

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(3) (代謝物・原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料 No. 毒 57)

試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2000 年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、

本試験

では 10 ~ 5000 µg/プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フル)3-(5-ニコロ-2-フル)アクリルミド^{*}, NaN₃ : ナジ^{*} 化ナトリウム, ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン^{*}・2HCl, 2AA : 2-アミノアントラセン, B[a]P : ベンゾ[*a*]ピレン^{*}を用いた。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN₃, ICR-191, 2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/7'$ プレート)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	113	9	21	17	10
	10	-					
	20	-					
	39	-					
	78	-					
	156	-					
	313	-					
	625	-					
	1250	-					
	2500	-					
	5000	-					
対照(DMSO)	-	+	134	11	31	29	16
	39	+					
	78	+					
	156	+					
	313	+					
	625	+					
	1250	+					
	2500	+					
	5000	+					
陽性 対 照	AF-2	0.01	-	435		185	
		0.1	-			490	
	NaN ₃	0.5	-		365		
	ICR-191	1.0	-				1772
	B[a]P	5.0	+	790		200	89
	2AA	2.0	+		286		
	10.0	+			594		

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : アジ化ナトリウム

ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

* : 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(4) (代謝物)の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 58)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences Ltd. (イギリス)

〔GLP 対応〕

報告書作成年: 2000 年

- 検体の純度 :
試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA/pKM101 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 3 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、試験 1 では 5 ~ 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の公比約 3 で希釈した 7 用量とし、試験 2 では 50 ~ 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲内で公比約 3 で希釈した 5 用量とした。陽性対照としては、AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、 NaN_3 : ナトリウムアジ化ナトリウム、NF: 2-ニトロフルオレン、9AC: 9-アミノアクリジン、2AA: 2-アミノアントセン、B[a]P: ベンゾ[a]ピレンを用いた。
- 判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。
- 試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。
- 一方、陽性対照として用いた AF-2、 NaN_3 、NF、9AC、2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

試験1 (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA/ pKM101	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	96	18	201	18	9
	5	-					
	15	-					
	50	-					
	150	-					
	500	-					
	1500	-					
	5000	-					
対照(DMSO)	-	+	104	15	191	26	9
	5	+					
	15	+					
	50	+					
	150	+					
	500	+					
	1500	+					
	5000	+					
陽 性 対 照	AF-2	0.05	-		1655		
	NF	1.0	-			123	
	NaN ₃	0.5	-	416	189		
	9AC	30.0	-				169
	B[a]P	5.0	+	504			280
	2AA	2.0	+		174		
		10.0	+			1938	

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : アゾ化ナトリウム

NF : 2-ニトロフルオレン

9AC : 9-アミノアクリジン

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

試験2 (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA/ pKM101	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	-	-	91	11	173	20	9	
	50	-						
	150	-						
	500	-						
	1500	-						
	5000	-						
対照(DMSO)	-	+	108	16	173	24	13	
	50	+						
	150	+						
	500	+						
	1500	+						
	5000	+						
陽 性 対 照	AF-2	0.05	-		2107			
	NF	1.0	-			112		
	NaN ₃	0.5	-	408	166			
	9AC	30.0	-				128	
	B[a]P	5.0	+	627		244	61	
	2AA	2.0	+		141			
		10.0	+			1772		

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ : 7% 化ナトリウム

NF : 2-ニトロフルオレン

9AC : 9-アミノアクリジン

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ [a]ピレン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(5) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 59)

試験実施機関：日本曹達(株)小田原研究所

[GLP対応]

報告書作成年：1999年

- 検体の純度 :
試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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)の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 3 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、本試験では 313 ~ 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の公比 2 で希釈した 5 用量とし、再現性試験でも 313 ~ 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲内で公比 2 で希釈した 5 用量とした。また、TA1537 については 2 回目の再現性試験も実施した。陽性対照としては、ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン, NF : 2-ニトロホルン, 9AA : 9-アミアグアニジン, 2AA : 2-アミアソラセンを用いた。
- 判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。
- 試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験および再現性試験において、TA1537 株の代謝活性化法で復帰変異コロニー数の増加が認められた。その他の菌株では S-9 Mix の有無にかかわらず、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。一方、陽性対照として用いた ENNG, NF, 9AA および 2AAB では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で弱いながらも復帰変異誘発性を有するものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	-	-	95	9	15	25	4	
	313	-						
	625	-						
	1250	-						
	2500	-						
	5000	-						
対照(DMSO)	-	+	132	8	17	40	12	
	313	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000	+						
陽 性 対 照	ENNG	2	-			478		
		3	-	1943				
		5	-		1544			
	2NF	0.2	-				50	
	9AA	80	-					938
	2AA	0.5	+				250	
		1	+	455				
		2	+		86			43
10		+			499			

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2NF : 2-ニトロフルオレン

9AA : 9-アミノアクリジン

2AA : 2-アミノアントラセン

* : 生育阻害が認められた。

: 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

再現性試験 (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	-	-	101	11	15	19	3	
	313	-						
	625	-						
	1250	-						
	2500	-						
	5000	-						
対照(DMSO)	-	+	161	8	17	39	4	
	313	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000	+						
陽性 対照	ENNG	2	-			672		
		3	-	1609				
		5	-		1018			
	2NF	0.2	-				44	
	9AA	80	-					915
	2AA	0.5	+				248	
		1	+	526				
		2	+		93			58
10		+			458			

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2NF : 2-ニトロフルオレン

9AA : 9-アミアクリジン

2AA : 2-アミノアントラセン

* : 生育阻害が認められた。

: 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

再現性試験 2 回目 (表中の数値は 3 反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mix の有無	復帰変異 コロニー数 /プレート
			フレーム シフト型
			TA1537
対照(DMSO)	-	-	6
	313	-	
	625	-	
	1250	-	
	2500	-	
	5000	-	
対照(DMSO)	-	+	5
	313	+	
	625	+	
	1250	+	
	2500	+	
	5000	+	
陽性	9AA	80	-
対照	2AA	2	+
			1409
			25

9AA : 9-アミノアクリジン

2AA : 2-アミノアントラセン

* : 生育阻害が認められた。

: 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(6) (原体混在物) のマウスを用いた小核試験 (資料 No. 毒 60)

試験実施機関：日本曹達株式会社

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2001 年

検体の純度 :
試験動物 : CD-1 系マウス、一群雌 5 匹、投与時 8 週齢
試験方法 : 検体は、5%アラビアゴム水溶液を用いて懸濁液として調製した。投与は、0mg/kg、250 mg/kg、500 mg/kg および 1000 mg/kg を単回強制経口投与した。陽性対照として、マイトマイシン C (1mg/ml) の単回腹腔内投与群を設けた。検体を投与した後、投与 48 時間後および 72 時間後に尾静脈より採血してアクリジンオレンジ塗布したスライドガラス上に塗抹標本を作製し、蛍光顕微鏡下で赤血球を観察した。各動物につき幼若赤血球 2000 個を観察し、小核を有する細胞数を求めた。また同時に赤血球 1000 個中の幼若赤血球の頻度も計測した。

投与量設定根拠：

判定基準 : 小核を有する幼若赤血球の頻度に関して片側カイ二乗検定を用いて溶媒対照群との比較を行い、用量依存性のある有意な増加がみられるかあるいは生物学的意義が認められた場合に陽性と判定した。

結果 : 概要を次頁の表に示した。
500mg/kg 群および 1000mg/kg 群で投与 1 日後に平均体重の減少がみられたが、死亡および臨床症状はみられなかった。
いずれの検体投与群においても、溶媒対照と比較して小核を有する幼若赤血球の割合に有意な増加はみられなかった。一方、陽性対照群では小核を有する幼若赤血球の割合が 48 時間目に有意に増加した (カイ二乗検定、 $p < 0.001$)。

以上の結果から、
えられる。

は本試験条件下において染色体異常誘発性を有さないと考え

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

試験結果

採取時間	処理	投与量 (mg/kg)	動物数	幼若赤血球 2000 個中 の小核のある幼若赤 血球の割合	赤血球 1000 個 中の幼若赤血球 の割合
48 時間	溶媒対照 a)	0	5	2.6±1.3	4.9±2.2
		250	5		
		500	5		
		1000	5		
	陽性対照 b)	1	5	77.0±28.1***	2.8±2.4
72 時間	溶媒対照 a)	0	5	2.2±0.8	5.5±2.3
		250	5		
		500	5		
		1000	5		
	陽性対照 b)	1	5	2.6±2.9	0.8±0.2

*** : p<0.001 (カイ二乗検定)

a) : 5%アラビアゴム水溶液

b) : マイトマイシン C

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 達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

- (7) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 61)
試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル
〔GLP対応〕
報告書作成年：2000年

- 検体の純度 :
試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、
- 本試験
- では 10 ~ 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルミド^o, NaN_3 : アゾ化ナトリウム, ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノ]ピリジン]アクリジン^o・2HCl, 2AA : 2-アミノアントラセン, B[a]P : ベンゾ[a]ピレンを用いた。
- 判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。
- 試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。
- 一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN_3 , ICR-191, 2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	100	11	25	15	11
	10	-					
	20	-					
	39	-					
	78	-					
	156	-					
	313	-					
	625	-					
	1250	-					
対照(DMSO)	-	+	115	14	34	27	16
	20	+					
	39	+					
	78	+					
	156	+					
	313	+					
陽性 対照	AF-2	0.01	-	425		156	
		0.1	-			430	
	NaN ₃	0.5	-		370		
	ICR-191	1.0	-				1739
	B[a]P	5.0	+	771		192	87
	2AA	2.0	+		252		
	10.0	+			697		

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : ナジウム

ICR-191 : 2-メチル-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノ]ピリジン・2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

: 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

- (8) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 62)
試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル
〔GLP 対応〕
報告書作成年：2000 年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、

本試験

では 20 ~ 1250 μg /プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-7リノ)-3-(5-ニトロ-2-7リノ)アクリノミド^{*}、 NaN_3 : アジ化ナトリウム、ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン-2HCl、2AA : 2-アミノアントラセン、B[a]P : ベンゾ[a]ピレンを用いた。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、 NaN_3 、ICR-191、2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	-	-	88	13	27	20	7	
	20	-						
	39	-						
	78	-						
	156	-						
	313	-						
	625	-						
	1250	-						
対照(DMSO)	-	+	108	8	31	25	19	
	78	+						
	156	+						
	313	+						
	625	+						
	1250	+						
陽 性 対 照	AF-2	0.01		436		181		
		0.1	-				484	
	NaN ₃	0.5	-		339			
	ICR-191	1.0	-				1627	
	B[a]P	5.0	+	722			202	81
	2AA	2.0	+		240			
10.0		+			755			

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ : ナイトリド化ナトリウム

ICR-191 : 2-メチル-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

* : 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(9) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 63)

試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、

本試験

では 10 ~ 1250 µg/プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フル) -3-(5-ニトロ-2-フル) アクリルミド^{*}、NaN₃ : アジ化ナトリウム、ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノ]ピロリジン・2HCl、2AA : 2-アミノアントラセン、B[a]P : ベンゾ[a]ピレンを用いた。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、ICR-191、2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	77	17	22	21	8
	10	-					
	20	-					
	39	-					
	78	-					
	156	-					
	313	-					
	625	-					
	1250	-					
対照(DMSO)	-	+	102	10	24	29	16
	39	+					
	78	+					
	156	+					
	313	+					
	625	+					
	1250	+					
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	474		161	
		0.1	-			509	
	NaN ₃	0.5	-		385		
	ICR-191	1.0	-				1584
	B[a]P	5.0	+	709		193	95
	2AA	2.0	+		273		
	10.0	+			666		

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : ナジ化ナトリウム

ICR-191 : 2-メキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン-2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

* : 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

- (10) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 64)
試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル
〔GLP 対応〕
報告書作成年：2000 年

- 検体の純度 :
試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、
- 本試験
- では 10 ~ 1250 µg/プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、
NaN₃ : アシ化ナトリウム、ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl、2AA : 2-アミノアントラセン、B[a]P : ベンゾ[a]ピレンを用いた。
- 判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。
- 試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。
- 一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、ICR-191、2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	97	12	18	18	8
	10	-					
	20	-					
	39	-					
	78	-					
	156	-					
	313	-					
	625	-					
	1250	-					
対照(DMSO)	-	+	111	10	30	31	21
	39	+					
	78	+					
	156	+					
	313	+					
	625	+					
	1250	+					
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	371		177	
		0.1	-				440
	NaN ₃	0.5	-		378		
	ICR-191	1.0	-				1172
	B[a]P	5.0	+	817			232
	2AA	2.0	+		310		
10.0		+			739		

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : アン化ナトリウム

ICR-191 : 2-メキシ-6-クロ-9-[3-(2-クロエチル)アミノ]ピペリジン・2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

* : 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

- (11) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 65)
試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル
〔GLP 対応〕
報告書作成年：2000 年

- 検体の純度 :
試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、
- 本試験
- では 10 ~ 5000 µg/プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルミド^{*}、NaN₃ : ナトリウムアジド、ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン・2HCl、2AA : 2-アミアントラゼン、B[a]P : ベンゾ[*a*]ピレンを用いた。
- 判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。
- 試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。
- 一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、ICR-191、2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験（表中の数値は2反復の平均値）

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	92	10	23	20	6
	10	-					
	20	-					
	39	-					
	78	-					
	156	-					
	313	-					
	625	-					
	1250	-					
対照(DMSO)	-	+	109	13	25	28	16
	39	+					
	78	+					
	156	+					
	313	+					
	625	+					
	1250	+					
	2500	+					
	5000	+					
陽性 対照	AF-2	0.01	-	425		180	
		0.1	-			472	
	NaN ₃	0.5	-		386		
	ICR-191	1.0	-				1243
	B[a]P	5.0	+	706		182	68
	2AA	2.0	+		246		
		10.0	+			692	

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : ナトリウムアジド

ICR-191 : 2-メチル-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン-2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

: 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(12) (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 66)

試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度 : 98.7 %
試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、

本試験

では 10 ~ 1250 μg /プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルミド^{*}、 NaN_3 : アジ化ナトリウム、ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン^{*}・2HCl、2AA : 2-アミノアントラセン、B[a]P : ベンゾ[a]ピレンを用いた。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、 NaN_3 、ICR-191、2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 代謝物/混在物・変異 >

本試験 (表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	-	-	92	13	27	20	7
	10	-					
	20	-					
	39	-					
	78	-					
	156	-					
	313	-					
対照(DMSO)	-	+	100	11	33	33	20
	78	+					
	156	+					
	313	+					
	625	+					
	1250	+					
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	396		189	
		0.1	-			556	
	NaN ₃	0.5	-		432		
	ICR-191	1.0	-				1270
	B[a]P	5.0	+	690		223	91
	2AA	2.0	+		298		
10.0		+			592		

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-エトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : ナトリウムアジド

ICR-191 : 2-メチル-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン-2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

: 析出が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

(13) 149-O-B (原体混在物) の細菌を用いた復帰変異性試験 (資料 No. 毒 67)

試験実施機関：株式会社ビー・エム・エル

〔GLP対応〕

報告書作成年：2000年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、各用量につき 2 プレートで行った。検体は DMSO に溶解し、

本試験

では 10 ~ 5000 µg/プレート の範囲内で公比 2 で希釈した 5 から 6 用量とした。陽性対照としては、AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルミド^o, NaN₃ : ナゾ^o 化ナトリウム, ICR-191 : 2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノ]ピロリジン^oアクリジン^o・2HCl, 2AA : 2-アミノアントラセン, B[a]P : ベンゾ^o [a]ピレンを用いた。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示した。本実験において、S-9 Mix の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても、検体処理による復帰変異コロニー数は、いずれの用量においても溶媒対照と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2, NaN₃, ICR-191, 2AA および B[a]P では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本被験物質は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈代謝物/混在物・変異〉

本試験（表中の数値は2反復の平均値）

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9-Mi x の有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照(DMSO)	-	-	113	14	29	22	14	
	10	-						
	20	-						
	39	-						
	78	-						
	156	-						
	313	-						
	625	-						
	1250	-						
	2500	-						
	5000	-						
対照(DMSO)	-	+	95	12	30	26	19	
	156	+						
	313	+						
	625	+						
	1250	+						
	2500	+						
	5000	+						
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	361		173		
		0.1	-				472	
	NaN ₃	0.5	-		415			
	ICR-191	1.0	-				1296	
	2AA	5.0	+	634			191	76
		2.0	+		296			
	10.0	+			675			

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド*

NaN₃ : ナトリウムアジド

ICR-191 : 2-メチル-6-クロロ-9-[3-(2-クロロethyl)アミノプロピル]アクリジン-2HCl

2AA : 2-アミノアントラセン

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

* : 生育阻害が認められた。

* : 析出が認められた。

3. 製剤を用いた試験成績

① 急性経口毒性 (パンチョ顆粒水和剤)

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.製毒1)

試験実施機関：(株) 実験動物医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体の純度： パンチョ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)

組成： シフルフェナミド原体 10.6 %
 鋳物質微粉等 89.4 %

試験動物： SD系 (Crj:CD(SD)IGS) ラット、6週齢

体重：雄 191~206 g、雌 140~154 g、一群雌雄各 5匹

試験期間： 14日間観察

試験方法： 検体は日本薬局方注射用水に懸濁してラット用胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与前 18 時間と投与後 3 時間は絶食させた。また、溶媒対照群を設けた。

試験項目： 中毒症状および生死を 15 日間観察した。投与 1 日 (投与前)、投与 2, 3, 4, 8 および 15 日に全生存動物の体重を測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行なった。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共に 0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 2000 雌 > 2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

中毒症状は、認められなかった。

体重に投与による影響は認められなかった。

剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチョ顆粒水和剤—急毒・刺激・感作性)

② 急性経皮毒性 (パンチョ顆粒水和剤)

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.製毒2)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences (イギリス)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体の純度: パンチョ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)

組成: シフルフェナミド原体 10.6 %
飼料質微粉等 89.4 %

試験動物: SD(Hsd:Sprague-Dawley(CD)) 系ラット、9~12 週齢

体重: 雄 236~248 g、雌 211~221 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 1%メチルセロース水溶液に懸濁し、剃毛した背部に 24 時間塗布した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。投与 1 日 (投与前)、投与 8 日および 15 日に全動物の体重を測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行なった。

結 果 :

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共に 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 2000 雌 > 2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

中毒症状は観察されなかった。9 例の塗布部位に軽度の紅斑、浮腫が認められたが投与 6 日までに消失した。その後、雄 2 例、雌 1 例に痂皮がみられた。

投与 8 日に雌の数例に体重の増加抑制が認められたが、他の動物に異常は認められなかった。

剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチョ顆粒水和剤-急毒・刺激・感作性)

③ 急性吸入毒性 (パンチョ顆粒水和剤)

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No.製毒3)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences (イギリス)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体の純度: パンチョ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)

組成: シフルフェナミド原体 10.6 %
鉱物質微粉等 89.4 %

試験動物: SD 系 Crl:CD(SD) IGR BR ラット、8~9 週齢

体重: 雄 267~291 g、雌 201~231 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 一定の粒径を保つために検体を粉碎後、粉塵発生装置を用いてダストとし、4 時間鼻部暴露した。また、空気のみ暴露した対照群を設けた。

名目濃度: 23.4 mg/L

実際濃度: 4.97 mg/L

暴露空気をガラス繊維濾紙に採集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露濃度:

設定濃度 (mg/L)	5
実際濃度 (mg/L) ¹⁾	4.97
粒子径分布 (%)	
> 21.30 (µm)	0.5
14.80 - 21.30	1.4
9.80 - 14.80	16.2
6.00 - 9.80	38.3
3.50 - 6.00	19.8
1.55 - 3.50	18.2
0.93 - 1.55	1.2
0.52 - 0.93	0.8
< 0.52	3.6
空気力学的質量中位径 (µm)	4.0
呼吸可能な粒子 (< 7 µm) の割合 (%)	75
チャンバー容積 (リットル)	30
チャンバー内通気量 (リットル/分)	20
暴露条件	ダスト 4 時間 鼻部暴露

¹⁾ 7 回測定した平均値

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(ベンゾ₃顆粒水和剤－急毒・刺激・感作性)

試験項目 : 暴露中および暴露後 1 4 日間、中毒症状および生死を観察した。暴露 1 日 (暴露前)、暴露 7 日および 15 日に全生存動物の体重を測定した。試験終了時の全生存動物につき肉眼的病理検査を行なった

結 果 :

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 0, 4.97
LC ₅₀ (mg/L)	雄 > 4.97 雌 > 4.97
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	暴露開始 1 時間後から発現 暴露 4 日に消失
死亡例が認められなかった 最高濃度 (mg/L)	雌雄共 4.97

中毒症状としては、呼吸促拍、鼻汁および口および鼻部に赤色/褐色の着色物が観察された。これらの症状は、暴露 4 日までに消失した。

体重では、雌の実験群において暴露 8 日に増加抑制がみられたが、その他の動物に異常は認められなかった。

摂餌量、飲水量に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査では、いずれの動物にも特記すべき変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチヨ顆粒水和剤－急毒・刺激・感作性〉

④ 皮膚一次刺激性 (パンチヨ顆粒水和剤)

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No.製毒 4)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences (イギリス)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体の純度: パンチヨ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)

組成: シフルフェナミド原体 10.6 %
鋳物質微粉等 89.4 %

試験動物: ニュージーランド白色種ウサギ、10 週齢

体重: 2.2 ~ 2.7 kg、雄 6 匹

試験期間: 7 日間観察

試験方法: 検体(0.5g)を水で湿らせ、刈毛した動物の背中の皮膚(25×25 mm)に塗布した。塗布時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は微温湯により除去した。

試験項目: 塗布終了後 1 時間 (投与 1 日)、24、48 時間および 5、6、7 日に塗布部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize の方法に従って評点した。

結果: 観察した刺激性変化の平均スコアは以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投与後の時間						
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	5 日	6 日	7 日
紅斑	4	1.2	1.2	0.8	0.2	0.2	0.2	0.0
浮腫	4	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	1.4	1.2	0.8	0.2	0.2	0.2	0.0

軽度の紅斑が、パッチ除去 1 時間後に 5 例の動物に認められた。この中 1 例では非常に軽度の浮腫も認められた。これらは、投与 7 日までにすべて正常となった。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を有するものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチヨ顆粒水和剤—急毒・刺激・感作性)

⑤ 眼一次刺激性 (パンチヨ顆粒水和剤)

ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No.製毒5)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences (イギリス)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体の純度: パンチヨ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)

組成: シフルフェナミド原体 10.6 %
鉱物質微粉等 89.4 %

試験動物: ニュージーランド白色種ウサギ、12 週齢

体重: 2.4 ~ 3.0 kg、雌 6 匹 (非洗眼群) および雄 3 匹 (洗眼群)

試験期間: 7 日間観察

試験方法: 微粉化した検体 91mg を片方の眼に投与した (非洗眼群)。洗眼群
では投与 2 分後に蒸留水で 30 秒間洗眼した。

試験項目: 投与後 1, 24, 48 および 72 時間さらに 4 日および 7 日に角膜、虹
彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize の分類に従って評点した。

結 果: 観察した刺激性変化の平均スコアは以下の表のとおりである。
非洗眼群は 6 匹、洗眼群は 3 匹の平均値を示した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチ顆粒水和剤-急毒・刺激・感作性)

項 目			最高 評点	投与後の時間					
				1時間	1日	2日	3日	4日	7日
動物 番号 1*	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	2	1	1	0	—	—
		浮腫	4	1	0	0	0	—	—
動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	—
		面積	4	0	0	0	0	0	—
	虹彩		2	0	0	0	0	0	—
	結膜	発赤	3	2	1	1	1	0	—
		浮腫	4	1	1	1	0	0	—
動物 番号 3	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	1	1	0	—	—
		浮腫	4	1	0	0	0	—	—
動物 番号 4	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	2	1	1	0	—	—
		浮腫	4	2	1	1	0	—	—
動物 番号 5	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	1	1	0	—	—
		浮腫	4	1	0	0	0	—	—
動物 番号 6	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	0
		浮腫	4	2	1	1	0	0	0
合 計 **			660	34.0	20.0	20.0	8.0	4.0	0.0
平 均			110	5.7	3.3	3.3	1.3	0.7	0.0

* : パンチ動物 ** : Draize 法による評価点

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチ顆粒水和剤—急毒・刺激・感作性)

項 目		最高 評点	投与後の時間						
			1時間	1日	2日	3日	4日	7日	
洗 眼 群	角膜 混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	4.0	4.0	3.0	3.0	1.0	0.0
		浮腫	4	4.0	3.0	1.0	0.0	0.0	0.0
	合 計 *		330	16.0	15.0	8.0	6.0	2.0	0.0
	平 均		110	2.7	2.5	1.3	1.0	0.3	0.0

* : Draize 法による評点の合計

角膜および虹彩に異常は認められなかった。結膜に対する刺激性が生じた。すべての反応は、処置後7日までにすべて消失した。洗眼により被験物質の眼に対する刺激性は軽減されなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性を有するものと考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチヨ顆粒水和剤—急毒・刺激・感作性)

⑥ 眼一次刺激性 (パンチヨ顆粒水和剤 4000 倍希釈液)

ウサギを用いた眼一次刺激性試験 (資料 No.製毒 6)
 試験実施機関: Huntingdon Life Sciences (イギリス)
 [GLP 対応]
 報告書作成年: 2000 年

検体の純度: パンチヨ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)
 組成: シフルフェナミド原体 10.6 %
 鉱物質微粉等 89.4 %
 パンチヨ顆粒水和剤を蒸留水で 4000 倍に希釈して用いた。

試験動物: ニュージーランド白色種ウサギ、12 週齢
 体重: 2.9 ~ 3.6 kg、雌 6 匹

試験期間: 4 日間観察

試験方法: 6 匹の動物に対し、0.1ml の検体を右眼に投与し、眼の刺激性変化を観察した (非洗浄)。左眼は対照とした。

試験項目: 処置後、1、24、48 および 72 時間後まで、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、ともに Draize の方法により評点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点 (平均スコア) は以下のとおりである。

項 目		最高 評点	投与後の時間					
			1 時間	1 日	2 日	3 日	4 日	
非 洗 眼 群	角膜 混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	合 計 *		330	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	平 均		110	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

試験の結果、いかなる刺激性変化も認められなかった。

以上の結果から、本剤の 4000 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性はないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(パンチヨ顆粒水和剤-急毒・刺激・感作性)

⑦ 皮膚感作性 (パンチヨ顆粒水和剤)

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料 No.製毒7)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences (イギリス)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体の純度: パンチヨ顆粒水和剤 (シフルフェナミド 10%)

組成: シフルフェナミド原体 10.6 %
賦物質微粉等 89.4 %

試験動物: Dunkin/Hartley 系モルモット (雄)、8 週齢、体重 333~486 g、
試験群 20 匹およびその対照群 10 匹、
陽性対照群およびその対照群: 各群 10 匹

試験期間: 誘発後 4 8 時間観察

試験方法: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作: 検体をそのまま刈毛した左腹側部に 6 時間閉鎖貼付した。陽性対照の HCA も同様に処置した。この感作暴露を 7 および 14 日後にも行い、合計 3 回の感作処置を施した。各感作貼付後の約 24 時間後に、紅斑や浮腫の程度を観察した。

誘発: 最終感作暴露から 14 日後に、検体と対照群の動物の被毛を刈毛し、右腹側部に検体をそのまま 6 時間貼付した。陽性対照群およびその対照群にも、同様に HCA 液を 6 時間閉鎖塗布した。

試験項目: 誘発暴露終了後、24 および 48 時間目に適用部位の紅斑および浮腫の有無を観察し、皮膚反応の強さを紅斑・浮腫ともに 5 段階 (0~4) に評点した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(ハ'ンチ顆粒水和剤-急毒・刺激・感作性)

結果 : 誘発処理後の観察において、皮膚反応が認められた動物数を以下に示す。

群	供試動物数	検体濃度		皮膚反応	感作反応動物						反応の強さ		陽性動物数		
		感作時	誘発時		24時間			48時間			24時間	48時間			
					皮膚反応評点			皮膚反応評点							
					0	1	2	0	1	2					
検体	感作群	20	100	100	紅斑	20	0	0	20	0	0	0	0	0	
					浮腫	20	0	0	20	0	0				
	対照群	10	-	100	紅斑	10	0	0	10	0	0	0	0	-	
					浮腫	10	0	0	10	0	0				
陽性 対照 (HCA)	感作群	10	100	100	紅斑	0	4	6	1	4	5	1.4	1.4	6	
					浮腫	3	7	0	2	8	0				0.7
				50	紅斑	2	8	0	3	6	1	0.8	0.8		
					浮腫	6	4	0	5	5	0				0.4
	対照群	10	-	100	紅斑	1	9	0	2	8	0	0.9	0.8	-	
					浮腫	6	4	0	7	3	0				0.4
					50	紅斑	4	6	0	4	6	0	0.6		0.4
						浮腫	8	2	0	8	2	0			

検体処理の誘発部位には、皮膚反応が認められなかった。一方、陽性対照群においては明瞭な紅斑および浮腫がみられた。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチョ TF くん煙剤-急毒・刺激・感作性〉

① 急性経口毒性 (パンチョ TF くん煙剤)

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.製毒 8)

試験実施機関：化合物安全性研究所

[GLP対応]

報告書作成年：2003 年

検体の純度： パンチョ TF くん煙剤

組成： トリフルミゾール 11.76 %
シフルフェナミド 2.20 %
塩素酸カリウム 12.5 %

試験動物： Sprague-Dawley CD (Crj:CD (SD) IGS) 系ラット、9 週齢
体重：雌 215～233 g、一群 3 匹

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 検体は精製水で調製し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与前一晩と投与後約 4 時間は絶食させた。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間毎日観察した。体重は投与直前、投与後 1、3、5、7、10 および 14 日目に測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行なった。

結 果：

投与方法	経 口
投 与 量	2000 mg/kg
LD ₅₀	> 2000 mg/kg
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	投与後 30 分までに発現 投与後 2 日目までに消失
死亡例が認められなかった 最高投与量	2000 mg/kg

中毒症状： よろめき歩行、腹臥、横臥、呼吸緩徐、呼吸不整等が観察された。

体重変化： 投与 1 日後に体重減少が認められた。

剖検所見： 異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチ[®]TFくん煙剤-急毒・刺激・感作性〉

② 急性経皮毒性 (パンチ[®]TFくん煙剤)

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.製毒9)

試験実施機関：化合物安全性研究所

〔GLP対応〕

報告書作成年：2003年

検体の純度：パンチ[®]TFくん煙剤

組成： トリフルミゾール 11.76 %
シフルフェナミド 2.20 %
塩素酸カリウム 12.5 %

試験動物：Sprague-Dawley CD (Crj:CD(SD)IGS)系ラット、8週齢

体重：雄 262～277 g、雌 200～216 g、一群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

試験方法：検体は精製水に懸濁し、剃毛した背部に24時間塗布した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間毎日観察した。体重は投与直前、投与後1、3、5、7、10および14日目に測定した。試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経皮
投与量	雌雄共に0および2000 mg/kg
LD ₅₀	雌雄共に > 2000 mg/kg
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし
死亡例が認められなかった 最高投与量	雄 2000 mg/kg 雌 2000 mg/kg

中毒症状：観察されなかった。

体重変化：異常は認められなかった。

剖検所見：異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチョ TF くん煙剤-急毒・刺激・感作性〉

③ 急性吸入毒性 (パンチョ TF くん煙剤)

ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No.製毒 10)

試験実施機関: Safeparm Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年: 2004 年

検体の純度: パンチョ TF くん煙剤

組成: トリフルミゾール 11.76 %
シフルフェナミド 2.20 %
塩素酸カリウム 12.5 %

試験動物: Sprague-Dawley CD (CrI:CD (SD) IGS BR) 系ラット、8~10 週齢
体重: 雄 287~356g、雌 235~247g、一群雌雄各 5 匹又は雄 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 被験物質を燃焼させて発生した煙霧に 4 時間鼻部暴露し、その後 14 日間観察した。

試験項目: 中毒症状および生死を 14 日間毎日観察した。体重は投与直前、投与後 7 および 14 日目に測定した。死亡動物については死亡時に測定した。死亡時および試験終了時に解剖し、肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	吸 入
投 与 量	雄 3.84, 0.90 mg/L 雌 3.84 mg/L
LD ₅₀	雌雄共に > 3.84 mg/L
死亡開始および終了時間	死亡開始時間: 暴露開始 167 分後 死亡終了時間: 暴露終了 45 分後
症状発現および消失時間	症状発現時間: 暴露開始 1 時間後 症状消失時間: 暴露 10 日後
死亡例が認められなかった 最高投与量	雄 0.90 mg/L 雌 3.84 mg/L

中毒症状: 呼吸数の増加または減少、苦しそうな呼吸、音のする呼吸、衰弱、昏睡、運動失調、爪先歩行、嗜眠、色の悪い四肢および眼瞼下垂が認められた。

体重変化: 3.84 mg/L で体重増加量の低下あるいは体重減少が認められた。

剖検所見: 1 例の右肺の葉が暗色であったことを除いて、異常はみられなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチョ TF くん煙剤-急毒・刺激・感作性〉

④ 皮膚一次刺激性

ウサギを用いた皮膚粘膜一次刺激性試験

(資料 No.製毒 11)

試験実施機関：化合物安全性研究所

[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：パンチョ TF くん煙剤

組成： トリフルミゾール 11.76 %
シフルフェナミド 2.20 %
塩素酸カリウム 12.5 %

試験動物：日本白色種ウサギ、約 11~12 週齢

体 重：2.38 ~ 2.55 kg、雄 3 匹

試験期間：3 日間観察

試験方法：検体と精製水を 2 対 1 の割合で混合し、ペースト状にしたもの 0.75g を、1×1 インチのリント布に塗り、動物の刈毛した背中の皮膚に 4 時間貼付した。皮膚に残った検体は微温湯で清拭した。

試験項目：貼付終了後 1、24、48 および 72 時間目に貼付部分の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫) および腐食性変化を観察し、採点した。

結 果：観察の結果、いずれの動物にも皮膚の変化は認められなかった。

項 目	最高 評点	投与後の時間						
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	5 日	6 日	7 日
紅斑	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

以上の結果から、Draize の分類表に従って、パンチョ TF くん煙剤はウサギの皮膚に対して刺激性を有さないと判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチヨ TF くん煙剤—急毒・刺激・感作性〉

⑤ 眼一次刺激性

ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 No.製毒 12)

試験実施機関：化合物安全性研究所

[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：パンチヨ TF くん煙剤

組成：	トリフルミゾール	11.76 %
	シフルフェナミド	2.20 %
	塩素酸カリウム	12.5 %

試験動物：日本白色種ウサギ、約 11~12 週齢

体重：2.04 ~ 2.79 kg、雄 6 匹

試験期間：4 日間観察

試験方法：乳鉢粉碎した検体 0.1 g を左眼結膜囊に投与した。洗浄群は、投与 30 秒後に微温湯で約 30 秒間洗眼した。

試験項目：投与後 1、24、48、72 および 96 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize の分類に従って評点した。

結果：観察した刺激性変化の平均スコアは以下の表のとおりである。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチ TF くん煙劑—急毒・刺激・感作性〉

項 目			最高 評点	投与後の時間				
				1時間	1日	2日	3日	4日
動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0
		面積	4	0	1	1	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	0	0
		浮腫	4	2	1	1	0	0
	動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0
面積			4	0	2	1	0	0
虹彩		2	0	1	0	0	0	
結膜		発赤	3	2	3	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	0	0
動物 番号 3		角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0
	面積		4	0	1	1	0	0
	虹彩		2	0	1	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	2	1	0	0
	合 計 **			330	42	68	33	4
平 均			110	14.0	22.7	11.0	1.3	0.0

項 目			最高 評点	投与後の時間					
				1時間	1日	2日	3日	4日	
洗 浄 群	角膜	混濁の強さ	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		混濁の広さ	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	結膜	発赤	3	1.3	0.3	0.0	0.0	0.0	
		浮腫	4	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	
		分泌物	3	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	
	合計			110	6.7	0.7	0.0	0.0	0.0

*: ハイット動物 **: Draize 法による評価点

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチョ TF くん煙剤—急毒・刺激・感作性〉

非洗眼群：

投与後 24 時間までに角膜の混濁、結膜の発赤、結膜の浮腫および眼脂分泌が全例に、虹彩の充血が 2 例に認められた。角膜の混濁、虹彩の充血、結膜の浮腫および眼脂分泌は投与後 72 時間に、結膜の発赤は投与後 96 時間には回復した。なお、全例とも投与 48 時間まで下眼瞼の結膜嚢に被験物質が認められ、角膜の混濁は残存した被験物質による角膜上皮の剥離と考えられた。

洗眼群：

投与 1 時間に結膜の発赤が全例に、結膜の浮腫および眼脂分泌が 2 例に認められた。結膜の浮腫および眼脂分泌は投与 24 時間後には回復し、結膜の発赤は投与 48 時間後までには回復した。

以上の結果から、パンチョ TF くん煙剤はウサギの眼粘膜に対して極軽度の一次刺激性を有し、洗眼により軽減するものと考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<パンチョ TF くん煙剤-急毒・刺激・感作性 >

⑥ 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.製 13)

試験実施機関：化合物安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体の純度：パンチョ TF くん煙剤

組成：	トリフルミノール	11.76	%
	シフルフェナミド	2.20	%
	塩素酸カリウム	12.5	%

試験動物：ハートレイ系モルモット（雄）、5 週齢、体重 324～392 g

試験群（NF-154 くん煙剤感作群）：1 群 20 匹

陰性対照群、陽性対照群：1 群 10 匹

試験期間：惹起後開始後 54 時間観察

試験方法：〔Buehler 法〕

投与量設定根拠：

誘導：検体をそのまま刈毛した左側腹部に 6 時間閉鎖貼付した。陽性対照の DNCB も同様に処置した。この感作暴露を 7 および 14 日後にも行い、合計 3 回の誘導処置を施した。

惹起：最終誘導暴露から 14 日後に、検体と対照群の動物の被毛を刈毛し、右側腹部に検体の 50w/w%液を 6 時間貼付した。陽性対照群およびその対照群にも、同様に DNCB 液を閉鎖塗布した。6 時間後に貼付をはがし、処置部位を水で洗淨した。

試験項目：惹起暴露開始後、30 および 54 時間目に適用部位の紅斑および浮腫の程度を観察し、皮膚反応の強さを Draize の方法に従って、紅斑は 4 段階（0～3）および浮腫は 5 段階（0～4）に評点した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈パンチョ TF くん煙剤－急毒・刺激・感作性〉

結 果 : 観察した刺激性変化の平均スコアは以下の表のとおりである。

群	惹起	感作	動物数	平均評価点		陽性率	
				30 時間	54 時間	30 時間	54 時間
陰性対照	純水	NF-154 くん煙剤 (50%)	10	0.0	0.0	0	0
NF-154 くん煙剤	NF-154 くん煙剤 (50%)	NF-154 くん煙剤 (50%)	20	0.8	0.9	80	90
陽性対照	DNCB (0.5%)	DNCB (0.1%)	10	2.2	1.8	100	100

惹起処理後の観察において散在性または斑状の紅斑が 54 時間目に 20 例中 18 例に認められた。平均評価点は 0.9、陽性率は 90%であった。

以上の結果から、パンチョ TF くん煙剤はモルモットの皮膚に対して感作性を有すると判断された。

IX. 動植物および土壌等における代謝分解

(代謝分解試験一覧表)

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載ページ
運命-1 GLP	動物体内における代謝 1)排泄/組織分布	ラット	低投与量/高投与量 単回経口投与群 (1c・1d群) 168時間尿、糞排泄率測定 168時間後組織内分布測定	低投与量：尿：雄31.07%、雌17.86%、糞：雄66.32%、雌80.79% ケージ洗浄：雄0.30%、雌0.17% 体内残留：雄0.49%、雌0.40% 総回収率：雄98.18%、雌99.20% 高投与量：尿：雄23.56%、雌10.46%、糞：雄76.88%、雌88.41% ケージ洗浄：雄0.20%、雌0.17% 体内残留：雄0.16%、雌0.17% 総回収率：雄100.80%、雌99.21%	Huntingdon Life Sciences Ltd. (2000)	運命7
	動物体内における代謝 2)血中濃度	ラット	低投与量/高投与量 単回経口投与群 (2a・2b群) 120時間血中濃度測定	低投与量：血漿中半減期(hr)： 雄15.5、雌14.2 Tmax(hr)：雄4、雌1 Cmax(μg/g)：雄1.35、雌0.804 AUC ₁₂₀ (μg×時間/mL)： 雄28.7、雌15.2 高投与量：血漿中半減期(hr)： 雄19.4、雌34.1 Tmax(hr)：雄12、雌6 Cmax(μg/g)：雄17.7、雌6.24 AUC ₁₂₀ (μg×時間/mL)： 雄574、雌285		運命10
	動物体内における代謝 3)組織分布	ラット	低投与量/高投与量 単回経口投与群 (3a・3b群) 72時間組織内分布測定	全ての採取時間で雌雄ともに血漿濃度より高い組織は肝臓、腎臓、脂肪で半減期は13.9~56.8時間 血漿の半減期は14.7~19.9時間 半減期の最長は3a群雌の脂肪で56.8時間		運命13
	動物体内における代謝 4)反復投与 組織分布/ 排泄	ラット	低投与量14回反復 経口投与群 (4a・4b群) 14回投与後、4、24、 168時間後、組織 内分布測定 連投1、5、10、14回 後24時間および 14回後168時間 尿、糞排泄率測定	全ての採取時間で雌雄ともに血漿濃度より高い組織は肝臓、腎臓、脂肪、副腎、脳下垂体、甲状腺で半減期は31.4~66.6時間 血漿の半減期は38.1~45.3時間 半減期の最長は雌の赤血球で231時間 投与14回後168時間の排泄率は 尿：雄35.15%、雌17.54% 糞：雄93.37%、雌111.14%		運命17
	動物体内における代謝 5)胆汁排泄	ラット	低投与量/高投与量 単回経口投与群 (5a・5b群) 48時間胆汁排泄率 測定	胆汁排泄率 低投与量：雄60.58%、雌77.43% 高投与量：雄33.54%、雌43.18% 消化管吸収率は低投与量で70.4~ 85.3%、高投与量で40.6~50.8%		運命20

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<代謝運命試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載ページ
運命-1 GLP	動物体内における代謝 6)排泄物中代謝物の分析	ラット	単回投与 1c, 1d 群, 14 回反復投与 4b, 5a, 5b 群の排泄物を用いて代謝物を分析	単回投与と反復投与の代謝物に質的な差異なし 主たる代謝物 糞: 尿: 胆汁:	Huntingdon Life Sciences Ltd. (2000)	運命-22
	動物体内における代謝 7)組織中代謝物の分析	ラット	単回投与 3a, 3b 群, 14 回反復投与 4a 群の組織を用いて代謝物を分析	単回投与と反復投与の代謝物に質的な差異なし 主たる代謝物 血漿: 肝臓: 腎臓: 脂肪:		運命-27
運命-2 GLP	植物体内における代謝	きゅうり	10%WDG, 4000 倍希釈液相当を 2000 L/ha の割合 (50 g ai/ha 相当)または 1000 倍希釈液相当を 2000 L/ha の割合(200 g ai/ha 相当)で鉢植えのきゅうりに 1 回散布処理後、経時的に採取	通常薬量散布の残留量 (果実/葉・親換算 mg/kg) 0 日後: 0.06/ 2.97 3 日後: 0.07/ 2.44 7 日後: 0.08/ 2.12 14 日後: 0.02/ 1.87 通常薬量散布 14 日後の果実の残留物(%TRR, mg/kg): 親化合物: 54.95/0.019	(株)日曹分析センター (1999)	運命-30
運命-3 GLP	植物体内における代謝	りんご	10%WDG, 2000 倍希釈液相当を 5400 L/10a の割合 (270g ai/ha 相当)で、りんごに 1 回散布処理後、経時的に採取	残留量 (果実/葉・親換算 mg/kg) 0 日後: - / 12.5 3 週間後: 0.077/ 0.973 6 週間後: 0.032/ 0.657 13 週間後: 0.018/ 0.773 果実 13 週間後の果実の残留物 (%TRR, mg/kg): 親化合物: 66.2/0.012	Huntingdon Life Sciences Ltd. (2000)	運命-36

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<代謝運命試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載ページ
運命-4 GLP	植物体内における代謝	小麦	5%EW, 400 倍希釈液相当を 200 L/10a の割合(25g ai/ha 相当)または 100 倍希釈液相当を 200 L/ha の割合 (100 g ai/ha 相当) で屋外コンテナの小麦に 2 回散布処理後、経時的に採取	通常薬量散布の残留量 (親換算 mg/kg) 青刈り-1: 0.796 青刈り-2: 0.654 わら-中間: 0.575 わら-成熟: 0.669 穀粒: 0.005 根-4: 0.140 わら、藎の主たる残留物: 親化合物,	Huntingdon Life Sciences Ltd. (株)日曹分析センター (1999)	運命-41
—	土壌における運命 (好氣的土壌)					運命-49
運命-5 GLP	土壌における運命 (好氣的土壌)	土壌 (長野 土壌)	好氣的条件下 0.3 mg/kg 乾土濃度で添加 180 日間経時的に測定	親の半減期: $DT_{50} = 5.4$ 日 $^{14}CO_2$ の発生率: 180 日で 1.98% 主たる代謝物(処理量%最大値): 非抽出残渣: 180 日で 55.4% 50~60%は 画分	(株)日曹分析センター (1999)	運命-50
—	土壌における運命 (嫌氣的土壌)				(株)日曹分析センター (1999)	運命-55
運命-6 GLP	土壌吸着	土壌 (日本 4 土壌) 十勝 牛久 愛知 高知	土壌: 5 g 振とう濃度: 0.025, 0.075, 0.125, 0.250 mg/L 25±2°C 8 時間振とう	K_F : 22.2 ~ 36.0 K_{ROC} : 1003 ~ 2100 回収率 96.6 ~ 97.5%	(株)日曹分析センター (1999)	運命-56
運命-7 GLP	加水分解 運命	PH 4, 5, 7 および 9 緩衝液	0.025 mg/L 溶液 予備: pH 4, 5, 7, 9 50°C で 5 日間 本試験: pH 9 20, 35, 50°C で 60 日間測定	pH 4, pH 5, pH 7: 安定 pH 9 の推定半減期: 7~642 日 主たる分解物(35°Cでの処理量%最大値):	(株)日曹分析センター (1999)	運命-58
運命-8 GLP	水中光分解 運命	蒸留水 河川水	0.13 mg/L 溶液 30 日間照射	半減期 蒸留水: 594 日 河川水: 288 日 主たる分解物(河川水での処理量%最大値):	(株)日曹分析センター (1999)	運命-61

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<標識化合物>

〈代謝分解試験に用いた標識化合物〉

以下の標識化合物を代謝分解試験および環境化学試験に用いた。

この標識化合物は英国

Amersham Pharmacia Biotech 社で合成した。

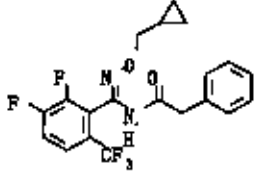
1. シフルフェナミド

比放射能：

放射化学的純度：

この標識化合物の合成経路を以下に示す。

(代謝物一覧)

由来	略称	化学名	構造式
親化合物	シワフエナド NF-149	(2-N[α-(シクロプロピル)トキシル]-2,3-ジ フルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジル]-2-フェニル セナド	
動物 植物 加水分解 水中光分解			
動物 植物 土壌 加水分解 水中光分解			
動物 土壌 加水分解 水中光分解			
動物 土壌			
土壌			
動物			
動物 植物			
植物			
動物			

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<代謝物一覧>

由来	略称	化学名	構造式
動物 植物			
動物			
動物			
動物			
動物			
植物			
植物			
植物			

1. 動物体内運命に関する試験

¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いたラットにおける代謝試験

(資料 No. 運命-1)

試験実施機関：Huntingdon Life Science Ltd.

報告書作成年：2000年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[] シフルフェナミド

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試動物：

Sprague-Dawley ラット

週齢 (最初の投与時)： 6 - 10 週齢

体重 (最初の投与時)： 180-240 g

群の設定と投与方法：

標識シフルフェナミドを下表に示す各試験系でラットに投与した。

亜急性試験の結果から、毒性作用のない低投与量 10 mg/kg とわずかな毒性影響が認められる高投与量 200 mg/kg を設定した。投与経路は経口投与、投与回数は単回および反復投与(1日1回、14日間)で、投与薬液として 0.5% Tween 80 を含む、1% methyl cellulose を担体とする水溶液を用いた。

項目	実験群	実験の種類	設定投与量 (mg/kg)
(1)	1c	排泄収支/組織分布	10
	1d	排泄収支/組織分布	200
(2)	2a	血中濃度	10
	2b	血中濃度	200
(3)	3a	組織分布	10
	3b	組織分布	200
(4)	4a	組織分布(反復投与)	10
	4b	排泄収支/組織分布(反復投与)	10
(5)	5a	胆汁排泄	10
	5b	胆汁排泄	200
(6)	1c, 1d, 4b, 5a, 5b	排泄物中の代謝物分析	—
(7)	3a, 3b, 4a	組織中の代謝物の分析	—

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・排泄/分布>

(1) 排泄収支/組織分布実験

試験方法：低投与量(1c群)、高投与量(1d群)の2投与量で1回強制経口投与し、尿(ケージ洗浄液を含む)および糞を投与168時間後まで経時的に採取し、¹⁴C排泄率を計算した。また尿、糞試料採取終了時(168時間)に屠殺し、組織/器官を採取して放射能を測定し組織内分布率を算出した。

群	比放射能	供試動物数 (平均体重)	投与量 (mg/kg)	投与方法	試験項目
1c	雌雄共 dpm/μg	雄4匹 (222g) 雌4匹 (207g)	低投与量 10.3	1回経口	168時間尿、糞排泄率 168時間後組織内分布
1d	雌雄共 dpm/μg	雄4匹 (198g) 雌4匹 (199g)	高投与量 191.2	1回経口	168時間尿、糞排泄率 168時間後組織内分布

試験結果：

尿、糞、組織中¹⁴C排泄率の測定結果を下表に示す。

低投与量の経口投与予備試験で、投与24時間までに呼気に放射能が検出されなかったため、呼気の測定は行わなかった。

¹⁴ C-シプロフェナミド投与168時間後の排泄率% (累積排泄率%)				
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・1回 (1c群)		高投与量 200 mg/kg 経口・1回 (1d群)	
	雄	雌	雄	雌
尿 0-12 h	20.12 (20.12)	10.39 (10.39)	12.15 (12.15)	3.71 (3.71)
尿 12-24 h	7.72 (27.84)	4.73 (15.12)	7.91 (20.06)	3.41 (7.12)
尿 24-48 h	1.96 (29.80)	1.67 (16.79)	2.35 (22.41)	2.11 (9.23)
尿 48-72 h	0.59 (30.39)	0.56 (17.35)	0.55 (22.96)	0.65 (9.88)
尿 72-96 h	0.28 (30.67)	0.21 (17.56)	0.27 (23.23)	0.23 (10.11)
尿 96-120 h	0.17 (30.84)	0.14 (17.70)	0.16 (23.39)	0.15 (10.26)
尿 120-144 h	0.12 (30.96)	0.08 (17.78)	0.10 (23.49)	0.10 (10.36)
尿 144-168 h	0.12 (31.08*)	0.08 (17.86)	0.07 (23.56)	0.10 (10.46)
尿 小計	31.07	17.86	23.56	10.46
糞 0-24 h	54.73 (54.73)	57.21 (57.21)	68.20 (68.20)	69.97 (69.97)
糞 24-48 h	9.20 (63.93)	13.36 (70.57)	6.55 (74.75)	14.26 (84.23)
糞 48-72 h	1.54 (65.47)	8.26 (78.83)	1.44 (76.19)	2.67 (86.90)
糞 72-96 h	0.46 (65.93)	1.02 (79.85)	0.40 (76.59)	0.97 (87.87)
糞 96-120 h	0.23 (66.16)	0.40 (80.25)	0.17 (76.76)	0.35 (88.22)
糞 120-144 h	0.10 (66.26)	0.42 (80.67)	0.09 (76.85)	0.14 (88.36)
糞 144-168 h	0.07 (66.33*)	0.12 (80.79)	0.05 (76.90*)	0.07 (88.43*)
糞 小計	66.32	80.79	76.88	88.41
ケージ洗浄液	0.30	0.17	0.20	0.17
ラット体内残存	0.49	0.40	0.16	0.17
総回収率	98.18	99.20	100.80	99.21

*:合計の平均値(小計)と平均値の合計(累積)は四捨五入の関係で一致しないことがある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・排泄/分布>

14C-シフルフェナミド投与後168時間の組織内 シフルフェナミド換算濃度(μg/g)および分布率(投与量%)				
群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (1c 群)		高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (1d 群)	
	雄	雌	雄	雌
副腎	0.102 (<0.01)	0.078 (<0.01)	0.54 (<0.01)	0.49 (<0.01)
骨	<0.022 (<0.02)	<0.025 (<0.01)	<0.16 (<0.01)	0.29 (0.01)
骨髓	0.082 (<0.01)	<0.191 (<0.01)	<0.40 (<0.01)	<0.54 (<0.01)
脳	0.027 (<0.01)	0.018 (<0.01)	<0.16 (<0.01)	0.15 (<0.01)
屍体*	0.056 (0.49)	0.053 (0.40)	- (0.16)	- (0.17)
副睾丸	0.029 (<0.01)	-	0.37 (<0.01)	-
脂肪	0.023 (0.02)	0.071 (0.05)	0.32 (0.02)	1.57 (0.07)
消化管**	0.031 (0.05)	0.057 (0.05)	0.35 (0.03)	0.68 (0.04)
心臓	0.120 (0.01)	0.081 (<0.01)	0.39 (<0.01)	0.38 (<0.01)
腎臓	0.261 (0.03)	0.218 (0.02)	1.46 (0.01)	1.30 (0.01)
肝臓	0.481 (0.33)	0.664 (0.28)	2.87 (0.11)	5.92 (0.15)
肺	0.047 (<0.01)	0.051 (<0.01)	0.46 (<0.01)	0.43 (<0.01)
筋肉	0.065 (0.38)	0.051 (0.24)	0.22 (0.07)	0.25 (0.07)
卵巣	-	0.036 (<0.01)	-	0.38 (<0.01)
脾臓	0.054 (<0.01)	0.039 (<0.01)	0.25 (<0.01)	0.32 (<0.01)
脳下垂体	0.080 (<0.01)	<0.081 (<0.01)	<1.49 (<0.01)	<1.39 (<0.01)
前立腺	0.019 (<0.01)	-	0.16 (<0.01)	-
精囊	0.021 (<0.01)	-	0.11 (<0.01)	-
皮膚	0.050 (0.12)	0.038 (0.07)	0.34 (0.05)	0.27 (0.03)
脾臓	0.027 (<0.01)	0.025 (<0.01)	0.22 (<0.01)	0.25 (<0.01)
精巣	0.018 (<0.01)	-	0.15 (<0.01)	-
甲状腺	<0.063 (<0.01)	<0.087 (<0.01)	<0.72 (<0.01)	<0.79 (<0.01)
子宮	-	0.030 (<0.01)	-	0.46 (<0.01)
全血	0.060 (0.05)	0.065 (0.05)	0.62 (0.03)	0.57 (0.02)
血漿*	0.019 (0.01)	0.014 (0.01)	0.20 (0.01)	0.15 (<0.01)
赤血球*	0.096 (0.04)	0.105 (0.03)	1.03 (0.02)	1.03 (0.02)
回収率*	- (0.99)	- (0.74)	- (0.32)	- (0.37)

*: 屍体、血漿および赤血球は回収率の計算に含まれていない。

** : 胃および内容物を含む

低投与量では投与後 168 時間に、雄および雌でそれぞれ投与量の 31.1%および 17.9%が尿中に、66.3%および 80.8%が糞中に排泄された。屠殺後、雄および雌でそれぞれ投与量の 0.5%および 0.4%が屍体に残った。その放射能のほとんどが筋肉(雄 0.4%、雌 0.2%)および肝臓(雄および雌で 0.3%)で回収された。全体の回収率(屍体を含むが組織は除いて)は、雄および雌でそれぞれ投与量の 98.2%および 99.2%となった。

高投与量では投与後 168 時間に、雄および雌でそれぞれ投与量の 23.6%および 10.5%が尿中に、76.9%および 88.4%が糞中に排泄された。屠殺後、雄および雌でともに 0.2%が屍体に残った。その放射能のほとんどが肝臓(雄 0.1%、雌 0.2%)および筋肉(雄および雌で 0.1%)に回収された。全体の回収率(屍体を含むが組織は除く)は、雄および雌でそれぞれ投与量の 100.8%および 99.2%であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・血中濃度>

(2) 血中濃度

試験方法：低投与量(2a群)、高投与量(2b群)の2投与量で1回強制経口投与した。動物は10匹(各性5匹)毎の3群を設け、各群につき以下の時間に血液を尾静脈から採取し、遠沈後血漿および赤血球の放射能を測定した。

第1群：処理前、1、4、24、96時間

第2群：0.25、2、6、48、120時間

第3群：0.50、3、12、72時間

血漿および赤血球の平均放射能濃度の最大値 (C_{max}) および最大値になった時間 (T_{max}) は実験で観察された数値とした。投与後120時間までの血漿および赤血球の濃度・時間曲線下面積 (AUC_{120}) を一次台形公式により計算した。2-コンパートメントモデルを用いて一次回帰分析を行い、消失相の速度定数 k_{10} およびそれに基づく半減期 ($\ln 2/k_{10} = t_{1/2}$) を計算した。

群	比放射能	供試動物数 (平均体重)	投与量 (mg/kg)	投与方法	試験項目
2a	雌雄共 dpm/ μ g	雄15匹 (210g) 雌15匹 (211g)	低投与量 雄10.1 雌10.2	1回経口	120時間、血中 (血漿、赤血球) 濃度
2b	雌雄共 dpm/ μ g	各雄15匹 (205g) 各雌15匹 (209g)	高投与量 雄186.6 雌190.4	1回経口	120時間、血中 (血漿、赤血球) 濃度

試験結果：

血漿、赤血球中の¹⁴C濃度推移の測定結果を下表に示す。

血漿中放射能濃度は、低投与量、高投与量ともに投与後ほぼ24時間までは赤血球中放射能濃度よりも高かった。しかし、血漿中放射能濃度は赤血球中放射能濃度よりも急速に減少したため、24時間以降では赤血球中放射能濃度が血漿中放射能濃度よりも高くなった。

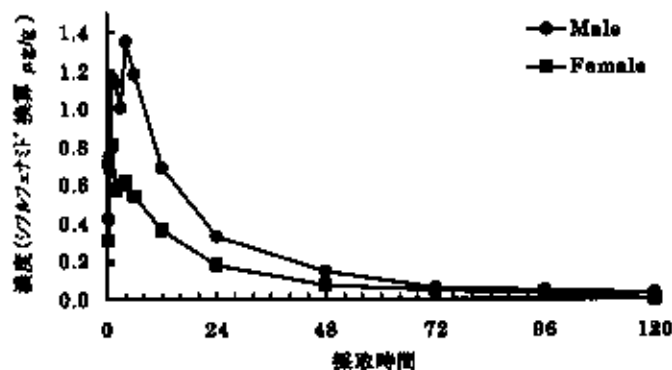
本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <動物体運命・血中濃度>

血漿中濃度 (シフルフェナミド換算 $\mu\text{g/g}$)					
投与量群		低投与量 10 mg/kg 経口・2a群		高投与量 200 mg/kg 経口・2b群	
性		雄	雌	雄	雌
経過 時間 (h)	投与前	<0.026	<0.026	<0.46	<0.46
	0.25	0.421	0.310	0.98	0.74
	0.5	0.746	0.698	2.59	1.99
	1	1.16	0.804	5.01	2.87
	2	1.13	0.572	6.79	4.30
	3	1.00	0.595	10.4	3.94
	4	1.35	0.618	12.4	4.83
	6	1.18	0.536	14.5	6.24
	12	0.689	0.358	17.7	4.81
	24	0.328	0.177	7.32	4.04
	48	0.147	0.075	4.25	2.58
	72	0.059	0.048	2.01	1.55
	96	0.046	0.035	1.06	0.83
120	0.034	<0.025	0.74	0.66	

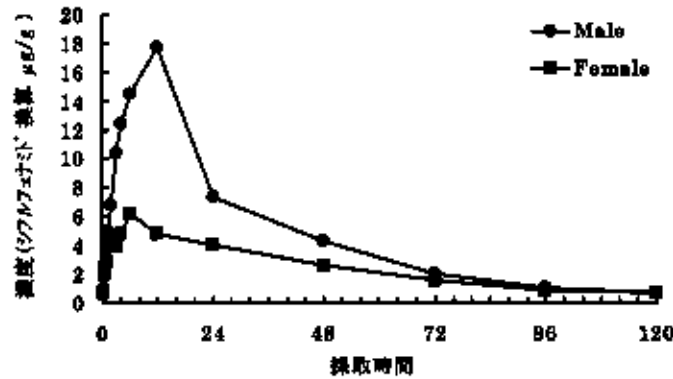
赤血球中濃度 (シフルフェナミド換算 $\mu\text{g/g}$)					
投与量群		低投与量 10 mg/kg 経口・2a群		高投与量 200 mg/kg 経口・2b群	
性		雄	雌	雄	雌
経過 時間 (h)	投与前	<0.036	<0.036	<0.59	<0.59
	0.25	0.182	0.157	<0.63	<0.59
	0.5	0.301	0.341	1.10	1.45
	1	0.487	0.400	2.32	2.18
	2	0.496	0.310	2.96	2.36
	3	0.424	0.346	4.34	2.47
	4	0.656	0.383	6.77	3.32
	6	0.524	0.328	6.90	3.58
	12	0.418	0.320	9.49	3.39
	24	0.297	0.218	5.99	3.64
	48	0.187	0.152	5.22	3.16
	72	0.120	0.149	3.30	2.55
	96	0.119	0.123	2.43	2.05
120	0.106	0.099	2.22	1.84	

血漿中濃度推移曲線を下に示す。

低投与量群(血漿)



高投与量群(血漿)



試料	動力学 パラメータ	低投与量		高投与量	
		雄	雌	雄	雌
血漿	C _{max} (µg equiv./ml)	1.35	0.804	17.7	6.24
	T _{max} (hours)	4	1	12	6
	AUC ₁₂₀ (µg equiv. h/ml)	28.7	16.2	574	285
	t _{1/2} (hours)	15.5	14.2	19.4	34.1
赤血球	C _{max} (µg equiv./g)	0.656	0.400	9.49	3.64
	T _{max} (hours)	4	1	12	24
	AUC ₁₂₀ (µg equiv. h/g)	25.1	21.2	530	331
	t _{1/2} (hours)	-*	70.8	-*	-*

* 推定値の標準誤差が大きかったので信頼できる値は得られなかった。

血漿中濃度の半減期は、低投与量群で雄 15.5 時間、雌 14.2 時間、高投与量群で雄 19.4 時間、雌 34.1 時間であった。最高血漿濃度(C_{max})は、両投与量の雌雄において赤血球よりも血漿の方が約 2 倍高く、低投与量群では、雄で 1.35 µg/g、雌で 0.804 µg/g であり、高投与量群では、雄で 17.7 µg/g、雌で 6.24 µg/g であった。最高血漿濃度到達時間(T_{max})は、両投与量群共に 12 時間以内に最高血漿濃度に到達し、個体差によるばらつきが見られたが高投与量群のほうが低投与量群よりも長くなる傾向が見られた。また、血漿と赤血球の T_{max} は、ほぼ同じであった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・組織分布>

(3) 単回投与での組織への分布

試験方法：低投与量(3a群)、高投与量(3b群)の2投与量で1回強制経口投与した。低投与量群では投与後 T_{max} (4時間)、24、48 および 72 時間に、高投与量群では投与後 T_{max} (雄：12時間、雌：6時間)、24、48 および 72 時間に屠殺した。屠殺直前に各動物の血液を心臓穿刺により採血し、全血の一部を遠心して血漿と赤血球を採取した。以下の組織/器官を採取した。

副腎、骨(大腿骨)、骨髓(大腿骨)、脳、副辜丸(雄)、脂肪(腹部)、消化管(内容物を含む)、心臓、腎臓、肝臓、肺臓、筋肉(骨格筋)、卵巣(雌)、脾臓、脳下垂体、前立腺(雄)、精囊(雄)、皮膚、脾臓、精巣(雄)、甲状腺、子宮(雌) および屍体。

消失相における半減期は C_{max} から始まる3点を用いて一次回帰分析により計算した。

群	比放射能	供試動物数 (平均体重)	投与量 (mg/kg)	投与方法	試験項目
3a	雌雄共 21800 dpm/ μ g	雄 16 匹 (212 g) 雌 16 匹 (209 g)	低投与量 雄 8.92 雌 8.76	1回経口	4, 24, 48, 72 時間後 組織分布
3b	雌雄共 1110 dpm/ μ g	雄 16 匹 (213 g) 雌 16 匹 (210 g)	高投与量 雄 201.9 雌 200.1	1回経口	雄 12, 24, 48, 72 時間後 組織分布 雌 6, 24, 48, 72 時間後 組織分布

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・組織分布>

試験結果：組織臓器の¹⁴C濃度推移の測定結果を下表に示す。

組織内 シフルフェナミド換算濃度・g/gおよび分布率(投与量%)				
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (3a 群)			
性	雄			
採取時間	4 時間	24 時間	48 時間	72 時間
副腎	0.708 (<0.01)	0.233 (<0.01)	0.154 (<0.01)	0.137 (<0.01)
骨	0.118 (0.06)	0.038 (0.03)	0.023 (0.01)	0.019 (0.01)
骨髓	0.317 (0.01)	0.229 (0.01)	0.107 (<0.01)	0.092 (<0.01)
脳	0.197 (0.02)	0.088 (0.01)	0.055 (0.01)	0.042 (<0.01)
屍体	0.608 (4.64)	0.253 (1.93)	0.149 (1.28)	0.112 (0.96)
副睾丸	0.739 (0.01)	0.290 (0.01)	0.101 (<0.01)	0.069 (<0.01)
脂肪	1.510 (1.23)	0.965 (0.78)	0.332 (0.29)	0.192 (0.17)
消化管*	95.100 (92.51)	5.950 (6.86)	1.190 (1.52)	0.429 (0.56)
心臓	0.518 (0.03)	0.213 (0.01)	0.164 (0.01)	0.144 (0.01)
腎臓	3.000 (0.31)	0.849 (0.09)	0.594 (0.06)	0.403 (0.05)
肝臓	7.910 (3.94)	2.930 (1.57)	1.570 (0.90)	1.020 (0.62)
肺	0.978 (0.06)	0.230 (0.01)	0.110 (0.01)	0.079 (0.01)
筋肉	0.418 (2.18)	0.121 (0.62)	0.082 (0.45)	0.073 (0.41)
脾臓	0.995 (0.04)	0.209 (0.01)	0.110 (0.01)	0.082 (<0.01)
脳下垂体	0.240 (<0.01)	0.082 (<0.01)	0.050 (<0.01)	<0.077 (<0.01)
前立腺	0.497 (0.01)	0.260 (<0.01)	0.067 (<0.01)	0.038 (<0.01)
精囊	0.575 (0.01)	0.182 (<0.01)	0.088 (<0.01)	0.050 (<0.01)
皮膚	0.948 (1.96)	0.209 (0.43)	0.114 (0.25)	0.104 (0.23)
膵臓	0.576 (0.02)	0.134 (0.01)	0.056 (<0.01)	0.041 (<0.01)
精巣	0.439 (0.05)	0.119 (0.01)	0.051 (0.01)	0.034 (<0.01)
甲状腺	0.449 (<0.01)	0.116 (<0.01)	0.048 (<0.01)	0.062 (<0.01)
全血	0.627 (0.50)	0.237 (0.19)	0.133 (0.12)	0.095 (0.08)
血漿	0.799 (0.37)	0.248 (0.11)	0.107 (0.05)	0.068 (0.03)
赤血球	0.396 (0.14)	0.215 (0.08)	0.144 (0.05)	0.129 (0.05)
性	雌			
採取時間	4 時間	24 時間	48 時間	72 時間
副腎	1.210 (0.01)	0.361 (<0.01)	0.116 (<0.01)	0.091 (<0.01)
骨	0.071 (0.05)	0.018 (0.01)	<0.016 (<0.01)	<0.013 (<0.01)
骨髓	0.188 (0.01)	0.409 (0.02)	<0.137 (<0.01)	<0.167 (<0.01)
脳	0.151 (0.02)	0.042 (<0.01)	0.025 (<0.01)	0.019 (<0.01)
屍体	0.798 (6.48)	0.587 (4.83)	0.168 (1.44)	0.093 (0.78)
脂肪	2.550 (2.07)	2.560 (2.05)	1.510 (1.22)	0.542 (0.45)
消化管*	99.600 (85.99)	12.500 (10.02)	2.140 (1.63)	0.405 (0.36)
心臓	0.345 (0.02)	0.106 (<0.01)	0.085 (<0.01)	0.080 (<0.01)
腎臓	1.200 (0.11)	0.389 (0.04)	0.297 (0.03)	0.282 (0.03)
肝臓	5.520 (2.60)	2.840 (1.18)	1.490 (0.68)	1.130 (0.56)
肺	0.686 (0.04)	0.163 (0.01)	0.084 (0.01)	0.062 (<0.01)
筋肉	0.308 (1.60)	0.078 (0.40)	0.049 (0.25)	0.045 (0.24)
卵巣	1.110 (0.01)	0.421 (<0.01)	0.211 (<0.01)	0.106 (<0.01)
脾臓	1.260 (0.05)	0.257 (0.01)	0.093 (0.01)	0.048 (<0.01)
脳下垂体	0.190 (<0.01)	<0.055 (<0.01)	<0.042 (<0.01)	<0.066 (<0.01)
皮膚	1.040 (2.13)	0.188 (0.39)	0.108 (0.22)	0.074 (0.16)
膵臓	0.416 (0.01)	0.087 (<0.01)	0.036 (<0.01)	0.026 (<0.01)
甲状腺	0.605 (<0.01)	0.077 (<0.01)	<0.054 (<0.01)	0.055 (<0.01)
子宮	0.331 (0.01)	0.194 (0.01)	0.121 (0.01)	0.083 (<0.01)
全血	0.252 (0.20)	0.118 (0.10)	0.073 (0.06)	0.060 (0.05)
血漿	0.291 (0.13)	0.103 (0.05)	0.047 (0.02)	0.032 (0.02)
赤血球	0.206 (0.07)	0.126 (0.04)	0.098 (0.04)	0.089 (0.03)

*：胃および内容物を含む

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・組織分布>

組織内 シフルフェナミド換算・g/g濃度および分布率(投与量%)				
投与量群	高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (3b 群)			
性	雄			
採取時間	12 時間	24 時間	48 時間	72 時間
副腎	12.400 (<0.01)	4.040 (<0.01)	1.960 (<0.01)	0.980 (<0.01)
骨	2.090 (0.06)	0.780 (0.02)	0.500 (0.01)	0.360 (0.01)
骨髓	4.430 (0.01)	5.090 (0.01)	2.050 (<0.01)	<1.630 (<0.01)
脳	3.600 (0.02)	1.870 (0.01)	1.200 (0.01)	0.530 (<0.01)
屍体	25.490 (8.39)	6.870 (2.46)	2.590 (0.93)	1.210 (0.48)
副薬丸	26.000 (0.02)	9.400 (0.01)	4.160 (<0.01)	1.510 (<0.01)
脂肪	89.700 (3.09)	42.300 (1.55)	15.500 (0.58)	4.490 (0.19)
消化管*	722.000 (33.06)	129.000 (5.44)	10.700 (0.56)	3.970 (0.20)
心臓	8.150 (0.01)	3.250 (0.01)	1.840 (<0.01)	0.890 (<0.01)
腎臓	30.200 (0.12)	10.000 (0.05)	5.150 (0.02)	3.380 (0.02)
肝臓	85.000 (1.70)	28.300 (0.69)	12.700 (0.35)	7.760 (0.20)
肺	17.900 (0.05)	5.150 (0.02)	2.750 (0.01)	1.320 (<0.01)
筋肉	6.680 (1.47)	2.530 (0.60)	1.240 (0.30)	0.540 (0.14)
脾臓	18.400 (0.03)	5.650 (0.01)	1.880 (<0.01)	0.800 (<0.01)
脳下垂体	2.870 (<0.01)	1.000 (<0.01)	<0.900 (<0.01)	<1.330 (<0.01)
前立腺	21.000 (0.01)	7.650 (0.01)	2.800 (<0.01)	0.950 (<0.01)
精囊	11.400 (0.01)	4.270 (<0.01)	1.890 (<0.01)	0.790 (<0.01)
皮膚	19.100 (1.66)	5.060 (0.48)	2.380 (0.23)	1.380 (0.14)
脾臓	8.580 (0.01)	2.750 (0.01)	1.380 (<0.01)	0.640 (<0.01)
精巣	8.190 (0.04)	2.850 (0.01)	1.190 (0.01)	0.500 (<0.01)
甲状腺	5.680 (<0.01)	2.140 (<0.01)	<0.790 (<0.01)	<0.810 (<0.01)
全血	9.280 (0.32)	4.470 (0.16)	2.240 (0.09)	1.250 (0.05)
血漿	11.200 (0.22)	5.270 (0.11)	1.970 (0.04)	0.920 (0.02)
赤血球	6.720 (0.10)	4.180 (0.07)	2.780 (0.04)	1.660 (0.03)
性	雌			
採取時間	6 時間	24 時間	48 時間	72 時間
副腎	53.500 (0.01)	7.740 (<0.01)	3.740 (<0.01)	0.830 (<0.01)
骨	1.360 (0.04)	<0.650 (<0.02)	<0.320 (<0.01)	<0.300 (<0.01)
骨髓	3.270 (0.01)	3.260 (0.01)	<3.180 (<0.01)	<3.220 (<0.01)
脳	6.930 (0.03)	0.730 (<0.01)	0.660 (<0.01)	0.220 (<0.01)
屍体	29.040 (10.36)	10.500 (3.78)	6.230 (2.14)	1.410 (0.53)
脂肪	98.700 (3.48)	115.000 (4.08)	90.100 (3.06)	24.700 (0.94)
消化管*	2350.000 (77.49)	212.000 (6.98)	40.500 (1.49)	10.100 (0.39)
心臓	11.400 (0.02)	1.620 (<0.01)	1.210 (<0.01)	0.520 (<0.01)
腎臓	18.400 (0.07)	4.460 (0.02)	3.320 (0.01)	1.540 (0.01)
肝臓	69.500 (1.35)	21.800 (0.46)	20.600 (0.43)	9.300 (0.21)
肺	20.500 (0.05)	3.490 (0.01)	2.420 (0.01)	0.900 (<0.01)
筋肉	9.010 (2.04)	1.530 (0.36)	1.400 (0.30)	0.350 (0.09)
卵巣	26.400 (0.01)	12.200 (<0.01)	12.400 (0.01)	2.530 (<0.01)
脾臓	24.300 (0.03)	4.250 (0.01)	2.770 (0.01)	0.700 (<0.01)
脳下垂体	3.300 (<0.01)	<0.850 (<0.01)	<0.940 (<0.01)	1.720 (<0.01)
皮膚	40.100 (3.60)	6.470 (0.59)	2.900 (0.25)	1.480 (0.15)
脾臓	7.330 (0.01)	1.520 (<0.01)	1.050 (<0.01)	0.370 (<0.01)
甲状腺	12.300 (<0.01)	1.240 (<0.01)	0.890 (<0.01)	<0.910 (<0.01)
子宮	8.170 (0.01)	3.180 (<0.01)	4.360 (0.01)	1.170 (<0.01)
全血	4.280 (0.15)	1.860 (0.06)	1.510 (0.05)	0.630 (0.03)
血漿	5.520 (0.11)	1.370 (0.03)	1.190 (0.02)	0.340 (0.01)
赤血球	3.740 (0.06)	1.410 (0.02)	1.990 (0.03)	0.960 (0.02)

*: 胃および内容物を含む

組織/臓器の¹⁴C濃度の半減期を下表に示す。

組織内放射能濃度の半減期(時間)				
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・1回 3a 群		高投与量 200 mg/kg 経口・1回 3b 群	
	雄	雌	雄	雌
副腎	20.3	13.1	14.4	11.3
骨	18.9	**	18.9	-
骨髓	27.8	-	29.2	-
脳	24.2	17.2	24.1	13.0
屍体	21.9	19.3	11.5	19.4
副睾丸	15.3	-	14.3	-
脂肪	19.9	56.8	14.5	21.7
消化管*	7.0	8.0	6.0	7.3
心臓	27.1	22.3	17.9	13.5
腎臓	19.2	22.3	15.0	17.7
肝臓	19.0	23.4	13.9	25.2
肺	14.1	14.7	14.4	14.2
筋肉	19.1	16.9	15.6	16.5
卵巣	-	18.5	-	40.8
脾臓	14.1	11.8	11.4	13.9
脳下垂体	19.7	-	-	-
前立腺	15.1	-	12.8	-
精囊	16.4	-	14.6	-
皮膚	14.6	13.7	12.9	11.4
膵臓	13.2	12.6	14.6	15.5
精巣	14.3	-	13.6	-
甲状腺	13.8	-	-	11.6
子宮	-	30.4	-	51.7
全血	19.9	24.9	18.2	30.0
血漿	15.3	16.9	14.7	19.9
赤血球	30.4	41.5	29.6	51.7

*: 胃および内容物を含む

**: データなし

低投与量の単回経口投与後4時間(T_{max})において、組織濃度は、消化管(含内容物)(雄95.1 µg/g、雌99.6 µg/g)および肝臓(7.91 µg/g、雌5.52 µg/g)で最も高かった。72時間後において、全組織の濃度は4時間後に比較して減少した。血漿より濃度の高い組織は肝臓、脂肪、消化管、副腎、骨髓(雄)、副睾丸、脂肪(雄)、心臓、腎臓、肺、筋肉、卵巣、脾臓、皮膚、胸腺(雌)、子宮、全血および赤血球であった。

高投与量の単回経口投与後T_{max}(雄で12時間、雌で6時間)において、組織濃度は、消化管(含内容物)(雄722 µg/g、雌2350 µg/g)、脂肪(雄89.7 µg/g、雌98.7 µg/g)、肝臓(85.0 µg/g、雌69.5 µg/g)および副腎(雌53.5 µg/g)で最も高かった。72時間後において、全組織で組織濃度は4時間後に比較して減少した。

低投与量での消失半減期は雄および雌でそれぞれ7.0-30.4時間および8.0-56.8時間の範囲であった。組織の半減期は、血漿の値の約3.4倍であった雌の脂肪を除いて、血漿の値(雄15.3時間、雌16.9時間)より小さかった。高投与量での消失半減期は雄および雌でそれぞれ6.0-29.6時間および7.3-51.7時間であり、血漿の値(雄14.7時間、雌19.9時間)の2倍未満であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・反復投与・排泄/分布>

(4) 反復投与での組織分布および排泄収支

試験方法：低投与量 1日1回 14日間反復経口投与した。最終投与後、4および24時間に屠殺した(4a群)。また同様に経口投与し、投与1、5および10回目の後24時間、最終投与後24時間および168時間の尿および糞を集め、168時間に屠殺した(4b群)。

屠殺直前に血液を心臓穿刺により採血し、全血の一部を遠心して血漿と赤血球を採取した。以下の組織/器官を採取した。

副腎、骨(大腿骨)、骨髓(大腿骨)、脳、副辜丸(雄)、脂肪(腹部)、消化管(内容物を含む)、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉(骨格筋)、卵巣(雌)、膵臓、脳下垂体、前立腺(雄)、貯精囊(雄)、皮膚、脾臓、精巣(雄)、甲状腺、子宮(雌)および屍体。

消失相における半減期は3点を用いて一次回帰分析により計算した。

群	比放射能	投与日(日)	供試動物数(平均体重)	投与量(mg/kg)	投与方法	試験項目
4a	雌雄 10900 dpm/μg	連続 14日間	雄雌各8匹 (207-305 g)	8.69 ~10.4	14回経口	4, 24時間 組織分布
4b	雌雄 10900 dpm/μg	連続 14日間	雄雌各4匹 (208-311 g)	8.98 ~10.3	14回経口	排泄収支/ 168時間 組織分布

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・反復投与・排泄/分布>

試験結果：組織/臓器の¹⁴C濃度推移の測定結果および半減期を下表に示す。

組織内 シフルフェナミド換算濃度(・g/g) および半減期(時間)								
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・14回 (4a+4b群)							
	雄				雌			
採取時間	4時間	24時間	168時間	半減期	4時間	24時間	168時間	半減期
副腎	2.730	1.330	0.311	57.3	2.800	1.020	0.345	64.2
骨	0.174	0.089	0.041	92.4	0.111	<0.061	0.028	**
骨髓	0.870	0.458	0.230	100.5	0.823	0.473	<0.469	-
脳	0.505	0.367	0.075	60.8	0.343	0.160	0.066	80.6
屍体	1.470	1.120	0.298	73.0	2.120	1.540	0.271	55.9
副睾丸	1.440	0.705	0.113	47.8	-	-	-	-
脂肪	3.280	2.000	0.091	31.9	9.980	7.650	0.284	31.4
消化管*	142.000	15.200	0.142	18.0	129.000	18.400	0.222	19.4
心臓	1.220	0.779	0.250	77.0	0.888	0.578	0.247	97.6
腎臓	6.970	3.290	0.764	59.8	2.690	1.430	0.764	108.3
肝臓	16.200	7.600	1.340	49.5	12.900	6.990	2.070	68.0
肺	1.820	0.898	0.172	52.1	1.370	0.664	0.180	62.4
筋肉	0.756	0.461	0.154	77.9	0.581	0.310	0.154	100.5
卵巣	-	-	-	-	2.680	1.750	0.172	42.0
脾臓	1.630	0.677	0.152	53.7	2.120	0.724	0.141	47.5
脳下垂体	2.220	0.860	0.301	66.6	1.110	1.370	<0.343	-
前立腺	1.870	0.650	0.068	35.5	-	-	-	-
精囊	1.060	0.363	0.060	44.4	-	-	-	-
皮膚	1.220	0.575	0.108	51.0	2.000	1.140	0.155	46.5
脾臓	1.030	0.478	0.145	65.4	0.747	0.325	0.182	100.5
精巣	0.681	0.378	0.060	49.2	-	-	-	-
甲状腺	3.220	1.050	0.331	59.2	2.980	1.530	0.307	53.7
子宮	-	-	-	-	0.704	0.361	0.062	49.9
血漿	1.590	0.749	0.069	38.1	0.684	0.286	0.044	45.3
赤血球	1.600	1.380	0.672	133.3	1.200	1.020	0.706	231.0
全血	1.510	0.986	0.334	80.6	0.910	0.621	0.344	130.8

*： 胃および内容物を含む

**： データなし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <動物体運命・反復投与・排泄/分布>

排泄物中の ^{14}C 排泄率の測定結果を下表に示す。

^{14}C -シフルフェナミド投与後の排泄率%* (4b 群)										
試料	採取時間									
	投与 1 回後の 24 時間		投与 5 回後の 24 時間		投与 10 回後の 24 時間		投与 14 回後の 24 時間		投与 14 回後の 168 時間	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	16.34	10.05	19.98	10.09	26.61	13.91	28.38	12.65	35.15	17.54
糞	72.79	80.23	76.90	77.38	76.64	70.42	77.83	68.02	93.37	111.14
合計	89.13	90.28	96.88	87.47	103.25	84.33	106.21	80.67	128.52	128.68

*: 各々の投与に対する割合であり累積排泄率ではない。

最終投与後、低投与量単回経口投与での血漿の T_{\max} である 4 時間の組織濃度は、消化管 (含内容物) (雄 142 $\mu\text{g/g}$ 、雌 129 $\mu\text{g/g}$)、肝臓 (雄 16.2 $\mu\text{g/g}$ 、雌 12.9 $\mu\text{g/g}$) および脂肪 (雌 10.0 $\mu\text{g/g}$) で最も高かった。最終投与 168 時間後において、全組織で放射能濃度は 4 時間後の屠殺時に比較して減少した。肝臓の濃度は高く、血漿を越える濃度が副腎、骨髄 (雄)、脳、副睾丸、脂肪、消化管 (含内容物)、心臓、腎臓、肺、筋肉、卵巣、脾臓、下垂体 (雄)、皮膚、脾臓、胸腺、子宮、赤血球および全血で検出された。

組織における半減期は雄および雌でそれぞれ 18.0-100.5 時間および 19.4-231.0 時間であった。組織の半減期は、血漿の値の約 5.1 倍であった雌の赤血球の半減期を除いて、血漿の値 (雄 38.1 時間、雌 45.3 時間) の 3 倍未満であった。

反復経口投与時の、1、5、10 回目の投与後 24 時間および 14 回目の投与後 168 時間での排泄率は尿では雄および雌でそれぞれ 1 日投与量の 16.34-35.15% および 10.05-17.54% であった。同期間の糞への排泄率は 1 日投与量の雄で 72.79-93.37%、雌で 68.02-111.14% であった。

以上の排泄率の結果より、糞への排泄が尿より高く、尿排泄率では雌より雄で高いことから 14 日間反復経口投与における排泄パターンは単回経口投与と類似していた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・胆汁排泄>

(5) 胆汁排泄

試験方法：低投与量(5a 群)、高投与量(5b 群)の2投与量で胆管カニューレションしたラットに1回強制経口投与した。胆汁は投与後0-3、3-6、6-12、12-24 および24-48 時間で採取した。尿および糞は投与後0-12、12-24 および24-48 時間で採取した。48 時間に動物を屠殺し、消化管(内容物を含む)、肝臓および屍体を採取し分析した。

群	比放射能	供試動物数 (平均体重)	投与量 (mg/kg)	投与方法	試験項目
5a	雄 dpm/μg	雄4匹 (214g)	低投与量 雄10.0 雌8.87	1回経口	48時間、胆汁排泄率、 吸収率
	雌 dpm/μg	雌4匹 (219g)			
5b	雌雄共 dpm/μg	雄4匹 (212g) 雌4匹 (200g)	高投与量 雄191.7 雌182.6	1回経口	48時間、胆汁排泄率、 吸収率

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・胆汁排泄>

試験結果：

尿、糞、胆汁、組織中¹⁴C排泄率の測定結果を下表に示す。

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後の排泄率% (累積排泄率%)				
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・1回 5a 群		高投与量 200 mg/kg 経口・1回 5b 群	
	雄	雌	雄	雌
尿 0-12 h	2.54 (2.54)	2.41 (2.41)	0.86 (0.86)	0.65 (0.65)
尿 12-24 h	3.75 (6.29)	2.15 (4.56)	3.57 (4.43)	1.70 (2.35)
尿 24-48 h	2.02 (8.31)	0.87 (5.43)	1.32 (5.75)	1.06 (3.41)
尿 小計	8.31	5.42	5.75	3.40
胆汁 0-3 h	10.12 (10.12)	17.73 (17.73)	1.33 (1.33)	3.61 (3.61)
胆汁 3-6 h	10.99 (21.11)	14.60 (32.33)	2.46 (3.79)	3.75 (7.36)
胆汁 6-12 h	20.94 (42.05)	22.13 (54.46)	5.64 (9.43)	6.76 (14.12)
胆汁 12-24 h	15.62 (57.67)	18.43 (72.89)	16.79 (26.22)	20.21 (34.33)
胆汁 24-48 h	2.91 (60.58)	4.54 (77.43)	7.32 (33.54)	8.86 (43.19*)
胆汁 小計	60.58	77.43	33.54	43.18
糞 0-12 h 抽出液	3.85	2.37	2.32	0.72
糞 12-24 h 抽出液	13.75	6.42	33.66	37.55
糞 24-48 h 抽出液	4.69	4.29	25.02	15.69
糞 抽出液小計	22.28	13.07	60.99	53.95
糞 0-12 h 残渣	0.09	0.15	0.02	0.01
糞 12-24 h 残渣	1.03	1.09	0.18	0.14
糞 24-48 h 残渣	0.81	1.29	0.31	0.23
糞 残渣小計	1.93	2.52	0.51	0.37
糞 0-12 h	3.94 (3.94)	2.52 (2.52)	2.34 (2.34)	0.73 (0.73)
糞 12-24 h	14.78 (18.72)	7.51 (10.03)	33.84 (36.18)	37.69 (38.42)
糞 24-48 h	5.50 (24.22*)	5.58 (15.61*)	25.33 (61.51*)	15.92 (54.34*)
糞 小計	24.21	15.60	61.49	54.32
肝臓	0.47	0.50	0.26	0.27
消化管(含内容物)	0.13	0.40	0.23	0.25
ケージ洗浄液	0.17	0.13	0.20	0.18
屍体	0.91	1.86	0.84	3.76
総回収率	94.76	101.40	102.30	105.36
推定吸収率	70.4	85.3	40.6	50.8

*合計の平均値(小計)と平均値の合計(累積)は四捨五入の関係で一致しないことがある。

低投与量で投与後 48 時間に雄および雌ラットの胆汁に投与量のそれぞれ 60.6%および 77.4%が排泄された。尿はそれぞれ 8.3%および 5.4%であった。糞には雄で 24.2%、雌で 15.6%であった。屍体に残存する放射能は雄および雌でそれぞれ 0.9%および 1.9%であった。

高投与量で投与後 48 時間に雄および雌ラットの胆汁に投与量のそれぞれ 33.5%および 43.2%が排泄された。尿はそれぞれ 5.8%および 3.4%であった。糞には雄で 61.5%、雌で 54.3%であった。屍体に残存する放射能は雄および雌でそれぞれ 0.8% および 3.8%であった。

胆汁、尿、肝臓、ケージ洗浄液および屍体の値を合計することにより吸収率を算出した。低投与量では雄および雌でそれぞれ 70.4%および 85.3%、高投与量ではそれぞれ 40.6%および 50.8%が吸収されたことが推定された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <動物体運命・代謝物分析>

(6) 排泄物中の代謝物の分析：

試験方法：低投与量および高投与量で単回経口投与した排泄収支実験(1c、1d 群)、低投与量で 14 回反復経口投与した排泄収支実験(4b)の排泄物を試料とした。尿は、各実験群とも 0-96 時間をまとめた。糞は、低投与量群の雄は 0-48 時間、それ以外では 0-72 時間の糞抽出液をまとめて HPLC および TLC で分析した。各試料は、標準品との HPLC および TLC でのクロマトグラフィーで同定し、HPLC で定量分析を行った。

カニュレーションラットへ低投与量および高投与量で ¹⁴C-シフルフェナミドを単回経口投与した胆汁排泄実験(5a、5b 群)で得られた胆汁を試料とし、標準品との HPLC および TLC でのクロマトグラフィーで同定し、HPLC で定量分析を行った。

結果：

尿および糞の定量結果を以下に示す。

14C-シフルフェナミド投与後の化合物量(投与量%)						
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (1c 群)					
	雄			雌		
性	糞 (0-48 h)	尿 (0-96 h)	合計	糞 (0-72h)	尿 (0-96 h)	合計
シフルフェナミド						
同定された代謝物の合計						
未知代謝物の合計						
未知代謝物の最大値						

14C-シフルフェナミド投与後の化合物量(投与量%)						
投与量群	高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (1d 群)					
	雄			雌		
性	糞 (0-72 h)	尿 (0-96 h)	合計	糞 (0-72h)	尿 (0-96 h)	合計
シフルフェナミド						
同定された代謝物の合計						
未知代謝物の合計						
未知代謝物の最大値						

*：胆汁中の代謝物の構造解析によって推定された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・代謝物分析>

¹⁴ C-NF-149投与後の化合物量(投与量%)								
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・14回 4b 群							
試料	尿							
性	雄				雌			
	1日目	5日目	10日目	14日目 + 0-96 時間	1日目	5日目	10日目	14日目 + 0-96 時間
同定された代謝物の合計								
未知代謝物の合計								
未知代謝物の最大値								

¹⁴ C-NF-149投与後の化合物量(投与量%)								
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・14回 4b 群							
試料	糞							
性	雄				雌			
	1日目	5日目	10日目	14日目 + 0-72 時間	1日目	5日目	10日目	14日目 + 0-72 時間
シフルフェナミド								
同定された代謝物の合計								
未知代謝物の合計								
未知代謝物の最大値								

*: 胆汁中の代謝物の構造解析によって推定された。

***: 2 画分を申請者が合計した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・代謝物分析>

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後 0-48時間の胆汁中化合物量(投与量%)				
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (5a 群)			
処理区	無処理		酵素処理	
性	雄	雌	雄	雌
同定された代謝物の合計				
未知代謝物の合計				
未知代謝物の最大値				

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後 0-48時間の胆汁中化合物量(投与量%)				
投与量群	高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (5b 群)			
処理区	無処理		酵素処理	
性	雄	雌	雄	雌
同定された代謝物の合計				
未知代謝物の合計				
未知代謝物の最大値				

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・代謝物分析>

胆汁代謝物 B12 の構造推定

胆汁中に投与量の 10% を超える未知代謝物の存在が確認された。この未知代謝物の構造推定を行った。

胆汁を酵素水解し、抽出後 HPLC で分析し、検出されたピークを [] とした。単離した胆汁代謝物を LC-MS 分析し、[] を得た。[] のマススペクトルは、[] を示し、HPLC 保持時間からも [] とを推定された。[] を示し、MS/MS 分析の結果、下記のような推定フラグメンテーション経路および構造を推定した。

構造：胆汁代謝物 [] の推定フラグメンテーション経路

[] の胆汁代謝物のフラグメンテーション経路は参考物質 [] で解析したフラグメンテーション経路と同様であり、そのように [] の分子量が [] が示唆された。[] のイオンにより、この代謝物はその [] であると推定した。

以上の結果より胆汁代謝物 [] は、[] と推定された。

尿中の代謝物として [] が逆相 HPLC および順相 TLC を用いてクロマトグラフィーにより同定された。尿中の主代謝物 [] は雄で [] (対投与量%) および雌で [] であった。[] は [] であった。酵素で未処理尿の代謝物プロファイルは低・高投与量とも定性的に類似していた。本質的な性差は見られなかった。尿試料の酵素処理 [] しても代謝物プロファイルに顕著な変化はなかった。

糞中の代謝物 [] および未変化体のシフルフェナミドが逆相 HPLC および順相 TLC を用いてクロマトグラフィーにより同定された。1 個の未知代謝物が [] のメトキシ誘導体として推定された。[] は TLC により痕跡的に存在する事が確認された。低投与量単回経口投与の糞抽出液では雄および雌で同様な代謝物プロファイルが得られた。主代謝物は [] で、その量は雄および雌でそれぞれ [] であった。シフルフェナミド (雄 3.7%、雌 4.6%)、[] が定量された。その他の代謝物 (計 14 個) は全て [] であった。

高投与量単回経口投与の主代謝物は未変化のシフルフェナミドであり、その量は雄および雌でそれぞれ 42.0% および 50.5% であった。代謝物、[] であった。その他の代謝物 (計 16 個) は全て投与量の [] であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・代謝物分析>

反復経口投与後の尿中代謝物プロフィールは単回経口投与後のそれに定性的に類似していた。尿中の主代謝物は雄および雌でそれぞれ1日投与量の $\frac{1}{2}$ であった。雌は雄より高投与量で定量化された。

反復経口投与の糞抽出液中の主代謝物は未変化のシフルフェナミドであり、雄で27.3-39.1%、雌で19.6-35.8%であった。雌は、雄および雌でそれぞれ $\frac{1}{2}$ であった。

雌を含む画分は分離が悪かったが合計値として、雄および雌であった。

低投与量および高投与量で単回経口投与後無処理の胆汁の代謝物プロフィールは、定性的に同等であった。主画分は、雌、その量は雄および雌でそれぞれ投与量の $\frac{1}{2}$ であった。代謝物画分は、その量は合わせて $\frac{1}{2}$ であった。

胆汁中の代謝物は、 $\frac{1}{2}$ で酵素処理した後、 $\frac{1}{2}$ は相当減少して $\frac{1}{2}$ に減少した。雌の減少は $\frac{1}{2}$ で阻害され、 $\frac{1}{2}$ を含むことを示した。

代謝物は無処理胆汁において $\frac{1}{2}$ から酵素処理後には $\frac{1}{2}$ 代謝物は無処理胆汁において $\frac{1}{2}$ 存在したが酵素処理後には $\frac{1}{2}$ 代謝物

胆汁中代謝物は逆相 HPLC および順相 TLC により参考物質を用いてコクロマトグラフィーにより同定した。同定された代謝物は $\frac{1}{2}$ であった。酵素処理尿中の主代謝物はコクロマトグラフィーでは未同定であったが、 $\frac{1}{2}$ は同定された。

シフルフェナミドのラットにおける代謝は二つの主経路を示した。一つの主経路では、シフルフェナミドは $\frac{1}{2}$ に加水分解され、さらに $\frac{1}{2}$ に還元された。 $\frac{1}{2}$ は、さらに脱 $\frac{1}{2}$ 別の主経路では、 $\frac{1}{2}$ は同定された。

本 [料に] 載された情報に係る権利及び内容の 任は日本 達株式会社にある。
 <動物体運命・組織中代謝物分析>

(7) 組織中代謝物の分析:

試験方法: 低投与量、高投与量単回経口投与での組織分布(3a、3b 群)および低用量 14 回反復投与の組織分布(4a 群)で得られた肝臓、腎臓、脂肪、血漿を試料とした。各試料は、抽出精製し、HPLC で分析した。

試験結果:

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後の血漿中化合物%TRR/組織 (濃度 µg/mL)				
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (3a 群)		高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (3b 群)	
	雄	雌	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)	(12 時間)	(6 時間)
シフルフェナミド	7.1 (0.057)	2.3 (0.007)	2.4 (0.27)	39.3 (2.17)

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後の肝臓中化合物%TRR/組織 (濃度 µg/g)				
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (3a 群)		高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (3b 群)	
	雄	雌	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)	(12 時間)	(6 時間)
シフルフェナミド	1.7 (0.13)	6.9 (0.36)	1.7 (1.4)	27.8 (18.6)

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後の腎臓中化合物%TRR/組織 (濃度 µg/g)				
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (3a 群)		高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (3b 群)	
	雄	雌	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)	(12 時間)	(6 時間)
シフルフェナミド	32.9 (0.987)	18.7 (0.224)	1.5 (0.453)	27.4 (6.04)

¹⁴ C-シフルフェナミド投与後の脂肪中化合物% TRR/組織(濃度 µg/g)				
投与量群	低投与量/10 mg/kg 経口・1回 (3a 群)		高投与量/200 mg/kg 経口・1回 (3b 群)	
	雄	雌	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)	(12 時間)	(6 時間)
シフルフェナミド	53.4 (0.806)	49.7 (1.27)	67.2 (60.3)	66.1 (64.3)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <動物体運命・組織中代謝物分析>

¹⁴ C-シフルフェナミド反復投与後の血漿中化合物%TRR/組織 (濃度 µg/mL)		
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・14回 4a 群	
性	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)
シフルフェナミド	0.7 (0.011)	13.4 (0.092)

¹⁴ C-シフルフェナミド反復投与後の肝臓中化合物%TRR/組織 (濃度 µg/g)		
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・14回 4a 群	
性	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)
シフルフェナミド	2.1 (0.340)	13.1 (1.69)

¹⁴ C-シフルフェナミド反復投与後の腎臓中 化合物%TRR/組織 (濃度 µg/g)		
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・14回 4a 群	
性	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)
シフルフェナミド	3.9 (0.233)	13.4 (0.361)

¹⁴ C-シフルフェナミド反復投与後の脂肪中 化合物%TRR/組織 (濃度 µg/g)		
投与量群	低投与量 10 mg/kg 経口・14回 4a 群	
性	雄	雌
採取時間	(4 時間)	(4 時間)
シフルフェナミド	49.1 (1.61)	30.6 (3.05)

組織の代謝物は排泄物および胆汁中で見られたものと共通であった。 および未変化体は、血漿、肝臓および腎臓の主要な代謝物であった。 は反復投与した腎臓中の主代謝物であった。未変化体および はそれぞれ脂肪中の主および少量代謝物であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・推定代謝経路>

シフルフェナミドのラットにおける推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体運命・きゅうり>

2. 植物体内運命に関する試験

1) ^{14}C -標識シフルフェナミドを用いたきゅうりにおける代謝試験

(資料No. 運命-2)

試験実施機関： 日曹分析センター

報告書作成年： 1999年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[^{14}C] シフルフェナミド

比放射能

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試植物：

きゅうり 品種 相模半白 定植後2ヶ月

試験方法：

吸収・移行・分布

1) 通常薬量散布処理：

標識シフルフェナミドの10%顆粒水和剤4000倍希釈液相当(25 ppm)を、2000 L/haの割合(50 g ai/haに相当)で定植後2ヶ月のきゅうりに散布した。処理後0, 3, 7, 14, 31日に葉および果実を採取した。葉および果実は、メタノールで表面洗浄後ドライアイスと共に粉碎し、それぞれ放射能測定を行った。粉碎物はメタノール/水で抽出し、抽出液と残渣の放射能を測定した。

2) 高薬量散布処理：

化合物定性用に標識シフルフェナミドの10%顆粒水和剤1000倍希釈液相当(100 ppm)を、2000 L/haの割合(200 g ai/haに相当)で定植後2ヶ月のきゅうりに散布した。処理後7, 35日に葉および果実を採取した。葉および果実は、メタノールで表面洗浄後ドライアイスと共に粉碎し、それぞれ放射能測定を行った。粉碎物はメタノール/水で抽出し、抽出液と残渣の放射能を測定した。

3) 土壌処理：

定植後2ヶ月のきゅうり生育鉢の土壌表面に通常濃度(25 ppm)液を、2000 L/ha相当ピペットで滴下処理した。処理7日後に葉、果実、蔓、根および土を採取した。植物各部位はドライアイスと共に粉碎し、放射能測定を行った。

なお、植物は温室で栽培した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <植物体運命・きゅうり>

代謝物の同定および定量：

メタノール表面洗浄液はHPLCで分析した。散布処理植物から得られたメタノール/水抽出物は、メタノールを留去した後、固相抽出処理し、
 に分画して、それぞれをHPLCで分析した。同定はHPLCによる標品とのクロマトグラフィーおよびLCMS、LCMS/MSで行った。

試験結果：

1) 吸収・移行・分布

放射能の測定結果を下表に示す。

通常薬量散布処理による放射能分布					
対処理量%(IAR)					
分析部位	0日	3日	7日	14日	31日
葉	1.61	1.44	1.17	0.85	0.88
果実	0.22	0.27	0.28	0.04	0.01

通常薬量散布処理による放射能分布					
TRR(シフルフェナミド [*] 換算 mg/kg)					
分析部位	0日	3日	7日	14日	31日
葉	2.97	2.44	2.12	1.87	1.28
果実	0.06	0.07	0.08	0.02	0.00

高薬量散布処理による放射能分布					
対処理量%(IAR)			TRR(シフルフェナミド [*] 換算 mg/kg)		
分析部位	7日	35日	試料部位	7日	35日
葉	3.58	3.48	葉	6.95	6.66
果実	0.68	0.01	果実	0.21	0.01

土壌処理による7日後の放射能分布				
試料部位	地上部	根	土	計
IRA%	0.30	2.13	92.11	94.55
TRR mg/kg	0.01	0.54	0.16	0.15

それぞれの処理において果実及び葉から回収された放射能は、通常薬量散布処理では最初に処理した総放射能 (IAR) の0.01% (31日後) ~0.28% (7日後) 及び0.85% (14日後) ~1.61% (0日後)、高薬量散布処理では、0.01% (35日後) ~0.68% (7日後) 及び3.48% (35日後) ~3.58% (7日後) であった。

(申請者注)

また、土壌処理では、7日後に地上部、根および土壌から回収された放射能は、それぞれ0.3、2.13および92.11%であった。シフルフェナミドは土壌処理によるきゅうり根から果実や葉などの地上

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜植物体運命・きゅうり＞

部への移行性はほとんど示さなかった（地上部の7日後で0.01 mg/kg）。

各部位のメタノール洗浄、水/メタノール抽出液と残渣の放射能の分布を下表に示す。

分画	葉0日		葉3日		葉7日		葉14日		葉31日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総放射能	100.0	2.97	100.0	2.44	100.0	2.12	100.0	1.87	100.0	1.28
メタノール洗浄区	68.8	2.05	66.3	1.63	60.4	1.25	39.9	0.73	18.1	0.23
水/メタノール抽出区	30.9	0.92	32.8	0.79	37.6	0.83	56.7	1.08	75.2	0.96
非抽出残渣	0.3	0.01	0.9	0.02	2.0	0.04	3.4	0.07	6.6	0.08

分画	果実0日		果実3日		果実7日		果実14日		果実31日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総放射能	100.0	0.06	100.0	0.07	100.0	0.08	100.0	0.03	100.0	0.00
メタノール洗浄区	52.7	0.03	49.3	0.03	30.2	0.03	12.5	0.00	10.6	0.00
水/メタノール抽出区	47.2	0.03	50.3	0.04	68.4	0.06	81.6	0.03	89.4*	0.00*
非抽出残渣	0.1	0.00	0.3	0.00	1.4	0.00	5.9	0.00		

*: 洗浄後、果実を直接燃焼して測定した。

分画	葉7日		葉35日		果実7日		果実35日	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
総放射能	100.0	6.95	100.0	6.66	100.0	0.21	100.0	0.01
メタノール洗浄区	86.5	6.01	46.4	3.09	41.2	0.09	13.6	0.00
水/メタノール抽出区	12.9	0.90	49.6	3.30	58.0	0.12	86.4*	0.01*
非抽出残渣	0.6	0.04	4.0	0.27	0.8	0.00		

*: 洗浄後、果実を直接燃焼して測定した。

全体にメタノールによる洗浄性及び水/メタノールによる抽出性は良好であった。処理後14日の通常薬量散布処理の果実試料では、94.1%が抽出され、7日の高薬量散布処理試料では、99.2%が抽出された。メタノール洗浄区及び水/メタノール抽出区の放射能分布の推移からシフルフェナミドは果実、葉ともに表面から内部への移行性が認められた。また、洗浄区、抽出区の液々分配の結果、が主体であった。

2) 代謝物の同定および定量

① 代謝物の同定

きゅうりで LC/MS、LC/MS/MS によって同定された化合物は、シフルフェナミド、であった。

この他、HPLC 等で確認された未知代謝物が多数存在した。

② 代謝物の定量

各部位での定量結果を次頁の表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <植物体運命・きゅうり>

化合物	0日		3日		7日		14日	
	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg
シフルフェナミド*	96.32	0.055	93.89	0.062	80.35	0.068	54.95	0.019
その他未知代謝物の合計 (個々の画分の最大値)								
未抽出残渣								
計**								

n.d.: 検出されず

*: 固相抽出のメタノール画分。低濃度のため、更なる分析は実施しなかった。

** : 各画分の放射能の総計であり、前頁の総放射能と異なる場合がある。

化合物	0日		7日		14日		31日	
	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg
シフルフェナミド*	97.92	2.906	86.44	1.810	69.68	1.286	42.32	0.542
その他未知代謝物の合計 (個々の代謝物の最大値)								
未抽出残渣								
計*								

n.d.: 検出されず

*: 各画分の放射能の総計であり、前頁の総放射能と異なる場合がある。

化合物	果実		葉			
	7日		7日		35日	
	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg
シフルフェナミド*	85.79	0.179	96.29	6.694	67.51	4.497
その他未知代謝物の合計 (個々の代謝物の最大値)						
未抽出残渣						
計*						

n.d.: 検出されず

*: 各画分の放射能の総計であり、前頁の総放射能と異なる場合がある。

通常薬量散布の果実における主残留物は、未変化体のシフルフェナミドであり、14日で54.95% TRR (0.019 mg/kg)であった。同定された代謝物として

であり、TRRの10%を超える代謝物は認められなかった。また、その他未知代謝物は

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体運命・きゅうり>

検出され、固相抽出による画分の最大値で 〇.〇〇 mg/kg を示すものもあったが、低濃度のため、それ以上の分析は実施しなかった。

31 日後の葉においても主残留物は未変化体のシフルフェナミドであり、42.32%TRR (0.542 mg/kg) であった。代謝物は、果実で認められた代謝物の他に

が同定され、それぞれ

〇.〇〇 mg/kg であった。その他未知代謝物で 10%を超えるものはなく、最大で 〇.〇〇 mg/kg であった。

高薬量散布の果実における主残留物は、通常散布と同様、シフルフェナミドであり、7 日後で 85.79%TRR (0.179 mg/kg) であった。同定された代謝物として

〇.〇〇 mg/kg であった。その他未知代謝物で 10%を超えるものはなく、最大で 〇.〇〇 mg/kg であった。

シフルフェナミドを散布したきゅうりの残留の主体は未変化体のシフルフェナミド自身であった。代謝物として

が同定された。シフルフェナミドの代謝経路は

シフルフェナミドは土壌処理によるきゅうり根から果実や葉などの地上部への移行性をほとんど示さなかった。

試験に用いた H¹⁴C 標識体は

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
<植物体運命・きゅうり>

シフルフェナミドのきゅうりにおける推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
<植物体運命・りんご>

2)¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いたりんごにおける代謝試験

(資料 No. 運命-3)

試験実施機関：Huntingdon Life Science Ltd.
報告書作成年：2000年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[¹⁴C] シフルフェナミド

比放射能
放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試植物：

りんご 品種 ゴールデンデリシャス

試験方法：

吸収・移行・分布

標識シフルフェナミドの 10% 顆粒水和剤 2000 倍希釈液相当(50 ppm) を、5400 L/ha の割合(270 g ai/ha に相当)で収穫の約 13 週前のりんご樹に散布した。処理後 0 (葉のみ)、3, 6, 13 週 (果実成熟期) に葉および果実を採取した。葉および果実は、アセトニトリルで表面洗浄した。表面洗浄後、果実を果皮および果肉に分けて分析した。葉、果皮および果肉をアセトニトリルと共に磨砕抽出し、洗浄液、抽出液および残渣の放射能を測定した。

13 週間後の葉の残渣についてのみ更に酵素処理 (

を行い、アセトニトリル/水で抽出し放射能を測定した。

代謝物の同定および定量

洗浄液および葉と果実の試料を用いて代謝物の同定および定量を行った。代謝物の同定は、HPLC および TLC を用いて標準品とのクロマトグラフィーにより行った。また、それぞれの洗浄液および抽出液について逆相 HPLC または順相 TLC を用いて定量を行った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <植物体運命・りんご>

試験結果：

1) 吸収・移行・分布

各部位の表面洗浄、抽出液および残渣の放射能の分布を下表に示す。

分画	果実 3 週間		果実 6 週間		果実 13 週間	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
表面洗浄	88.1	0.068	69.2	0.022	52.3	0.009
果皮抽出液	2.4	0.002	12.0	0.004	17.6	0.003
果肉抽出液	4.6	0.004	7.68	0.002	11.5	0.002
抽出物合計	7.0	0.005	19.7	0.006	29.0	0.005
果皮未抽出残渣	3.7	0.003	7.3	0.002	14.8	0.003
果肉未抽出残渣	1.2	0.001	3.7	0.001	3.9	0.001
未抽出残渣合計	4.9	0.004	11.1	0.004	18.7	0.003
全果実合計	100	0.077	100	0.032	100	0.018

分画	葉 0 time		葉 3 週間		葉 6 週間		葉 13 週間	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
表面洗浄	96.7	12.13	59.0	0.574	33.7	0.221	27.7	0.214
抽出液	*	-	33.3	0.324	57.9	0.380	58.3	0.451
抽出残渣酵素処理	-	-	-	-	-	-	4.1	0.032
未抽出残渣	3.3	0.41	7.7	0.075	8.4	0.055	9.9	0.077
全葉合計	100	12.5	100	0.973	100	0.657	100	0.773

*: 分析試料なし

全体にアセトニトリルによる洗浄性および抽出性は良好であった。処理後 13 週間の果実および葉では、それぞれ 81.4%および 86.0%が抽出された。アセトニトリル洗浄区および抽出区の放射能分布の推移からシフルフェナミドは果実、葉ともに表面から内部への移行性が認められた。

2) 代謝物の同定および定量

① 代謝物の同定

¹⁴C-シフルフェナミドを散布したりんごで HPLC、TLC によって同定された化合物は、シフルフェナミド、であった。

この他、HPLC 等で確認された未知代謝物が多数存在した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <植物体運命・りんご>

②代謝物の定量

各部位での定量結果を以下の表に示す。

化合物	3週間		6週間		13週間	
	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg
シフルフェナミド ¹⁾ 合計 ¹⁾	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	66.2	0.012
表面洗浄	82.5	0.064	65.6	0.021	50.7	0.009
果皮抽出区	—	—	—	—	13.9 ⁴⁾	0.003 ⁴⁾
果肉抽出区	—	—	—	—	1.6 ⁴⁾	<0.001 ⁴⁾
その他未知代謝物の合計 ^{1),2)} (個々の代謝物の最大値)						
未分析の洗浄区 ³⁾						
未分析の抽出区						
未抽出残渣						
計 ¹⁾						

1)申請者計算 (但し、計については検出限界以下を算入しなかった)

2)表面洗浄区のみ値

3)3回目の洗浄区

4)TLCによる定量値 (その他は HPLC による定量値)

— : 分析せず

n.c. : 計算せず

n.s. : 当該試料存在せず

化合物	散布直後		3週間		6週間		13週間 ²⁾	
	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg
シフルフェナミド ¹⁾	92.8	11.64	68.5	0.667	36.7	0.241	16.9	0.131
その他未知代謝物の合計 ¹⁾ (個々の代謝物の最大値)								
未分析の洗浄区/抽出区 ³⁾								
未抽出残渣								
計 ¹⁾								

1) 申請者計算 (但し、計については検出限界以下を算入しなかった)

2) TLCによる定量値 (その他は HPLC による定量値)

3) 3回目の洗浄区および抽出区水相の合計

りんご果実における主残留物は、未変化体のシフルフェナミドであり、散布 13 週間後 (収穫期) で 66.2%TRR (0.012 mg/kg) であった。代謝物として

で同定されたが、TRR の 10% を超える代謝物は認められなかった。

散布 13 週間後の葉においても主残留物は未変化体のシフルフェナミドであり、16.9% TRR (0.131 mg/kg) であった。代謝物は、果実と同様に

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
<植物体運命・りんご>

であった。

シフルフェナミドを散布したりんごの残留の主体は未変化体のシフルフェナミド自身であった。代謝物として
シフルフェナミドの代謝経路は
が同定された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
<植物体運命-りんご>

シフルフェナミドのりんごにおける推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体運命・小麦>

3)¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いた小麦における代謝試験

(資料 No. 運命-4)

試験実施機関: Huntingdon Life Sciences Ltd.

(試料調製)

日曹分析センター (試料分析)

報告書作成年: 1999年 [GLP 対応]

供試標識化合物:

[¹⁴C] シフルフェナミド

比放射能

放射化学的純度:

標識位置の設定理由:

供試植物:

小麦 品種 Riband

薬剤処理日、試料採取日及び経過日数

薬剤処理日: 第1回 1997年5月2日、第2回 1997年6月4日 (両薬量共通)

試料	試料採取日	経過日数
青刈り-1、根-1	1997年5月2日	第1回処理2時間後
青刈り-2、根-2	1997年6月4日	第2回処理2時間後
わら-中間、穂、根-3	1997年7月11日	第2回処理37日後
わら-成熟、殻、穀粒、根-4	1997年8月20日	第2回処理77日後

試験方法:

吸収・移行・分布

1)通常薬量散布処理:

標識シフルフェナミドの5%乳濁剤400倍希釈液相当(125 ppm)を、200 L/haの割合(約25 g ai/haに相当)で2回小麦に散布した。各処理後2時間、収穫前約7週間(青刈り-2)、収穫時(第2回処理の11週間後)に試料を採取した。試料は可能な限り、青刈り、わら、穂、穀粒、殻および根に分類した。試料はドライアイスと混合し、ロータリーブレンダーで粉碎均質化し、それぞれ放射能測定を行った。根を除く各部位の粉碎物をメタノール/水で抽出し、抽出液と残渣の放射能を測定した。抽出液については固相抽出(C18)でヘキサン、酢酸エチルおよびメタノール画分に分離し、各画分についてHPLCで定量分析を行った。メタノール/水抽出で残留量の多かった、わら及び殻の残渣については、再抽出としてメタノール/クロロホルム(1/1)およびメタノールによる抽出(脂質画分)、10%アンモニア水

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜植物体運命・小麦＞

溶液による浸漬抽出（酸性物質画分）および0.1 N 塩酸による浸漬抽出（塩基性物質画分）を行った。わら(成熟)では、更に残渣を各種酵素等で処理し、

、10%TRR 以上の放射

能を有する画分については、更に HPLC で分析を行った。

2)高薬量散布処理：

化合物定性用に標識シフルフェナミドの5%乳濁剤100倍希釈液相当(500 ppm)を、200 L/haの割合(約100 g ai/haに相当)で2回小麦に散布した。処理後2時間、収穫前約7週間(青刈り-2)、収穫時(第2回処理の11週間後)に試料を採取した。試料の分析は通常薬量散布処理の試料と同様に分画し、定量分析を行った。メタノール/水抽出で残留量の多かった、わら及び殻の残渣については、再抽出を行った。

なお、植物は硬質プラスチック製のコンテナに播種し、コンテナは屋外の網の中に設置して、通常の気候条件下で育成した。

代謝物の同定および定量：

穀粒、殻、青刈り、わら及び穂の各抽出画分については、HPLCで分析を行った。代謝物は、高薬量散布処理のわらの抽出液を酢酸エチルで抽出し、更に固相抽出(シリカゲルおよびC18)で分画してHPLCおよびLC/MSにより同定と特徴付けを行った。他の部位における代謝物は、わらで認められたものとの比較で同定した。

試験結果：

1)吸収・移行・分布

放射能の測定結果を下表に示す。

通常薬量散布処理における総放射性残留量 TRR(シフルフェナミド換算 mg/kg)					
試料	抽出可能放射性残留量 ERR		非抽出放射性残留量 RRR		合計
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	mg/kg
青刈り-1 ¹⁾	99.14	0.790	0.86	0.007	0.796
根-1 ¹⁾	—	—	—	—	0.020 ³⁾
青刈り-2 ²⁾	96.15	0.629	3.85	0.025	0.654
根-2 ²⁾	—	—	—	—	0.093 ³⁾
わら-中間	81.84	0.471	18.16	0.104	0.575
穂	72.98	0.017	27.02	0.006	0.023
根-3	—	—	—	—	0.099 ³⁾
わら-成熟	68.46	0.458	31.54	0.211	0.669
殻	53.75	0.052	46.25	0.045	0.097
穀粒	—	—	—	—	0.005 ³⁾
根-4	—	—	—	—	0.140 ³⁾

1) 一回目の散布後

2) 二回目の散布後

3) 直接燃焼法で求めた値

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体運命・小麦>

高薬量散布処理における総放射性残留量 TRR(シフルフェナミド換算 mg/kg)					
試料	抽出可能放射性残留量 ERR		非抽出放射性残留量 RRR		合計
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	
青刈り-1 ¹⁾	99.21	1.879	0.79	0.015	1.894
根-1 ¹⁾	—	—	—	—	0.057 ³⁾
青刈り-2 ²⁾	94.56	2.185	5.44	0.126	2.311
根-2 ²⁾	—	—	—	—	0.209 ³⁾
わら・中間	83.69	1.622	16.31	0.316	1.938
穂	80.81	0.086	19.19	0.020	0.106
根-3	—	—	—	—	0.628 ³⁾
わら・成熟	68.47	1.609	31.53	0.741	2.349
殻	58.61	0.317	41.39	0.224	0.540
穀粒	55.17	0.010	44.83	0.008	0.018
根-4	—	—	—	—	0.574 ³⁾

1) 一回目の散布後

2) 二回目の散布後

3) 直接燃焼法で求めた値

通常薬量散布処理の穀粒の TRR は、直接燃焼法で 0.005 mg/kg と 0.01 mg/kg 以下であったため、それ以上の分析は行わなかった。青刈り-1 および青刈り-2 における放射能の抽出率は、90%以上であったが、中間期および収穫期に得られた部位では 81.84% (わら・中間、通常薬量)、53.75% (穀粒、通常薬量) 等、抽出率が低下した。

各部位の各抽出画分および残渣の放射能分布を下表に示す。

通常薬量散布処理における放射能分布 (%TRR)								
画分		青刈り-1	青刈り-2	わら・中間	穂	わら・成熟	殻	穀粒
抽出性 残留物	ヘキソ抽出区	101.71	94.89	44.33	22.51	44.56	21.48	—
	酢酸エチル抽出区	0.66	3.21	16.06	15.19	7.67	7.87	—
	メタノール区	1.07	5.29	15.77	14.03	9.95	19.60	—
	水区	0.33	1.55	2.92	15.54	1.07	1.11	—
	小計	103.77	104.95	79.08	67.27	63.24	50.06	—
非抽出残渣		0.86	3.85	18.16	27.02	31.54	46.25	—
合計		104.64	108.80	97.24	94.29	94.78	96.31	—

通常薬量散布処理における放射能分布 (mg/kg)								
画分		青刈り-1	青刈り-2	わら・中間	穂	わら・成熟	殻	穀粒
抽出性 残留物	ヘキソ抽出区	0.810	0.621	0.255	0.005	0.298	0.021	—
	酢酸エチル抽出区	0.005	0.021	0.092	0.004	0.051	0.008	—
	メタノール区	0.008	0.035	0.091	0.003	0.067	0.019	—
	水区	0.003	0.010	0.017	0.004	0.007	0.001	—
	小計	0.827	0.687	0.456	0.016	0.432	0.049	—
非抽出残渣		0.007	0.025	0.104	0.006	0.211	0.045	—
合計		0.833	0.712	0.561	0.022	0.634	0.094	—

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 達株式会社にある。

<植物体運命・小麦>

高薬量散布処理における放射能分布 (%TRR)								
画分		青刈り-1	青刈り-2	わら・中間	穂	わら・成熟	殻	穀粒
抽出性 残留物	ヘキサン抽出区	104.07	90.16	43.09	36.73	46.86	24.84	5.21
	酢酸エチル抽出区	0.64	3.79	15.16	12.78	6.08	7.58	4.99
	メタノール区	0.92	3.97	16.73	9.14	8.99	16.39	24.88
	水区	0.25	1.25	1.58	17.70	1.98	1.54	16.80
	小計	105.88	99.15	76.56	76.36	63.91	60.35	51.89
非抽出残渣		0.79	5.44	16.31	19.19	31.53	41.39	44.83
合計		106.66	104.59	92.87	95.55	95.44	91.74	96.72

高薬量散布処理における放射能分布 (mg/kg)								
画分		青刈り-1	青刈り-2	わら・中間	穂	わら・成熟	殻	穀粒
抽出性 残留物	ヘキサン抽出区	1.971	2.083	0.835	0.039	1.101	0.134	0.001
	酢酸エチル抽出区	0.012	0.088	0.294	0.014	0.143	0.041	0.001
	メタノール区	0.017	0.092	0.324	0.010	0.211	0.089	0.004
	水区	0.005	0.029	0.031	0.019	0.047	0.008	0.003
	小計	2.005	2.291	1.484	0.081	1.501	0.272	0.009
非抽出残渣		0.015	0.126	0.316	0.020	0.741	0.224	0.008
合計		2.020	2.417	1.800	0.101	2.242	0.496	0.017

全ての部位で主要な抽出性放射能は、穀粒を除いてヘキサン抽出区に認められ、その量は21.5%TRR、0.021 mg/kg (殻、通常薬量) から104.1%TRR、1.971 mg/kg (青刈り-1、高薬量) であった。青刈り-1および青刈り-2では90%TRR以上がヘキサン抽出区に分布した。穀粒のメタノール画分および水面分にはTRRの約40%が認められたが、最大0.004 mg/kg (メタノール区) であった。

2)代謝物の同定および定量

①代謝物の同定

高薬量散布処理した小麦わらを用いてHPLC、LC/MSによって同定された化合物は、シフルフェナミド、

であった。この他、HPLC等で検出された未知代謝物が多数存在した。他の部位における代謝物は、わらで認められたものとの比較により同定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体運命・小麦>

②代謝物の定量

各部位での定量結果を以下の表に示す。

化合物	青刈り 1	青刈り 2	わら 中間	穂	わら 成熟	殻	穀粒
シフルフェナミド	99.10	94.89	29.33	—	33.40	10.33	—
その他未知代謝物の合計 (個々の代謝物の最大値)							
非抽出残渣							
計							

n.d.: 検出されず

—: 分析せず

1): 個々の箇分の最大値

2): 申請者計算

3): 残渣を再抽出した後の非抽出残渣

化合物	青刈り 1	青刈り 2	わら 中間	穂	わら 成熟	殻	穀粒
シフルフェナミド	0.789	0.621	0.169	—	0.223	0.010	—
その他未知代謝物の合計 (個々の代謝物の最大値)							
非抽出残渣							
計							

n.d.: 検出されず

—: 分析せず

1): 個々の箇分の最大値

2): 申請者計算

3): 残渣を再抽出した後の非抽出残渣

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体運命・小麦>

化合物	青刈り 1	青刈り 2	わら 中間	穂	わら 成熟	殻	穀粒
シフルフェナミド	104.07	90.16	37.37	28.95	36.75	16.61	1.95
その他未知代謝物の合計 (個々の代謝物の最大値)							
非抽出残渣							
計							

n.d.: 検出されず
-: 分析せず

1): 個々の画分の最大値
2): 申請者計算
3): 残渣を再抽出した後の非抽出残渣

化合物	青刈り 1	青刈り 2	わら 中間	穂	わら 成熟	殻	穀粒
シフルフェナミド	1.971	2.084	0.724	0.031	0.863	0.09	0.000
その他未知代謝物の合計 (個々の代謝物の最大値)							
非抽出残渣							
計							

n.d.: 検出されず
-: 分析せず

1): 個々の画分の最大値
2): 申請者計算
3): 残渣を再抽出した後の非抽出残渣

通常薬量散布の小麦における主残留物は、未変化体のシフルフェナミドであり、その残留割合は、10.33%TRR (0.010 mg/kg、殻) から 99.10%TRR (0.789 mg/kg、青刈り-1) であった。同定された各代謝物の最大残留割合は、

高薬量散布の小麦における主残留物は、通常散布と同様、シフルフェナミドであり、その残留割合、1.95%TRR (0.000 mg/kg、穀粒) から 104.07%TRR (1.971 mg/kg、青刈り-1) であった。同定された各代謝物の最大残留割合は、

また、殻で未知代謝物の最大値が

以上であったが、定性用の高薬量散布区試料で、かつ非可食部のため、それ以上の分析は実施しなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜植物体運命・小麦＞

シフルフェナミドを散布した小麦において同定された残留代謝物は、シフルフェナミド、

であった。青刈り、わら、殻および穂の主成分は未変化体のシフルフェナミドであった。
小麦中でシフルフェナミドは その量は少
なかった であった。。穀粒における残留量は低く、その TRR は通常粟量で

試験に用いた ^{14}C 標識体は

シフルフェナミドの小麦における推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
<植物体運命・小麦>

植物における推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命・好氣的湛水土壌>

3. 土壌中運命に関する試験

1) 好氣的湛水土壌中運命試験

本農業は、水田作物への適用がないため、12 生産第 8147 号 別紙 第 4 試験成績の提出についての別表 2 土壌中運命に関する試験成績 (1)好氣的湛水土壌中運命試験成績、に記載される「水田において使用されない」に該当するため、試験成績の提出を行わない。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壤中運命・好氣的土壤>

2) 好氣的土壤中運命試験

¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いた日本土壤における運命

(資料 No. 運命-5)

試験実施機関： 日曹分析センター

報告書作成年： 1999年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[¹⁴C] シフルフェナミド

比放射能

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試土壤：

長野土壤 (長野県植防)

土性	砂 (%)	シルト (%)	粘土 (%)	有機炭素含有率 (%)	pH (H ₂ O)	陽イオン交換容量
火山灰・埴壤土	62	22	26	5.71	6.7	39.1

試験方法：

1) 代謝試験

好氣的条件下で試験を行った。各容器に乾土換算 50 g の土壤を入れ、最大容水量の 60% に水分調整した後、1 週間 25±2℃ でプレインキュベーションした。標識シフルフェナミド 0.0446 mg/ml の酢酸エチル溶液 340 μl を加えて良く混和し、水分を最大容水量の 60%、最終濃度を 0.3 mg/kg 乾土に調整して、25±2℃ でインキュベーションした。この土壤処理濃度はシフルフェナミド 10% 顆粒水和剤の 2000 倍希釈液を 6000 L/ha で散布した時 (300 g ai/ha 相当)、薬剤が地表から 10 cm の深さまで均一に分散した場合の濃度に相当する。試料採取間隔を処理後、0、3、7、14、30、60、90、120 および 180 日とした。揮散性物質はエチレンジオールと KOH 溶液に捕集し、土壤と同一の採取間隔で放射能を測定した。捕集溶液は 30 日目とそれ以後 2 週間毎に交換した。各採取日に 2 連の土壤試料を

で順次抽出し、各抽出液の放射能を測定した。抽出後に残った土壤残渣の放射能 (非抽出放射能 (RRR)) を燃焼法で測定した。7、14、30、60、90、120 および 180 日後の RRR をアルカリ分画法で分画し、各画分の放射能を測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命・好氣的土壌>

2) 分解物の同定および定量

各抽出液を混合した後濃縮し、液々分配によりと水区に分画した。各代謝物の定量は HPLC 分析、同定は HPLC および LC/MS 分析により行った。

試験結果：

1) 代謝試験

放射能の回収率を下表に示す。

日数	¹⁴ C-シフルフェナミド処理量に対する回収率 (%)				
	抽出液 (分配後： 水区)	残渣	揮散物質	¹⁴ CO ₂	合計
0	98.30 (97.04, 0.00)	1.46	—	—	99.76
3	93.74 (88.76, 0.59)	3.74	0.00	0.00	97.47
7	86.98 (78.22, 2.77)	11.81	0.00	0.00	98.79
14	68.04 (59.68, 7.75)	26.41	0.00	0.26	94.71
30	59.75 (52.68, 1.04)	39.50	0.00	0.28	99.53
60	45.63 (43.63, 2.45)	53.10	0.00	1.19	99.92
90	44.21 (37.30, 4.66)	57.42	0.00	1.87	103.50
120	44.10 (37.13, 1.82)	56.50	0.00	2.02	98.62
180	41.20 (35.35, 4.36)	55.43	0.00	1.98	98.61
—：測定せず					

試験期間中の放射能回収率は 94%以上であった。¹⁴CO₂ 以外の揮散性物質の生成はみられなかった。¹⁴CO₂ 発生量は 180 日後で 1.98%であった。の放射能量は、最初の 97.04%から 180 日後の 35.35%まで減少した。非抽出残渣は 90 日の 57.42%まで増加し、その後 180 日後に 55.43%まで減少した。

残渣のアルカリ分画の結果を下表に示す。

日数	¹⁴ C-シフルフェナミド処理量に対する回収率 (%)			
	残渣	残渣分画後の画分		
7	11.81	6.33 (54)	0.62 (5)	4.46 (38)
14	26.41	15.13 (57)	3.50 (13)	9.51 (36)
30	39.50	22.20 (56)	6.22 (16)	10.90 (28)
60	53.10	32.34 (61)	8.61 (16)	14.56 (27)
90	57.42	32.80 (57)	8.24 (14)	16.20 (26)
120	56.50	32.12 (57)	8.73 (15)	16.79 (28)
180	55.43	33.15 (60)	10.48 (19)	16.81 (30)

()内は各画分の残渣中に占める割合 (%対残渣、申請者計算)

残渣中放射能の 54~61%が に取込まれた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命・好氣的土壌>

2) 代謝物の同定および定量

HPLC で代謝物の定性定量を行い、標準品とのクロマトグラフィーおよび LC/MS で確認した。シフルフェナミドを処理した土壌から得た各画分における化合物の定量結果を下表に示す。

14C-シフルフェナミド処理した土壌の					区中の残留量 (対処理量%)				
化合物	0日	3日	7日	14日	30日	60日	90日	120日	180日
シフルフェナミド*	95.53	74.18	17.98	5.83	2.13	2.72	3.55	2.98	2.40
未知代謝物の合計*									
計									

*25成分の合計、一成分の最大値は4.41%である。

14C-シフルフェナミド処理した土壌の					区中の残留量 (mg/kg)				
化合物	0日	3日	7日	14日	30日	60日	90日	120日	180日
シフルフェナミド*	0.29	0.22	0.05	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
未知代謝物の合計*									
計									

*25成分の合計、一成分の最大値は0.013mg/kgである。

シフルフェナミドは0日後の95.53%(0.29 mg/kg)から180日後の2.40%(0.01 mg/kg)に減少した。同定された主代謝物およびそれぞれの最大値は、

であった。また、HPLC では多くの未知代謝物が認められたが、各代謝物の量は
であった。

これらの結果を用いてシフルフェナミドおよび主要代謝物の DT₅₀ および DT₉₀ を一次式により求めた。

化合物	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
シフルフェナミド	5.4	17.8
	5.7	18.9
	24.1	80.0
	270.9	899.9
	179.7	596.9

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜土壌中運命・好氣的土壌＞

土壌結合残渣を抽出し、得られた残渣を HPLC で定量分析した。し、分解物を

14C-シフルフェナミド処理した土壌の		抽出区(画分)中の残留量 (対処理量%)				
化合物	14日	30日	60日	90日	120日	180日
シフルフェナミド*	0.12	0.16	0.06	0.00	0.06	0.00
未知代謝物の合計*						
計						

*13成分の合計、一成分の最大値は0.74%である。

14C-シフルフェナミド処理した土壌の		区(画分)中の残留量 (mg/kg)				
化合物	14日	30日	60日	90日	120日	180日
シフルフェナミド*	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
未知代謝物の合計*						
計						

*13成分の合計、一成分の最大値は0.002mg/kgである。

フルボ酸画分中のシフルフェナミドは、14日で0.12%(0.00 mg/kg)であった。主要な代謝物は、

であった。また、およびその他複数の未知代謝物が HPLC で認められたが、これらは全て以下であった。

シフルフェナミドは長野土壌中で、DT50 5.4日、DT90 17.8日で分解した。主な代謝物としてが同定された。また、土壌結合残渣については残渣中の54~61%の放射能がに認められた。その主な代謝物としてが検出され、これらの代謝物が土壌に強く結合していることが推定された。試験期間中の¹⁴CO₂の生成量は約2%であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命・好氣的土壌>

土壌におけるシフルフェナミドの推定主代謝経路を下に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜土壌中運命・嫌氣的土壌＞

3) 嫌氣的土壌中運命試験

本農薬は、12 生産第 8147 号 別紙 第 4 試験成績の提出についての別表 2 土壌中運命に関する試験成績 (3)嫌氣的土壌中運命試験成績の③当該農薬の成分物質等の物理的・化学的性質からみて、水溶解度が 10 mg/L 以下 (2.42 mg/L) であり、土壌吸着係数 (K_{padsoc}) が 500 以上 (1,510 以上)であることから、当該農薬の成分物質等は、土壌中における移動性が低いと判断され、安全と認められることより試験成績の提出を行わない。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌吸着>

4. 土壌吸着試験

¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いた日本土壌における土壌吸着試験

(資料 No. 運命-6)

試験実施機関： 日曹分析センター

報告書作成年： 1999年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[¹⁴C] シフルフェナミド

比放射能

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試土壌：

Clay loam (十勝)、Heavy clay (牛久)、Sandy clay loam (愛知)、Light clay (高知) の4土壌。国際土壌学会法による土性を以下に示す。

土壌採取場所	十勝農試	日植防 (牛久)	愛知県農総試	日植防 (高知)
土性	CL	HC	SCL	LC
砂 (%)	57.1	24.8	68.0	47.6
シルト (%)	21.5	27.5	14.5	27.2
粘土 (%)	21.4	47.7	17.5	25.2
有機炭素含有率 (%)	2.21	3.33	1.11	1.33
pH H ₂ O	5.7	7.0	6.6	6.5
KCl	5.8	6.2	6.0	6.4
陽イオン交換容量	11.7	29.8	7.9	10.2
リン酸吸収係数	1330	2220	290	370
粘土鉱物の種類	アロフェン パーキョイト	—	カオリン鉱物イリト	クオイイトイリト

試験方法：

農水省農産園芸局長通達9農産第5089号に従って試験を実施した。風乾土5gに0.01 M CaCl₂溶液5 mlを加え24時間放置後、各処理液20 mlを加え暗所下、25±2℃で8時間振とうした。なお、処理液は標識シフルフェナミドを0.01 M CaCl₂溶液に溶解し、土壌に添加した時に土壌水分量を加えた最終濃度が0.025、0.075、0.125および0.250 mg/Lになる溶液を調製した。遠心分離後、上澄み液の放射能を測定し、Freundlich 吸着係数 K_f および K_{roc} を求めた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌吸着>

試験結果：

Freundlich 吸着係数

土壌採取場所	土性	1/n	K _F	r	OC%	K _{FOC}	回収率*
十勝農試	Clay loam	0.931	22.2	0.994	2.21	1003	97.39
日植防(牛久)	Heavy clay	0.904	36.0	0.999	3.33	1081	97.47
愛知県農総試	Sandy clay loam	0.978	23.3	0.998	1.11	2100	96.55
日植防(高知)	Light clay	0.942	26.2	0.999	1.33	1973	97.09

* 処理液濃度 0.250 mg/L の場合

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<加水分解運命>

5. 水中運命に関する試験

1) ¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いた加水分解運命試験

(資料 No. 運命-7)

試験実施機関：日曹分析センター

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[¹⁴C] シフルフェナミド

比放射能

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試水：

pH 4、5、7、9 の緩衝溶液

設定 pH	緩衝液名	組成*	実測 pH
4	Kolthoff	0.1 N 水酸化ナトリウム 9 mL 0.1 M クエン酸 1 カリウム 50 mL 蒸留水で 1000 mL に希釈	4.10
5	Kolthoff	0.1 N 水酸化ナトリウム 46.7 mL 0.1 M クエン酸 1 カリウム 50 mL 蒸留水で 1000 mL に希釈	5.19
7	Sørensen	0.1 N NaOH クエン酸ナトリウム (21.0 g C ₆ H ₅ O ₇ · H ₂ O + 200 mL 1 N NaOH/L) 4.43 mL 0.1 N 水酸化ナトリウム 6.57 mL 蒸留水で 1000 mL に希釈	7.34
9	Sørensen	0.05 M ホウ酸ナトリウム 8.5 mL 0.1 N 塩酸 1.5 mL 蒸留水で 1000 mL に希釈	9.04

*: 全ての緩衝液は 5mM に調製した。

試験方法：

OECD ガイドライン No. 111 および農水省農産園芸局長通達 9 農産第 5089 号に従って実施した。

本試験は、pH 9 のみで実施した。標識シフルフェナミドの酢酸エチル溶液 (2.13 × 10⁶ dpm/μg) を減圧乾固し、アセトニトリルに

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜加水分解運命＞

溶解して 70.6 µg/mL または 30.0 µg/mL の溶液を調製した。これらの溶液約 170 µL を pH 9 の Sørensen 緩衝液で希釈し試験溶液を調製した。0.058 mg/L の溶液を 20°C の暗所に静置し、0、7、14、21、30 日後に採取した。0.025 mg/L の溶液は 35°C の暗所に静置し、0、7、14、21、30、45、60 日後に採取した。さらに 0.026 mg/L の濃度は 50°C の暗所に静置し、0、1、3、7、14、21、30 日後に採取した。採取後は、固相カートリッジ (C18) に通してメタノールで溶出し、HPLC で定量分析を行った。また、分解生成物は HPLC および LC/MS により同定した。

試験結果：

本試験

予備試験の結果より、pH 9 についてのみ本試験を実施した。結果を以下にまとめる。

温度	化合物	¹⁴ C-シフルフェナミド加水分解(pH 9)：メタノール溶出区中の分解生成量 (対処理量%)								
		0日	1日	3日	7日	14日	21日	30日	45日	60日
20°C	シフルフェナミド*	97.23	—	—	96.51	93.73	95.69	93.82	—	—
	その他*									
	合計									
35°C	シフルフェナミド*	98.21	—	—	88.16	84.83	76.86	67.16	67.85	46.52
	その他*									
	合計									
50°C	シフルフェナミド*	95.44	85.62	69.91	50.41	37.00	19.77	3.43	—	—
	その他*									
	合計									

—：サンプリングなし

* その他分解物で個々の化合物の最大値は 1.73%

pH 9 の各温度においてシフルフェナミドは、30 日後に対処理量の 93.82% (20°C)、67.16% (35°C) および 3.43% (50°C) まで減少した。また、35°C、60 日後でのシフルフェナミドの残存量は 46.52% であった。全ての温度で主分解物は

その他、同定された分解物として、

それぞれ

これらの結果より、シフルフェナミドの加水分解半減期を計算した。

であった。

50°C においてそれ

であった。

¹⁴ C-シフルフェナミド加水分解：各温度における推定半減期				
pH	20°C	25°C	35°C	50°C
9.0	642 日	288 日*	62 日	7 日

* pH 9 におけるアレニウス式より算出した値

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜加水分解運命＞

シフルフェナミドは加水分解試験において pH 4、5 および 7 では安定であり、25℃における半減期は 1 年以上と推定された。一方、pH 9 では分解が認められ、20、25、35 および 50℃におけるシフルフェナミドの半減期は、それぞれ 642 日、288 日、62 日および 7 日と推定された。シフルフェナミドは

に分解した。pH 9 における

であった。以下にシフルフェナミドの加水分解における推定分解経路を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中光分解運命>

2) ^{14}C -標識シフルフェナミドを用いた水中光分解運命試験

(資料 No. 運命-8)

試験実施機関：(株)日曹分析センター

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[^{14}C] シフルフェナミド

比放射能

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試水：

蒸留水 (高圧蒸気滅菌)

河川水 (神奈川県足柄上郡開成町酒匂川の水、無滅菌、pH 7.48)

試験方法：

シフルフェナミドの水中光分解試験を農林水産省農産園芸局長通達 9 農産 5089 号の指針に従って実施した。標識シフルフェナミドの酢酸エチル溶液 620 μL (シフルフェナミド約 95 μg 含有) を濃縮乾固した後、アセトニトリル 4 mL に溶解し、24.42 mg/L の溶液を調製した。その 1.86 mL を河川水 350 mL および蒸留水 350 mL にそれぞれ加え、0.13 mg/L の試験溶液を調製した。これらの試験溶液 10 mL ずつを石英ガラス試験管に入れ、共栓で密閉し、キセノンランプ光源 (290~800 nm の波長分布域で 600 W/m²) 下 23 cm の位置に置き、周囲に冷却水を循環させることにより試験液を 25 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ に維持した。河川水および蒸留水について光照射区、暗対照区ともに 0、7、14、21 および 30 日後に採取し、それぞれ分析を行った。採取液を固相カートリッジ (C18) に処理しメタノールで溶出した後、HPLC でシフルフェナミドおよび分解物の定量を行い、シフルフェナミドの分解定数および半減期を計算した。また、分解物の同定は LC/MS で行った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中光分解運命>

試験結果：

蒸留水

	化合物	¹⁴ C-シフルフェナミド 水中光分解： <i>M/N</i> - <i>M</i> 溶出区中の分解生成量（対処理量%）				
		0日	7日	14日	21日	30日
光照射区	シフルフェナミド	88.94	85.24	83.98	80.65	87.07
	合計					
暗対照区	シフルフェナミド	92.64	95.68	90.17	87.63	95.51
	その他					
	合計					

蒸留水の光照射区においてシフルフェナミドの光分解はほとんど認められなかった。光分解物として

検出された。暗対照区においてもシフルフェナミドの分解はほとんど認められず、分解物として のみが検出され、その最大値は であった。

河川水

	化合物	¹⁴ C-シフルフェナミド 水中光分解： <i>M/N</i> - <i>M</i> 溶出区中の分解生成量（対処理量%）				
		0日	7日	14日	21日	30日
光照射区	シフルフェナミド	92.04	88.59	86.72	83.78	86.29
	その他					
	合計					
暗対照区	シフルフェナミド	92.89	95.91	93.83	93.85	95.30
	合計					

河川水の光照射区においてシフルフェナミドはわずかに減少し、30日後で対処理量の86.29%となった。主分解物は であった。その他、

であった。

暗対照区においてはシフルフェナミドの分解はほとんど認められなかった。微量の分解物として が確認されたが、その生成量は30日後でそれぞれ

であった。

これらの結果より、シフルフェナミドの分解定数および半減期を次式により求めた。分解定数は最小二乗法により計算した。更に太陽光に換算した半減期も算出した。

$$\ln C = \ln C_0 - k \cdot t$$

ここで、

C: 照射時間 t(日)における NF-149 の濃度 (mg/L)

C₀: 照射時間 0(日)における NF-149 の濃度 (mg/L)

k: 分解定数 (日⁻¹)

この式に C₀ = 100、C = 50 を代入し整理した次式により、光分解半減期 DT₅₀ を算出した。

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k}$$

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中光分解運命>

	分解定数 (日 ⁻¹)	半減期 (日)	太陽光換算した半減期 (日)
蒸留水 照射区	0.0012	694	3604
蒸留水 暗対照区	—	安定	安定
河川水 照射区	0.0024	288	1748
河川水 暗対照区	—	安定	安定

<NF-149の太陽光換算半減期の計算方法>

実験に用いた人工光源の光強度をL-H(測定波長L~H nm, W/m²)とすると、L-H nmの波長領域での太陽光の放射照度(Is)は基準太陽光の分光放射照度分布(JIS C8911)から次式で表される。

$$I_s = I_0(\text{全天日射量の1日積算値}) \times (L-H \text{ nmの放射照度}) / (\text{全波長の照射照度})$$

なお、全天日射量の1日積算値は14.6 (MJ/m²/d) (4~6月の平均値)とする。
人工光強度L-HにおけるNF-149の人工光半減期をDT50(日)とすると、実験開始から半減期までの放射照度の積算値IDT50 (MJ/m²)は次式で表される。

$$IDT50 = I_{L-H} \times DT50 \times 24 \times 3600 \times 10^6 \text{ (MJ/m}^2\text{)}$$

従って、太陽光換算での半減期DT50 sun (日)は次式で表される。

$$DT50 \text{ sun} = IDT50 / I_s$$

この方法により、NF-149の太陽光換算半減期を次頁の通り求めた。

河川水:

$$I_s = 14.6 \times \frac{585.12}{1000} = 8.543 \text{ (MJ/m}^2\text{/日)}$$

$$IDT50 = 600 \times 288 \times 24 \times 3600 \times 10^6 = 14929.92 \text{ (MJ/m}^2\text{)}$$

$$DT50 \text{ sun} = 14929.92 / 8.543 = 1748 \text{ (日)}$$

蒸留水:

$$I_s = 14.6 \times \frac{585.12}{1000} = 8.543 \text{ (MJ/m}^2\text{/日)}$$

$$IDT50 = 600 \times 594 \times 24 \times 3600 \times 10^6 = 30792.96 \text{ (MJ/m}^2\text{)}$$

$$DT50 \text{ sun} = 30792.96 / 8.543 = 3604 \text{ (日)}$$

シフルフェナミドの光分解半減期 (25±1℃における) は滅菌蒸留水で694日、無滅菌河川水で288日であった。また、太陽光換算した半減期はそれぞれ3604日および1748日であった。光分解物として が認められた。以下にシフルフェナミドの水中光分解における推定分解経路を示す (結果より申請者推定)。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中光分解運命>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<環境運命・推定代謝経路>

シフルフェナミドの環境中の推定代謝経路

7. 運命試験のまとめ

シフルフェナミドの哺乳動物、植物、土壌、水、光における挙動について要約する。動植物および環境中での推定代謝経路および代謝物の生成率概要を添付する。

1. 動物

ラットを用いた代謝試験（資料 No. 運命-1）を実施した。¹⁴C-標識シフルフェナミドを低投与量および高投与量の経口投与により、血中濃度、尿糞への排泄、組織分布、胆汁排泄について検討し、更に排泄物および臓器の代謝物を分析した。また、低投与量での反復経口投与を実施し、尿糞への排泄および組織分布について調べた。

低投与量(10 mg/kg)および高投与量(200 mg/kg)で ¹⁴C-標識シフルフェナミドを単回経口投与したときの排泄は早く、投与量の 95%以上が 72 時間以内に尿および糞に排泄された。尿への排泄は、雌（投与量の 10-18%）より雄（24-31%）で多く性差が認められた。また、高投与量より低投与量のほうが多かった。糞への排泄は、雄（66-77%）より雌（81-88%）が多かった。低投与量単回経口投与と比較して、低投与量反復経口投与においても同様の排泄パターンが観察され、大きな差はなかった。

胆汁排泄の結果、投与後 48 時間の胆汁に、低投与量（雄で投与量の 61%、雌 77%）および高投与量（雄 34%、雌 43%）で多量に排泄され、胆汁が主排泄経路であった。吸収率は、低投与量群（雄 70%、雌 85%）が高投与量群（雄 41%、雌 51%）より高かった。胆汁中の放射能の大部分が低投与量では最終的に糞に排泄され、胆汁に排泄された放射能の再吸収が起こること（腸肝循環）が示唆された。

単回経口投与後血漿の最高濃度到達時間（T_{max}）は、低投与量で 1-4 時間、高投与量で 6-12 時間であり、高投与量の方が遅くなることを示した。同様の傾向が赤血球でも見られ、T_{max} は高投与量の場合 12-24 時間であった。高投与量の場合の最高濃度（C_{max}）値は投与量からの予想より低くなったが、AUC₁₂₀ は投与量の増加にほぼ比例して増加した。血漿における半減期は低投与量で 14-16 時間、高投与量で 19-34 時間であった。

低投与量および高投与量で単回経口投与後の、組織濃度は消化管（含内容物）、肝臓および脂肪で最高であった。投与後 168 時間では全組織で放射能濃度が減少し、両投与量で投与量の 1%以下となり、組織蓄積性は低かった。

低投与量での組織における消失相の半減期は、雄および雌でそれぞれ 7.0-30.4 時間および 8.0-56.8 時間であり、雌の脂肪（血漿の約 3.4 倍）を除いて、血漿（雄 15 時間、雌 17 時間）の 2 倍未満であった。高投与量での組織における消失相の半減期は雄および雌でそれぞれ 6-30 時間および 7-52 時間であり、血漿の値（雄 15 時間、雌 20 時間）の 3 倍未満であった。

低投与量 14 日反復経口投与においても単回投与と同様の組織分布が見られ、その濃度は単回投与の 2-4 倍であった。組織の濃度は経時的に減少し、最終投与後 168 時間で最も濃度の高い組織は肝臓であった（単回投与後の値の約 3 倍）。反復投与後の組織中放射能の消失半減期は血漿の 3 倍未満であった。

排泄物中の代謝物は、

および未変化体のシフルフェナミドであった。また 1 個の未知代謝物が として推定された。 は TLC により

痕跡的に存在する事が確認された。

尿中の主代謝物

であった。

であった。代謝物プロファイルは低・高投与量とも類似しており性差は見られなかった。

低投与量の糞中の主代謝物は

であった。また、シフルフェナミド（雄 4%、雌 5%）、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜運命試験まとめ＞

が定量された。高投与量の糞中の主代謝物は未変化のシフルフェナミドであり、その量は雄および雌でそれぞれ42%および51%であった。

反復経口投与後の尿中の主代謝物は雄および雌でそれぞれ1日投与量の
であった。で定量された。

反復経口投与の糞抽出液中の主代謝物は未変化のシフルフェナミドであり、雄で27-39%、雌で20-36%であった。であった。

両投与量で単回経口投与後の無処理の胆汁で分画された主成分の主要成分は、定性分析の結果、と同一と定され、その量は雄および雌でそれぞれ投与量のであった。

代謝物の定量の結果、シフルフェナミドのラットにおける代謝は2つの主な経路により進行した。一方の経路では、シフルフェナミドは

またシフルフェナミドのが糞中に極微量存在することが推定された。

2. 植物

適用作物であるきゅうり(資料 No. 運命-2)、りんご(資料 No. 運命-3)および小麦(資料 No. 運命-4)について、¹⁴C-標識シフルフェナミドを散布し吸収・移行・代謝を調べた。

きゅうりの代謝では大部分の放射能は洗浄区および抽出区に存在した。茎葉散布処理のシフルフェナミドは果実、葉ともに表面から内部への浸透性を示したが、土壌処理によるきゅうり根から果実や葉などの地上部への移行性はほとんど認められなかった。果実および葉の主残留物は未変化体のシフルフェナミドであり、果実では50%TRR以上を占めた。主代謝物はおよびであり、果実でそれぞれ9%TRRおよび7%TRRであった。葉ではこれら代謝物のグルコース抱合体が検出された。

りんごの代謝では大部分の放射能は洗浄区および抽出区に存在した。シフルフェナミドは果実、葉ともに表面から内部への浸透性を示した。果実および葉の主残留物は未変化体のシフルフェナミドであり、果実では13週間後で66%TRRであった。代謝物として

小麦の代謝では大部分の放射能は収穫時にわら及び殻に存在し、穀粒では通常薬量で0.005 mg/kg相当であった。青刈り、わら、殻および穂の主残留物は未変化体のシフルフェナミドであり、主な代謝物として

いずれの代謝物も以下であった。

きゅうり及びりんごに散布したシフルフェナミドは、果実および葉において表面から内部への浸透性を示し、主要成分として残留した。一方、小麦では穀粒への移行性はわずかであった。3作物の代謝パターンは類似しており、主な代謝物として

が存在したが、通常薬量散布において3作物の可食部で10%TRRを超える代謝物は無かった。試験に用いた¹⁴C標識体は

3. 土壌

¹⁴C-標識シフルフェナミドを用いた好気的条件下での土壌(火山灰植壤土)における代謝試験(資料 No. 運命-5)では¹⁴CO₂以外の揮散性物質の生成はみられなかった。¹⁴CO₂発生量は180日後に処理量の2%であった。抽出された放射能量は、180日後で41%まで減少した。土壌結合残

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜運命試験まとめ＞

渣は経時的に増加し、90日後には57.42%に達し、以降漸減する傾向が認められた。土壌結合残渣のアルカリ分画では放射能の54-61%は存在した。シフルフェナミドは経時的に減衰し、180日後に約2%になり、その半減期 DT_{50} は約5日であった。主要代謝物として

からも上記代謝物が微量ながら検出された。よって、シフルフェナミドは土壌において、主にこれらの代謝物を經由し、最終的には二酸化炭素まで分解されるものと推定された。

シフルフェナミドの土壌吸着係数を日本の4土壌を用いて測定した(資料 No. 運命-6)。その結果、Freundlich 吸着係数 K_F 値は22-36、 K_{roc} 値は1003-2100であり、シフルフェナミドの土壌吸着性は高いものと思われた。

4.加水分解および水中光分解

本試験はpH 9のみで実施した。pH 9で25、35および50℃におけるシフルフェナミドの半減期はそれぞれ642日、62日および7日と推定された。全ての温度で主分解物はであり、その他が検出された。

シフルフェナミドの蒸留水および河川水を用いた水中光分解試験(資料 No. 運命-8)を実施した。600 W/m² (波長範囲: 290-800 nm) の光源下、25℃においてシフルフェナミドの半減期は、滅菌蒸留水で594日、無滅菌河川水で288日であった。これらは、太陽光換算でそれぞれ3604日および1748日に相当する。光分解物として

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<運命試験まとめ>

シフルフェナミドの推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

追加資料の提出について

シフルフェナミドは、平成 12 年に国内登録のために申請し、平成 14 年に認可された。その後、平成 15 年に欧州登録のために申請し、平成 17 年に英国で、平成 18 年にベルギー及びドイツで仮登録を取得した。現在、欧州の有効成分登録 (Annex I 掲載) のための評価が実施されている。

国内登録申請では未提出で、欧州登録申請では提出した試験資料のうち、ADI 設定に関係する 5 つの試験資料の概要書を別冊として提出する。

尚、資料 1)、2)は欧州申請時(平成 15 年 1 月)に提出、資料 3)~5)は英国 Advisory Committee on Pesticide の要請により追加提出(平成 16 年 1 月)したものである。

- 1) [^{14}C]シフルフェナミドを用いたラットにおける代謝試験(低用量排泄バランス)
- 2) [^{14}C]シフルフェナミドを用いたラットにおける代謝試験(低用量血中濃度)
- 3) ^{14}C -標識シフルフェナミドの における代謝試験
- 4) ^{14}C -標識シフルフェナミドの前投与した における代謝試験
- 5) ^{14}C -標識シフルフェナミドを投与した

(別冊) 動物における代謝分解

(代謝分解試験一覧表)

資料 No.	試験の種類	供試動物 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 ページ
運命別1 GLP	動物体内に おける代謝 1) 排泄/ 組織分布/ 代謝物分析 (¹⁴ Cラベル)	ラット	低投与量単回経口 投与 168時間尿、糞 排泄率測定 168時間後組織内 分布測定 72時間排泄物中 代謝物分析	尿：雄31.72%、雌19.70%、 糞：雄56.87%、雌69.46% ケージ洗浄：雄0.01%、雌0.01% 体内残留：雄4.25%、雌3.06% 総回収率：雄92.85%、雌92.22% 残留量の多い組織は、脂肪、甲状腺および副睾丸。 主たる代謝物 糞： 尿：	日本曹達株 (2002)	運命一 別4
運命別2 GLP	動物体内に おける代謝 2) 血中濃度 (¹⁴ Cラベル)	ラット	低投与量単回経口 投与 120時間血中濃度 測定	血漿中半減期(hr)： 雄6.48、雌7.92 Tmax(hr)：雄2、雌2 Cmax(μg/g)：雄1.30、雌0.91 AUC ₀₋₁₂₀ (μg×時間/mL)： 雄12.34、雌10.00	日本曹達株 (2001)	運命一 別9
運命別3 GLP	動物体内に おける代謝 1) 排泄 血中濃度 代謝物分析 組織分布 (¹⁴ Cラベル)		200 mg/kg 単回経口投与 96時間尿、糞排泄率 96時間血中濃度 3時間後組織内分布 排泄物、胆汁および 組織内代謝物分析	尿：12.75%、糞：78.66%、 ケージ洗浄：0.86% 血漿中半減期：7.9hr Tmax：3 hr Cmax：12.1 μg/g AUC ₀₋₉₆ ：156.0 μg equiv.h/g 3時間後組織濃度(μg/g)： 胆汁：4340、脳：4.19、肝臓：50.4 血漿：11.1 代謝物分析：(主たる代謝物) 糞：ジメフェナシド、尿：149-F1 胆汁： 血漿及び脳：ジメフェナシド 肝臓：未知代謝物及びジメフェナシド 代謝物比較： 代謝物プロファイルは類似	Huntingdon Life Sciences Ltd. (2000)	運命一 別12
運命別4 GLP	動物体内に おける代謝 1) 組織中 代謝物分析 (¹⁴ Cラベル)		1500ppm 25週間摂 餌連投後、 ラベル体200 mg/kg 単回経口投与 4時間後組織内分布 および代謝物分析	4時間後組織濃度(μg/g)： 脳：1.74、血漿：19.1 代謝物分析：(主たる代謝物) 脳：ジメフェナシド、 血漿：ジメフェナシド 単回投与とプロファイルの比較： 連投血漿中では親化合物少ない 代謝物分析：(主たる代謝物) 親および未知代謝物	Huntingdon Life Sciences Ltd. (2000)	運命一 別19
運命別5 GLP	動物体内に おける代謝		高投与量単回経口 投与 6時間後脳中代謝 物分析	代謝物分析：(主たる代謝物) 親および未知代謝物	Huntingdon Life Sciences Ltd. (2000)	運命一 別22

(代謝物一覧)

由来	略称	化学名	構造式
親化合物	シフルフェナミド NF-149	(2)-N[α-(シクロプロピル)メチル]-2,3-ジフルオロ-6-(トリフルオロメチル)ベンジミド]-2-フェニルエチル	
動物 植物 加水分解 水中光分解			
動物 植物 土壌 加水分解 水中光分解			
動物 土壌 加水分解 水中光分解			
動物 土壌			
動物			
動物 植物			
動物			
動物 植物			
動物			

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<代謝物一覧>

由来	略称	化学名	構造式
動物			
動物			

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ラット排泄バランス>

1. 動物体内運命に関する試験

- 1) [¹⁴C]シフルフェナミドを用いたラットにおける代謝試験
(低用量排泄バランス)

(資料 No. 運命-別 1)

試験実施機関：日本曹達 小田原研究所

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[¹⁴C] シフルフェナミド
(-¹⁴C-シフルフェナミド)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

試験方法：

低投与量で1回 ¹⁴C-シフルフェナミドを強制経口投与し、尿(ケージ洗浄液を含む)および糞を投与 168 時間後まで経時的に採取し、¹⁴C 排泄率を計算した。また尿、糞試料採取終了時(168 時間)に屠殺し、組織/器官を採取して放射能を測定し組織内分布率を算出した。また、投与後 72 時間までの尿及び糞をそれぞれ分析した。

比放射能	供試動物数 (平均体重)	投与量 (mg/kg)	投与方法	試験項目
雌雄共 Bq/μg	雄 4 匹 (240 g) 雌 4 匹 (184 g)	雄 (10.1) 雌 (10.0)	1 回経口	168 時間尿、糞排泄率 168 時間後組織内分布

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
 <動物体運命・ラット排泄バランス>

試験結果：

尿、糞、組織中 ^{14}C 排泄率の測定結果を下表に示す。
 低投与量の経口投与予備試験で、投与 24 時間までに呼気に放射能が検出されなかったため、呼気の測定は行わなかった。

Sample		^{14}C -シフルフェナミド投与 168 時間後の排泄率% (累積排泄率%)			
		雄		雌	
		平均値	SD	平均値	SD
尿*	12 H	22.42 (22.42)	2.82	10.24 (10.24)	1.20
	24 H	5.18 (27.60)	0.85	4.72 (14.96)	0.75
	48 H	2.45 (30.06)	0.44	2.84 (17.80)	1.00
	72 H	0.75 (30.81)	0.12	0.89 (18.69)	0.24
	96 H	0.37 (31.18)	0.04	0.45 (19.14)	0.15
	120 H	0.25 (31.42)	0.02	0.27 (19.40)	0.02
	144 H	0.17 (31.59)	0.03	0.15 (19.55)	0.03
	168 H	0.13 (31.72)	0.02	0.15 (19.70)	0.06
	計	31.72	4.21	19.70	1.71
ケージ洗浄液		0.01	0.01	0.01	0.01
糞	24 H	42.74 (42.74)	7.64	47.45 (47.45)	9.50
	48 H	11.89 (54.63)	1.90	17.06 (64.51)	5.89
	72 H	1.67 (56.30)	0.31	3.78 (68.29)	1.18
	96 H	0.37 (56.67)	0.09	0.85 (69.13)	0.24
	120 H	0.12 (56.79)	0.02	0.20 (69.34)	0.04
	144 H	0.06 (56.85)	0.02	0.09 (69.43)	0.02
	168 H	0.03 (56.87)	0.01	0.03 (69.46)	0.01
	計	56.87	5.76	69.46	2.71
ラット体内残存		4.25	0.60	3.06	0.65
総回収率		92.85	1.39	92.22	0.66

*: ろ紙を含む

投与後大部分の放射能(>85% dose)が 72 時間までに尿及び糞中へと排泄された。尿への排泄において雌(19.7% IAR)より雄(31.7% IAR)の方が多く性差が観察された。糞への排泄は雄(56.9% IAR)より雌(69.5% IAR)が多かった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ラット排泄バランス>

組織	¹⁴ C-シフルフェナミド投与後168時間の組織内シフルフェナミド換算濃度(μg/g)および分布率(投与量%)			
	雄		雌	
	組織内濃度	分布率	組織内濃度	分布率
副腎	0.473	0.00	0.541	0.00
骨髄	0.293		0.262	
脳	0.206	0.02	0.215	0.02
副睾丸	0.857	0.01	-	-
脂肪	2.301	1.46	1.820	1.01
大腿骨	0.164		0.135	
大体筋	0.170	0.87	0.142	0.63
消化管*	0.226	0.32	0.264	0.26
心臓	0.107	0.00	0.146	0.01
腎臓	0.185	0.02	0.255	0.02
肝臓	0.341	0.20	0.593	0.28
肺	0.211	0.01	0.222	0.01
卵巣	-	-	0.570	0.00
脾臓	0.642	0.03	0.414	0.02
脳下垂体	0.000	0.00	0.124	0.00
前立腺	0.537	0.01	-	-
精囊	0.199	0.01	-	-
皮膚及び毛	0.302	0.65	0.148	0.28
脾臓	0.109	0.00	0.092	0.00
精巣	0.126	0.01	-	-
胸腺	0.163	0.00	0.166	0.00
甲状腺	0.971	0.00	0.922	0.00
子宮	-	-	0.168	0.00
全血	0.010	0.01	0.030	0.02
血漿	0.000		0.000	
赤血球	0.007		0.057	
屍体 (ラット体内残存)	0.380	4.25	0.279	3.06

*: 胃および内容物を含む

投与後 168 時間における組織中の放射能は雌雄ともに脂肪で最も多く(雄, 2.30 μg equiv/g; 雌, 1.82 μg equiv/g)次いで、甲状腺(雄, 0.97 μg equiv/g; 雌, 0.92 μg equiv/g)、副睾丸(雄, 0.86 μg equiv/g)であった。中程度の放射能濃度が検出された組織として副腎、肝臓、卵巣(雌のみ)、脾臓、前立腺(雄のみ)および皮膚(雄のみ)であり濃度は 0.30 - 0.64 μg equiv/g であった。その他の組織では、0.3 μg equiv/g 未満であった。

化合物	Unit: % IAR					
	雄			雌		
	尿	糞	計	尿	糞	計
シフルフェナミド	ND	TR	NA	ND	3.24	3.24
未知代謝物						
同定された代謝物計						
未知代謝物計						
未知代謝物の最大値*						

TR = Trace, NA = 適用外, ND = 未検出, *: HPLC 分析値

排泄物中の代謝物の同定を HPLC コクロマトグラフと LC-MS または LC-MS-MS において参考物質と比較によって実施した。

尿及び糞中代謝物の定量分析を投与後 0-72 時間の試料を用いて実施した。主要代謝物として尿中に が定量された。

糞中の主要代謝物として が定
 量された。その他の代謝物として および

が定量された。糞中における微量代謝物としてシ
 フルフェナミド が LC-MS における標品との比較によって確認された。

また 2, 3 の未知代謝物が検出されたが、そのうちの最大のもので % IAR であった。

尿、糞中代謝物のプロファイルは雌雄で同等であった。 は
 HPLC コクロマトグラフにおいて排泄物中には検出されなかった。

排泄物中の代謝物の定性分析を HPLC コクロマトグラフ、LC-MS および LC-MS-MS において参考物質との比較によって実施した。

その結果シフルフェナミド、 が同定された。

推定代謝経路を以下に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。
<動物体運命・ラット排泄バランス>

ラットにおける ^{14}C -シフルフェナミドの推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ ラット血中濃度>

2) [¹⁴C]シフルフェナミドを用いたラットにおける代謝試験 (低用量血中濃度)
(資料 No. 運命-別2)

試験実施機関： 日本曹達 小田原研究所

報告書作成年： 2001年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

[¹⁴C]シフルフェナミド
(¹⁴C-シフルフェナミド)
比放射能：
放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

試験方法：

¹⁴C-シフルフェナミドを低投与量(10 mg/kg)で投与した。動物は各性4匹ずつ以下の時間に血液を尾部から採取し、遠沈後血漿および赤血球の放射能を測定した。

血漿および赤血球の平均放射能濃度の最大値(Cmax)および最大値になった時間(Tmax)は実験で観察された数値とした。投与後120時間までの血漿および赤血球の濃度-時間曲線下面積(AUC120)を一次台形公式により計算した。1-コンパートメントモデルを用いて一次回帰分析を行い、消失相の速度定数 k10 およびそれに基づく半減期($\ln 2/k10 = t_{1/2}$)を計算した。

比放射能	供試動物数 (平均体重)	投与量 (mg/kg)	投与方法	試験項目
雌雄共 Bq/μg	雄4匹 (263 g) 雌4匹 (184 g)	雄 (9.98) 雌 (10.1)	1回経口	投与後0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120時間 血漿、赤血球採取

試験結果：

投与後の血漿および血球中の ¹⁴C 濃度推移および薬物動学的パラメータを次ページに示す。放射能の血漿中濃度および赤血球濃度の経時変化を図に示す。

血漿中の放射能濃度は投与後2時間で1.30 μg-eq/g (雄)および0.91 μg-eq/g (雌)に達した。消失半減期は6.48時間(雄)および7.92時間(雌)であった。AUCの値は12.34 μg-eq-h/g (雄)および10.00 μg-eq-h/g (雌)であった。

血球中の放射能濃度は投与後2時間で0.31 μg-eq/g (雄)および0.35 μg-eq/g (雌)に達した。消失半減期は25.29時間(雄)そして9.03時間(雌)であった。AUCの値は9.88 μg-eq-h/g (雄)および4.64 μg-eq-h/g (雌)であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ ラット血中濃度>

¹⁴C-シフルフェナミドの吸収および消失速度は雌雄のラットにおいて速く、血漿における薬物動力学パラメータは、¹⁴CINF-149 の試験(資料 No.運命-1)と同等であった。

血漿および赤血球中の¹⁴C-シフルフェナミド換算濃度の経時変化

採取時間	雄		雌	
	血漿	赤血球	血漿	赤血球
0.25H	0.032	0.000	0.105	0.000
0.5H	0.322	0.018	0.389	0.151
1H	0.921	0.185	0.848	0.315
2H	1.296	0.305	0.882	0.330
3H	1.033	0.233	0.714	0.261
4H	0.832	0.246	0.598	0.283
6H	0.784	0.219	0.459	0.227
12H	0.330	0.163	0.302	0.140
24H	0.170	0.000	0.150	0.025
48H	0.060	0.067	0.031	0.042
72H	0.000	0.011	0.000	0.013
96H	0.000	0.009	0.000	0.023
120H	0.000	0.000	0.000	0.000

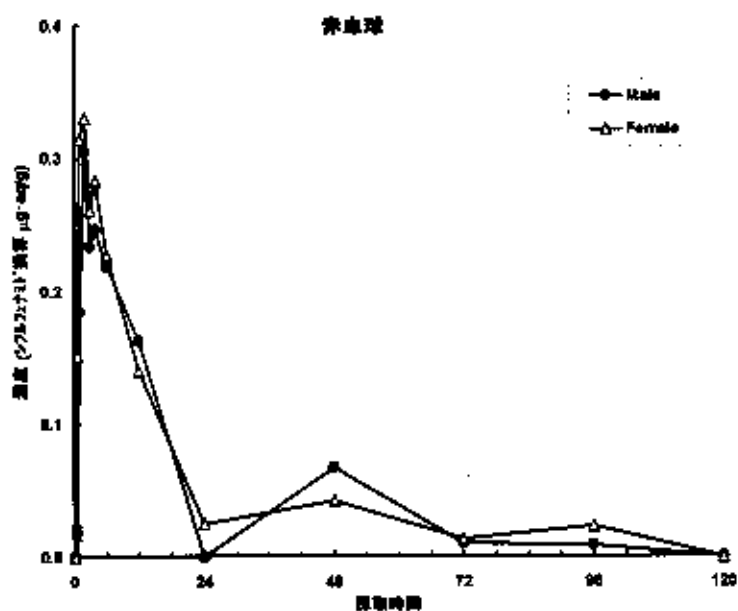
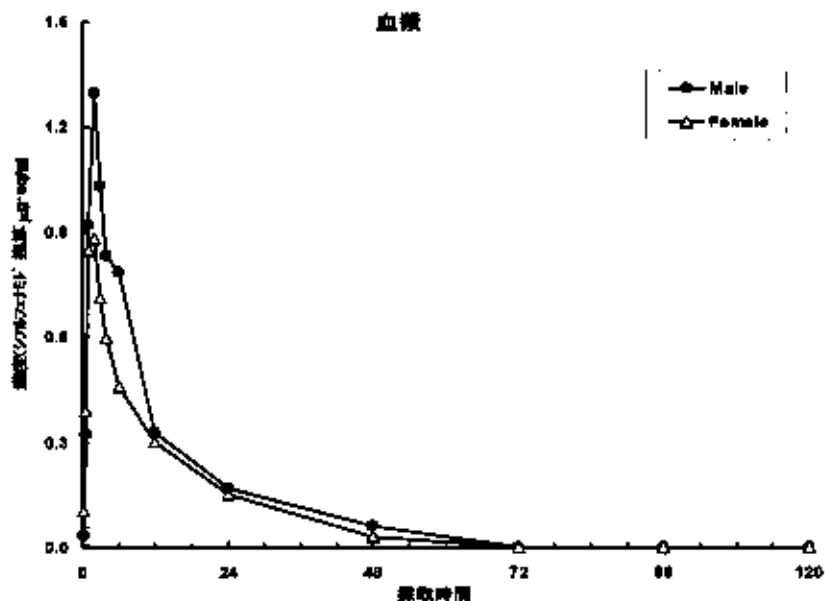
	薬物動力学パラメーター	雄	雌
血漿	Cmax (obs) (mg equivalents/g)*	1.30	0.91
	Tmax (obs) (hours)*	2	2
	AUC (mg equivalents·h/g)	12.34	10.00
	T1/2 (hours)	6.48	7.92
赤血球	Cmax (obs) (mg equivalents/g)*	0.31	0.35
	Tmax (obs) (hours)*	2	2
	AUC (mg equivalents·h/g)	9.88	4.64
	T1/2 (hours)	25.29	9.03

*: 各動物の最大値を用いて計算した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ラット血中濃度>

血漿、赤血球中濃度推移曲線を下に示す。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ 排泄/分布>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ 排泄/分布>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ 排泄/分布>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ 排泄/分布>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 動物体運命・ 排泄/分布 >

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・ 排泄/分布>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・排泄/分布>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・前投与 分布/分析>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・前投与 分布/分析>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・前投与 分布/分析>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体運命・

>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 動物体運命・

>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

[附]

シフルフェナミドの開発年表