ¹⁴C の割合は、98.7～99.2%であった。雌雄ともに、主要排泄経路は尿であり、投与 7 日後までに糞および尿中に排泄された ¹⁴C 量はそれぞれ 5.0～6.8%および 92.4～93.7%であった。

表1 [ニトロイミノ-¹⁴C]を5 mg/kgの用量でマウスに単回経口投与した場合の¹⁴Cの累積排泄量

投与後 経過日数	累積排泄量 (投与量に対する%)					
	雄			雌		
	尿	糞	合計	尿	糞	合計
1	88.3	6.2	94.5	90.5	4.8	95.3
2	90.6	6.6	97.2	91.9	5.0	96.9
3	91.5	6.7	98.2	92.3	5.0	97.3
4	91.9	6.7	98.6	92.7	5.0	97.7
5	92.2	6.7	98.9	93.0	5.0	98.0
6	92.3	6.8	99.1	93.3	5.0	98.3
7	92.4	6.8	99.2	93.7	5.0	98.7

組織分布：[ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを5 mg/kgの用量で単回経口投与し7日後の各組織中¹⁴C濃度を表2に示す。

雌雄の肝臓、雄の副腎および血液、並びに雌の体毛において¹⁴C濃度は0.02 μg/gであったが、他の組織では0.01 μg/g未満であった。各組織中¹⁴Cの投与量に対する割合は、< 0.01~0.02%であり、投与7日目の各組織に分布した¹⁴Cは極わずかであった。

表2 [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを5 mg/kgの用量でマウスに単回経口投与した場合の投与7日後における組織中¹⁴C濃度

組織	放射能濃度 (μg クロチアニジン換算/g 組織) [投与量に対する%]			
	雄		雌	
副腎	0.02*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
血液	0.02	[0.02]	<0.01*	[<0.01*]
脳	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
盲腸	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
脂肪	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
被毛	<0.01*	[<0.01*]	0.02*	[<0.01*]
心臓	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
腸	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
腎臓	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
肝臓	0.02	[0.02]	0.02	[0.01]
肺	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
筋肉	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[0.02*]
卵巣			<0.01*	[<0.01*]
膵臓	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
坐骨神経	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
皮膚	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
脊髄	<0.01*	[NA]	<0.01*	[NA]
脾臓	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
胃	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
精巣	<0.01*	[<0.01*]		
甲状腺	<0.01*	[<0.01*]	<0.01*	[<0.01*]
子宮			<0.01*	[<0.01*]

値は3匹のマウスの平均値を示す。

NA: 分析せず。

*: 測定値からバックグラウンド値を差し引いた値が50 dpm以下

代謝: [ニトロイミノ-¹⁴C]クロチアニジンを5 mg/kgの用量で単回経口投与したマウスの尿および糞中代謝物の割合を表3に示す。尿中の主要成分は未変化のクロチアニジンであり、投与量の36.8~38.3%であった。その他、尿中代謝物として、TZNG、MNGおよびNTGが認められ、それぞれ、29.2~30.2%、8.7~9.0%、および10.7~11.3%であった。糞中には未変化のクロチアニジン(1.5~1.4%)の他に、TZNG(0.9~1.3%)、TMG(0.8~1.0%)、MNG(0.2%)および

NTG (0.2~0.4%) が認められた。

表3 [ニトロイミノ-¹⁴C]を5 mg/kgの用量でマウスに単回経口投与した尿および糞中代謝物

代謝物	代謝物の割合 (投与量に対する%)			
	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
抽出液	92.4	5.8	93.7	4.2
クロチアニジン	36.8	1.5	38.3	1.4
TZNG	29.2	1.3	30.2	0.9
MNG	8.7	0.2	9.0	0.2
NTG	11.3	0.4	10.7	0.2
TMG	ND	1.0	ND	0.8
尿中極性代謝物	6.4		5.5	
糞中未同定代謝物 ^a		1.4		0.7
抽出残渣	ND	1.0	ND	0.8
合計	92.4	6.8	93.7	5.0

ND：検出せず。

a：3成分からなり、各成分の最大は雄0.7%、雌0.3%であった。

推定代謝経路：クロチアニジンのマウスにおける推定代謝経路は図1に示すように、脱メチル化、ニトログアニジン部分およびチアゾリルメチル基の間のN-C結合の開裂、および脱ニトロ化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

図1 クロチアニジンのマウスにおける推定代謝経路

II. 植物体内運命に関する試験

II-1. クロチアニジンのイネにおける代謝分解性試験

(資料II-1)

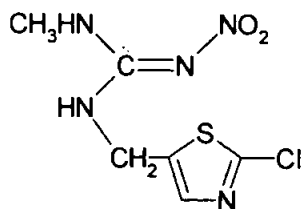
試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：2000年

供試標識化合物： 標識位置の異なる以下の2種類の化合物を用いた。

①Ni-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



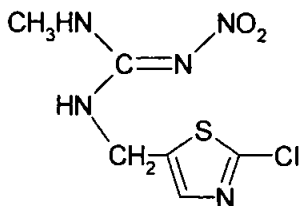
化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

②Th-¹⁴C-クロチアニジン

化学構造；



化学名；

比放射活性；

放射化学的純度；

標識位置設定根拠；

供試植物：イネ (品種：旭4号)

試料調製：葉身部塗布処理によるクロチアニジンの吸収移行性及び半減期には、¹⁴C-クロチアニジンを含む16%水溶剤(4000倍希釈液)を、イネ幼苗(播種後1.5か月)の葉身部表面中央部にマイクロシリンジで1

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の割合で 1 葉身部に $2\mu\text{g}$ 塗布処理した後、人工光下 ($25,000\text{ lux}$, $22\sim 28^\circ\text{C}$) で所定期間 (処理後 7、14、21、28 及び 35 日間) 栽培した試料を用いた。

葉身部塗布処理によるクロチアニジンの可食部への移行性には、 ^{14}C -クロチアニジンを含む 16% 水溶剤 (4000 倍希釈液) を、出穂直後のイネ体葉身部表面中央部にマイクロシリンジで $1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の割合で 1 葉身部に $15\mu\text{g}$ 塗布処理 ($150\mu\text{g}/\text{ポット}$) 後、温室内の自然光下 (温度: $15\sim 39^\circ\text{C}$ 、湿度: $18\sim 87\%$) で完熟期まで 48 日間栽培し、可食部 (玄米)、籾殻、穂軸、処理葉身、非処理葉身、葉鞘、根及び土壌に分画・採取した試料を用いた。

土壌混和処理によるクロチアニジンの可食部への移行性では、 ^{14}C -クロチアニジンを $1.5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ($300\mu\text{g}/\text{ポット}$) の割合で土壌に混和処理し、イネ体 (播種後 3 週間) を植えたポット ($1/5000\text{ a}$) の土壌表面に均一に積層した後、温室内の自然光下 (温度: $15\sim 39^\circ\text{C}$ 、湿度: $18\sim 87\%$) で所定期間 [処理後 30、60 及び 130 日目 (完熟期)] 栽培した。処理後 30 及び 60 日目に採取したイネ体は葉身及び葉鞘を、130 日目 (完熟期) に採取したイネ体は可食部 (玄米)、籾殻、穂軸、葉身、葉鞘、根及び土壌に分画・採取した。

試料分析: 経時的に採取した処理葉身部は、含水有機溶媒で表面の放射活性をふき取り葉身部上の放射活性を回収した後、含水有機溶媒で細断・抽出し抽出液及び抽出残渣に分画した。葉身部表面回収液及び抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との 2次元展開 TLC ココロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

可食部移行性試験で採取した玄米、籾殻、処理葉身、非処理葉身及び葉鞘部は、含水有機溶媒で細断・抽出し、抽出液及び抽出残渣に分画した。抽出液は、その一部をさらに濃縮し分析用標準品との 2次元展開 TLC ココロマトグラフィーによりクロチアニジン及びその代謝分解物を定量した。

クロチアニジン及び代謝分解物は、抽出液をシリカゲル薄層クロマトグラフィーで精製後、各画分を分析用標準品との 2次元展開 TLC ココロマトグラフィー及び HPLC ココロマトグラフィーに供し同定した。

^{14}C -クロチアニジンを土壌混和処理したイネ体玄米及び葉身部の抽出残渣は酵素 (セルラーゼ、 β -グルコシダーゼ、ペクチナーゼ、プロテアーゼ) 処理あるいは酸・塩基処理により、抽出液及び非抽出性放射活性に分画した。

放射能の測定: 葉身部表面回収液及び抽出液中の放射活性は、液体シンチレーションカウンター (LSC) により、可食部移行性試験で採取した穂軸、根、土壌及び抽出残渣中の放射活性は試料燃焼装置で燃焼後 LSC で測定した。

処理量設定根拠

試験結果：

(1) 放射活性の分布；

¹⁴C-クロチアニジンを葉身部に塗布処理した場合、処理後 35 日目には処理量の 75.5～70.1% (Ni～Th、以下同様、3.30～3.35 ppm、表 1-1 参照) が処理葉身部に残存した。葉身部表面における放射活性は、処理後 0 日目には処理量の 92.6～98.0%認められたが、35 日目には 56.1～52.1%へと減少した。一方、葉身部内に移行した放射活性は、処理後 7～35 日目の各時点において近似した値を示した(Ni：13.5～19.4%、Th：11.2～18.0%)(表 2-1 及び 2-2 参照)。なお、放射活性が徐々に減少した理由は、葉身部からの揮散・落下あるいは葉身部内に吸収された放射活性の一部が蒸散流に伴い葉縁部に移行し排出したためと推測している。

表 1-1 イネ体幼苗葉身部塗布処理における放射活性の経時変化

経過日数	Ni- ¹⁴ C-クロチアニジン		Th- ¹⁴ C-クロチアニジン	
	回収放射活性(%)	濃度 (ppm)	回収放射活性(%)	濃度 (ppm)
処理直後	96.1	8.60	102.5	8.28
処理後 7日目	95.1	5.80	92.1	5.49
処理後 14日目	83.1	3.86	82.4	3.66
処理後 21日目	84.1	3.90	79.9	3.88
処理後 28日目	81.2	2.87	72.5	2.55
処理後 35日目	75.5	3.30	70.1	3.35

¹⁴C-クロチアニジンを出穂直後のイネ体葉身部に塗布処理し、完熟期まで 48 日間栽培した可食部移行性試験において、処理した放射活性の大部分 (91.0～84.8%) は処理葉身部に認められ、非処理部の可食部(玄米)、籾殻、穂軸、非処理葉身部、葉鞘部、根部及び土壤中の放射活性はいずれも僅かであり (0.1%以下～0.4%)、可食部 (玄米) 中のそれは 0.02 ppm (0.2%) であった。本試験における放射活性の全回収率は 92.3～86.1%であった(表 1-2 参照)。

表 1-2 イネ葉身部塗布処理後 48 日目の放射活性の分布

組 織	Ni- ¹⁴ C-クロチアニジン		Th- ¹⁴ C-クロチアニジン	
	濃度 (ppm)	回収放射活性(%)	濃度 (ppm)	回収放射活性(%)
可食部(玄米)	0.02	0.2	0.02	0.2
籾 殻	0.07	0.2	0.05	0.2
穂 軸	0.06	<0.1	0.06	<0.1
処 理 葉 身	47.25	91.0	40.46	84.8
非 処 理 葉 身	0.03	0.3	0.03	0.4
葉 鞘	0.01	0.4	<0.01	0.4
根	<0.01	<0.1	<0.01	<0.1
土 壤	<0.01	0.1	<0.01	0.1
合 計		92.3		86.1

¹⁴C-クロチアニジンを土壌混和処理後、完熟期まで 130 日間栽培した可食部移行性試験において、葉身及び葉鞘部における放射活性は経時的に増加する傾向が認められ、処理後 130 日目(完熟期)において葉身部では処理量の 4.5~3.4%、葉鞘部では0.9~1.0%となった(表 1-2 参照)。完熟期において、処理した放射活性の大部分(91.9~88.0%)は土壌中に残存し、イネ体に吸収された 6.5~5.6%の放射活性の大部分は葉身部(4.5~3.4%)に認められ、可食部(玄米)への移行量は僅かであった(0.2%~0.1%以下、0.02 ppm)。本試験における放射活性の全回収率は98.4~93.6%であった。(表 1-4 参照)

表 1-3 イネ土壌混和処理した葉身・葉鞘部の放射活性の経時変化

組	織	薬剤処理後経過日数					
		30		60		130	
		Ni	Th	Ni	Th	Ni	Th
葉	身	0.8	0.9	3.0	2.6	4.5	3.4
葉	鞘	0.4	0.4	0.8	0.9	0.9	1.0

注) 表中の数値は処理放射活性に対する割合(%)

Ni : Ni-¹⁴C-クロチアニジン、Th : Th-¹⁴C-クロチアニジン

表 1-4 イネ土壌混和処理後130 日目の放射活性の分布

組	織	Ni- ¹⁴ C-クロチアニジン		Th- ¹⁴ C-クロチアニジン	
		濃度 (ppm)	回収放射活性(%)	濃度 (ppm)	回収放射活性(%)
可食部(玄米)		0.02	0.2	0.02	<0.1
籾	殻	0.07	0.1	0.17	0.1
穂	軸	0.04	<0.1	0.04	<0.1
葉	身	0.72	4.5	0.95	3.4
葉	鞘	0.04	0.9	0.07	1.0
	根	0.07	0.8	0.16	0.9
小	計		6.5		5.6
土	壌	0.11	91.9	0.10	88.0
合	計		98.4		93.6

(2) 代

謝 ;

イネ幼苗の葉身部に塗布処理したクロチアニジンは半減期 38~39 日の速度で減少した。親化合物の代謝分解に伴い、代謝分解物Ⅱ(TZNG)、Ⅲ(TZMU)、Ⅳ(MNG)、Ⅵ(TMG)、Ⅶ(MG)、Ⅸ(TZU)及びⅪ(NTG)の生成が認められた。

¹⁴C-クロチアニジンを葉身部塗布処理し、完熟期まで 48 日間栽培した場合、イネ体の各組織中には親化合物が多く認められ(濃度 : <0.01~38.33 ppm、対総回収放射活性% : 10.8~82.7%)、主要代謝分解物として可食部(玄米)ではⅦ(<0.01ppm、12.4%)が、非処理葉身及び葉鞘部中ではⅢ(いずれも <0.01ppm、10.5~16.2%)が認められた。

¹⁴C-クロチアニジンを土壌混和処理し、完熟期まで130日間栽培した

場合、イネ体の各組織中には親化合物が多く認められ(<0.01~0.15 ppm、10.0~22.5%)、主要代謝分解物として可食部(玄米)ではⅢ (<0.01 ppm、6.3~13.3%) が、葉身部ではⅢ(0.11~0.15 ppm、15.3~15.7%)、Ⅵ(0.09~0.13 ppm、13.1~13.3%) 及びⅦ(0.08 ppm、11.2%) が、葉鞘部ではⅢ (<0.01~0.01 ppm、14.4~16.9%) が同定された。

¹⁴C-クロチアニジンを土壌混和処理した玄米及び葉身部より得られた抽出残渣を酵素処理した結果、対照区に比して顕著に遊離する放射活性は認められなかった。一方、塩基処理(加熱還流)により、抽出残渣中の放射活性の大部分は遊離し(玄米:29.2~51.5%、葉身部:13.5~17.2%)、遊離しない放射活性は僅かであった(玄米:9.1~6.3%、葉身部:2.9~5.7%)。

上記の代謝分解物から、イネにおいて本剤には以下のような代謝分解機構が関与していることが推察された。

- ① 親化合物からⅡへの脱メチル化反応
- ② 親化合物からⅢへの加水分解反応
- ③ 親化合物のチアゾリルメチル部分及びニトログアニジン部分間の炭素-窒素結合の開裂によるⅣの生成
- ④ 親化合物からⅥへの脱ニトロ化反応
- ⑤ ⅣからⅦへの脱ニトロ化反応
- ⑥ Ⅵのチアゾリルメチル部分及びグアニジン部分間の炭素-窒素結合の開裂によるⅦの生成
- ⑦ ⅡからⅨへの加水分解反応
- ⑧ ⅢからⅨへの脱メチル化反応
- ⑨ Ⅱのチアゾリルメチル部分及びニトログアニジン部分間の炭素-窒素結合の開裂によるⅩの生成
- ⑩ ⅣからⅩへの脱メチル化反応

以下の代謝分解物は、分析用標準品との TLC 及び HPLCコクロマトグラフィーにより同定した。

代謝分解物Ⅱ；
代謝分解物Ⅲ；
代謝分解物Ⅵ；
代謝分解物Ⅶ；
代謝分解物Ⅸ；

また、以下の代謝分解物については、分析用標準品との TLCコクロマトグラフィーにより仮同定した。

代謝分解物Ⅳ；
代謝分解物Ⅹ；

本試験において認められた代謝分解物を基に、イネにおける推定代謝分解経路を図1に示す。

表 2-1 イネ幼苗葉身部塗布処理における代謝分解物の経時的変化 (Ni-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数											
	処理葉身部表面						処理葉身部内					
	0	7	14	21	28	35	0	7	14	21	28	35
親化合物 (クロチアニジン)	92.6	72.4	60.5	59.3	51.3	45.7	3.5	11.2	5.5	6.2	5.4	6.2
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	-	-	0.7	0.2	0.4	0.4	-	2.5	1.0	1.6	0.8	1.0
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	-	0.2	1.0	0.6	0.9	0.9	-	0.5	0.6	0.6	0.7	0.9
代謝分解物Ⅳ (MNG)	-	0.3	1.3	0.5	1.5	0.3	-	0.5	0.8	1.2	1.6	1.0
代謝分解物Ⅵ (TMG)	-	0.7	1.4	1.4	2.7	2.8	-	0.9	0.8	1.2	1.3	1.8
代謝分解物Ⅶ (MG)	-	0.9	2.0	2.2	3.7	2.5	-	0.7	0.9	1.6	1.9	2.4
代謝分解物Ⅸ (TZU)	-	-	-	-	-	0.4	-	0.2	0.3	0.4	0.4	0.4
代謝分解物Ⅹ I (NTG)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2
未同定	-	1.4	2.7	2.5	3.2	3.1	-	1.0	1.5	1.9	2.6	2.4
非抽出放射活性	-	-	-	-	-	-	<0.1	1.7	2.1	2.7	2.8	3.1
回収放射活性	92.6	75.9	69.6	66.7	63.7	56.1	3.5	19.2	13.5	17.4	17.5	19.4

表 2-2 イネ幼苗葉身部塗布処理における代謝分解物の経時的変化 (Th-¹⁴C-クロチアニジン)

代謝分解物	薬剤処理後経過日数											
	処理葉身部表面						処理葉身部内					
	0	7	14	21	28	35	0	7	14	21	28	35
親化合物 (クロチアニジン)	98.0	75.2	67.2	58.6	51.9	45.9	4.5	7.5	5.1	7.6	5.5	7.5
代謝分解物Ⅱ (TZNG)	-	0.7	0.6	0.8	0.8	0.4	-	1.5	0.6	1.0	0.9	0.7
代謝分解物Ⅲ (TZMU)	-	0.4	1.0	0.9	0.8	1.3	-	0.4	0.5	0.6	1.0	1.0
代謝分解物Ⅵ (TMG)	-	2.2	2.4	1.9	1.8	2.0	-	1.0	1.0	1.5	1.6	1.6
代謝分解物Ⅸ (TZU)	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	0.4	0.4	0.5
未同定	-	-	-	1.2	2.0	2.5	-	1.3	1.9	2.4	2.5	2.4
非抽出放射活性	-	-	-	-	-	-	<0.1	1.7	2.0	3.0	3.3	4.3
回収放射活性	98.0	78.5	71.2	63.4	57.3	52.1	4.5	13.6	11.2	16.5	15.2	18.0

注) 表中の数値は処理放射活性に対する割合 (%)。- : 検出されなかった。

図 1 クロチアニジンのイネにおける推定代謝分解経路