

## β-シフルトリン

### 目次

物理的・化学的性状	1
毒性試験一覧	毒-1
(1) 急性経口毒性	毒-3
(2) 急性神経毒性	毒-6
(3) 28日間反復経口投与毒性	毒-15
(4) 90日間反復経口投与毒性	毒-23
(5) 反復経口投与神経毒性	毒-39
(6) 催奇形性	毒-48
(7) 変異原性	毒-53
(8) その他	毒-60
代謝試験一覧	代-1
代謝分解物一覧表	代-2
動物代謝	代-3
植物代謝	代-20

## 物理的・化学的性状

### β-シフルトリン

#### 1. 有効成分の名称及び化学構造

1) 一般名：β-シフルトリン、beta-cyfluthrin

2) 化学名：

IUPAC名：

[英名] (*RS*)-α-cyano-4-fluoro-3-phenoxybenzyl

(*1RS, 3RS; 1RS, 3SR*)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

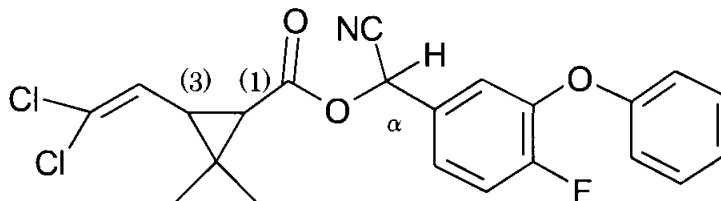
[和名] (*RS*)-α-シアノ-4-フルオロ-3-フェノキシベンジル=(*1RS, 3RS; 1RS, 3SR*)-3-(2,2-ジクロロビニル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシラート

CAS名：

[英名] cyano(4-fluoro-3-phenoxyphenyl)methyl 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

[和名] シアノ(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)メチル=3-(2,2-ジクロロエテニル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシラート

4) 構造式：



異性体II：(*1R-3R-αS*)+(1*S-3S-αR*)

異性体IV：(*1R-3S-αS*)+(1*S-3R-αR*)

5) 分子式： C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>FNO<sub>3</sub>

6) 分子量： 434.3 g/mol

7) CAS番号： 68359-37-5

なお、物理的・化学的性状についてはシフルトリンを参照（異性体毎に記載）。

β-シフルトリン

I. 原体

資料番号	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> または無毒性量 (mg/kg)	試験機関* (報告年)	記載頁
β-1 (GLP)	急性毒性 (14日観察)	ラット	♂♀5	経口 <sup>a)</sup>	絶食条件下 ♂: 10, 50, 100, 250, 500, 710, 1000, 1400 ♀: 10, 50, 100, 800, 1000, 1400, 1500, 1600, 2000	♂: 380 ♀: 651	(1987年)	毒-3
β-2 (GLP)	急性毒性 (14日観察)	ラット	♂♀5	経口 <sup>b)</sup>	絶食条件下 ♂: 0, 1, 10, 50, 100, 250, 400, 500 ♀: 0, 1, 10, 100, 250, 315, 400, 500	♂: 211 ♀: 336	(1987年)	毒-4
β-3 (GLP)	急性毒性 (14日観察)	ラット	♂♀5	経口 <sup>c)</sup>	絶食条件下 ♂: 1, 10, 71, 100, 160, 250 ♀: 1, 10, 63, 80, 100, 160	♂: 84 ♀: 77	(1987年)	毒-3
β-4 (GLP)	急性神経毒性 (14日観察)	ラット	♂♀12	経口	♂♀: 0, 0.5, 2, 10	♂♀: 2	(1997年)	毒-6
β-5 (GLP)	反復経口投与毒性 (4週+4週回復)	ラット	♂♀12	経口	♂♀: 0.25, 1, 4, 16	♂♀: 1	(1988年)	毒-15
β-6 (GLP)	反復経口投与毒性 (90日+4週回復)	ラット	♂♀15	飼料混入	♂♀: 0, 30, 125, 500 ppm ♂: 0, 2.3, 9.5, 38.9 ♀: 0, 2.5, 10.9, 42.4 mg/kg/日	♂♀: 125ppm ♂: 9.5 ♀: 10.9 mg/kg/日	(1988年)	毒-23
β-7 (GLP)	反復経口投与毒性 (90日)	イヌ	♂♀4	飼料混入	♂♀: 0, 10, 60, 360 ppm ♂: 0, 0.38, 2.38, 13.8 ♀: 0, 0.40, 2.46, 15.3 mg/kg/日	♂♀: 60ppm ♂: 2.38 ♀: 2.46 mg/kg/日	(1987年)	毒-32
β-8 (GLP)	反復経口投与神経毒性 (13週)	ラット	♂♀各12	飼料混入	0, 30, 125, 400 ppm ♂: 0, 2.02, 7.99, 26.81 ♀: 0, 2.34, 9.40, 30.83 mg/kg/日	♂♀: 30ppm ♂: 2.02 ♀: 2.34 mg/kg/日 神経毒性なし	(1997年)	毒-39

a) : ポリエチレングリコール 400 にて調製

b) : キシレンにて調製

c) : アセトン(10%)及びピーナツ油にて調製

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

資料番号	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関* (報告年)	記載頁
β-9 (GLP)	催奇形性	ラット	♂♀30	経口	♀ : 0, 3, 10, 40	親 : 10 胎児 : 10 mg/kg/日 催奇形性なし	(1996年)	毒-48
β-10	復帰変異	サルモネラ菌 (TA100, 981535, 1537)	4プレート/群	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加、添加 ① 20, 100, 500, 2500, 12500 ② 500, 1000, 2000, 4000, 8000 μg/mL	変異原性なし	(1986年)	毒-53
β-11 (GLP)	染色体異常	ヒトリンパ球	2プレート/群	<i>in vitro</i>	S-9 Mix 無添加、添加 500, 1000, 5000 μg/mL	染色体異常誘発なし	(1988年)	毒-55
β-12 (GLP)	小核	マウス	♂♀各5	経口	0, 80mg/kg	染色体異常誘発なし	(1988年)	毒-57
β-13 (GLP)	発達神経毒性	ラット	♂♀30	飼料混入	♀ : 0, 30, 125, 200 ppm 妊娠期間 0, 2.4, 11.0, 17.8 哺育期間 0, 5.9, 25.4, 40.9 mg/kg/日	親, 胎児 : 125ppm 11.0 mg/kg/日	(2003年)	毒-60

(1) 急性毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -1

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP対応]

供試動物：Wistar ラット (Bor: WISW)、7~12 週齢 (投与時体重：絶食；雄 160~180g、雌 172~182g, 飽食；雄 170~190g、雌 180~193g)、1 群雌雄各 5 匹  
 観察期間：14 日間

検体純度	$\beta$ -シフルトリン 99.1%			
投与方法	経口(絶食)*		経口(飽食)	
調製媒体	ポリエチレングリコール400			
投与量 (mg/kg)	雄：10、50、100、250、500、710、1000、1400 雌：10、50、100、800、1000、1400、1500、1600、2000		雄：10、100、630、800、1000、1400、2500 雌：10、100、1000、1400、1800、2000	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) 95%信頼限界	雄：380 231~625	雌：651 329~1294	雄：655 395~1088	雌：1369 1137~1651
投与容量	5あるいは10mL/kg			
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後3時間開始、 投与後6日終了 雌：投与後3時間開始、 投与後7日終了		雄：投与後3時間開始、 投与後6日終了 雌：投与後4時間開始、 投与後6日終了	
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後17分開始、 投与後8日消失 雌：投与後14分開始、 投与後11日消失		雄：投与後16分開始、 投与後11日消失 雌：投与後14分開始、 投与後12日消失	
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：50	雌：50	雄：100	雌：100
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
主な症状	運動性の増加、穴掘り運動および洗眼運動の亢進、非協調性歩行、回転、流涎等			

\*；投与16時間前から絶食

## ラットにおける急性経口毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -2

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP 対応]

供試動物：Wistar ラット (Bor: WISW)、7~12 週齢 (投与時体重：絶食；雄 162~186g、  
雌 167~188g, 飽食；雄 168~188g、雌 180~194g)、1 群雌雄各 5 匹  
観察期間：14 日間

検体純度	$\beta$ -シフルトリン 99.1%			
投与方法	経口(絶食)*		経口(飽食)	
調製媒体	キシレン			
投与量 (mg/kg)	雄：0、1、10、50、100、250、400、500 雌：0、1、10、100、250、315、400、500		雄：0、1、10、100、200、250、315、355、 400、500 雌：0、1、10、100、250、355、400、450、 500	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) 95%信頼限界	雄：211 110~404	雌：336 290~391	雄：307 260~364	雌：343 286~411
投与容量	ml/kg			
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後 1 日開始、 投与後 3 日終了 雌：投与後 1 日開始、 投与後 3 日終了		雄：投与後 3 時間開始、 投与後 3 日終了 雌：投与後 4 時間開始、 投与後 4 日終了	
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後 28 分開始、 投与後 10 日消失 雌：投与後 26 分開始、 投与後 7 日消失		雄：投与後 17 分開始、 投与後 8 日消失 雌：投与後 24 分開始、 投与後 7 日消失	
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：10	雌：100	雄：100	雌：100
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
主な症状	運動性の増加、穴掘り運動および洗眼運動の亢進、非協調性歩行、回転、 流涎等			

\*；投与 16 時間前から絶食

ラットにおける急性経口毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -3

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP 対応]

供試動物：Wistar ラット (Bor: WISW)、7~12 週齢 (投与時体重：雄 163~193g、雌 169~193g)、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

検体純度	$\beta$ -シフルトリン 99.1%			
投与方法	経口(絶食)*		経口(飽食)	
調製媒体	アセトン/ピーナッツ油 (アセトン10%)			
投与量 (mg/kg)	雄：1、10、71、100、160、250 雌：1、10、63、80、100、160		雄：1、10、100、160、180、200 雌：1、10、71、100、160、200、250	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) 95%信頼限界	雄：84	雌：77	雄：141	雌：108
	55~131	65~93	113~177	78~152
投与容量	5mL/kg			
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後 4 時間開始、 投与後 2 日終了 雌：投与後 4 時間開始、 投与後 3 日終了		雄：投与後 2 時間開始、 投与後 2 日終了 雌：投与後 3 時間開始、 投与後 3 日終了	
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後 48 分開始、 投与後 10 日消失 雌：投与後 56 分開始、 投与後 10 日消失		雄：投与後 33 分開始、 投与後 9 日消失 雌：投与後 31 分開始、 投与後 11 日消失	
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：1	雌：1	雄：1	雌：1
主な症状	運動性の増加、穴掘り運動および洗眼運動の亢進、非協調性歩行、回転、流涎等			

\*；投与 16 時間前から絶食

## (2) 急性神経毒性

### ラットにおける急性神経毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -4

試験機関：

報告書作成年：1997年 [GLP 対応]

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 97.3%(1995年7月)、96.9%(1996年4月)

供試動物：Fisher 344 CDF (F-344)/BR ラット, 9週齢(投与前群平均体重: 雄 165-168g, 雌 136-137g), 1群雌雄各12匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を1%クレモホア EL+脱イオン水で調製し、0(対照)、0.5、2 および 10mg/kg の用量で強制経口投与した(投与容量：10mL/kg)。

用量設定の根拠：投与用量は、0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、2、5、10、25 および 50mg/kg を雌雄のラットに投与した急性経口用量設定試験の結果に基づいた。一般症状観察では 25mg/kg 以上の群で雌雄ともに死亡がみられ、10 及び 5mg/kg 群で明らかな毒性の兆候が見られた。2mg/kg 群では雌のみにわずかな影響(咀嚼運動の繰り返し)\* がみられた。症状は一般に投与後1~3時間後にあらわれ、生存動物では翌日に回復していた。神経行動学的影響を示すピーク時間は投与後約2~3時間と推定された。以上の結果から、本試験では 10mg/kg を死亡せずに明らかな毒性を示す最大用量として選択し、0.5mg/kg は全身的な毒性徴候を全く示さない用量、また 2mg/kg は両者の中間用量として選択した。

\*咀嚼運動の繰り返しは、以下の理由により検体による全身作用によるものではなく、経口投与による口腔粘膜に対する局所的な刺激作用と考えられた。

1) 頻度に用量に関連性がない。

2) 投与せず、0.1mg/kg の投与液に浸したガーゼの先端を動物の舌につけたときに咀嚼運動が繰り返し観察された。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：ケージサイド観察は少なくとも1日1回、死亡又は瀕死の臨床症状について観察を行った。詳細な身体的観察を毒性徴候について行い毎日記録した。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。

10mg/kg群の雌雄で口の周りの汚れが認められ、肛門周囲の汚れも対照群と比較して統計学的に有意に増加した。さらに雄では尿による汚れも認められた。2mg/kg群雌雄では肛門周囲の汚れが認められた。これらの所見は投与開始日にみられ投与後5日までに消失した。



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

[申請者註：2mg/kg群において肛門周囲の汚れを示す動物が増加(雌雄とも11/12例)したが、対照群においても投与0日から2日の間に雄では8/12例、雌では5/12例に認められており、統計学的に有意な差は認められず、FOBではこの所見が認められていないことから、検体による毒性影響とは考えられなかった。]

表1：主な臨床症状

性別	雄				雌			
	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10
投与量 (mg/kg)	0	0.5	2	10	0	0.5	2	10
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
口の汚れ	0	0	0	10 <sup>***</sup> (0-2)	0	0	0	9 <sup>***</sup> (0-3)
尿の汚れ	0	0	0	4 <sup>*</sup> (0-1)	5 (7-10, 13-14)	3 (7, 14)	2 (7-8, 14)	5 (0-1, 6-9, 12, 14)
肛門周囲の汚れ	8 (0-2)	8 (0-2, 12)	11 (0-4)	12 <sup>*</sup> (0-5)	5 (0-2)	6 (0-1)	11 <sup>*</sup> (0-1)	11 <sup>*</sup> (0-1)

\* : P<0.05 \*\*\* : P<0.001 (Fisher 検定、申請者が実施)

( )内数値は観察された日を示す。0日;投与日

体重：投与開始前、その後はFOBの一項目として毎週、動物の体重を測定した。

雌雄いずれの投与群においても、投与による影響は認められなかった。

機能観察総合検査 (Functional Observational Battery : FOB) :

検査は4回 (被験物質投与1週間前、投与約2時間、7日及び14日後)、行った。

機能検査はMoser<sup>1</sup>により記載された一連の試験法に準拠した。着地開脚幅や握力は確立された方法に基づいた<sup>2</sup>。

ホームケージでの観察 [体位、立毛、不随意運動 (間代性、強直性)、歩行異常、異常発声、その他]

ハンドリングによる観察 [ケージからの取り出しやすさ、ハンドリング中の反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、瞳孔、流涙、流涎、汚れ、その他]

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

<sup>2</sup> P. M. Edwards and V. H. Parker, "A Simple, Sensitive, and Objective Method for Early Assessment of Acrylamide Neuropathy in Rats," Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977, 40, pp. 589-591.

D. A. Meyer, H. A. Tilson, W. C. Byrd and M. T. Riley, "A Method for the Routine Assessment of Fore- and Hindlimb Grip Strength of Rats and Mice," Neurobehav. Toxicol., 1979, 1, pp. 233-236.

オープンフィールドでの観察 [立毛、呼吸異常、体位、不随意運動 (間代性、強直性)、常同行動、奇異行動、歩行異常、異常発声、覚醒、立ち上がり、その他、排便、排尿]

反射/生理学的観察及び測定 [接近反応、接触反応、聴覚反応、テイルピンチ反応、正向反射、握力、体重、体温、着地開脚幅]

主な影響を表 2 に示した。

投与に関連する影響は、投与 2 時間後にみられ、いずれの影響も次回の検査 (投与 7 日) では認められなかった。

10mg/kg では雌雄に、歩行失調、活動性低下、ホームケージでの腹臥位、足で引っ掻く動作の反復、接近および接触反応の低下、正向反射障害、流涎およびそれによる口周囲の被毛の汚れ、黄色尿および肛門周囲の被毛の汚れ (茶色) が認められた。さらに雄では体温が低下し、ライジング、オープンフィールドでの腹臥位、テイルピンチ反応の低下などが認められ、雌では軽度の筋肉線維束性収縮が認められた。

2mg/kg 群で認められた所見は、雄で接近反応を示さない動物の増加および口周囲の被毛の汚れ、雌ではオープンフィールドでの活動の低下および接近反応を示さない動物の増加に限られた。

なお、ホームケージでの観察において 10mg/kg 群の雄 2 匹にみられた眼瞼下垂は、2 匹にしか認められなかったこと、雌の同群では認められなかったことから、投与とは関連しない偶発的な影響と考えられた。また、雄の 10mg/kg 群 3 匹および 2mg/kg 群 1 匹、雌の 10mg/kg 群 2 匹および 0.5mg/kg 群 2 匹に認められた咀嚼運動の繰り返しは、用量設定の根拠でも記載したように本剤を投与する際、ゾンデ芯の先についていた薬液が投与の際口粘膜に接触したことによる一過性の局所的影響と考えられた。

0.5mg/kg 群では雌雄いずれにおいても投与に関連した影響は認められなかった。前肢および後肢の握力、着地開脚幅にはいずれの投与群においても投与による影響は認められなかった。

[申請者註: 2mg/kg 群雌雄で認められた所見の発生頻度は、対照群と比較して差があったとしてもその差は極めてわずかで統計学的有意差も認められないことから、投与による毒性影響とは考えられなかった。]

表2 機能観察総合検査 (投与2時間後)

性別		雄				雌			
検査動物数		各群12例				各群12例			
投与量(mg/kg)		0	0.5	2	10	0	0.5	2	10
ホームケージ	歩行失調：軽度	0	0	0	0	0	0	0	7*
	：中/重度	0	0	0	6*	0	0	0	2*
	活動性の低下	0	0	0	7*	0	0	0	2
	姿勢 腹臥位	0	0	0	1	0	0	0	1
	咀嚼運動の亢進：軽度	0	0	0	2*	0	0	0	0
	：中/重度	0	0	0	1*	0	0	0	0
	眼瞼下垂	0	0	0	2*	0	0	0	0
	ライジング	0	0	0	2	0	0	0	0
ハンドリング	流涎：軽度	0	0	0	0	0	0	0	2*
	：中/重度	0	0	0	1	0	0	0	1*
	被毛の汚れ 口：軽度	0	0	1	7*	0	0	0	6*
	口：中/重度	0	0	0	3*	0	0	0	3*
	尿：中/重度	0	0	0	5*	0	0	0	2
	肛門周囲：軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
	肛門周囲：中/重度	0	0	0	1	0	0	0	0
オープン フィールド	歩行失調：軽度	0	0	0	4*	0	0	0	8*
	：中/重度	0	0	0	4*	0	0	0	2*
	筋肉線維束性収縮：軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
	姿勢 腹臥位	0	0	0	2*	0	0	0	0
	ライジング	0	0	0	2	0	0	0	0
	足で引っ掻く動作の反復	0	0	0	2*	0	0	0	2*
	覚醒：正常	1	5	2	1	7	6	4	3
	：不活発、探索行動あり	5	3	6	6	5	5	5	3
	：不活発、最小の行動	6	4	4	5	0	1	3	6
	咀嚼運動の反復：軽度	0	0	1	2	0	2	0	2
：中/重度	0	0	0	1	0	0	0	0	
反射/生理的 検査	接近反応：反応なし	1	2	3	4	0	0	1	1
	：わずかな反応	11	10	9	8	12	12	11	11
	接触反応：反応なし	0	0	0	4	0	0	0	1
	：わずかな反応	12	12	12	8	12	12	12	11
	テイルピンチ反応：なし	0	0	0	3	0	0	0	0
	：わずかな反応	12	12	12	9	12	12	12	12
	正向反射：軽度の不調和	0	0	0	1	1	2	0	7*
	：側部で着地	0	0	0	2	0	0	0	0
	：背中で着地	0	0	0	2	0	0	0	1*
	体温 (°C)	36.7	36.8	37.0	35.8*	36.9	36.5	36.7	36.1
陰茎突出	0	0	0	3*	-	-	-	-	

\*: P<0.05 (一般線形モデル, カテゴリモデリング) \*\*: 統計実施せず

自発運動量及び移動運動量：8の字型迷路法による自動活動性測定装置を用いて、4回（被験物質投与1週間前、投与約2時間、7日及び14日後）測定した。各々10分間隔で90分間の試験を行った。運動能は、試験時間中に赤外線ビームを遮断する回数を計測して測定した。移動運動能は、ラットが迷路中で新しい場所に移動し、別のビームの一つを遮断する回数を計測して測定した。なお、90分間のセッション間中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

表3に90分間の自発運動量及び移動運動量の測定結果を示した。

表3-1 運動量（90分間）

性別	雄			
用量(mg/kg)	投与前	投与0日	投与7日	投与14日
0	591 ± 201	253 ± 63	654 ± 188	612 ± 161
0.5	606 ± 154 (103)	215 ± 96	569 ± 130	576 ± 113
2	529 ± 213 (90)	226 ± 77	637 ± 137	608 ± 102
10	580 ± 166 (98)	<b>86 ± 56 (34)</b>	553 ± 134	620 ± 192
性別	雌			
用量(mg/kg)	投与前	投与0日	投与7日	投与14日
0	808 ± 244	523 ± 253	809 ± 279	918 ± 288
0.5	868 ± 359 (107)	448 ± 341	867 ± 346	935 ± 246
2	953 ± 266 (118)	<b>354 ± 184 (68)</b>	790 ± 265	982 ± 371
10	848 ± 237 (105)	<b>146 ± 107 (28)</b>	797 ± 197	911 ± 193

ANOVA検定（いずれも有意差なし）

太字については正常範囲（±20%）を超えた変動。

表中の（ ）内の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

表 3-2 移動運動量 (90 分間)

性別	雄			
用量 (mg/kg)	投与前	投与0日	投与7日	投与14日
0	226 ± 70	90 ± 21	225 ± 71	221 ± 64
0.5	233 ± 47 (103)	72 ± 23	200 ± 34	205 ± 51
2	201 ± 73 (89)	79 ± 28	221 ± 50	219 ± 54
10	230 ± 60 (102)	<b>21 ± 14 (23)</b>	183 ± 51	206 ± 69
性別	雌			
用量 (mg/kg)	投与前	投与0日	投与7日	投与14日
0	285 ± 87	149 ± 80	278 ± 96	305 ± 97
0.5	314 ± 156 (110)	130 ± 85	283 ± 133	304 ± 93
2	345 ± 106 (121)	<b>96 ± 51 (64)</b>	279 ± 96	365 ± 169
10	287 ± 92 (101)	<b>36 ± 27 (24)</b>	264 ± 69	312 ± 70

ANOVA検定 (いずれも有意差なし)

太字については正常範囲 (±20%) を超えた変動。

表中の ( ) 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

表 3-1 及び 3-2 にみられるように 90 分間のセッションにおいて、0 日の 10mg/kg 雌雄および 2mg/kg 雌において、自発運動量および移動運動量の測定値が基準として考えている正常変動範囲 (±20%) を超えて低下した。これらの低下にはいずれも統計学的に有意差はみられず、また投与後 7 日の次の検査では影響はみられなかった。

[申請者註：90 分間のセッションにおいて 0 日の 2mg/kg 群雌の自発運動量および移動運動量については、対照群と比較してそれぞれ 32%、36%低下し、当該試験機関で正常範囲とする ±20% を超えていたが、統計学的な有意差が認められなかった。また、0 日の測定において、雌の対照群値は自発運動量で 50-991、移動運動量で 19-293 の幅を示し、雌の 2mg/kg ではそれぞれ 121-741、43-188 の幅を示した。このように 2mg/kg 群では統計学的な有意差は認められず、2mg/kg 群の最低値より低い値を示した対照群の雌が存在し、2mg/kg 群での値は対照群の変動幅に入っていることから、通常の変動範囲内であり、毒性影響とは考えられなかった。

表 3-3 運動量の投与 0 日の 10 分間のインターバル (最初の 30 分間)

性別	雄		
用量 (mg/kg)	Interval 1	Interval 2	Interval 3
0	170 ± 39	62 ± 42	8 ± 13
0.5	143 ± 43	51 ± 49	8 ± 15
2	156 ± 64	54 ± 29	2 ± 5
10	59* ± 39	4* ± 7	1 ± 3
性別	雌		
用量 (mg/kg)	Interval 1	Interval 2	Interval 3
0	213 ± 68	123 ± 78	87 ± 56
0.5	193 ± 48	102 ± 83	48 ± 59
2	189 ± 79	100 ± 66	33* ± 49
10	82* ± 38	7* ± 12	8* ± 26

ANOVA検定 (\* : P<0.05)

表 3-4 移動運動量の投与 0 日の 10 分間のインターバル (最初の 30 分間)

性別	雄		
用量 (mg/kg)	Interval 1	Interval 2	Interval 3
0	65 ± 14	20 ± 11	3 ± 4
0.5	53 ± 13	17 ± 15	2 ± 3
2	58 ± 21	17 ± 10	0 ± 0
10	18* ± 12	1* ± 2	1 ± 1
性別	雌		
用量 (mg/kg)	Interval 1	Interval 2	Interval 3
0	67 ± 23	34 ± 23	23 ± 21
0.5	63 ± 16	30 ± 23	13 ± 15
2	59 ± 22	25 ± 20	8* ± 13
10	21* ± 12	2* ± 5	2* ± 7

ANOVA検定 (\* : P<0.05)

自発運動量及び移動運動量のデータを 10 分間のインターバルでさらに解析した。雄では 10mg/kg 群で 0 日の Interval 1 と 2 で対照群と比較して統計学的に有意に減少した。雌では 10mg/kg 群で 0 日の Interval 1~3 が、2mg/kg 群で Interval 3 が統計学的に有意に減少した。

[申請者註 : 0 日の測定において、2mg/kg 群雌の Interval 3 で認められた自発運動

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

量および移動運動量の減少については、その程度はわずかであり、雌の対照群値 (Interval 3) は自発運動量で 0-179、移動運動量で 0-70 の幅を示し、一方、雌の 2mg/kg ではそれぞれ 0-158、0-44 の幅を示し、いずれも対照群の変動幅に入っていた。また、その他の Interval では全く影響は認められていないことから投与による変化とは考えられなかった。]

また、順応性について、10mg/kg群雌雄では自発運動量及び移動運動量は、最初のインターバル中に減少したレベルに応じて減少したが、各群、各性、何れの検査時期においても、順応性について雌雄共に検体投与による影響は認められなかった。

脳重量：脳については、灌流固定後、後固定前に重量を測定した。また体重比重量も求めた。

その結果、雌雄共いずれの検体投与群においても、脳の実重量および対体重比に対照群と比べ統計学的に有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理検査：全動物について投与終了後に剖検(全臓器、体腔、剖面、天然孔及び体表)を行った。組織採取用の動物(各群6匹)はペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与して麻酔し、亜硝酸ナトリウム・リン酸緩衝液を左心室より灌流後、それに続いて汎用固定液(4% EM 級ホルマリンおよび4%グルタルアルデヒド溶液)で固定した。灌流した動物から脳および脊髄全体、視神経を含む両眼、選択した両側の末梢神経(坐骨、脛骨および腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、個体識別標を摘出し、10%緩衝ホルマリンに固定した。また灌流固定を行わない残りの動物は炭酸ガスにより窒息死させ、組織を採取することなく剖検した。

剖検の結果、検体投与に起因すると考えられる肉眼的異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査：灌流固定した対照群と最高投与群の雌雄より採取した以下の神経系組織について、鏡検検索を実施した。

脳(8部位)、脊髄(4部位/頸部、胸部、腰部及び馬尾)はパラフィンに包埋しヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)、ルクサール・ファストブルー/クレシルバイオレットおよびSever-Munger法で染色した。

頸膨大および腰膨大からの後根神経節(後根線維および前根線維を含む)、

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

ガッセル神経節、眼、視神経、腓腹筋は GMA に包埋して 2-3 $\mu$ m に薄切し、Lee の変法で染色した。

末梢神経組織(坐骨、脛骨および腓腹神経)はエポキシ樹脂に包埋し約 1 $\mu$ m に薄切し、トルイジンブルーで染色した。

病理組織学的検査の結果、検体に関連した所見は 10mg/kg 群の雌雄共に認められなかった。この結果から、2mg/kg 群および 0.5mg/kg 群については病理組織学的に検査を行わなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
10mg/kg	<ul style="list-style-type: none"><li>被毛の汚れ</li><li>異常歩行、活動性低下、腹ばい位、足で引っ掻く動作の反復、接近及び接触反応の低下、不完全な空中正向反射、流涎</li><li>体温低下、苦悶、テイルピンチ反応の低下、陰茎突出</li><li>運動量の低下</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>被毛の汚れ</li><li>異常歩行、活動性低下、腹ばい位、足で引っ掻く動作の反復、接近及び接触反応の低下、不完全な空中正向反射、流涎</li><li>筋肉線維束性収縮</li><li>運動量の低下</li></ul>
2mg/kg	毒性所見なし	毒性所見なし
0.5 mg/kg	毒性所見なし	毒性所見なし

以上、 $\beta$ -シフルトリンのラットに対する急性経口投与神経毒性試験において、雌雄共 10mg/kg 群で一般症状の変化(被毛の汚れ)、FOB での投与 2 時間後の神経行動学的変化、運動量および移動運動量の減少が認められた。しかし死亡率、体重、脳重量、肉眼的及び病理組織学的検査に対して検体投与の影響はみられなかった。

従って本試験での総合的な無毒性量は雌雄共に 2mg/kg と考えられた。

[申請者註: 試験責任者は 2mg/kg 群で認められた一般症状、神経行動学的変化および運動量の減少は投与による影響ととらえ、無影響量 (NOEL)として 0.5mg/kg と判断していた。しかし、各項目で示した通り、これらのいずれも毒性影響とはみなさず、本試験での無毒性量は雌雄共に 2mg/kg と判断した。

なお、US-EPA においても、2mg/kg 群で認められた症状、自発運動量および移動運動量の低下はいずれも毒性学的に有意な影響ではないと判断し、本試験の無毒性量を 2mg/kg と評価している。]



### (3) 28日間反復経口投与毒性

#### ラットにおける4週間反復経口投与試験 (+4週間回復期間)

毒性資料 No.  $\beta$ -5

試験機関：

報告書作成年：1988年 [GLP対応]

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 98.5%

供試動物：Wistar ラット (WISW(SPF-Cpb))、約7～9週齢

投与開始時体重雄：平均 160g 142～182g、雌：平均 147g 134～164g

主群：一群雌雄各 15 匹、投与終了時に各 5 匹を臨床検査、各 5 匹を病理組織学的検査、各 5 匹を神経病理学的検査に供した。

回復群：一群雌雄各 15 匹、回復期間終了時に各 5 匹を臨床検査、各 5 匹を病理組織学的検査、各 5 匹を神経病理学的検査に供した。

投与方法：検体をクレモホア EL+脱イオン水 (0.2mL:10mL) で調製して 28 日間強制経口投与した。設定用量は 0.25、1、4 および 16mg/kg とし、対照群には溶媒のみを同様に投与した。投与容量は 10mg/kg とした。

用量設定の根拠：投与量はこれまでの急性経口毒性試験をもとに設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：すべての動物について概観や行動の変化を毎日観察し、症状がある場合は、種類、期間および程度を記録した。死亡時期も記録した。

投与期間の動物の外観、行動において 0.25 及び 1mg/kg 群では対照群との間に差異を認めず、また死亡も認められなかった。4mg/kg 群では投与期間を通じて、運動能、穴掘り運動および毛繕いが増加した。また、第 4 週に流涎もみられた。16mg/kg 群では投与期間中、運動能、穴掘り運動および毛繕いの増加、流涎、無関心、失調性歩行、酩酊歩行、呼吸困難、単発的で一時的な回転、紅涙および痙攣性歩行そして呼吸促迫が認められた。

16mg/kg 群の雄 11 匹および雌 12 匹が死亡した。

回復群では、動物の外観、行動において対照群との間に差異を認めず、また死亡も認められなかった。投与期間中に認められた症状は第 1 週には消失した。

体重：試験開始前、各週の始めおよび剖検直前に体重を測定した。

図1に雄の体重推移を、図2に雌の推移を示した。

雄の16mg/kg群では第1週から5週まで対照群と比較して低下し統計学的有意差が認められた。また回復期間では6週以降は有意差がみられなかった。主群、回復群共に雄の4mg/kg以下の群と、雌の全投与群では対照群との間に有意な差は認められなかった。

表1 雄の体重

投与量 (mg/kg)	週								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
0.25									
1									
4									
16		↓93	↓93	↓90	↓89	↓93			

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。  
↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 / Mann, Whitney and Wilcoxon's U検定

図1. 体重 (雄)

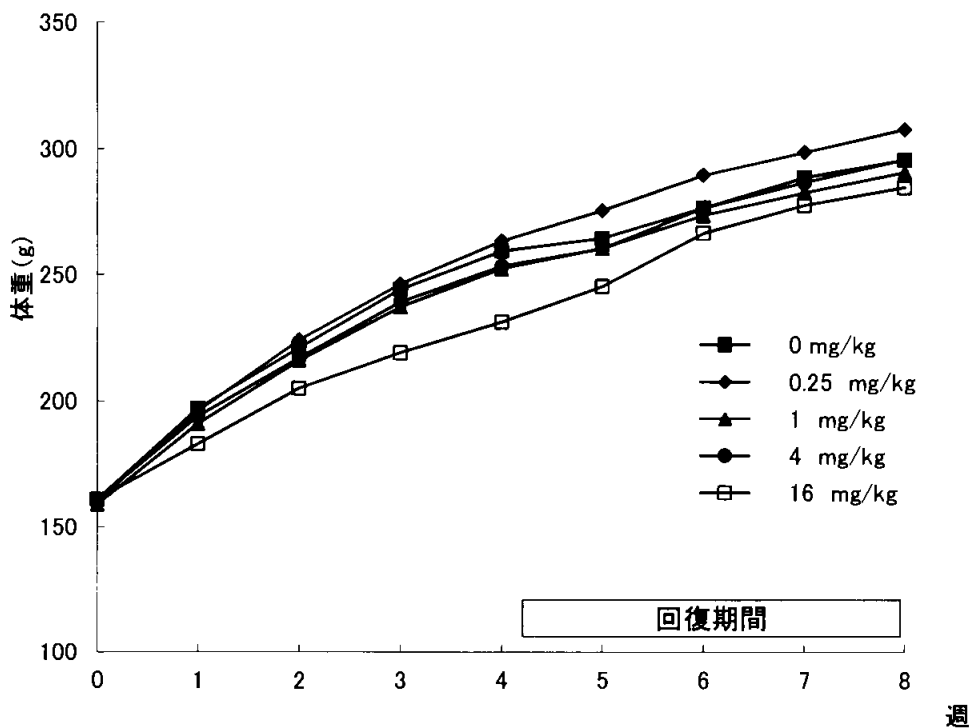
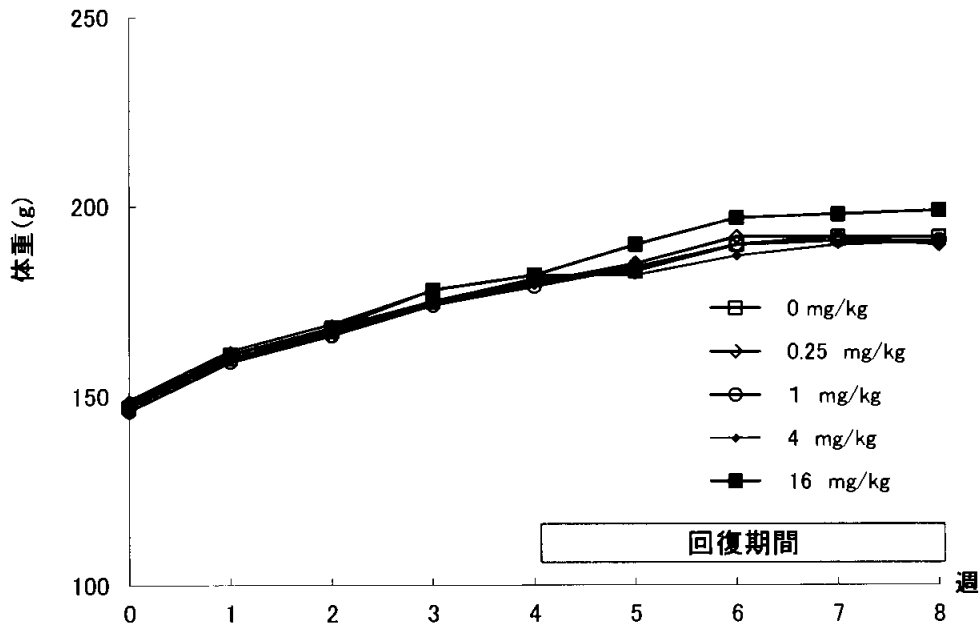


図 2. 体重 (雌)



血液学的検査：28 日の投与期間および 4 週間の回復期間の終了時に各群雌雄各 5 匹を対象として麻酔下で心臓穿刺によって採血し、以下の項目を測定した。血糖は剖検前に尾静脈から採血した。

赤血球数、ヘモグロビン (HGB)、ヘマトクリット (HCT)、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、白血球数 (LEU)、白血球分画、血小板数 (THROM)、Hepato-Quick

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 2 に示す。

表 2-1. 血液学的検査 (主群)

検査項目	投与量 (mg/kg)							
	雄				雌			
	0.25	1	4	16	0.25	1	4	16
HGB					▲108			
HCT					↑110			
分節核好中球				↑137				
単球							↓33	

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。  
 ↓ ↑ : p<0.05、▼ ▲ : p<0.01 (Mann-Whitney and Wilcoxon's U 検定)

表 2-2. 血液学的検査 (回復群)

検査項目	投与量 (mg/kg)							
	雄				雌			
	0.25	1	4	16	0.25	1	4	16
THROM		↑113		▲124				
LEU								↑124
HGB								↑109
MCHC						↑102		↑102

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

↓ ↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Mann-Whitney and Wilcoxon's U 検定)

投与終了時および回復期間終了時の検査において散発的な変動が統計学的有意に認められたが、いずれも用量に依存した変動はみられず、検体投与の影響とは考えられなかった。白血球分画については何らの変化も認められなかった。

生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液より得られた血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT)、アルカリホスファターゼ、総蛋白 (PROT)、血糖、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CREA)、ビリルビン (BILI)、無機リン (P)、塩素 (CL)、ナトリウム、カリウム、カルシウム (CA)

また、肝組織を採取して以下の酵素を測定した。

N-ジメチラーゼ、O-ジメチラーゼ (O-DEM)、チトクロム P-450

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 3 に示す。

表 3-1. 血液生化学的検査 (主群)

検査項目	投与量 (mg/kg)							
	雄				雌			
	0.25	1	4	16	0.25	1	4	16
ASAT					↓69	(83)	(70)	▼67
BUN		↓87	▼84					
CREA		▼91	▼90					▼75
BILI		▼82	▼82	▼80				
CL				↑102				
P			↓85					
O-DEM								↑129

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

( )内の数値は参考のため示したものの(統計学的有意差なし)。

↓ ↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Mann-Whitney and Wilcoxon's U 検定)

投与終了時の検査で、雄の 1、4 または 16mg/kg 群の BUN、CREA あるいは BILI が、雌の 16mg/kg の BILI が対照群と比較して統計学的有意に低下したが、用量関連性もなく、通常は低下ではなく増加したときに毒性学的に重要であるので、検体投与による毒性影響とは捉えなかった。雌の投与群でみられた ASAT の低下は、対照群で異常値を示した 1 匹の動物により対照群の平均値が高くなったものと考えられた。16mg/kg 群雌で認められた O-DEM の統計学的に有意な増加は、わずかな増加であり、対照群の値の 4.8nmol/g が 2-S 範囲 (6~16.6nmol/g) より低かったことによるもので、毒性学的に重要とは捉えなかった。

この他散発的な変動が統計学的有意に認められたが、いずれも用量に依存した変動はみられず、検体投与の影響とは捉えなかった。

表 3-2. 血液生化学的検査 (回復群)

検査項目	投与量 (mg/kg)							
	雄				雌			
	0.25	1	4	16	0.25	1	4	16
ALAT				↑128				
PROT								↓94
CREA				↓87				
CA				↑103				

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Mann-Whitney and Wilcoxon's U 検定)

回復期間終了時の検査では、16mg/kg 群において雄で CREA が、雌で PROT が統計学的に有意に低下したが、変化の程度がわずかであり、毒性学的に意味のある変化とは捉えなかった。また、雄の ALAT の統計学的に有意な増加は、対応する臓器の重量変化および病理所見が認められなかったことと生理学的な変動範囲内 (16mg/kg 群 : 65.7U/L、2-S 範囲 : 40.2~81.8U/L) であったことから、投与による影響とは捉えなかった。更に同群雄で CA に有意な増加がみられたが、その増加はわずかであり、投与終了時には何ら変化が認められなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。

尿検査 : 血液を採取した動物と同じ動物から 16 時間採尿し、以下の項目について半定量的検査を実施した。なお、採尿前に 5mL の水を投与し、採尿中は水および飼料は与えなかった。

pH、蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣。

投与終了時および回復期間終了時の検査で、対照群と投与群の間に毒性学的に意味のある変動は認められなかった。

臓器重量：投与終了時と回復期間終了時に神経病理検査用の動物を除く全生存動物を対象に、剖検後に以下の臓器を摘出してその重量を測定した。また屠殺時体重から対体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、生殖器官、甲状腺

投与4週後に対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を、主群動物については表4-1に、また回復4週後の回復群動物については表4-2に示した。

表4-1. 臓器重量（主群）

臓器	投与量 (mg/kg)							
	雄				雌			
	0.25	1	4	16	0.25	1	4	16
最終体重				↓90				
脾臓	実重量	↓92		↓91	◆83			
	対体重比				↓91			
副腎	実重量				▲124			
	対体重比				▲138			
肺	実重量						↑107	↑109
	対体重比							▲111
肝臓	実重量						▲117	↑112
	対体重比				↑106	↑108	▲115	↑113
腎臓	実重量						↑108	
	対体重比							
精巣	実重量							
	対体重比				▲119			

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

↓↑ : p<0.05、◆▲ : p<0.01 (Mann-Whitney and Wilcoxon's U検定)

投与終了時では、0.25mg/kg および 1mg/kg 群雌雄では投与による変化は認められなかった。

雄では、4mg/kg および 16mg/kg 群で脾臓の実重量ないし対体重比が統計学的に有意に低下した。16mg/kg 群で副腎の実重量および対体重比、肝臓および精巣の対体重比が統計学的に有意に増加した。

雌では 4mg/kg および 16mg/kg 群で肺および肝臓の実重量が増加した。肝臓については対体重比が 1mg/kg 群以上で認められたが、1mg/kg 群で認められた約 8%の増加は差が小さく、背景データの変動範囲内と考えられたので投与による変化とは捉えなかった。さらに肺については対体重比が 16mg/kg で統計学的に有意に増加した。4mg/kg 群では腎臓の実重量が統計学的に有意に増加したが、用量関連性がないことから投与による変化とは考えられなかった。なお、16mg/kg の群で認められた肝臓の重量増加は、対応する所見が病理組織学的検査でも生化学的検査でも認められなかった。したがって 4mg/kg 群以

上の肝重量増加は機能的代謝速度の増加による肥大の兆候と考えられた。そのほかの臓器重量の変動も同様に他の検査で対応する所見が認められなかったことから、投与による変化として捉えなかった。

表 4-2. 臓器重量 (回復群)

臓器	投与量 (mg/kg)							
	雄				雌			
	0.25	1	4	16	0.25	1	4	16
最終体重								
副腎	実重量		↑116	116				↑115
	対体重比		▲118	109				↑113
卵巣	実重量						↑122	▲116
	対体重比						↑121	

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものを。

↓↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Mann-Whitney and Wilcoxon's U 検定)

回復期間終了時に雄 4 および 16mg/kg 群、雌の 16mg/kg の副腎の実重量及び対体重比のわずかな増加が認められた。しかし、雌では投与期間終了時には有意な変動は認められず、また、雌雄ともに対応する病理所見は認められなかったことから、重要な変化とは捉えなかった。雌の 4 および 16mg/kg 群でみられた卵巣重量の変化は、投与期間で認められなかったことと病理所見が認められなかったことから、投与による変化とは考えられなかった。

肉眼的病理検査：投与 4 週後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象とし剖検を実施した。また、途中死亡動物についても剖検を行った。

投与終了時および回復期間終了時の剖検では、検体投与との関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：病理検査用の動物を対象に以下の臓器/組織を摘出、固定後、通常の方法で病理組織標本を作製し、対照群と 16mg/kg 群を対象に鏡検した。さらに腎臓は PAS 染色、肝臓では ORO 染色を実施した。

甲状腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣、精巣上体、子宮、胃、腸 (4 か所)、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、骨 (胸骨、大腿骨) および筋肉組織、さらに骨髄 (大腿骨) スメアも用意した。

神経病理学的検査：神経病理学的検査用動物を対象にジエチルエーテル深麻酔下で 10%ホルムアルデヒドで灌流した。以下の臓器/組織を摘出、固定後、通常の方法で病理組織標本を作製し、鏡検した。

脳、坐骨神経、脊髄、眼および筋肉

投与終了時および回復期間終了時の検査では投与による変化は認められなかった。また、神経病理学的検査においても投与による変化は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
16mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> <li>・運動能、穴掘り運動、毛繕いの増加、無関心、歩行異常、呼吸異常、回転、血涙</li> <li>・死亡</li> <li>・体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・運動能、穴掘り運動、毛繕いの増加、無関心、歩行異常、呼吸異常、回転、血涙</li> <li>・死亡</li> </ul>
4mg/kg 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・運動性、穴掘り運動および毛繕いの増加、流涎</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・運動性、穴掘り運動および毛繕いの増加、流涎</li> </ul>
0.25 , 1 mg/kg	毒性所見なし	毒性所見なし
回復性	上記いずれの所見共に最初の1週間の休薬によって回復した。	

以上、 $\beta$ -シフルトリンのラットに対する4週間強制経口投与毒性試験において、16mg/kg群で雌雄に無関心、歩行異常、呼吸異常、回転、血涙、運動性の増加、前掻(digging)、毛繕い、流涎および死亡が認められ、雄に体重増加抑制が認められた。また4mg/kgでも雌雄で運動性、穴掘り運動および毛繕いの増加、流涎が認められた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄ともに1mg/kg/日であった。また回復試験の結果から、いずれの所見共に可逆的な変化と考えられた。



#### (4) 90 日間反復経口投与毒性

##### ラットにおける 3 ヶ月反復経口投与毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -6

試験機関：

報告書作成年：1988 年 (GLP)

1994 年 (改訂)

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 99.7%

供試動物：Wistar ラット (Bor:WISW (SPF Cpb))、約 4~5 週齢 (投与開始時体重：雄 56~73g、雌 49~68g)、主群雌雄各 15 匹、回復群雌雄各 15 匹 (対照群及び 500ppm 群)

投与期間：3 ヶ月 [1986 年 7 月~1986 年 11 月]

投与方法：検体を 0、30、125 及び 500ppm の濃度で飼料に混入し、3 ヶ月にわたって摂食させた。回復群については 3 ヶ月にわたり同様に投与した後、1 ヶ月の休薬期間を設けた。

用量設定の根拠：投与用量は、0、100、300 および 1000ppm を雌雄ラット各 5 匹に 3 週間混餌投与した予備試験の結果に基づいた。1000ppm 群で全動物が死亡したが、300ppm 以下では投与に関連した一般症状および死亡は認められず、雌では体重増加量、摂餌量および飲水量にも変化は認められなかった。雄では 300ppm 群で摂餌量および飲水量が低下 (第 1 週目) したが体重には影響がなかった。血液、血液生化学および尿の各検査、臓器重量および剖検においても 300ppm まで投与に関連した影響は認められなかった。

また、0 および 600ppm を 14 日間混餌投与した試験では、600ppm で体重増加抑制が認められたが、死亡および投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

以上の結果から本試験では、0、30、125 および 500ppm を選択した。

観察・検査項目及び結果：

一般観察及び死亡率：一般状態及び生死を少なくとも一日 2 回（週末と休日は 1 回）観察した。個々の動物の詳細な観察を毎週 1 回実施した。

125ppm 以下の群では投与に関連した症状は何ら認められなかった。一方 500ppm 群雌雄においては、不調歩行および一般状態の悪化が試験期間前半にほとんどの動物で認められたが、後半には認められなくなった。さらに同群で、頭部と首に創傷(雄 2 匹)あるいは壊死部(雄 6 匹、雌 1 匹)が認められ、これらの所見も投与の影響と考えられた。

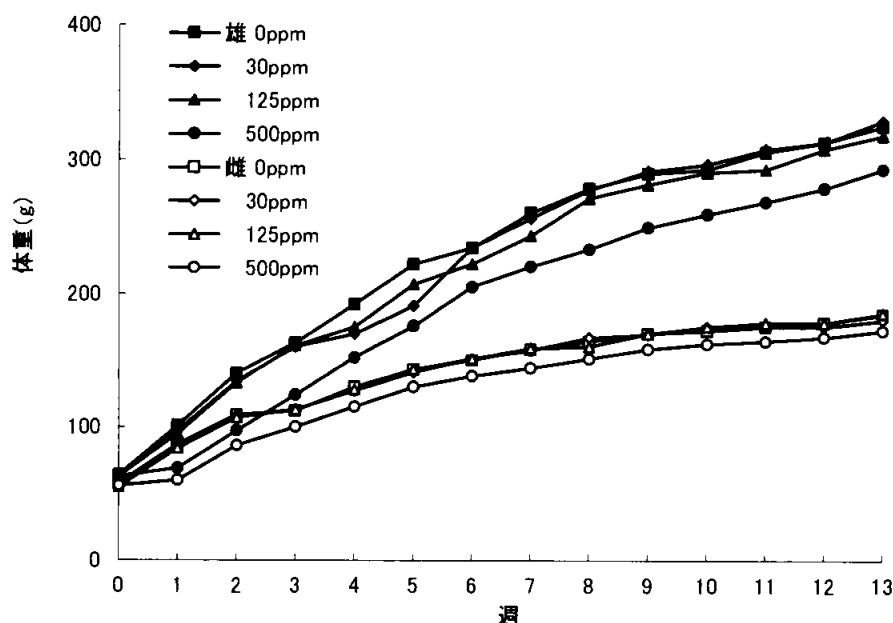
表 1 に示すように、30ppm 以上で死亡例が認められた。しかし、用量に関連した死亡数の増加はみられなかった。また 125ppm 以下の死亡例については、一般観察において著変は認められず、死亡時期から採血との関連性が示唆されたことから、投与との関連性はないものと考えられた。一方、500ppm 群雄の 2 匹（主群 1 匹、回復群 1 匹）については、採血との関連性が当てはまらず、検体に起因すると考えられる症状が認められたことから投与による影響を否定できなかった。

表 1. 死亡数

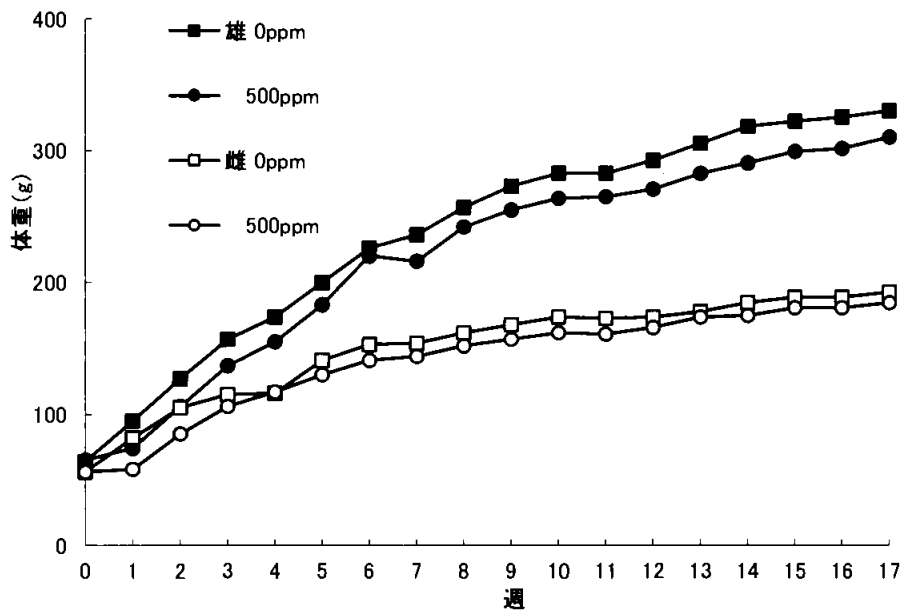
投与量 (ppm)	30	125	500	500(回復群)
雄	2	0	1	1
雌	1	1	0	0

体重：すべての生存動物について投与前、投与期間中は週 1 回および剖検前に測定した。投与期間中の体重の推移を次図に示した。

主群



### 回復群



図にみられるように、雌雄共に 125ppm 群までは対照群との間に差はみられず、検体投与の影響は認められなかった。500ppm 群雌雄で投与 1 週に対照群に比べ顕著な体重増加量の抑制を示したが、その後の増加量は対照群とほぼ同等であった。

摂餌量 (g/kg 体重/日) : すべての動物について毎週測定した。

その結果、雌雄共、125ppm 群までは摂餌量の減少は観察されなかった。500ppm 回復群でのみ投与第 1 週に対照群に比べ有意な低値を示したが、その後は差が認められなかった。この第 1 週で認められた影響は、主群では認められなかったこと、またわずかな忌避作用が考えられ、投与の影響とは考えられなかった。

飲水量 : すべての動物について毎週測定した。

その結果、雌雄共、125ppm 群までは飲水量の減少は観察されなかった。500ppm 群では対照群と比較して投与期間を通じて低値を示した。

検体摂取量 : 投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 2. 検体摂取量

投与量 (ppm)		30	125	500	500(回復群)
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.3	9.5	38.9	37.0
	雌	2.5	10.9	42.4	43.0

血液学的検査 : 投与 1 ヶ月及び最終時の 3 ヶ月、回復群はさらに回復期間終了時の 4 ヶ月に各群雌雄各 10 匹を対象に眼窩静脈叢から採血した。

赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値

(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、血小板数(PLT)、凝固時間(Hepato-Quick test)、白血球分画、網状赤血球数、赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表3に示す。

表3. 血液学的検査(統計学的に有意差が認められた項目)

検査項目	検査時期(月)	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		30	125	500	500*	30	125	500	500*
WBC	1						↓76		
	3	↓80					↓75		
RBC	1							↓94 6.68 <sup>#</sup>	↓89 6.58 <sup>#</sup>
	3			↓95					
Hb	1			↓94	↓95	↓97	↓96	↓95	↓87
Ht	1			↓93	↓94		↓97	↓96	↓90
MCV	1			↓94					
MCH	1			↓95					
	3						↑104		
MCHC	1					↓98	↓99	↓98	↓97
	3						↑106	↑104	
PLT	1								↓77
	3				↓88				

↓↑: p<0.05、↓↑: p<0.01 (Wilcoxon, Mann-Whitney U検定) \*:回復群  
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。  
 #;実測値(tera/L)

投与1ヶ月時の検査では、雄の500ppm群および雌のほぼ全群でヘモグロビン及びヘマトクリットの有意な低下、雌の全群でMCHCの低下、500ppm群で赤血球数の低下が認められた。しかし、赤血球はわずかに背景データを下回ったもののその差はわずかであり、その他の項目は背景データ(表4)の範囲内であること、また赤血球を含めこれらの変化は3ヶ月では認められなかったことから、投与による毒性影響とは捉えられなかった。この他統計学的有意な変動を散見したが、用量に依存した変動ではない、あるいは一貫性のある所見がみられないことから、投与には関連しない偶発的な変化と考えられた。白血球分画および赤血球形態に変化は認められなかった。

表4. 背景データ (平均±2S幅)

	RBC (tera/L)	Hb (g/L)	Ht (l/L)	MCHC (g/L)
雄	6.79-9.31	132-169	0.37-0.48	300-335
雌	6.78-8.50	133-160	0.41-0.51	297-341

血液生化学検査：投与 1 ヶ月及び最終時の 3 ヶ月、回復群はさらに回復期間終了時の 4 ヶ月に各群雌雄各 10 匹を対象に眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。なお、血糖については尾静脈より採血した。

血糖(Glu)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cre)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、トリグリセリド(TG)、コレステロール(Chol)、総ビリルビン(T. Bil)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、塩素(Cl)。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 5 に示す。

表 5 に示したように、統計学的な有意差が各種項目で散見して認められているが、1 ヶ月のみの変化で 3 ヶ月では認められていない、対照群との差がわずかであり背景データ範囲内である、用量相関性がない、500ppm において同時期の検査にもかかわらず、主群、回復群で一致した変化が止められていない、あるいは回復期間終了時に有意差が認められているが、投与終了時には認められていないなどの理由により、500ppm の用量を含み、投与に関連した変動は認められないものと判断した。

表 5. 血液生化学的検査(統計学的に有意差が認められた項目)

検査項目	検査時期 (月)	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		30	125	500	500*	30	125	500	500*
ALP	1					↓77			↑138
	3					↓79		↓82	
ASAT	1	↓90							
ALAT	1	↓83			↑122		↓83		↑126
T. Bil	1			↑143		↓77			↑119
	4	-	-	-		-	-	-	↓71
TG	1		↓70			↓73	↓76	↓58	
	3			↓82				↓68	
	4	-	-	-	↓56	-	-	-	
TP	1			↓95					
	3			↓95	↓94	↓94		↓95	
BUN	1			↓90	↑101				
	3						↓89		↑111
Cre	1			↓77					↓83
	3					↓92	↑102		
	4	-	-	-		-	-	-	↑110
Chol	3			↓87					↓78

表 5(続き). 血液生化学的検査(統計学的に有意差が認められた項目)

検査項目	検査時期(月)	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		30	125	500	500*	30	125	500	500*
Glu	3	↑109							
	4								▲117
Alb	1								▼84
	3				↓95	↓95			
	4	-	-	-		-	-	-	↓97
Na	1		↓99	↓99					
	3				↓99			↓99	
	4	-	-	-		-	-	-	↓99
K	3	↓93							
Ca	1			▼97		↓96	▼94	▼96	▲107
	3		↓97	▼97	↓97		▼97	▼96	
	4	-	-	-	▼96	-	-	-	
Cl	1					↑102	↑103		
	3	▲101	▲102	▲103	▲103	▲103	▲102	▲103	
P	1		▼87				↓91		
	3			▼82	↓91	▼88		↓83	

↓↑: p<0.05、▼▲: p<0.01 (Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

\*: 回復群

-: 測定していない。

肝薬物代謝酵素: 主群および回復群ともに最終時であるそれぞれ 3 ヶ月または 4 ヶ月に各群雌雄各 5 匹の肝臓を用いて以下の酵素活性を測定した。

N-デメチラーゼ(N-DEM)、O-デメチラーゼ(O-DEM)、チトクロム P-450

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 肝薬物代謝酵素活性(統計学的に有意差が認められた項目)

検査項目	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	30	125	500	500*	30	125	500	500*
N-DEM								
O-DEM								
P 450		↑112						

↓↑: p<0.05、(Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

\*: 回復群

いずれの投与群においても肝臓における代謝活性化は認められなかった。

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

骨および歯のフッ化物検査：肝薬物代謝酵素を測定した動物を用いて主群および回復群ともに剖検時に各群雌雄各 5 匹の骨および歯のフッ化物を測定した。

いずれの投与群においても骨および歯のフッ化物の蓄積は認められなかった。

尿検査：投与 1 ヶ月及び最終時の 3 ヶ月、回復群はさらに回復期間終了時の 4 ヶ月にも各群雌雄各 10 匹を対象に尿を採取(16 時間蓄尿)し以下の項目について検査した。

[定量検査]；尿蛋白、尿量、比重、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩素。

[半定量検査]；pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン。

[鏡検]；尿沈渣。

尿検査の結果、検体に起因したと思われる所見は認められなかった。

眼科学的検査：第 1 週および第 12 週に対照群と 500ppm 群全動物、第 15 週に回復群の眼科的検査を行った。瞳孔反射を暗室で検査した。さらに散瞳剤を用いて瞳孔を散大させた後、検眼鏡を用いて検査した。

眼科学的検査の結果、検体に起因したと思われる所見は認められなかった。

臓器重量：投与終了時と回復期間終了時に全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重から対体重比を算出した。

肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、副腎、脳、心臓

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 7 に示す。

表 7. 臓器重量(統計学的に有意差が認められた項目)

検査項目		投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		30	125	500	500*	30	125	500	500*
最終体重				↓92				↓93	
心臓	実重量			↓93					
	対体重比	↓97						↑108	
肝臓	実重量			↓91					
	対体重比	↓94						▲108	
腎臓	実重量			↓91					
	対体重比					↑105		▲110	
肺	実重量						↑107		
	対体重比						↑107	↑110	
精巣	対体重比			▲110					
脳	対体重比			▲109					

↓↑ : p<0.05、↓▲ : p<0.01 (Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

\* : 回復群

500ppm 群雌雄に認められた統計学的に有意な所見は、最終体重の低下に起因するものと考えられた。

その他に認められた統計学的に有意な所見は、いずれも用量に依存しない偶発的な変動であり、関連した病理組織学的所見もみられなかったことから、検体投与には関連しないと考えられた。

回復群では統計学的に有意な所見は認められなかった。

肉眼的病理検査：投与終了後に主群動物、休薬 1 か月後に回復群動物を対象に剖検を行った。

検体投与に関連したと思われる肉眼的異常は雌雄共にみられなかった。

病理組織学的検査：主群では投与 3 ヶ月後の雌雄各群 15 匹について脳（大脳-中脳、小脳/脳幹）、副腎、大動脈、大腿骨、骨髄、胸骨、精巣上体、食道、気管\*、眼、眼瞼、眼窩外腺、心臓、腎臓、肺、肝臓、リンパ節（腸間膜および頸部）、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、精囊、盲腸、結腸、十二指腸、回腸、空腸、直腸、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、副甲状腺、膀胱、子宮、ハーダー腺、皮膚、乳腺、大腿筋、坐骨神経、唾液腺、膈、舌、脊椎（脊髄/頸部、胸部、腰部）および肉眼的異常部位を摘出、ブアン液に固定後、常法により標本作製して病理組織学的検索を行った。また、肝臓については脂肪染色標本も作製した。鏡検は全群の全動物を対象に実施した。回復群については全動物を対象に肝臓のみ検査した。（\*：標本作成のみで検査はしなかった）



表 8. 病理組織学的検査

	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	30	125	500	0	30	125	500
投与 3 ヶ月 後	検査動物数	15	15	15	14	1	15	15	15
	肝臓:								
	脂肪染色								
	陰性	1	3	0	0	0	3	1	0
	痕跡	11	7	11	6	11	11	11	10
	軽微	3	5	4	8	4	1	3	5
回復 1 ヶ月 後	検査動物数	15	-	-	15	15	-	-	15
	肝臓:								
	脂肪染色								
	陰性	0	-	-	2	2	-	-	5
	痕跡	9	-	-	13	13	-	-	10
	軽微	5	-	-	0	0	-	-	0
	中等度	1	-	-	0	0	-	-	0

その結果、検体投与に関連したと思われる病理組織学的な異常所見は雌雄共に観察されなかった。

500ppm 群雄において、肝臓の脂肪が対照群と比較してわずかに増加したが、回復群では対照群よりも減少していたので、投与による肝臓への影響はないものと考えられた。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・飲水量の減少</li> <li>・死亡</li> <li>・不調和歩行、一般状態の悪化</li> <li>・頭部と首の壊死、創傷</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・飲水量の減少</li> <li>・不調和歩行、一般状態の悪化</li> <li>・頭部と首の壊死</li> </ul>
125 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
30 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

以上、シフルトリンのラットに対する3ヶ月混餌投与毒性試験において、500ppmで、飲水量の減少、不調和歩行及び一般状態の悪化が認められた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄共に125ppm（雄9.5mg/kg/日、雌10.9mg/kg/日）であった。

## イヌにおける 13 週間反復経口投与毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -7

試験機関：

報告書作成年：1987 年 [GLP 対応]

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 99.2% (1986 年 1 月)、99.7%(1986 年 5 月)

供試動物：ビーグル犬、投与時 27～31 週齢 (投与開始時体重：雄 8.3～9.5kg、雌 7.6～9.7kg)、1 群雌雄各 4 匹

投与期間：13 週間 [1986 年 3 月～1986 年 6 月]

投与方法：検体を 0、10、60 および 360 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週にわたって摂食させた。

用量設定の根拠：投与用量は、用量設定のためのビーグル犬を用いた 28 日間混餌投与試験の結果に基づいた。本用量設定試験では、イヌ(1 群雌雄各 2 匹)に 0、10、80 および 640ppm で 28 日間混餌投与した。640ppm 群では、投与 14 日後までに、結膜の刺激、痙攣、顕著な摂餌量減少、体重減少、嘔吐、血清中カルシウムおよび無機リンの減少、尿比重の増加、尿量の減少、運動失調等が見られ、投与 15 日に 1 例が死亡したことから、残りの 14 日間は 320ppm で投与した。320ppm に減量後は、散発的に嘔吐が見られた他、不安定歩行および結膜の刺激が認められたのみであった。以上の結果から、本試験の用量を選択した。

### 観察・検査項目及び結果：

臨床観察及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。反射 (角膜、瞳孔、膝蓋、屈曲、正向)、体温及び心拍数については投与開始前、投与開始 4、7 および 13 週にすべての動物を対象に計測した。

栄養状態において、すべての群で有害な影響は認められなかった。臨床観察において、10 及び 60ppm では外観、行動に、対照群との差は認められなかった。一方、運動失調が投与 1～10 週に認められた。これらの症状は、数日散発的に認められ、全投与期間にわたって連続して認められたものではなかった。その他の雄 1 例、雌 3 例には、何ら影響は認められなかった。また、下痢が 360ppm 群の雌雄で、嘔吐が 360ppm 群の雌で対照群および他の低用量群よりもわずかに頻繁にみられたことから、投与との関連性を否定することはできなかった。60ppm 以下でみられた下痢あるいは嘔吐については、頻度も少なく、投与に関連した影響とは考えられなかった。

反射、体温および心拍数に関して、対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

また、試験期間中に死亡は認められなかった。

表 1. 一般症状

性	雄				雌			
	0	10	60	360	0	10	60	360
投与量 (ppm)	0	10	60	360	0	10	60	360
運動失調	0	0	0	3(34)	0	0	0	1(7)
下痢	0	2(3)	3(4)	2(8)	1(2)	0	1(1)	3(6)
嘔吐	1(1)	0	0	1(1)	0	0	1(2)	3(8)

数値は試験期間中に各症状を示した動物数

( )内の数値は試験期間中に各症状が認められた回数

体重：すべての生存動物について週 1 回測定した。

各群の平均体重の推移を次図に、また体重増加量を表 2 に示した。

雌の 60ppm 以下及び雄の全投与群では投与による体重への影響は見られなかった。一方、雌の 360ppm 群では体重増加に抑制傾向がみられたが、統計学的有意差は見られない程度の軽度な変化であった(Dunnett 検定は申請者により実施)。

図 イヌの体重推移

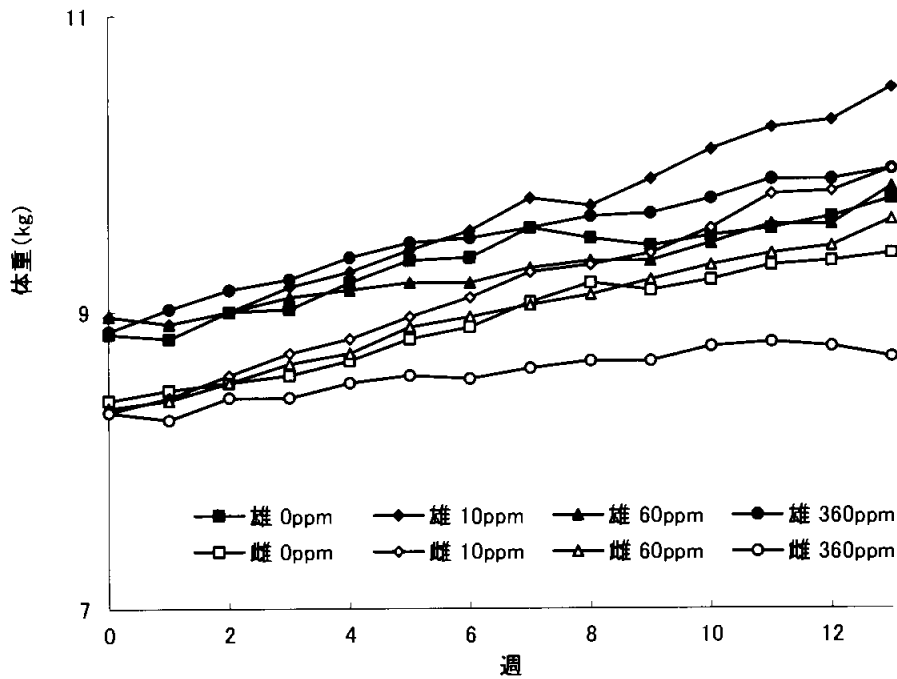


表 2. 平均体重及び体重増加量

性	雄				雌			
	0	10	60	360	0	10	60	360
投与量 (ppm)	0	10	60	360	0	10	60	360
平均体重 [対照群の値を 100 とした場合の数値(%)]								
投与開始時	100	101	101	100	100	99	99	99
4 週	100	101	99	102	100	102	101	98
8 週	100	102	98	102	100	101	99	94
13 週	100	108	101	102	100	106	102	93
体重増加量 (kg)								
0-13 週	0.92	1.55	0.88	1.10	1.00	1.65	1.28	0.38

統計学的有意差なし (Dunnett 検定) 作表及び統計処理は申請者実施

摂餌量：すべての動物について毎日測定した。

いずれの群においても給餌されたものを殆ど残すことなく摂取し、投与による摂餌量への影響はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は表 3 のとおりであった。

表 3. 検体摂取量

投与量 (ppm)		10	60	360
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.38	2.38	13.8
	雌	0.40	2.46	15.3

眼科学的検査：投与開始前、投与 7 および 13 週に全動物を対象に検眼鏡検査を行った。さらに投与開始前と投与 13 週に記録を目的として全動物を対象に眼底カメラにて眼底撮影が行われた。

その結果、投与に関連したと思われる異常所見は全く得られなかった。

血液学的検査：投与開始前、投与 4、7 および 13 週に全動物を対象に頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数(WBC)、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網状赤血球数、血小板数、トロンボプラスチン時間及び赤血球沈降速度、白血球分画

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 4 に示す。

検体投与の影響は認められなかった。

表 4. 血液学的検査

検査項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	60	360	10	60	360
WBC	13	▲136					
Ht	13	↑111	↓90				

↓ ↑ : p<0.05、▲ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

血液生化学検査：投与開始前、投与 4、7 および 13 週に全動物を対象に頸静脈から得た血液について、以下の項目を測定した（電解質で血清を用いた以外はすべて血漿）。

血糖、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、総蛋白質(Pro)、蛋白分画、AG 比(算出)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルカリホスファターゼ、総コレステロール、総ビリルビン、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、ナトリウム(Na)、カルシウム(Ca)、カリウム、塩素(Cl)、無機リン(P)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 5 に示す。

統計学的有意な変動を散見したが、用量に依存した変動ではない、もしくは一時的な変動であったことから、いずれも検体投与には関連しない所見と考えられた。

表 5. 血液生化学的検査

検査項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	60	360	10	60	360
BUN	7				↑125		↑131
Pro	4			↓94			
ALT	4	↑212					
Na	7			↓98			
Ca	4	↑105					
Cl	4		↑103				
	7		↑104				
	13					↓98	
P	7	▲129		↑120			
α-1グロブリン	4			↑125			

↓ ↑ : p<0.05、▲ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

肝生化学検査：屠殺時に得られた肝臓を用いて、以下について測定した。

N-デメチラーゼ、チトクローム P-450、トリグリセリド(TG)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 6 に示す。

60ppm 群の雄でトリグリセリドの有意な増加が見られたものの、用量との関連は見られておらず、検体投与の影響とは考えられなかった。

表 6. 肝生化学検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	10	60	360	10	60	360
TG		↑126				

↑ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

尿検査：投与開始前、投与 4、7 および 13 週に全動物を対象に尿を採取し以下の項目について検査した。

尿量、尿比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ビリルビン、尿沈渣

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 7 に示す。

360ppm 群の雌で尿量の有意な減少が見られたものの、一時的であり、偶発的な変動と考えられた。

表 7. 尿検査

検査項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	60	360	10	60	360
尿量	7						↓57

↓ : p<0.05 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

臓器重量：試験終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重から対体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、甲状腺(上皮小体含む)、副腎、前立腺、脳、腓臓

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 8 に示す。

360ppm 群の雌で心臓及び副腎の実重量の有意な低下が認められたが、対体重比では有意ではなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。またその他の有意な変動については用量との関連がないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

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

表 8. 臓器重量

臓器		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	60	360	10	60	360
心臓	実重量	↑120					↓85
副腎	実重量						↓80
甲状腺	対体重比		▲135				

↓↑ : p<0.05、▲ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

肉眼的病理検査：投与終了後に全動物を対象に剖検を行った。

検体投与に起因した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：全動物から副腎、大動脈、骨(胸骨、大腿骨)、骨髓(大腿骨)、脳、精巣上部、食道、眼、胆嚢、心臓、腎臓、肺、肝臓、リンパ節(腸間膜)、乳腺、骨格筋、視神経、坐骨神経、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、脊髓(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃、精巣、胸腺、扁桃腺、気管、甲状腺(上皮小体含む)、膀胱、子宮、皮膚、切歯、舌および肉眼的異常部位を摘出、標本を作製して組織学的検索を行った。

検体投与に関連したと思われる組織学的所見は観察されなかった。

フッ素検査：検体がフッ素含有化合物であるため、剖検時に摘出した切歯および骨(大腿骨)についてフッ素を分析し、フッ素の蓄積を調べた。

対照群と投与群との間にフッ素の含量に有意な差は認められず、検体投与によるフッ素の蓄積は認められなかった。

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

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
360ppm	<ul style="list-style-type: none"><li>・運動失調</li><li>・下痢（頻度の増加）</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・運動失調</li><li>・下痢、嘔吐（頻度の増加）</li><li>・体重増加抑制傾向</li></ul>
60ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
10ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

以上、 $\beta$ -シフルトリンのイヌに対する 13 週間反復経口投与毒性試験において、360ppm の雌雄に臨床観察で運動失調および下痢の頻度の増加がみられた。さらに同群の雌では嘔吐の頻度の増加および体重増加抑制を認めた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄ともに 60ppm (雄: 2.38mg/kg/日、雌: 2.46mg/kg/日) と判断した。



## (5) 反復経口投与神経毒性

### ラットに対する 90 日間反復経口投与神経毒性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -8

試験機関：

報告書作成年：1997 年 [GLP 対応]

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 96.5%(1995 年 1 月)、97.3%(1995 年 7 月)、  
96.9% (1996 年 4 月)

供試動物：Fisher 344 CDF(F-344)ラット、1 群雌雄各 12 匹

8 週齢(投与開始群平均体重：雄 194.2~194.8g, 雌 130.2~133.6g)、

投与期間：13 週間 [1995 年 9 月~12 月]

投与方法：検体を 0(対照)、30、125 および 400ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定の根拠： $\beta$ -シフルトリンを 0、30、125 および 500ppm の投与用量で雌雄のラットに投与した 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験(毒性資料 No.:原体  $\beta$ -6)の結果に基づいた。この結果では、500ppm で、歩行失調および一般状態の悪化などの臨床症状、体重増加量および摂餌量の減少がみられ、さらに検体投与に起因すると考えられる死亡が 2 匹にみられた。雌雄いずれも NOEL は 125ppm であった。さらに、雌雄ラットで 0、30、125 および 500ppm の用量で 3 週間混餌投与実施した結果も参考にした。この試験では 500ppm 群雌雄に歩行失調、低体重、摂餌量の減少が見られた。125ppm では投与による影響はみられなかった。以上の結果から本試験では、400ppm を最大耐量(MTD)として選択し、30ppm は毒性徴候を示さない用量、また 125ppm は両者の中間用量として選択した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率：ケージサイド観察は少なくとも 1 日 2 回(休日および週末は 1 日 1 回)行い、死亡又は瀕死の臨床症状について観察を行った。詳細な身体的観察は 1 週間に 1 回行った。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。

全身毒性による影響は、400ppm 群において雄に協調運動失調および反復性咀嚼運動、雌に運動失調、足で搔く反復行動、反応の増加、活動性の亢進および赤色の鼻汁による汚れが認められた。これらの症状は  $\alpha$ -シアノ基をもつ Type II のピレスロイドで報告されている毒性と一致する<sup>12</sup>。

<sup>1</sup> Ray, D.E., "Contrasting actions of two pyrethroids (deltamethrin and cismethrin) in the rat," Neurobehav. Toxicol. Teratol., 4, 801-804, 1982.

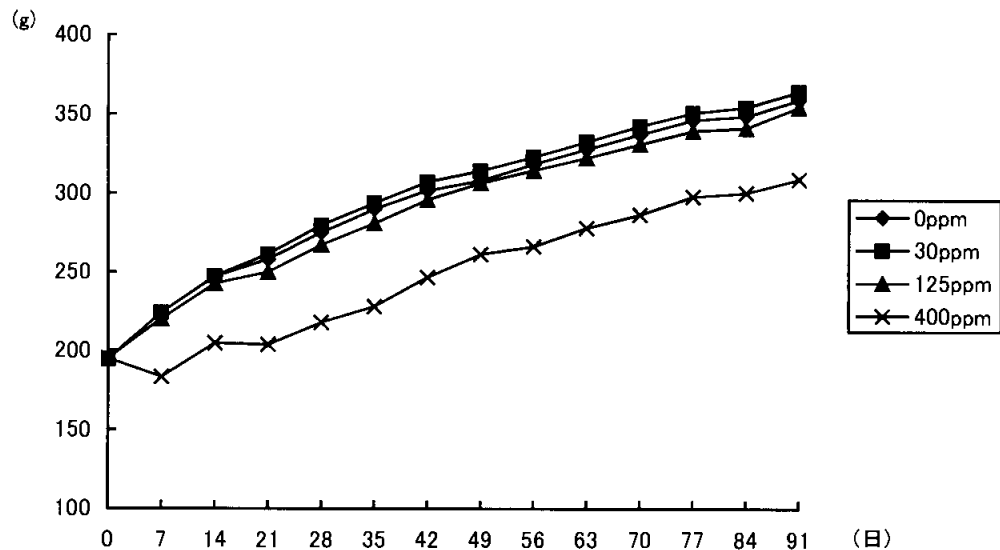
400ppm および 125ppm 群雄、400ppm 群雌では皮膚への直接的な接触による症状が見られた。頭部、主として耳介付近に赤く硬くなった部分（痂皮）がみられ、これはピレスロイドが皮膚から吸収され真皮の感覚神経末端を刺激することによって生じる一過性の知覚異常に反応して動物が自身を引っ掻いたことによる<sup>34</sup>。この症状は $\alpha$ -シアノ基をもつピレスロイド特有のもので、摂食中に検体処理した餌に頭や肩が暴露するためと考えられた。

125ppm 群雌および 30ppm 群雌雄では投与による影響は認められなかった。

体重：毎週、動物の体重を測定した。灌流固定する動物については屠殺日にも体重を測定した。

図1および図2に投与期間中の体重推移を示した。また表1に投与期間中の平均体重および体重増加量を示した。

図1. 雄の体重

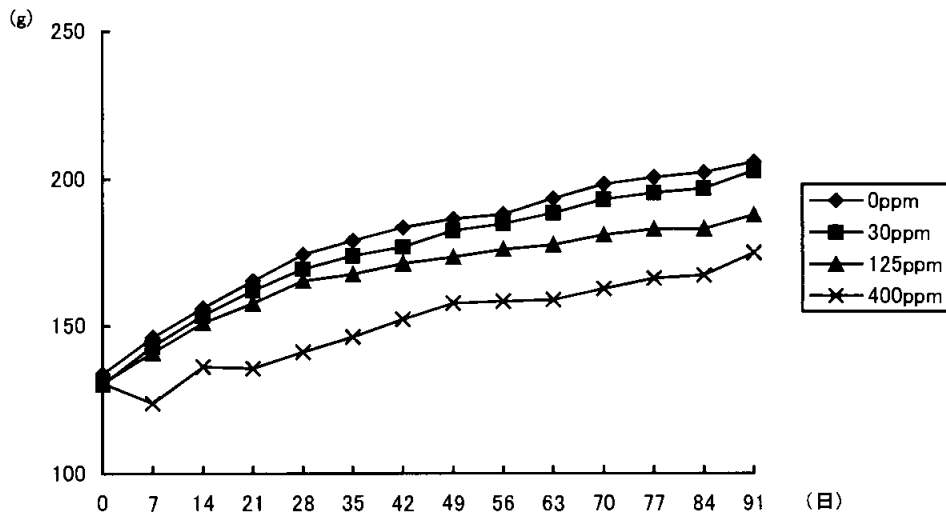


<sup>2</sup> McDaniel, K.L., and Moser, V.C., "Utility of a neurobehavioral screening battery for differentiating the effects of two pyrethroids, permethrin and cypermethrin," *Neurotoxicol. Teratol.*, 15, 71-83, 1993.

<sup>3</sup> Vijverberg, H.P.M., and van den Bercken, J., "Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides," *CRC Reviews in Toxicology* 21(2), 105-126, 1990.

<sup>4</sup> Warren, D.L., Hamilton, B.F., Halliburton, A.T., and Meier, M.E., "21-Day Dermal Toxicity Study with Technical Grade BAYTHROID in Rats," Bayer Corp., Agriculture Division Report Number 107437, MRID Number 44066001, 1996.

図 2. 雌の体重



400ppm 群雌雄では、投与 1 週には対照群と比較して統計学的に有意な低値を示し (雄 18%、雌 15%)、以降試験終了まで続いた (平均してそれぞれ 17% の低下)。125ppm 群雌では、投与 5 週までは対照群と同等であったが、5 週以降試験終了まで対照群と比較して、統計学的に有意な低値を示した (平均して 8% の低下)。125ppm 群雄および 30ppm 群雌雄では体重に変化は認められなかった。

摂餌量：投与期間を通じて毎週、全動物の摂餌量を記録した。その結果を表 1 および表 2 に示す。

表 1. 摂餌量 (g/動物/日)

性	雄			雌		
	30	125	400	30	125	400
投与量 (ppm)						
0-7 日間		↓93	↓58		↓93	↓62
7-91 日間			↓75-96	↓93-95	↓88-94	↓80-90

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓ ↑ : p<0.05 (Anova+Dunnett 検定)

表 2. 平均摂餌量 (g/体重 kg/日)

投与量 (ppm)		0ppm	30ppm	125ppm	400ppm
平均摂餌量	雄	68.7	68.9	67.7	69.8
	雌	80.7	79.5	79.6	80.3

(Anova+Dunnett検定)

表 1 に示すように、摂餌量 (g/動物/日) において、400ppm 群では、雌雄で投与

1週には対照群と比較して統計学的に有意に低下し(雄42%、雌38%)、以降投与終了までほとんどの週で統計学的に有意に減少したものの、回復性がみられた(平均して雄14%、雌16%の減少)。

125ppm群では、雌ではほとんどの週で対照群と比較し統計学的に有意に減少した。雄では第1週のみ有意差(7%の減少)が認められたが、第1週目のみの低下は毒性影響というよりはむしろ味の悪さに起因するものと考えられた。30ppm群雌では、対照群と比較して統計学的に有意な減少が時々認められたが(4週間; 4、6、9及び12週)、減少の程度が5~7%と少なかったことと散発的であることから、投与による変化とは考えられなかった。30ppm群雄では投与による摂餌量への影響はなかった。

なお、表2に示すように、試験期間を通じた平均摂餌量(体重(kg)当たり)はいずれの検体投与群においても減少しなかったことから、上述した動物あたりの摂餌量の減少は体重の低下と関連しているものと考えられた。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量

投与量 (ppm)		30ppm	125ppm	400ppm
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.02	7.99	26.81
	雌	2.34	9.40	30.83

機能観察総合検査 (Functional Observational Battery, FOB) :

投与開始前並びに 4、8、及び 13 週目に全動物を対象として以下の項目を観察・測定した。機能検査は Moser<sup>5</sup>により記載された一連の試験法に準拠した。着地開脚幅や握力は確立された方法に基づいた<sup>6,7</sup>。

ホームケージでの観察 [体位、立毛、不随意運動 (間代性、強直性)、歩行異常、異常発声、その他]

ハンドリングによる観察 [ケージからの取り出しやすさ、ハンドリング中の反応、筋緊張、眼瞼閉鎖、瞳孔径、瞳孔反応、流涙、流涎、汚れ、その他]

オープンフィールドでの観察 [立毛、呼吸異常、体位、不随意運動 (間代性、強直性)、常同行動、奇異行動、歩行異常、異常発声、覚醒、立ち上がり、排便、排尿]

反射/生理学的観察および測定 [接近反応、接触反応、聴覚反応、テイル

<sup>5</sup> V. C. Moser, "Screening Approaches to Neurotoxicity: A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 1989, 8, pp. 85-93.

<sup>6</sup> P. M. Edwards and V. H. Parker, "A Simple, Sensitive, and Objective Method for Early Assessment of Acrylamide Neuropathy in Rats," Toxicol. Appl. Pharmacol., 1977, 40, pp. 589-591.

<sup>7</sup> D. A. Meyer, H. A. Tilson, W. C. Byrd and M. T. Riley, "A Method for the Routine Assessment of Fore- and Hindlimb Grip Strength of Rats and Mice," Neurobehav. Toxicol., 1979, 1, pp. 233-236.

ピンチ反応、立ち直り反射、握力、体重、体温、着地開脚幅]

表 4 に示したように、機能観察検査 (FOB) に対する検体の影響は、400ppm および 125ppm 群雌雄で認められた。30ppm では何ら影響は見られなかった。400ppm 群では雌雄において、反復性咀嚼運動、不調和な歩行、耳介の痂皮が認められた。さらに前肢および後肢の握力低下と体重増加の減少が認められた。握力低下は体重増加抑制の二次的な影響と考えられたが、タイプ I およびタイプ II のピレスロイドに急性的に暴露により一時的にみられる影響でもある<sup>2</sup>。いずれにしても握力への影響は体重への影響と同等ないしはやや弱く、前肢および後肢の握力への影響は同等で、体重および圧力の影響は 4 週で一番強く見られた。さらに雌では反応性の亢進、わずかに過度の聴覚反応、体温の低下および正向反射の失調が認められた。これらの影響は投与 4 週の検査時に最も明らかであったが、13 週で全ての影響の消失はみられなかった。しかしながら、4 週以降に毒性の蓄積を示す証拠もないことから他のピレスロイド剤で示されているような一過性の急性影響としてとらえることに矛盾がないと考えられた。

125ppm 群雄では、耳介付近に赤く硬くなった部分 (痂皮) がみられ、雌では体重の増加抑制が認められた。

この他に認められた統計学的な有意な変化は偶発的なもので投与に関連のない変化と考えられた。

表 4. 機能観察総合検査

性 別	雄															
	0				30				125				400			
投与量(ppm)	0				30				125				400			
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(週)	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13
ホームケージ																
不調和歩行 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4*	1	0
姿勢 立位、正常	2	2	3	6	0	8*	6	4	1	5	5	7	1	5	6	8
姿勢 立ち上がり	0	0	0	1	0	1*	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
姿勢 座位または横臥	10	10	9	5	12	3*	5	6	11	7	7	5	11	7	6	4
ハンドリング																
皮膚硬化、耳、赤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3+	0	0	0	6+	0	0
オープンフィールド																
反復性咀嚼 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
不調和歩行 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6*	5*	0
不調和歩行 中/重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5*	0	0

\*: P<0.05 (Dunnett)    \*: 統計実施せず    太字: 投与に起因するもの

表 4. 機能観察総合検査(続き)

性 別	雄															
	0				30				125				400			
投与量(ppm)																
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(週)	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13
反射/生理学的検査																
体重(g)	170	263	313	352	170	267	319	349	170	254	310	345	170	<b>207*</b>	<b>265*</b>	<b>303*</b>
前肢握力(kg)	0.48	0.91	1.07	1.16	0.46	0.85	1.08	1.16	0.50	0.89	1.08	1.24	0.49	<b>0.74*</b>	<b>0.85*</b>	<b>1.06</b>
後肢握力(kg)	0.24	0.35	0.41	0.50	0.22	0.35	0.45	0.44	0.24	0.32	0.42	0.43	0.23	<b>0.26*</b>	<b>0.36</b>	<b>0.40*</b>
接近反応 反応なし	1	0	0	0	0	0	1	2	0	0	1	5*	0	0	0	0
接近反応 軽度の反応	11	12	12	12	12	12	11	10	12	12	11	7*	12	12	12	12

性 別	雌																
	0				30				125				400				
投与量(ppm)																	
検査動物数	12				12				12				12				
検査時期(週)	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	Pre	4	8	13	
ホームケージ																	
不調和歩行 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>4*</b>	0	1
不調和歩行 中/重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1*</b>	0	0
反応性の亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>3*</b>	0	0
ハンドリング																	
皮膚硬化、耳、赤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+	0	0
オープンフィールド																	
反復性咀嚼 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>7*</b>	<b>5*</b>	0
不調和歩行 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>10*</b>	<b>5*</b>	1
不調和歩行 中/重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1*</b>	0	0
反射/生理学的検査																	
聴覚反応 軽度反応	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	<b>9</b>	12	12
聴覚反応 軽度より亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>3</b>	0	0
正向反射 軽度失調	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>6</b>
正向反射 背から着地	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>	0	0
体温(°C)	38.3	38.2	38.0	38.0	38.2	38.0	38.3	38.3	38.3	38.1	38.1	38.3	38.1	<b>37.3*</b>	<b>37.5</b>	37.7	
体重(g)	128	167	189	200	127	162	183	197	126	159	<b>173*</b>	<b>184*</b>	127	<b>140*</b>	<b>160*</b>	<b>170*</b>	
前肢握力(kg)	0.47	0.78	0.89	1.00	0.47	0.79	0.93	1.00	0.47	0.77	0.93	1.03	0.51	<b>0.63*</b>	<b>0.78*</b>	<b>0.86*</b>	
後肢握力(kg)	0.21	0.28	0.35	0.37	0.21	0.30	0.35	0.41	0.20	0.27	0.36	0.35	0.22	<b>0.23*</b>	<b>0.29*</b>	<b>0.34</b>	

\*: P<0.05 (Dunnett)    \*: P<0.05 (ANOVA)    \*: 統計実施せず    太字: 投与に起因するもの

自発運動量および移動運動量：FOB と同時期に全動物を対象として測定した。測定時間は 90 分間とし、10 分間隔で記録した。さらに、順応性については各測定時間経過による運動量の減少により評価した。

表 5 に 90 分間の自発運動量および移動運動量の測定結果を示した。

表 5. 自発運動量及び移動運動量

性別 測定時期/投与量 (ppm)		雄			雌		
		30	125	400	30	125	400
自発運動量	投与前	126	118	104	93	94	87
	投与 4 週	<b>132</b>	<b>163*</b>	<b>147*</b>	106	109	101
	投与 8 週	110	110	118	89	111	110
	投与 13 週	105	<b>122</b>	<b>144</b>	84	91	98
移動運動量	投与前	117	112	108	89	94	87
	投与 4 週	<b>126</b>	<b>156</b>	<b>126</b>	107	111	91
	投与 8 週	113	108	108	<b>79</b>	99	99
	投与 13 週	111	<b>125</b>	<b>136</b>	81	86	94

\*: P<0.05 (ANOVA)

太字については正常範囲(±20%)を超えた変動。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

自発運動量では雄の 125 及び 400ppm 群において、4 週に対照群と比較して統計学的に有意に増加したが、最大値(753)を示したのが 125ppm 群で、これは投与前の最大値(666)を明らかに超えた唯一の測定値であるが、用量との関連性が認められないことから、偶発的で投与に関係しないものと考えられた。表にみられるように自発運動量および移動運動量の測定値が基準として考えている正常変動範囲(±20%)を超えたことが数回あった[4 週目の全用量雄、13 週目の 125ppm および 400ppm 群雄、移動運動量の 8 週目の 30ppm 群雌]。しかしながら、ほとんどが雄のみに認められ、用量に関連したものではなく、また、投与前の測定値の幅をわずかに超えている程度であることから、投与に起因したものとは考えられなかった。

自発運動量および移動運動量のデータを 10 分間のインターバルでさらに解析した。その結果、投与群の自発運動量および移動運動量は、各性、何れの検査時期においても、統計学的な有意差は認められなかった。このように順応性についても雌雄共に検体投与による影響は認められなかった。

以上のことから、自発運動量および移動運動量ともにいずれの投与群雌雄においても投与による影響は認められなかった。

眼科学的検査：投与前および投与終了前（第 12 週）に供試動物の眼科的検査を半暗室内で行った。瞳孔反射試験ではペンライトあるいは透光器を用いて行い、さらに散瞳剤を用いて瞳孔を散大させた後、眼瞼、結膜、角膜、眼房水および水晶体をスリットランプ検眼鏡を用いて検査し、ガラス体液、網膜、脈絡

膜および視神経円板は間接検眼鏡および集光レンズを用い検査した。

その結果、投与に起因する眼科学的病変は全く観察されなかった。

脳重量：灌流固定を行った各群 6 例について、最終体重及び脳重量を測定した。

脳については、灌流固定後、後固定前に重量を測定した。また体重比重量も求めた。

表 6. 臓器重量

臓器	項目	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	125	400	30	125	400
最終体重				↓ 88		↓ 91	↓ 86
脳	実重量						
	対体重比			↑ 120		↑ 112	↑ 117

↓ ↑ : P<0.05 (Anova + Dunnetts test)

表 6 に示したように、400ppm 群雌雄および 125ppm 群雌において、対照群と比較して最終体重の低下および対体重比の増加が認められた。脳の実重量では変化が認められないことから、対体重比の増加は最終体重の減少に伴う変化と考えられた。

肉眼的病理検査：全動物について投与終了後に剖検(全臓器、体腔、剖面、天然孔および体表)を行った。組織採取用の動物(各群 6 匹)はペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与して麻酔し、亜硝酸ナトリウム・リン酸緩衝液を左心室より勢いよく注入して灌流し、それに続いて汎用固定液(4% EM 級ホルマリンおよび 4% グルタルアルデヒド溶液)を使用して生体位で固定した。灌流した動物から脳および脊髄全体、視神経を含む両眼、選択した末梢神経(坐骨、脛骨および腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、個体識別標を摘出し、10% リン酸緩衝ホルマリンに固定した。

また灌流固定を行わない残りの動物は炭酸ガスにより窒息死させ、組織を採取することなく剖検した。

剖検の結果、検体投与に起因すると考えられる肉眼的異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査：灌流固定した対照群と最高投与群の雌雄より採取した以下の神経系組織について、鏡検検索を実施した。

脳(8 部位)、脊髄の 3 部位からの横断面および縦断面(頸部、胸部、腰部)馬尾(縦断面のみ)は、パラフィンに包埋し、ヘマトキシリンおよびエオシン(H&E)で染色した。



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

後根神経節（後根線維、前根線維を含む）、ガッセル神経節、眼、視神経および腓腹筋はメタクリル酸グリコール（GMA）に包埋し、2～3μmに薄切し、Leeの変法で染色した。

末梢神経組織はエポキシ樹脂に包埋し、約1μmに薄切し、トルイジンブルーで染色した。

脳および脊髄の各部位からの追加の切片はルクサール・ファストブルー/クレシルバイオレットおよびSevier-Munger法で染色した。

病理組織学的検査の結果、検体に関連した所見は400ppm群の雌雄共に認められなかった。この結果から、125ppmおよび30ppm群については病理組織学的に検査を行わなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
400 ppm	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 協調運動失調、反復性咀嚼運動、不調和な歩行、耳介付近の痂皮、握力低下、</li><li>・ 体重増加抑制</li><li>・ 摂餌量減少(g/動物/日)*</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 運動失調、足で搔く反復行動、赤色鼻汁による汚れ、反復性咀嚼運動、不調和な歩行、耳介付近の痂皮、握力低下、反応性の亢進、聴覚反応亢進、体温の低下、正向反射の失調</li><li>・ 体重増加抑制</li><li>・ 摂餌量減少(g/動物/日)*</li></ul>
125 ppm	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 耳介付近の痂皮</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>・ 摂餌量減少(g/動物/日)*</li><li>・ 体重増加抑制</li></ul>
30 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

\* : (g/kg 体重/日)では影響なし。

以上、本検体のラットに対する13週間混餌投与による反復経口投与神経毒性試験において、雌雄共400ppm、雌の125ppmで体重増加抑制がみられ、これに関連して摂餌量(g/動物/日)の減少がみられた。雌雄とも400ppmおよび125ppmで一般状態の変化およびFOBで影響が認められた。しかし死亡率、自発および移動運動量、眼科学的検査、脳重量、肉眼的および病理組織学的検査に対して検体投与の影響はみられなかった。

従って本試験での総合的な無毒性量は雌雄共に30ppm（雄：2.02 mg/kg 体重/日、雌：2.34 mg/kg 体重/日）と考えられた。

## (6) 催奇形性

### ラットに対する催奇形性試験

毒性資料 No.  $\beta$ -9

試験機関：

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体の純度：97.3% (1995年7月)、96.9% (1996年4月)

供試動物：Wistar 妊娠雌ラット、試験開始時 12～15 週齢、妊娠 0 日体重：180～271g、  
1 群 30 匹

投与期間：妊娠 6～15 日の 10 日間 [1995年12月]

投与方法：検体を 1%クレモホアに懸濁し、0、3、10 および 40mg/kg の用量 (投与液の化学分析に基づく実際用量：0、2.71、9.42 および 41.96 mg/kg) で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した (投与容量 10 mL/kg)。膣スミア中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定の根拠：投与用量は、同系統のラットを用いた用量設定試験の結果に基づいた。

本用量設定試験では、妊娠雌ラット (1 群 5 匹) に 0、1、3、10 および 30mg/kg (投与液の化学分析に基づく実際用量：0、0.9、2.6、9.5 および 28.2 mg/kg) で妊娠 6～15 日に投与し、妊娠 20 日に屠殺し帝王切開した。胎児については外表検査を行った。その結果、30mg/kg 群で投与期間中に自発運動の低下、流産、口の汚れおよび運動失調が見られた。また同群では統計学的に有意ではないものの補正体重増加量 (妊娠 0～20 日の体重増加量－妊娠子宮重量) の減少 (対照群に対し 24%減少) および投与期間中の摂餌量減少 (対照群に対し 10～55%減少) も認められた。

以上の結果から、本試験では 40 mg/kg を明らかな毒性を示す最大用量として選択し、以下 10 および 3mg/kg を選択した。

観察・検査項目：

母動物：一般状態および生死を毎日観察し、妊娠 0、2、4、6～16、18 および 20 日に体重を測定し、妊娠 2、4、6～16、18 および 20 日に摂餌量を測定した。妊娠 20 日に屠殺し帝王切開した。そして黄体数、着床数、着床後死胎 (胎児吸収) 数、生存および死亡胎児数、妊娠子宮重量、胎盤重量を記録した。

受胎率 (%) = (妊娠雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率 (%) = (担生存胎児雌数 / 妊娠雌数) × 100

交尾率 (%) = (交尾雌数 / 交配雌数) × 100

生存胎児：性別および体重を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児の約半数について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本を作製

し、骨格異常の有無を検査した。

結果：表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

## 1. 母動物への影響

10mg/kg 以下の群では検体に起因した臨床症状は認められなかった。一方、40mg/kg 群では、妊娠 7 又は 8 日に 3 例が死亡した。また同群では妊娠 6 日後以降、活動性の低下、流産、運動失調がほぼすべての動物に認められた。

体重増加量は、40mg/kg 群で妊娠 6-8 日、6-16 日および 0-20 日に対照群に比べ有意な減少が認められた。10mg/kg 群では妊娠 7-8 日のみの一時期に有意ではあるが軽度の減少が認められた。一方、妊娠 6-7 日には体重増加抑制はみられなかった。これらの群では補正体重増加量および摂餌量の有意な減少が認められた\*。なお、摂餌量の減少は 3mg/kg 群でも認められたものの、投与開始前(妊娠 4-6 日)においても有意な減少が見られている一方、投与開始の妊娠 6-7 日において摂餌量に有意な低下はみられていないこと、体重増加に有意な減少を伴っていないこと、また本系統のラットで通常みられる変動の範囲内とみなされることから、3mg/kg 群における摂餌量の減少については検体投与による影響とは考えられなかった\*。

繁殖成績(交尾率、受胎率、妊娠率)および着床所見(黄体数、着床数、着床前および着床後死胚率、同腹児数、死亡および生存胎児数等)に投与の影響は全投与群で見られなかった。

\*申請者註；10mg/kg 群においても妊娠 6-7 日において摂餌量に有意な低下はみられず、この群の摂餌量の低下が体重増加と必ずしも呼応していなかった。

## 2. 胎児への影響

40mg/kg 群の生存胎児の体重は、雄、雌、雌雄合計とも、対照群に比べ有意に低下し、母動物毒性の影響と考えられた。

性比および胎盤重量に検体投与の影響は見られなかった。

外表検査、内臓検査において、奇形所見が対照群を含む各群で認められたが、いずれの異常も用量との関連がないか、少数例の発現であったことから、検体投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

骨格検査において、前頭骨、仙椎弓、中手骨および第 2 胸骨分節の不完全骨化、尾椎弓、第 5 胸骨分節および剣状突起の未骨化並びに大泉門の拡張の頻度の増加が 40mg/kg 群で認められた。これらの所見は、母動物毒性による胎児体重の低下に関連した発育遅延を示す所見と考えられた。

また、担奇形あるいは担変異動物の頻度に影響は認められなかった。

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

以上、 $\beta$ -シフルトリンのラットへの経口投与による催奇形性試験において、母動物への影響として、10mg/kg/日以上で体重増加量および摂餌量の減少が認められた。胎児への影響として40mg/kg/日で胎児体重の低下および骨化遅延が観察され、母動物毒性による二次的な影響と考えられた。従って、本試験における無影響量\*は母動物に対しては3mg/kg/日、胎児では10mg/kg/日と考えられた。またラットに対する催奇形性作用は認められなかった。

**\*申請者註**

JMPR では10mg/kg/日で見られた体重増加抑制は軽度であり毒性とはせず、無毒性量は母児ともに9.4mg/kg/日(実測濃度)としている。

申請者は以下のように考える。

10mg/kg 群では、体重増加量に統計学的に有意な低下が認められたのは妊娠7-8日(投与2回目から3回目の間)のみであり、投与期間中(妊娠6-16日)の体重増加量に有意な差は認められていない。また一般症状においても10mg/kg 群以下では何も認められていない。摂餌量については、有意な低下が投与期間中に散発的に認められているが、呼応する体重増加に影響は認められていない。これらのことから、母動物および胎児の無毒性量は10mg/kg/日と考えた。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	3	10	40	
母動物	1群あたりの動物数	30	30	30	30	
	妊娠動物数	27	24	21	26	
	死亡妊娠動物数	0	0	0	3	
	死亡不妊動物数	0	0	0	0	
	一般症状 (妊娠動物)					
	自発運動の低下	0	0	0	▲26	
	流涎	0	0	0	▲25	
	運動失調	0	0	0	▲26	
	体重増加量 (g)					
	妊娠 6-7 日	1.6	1.2	1.7	▼-8.5	
	妊娠 7-8 日	2.3	1.5	▼-0.9	▼-3.3	
	妊娠 8-9 日	2.6	2.1	3.0	2.0	
	妊娠 6-16 日	38.4	36.3	34.8	▼17.2	
	妊娠 0-20 日	100.6	98.0	98.2	▼83.6	
	妊娠子宮重量 (g)	55.7	57.9	59.7	53.2	
	補正体重増加量 (g)	44.9	40.1	▼38.5	▼30.5	
	摂餌量 (g/kg/日)					
	妊娠 4-6 日	92.2	▼82.4	▼81.2	85.9	
	妊娠 6-7 日	92.4	86.7	92.6	▼40.2	
	妊娠 7-8 日	86.3	▼74.2	▼66.8	▼39.5	
	妊娠 8-9 日	84.2	▼77.3	▼74.0	▼54.2	
	妊娠 9-10 日	82.4	76.8	▼67.8	▼58.3	
	妊娠 10-11 日	97.8	88.8	88.5	82.4	
	妊娠 11-12 日	89.3	84.3	▼72.1	▼62.5	
	妊娠 12-13 日	83.7	95.7	75.4	▼61.0	
	妊娠 13-14 日	80.6	77.5	71.9	75.4	
	妊娠 14-15 日	81.9	81.2	▼73.8	▼64.9	
	妊娠 15-16 日	84.3	78.4	▼75.2	▼61.9	
	繁殖成績					
	担生存胎児雌数	27	24	21	23	
全吸収胚動物数	0	0	0	0		
受胎率 (%)	90	80	70	87		
出産率 (%)	100	100	100	100		
交尾率 (%)	100	100	100	100		
着床所見						
対象動物数	27	24	21	23		
黄体数	14.0	13.4	13.4	13.9		
着床数	11.5	12.1	12.2	12.3		
着床前死胚率 (%)	17.9	10.1	11.2	11.5		
着床後死胚率 (%)	6.9	6.7	6.2	9.8		
早期吸収胚数	0.7	0.7	0.7	1.1		
後期吸収胚数	0.1	0.0	0.0	0.0		
死亡胎児数	0.0	0.0	0.0	0.1		
生存胎児数	10.7	11.4	11.6	11.1		

補正体重増加量：妊娠 0~20 日の体重増加量-妊娠子宮重量

計量値：Dunnett 検定又は Dunn 検定、 ↓↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01

計数値：カイ二乗法または Fisher 直接確率計算法 ↓↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (一部申請者が実施)

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	3	10	40	
対象となる母動物数		27	24	21	23	
胎児	性比 (雄の割合(中央値)、%)	50	41	50	50	
	体重 (腹毎の平均体重の平均、g)					
		雄	3.6	3.6	3.6	↓3.3
		雌	3.4	3.4	3.4	↓3.1
		雌雄合計	3.5	3.5	3.5	↓3.2
	胎盤重量 (腹毎の平均体重の平均、g)					
		雌雄合計	0.48	0.47	0.50	0.45
	外表検査					
	検査動物数		290	273	243	255
	奇形	担奇形胎児数	1	0	1	0
		ドーム頭			1	
		臍帯ヘルニア+曲尾	1			
	内臓検査					
	検査動物数		138	128	116	122
	奇形	担奇形胎児数	2(1)	0	1	1
腎臓低形成		2(1)				
無眼症				1	1 <sup>1)</sup>	
口蓋裂					1 <sup>1)</sup>	
変異	変異胎児数	17(10)	8(7)	13(11)	15(11)	
骨格検査						
検査動物数		152	145	127	133	
奇形	担奇形胎児数	1	4(3)	3(3)	1	
	前上顎骨：短小				1	
	肋骨：欠損	1 <sup>2)</sup>				
	胸椎弓：癒合	1 <sup>2)</sup>				
	胸椎弓：欠損	1 <sup>2)</sup>				
	胸椎弓および胸椎体：過剰		4(3)	3(3)		
	腰椎弓および胸椎体：欠損	1 <sup>2)</sup>	2(2)			
	仙椎弓および仙椎体：欠損	1 <sup>2)</sup>				
	腸骨：位置異常	1 <sup>2)</sup>				
変異	変異胎児数	151(27)	145(24)	125(21)	133(23)	
	前頭骨：不完全骨化	87(26)	73(21)	73(20)	↑97(23)	
	頭頂骨：不完全骨化	19(12)	12(10)	↑36(15)	16(10)	
	矢状縫合：縫合間隙の拡張	13(9)	5(4)	↑24(11)	11(9)	
	大泉門：拡張	91(27)	73(21)	78(20)	↑99(23)	
	小泉門：拡張	12(9)	7(6)	↑23(11)	11(10)	
	肋骨：波状	7(3)	9(6)	↑22(↑11)	7(4)	
	肋骨：骨化中心	42(18)	42(19)	36(16)	↓19(12)	
	仙椎弓：不完全骨化	89(25)	81(21)	77(20)	↑117(23)	
	尾椎弓：未骨化	63(21)	64(20)	51(16)	↑85(23)	
	中手骨：不完全骨化	40(17)	27(15)	38(14)	↑53(21)	
	第2胸骨分節：不完全骨化	20(13)	17(9)	24(11)	↑34(14)	
	第5胸骨分節：未骨化	16(11)	7(7)	21(9)	↑37(17)	
剣状突起：未骨化	3(3)	2(2)	5(4)	↑15(8)		

体重および胎盤重量：Healy's test、↓↑：p<0.05、↓↑：p<0.01

計数値：カイ二乗検定または Fisher 直接確率計算法、↓↑：p<0.05、↓↑：p<0.01

1) 同一胎児 2) 同一胎児

( )：担異常/変異胎児腹数

## (7) 変異原性

### 細菌を用いた復帰変異原性試験 (Ames 試験)

毒性資料 No.  $\beta$ -10

試験機関：

報告書作成年：1986年

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 98.5%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の4株 (TA1535、TA100、TA1537、TA98) を用い、Aroclor 1254 で酵素誘導したラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下で Ames による方法に従い復帰変異原性試験を行った。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製した。1回目試験は 20~12500  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の5用量で行った。2回目試験は、1回目試験の 12500  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  において沈殿が認められたため、500~8000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の5用量で行った。試験は4連制とした。溶媒対照試験および陽性対照試験も同時に実施した。37°Cで48時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。

溶媒対照に比し2倍以上の復帰変異コロニー数の増加が、用量相関性および再現性をもって認められた場合に変異原性を有すると判定した。

### 結 果：

次表に示したように、各菌株において S9-mix の有無にかかわらず用量相関性を伴った復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

陽性対照として用いたアジ化ナトリウム、ニトロフラントイン及び4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミンでは溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また、2-アミノアントラセンは S9-Mix を加えることにより活性化され、試験に用いたすべての株に著明な復帰変異を誘起した。

以上の結果より、検体の復帰変異原性は代謝活性化の有無にかかわらず陰性と考えられた。

表 1. Ames 試験結果 (4 連の結果の平均値)

	薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9- mix	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			
				TA1535	TA100	TA1537	TA98		
1 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	-	16	71	10	14		
	検体	20		23	79	7	22		
		100		18	79	9	16		
		500		21	75	12	16		
		2500		20	89	7	14		
		12500		-	-	-	-		
	陽性対照			a 1024	b 333	c 32	d 57		
1 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	+	42	149	10	42		
	検体	20		38	122	11	42		
		100		35	120	12	52		
		500		33	123	10	44		
		2500		37	121	8	34		
		12500		-	-	-	-		
	陽性対照			e 331	e 1631	e 71	e 390		
2 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	-	20	88	6	21		
	検体	500		18	79	6	17		
		1000		20	67	7	16		
		2000		21	72	11	19		
		4000		19	70	9	13		
		8000		16	71	8	15		
	陽性対照			a 517	b 244	c 57	d 52		
	2 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)		0	+	13	117	13	21
		検体		500		11	109	9	22
				1000		13	109	7	25
				2000		11	100	9	24
4000			12	85		8	21		
8000			10	99		5	12		
陽性対照			e 223	e 2629		e 454	e 1116		

4 連で実施(表中の数値は 4 連の平均値)、培養時間は 48 時間とした。

8000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で検体の沈澱が認められた。

- : 評価不可

a : 10 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  アジ化ナトリウム

b : 0.2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  ニトロフラントイン

c : 10 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

d : 0.5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

e : 3 $\mu\text{g}/\text{プレート}$  2-アミノアントラセン



## 培養細胞における *in vitro* 染色体異常試験

毒性資料 No.  $\beta$ -11

試験機関：

報告書作成年：1988年 [GLP 対応]

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 98.8%

試験方法：男女各1人のドナーから得たヒトリンパ球を用い、染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9-mix) の非存在下および存在下で検索した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて調製した。試験濃度は S9-mix の非存在下、存在下共に 500、1000 および 5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の3濃度とした。そして S9-mix の非存在下では検体を 24 時間処理し染色体標本を作製した。S9-mix の存在下では検体を 2.5 時間処理後、新しい培地に交換し、検体処理開始から 24 時間培養後に染色体標本を作製した。また、溶媒対照ならびに陽性対照 (マイトマイシン C (S9-mix 非存在下) およびシクロホスファミド (S9-mix 存在下)) を同時に試験した。各濃度について、ドナーあたり 2 培養し、評価は 1 培養のみを用いて行った。1 用量あたり各ドナーにつき 100 個、計 200 個の分裂中期細胞を観察した。また各培養あたり細胞 1000 個を観察し、分裂中期細胞の出現頻度 (分裂指数) を算出した。用量相関性があり統計学的に有意な染色体構造の異常率の増加が認められた場合、陽性と判定した。

用量設定根拠：50～5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で実施した予備試験で、S9-mix の非存在下、存在下共に 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で分裂指数の低下が認められ、1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上で沈殿が認められた。以上より、本試験では S9-mix の非存在下、存在下共に 500、1000 および 5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の3濃度を設定した。

### 結 果：

次表に示したように、本試験条件下においては S9-mix 存在の有無にかかわらず検体による染色体構造の異常率の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C およびシクロホスファミドでは顕著な染色体構造異常率の増加が見られた。

以上、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でヒトリンパ球に対する染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

表1. 染色体異常試験結果

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	処理時間	標本作製時間	S9-mixの有無	分裂指数 (%)	観察細胞数	染色体構造異常							構造異常細胞頻度 (%)			倍数性細胞 (%)
							ギャップ	切断	断片	欠失	交換	重複異常		ギャップ		交換	
												交換除外	交換含む	含む	除外		
溶媒対照 (DMSO)	0	24	24	-	3.9	200	4	6	3	0	0	0	0	6.5	4.5	0.0	0.0
検体	500				2.6**	200	7	3	1	0	0	0	0	5.5	2.0	0.0	0.0
	1000				1.8**	200	9	2	3	1	0	0	0	6.0	1.5	0.0	0.0
	5000				3.2*	200	5	4	1	0	0	0	0	5.0	2.5	0.0	0.0
陽性対照 (MMC)	0.15				4.4	200	54	36	4	1	20	0	0	40.0**	25.5**	10.0**	0.0
溶媒対照 (DMSO)	0	2.5	24	+	5.1	200	6	1	0	0	0	0	0	3.5	0.5	0.0	1.0
検体	500				2.6**	200	6	2	0	0	0	0	0	4.0	1.0	0.0	0.5
	1000				2.3**	200	11	2	1	0	0	0	0	6.0	1.5	0.0	0.5
	5000				3.3**	200	4	0	0	0	0	0	0	2.0	0.0	0.0	0.5
陽性対照 (CP)	15				4.1*	200	53	32	3	0	3	0	1	33.0**	17.5**	2.0	0.3

1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上で検体の沈澱が認められた。

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$  (カイ 2 乗検定)

重複異常 : 4 以上の構造異常(ギャップを除く)を有するもの

MMC : マイトマイシン C

CP : シクロホスファミド

## マウスを用いた小核試験

毒性資料 No.  $\beta$ -12

試験機関：

報告書作成年：1988年 [GLP 対応]

検体の純度： $\beta$ -シフルトリン 99.6%

供試動物：NMRI マウス (Bor: NMRI (SPF Han))、8~12 週齢 (投与時体重 28~43 g)、  
1 群雌雄各 5 匹

試験方法：検体を 0.5% Cremophor に懸濁し、80 mg/kg の用量で単回経口投与した。  
また、溶媒対照群には媒体である 0.5% Cremophor を、陽性対照群は脱イオン  
水で調製したシクロホスファミドを 20 mg/kg の用量で同様に投与した。投与  
容量はいずれの群も 10 mL/kg とした。  
検体投与群については投与 24、48 及び 72 時間後に、溶媒対照および陽性対  
照群については投与 24 時間後にそれぞれ屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を  
採取して骨髓塗沫標本を作製した。各標本について多染性赤血球 (PCE) およ  
び正染性赤血球 (NCE) 中の、小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) および正  
染性赤血球 (MNNCE) を計数した。また、造血機能への影響をみるために PCE  
に対する NCE の割合を求めた。  
MNPCE の統計学的に有意で背景データを超える増加がみられた場合、染色体  
異常誘発性が陽性と判定した。

用量設定根拠：本試験に先立ち用量設定試験が行われた。1 群 5 匹の雌雄マウスに検体を  
50, 75, 100, 150 および 200 mg/kg で単回経口投与したところ、50 mg/kg 以上で  
症状がみられ、100 mg/kg 以上では死亡が認められた。ゆえに、本試験の用量を  
80 mg/kg に設定した。

結 果：検体投与群では、アパシー、歩行失調および流涎などが投与 24 時間後まで  
認められた。死亡は認められなかった。

骨髓標本の観察結果を次表に示した。なお雌雄の差は認められなかったので  
両性を合わせて評価した。

表 1. 小核試験の標本観察結果

薬剤	投与量 (mg/kg)	動物数	標本 作製 時間 (h)	観察 細胞数 (合計)	1000 PCE に 対する NCE (平均±SD)	1000 NCE に 対する MNCE (平均±SD)	1000 PCE に 対する MNPCE (平均±SD)
溶媒対照	0	雌雄 各 5	24	10000	863±252	0.9±1.1	1.5±1.2
検体	80	雌雄 各 5	24	10000	736±284	1.4±1.5	1.1±1.0
		雌雄 各 5	48	10000	789±269	1.2±0.9	1.4±1.1
		雌雄 各 5	72	10000	747±140	0.6±0.8	1.2±0.9
陽性対照 (CP)	20	雌雄 各 5	24	10000	830±289	0.9±1.4	15.5**±7.4

CP：シクロホスファミド

PCE：多染性赤血球， NCE：正染性赤血球

MNCE：小核を有する正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

統計処理：Wilcoxon 順位和検定 \*\*: P<0.01

小核を有する多染性赤血球（MNPCE）について、検体投与群ではいずれの標本作製時間においても対照群に比較し有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では MNPCE の有意な増加を確認した。

造血機能の指標としての多染性赤血球と正染性赤血球の比率について、溶媒対照群と検体投与群との間に明らかな差はみられなかった。陽性対照群でも明らかな差はみられず、小核の誘発に本比率の変化が必要ではないことが示された。

以上、検体は本試験条件下において、マウスの骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

[申請者注：本試験では雌雄合計で評価がなされていたので、雌雄別に再評価した。その結果、表 2 に示したように、合計で評価した場合とほぼ同様な結果が得られた。すなわち、雌雄共に検体投与群において小核を有する多染性赤血球の頻度の増加は認められなかった。また陽性対照群では、雌雄共に小核を有する多染性赤血球の頻度の明らかな増加がみられた。]

表 2. 小核試験の標本観察結果(雌雄別)

薬剤	投与量 (mg/kg)	動物数	標本 作製 時間 (h)	観察 細胞数 (合計)	1000 PCE に 対する NCE (平均±SD)	1000 NCE に 対する MNCE (平均±SD)	1000 PCE に 対する MNPCE (平均±SD)
<b>雄</b>							
溶媒対照	0	雄 5	24	5000	987±303	1.0±1.0	1.8±1.3
検体	80	雄 5	24	5000	695±58	0.3±0.7	1.6±0.9
		雄 5	48	5000	762±216	1.8±0.7	1.8±1.3
		雄 5	72	5000	749±92	0.5±0.7	1.4±1.1
陽性対照 (CP)	20	雄 5	24	5000	818±405	1.4±1.8	18.8*±8.3
<b>雌</b>							
溶媒対照	0	雌 5	24	5000	739±109	0.9±1.3	1.2±1.1
検体	80	雌 5	24	5000	776±416	2.4±1.3	0.6±0.9
		雌 5	48	5000	815±339	0.5±0.8	1.0±0.7
		雌 5	72	5000	745±188	0.6±0.9	1.0±0.7
陽性対照 (CP)	20	雌 5	24	5000	841±153	0.5±1.0	12.2*±5.4

CP : シクロホスファミド

PCE : 多染性赤血球, NCE : 正染性赤血球

MNCE : 小核を有する正染性赤血球

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

統計処理 : Wilcoxon 順位和検定 \* : P<0.05 (申請者実施)

## (8) その他

### ラットにおける発達神経毒性試験

(毒性資料No.  $\beta$ -13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 2003年7月

検体の純度 :  $\beta$ -シフルトリン 95.1~97.6%

試験動物 : ウイスター (Cr1:WI (GLx/BR1/Han) IGS BR) ラット、雌雄各群 30 匹  
交配開始時; 雄 15 週齢、雌 12 週齢

なお、雄は交配のみに用い、検体を混合した飼料を食べさせなかった。

投与期間 : 2002年1月~2002年4月

投与方法:

交配させた後、検体を 0(対照群)、30、125 及び 200ppm の濃度で飼料に混入し、妊娠雌親動物に妊娠 0 日から児動物の哺育 21 日まで投与した。児動物は離乳後、無添加の飼料を試験終了時の生後 75 $\pm$ 5 日まで与えた(哺育 28 日目までは群飼育、その後個体別飼育とした)。雄親動物は交配後屠殺、雌親動物は哺育 21 日に屠殺した。

投与用量設定の根拠;

用量の設定は  $\beta$ -シフルトリンを用いた反復経口神経毒性試験(毒性資料No. 原体  $\beta$ -8)およびシフルトリンを用いた二世世代繁殖性試験(毒性資料No. 原体\_30-1)に基づいた。

反復経口神経毒性試験では、 $\beta$ -シフルトリンを 0(対照群)、30、125 および 400ppm の濃度で雌雄ラットに 13 週間投与した。その結果、30ppm では何ら影響は見られなかった。一方、125ppm では、餌を食べる際の経皮暴露により雌雄ともに皮膚に対する刺激性が認められ、雌では投与 5 週以降に軽度な体重増加抑制、摂餌量の軽度な減少が認められた。400ppm では、雌雄ともに運動失調、咀嚼運動の亢進などが認められ、体重増加抑制も顕著であった、

二世世代繁殖性試験では、シフルトリンを 0(対照群)、50、125 および 400ppm の濃度で交配前約 10 週間から投与した。その結果、繁殖性にかかわる指標には 400ppm まで影響は認められなかったが、親動物への毒性影響として、雌では妊娠期間に 125ppm 以上で体重増加抑制がみられ、400ppm で哺育期間に後肢伸展がみられた。児動物の影響としては、125ppm 以上で哺育期間に体重増加抑制がみられ、一過性の振せんがみられた。

これらの結果に基づいて、本発達神経毒性試験の設定用量として 0、30、125、200ppm を選択した。なお、200ppm は明らかな母毒性(体重増加量の 10% 低下等)と児動物に毒性が認められる用量として、30ppm は母動物に軽微な影響を示す可能性がありながら、児動物の総合的な無影響量 (NOEL) が認められる用量として、125ppm は投与に関連した影響を確認するのに役立つ中間用量として選択した。

## 試験項目及び結果：

### 1. 繁殖成績

妊娠期間を含み、交尾率を受胎率を指標とした繁殖成績に検体投与の影響は認められなかった。交尾率はいずれの群でも100%であり、妊娠雌動物数は0(対照群)、30、125及び200ppm群でそれぞれ30匹中、26、29、29、26匹であった。

### 2. 親動物

#### 2-1. 臨床観察

ケージサイドでの観察は少なくとも1日1回(休日及び週末は1日1回)行った。より詳細な身体的観察も1日に1回、妊娠0日より哺育21日まで行った。

妊娠期間、哺育期間を通じて投与に関連した臨床症状は認められなかった。死亡例もいずれの用量群において認められなかった。

#### 2-2. 機能観察検査(FOB)

各群少なくとも10例の母動物について、機能観察(FOB：ホームケージ内、ハンドリング時、オープンフィールド)を妊娠6日、20日と哺育11、21日に実施した。観察は主として流涙、流涎、立毛、眼球突出、排尿、排便、瞳孔機能、眼瞼閉鎖、痙れん、振せん、異常動作/異常行動、姿勢、歩行異常について実施した。

その観察の結果、検体投与に起因した異常はいずれの投与群にも認められなかった。

#### 2-3. 体重及び摂餌量

妊娠期間及び哺育期間を通じ、毎週、個体毎に体重及び摂餌量の測定を行った；妊娠0、6、13、20日、哺育0、7、14、21日更に哺育期間4日にも体重を測定した。

結果は以下のとおりであった。

妊娠期間：最高用量群の体重は、対照群に比べ暴露開始1週目(妊娠6日測定)に7%の低値を示したがその後は対照群と比べて差がなかったので回復性がみられた。摂餌量には統計学的に有意な差は認められなかった。

哺育期間：最高用量群の体重は、哺育21日を除き対照群に比べて6~8%低値を示した。摂餌量は哺育14~21日の間で対照群に比べ低値(10%)を示した。

#### 2-4. 検体摂取量

雌親動物における検体の平均1日摂取量は、表1の通りであった。

表1. 検体摂取量(mg/kg体重/日)

用量	30ppm	125ppm	200ppm
妊娠期間	2.4	11.0	17.8
哺育期間	5.9	25.4	40.9

### 3. 児動物

以下のとおり検査した。

表 2. 検査表

セット	観察日(生後)	検査項目
A	13, 17, 21, 60(±2)日	運動能 雄 1 匹ないしは雌 1 匹/腹 約 16 匹 (最小 10 匹) /性別/用量 少なくとも 20 腹/用量から児動物を選択
B	22, 38(±2), 60(±2)日	聴覚性驚愕反応 雄 1 匹ないしは雌 1 匹/腹 約 16 匹 (最小 10 匹) /性別/用量 少なくとも 20 腹/用量から児動物を選択
C	22, 29 日	受動回避能 雄 1 匹ないしは雌 1 匹/腹 約 16 匹 (最小 10 匹) /性別/用量 少なくとも 20 腹/用量から児動物を選択
	60(±2)日および その 7 日後	水迷路試験 受動回避能で使用した同じ動物
	4, 11, 21, 35(± 1), 45(±1), 60(± 2)日	機能観察検査(詳細な観察検査) 受動回避能で使用した同じ動物
D	21 日	体温測定 雄 1 匹ないしは雌 1 匹/腹(20 腹/用量) 無作為に選択した児動物 10 匹/性別/用量は灌流固定し、全脳を検鏡および脳の計測のために採取、このグループの残った児動物は体温測定および屠殺(剖検せず)後、脳組織中のβ-シフルトリンの濃度測定を行った。
A-C	約 50-60 日	眼科学的検査: 約 50-60 日にグループ A-C の児動物(20 腹/用量から選択した最小 10 匹/性別/用量), これらの動物について、生後 75(±5)日に屠殺し灌流固定し、神経および筋肉について病理組織学的検査を実施した。(脳の計測にも使用)
	75(±5)日	
	75(±5)日	脳重量の測定 グループ A-C の児動物(10 匹/性別/用量, 20 腹/用量)から脳を採取し、湿重量(生組織)を測定



### 3-1. 同腹児データ

同腹児ベースで対照群と比べ統計学的に有意に認められた影響は、200ppm 群の生後 11 日から離乳時まで認められた低体重および離乳時までの体重増加量の減少であった。出生時および生後 4 日では体重に差はいずれの投与群においても認められなかった。

表 3. 同腹児データ

	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm
腹数	19	23	23	23
出生児総数	220	260	254	271
死亡児数	1	0	4	2
死亡児をもつ母動物数	1	0	4	2
同腹児数	11.6	11.3	11.0	12.0
生存時体重 (g)				
出生時	5.7	5.6	5.6	5.5
生後 4 日 (調整前)	9.5	9.1	9.4	8.8
生後 4 日 (調整後)	9.5	9.1	9.4	8.8
生後 11 日	24.1	23.1	23.6	↓21.8
生後 17 日	38.0	36.6	36.8	↓34.6
生後 21 日	48.2	45.8	46.4	↓43.6
体重増加量(生後 0~21 日)	42.5	40.3	40.8	↓38.0
死産児総数	1	0	1	3
出生率(母動物単位)	99.4	100	99.6	99.0
4 日後生存率(母動物単位)	98.6	99.3	99.3	99.6
哺育率(母動物単位)	100	100	98.9	98.9

↓;p<0.01(Dunnett's test)

### 3-2. 臨床観察

全生存児について、死亡、瀕死状態、明らかな毒性および神経行動学的変化の情報を得るために、少なくとも 1 日 1 回 (午後) ケージサイドでの観察を行った。更に、より詳細な身体的観察を離乳前は 1 日 1 回 (午前)、その後は毎週実施した。この観察は濃度の情報がわかる環境下で実施した。

その結果、哺育期間において、検体に起因する影響および死亡は認められなかった。離乳後の観察においても検体投与に起因した症状および死亡は認められなかった。

### 3-3. 哺育期間中の体重および体重増加量(表 4)

生存児について生後 0、4、11、17、21 日、その後は週 1 回体重を測定した。また、臍開口、包皮分離が達成された時にも個体別に体重を測定した。

その結果、出生時および生後4日には検体投与による差はいずれの投与群においてもみられなかった。しかしながら、その後、投与に関連した低体重が最高用量群の雌雄に(対照群に比べ雄10-11%、雌8-9%)認められた。低用量群では投与に関連した変化は見られなかった。なお、低用量群の雄で生後21日に統計学的に有意な低値がみられたが、その上の濃度で影響が認められなかったこと、差がわずかであったこと(6%)、片性のみで、また一時点でのみ認められた変化であることから、この変化は投与に関連した変化とは考えなかった。

体重増加量は生後4日以降に高用量群の雌雄で対照群に比べ低値を示した。なお、低、中用量群の雄でも生後4日から21日の間の体重増加量に統計学的に有意な低値がみられたが、対照群との差がわずかであったこと(6%)、片性のみで、用量に関連した変化が認められなかったことから、この低、中用量群の雄でみられた変化は投与に関連した変化とは考えなかった。

#### 3-4. 離乳後の体重(表5)

雄では生後29、36、43、50、57、64および71日に、雌では生後30、37、44、51、58、65および72日に測定した。

その結果、高用量群では統計学的に有意な低値が雄では生後71日まで認められた一方、雌では生後65日には統計学的に有意な低値は認められなくなった。これらの高用量群でみられた低体重は、離乳後は検体の含まれていない飼料を給餌し、日を追うごとに雌では完全な回復がみられ、雄でも回復性がみられていることから、哺育期間にみられた低体重が関連しているものと考えられた。

中用量、低用量群で散発的に認められた有意な低値は、投与期間には影響がみられず、差も小さいことから投与の影響とは考えられなかった。

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

表4. 平均体重および体重増加量(g)-腹単位-

	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm
測定日	雄			
0日	5.8	5.7	5.7	5.7
4日(選別前)	9.7	9.2	9.6	9.0
4日(選別後)	9.7	9.2	9.6	9.0
11日	24.7	23.3	23.9	↓22.2
17日	39.0	37.0	37.3	↓35.2
21日	49.6	↓46.5	47.1	↓44.3
0-4日	3.8	3.5	3.8	3.3
4-11日	15.0	14.1	14.3	↓13.1
11-17日	14.3	13.7	13.4	↓13.1
4-17日	29.3	27.8	27.7	↓26.2
17-21日	10.6	9.5	9.8	↓9.0
4-21日	39.9	↓37.3	↓37.5	↓35.3
	雌			
0日	5.5	5.4	5.5	5.4
4日(選別前)	9.3	8.9	9.2	8.6
4日(選別後)	9.2	9.0	9.2	8.6
11日	23.5	23.0	23.3	↓21.4
17日	36.9	36.2	36.3	↓34.0
21日	46.7	45.3	45.6	↓42.9
0-4日	3.7	3.5	3.7	3.2
4-11日	14.3	14.0	14.1	↓12.8
11-17日	13.4	13.3	12.9	12.6
4-17日	27.7	27.2	27.0	↓25.4
17-21日	9.8	9.1	9.4	8.9
4-21日	37.5	36.3	36.4	↓34.3

↓; p<0.01, ↓; p<0.05 (Dunnett 検定)

表5. 体重(離乳後)

性別\用量	雄				雌			
	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm
29/30日	77.5	75.6	↓72.6	↓69.5	76.8	76.6	73.5	↓71.0
36/37日	124.3	120.8	↓118.1	↓113.3	112.1	110.0	↓107.8	↓104.5
43/44日	170.1	165.0	↓163.4	↓157.1	135.7	132.4	132.5	↓129.0
50/51日	213.4	↓205.6	↓205.6	↓195.1	152.9	148.3	149.7	↓145.3
57/58日	254.1	246.0	245.1	↓234.3	167.9	162.7	164.7	↓161.0
64/65日	284.4	277.2	275.4	↓265.3	180.1	182.0	174.8	172.7
71/72日	311.2	302.0	301.1	↓289.7	188.2	182.8	185.8	182.7

↓; p<0.01, ↓; p<0.05 (Anova + Dunnett 検定)

### 3-5. 発育(性成熟)の指標の指標および瞳孔収縮

全児動物について、性成熟の証拠を下記のとおり調べ、達成日を記録した。

雄については38日から包皮分離が達成されるまで毎日観察

雌については29日から膣開口が達成されるまで毎日観察

更に、全児動物について21日に光に対して縮瞳が起こるかを試験した。

その結果、いずれの指標についても投与による影響は認められなかった。

表6. 発育の指標

	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm
包皮分離日	43.6	43.9	43.8	44.2
達成日体重	185	178*	178*	171**
膣開口日	34.0	35.0	34.4	34.6
達成日体重	106	107	105	101*
縮瞳	21.0	21.0	21.0	21.0
21日達成%	100	100	100	100

\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$  (Dunnett 検定, Fisher 検定)

### 3-6. 機能観察検査

取扱い時での観察、オープンフィールドでの観察を生後4、11、21、35(±1日)、45日(±1日)および60日(±2日)に約16匹(最小10匹)/性別/用量、少なくとも20腹/用量)について、濃度の情報がわからずに状態で実施した。なお、生後4および11日の観察では、観察者が必要とみなさない限り、オープンフィールドでの観察は行わなかった。

その結果、投与に起因した影響は認められなかった。

### 3-7. 運動能および移動運動能

運動能、移動運動能を生後13、17、21及び60日(±2日)に自動測定器で測定した。その結果、60分間のセッションおよび10間のインターバルごとの観察において、運動能、移動運動能に对照群に比べ統計学的に有意な差はいずれの投与群でも認められなかった。

### 3-8. 聴覚性驚愕反応

自動聴覚測定装置を用い、各段階の周波数音に対する反応を生後22、38(±2日)、60日(±2日)に測定した。

その結果、児動物の聴覚性驚愕反応に对照群と各用量群の差は認められなかった。潜時の延長もみられなかった。

なお、生後22日において高用量群の雄で对照群に比べ反応の低下が認められたが、この差は、これらの高用量群の雄の平均体重が对照群に比べて13%低値を示していることに関連していた。

### 3-9. 受動回避能

四肢への電気ショックに対する受動回避能について、その学習能と短時間記憶能力及び長時間記憶能力を生後 22 及び 29 日に測定した。

その結果、これらの能力獲得において対照群と用量群との間に差は認められなかった。

### 3-10. 水迷路試験

M型水迷路を用いた学習能力及び記憶能力を生後 60 日に測定した。またその 7 日後に再試験を行った。

その結果、これらの能力獲得において対照群と用量群との間に差は認められなかった。

### 3-11. 眼科学的検査

生後 50~60 日に眼科学的検査を半暗室で実施した。ペンライトあるいは透光器を用いて瞳孔反射を検査した。ついで散瞳剤を各々の眼に点眼する前後に眼瞼、結膜、眼房水、角膜及び水晶体を、スリットランプ顕微鏡を用いて検査した。散瞳後、ガラス体液、網膜、脈絡膜及び視神経円板については集光レンズ付きの間接検眼鏡を用い検査した。

その結果、検体投与に関連する所見は認められなかった。

### 3-12. 体温および脳中の検体の濃度測定

出産後(生後)8 日目に体温測定用チップを母動物および児動物に埋め込み、出産後(生後)10、15、18、21 日のそれぞれ午前中に遠隔測定した。またこれらの児動物および親動物について出産後(生後)21 日に脳を採取し、 $\beta$ -シフルトリンの脳内中濃度を測定した。

体温について、児動物、親動物ともにいずれの投与群においても影響は認められなかった。

脳中の  $\beta$ -シフルトリンの濃度を表 7 に示した。

表 7. 脳中の  $\beta$ -シフルトリンの濃度(ppm)

投与用量(ppm)	生存児(生後4日)	生存児(生後21日)	母動物(哺育21日)
0	0.000	0.002	0.000
30	0.004	0.006	0.006
125	0.016	0.024	0.026
200	0.026	0.034	0.046

生後 4 日に採取した脳は分析のために必要な量を確保するため、数例まとめて分析した。

表に示すように、 $\beta$ -シフルトリンは児動物および母動物でいずれの投与群でも検出され、投与用量が高くなるに従って、脳中の  $\beta$ -シフルトリンの濃度の増加がみられた。これらのことから、哺育期間中、児動物は  $\beta$ -シフルトリンに暴露されていることが確認された。生後 4 日の児動物における濃度は、母動物および離乳児の濃度より低値であった。これは、生後 4 日の児動物は、ミルク経

由のみの摂取であるのに対して、離乳時の児動物(生後 21 日目)はミルク摂取に加え、餌からの直接摂取が加わっているものと考えられた。また離乳時の児動物(生後 21 日目)は母動物での濃度と概ね同値を示した。

### 3-13. 脳重量

生後 21 日目に灌流固定用は無作為に選択された動物 9-10 例/性/用量群のラットについて、最終体重および灌流固定済み脳重量(実重量および対体重比)を測定した。脳の採取は灌流固定後直ちに行った。

最終(生後 75±5 日)時にも灌流固定用は無作為に選択された動物 9-10 例/性/用量群のラットについて、最終体重および灌流固定済みの脳重量(実重量および対体重比)を測定した。

また、新鮮脳(未固定)の重量(実重量および対体重比)についても、最終(生後 75±5 日)時にそれぞれ無作為に選択された動物 9-10 例/性/用量群のラットで測定した。最終体重も測定した。

その結果、生後 21 日目の動物においては、脳重量に雌雄ともにいずれの投与群においても対照群に比べ統計学的に有意な差は認められなかった。

最終剖検時においては、灌流固定の有無にかかわらず、雌の 200ppm 群において脳の実重量は対照群に比し統計学的に有意な差が認められた。一方、対体重比には変化は認められなかった。したがって、雌の 200ppm での脳重量の低値は、体重の低値が関連しているものと考えた。

表 8. 脳重量

	雄				雌			
	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm	0ppm	30ppm	125ppm	200ppm
体重 1)	49.1	45.8	46.6	44.9	47.1	44.7	46.2	44.8
脳 1)A	1.420	1.401	1.420	1.416	1.404	1.388	1.397	1.342
脳 1)R	2.902	3.089	3.055	3.164	2.996	3.127	3.043	3.027
体重 2)	319.2	306.7	307.6	297.6	197.5	184.5	186.9	↓ 180.7 (91%)
脳 2)A	1.880	1.863	1.834	1.832	1.757	1.731	1.719	↓ 1.655 (94%)
脳 2)R	0.591	0.611	0.601	0.616	0.895	0.942	0.922	0.920 (103%)
体重 3)	311.4	299.1	289.5	291.1	194.7	179.7	186.1	186.6 (96%)
脳 3)A	1.861	1.914	1.887	1.886	1.799	1.803	1.688	↓ 1.683 (94%)
脳 3)R	0.601	0.644	0.659	0.652	0.937	1.010	0.907	0.905 (97%)

↓; p<0.05 (Anova + Dunnette 検定) A;実重量(g), B;対体重比 (%)

1);生後 21 日,灌流固定動物, 2);生後約 70 日,灌流固定動物, 3);約 70 日体重,未固定動物), ( );対照群に対する割合

### 3-14. 脳の計測

#### 3-14-1. 肉眼的計測

生後 21 日の児動物各群雌雄 10 例の灌流固定した脳について大脳及び小脳の長軸の長さを計測した。また、灌流固定した最終屠殺例の雌雄それぞれ 10 例の脳についても大脳及び小脳の長軸の長さ計測した。

生後 21 日例及び最終屠殺例の脳の計測結果では、対照群に比べいずれの用量群に差は認められなかった。

#### 3-14-2. 検鏡による計測

生後 21 日の児動物及び最終屠殺例(生後約 70 日)について、各群雌雄 10 例の脳について鏡検的に以下の部位を計測した。なお、対照群と最高用量の 200ppm 群について以下の部分を計測した。

前頭葉皮質の厚さ、頭頂葉皮質の厚さ、尾状核被殻の横幅、脳梁の厚さ、海馬回の厚さ、小脳高

統計学的有意差が認められたのは、生後 21 日の雌児動物において脳梁の厚さの増加であった(対照群;0.4417mm, 200ppm;0.5450mm,  $p < 0.05$  (t-test))。病理組織学的検査および肉眼的計測(ノギスによる測定)において変化は認められず、また脳重量に差もみられなかった。これらのことおよび、生後 21 日の雄および最終屠殺動物に差は認められなかったことから、生後 21 日の雌児動物にみられた脳梁の厚さの増加は投与に関連したものではないものと考えられた。

したがって、生後 21 日例及び最終屠殺例の脳の鏡検による計測結果では、対照群に比べいずれの用量群に差は認められなかった。

#### 3-15. 生後 21 日の児動物および最終屠殺例の剖検

検体に起因したと考えられる肉眼的所見は生後 21 日例および最終屠殺例ともに認められなかった。

#### 3-16. 生後 21 日の児動物および最終屠殺例の病理組織学的検査

灌流固定した動物の脳および剖検時に確認された肉眼的異常所見について病理組織学的検査のために標本作製した。脳については肉眼的計測の後に、8 部位に分割した(8 冠状断面)。この断面は検鏡による計測にも使用した。

その他の組織については灌流固定した最終屠殺例から採取した。これらの組織としては、3 部位の脊髄(頸髄、胸髄、腰髄)、馬尾、眼球、視神経、腓腹筋、背根神経節(前根神経線維、後根神経線維を含む)、頸部及び腰部脊髄膨大部、ガッサー神経節、末梢神経(坐骨神経、脛骨神経、腓腹神経)であった。

検体に起因したと考えられる所見は生後 21 日例および最終屠殺例ともに認められなかった。

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

以上、本発達神経毒性試験の結果、200ppm を投与された雌親動物において、哺育期間に統計学的に有意な摂餌量の減少がみられた。また妊娠期間および哺育期間に体重増加抑制がみられた。

児動物では、200ppm 群で、哺育期間中および離乳後(哺育期間の低値が関連)に体重増加抑制が認められた。

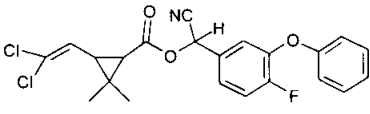
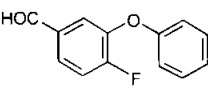
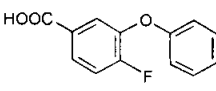
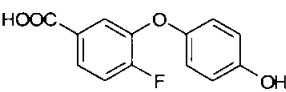
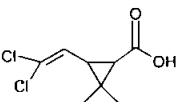
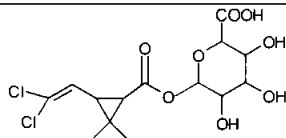
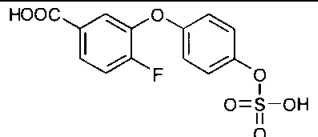
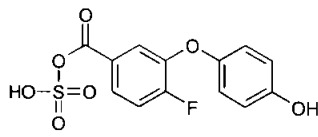
これらの結果に基づいて、総合的な無毒性量 (NOAEL) は親動物、児動物とも 125ppm (11.0mg/kg 体重/日) であると判断した。



<動物代謝試験一覧>

資料番号	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)	該当頁
β-14 (GLP)	薬物動態	ラット 雄 3 匹	[7 <sup>14</sup> C]β-シフトリン 単回経口投与：10mg/kg	経口投与された放射能は、投与 48 時間後までに、その大部分(92.18%)が排泄された。 排泄経路としては尿中が糞中に比べ優位であった。また呼気への排泄は認められなかった。 体内に残留した放射能は少なく、投与放射能の 2.67%に留まった。	(2013 年)	代-3
β-15 (GLP)	動物代謝 (吸収・排泄・分布・代謝)	ラット 雌雄 各群各 4 匹	[3 <sup>14</sup> C]β-シフトリン 単回経口投与 低用量：0.5mg/kg 高用量：10mg/kg	経口投与された放射能は速やかに吸収され、低用量群においては投与 30 分後で最大血中濃度を認めた。高用量群ではやや遅れ 6~8 時間であった。  また排泄も速やかであり、両投与群共に、投与 48 時間後までに大部分の放射能が排泄され、臓器・組織への残留は認められなかった。主排泄経路は尿中排泄であり、呼気中には、高用量群でのみ僅かに認められる程度であった。  体内に吸収された β-シフトリンの主代謝経路は、エステル結合の加水分解による DCVA[X III]の生成であった。DCVA はさらにグルクロン酸抱合を受け、DCVA-グルクロン酸抱合体[X IV]となった。	(2013 年)	代-6
β-16 (GLP)	動物代謝 (吸収・排泄・分布・代謝)	ラット 雄 4 匹	[7 <sup>14</sup> C]β-シフトリン 単回経口投与：10mg/kg	経口投与された放射能は速やかに吸収され、投与 48 時間後までに、投与放射能の大部分が排泄され、臓器・組織内への残留は認められなかった。主排泄経路は尿中排泄であった。呼気中への排泄は認められなかった。  体内に吸収された β-シフトリンの主代謝経路はエステル結合の加水分解による FPBald[IV]の生成であった。FPBald はさらに酸化、続くフェニル基の水酸化を経て、抱合化(硫酸抱合)された。	(2014 年)	代-14
β-17 (GLP)	植物代謝	てんさい	[3 <sup>14</sup> C]β-シフトリン 種子処理：推奨処理量 10 倍処理量	種子に推奨量の 10 倍処理されたてんさいの根部において、収穫時であっても僅かながら未変化の β-シフトリンが認められた。葉部においては認められなかった。  てんさいにおける主要代謝経路はエステル結合の加水分解による DCVA[X III]の生成であった。DCVA[X III]はさらに抱合化された。	(2013 年)	代-20
β-18 (GLP)	植物代謝	てんさい	[7 <sup>14</sup> C]β-シフトリン 種子処理：推奨処理量 10 倍処理量	種子に推奨量の 10 倍処理されたてんさいの根部において、収穫時における総放射能の 43.1%が未変化の β-シフトリンであった。  てんさいにおける主要代謝経路はエステル結合の加水分解による DCVA[X III]の生成であった。DCVA[X III]はさらに抱合化された。	(2013 年)	代-24

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	構造式	略号	化学名
I	親化合物		$\beta$ -シフルトリン	シフルトリン： (RS)- $\alpha$ -シアノ-4-フルオロ-3-フェノキシベンジル =(1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-ジクロロビニル)- -2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシレート (IUPAC) のうち 異性体II (1R-3R- $\alpha$ S+1S-3S- $\alpha$ R) 及び 異性体IV (1R-3S- $\alpha$ S+1S-3R- $\alpha$ R)
IV	A, P, S H, Ph, PS		FPBald AE F112323	4-フルオロ-3-フェノキシベンズアルデヒド
VI	A, P, S Ph, PS		FPBacid AE F105561	4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸
VIII	A, P		FPBacid-OH	4-フルオロ-3-(4-ヒドロキシフェノキシ)安息香酸
XIII	A, P		DVCA	3-(2,2-ジクロロビニル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボン酸
XIV	A		DVCA-Glc A	1-O-[[2-(2,2-ジクロロビニル)シクロプロピル]カルボニル]ヘキソピラニトuron酸
XV	A	 または 	FPBacid-OH -sul	4-フルオロ-3-[4-(スルホキシ)フェノキシ]安息香酸 または 4-フルオロ-3-(4-ヒドロキシフェノキシ)ベンゾイル硫酸

A：動物、P：植物、S：土壌、H：加水分解、Ph：水中光分解、PS：土壌表面光分解

(1)  $\beta$ -シフルトリンの雄ラットにおける吸収、分布及び排泄

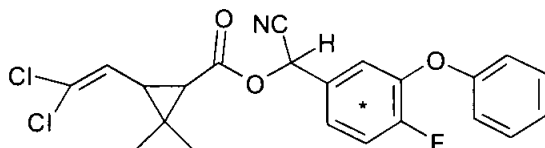
(資料  $\beta$ -14)

試験機関：

報告書作成年：2013年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



\*： $^{14}\text{C}$ の標識位置を表す

化学名；(RS)- $\alpha$ -シアノ-4-フルオロ-3-(1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-ジクロロビニル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシレート (以下[fluorophenyl-UL- $^{14}\text{C}$ ]標識体)

比放射能；4.36MBq(117.9  $\mu\text{Ci}$ )/mg 放射化学的純度；99%以上

標識位置の設定根拠：

構造中最も安定していることが確認されているフルオロフェニル基を標識位置とした。

供試動物：

ウイスター系ラット、雄3匹 (齢：8~9週齢、体重：255 $\pm$ 3g)

試験方法：

投与；

[fluorophenyl-UL- $^{14}\text{C}$ ]標識体8mgを含むトルエン溶液に非標識体12mgを加え、溶媒を留去する。5%クレモホールEL含有0.9%食塩水で供試化合物を溶解し、1.97mg/mlの投与液を調製する。この溶液を、胃ゾンデを用い5ml/kg体重(10mg/kg体重相当)の割合で単回経口投与した。

試料採取；

試料採取は以下のとおり行った。

投与量	投与回数	動物数	試料採取
10mg/kg	単回経口	雄3匹	尿、糞、呼気： 投与後24時間および48時間後に採取。 血液： 投与1時間後および屠殺時に採取。 ケージ洗液： 投与48時間後、供試動物をケージより搬出した後にケージ内を洗浄。 臓器・組織： 投与48時間後に屠殺し、臓器及び組織を採取。

試料中の放射能測定；

試料毎に以下の方法を用いて、試料中の放射能を測定した。放射能の測定には液体シンチレーションカウンター(LSC)を用いた。

試料	測定方法
尿、ケージ洗液	試料にシンチレーションカクテルを加え、直接LSCで放射能を測定した。
糞	2倍量の水を加え磨砕均質化した後、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
呼気	ケージを換気した空気中の二酸化炭素をエタノールアミン/エチレングリコールモノメチルエーテル(1:2)混液にて捕集し、捕集液にシンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
カーカス	試料をドライアイスとともに磨砕均質化し、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
臓器・組織	試料を細切し、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
全血	アリコートに組織溶解液を加える。溶解した後イソプロパノール0.5ml及び過酸化水素水(30%)0.25mlを加え40℃で30分間加温し脱色する。冷後シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
血漿	血液試料を1500gで遠心分離し、血漿を分離した。アリコートにシンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。

結果：

① 排泄

投与された放射能の排泄は、尿中が糞中と比較してやや優位であった。また、呼気中への放射能の排泄は認められなかった。投与48時間後までに、投与放射能の大部分が排泄された。したがって、投与48時間後の体内残留放射能は少なく、投与放射能の3.15%にとどまった。

放射能収率は95.33%と良好であった。

投与放射能の排泄率および体内残留割合は、以下のとおりであった。

試料	投与放射能割合(%)	
尿	0-24時間	52.20
	24-48時間	4.70
	小計	56.90
糞	0-24時間	26.15
	24-48時間	8.52
	小計	34.67
呼気	0-24時間	<0.01
	24-48時間	<0.01
	小計	<0.01
ケージ洗液	0.61	
総排泄量	92.18	
組織残留量		
組織	0.39	
消化管内容物	0.48	
カーカス	2.28	
小計	3.15	
総回収率	95.33	

② 吸収

尿中排泄およびケージ洗液、組織、カーカス中の放射能から、少なくとも(胆汁排泄割合が不明なため)60.18%の投与放射能が体内に吸収された。

### ③臓器・組織内分布

試験終了時（投与48時間後）に全ての供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。但し、血液については投与1時間後にも採取した。

全ての個体で、試験終了時まで投与放射能の大部分が排泄されており、動物体内に残存した放射能は極めて少なく、投与放射能の3%にも満たなかった。

屠殺時の臓器・組織中の放射能としては、特に血中より高い放射能濃度が認められたのは脂肪組織であった。脂肪以外は、副腎、膵臓および甲状腺等で血中より高い放射能濃度が確認された。

臓器及び組織内の放射能分布を以下にまとめた。

	放射能濃度 ( $\mu$ g当量/g)		投与放射能割合 (%)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
副腎	0.437	0.034	<0.01	<0.01
脳	0.004	0.001	<0.01	<0.01
脂肪(白色)	1.355	0.518	0.06	0.04
大腿骨	0.025	0.004	<0.01	<0.01
心臓	0.021	0.003	<0.01	<0.01
腎臓	0.114	0.011	<0.01	<0.01
肝臓	0.183	0.026	0.07	<0.01
肺	0.067	0.024	<0.01	<0.01
筋肉	0.014	0.007	<0.01	<0.01
膵臓	0.335	0.342	<0.01	<0.01
脾臓	0.022	0.001	<0.01	<0.01
睾丸	0.017	0.002	<0.01	<0.01
胸腺	0.035	0.006	<0.01	<0.01
甲状腺	0.328	0.280	<0.01	<0.01
消化管	0.230	0.051	0.07	0.01
カーカス	0.282	0.052	2.28	0.45
全血(投与1時間後)	4.766	1.006	0.15	0.05
血漿(投与1時間後)	9.045	1.947	-	-
全血(屠殺時)	0.059	0.005	0.01	<0.01
血漿(屠殺時)	0.112	0.013	-	-

### ④まとめ

投与された放射能は速やかに排泄され、投与48時間後には投与放射能の92.18%が排泄された。排泄は、尿中で糞中に比較しやや優位であった。呼気中への排泄は認められなかった。

また、投与48時間後の体内残留放射能は、投与放射能の2.67%にとどまった。

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

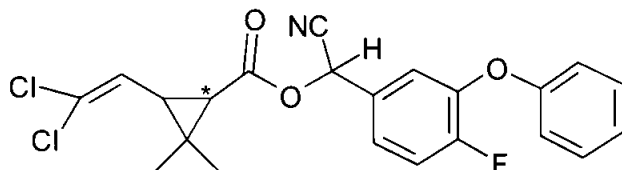
(2)  $\beta$ -シフルトリンの雌雄ラットにおける吸収、分布、排泄および代謝 (資料  $\beta$ -15)

試験機関:

報告書作成年: 2013年 [GLP]

供試標識化合物:

構造式:



\*:  $^{14}\text{C}$ の標識位置を表す

化学名; (*RS*)- $\alpha$ -シアノ-4-フルオロ-3-フェニルシクロプロパノイル(1*RS*, 3*RS*; 1*RS*, 3*SR*)-3-(2, 2-ジメチルシクロプロパンカルボキシレート (以下[Cyclopropane-1- $^{14}\text{C}$ ]標識体)

比放射能; 3. 27MBq (88. 44  $\mu\text{Ci}$ )/mg 放射化学的純度; 99%以上

標識位置の設定根拠:

エステル結合開裂後のシクロプロパン環側の代謝分解を解明するためシクロプロパン環を標識位置とした。

供試動物:

ウィスター系ラット、雌雄各8匹 (齢: 7週齢、体重: 雌; 156~182g、雄; 181~220g)

試験方法:

投与群;

低用量群: 0. 5mg/kg、雌雄各4匹

高用量群: 10mg/kg、雌雄各4匹

投与方法;

[cyclopropane-1- $^{14}\text{C}$ ]標識体5. 7537mg/mlのトルエン溶液を標識体原液として調製する。この原液348  $\mu\text{l}$  (標識体2mg含有) を量り取り、窒素気流でトルエンを留去したのち、20mlのPEG400で再溶解し、低用量群の投与溶液を調製した。

また、15mgの非標識 $\beta$ -シフルトリンを量り取り、これに標識体原液2610  $\mu\text{l}$  (標識体15mg含有) を加え溶解する。窒素気流でトルエンを留去したのち、15mlのPEG400で再溶解し、高用量群の投与溶液を調製した。

これらの投与溶液を、投与群毎に、胃ゾンデを用い5ml/kg体重の割合で単回経口投与した。

試料採取；

試料採取は以下のとおり行った。

投与量	投与回数	動物数	試料採取
低用量群 0.5mg/kg	単回経口	低用量群： 雌雄各4匹	尿、糞： 投与6時間後、24時間後、以降24時間毎に168時間 まで採取（但し、投与6時間後については尿のみ） 呼吸： 投与24時間後および48時間後まで採取 血液： 投与0.5、1、2、4、6、8、12、24時間後、以降24 時間毎に96時間後まで、および屠殺時に採取 ケージ洗液： 投与168時間後、供試動物をケージより搬出した 後にケージ内を洗浄 臓器・組織： 投与168時間後に屠殺し、臓器及び組織を採取
高用量群 10mg/kg		高用量群： 雌雄各4匹	

試料中の放射能測定；

①総放射能測定

試料毎に以下の方法を用いて、試料中の放射能を測定した。放射能の測定には液体シンチレーションカウンター（LSC）を用いた。

クエンチング補正には外部標準変換スペクトル指数法（tSIE）を用いた。

試料	測定方法
尿、ケージ洗液	試料にシンチレーションカクテルを加え、直接LSCで放射能を測定した。
糞	2倍量の水を加え磨砕均質化した後、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
呼吸	ケージを換気した空気中の二酸化炭素をエタノール/メチレンブルー/モノメチルエーテル（1:2）混液が入った捕集管で捕集し、捕集液にシンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
カーカス	試料をドライアイスとともに磨砕均質化し、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
臓器・組織	試料を細切し、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
全血	アリコートに組織溶解液を加える。溶解した後イソプロパノール0.5ml及び過酸化水素水（30%）0.25mlを加え40℃で30分間加温し脱色する。冷後シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。

②HPLC分析

尿および糞中の放射能の化学的特性を調べるため、処理後72時間までの試料を逆相-HPLCに供した。尿試料は直接、糞試料についてはアセトニトリル/水（8:2, v/v）により抽出を行い、その抽出液を供した。

認められたピークは標準品とのクロマトグラフにより同定した。標準品と該当しないピークについては、化学構造を推定するためマススペクトロメトリーに供した。

③ TLC分析

HPLC分析において標準品とのクロマトグラフにより同定された代謝物については、確認のため順相TLCにおいてもクロマトグラフを実施した。

結果：

① 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄共に尿中排泄であった。高用量群においては吸収率の低下が認められ、糞中排泄の割合が低用量群に比べて高くなった。また、呼気中への放射能の排泄は、高用量群のみで極少量認められた。投与48時間後までに、雌雄ともに投与放射能の大部分が排泄された。また、屠殺時の体内残留放射能は極めて少なく、いずれの用量群、性別にあっても投与放射能の1%にも満たなかった。なお、放射能収支は全て100%以上と良好であった。投与放射能の排泄率および体内残留割合は、以下のとおりであった。

各試料における投与放射能割合 (%)

用量群	性別	低用量群		高用量群	
		雄	雌	雄	雌
尿	0-6時間	14.73	28.56	8.34	9.19
	6-24時間	38.30	38.70	39.61	46.41
	24-48時間	14.65	10.12	14.09	8.44
	48-72時間	3.17	1.25	1.82	0.86
	72-96時間	1.32	0.76	0.38	0.34
	96-120時間	0.78	0.40	0.27	0.17
	120-144時間	0.54	0.37	0.16	0.22
	144-168時間	0.30	0.30	0.10	0.12
	小計	73.80	80.46	64.76	65.73
糞	0-24時間	19.18	4.39	30.94	19.21
	24-48時間	6.55	10.06	6.85	21.24
	48-72時間	1.20	1.21	0.66	0.82
	72-96時間	0.38	0.14	0.28	0.30
	96-120時間	0.16	0.08	0.23	0.07
	120-144時間	0.10	0.09	0.42	0.16
	144-168時間	0.08	0.07	0.08	0.06
	消化管内容物	0.07	0.04	0.03	0.02
	小計	27.71	16.09	39.49	41.88
呼気	0-24時間	NA	NA	0.19	0.13
	24-48時間	NA	NA	0.09	0.07
	小計	NA	NA	0.28	0.20
ケージ洗液		2.53	4.16	0.66	0.61
総排泄率		104.03	100.71	105.19	108.42
組織残留量	臓器・組織	0.13	0.10	0.11	0.08
	カーカス	0.41	0.41	0.55	0.50
	小計	0.54	0.51	0.66	0.58
	総回収率	104.57	101.22	105.85	109.00



②吸収

尿中排泄およびケージ洗液、臓器・組織、カーカス中の放射能から、少なくとも（胆汁排泄割合が不明なため）低用量群で76.87(雄)～85.13%(雌)、高用量群で66.36(雄)～67.12%(雌)の投与放射能が体内に吸収された。

③血中濃度推移

ラットに経口投与された放射能は速やかに吸収され、低用量群においては雌雄共に投与後30分で最大血中濃度を認めた。減衰も速やかであり、T1/2は9.5(雌)～13.9時間(雄)であった。

高用量群では低用量群に比較して吸収にやや時間を要し、Tmaxは6～8時間であった。減衰速度も同様でありT1/2は42.2(雄)～49.9時間(雌)であった。

血中濃度の推移を表1-1に、血中濃度パラメーターを表1-2に示した。

表1-1. 血中放射能濃度推移 (μgβ-シフルトリン当量/g)

投与後時間 (h)	低用量群		高用量群	
	雄	雌	雄	雌
0.5	0.1052	0.2917	0.2853	0.3405
1	0.0948	0.2727	0.3960	0.5084
2	0.0588	0.1605	0.5215	0.6052
4	0.0655	0.1042	0.8409	0.8837
6	0.0769	0.0804	1.3386	1.4398
8	0.0651	0.0883	1.4689	1.1728
12	0.0585	0.0513	1.0230	0.8211
24	0.0331	0.0232	0.7545	0.3637
48	0.0055	0.0023	0.1242	0.0348
72	0.0013	<0.0011	0.0415	0.0200
96	0.0014	<0.0011	0.0239	0.0152
168	<0.0011	<0.0011	0.0082	0.0061

表1-2. 血中濃度パラメーター

	Tmax (h)	T1/2 (h)	Cmax (μg当量*/g)	AUC <sub>0-t</sub> (μg.h/g)
低用量群 雄	0.5	13.9	0.1052	1.89
雌	0.5	9.5	0.2917	1.99
高用量群 雄	8	42.2	1.4689	34.6
雌	6	49.9	1.4398	23.1

\*: β-シフルトリン当量

③臓器・組織内分布

試験終了時（投与168時間後）に全ての供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。全ての処理群で、試験終了時まで投与放射能の大部分が排泄されており、動物体内に残存した放射能は極めて少なく、投与放射能の1%にも満たなかった。屠殺時の臓器・組織中の放射能としては、雌雄共に脂肪(白色)組織で最も高濃度の放射能が認められた。次いで肝臓で高い放射能濃度が認められ、処理放射能割合としては脂肪組織を上回って、最も高い値を示した。他の臓器・組織はいずれも放射能濃度、処理放射能割合ともに低く、定量限界未満かそれに近いものであった。

臓器・組織内の放射能濃度および処理放射能割合を表2に示した。

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

表2. 雌雄ラット体内における投与放射能分布

	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)				処理放射能割合 (%)			
	低用量群		高用量群		低用量群		高用量群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.0033	0.0037	0.0757	0.0596	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
全血	<0.0011	<0.0011	0.0082	0.0061	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
脳	<0.0010	<0.0010	0.0041	0.0030	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
脂肪(白色)	0.0159	0.0201	0.4100	0.5148	0.01	0.02	0.02	0.02
大腿骨	0.0004	<0.0004	0.0097	0.0061	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
消化管	0.0031	0.0041	0.0422	0.0509	0.03	0.03	0.02	0.02
心臓	<0.0011	<0.0011	0.0077	0.0062	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
腎臓	0.0030	0.0040	0.0358	0.0379	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
肝臓	0.0073	0.0040	0.1168	0.0617	0.08	0.03	0.06	0.03
肺	<0.0012	0.0013	0.0208	0.0200	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
筋肉	<0.0011	<0.0011	0.0063	0.0047	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
卵巣	NA	0.0044	NA	0.0630	NA	<0.01	NA	<0.01
膵臓	0.0018	0.0014	0.0291	0.0390	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
血漿	<0.0011	<0.0011	0.0079	0.0062	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
脾臓	<0.0011	<0.0011	0.0080	0.0086	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
睾丸	<0.0010	NA	0.0052	NA	<0.01	NA	<0.01	NA
胸腺	<0.0010	<0.0010	0.0126	0.0090	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
甲状腺	<0.0104	<0.0104	0.0349	0.0335	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
子宮	NA	0.0011	NA	0.0252	NA	<0.01	NA	<0.01
臓器・組織合計	-	-	-	-	0.13	0.10	0.11	0.08
カーカス	0.0022	0.0025	0.0628	0.0592	0.41	0.41	0.55	0.50
総残留	-	-	-	-	<0.01	<0.01	0.65	0.58

NA：該当せず、-：測定できず

④代謝

体内に吸収されたβ-シフルトリンの主代謝経路は、エステル結合の加水分解によるDCVA(3-(2,2-ジクロロビニル)-2,2-ジメチルプロパノイル酸) [X III]の生成であった。DCVAはさらに抱合化され、グルクロン酸抱合体(DCVA-GlcA) [X IV]へと代謝された。尿中には、他に少なくとも3つの代謝物が認められたが、いずれも生成量は少なく同定には至らなかった。

低用量群の尿中の放射能特性について表3-1に、高用量群については表3-2に、それぞれ示した。

表3-1. 低用量群の尿中の放射能特性 (投与放射能割合%)

	雄			雌		
	0-24h	24-72h	合計	0-24h	24-72h	合計
U1	0.6	0.3	0.9	0.4	-	0.4
U2	0.6	-	0.6	0.5	-	0.5
U3	2.1	0.9	3.0	1.8	0.6	2.4
DCVA-グルクロン酸抱合体(U4)	27.2	11.9	39.1	20.4	5.9	26.3
DCVA*(U5+U6)	21.9	4.8	26.7	43.9	4.9	48.8
合計	52.4	17.8	70.2	67.0	11.4	78.4
尿中放射能の投与放射能割合(%)	53.0	17.8	70.8	67.3	11.4	78.7

\*: 異性体(cis及びtrans)の合計、-: 検出せず

表3-2. 高用量群の尿中の放射能特性 (投与放射能割合%)

	雄			雌		
	0-24h	24-72h	合計	0-24h	24-72h	合計
U1	0.7	0.2	0.9	0.7	0.1	0.8
U2	0.4	0.1	0.5	0.5	0.1	0.6
U3	1.7	0.5	2.2	1.9	0.4	2.3
DCVA-グルクロン酸抱合体(U4)	19.8	8.2	28.0	30.2	4.5	34.7
DCVA*(U5+U6)	24.0	6.6	30.6	21.8	3.9	25.7
合計	46.5	15.7	62.2	55.0	9.0	64.0
尿中放射能の投与放射能割合(%)	48.0	15.9	63.9	55.6	9.3	64.9

\*: 異性体(cis及びtrans)の合計、-: 検出せず

また、糞中の放射能についても同様に放射能特性を調べたところ、尿中では認められなかった未変化のβ-シフルトリンが認められた。高用量群でその割合が有意に高くなったが、これは低用量群と比較して吸収率が下がったことを裏付けるものであると考えられる。

また、分解物としては尿中に認められたDCVA[X III]が同定されたが、生成量は少なかった。他には、少なくとも6つの代謝物が認められたが、いずれも生成量は少なく同定には至らなかった。

なお、代謝物に関しては腸内細菌により消化管内で分解されたものか、胆汁排泄により消化管に再排泄されたものかは不明である。

低用量群の糞中の放射能特性について表3-3に、高用量群については表3-4に、それぞれ示した。

表3-3. 低用量群の糞中の放射能特性（投与放射能割合％）

	雄			雌		
	0-24h	24-72h	合計	0-24h	24-72h	合計
F1	2.9	2.4	5.3	-	1.7	1.7
DCVA*(F2+F3)	5.3	3.1	8.4	1.2	3.5	4.7
F4	0.4	0.2	0.6	0.1	0.3	0.4
F5	1.3	0.4	1.7	0.3	0.7	1.0
F6	0.7	-	0.7	0.1	0.4	0.5
$\beta$ -シフルトリン(F7)	7.0	0.6	7.6	2.2	1.5	3.7
F8	0.3	0.2	0.5	0.1	0.4	0.5
F9	0.4	-	0.4	0.1	-	0.1
抽出放射能	18.2	6.9	25.1	4.2	8.6	12.8
非抽出放射能	1.0	0.9	1.9	0.2	1.3	1.5
糞中放射能の投与放射能割合(%)	19.2	7.8	27.0	4.4	11.3	15.7

\*：異性体(cis及びtrans)の合計、-：検出せず

表3-4. 高用量群の糞中の放射能特性（投与放射能割合％）

	雄			雌		
	0-24h	24-72h	合計	0-24h	24-72h	合計
F1	2.2	1.1	3.3	0.2	1.4	1.6
DCVA*(F2+F3)	6.6	1.3	7.9	2.6	2.0	4.6
F4	1.2	0.3	1.5	-	0.5	0.5
F5	1.5	0.4	1.9	0.4	1.4	1.8
F6	0.6	0.1	0.7	0.4	0.5	0.9
$\beta$ -シフルトリン(F7)	13.8	1.1	14.9	14.8	11.7	26.5
F8	-	0.1	0.1	0.1	0.3	0.4
F9	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
抽出放射能	26.0	4.4	30.4	18.6	18.0	36.6
非抽出放射能	1.1	0.7	1.8	0.3	1.1	1.4
糞中放射能の投与放射能割合(%)	30.9	7.5	38.4	19.2	22.1	41.3

\*：異性体(cis及びtrans)の合計、-：検出せず

⑤まとめ

ラットに経口投与された $\beta$ -シフルトリンは速やかに吸収され、低用量群においては雌雄共に投与後30分で最大血中濃度を認めた。吸収割合は少なくとも低用量群で投与放射能の76.87(雄)~85.13%(雌)、高用量群で66.36(雄)~67.12%(雌)であった。

投与された放射能の主排泄経路は雌雄共に尿中排泄であった。呼気中への放射能の排泄は認められないか、極めて少なかった。

また、屠殺時の体内残留放射能は極めて少なく、いずれの用量群、性別にあっても投与放射能の1%にも満たなかった。

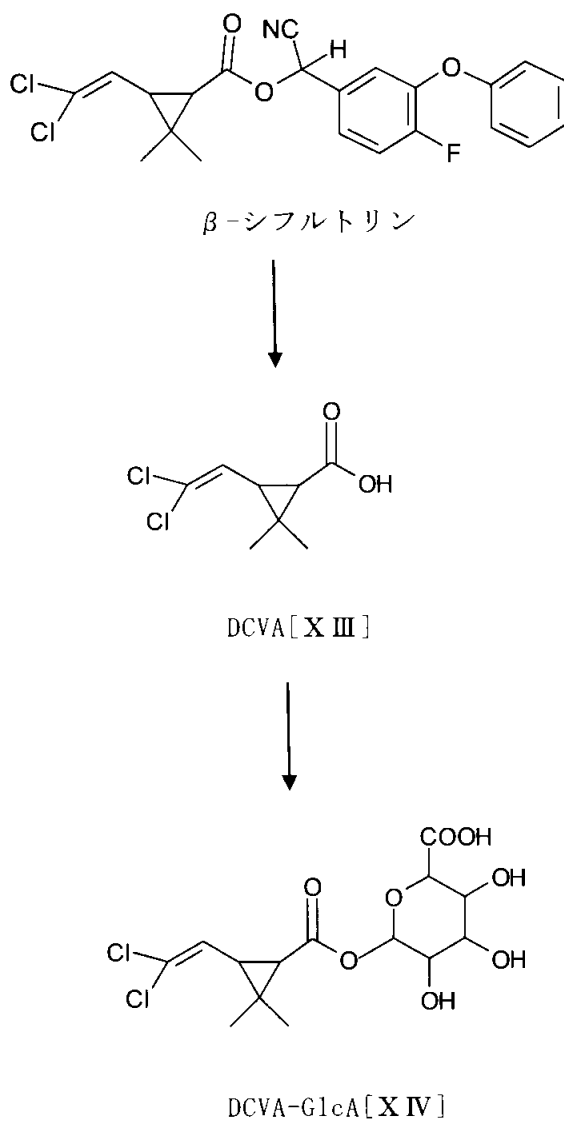
体内に吸収された $\beta$ -シフルトリンの主代謝経路は、エステル結合の加水分解によるDCVA[XIII]の生成であった。DCVAはさらに抱合化され、グルクロン酸抱合体[XIV]へと代謝された。

$\beta$ -シフルトリンのラットにおける吸排泄、体内分布および代謝に性差は認められ

なかった。

$\beta$ -シフルトリンのラットにおける推定代謝経路を図1に示した。

図1.  $\beta$ -シフルトリンのラット体内における推定代謝経路



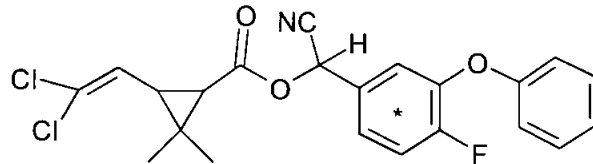
(3)  $\beta$ -シフルトリンの雄ラットにおける吸収、分布、排泄および代謝 (資料  $\beta$ -16)

試験機関：

報告書作成年：2014年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



\* :  $^{14}\text{C}$  の標識位置を表す

化学名；(RS)- $\alpha$ -シアノ-4-フルオロ-3-フェノキシベンジル(1RS, 3RS; 1RS, 3SR)-3-(2,2-ジクロロエチル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシレート (以下[fluorophenyl-UL- $^{14}\text{C}$ ]標識体)

比放射能；4.36MBq (117.9  $\mu\text{Ci}$ )/mg 放射化学的純度；99%以上

標識位置の設定根拠：

エステル結合開裂後のフルオロフェノキシベンジル側の代謝分解を解明するためフルオロフェニル環を標識位置とした。

供試動物：

ウィスター系ラット、雄4匹 (年齢：7~8週齢、体重：175~187g)

試験方法：

投与用量；10mg/kg体重

投与方法；

[fluorophenyl-UL- $^{14}\text{C}$ ]標識体4.717mg/mlのトルエン溶液を標識体原液として調製する。10.5mgの非標識 $\beta$ -シフルトリンを、この原液1.5ml (標識体7mg含有)で溶解し、窒素気流でトルエンを留去したのち、8.75mlのPEG400で再溶解し、2.01mg/mlの投与溶液を調製した。

この投与溶液を、胃ゾンデを用い5ml/kg体重の割合で単回経口投与した。

試料採取；

試料採取は以下のとおり行った。

投与量	投与回数	動物数	試料採取
10mg/kg	単回経口	雄4匹	尿、糞、呼吸： 投与後0-24時間および24-48時間に採取 血液： 投与6時間後および屠殺時に採取 ケージ洗液： 投与48時間後、供試動物を搬出後にケージ内を洗浄 臓器・組織： 投与48時間後に屠殺し、臓器及び組織を採取

試料中の放射能測定；

①総放射能測定

試料毎に以下の方法を用いて、試料中の放射能を測定した。放射能の測定には液体シンチレーションカウンター（LSC）を用いた。  
クエンチング補正には外部標準変換スペクトル指数法（tSIE）を用いた。

試料	測定方法
尿、ケージ洗液	試料にシンチレーションカクテルを加え、直接LSCで放射能を測定した。
糞	2倍量の水を加え磨砕均質化した後、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
呼気	ケージを換気した空気中の二酸化炭素をエタノール/メチレンクロライド/トリクロロエチレン（1:2）混液が入った捕集管で捕集し、捕集液にシンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
カーカス	試料をドライアイスとともに肉挽き機で磨砕し、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
消化管	消化管は内容物と組織に分け、各々磨砕均質化後、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
臓器・組織	試料を細切し、アリコートに組織溶解液を加え溶解し、シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
全血	アリコートに組織溶解液を加える。溶解した後、イソプロパノール0.5ml及び過酸化水素水（30%）0.25mlを加え40℃で30分間加温し脱色する。冷後シンチレーションカクテルを加えLSCで放射能を測定した。
血漿	余った全血を1500gで10分間遠心分離し得られた血漿のアリコートにシンチレーションカクテルを加え、LSCで放射能を測定した。

②HPLC分析

尿および糞中の放射能の化学的特性を調べるため、各々の試料を逆相-HPLCに供した。尿試料は直接、糞試料についてはアセトニトリル/水（8:2, v/v）により抽出を行い、その抽出液を供した。

認められたピークは標準品とのクロマトグラフにより同定した。

なお、標準品と該当しない尿試料中の主要ピークであるU1については、化学構造を推定するためマススペクトロメトリーに供した。また並行して当該画分を分取後、酵素処理（ $\beta$ -グルクロニダーゼ及びアシルスルファターゼ）及び塩酸による酸加水分解に供した。

③TLC分析

HPLC分析において標準品とのクロマトグラフにより同定された代謝物については、確認のため順相TLCにおいてもクロマトグラフを実施した。

結果：

①排泄

投与された放射能の主排泄経路は尿中排泄であった。投与48時間後までに、投与放射能の大部分が排泄された。

また、屠殺時の体内残留放射能は極めて少なく、投与放射能の僅か1.34%に留まった。なお、呼気中への放射能の排泄はほとんど認められなかった。

投与放射能の排泄率および体内残留割合を表1に示した。

表 1. 投与放射能の排泄率および体内残留割合

各試料における投与放射能割合 (%)		
尿	0-24時間	54.41
	24-48時間	9.85
	小計	64.25
糞	0-24時間	21.01
	24-48時間	8.72
	小計	29.74
呼気	0-24時間	<0.01
	24-48時間	<0.01
	小計	0.01
ケージ洗液		2.69
総排泄率		96.69
組織残留量	臓器・組織	0.45
	消化管内容物	0.22
	カーカス	0.89
	小計	1.56
総回収率		98.25

②吸収

尿中排泄およびケージ洗液、臓器・組織、カーカス中の放射能から、少なくとも（胆汁排泄割合が不明なため）68.29%の投与放射能が体内に吸収された。

③血中濃度推移

投与6時間後から48時間後の間に血中濃度は1/100以下に減衰した。48時間後の屠殺時における動物体内中の残存放射能が非常に少なかったことから、血中濃度の減衰は主に尿を介した排泄に起因するものと考えられる。

③臓器・組織内分布

試験終了時（投与48時間後）に全ての供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

試験終了時まで投与放射能の大部分が排泄されており、動物体内に残存した放射能は極めて少なく、投与放射能の僅か1.34%であった。

屠殺時の臓器・組織中の放射能としては、脂肪(白色)組織で最も高い濃度の放射能が認められた。次いで副腎および肝臓で高い放射能濃度が認められ、処理放射能割合としては肝臓が最も高い値を示した。

他の臓器・組織はいずれも放射能濃度、処理放射能割合ともに低かった。

臓器・組織内の放射能濃度および処理放射能割合を表2に示した。



表2. ラット体内における投与放射能分布

	放射能濃度 ( $\mu$ g当量/g)	投与放射能割合 (%)
副腎	0.157	<0.01
脳	0.003	<0.01
脂肪(白色)	0.820	0.03
大腿骨	0.014	<0.01
心臓	0.013	<0.01
腎臓	0.092	<0.01
肝臓	0.128	0.06
肺	0.045	<0.01
筋肉	0.008	<0.01
膵臓	0.046	<0.01
脾臓	0.010	<0.01
睾丸	0.013	<0.01
胸腺	0.008	<0.01
甲状腺	0.060	<0.01
消化管	0.119	0.05
全血 6時間後	5.546	0.28
血漿 6時間後	10.641	—
全血 48時間後	0.045	0.01
血漿 48時間後	0.076	—
組織合計	NA	0.45
カーカス	0.108	0.89
総残留	NA	1.34

NA：該当せず、—：測定せず

④代謝

体内に吸収された $\beta$ -シフルトリンの主代謝経路は、エステル結合の加水分解による4-フルオロ-3-フェノキシベンズアルデヒド<sup>\*</sup>(FPBald[IV])の生成であった。FPBald[IV]は酸化により4-フルオロ-3-フェノキシ安息香酸(FPBacid[VI])に代謝され、さらにフェノキシ基の水酸化(4-フルオロ-3-(4-ヒドロキシフェノキシ)安息香酸(FPBacid-OH[VIII]))を経て、最終的に硫酸抱合を受けるものであった(FPBacid-OH-sul[XV])。

尿中にはFPBacid[VI]、FPBacid-OH[VIII]およびその硫酸抱合体([XV])が認められ、硫酸抱合体が主代謝物であり、尿中放射能の約73%を占めた。また、未変化の $\beta$ -シフルトリン[I]も僅かに認められた。

尿中の放射能特性について表3-1に示した。

表3-1. 尿中の放射能特性 (投与放射能割合%)

	0-24h	24-48h	合計*
FPBacid-OH-sul[XV] (U1)	38.36	8.29	46.65
FPBacid-OH[VIII] (U2)	1.77	0.20	1.97
FPBacid[VI] (U3)	13.54	1.13	14.67
$\beta$ -シフルトリン[I] (U4)	0.41	0.09	0.50
合計	54.08	9.71	63.79
尿中放射能の投与放射能割合(%)	54.41	9.85	64.25

\*：申請者の計算による

また、糞中の放射能についても同様に放射能特性を調べたところ、尿中では極僅かであった未変化の $\beta$ -シフルトリン[ I ]が、放射能の大部分(約80%)を占めた。  
 また、分解物としては尿中に認められたFPBacid[VI]及びFPBacid-OH[VIII]の他にFPBald[IV]も認められたが、いずれも生成量は少なかった。さらに、少なくとも4つの代謝物が認められたが、いずれも生成量が少なく同定には至らなかった。  
 なお、分解物に関しては腸内細菌により消化管内で分解されたものか、代謝物として胆汁排泄により消化管に排泄されたものかは不明である。  
 糞中の放射能特性について表3-2に示した。

表3-2. 糞中の放射能特性 (投与放射能割合%)

	0-24h	24-48h	合計
F1	0.18	0.19	0.37
FPBacid-OH[VIII] (F2)	0.90	0.65	1.55
FPBacid[VI] (F3)	0.43	0.44	0.87
F4	0.19	0.21	0.40
F5	0.29	0.32	0.61
FPBald[IV] (F6)	0.54	0.49	1.03
F7	0.37	0.23	0.60
$\beta$ -シフルトリン[ I ] (F8)	16.14	3.89	20.03
抽出性放射能合計	19.05	6.41	25.46
非抽出性放射能	0.48	0.65	1.13
合計	19.53	7.06	26.59
糞中放射能の投与放射能割合(%)	21.01	8.72	29.74

さらに本試験においては血漿中の放射能の特性についても調べた。  
 放射能濃度の高い投与6時間後に採取した血液から調製した血漿を供試したところ、FPBacid[VI]が同定され(4.79 $\mu$ g当量/g)、血漿中放射能の約45%を占めた。その他にも2つの代謝物が認められたが同定には至らなかった。未変化の $\beta$ -シフルトリン[ I ]も認められたが、濃度は0.15 $\mu$ g当量/gと低かった。  
 血漿中放射能の特性を表3-3に示した。

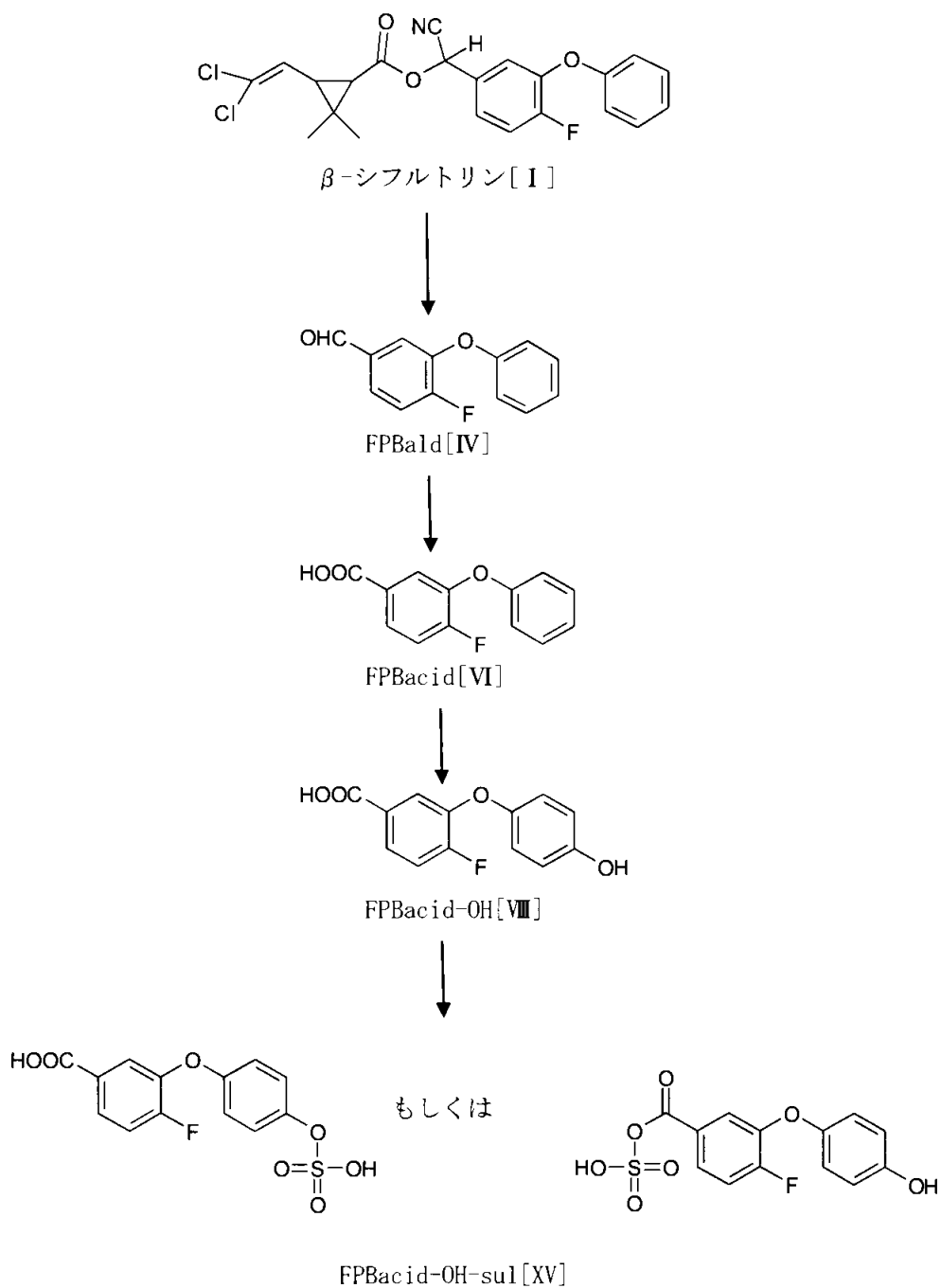
表3-3. 血漿中の放射能特性 (放射能濃度:  $\mu$ g当量/g)

	6h
P1	3.08
P2	1.74
FPBacid[VI] (P3)	4.79
$\beta$ -シフルトリン[ I ] (P4)	0.15
抽出性放射能	9.75
非抽出性放射能	0.89
血漿中の放射能濃度	10.64

⑤まとめ

ラットに経口投与された $\beta$ -シフルトリン[ I ]は速やかに吸収され、投与48時間後には投与放射能のほぼ全て(約96%)が排泄された。主排泄経路は尿中排泄であった。呼気中への放射能の排泄は殆ど認められなかった。  
 また、屠殺時の体内残留放射能は極めて少なく、投与放射能の1.34%であった。  
 体内に吸収された $\beta$ -シフルトリンの主代謝経路は、エステル結合の加水分解によるFPBald[IV]の生成、続く酸化、フェノキシ基の水酸化を経て、最終的に硫酸抱合を受けるものであった。  
 $\beta$ -シフルトリンのラット体内での推定代謝経路を図1に示した。

図1.  $\beta$ -シフルトリンのラット体内における推定代謝経路



(4)  $\beta$ -シフルトリンのてんさいにおける代謝(種子処理)

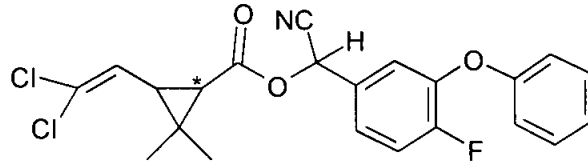
(資料  $\beta$ -17)

試験機関：

報告書作成年：2013年

供試標識化合物：

構造式：



(\*:  $^{14}\text{C}$ の標識位置を示す)

化学名；(RS)- $\alpha$ -シアノ-4-フルオロ-3-フェニルシクロプロピル(1RS, 3RS; 1RS, 3SR)-3-(2,2-ジクロロエチル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシレート (以下[Cyclopropane-1- $^{14}\text{C}$ ]標識体)

比放射能；3.27 MBq/mg (88.4  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ )

放射化学的純度；98%以上

標識位置の設定理由：

エステル結合開裂後のシクロプロパン環側の代謝分解を解明するためシクロプロパン環を標識位置とした。

供試植物：てんさい

栽培条件：プラスチック製コンテナ (0.5~1m<sup>2</sup>) に播種し温室内で栽培

試験方法：

処理溶液の調製；

被験物質にトルエンを加え、推奨濃度およびその10倍の処理溶液を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠；

①推奨処理量区

てんさい種子1個あたり推奨濃度の処理溶液49  $\mu\text{l}$  (0.328MBq相当) を種子処理した (10.0g 有効成分/haに相当)。

②10倍量処理区

てんさい種子1個あたり推奨濃度の10倍相当の処理溶液47  $\mu\text{l}$  (3.289MBq相当) を種子処理した (100.6g 有効成分/haに相当)。

試料採取時期；

推奨処理量区試料については、慣行収穫期相当 (処理119日後) で植物体を収穫し、葉部と根部に分けた。各試料を磨砕均質化し、分析に供するまで-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下に設定された冷凍庫中に保管した。

10倍量処理区試料においては、生育期 (処理56日後) および慣行収穫期の2回、試料を採取した。生育期については葉部のみ、慣行収穫期においては全植物体を採取し葉部および根部に分けた。全ての試料は、採取後磨砕均質化し、分析に供するまで-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下に設定された冷凍庫中に保管した。

分析方法；

①抽出法

20.0gの試料にメタノール/水 (8:2) 混液100mlを加え、ポリトロンホモジナイザーを用

い3回磨砕抽出した。各々抽出液をろ過し、各ろ液の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。抽出残渣における放射能については、残渣の一部をサンプルオキシダイザーで燃焼し、発生した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を捕集し測定した。

各抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターにより減圧濃縮したのち、HPLCに供した。10倍量処理区の根部試料については、極性代謝物の化学的特性を調べるため、塩酸による加水分解試料も含めTLCに供した。

②機器分析：

総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣）について総放射能を測定した。液体試料については、直接、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシダイザーで燃焼し、生成した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を捕集液に捕集したのち、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

HPLC分析

各濃縮液を逆相高速液体クロマトグラフィーに供し、標準物質との比較により定量及び定性を行った。

TLC分析

シリカゲルTLCプレートを用いて、抽出試料と放射性標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器を用いてスポットを確認し定性を行った。

結果：

1) 放射能分布

収穫時における各処理区試料について、分析部位毎の残留放射能濃度および放射能分布率を表1に示した。

表1 処理区試料の各部位における放射能分布

	葉部（生育期）	葉部（慣行収穫時）		根部（慣行収穫時）	
	濃度 (ppm)	濃度 (ppm)	分布率 (%)*	濃度 (ppm)	分布率 (%)*
推奨処理量区	NA	0.004	13.1	0.014	86.9
10倍処理量区	0.022	0.011	5.6	0.110	94.4

NA：採取せず

\*：申請者の計算による

2) 代謝

①残留放射能の特性

推奨処理量区の根部試料において、残留放射能の77.6%が溶媒抽出により抽出された。10倍処理量区試料については、葉部、根部試料ともに90%以上が抽出された。なお、推奨処理量区の葉部試料については、総放射能が極めて低かったため、供試しなかった。

各試料の放射能特性を表2にまとめた。

表2 処理区試料中の放射能特性（総放射能割合%）

	推奨処理量区	10倍処理量区		
	根部 （慣行収穫時）	葉部 （生育期）	葉部 （慣行収穫時）	根部 （慣行収穫時）
メタノール/水抽出液	77.6	97.5	92.1	94.0
残渣	22.4	2.5	7.9	6.0
合計	100.0	100.0	100.0	100.0

②代謝物の同定

推奨処理量処理区（根部）：

抽出性放射能中に未変化のシフルトリン[I]は認められなかった。

てんさいにおける主な代謝は、加水分解によるエステル結合の開裂であった。これにより、シクロプロパンカルボン酸である代謝物DCVA[XⅢ]が生成された。

また、抽出性放射能の大部分を占めたのは抱合体であったため、酸加水分解に供したところ、アグリコンとしてDCVA[XⅢ]が溶出した（TLC分析により確認）。したがって、それらの抱合体は主にDCVA[XⅢ]の抱合体であると考えられたが、シフルトリンの酸加水分解によってもDCVA[XⅢ]が生成されることから、一部についてはシフルトリン[I]の抱合体である可能性も考えられた。

抱合体は3種類認められたが、10倍処理量区試料中に認められた抱合体1は認められなかった。

抽出残渣中においては試料中放射能の約22%に相当する放射能が認められたが、濃度が極めて低かったため、さらなる抽出・分解操作は行わなかった。

推奨処理量区の根部試料中の代謝物の総放射能割合を表3-1に示した。

表3-1 推奨処理量区の根部試料における放射能特性

	%TRR	mg/kg
抽出液		
DCVA(trans異性体)[XⅢ]	8.0	0.001
抱合体2	25.6	0.004
抱合体3	24.5	0.004
抱合体4	8.4	0.001
未同定代謝物R1	11.2	0.002
同定代謝物	8.0	0.001
抱合体の含量	58.4	0.008
特徴付けされた代謝物	11.2	0.002
総抽出放射能	77.6	0.011
抽出残渣	22.4	0.003
合計	100.0	0.014

10倍処理量処理区（葉部・根部）：

根部試料の抽出液中においては僅かながら未変化のシフルトリン[I]が認められた。葉部試料中には認められなかった。

試料中放射能の90%以上が抽出され、主要な代謝物は、根部、葉部共に推奨処理量区試料と同様、加水分解によるエステル結合の開裂によって生成された、代謝物DCVA[XⅢ]であった。生成された代謝物DCVA[XⅢ]の多くは最終的に抱合体化された。なお、一部についてはシフルトリン[I]の抱合体である可能性も考えられた。

抱合体については、葉部試料中には4種類、根部中には3種類の抱合体が認められた。根部試料に関しては、推奨処理量区試料で認められた抱合体4が認められず、推奨処理量区試料で認められなかった抱合体1が認められた。

抽出残渣中の放射能濃度は極めて低かったため、推奨処理量区試料同様さらなる操作は行わなかった。

10倍処理量区の根部及び葉部試料中の代謝物の総放射能割合を表3-2に示した。

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

表3-2 10倍処理量区試料における放射能特性

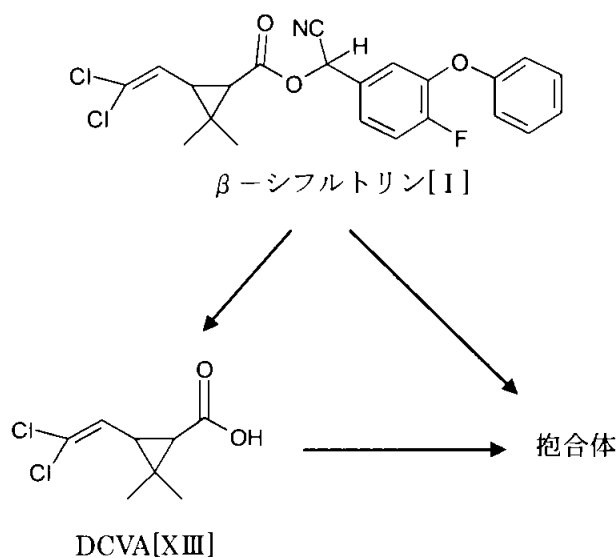
	葉部 (生育期)		葉部 (慣行収穫時)		根部 (慣行収穫時)	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
抽出液						
$\beta$ -シフルトリン [ I ]	-	ND	-	ND	3.5	0.004
DCVA (trans異性体) [ X III ]	9.4	0.002	5.7	0.001	5.1	0.006
抱合体1	8.6	0.002	14.5	0.002	3.0	0.003
抱合体2	16.4	0.004	16.3	0.002	44.3	0.048
抱合体3	42.5	0.010	33.9	0.004	36.1	0.040
抱合体4	16.1	0.004	14.7	0.002	-	ND
未同定代謝物R1	4.4	0.001	7.1	0.001	2.0	0.002
同定代謝物	9.4	0.002	5.7	0.001	8.5	0.009
抱合体の含量	83.6	0.019	79.3	0.008	83.4	0.091
特徴付けされた代謝物	4.4	0.001	7.1	0.001	2.0	0.002
総抽出放射能	97.5	0.022	92.1	0.010	94.0	0.103
抽出残渣	2.5	0.001	7.9	0.001	6.0	0.007
合計	100.0	0.022	100.0	0.011	100.0	0.110

ND : 検出されず、- : 該当せず

### ③まとめ

てんさいに種子処理された $\beta$ -フルトリンは、試料採取時その多くが代謝された。てんさいにおける主な代謝分解過程は、加水分解によるエステル結合の開裂であった。これによりシクロプロパンカルボン酸である代謝物DCVA [ X III ] が生成され、その後抱合化されると考えられた。残留放射能の大部分は抱合体であり、推奨処理量区の根部試料では総放射能の58.4%を占め、10倍処理量区試料においては、葉部、根部ともに総放射能の約80%を占めた。

てんさいの種子処理における $\beta$ -シフルトリンの推定代謝経路を以下に示した。



(5)  $\beta$ -シフルトリンのてんさいにおける代謝(種子処理)

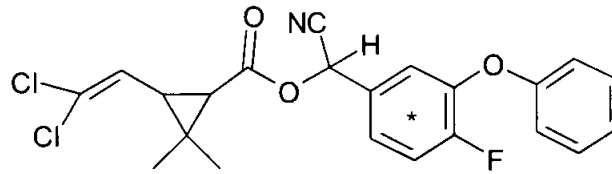
(資料  $\beta$ -18)

試験機関：

報告書作成年：2013年

供試標識化合物：

構造式；



(\*:  $^{14}\text{C}$ の標識位置を示す)

化学名；(RS)- $\alpha$ -ジクロロビニル-3-(2,2-ジフルオロフェニル)プロピオン酸(1RS, 3RS; 1RS, 3SR)-3-(2,2-ジメチルエチル)プロピオン酸エステル(以下[Fluorophenyl-UL- $^{14}\text{C}$ ]標識体)

比放射能；4.36 MBq/mg (117.9  $\mu\text{Ci}$ /mg)

放射化学的純度；99%以上

標識位置の設定理由；

エステル結合開裂後のフルオロフェノキシベンジル基の代謝分解を解明するためフルオロフェニル基を標識位置とした。

供試植物：てんさい

栽培条件：プラスチック製コンテナ (0.5m<sup>2</sup>もしくは1.0m<sup>2</sup>) に播種し温室内で栽培

試験方法：

処理溶液の調製；

被験物質にトルエンを加え、推奨濃度およびその10倍の処理溶液を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠；

①推奨処理量区

てんさい種子1個あたり推奨濃度の処理溶液50  $\mu\text{l}$  (0.449MBq相当) を種子処理した (10.3g 有効成分/haに相当)。

②10倍量処理区

てんさい種子1個あたり推奨濃度の10倍相当の処理溶液56  $\mu\text{l}$  (4.400MBq相当) を種子処理した (100.9g 有効成分/haに相当)。

試料採取時期；

推奨処理量区試料については、慣行収穫期(処理117日後)で植物体を収穫し、葉部と根部に分けた。各試料を磨砕均質化し、分析に供するまで-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下に設定された冷凍庫中に保管した。

10倍量処理区試料においては、生育期(処理56日後)および慣行収穫期の2回、試料を採取した。生育期については葉部のみ、慣行収穫期においては全植物体を採取し葉部および根部に分けた。全ての試料は、採取後磨砕均質化し、分析に供するまで-18 $^{\circ}\text{C}$ 以下に設定された冷凍庫中に保管した。

分析方法；

①抽出法

20.0gの試料にメタノール/水(8:2)混液100mlを加え、ポリトロンホモジナイザーを用



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

い3回磨砕抽出した。各々抽出液をろ過し、各ろ液の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。抽出残渣における放射能については、残渣の一部をサンプルオキシダイザーで燃焼し、発生した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を捕集し測定した。

10倍量処理区の根部試料については、各抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターにより減圧濃縮したのち、HPLCに供した。10倍量処理区の根部試料については、極性代謝物の化学的特性を調べるため、抽出残渣をセルラーゼ処理に供した。処理液をろ過し、ろ液を、酢酸エチルを用いて液-液分配した。

## ②機器分析：

### 総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣）について総放射能を測定した。液体試料については、直接、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシダイザーで燃焼し、生成した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を捕集液に捕集したのち、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

### HPLC分析

各濃縮液を逆相高速液体クロマトグラフィーに供し、標準物質との比較により定量及び定性を行った。

## 結果：

### 1) 放射能分布

収穫時における各処理区試料について、分析部位毎の総残留濃度および放射能分布率を表1に示した。

表1 処理区試料の各部位における放射能分布

	葉部（生育期）		葉部（慣行収穫時）		根部（慣行収穫時）	
	濃度 (ppm)	濃度 (ppm)	分布率 (%)*	濃度 (ppm)	分布率 (%)*	
推奨処理量区	NA	0.001	5.8	0.008	94.2	
10倍処理量区	0.002	0.002	1.9	0.048	98.1	

NA：採取せず

\*：申請者の計算による

### 2) 代謝

#### ①残留放射能の特性

総放射能の比較的高かった10倍処理量区の根部試料のみ抽出操作に供した。溶媒抽出により総放射能の63.5%が抽出された。

#### ②代謝物の同定

上記抽出性放射能のうち、43.1%が未変化のβ-シフルトリン[I]であった。その他には3種類の代謝物が認められたが、いずれも濃度が低く同定には至らなかった。

抽出残渣に総放射能の36.5%が残存したため、残渣をセルラーゼ処理に供し、残渣からの放射性成分の溶出を試みた。36.5%のうち22.4%が酵素処理によって溶出した。酢酸エチルを用いた液-液分配の結果、12.2%は極性物質であり10.2%は非極性物質であった。

10倍処理量区の根部試料中の代謝物の総放射能割合を表2に示した。

表2 10倍処理量区の根部試料における放射能特性

	%TRR	mg/kg
抽出液		
β-シフルトリン[I]	43.1	0.021
未同定代謝物R1	9.3	0.004
未同定代謝物R2	4.2	0.002
未同定代謝物R4	7.0	0.003
同定代謝物	43.1	0.021
特徴付けされた代謝物(未同定)	20.5	0.010
セルラーゼ処理溶液		
極性物質(水層)	12.2	0.006
非極性物質(有機溶媒層)	10.2	0.005
総抽出放射能	85.9	0.041
最終残渣	14.1	0.007
合計	100.0	0.048

③まとめ

推奨処理量でてんさいに種子処理されたβ-フルクトリンの収穫時試料中における残留量は少なく、放射能特性を検討するには至らなかった。

10倍処理量区の根部試料においては、総放射能の約40%を未変化のβ-シフルトリンが占めた。その他に3種類の代謝物が認められたが、いずれも濃度が極めて低く、同定には至らなかったため、代謝経路については推定できなかった。