

## エトフメセートのラットの繁殖性に及ぼす影響

(毒性資料 No. 原体-27)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：SD(OFA-SD (IOPS-Caw)系ラット、1群雌雄各25匹

投与開始時：雄；約6週齢/平均体重224g,

雌：約12週齢/平均体重284g

投与期間：P世代；投与開始からF1児の離乳時まで（雄；約16週間，雌；8週間）

F1世代；離乳時からF2児の離乳時まで（約16週間）

（1988年12月～1989年8月）

投与方法：

ラット用標準飼料に検体を0、3000、10000および30000ppmの用量になるように添加し動物に自由に摂取させた。

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

## 材料および方法

### [親動物]

#### 1. 一般状態および死亡率；

全検査期間に一般状態および生死を毎日観察した。

#### 2. 体重、摂餌量および検体摂取量；

体重測定は、雄については、全試験期間を通じて週1回実施した。雌については、交配前期間は週1回、妊娠期間中は妊娠0、7、14および20日に、出産後は0、7、14および21日に測定した。

摂餌量の測定は、雄については交配期間を除いて毎週、またF1世代においては交配期間～交配後期間を除いて毎週測定した。雌では交配前期間は週1回、妊娠期間は妊娠0～7日まで、7～14日まで、14～20日までのそれぞれの期間、出産後は0～7日まで、7～14日までのそれぞれの期間で測定した。

#### 3. 交配および妊娠の確認；

交配は雌雄1対1で同居させることによって行った。妊娠の確認は膣塗抹標本作製し、精子を検査することにより確認した。精子が観察されるまで、毎日膣塗抹標本作成し、発情周期を記録した。

#### 4. 繁殖性に関する指標；

$$\text{交尾率 (\%)} = \frac{\text{精子が確認された雌動物数}^*}{\text{雄と同居させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{精子が確認された雌動物数}^*} \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{生存児を有する雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

\*精子が確認されなかった妊娠雌を含む。

5. 児動物に関する指標；

$$\text{出生率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{出生時生存児数}}{\text{総新生児数}} \times 100$$

$$\text{4日生存率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{4日目の生存児数(調整前)}}{\text{出生時生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{3週間後における生存児数}}{\text{4日目の生存児数(調整後)}} \times 100$$

$$\text{累積生存率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{3週間後生存児数}}{\text{4日目の生存児数(調整後)}} \times \frac{\text{4日目の生存児数(調整前)}}{\text{総新生児数}} \times 100$$

<sup>§</sup>各群の指標の算出は母動物平均に基づく。

6. 臓器重量の測定；

計画屠殺時に下垂体、精巣、卵巣の臓器重量測定を行い、対体重比も算出した。

7. 剖検；

PおよびF1世代の親動物については、それぞれF1又はF2新生児を離乳後、二酸化炭素で麻酔し屠殺後、肉眼的に剖検した。以下の臓器について緩衝ホルマリン液に固定した。

子宮、卵巣、膣、精巣、精巣上体、精のう、前立腺、凝固腺、下垂体、肉眼的異常部位

8. 病理組織学的検査；

両世代の0ppm、30000ppm群およびその他の群で妊娠しなかった動物あるいは交尾しなかった動物については、上記に記載した固定臓器を病理組織学的検査に供した。

[児動物]

1. 児動物の記録；

哺育期間中毎日、全ての児動物について臨床症状を観察した。同腹児数、出生時産児数、死産児数、生存児数、性比、体重(同腹児雌雄別；出生時，生後4日，7日，14日に測定，個体別；生後21日)を測定し、外表異常の有無も確認した。

2. 発育の指標；

1. 開耳(確認されるまで毎日観察，3日目に開耳がみられた児動物の一腹ごとの割合(パーセンテージ)を記録)
2. 正向反射(5日目に記録)
3. 開眼(確認されるまで毎日観察，15日目に開眼がみられた児動物の一腹ごとの割合(パーセンテージ)を記録)
4. 驚愕反能(15日目に記録)
5. 瞳孔対光反射(21日目に記録)

3. 剖検；

腹児数を削減するために選択した児動物は、分娩4日後に心腔内注射で麻酔後、剖検に供した。

F2世代継代用動物以外の余剰児動物は、選抜後剖検した。F2世代の児動物は出産後21日に剖検した。これらの動物は二酸化炭素で麻酔し屠殺した。

表 1. 概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(雄 10 週間, 雌 2 週間) (交配前)		一般状態の観察(毎日), 体重および摂餌量の測定(毎週),
	交配 (最長 3 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。 膣塗抹による精子の確認 (妊娠 0 日)	交配状況の観察
	妊娠(3 週間)		一般状態の観察(毎日), 体重(妊娠 0, 7, 14, 20 日)測定・摂餌量(0~7 日, 7~14 日, 14~20 日のそれぞれの期間)測定
	出産.....		出産状況の観察 新生児数, 死亡児数, 性比の算定, 新生児の体重測定と外表の観察
	哺育(3 週間)	出産後 4 日目各同腹児数を雄 4 匹, 雌 4 匹に調整	親動物 一般状態の観察(毎日), 体重測定(出産 0, 7, 14, 21 日) 摂餌量(0~7 日, 7~14 日のそれぞれの期間)測定
	離乳.....		新生児 一般状態の観察(毎日), 体重測定(腹毎; 出産 0, 4, 7, 14 日, 個体別; 出産 21 日), 性比, 同腹児数(出産 21 日まで毎日), 発達の指標(開耳, 正向反射, 開眼, 驚愕反応, 瞳孔光反射), 剖検
		継代用の各群雌雄 25 匹ずつ 25 腹から無作為に選抜	親動物 剖検, 病理組織学的検査, 臓器重量測定(下垂体, 精巣, 卵巢)
F1	生育(14 週間)		離乳児 継代用以外の児動物について剖検 (P 世代に準ずる)
	交配 (最長 3 週間)	(P 世代に準ずる)	
	妊娠(3 週間)		(P 世代に準ずる)
	出産.....		(P 世代に準ずる)
	哺育(3 週間)	(P 世代に準ずる)	
	離乳.....	(F1 世代に準ずる)	(F1 世代に準ずる)
F2			親動物(F1)および児動物(F2)の剖検

## 結果

概要を表 4 に示した。

### [親動物に対する影響]

#### 1. 臨床所見および死亡率

P 世代、F1 世代共に 30000ppm まで検体に関連した臨床症状および死亡した動物は認められなかった。

尚、F1 世代で対照群の 2 例(出産前、哺育期間)および 3000ppm 群の雌 1 例(出産後)で全身状態の悪化がみられたため切迫屠殺した。この 3000ppm 群の雌 1 例の一般状態の悪化は、10000ppm および 30000ppm でこのような動物は認められなかったことから、投与に関連したものとは考えなかった。

#### 2. 体重

P 世代において、30000ppm 群で雌雄共に増体重抑制がみられた。対照群と比較して、雄では投与 12 週から、雌では交配前期間、妊娠期間、哺育期間を通じて統計学的有意差を伴って低値を示した。10000ppm 群の雌では、妊娠 7 日および 14 日および出産後 0 日に対照群に比べ統計学的に有意差を伴って低値を示した。その他の群では投与に関連した影響はみられなかった。

F1 世代では雄の 30000ppm 群では統計学的有意差が認められないものの、低体重傾向を示した。10000ppm 以下の群では対照群と同様の体重推移であった。雌の 10000ppm および 30000ppm 群で交配前期間、妊娠期間、哺育期間を通じて対照群に比べ低値を示し、統計学的に有意であった。3000ppm 群は妊娠 20 日において統計学的に有意な低体重がみられたが、交配前期間、哺育期間は対照群と同様の体重推移を示したことから、妊娠 20 日にみられた低体重は偶発的なものと考えられた。

#### 3. 摂餌量および検体摂取量(表 2)

P 世代雄では、10000ppm 以上の群で対照群に比べ摂餌量の増加がみられ、交配前期間 1～3 週には統計学的有意差が認められた。この変化は動物によって撒き散らかされた結果と考えられた。雄 3000ppm 群では対照群と同等であった。P 世代雌においても 10000ppm 以上の群で交配前期間に摂餌量の増加がみられたが、これも雄と同様に動物によって撒き散らかされた結果と考えた。このことから、妊娠期間および哺育期間には餌の撒き散らしを最小限に抑える給餌器を用いたところ。30000ppm 群雌では、妊娠期間および哺育期間中、摂餌量が対照群に比べ減少し、殆どの測定時において、統計学的有意差がみられた。10000ppm 群では、妊娠期間第 1 週に統計学的に有意な減少がみられたが、その他の期間の摂餌量は対照群と同様であった。

F1 世代では、雄全投与群の摂餌量に投与に関連した変化は認められなかった。一方 10000ppm および 30000ppm 群雌では、妊娠期間、哺育期間(30000ppm のみ)に、対

照群に比べ統計学的に有意な減少がみられた。

表 2 検体摂取量(mg/kg 体重/日)[交配前期間]

用量(ppm)	雄			雌		
	3000	10000	30000	3000	10000	30000
P 世代	233	778	2375	219	794	2738
F1 世代	289	968	3057	350	1204	3863

#### 4. 繁殖能

P 世代、F1 世代共に交尾率、膣塗沫パターン、受胎率、妊娠期間および出産率に関して、対照群と 30000ppm 群を含む全ての検体投与群の間に毒性学的に意味のある差は認められなかった。

#### 5. 臓器重量(表 3)

P 世代では雄 30000ppm 群で精巣対体重比の増加が認められたが、実重量に統計学的有意差はみられず、体重が対照群より低値であったことに起因するもので、検体投与に関連した変化ではなかった。雌では卵巣重量の低下が全検体投与群で実重量、対体重比共に統計学的有意差を伴って認められた。しかし、剖検および病理組織学的検査において異常所見は認められなかった。また下垂体実重量の統計学的有意な低下が 30000ppm 群の雌でみられたが、これも低体重に起因した変化と考えられた。

F1 世代では 30000ppm 群で精巣対体重比の増加がみられた。最終体重は統計学的有意差を伴わないものの対照群に比べ低値(93%)であったことから、この精巣の対体重比の増加は体重に起因したものと考えられた。雌では 10000ppm 以上の群で卵巣重量の低下が実重量、対体重比共に統計学的有意差を伴って認められた。しかし、P 世代同様、剖検および病理組織学的検査において異常所見は認められなかった。また下垂体実重量に統計学的有意な低下が 30000ppm 群でみられたが、低体重に起因した変化と考えられた。

申請者注)

卵巣重量の低下について

P 世代では全検体投与群で、F1 世代では 10000ppm 以上の群で、統計学的に有意な卵巣重量の低下がみられたが、肉眼的および顕微鏡下において病理組織学的異常所見が認められない。試験責任者は、この変化は病理組織学的変化を伴っていないため、毒性学的有意性は特に 3000 および 10000ppm では、明白ではなかったとしている。

申請者は、この変化が病理組織学的変化を伴っていないことに加え、その他の長期試験において卵巣に変化がみられず、また三世代繁殖性試験(毒性資料 No. 原体-26)において、最高用量である 5000ppm 群で卵巣重量を含み何ら影響が認められず、再現性は確認されていないことから、この有意な低下に毒性学的に意味があるものとは考えられなかった。

表 3 臓器重量 (有意差の認められた項目)

世代		P 世代					
性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		3000	10000	30000	3000	10000	30000
体重				↓91			↓89
精巢	対体重比			↑113	/	/	/
下垂体	実重量						↓88
卵巣	実重量	/	/	/	↓87	↓77	↓59
	対体重比	/	/	/	↓87	↓78	↓67
世代		F1 世代					
性別		雄			雌		
体重							↓91
下垂体	実重量						↓92
精巢	対体重比			↑112	/	/	/
卵巣	実重量	/	/	/		↓88	↓75
	対体重比	/	/	/		↓87	↓80

↑↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01, ↑↓ : p<0.001 (Student-t 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

## 6. 剖検

P 世代雌において、3000ppm で 1 例、10000ppm と 30000ppm でそれぞれ 2 例に胃粘膜に潰瘍病変がみられた。しかし、F1 世代の検体投与群で胃粘膜の病変が認められていないことから、投与との関連性はないものと考えられた。従って、検体投与との関連が示唆される肉眼的異常所見は認められなかった。

F1 世代において、出産時および哺育時に一般状態が悪化し切迫屠殺した雌 3 例に以下の異常所見がみられた。対照群 2 例のうち 1 例では、胃粘膜に潰瘍がみられ、もう 1 例では子宮に胎児が 1 例残っていた。3000ppm の死亡例 1 例では子宮頸に 1 例胎児が残っていた。これら以外に異常所見は認められなかった。従って、検体投与との関連が示唆される肉眼所見は認められなかった。

## 7. 病理組織学的検査

P 世代、F1 世代共に、検体の投与に関連した異常所見は認められなかった。



## [児動物に対する影響]

### 1. 出生時のデータ

F1 世代、F2 世代共に、新生児数、死亡児数、出生率、性比について、30000ppm まで何ら影響は認められなかった。一方、同腹児数は F1 世代では、いずれの群でも差は認められなかったが、F2 世代の 30000ppm 群では対照群に比べ統計学的に有意に減少した。F2 世代の 10000ppm 以下の群では対照群との間に同腹児数の統計学的有意な差はみられなかった。

### 2. 新生児の奇形

F1 児では、3000ppm の 1 例で体長が短く、また脊髄の異常が認められ、更に 10000ppm の 1 例で心血管異常がみられたが、これらの変化は検体投与に関連したものとは考えられなかった。F2 児では奇形はいずれも認められなかった。

### 3. 新生児の体重

F1 児の 30000ppm では、生後 7 日(雌のみ)、14 および 21 日(雌雄)の体重は対照群に比べ低値を示し、統計学的に有意であった。しかし、同群では出生時、生後 4 日の体重は対照群と同等であった。一方、3000ppm および 10000ppm 群では対照群と同等かあるいは上回っている時期が散見されたが、これらの変化は検体の影響とは考えられなかった。

F2 児の 10000 および 30000ppm 群では、生後 7、14 および 21 日に測定した体重は、対照群に比べ低値を示し、統計学的に有意であった。しかし出生時のこれらの世代の児体重は、対照群と同等であった。3000ppm は出生時および哺育期間を通じて対照群と同等であった。

### 4. 新生児の臨床観察

F1 および F2 児共に 30000ppm まで特記すべき臨床症状は認められなかった。

### 5. 発育の指標

F1 児では、発達の指標に検体投与に関連したと考えられる影響は認められなかった。しかし、F1 児では、出生 15 日後における開眼を示した児動物数は、30000ppm 群で対照群に比べ統計学的に有意ではない程度のわずかな減少傾向を示した。30000ppm で児動物の増体重抑制がわずかに認められていること、また後述するように F2 児でも増体重抑制に合致して開眼の遅れが認められていることから、発達のわずかな遅れが 30000ppm で認められている可能性も示唆された。

F2 雌児では 10000 および 30000ppm 群で、出生 15 日後における開眼を示した児動物の割合が、統計学的に有意に減少した。これは、発育のわずかな遅延と考えられ、児体重に対する影響と一致するものであった。その他の項目については、対照群と

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。

の差はみられなかった。また 3000ppm の結果は全て対照群と差がなかった。

#### 6. 新生児の出生率、4日後生存率、哺育率および累積生存率

出生率、4日後生存率、哺育率および累積生存率に関して、F1 児、F2 児共に、投与群と対照群との間に差は認められなかった。

#### 7. 新生児又は離乳児の剖検

F1 および F2 児共に 30000ppm まで検体に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

結果は以下のとおりであった。

#### 親動物に対する毒性

P 世代、F1 世代ともに、30000ppm 群で体重増加抑制 (F1 世代雄では統計学的有意差なし) がみられた。同群および 10000ppm 群の雌では妊娠期間、哺育期間中摂餌量の減少がみられた。また、低体重によると考えられる下垂体実重量 (雌のみ) の低下および精巣重量対体重比の増加がみられた。10000ppm では P 世代雌で妊娠期間、出産 0 日に増体重抑制が、F1 世代雌では試験期間を通じて増体重抑制がみられた。従って、親動物に対する無毒性量は雌雄共に 3000ppm と考えられた。

申請者注) 試験責任者は、卵巣重量の低下を除いた場合、3000ppm が親動物に対する無毒性量としている。しかし、申請者は、卵巣でみられた重量の低下は病理組織学的変化もなく、他の長期試験でも認められていないことから、毒性影響とは考えなかった ([親動物に対する影響]5. 臓器重量の項参照)。

#### 繁殖性に対する毒性

両世代共に交尾能、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間に 30000ppm まで影響は認められなかった。

以上のことから、繁殖性に対する無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに 30000ppm とした。

#### 児動物に対する毒性

30000ppm では F1 児、F2 児共に増体重抑制が認められ、F2 児の同腹児数が統計学的に有意に減少した。また、発育の指標のうち、出生 15 日後の開眼の割合は、F2 児で統計学的に有意に減少した。10000ppm では F2 児で体重増加抑制が認められ、出生 15 日後の開眼の割合も統計学的に有意に減少した。

以上のことから、児動物に対する無毒性量 (NOAEL) は雌雄共に 3000ppm であった。

従って、無毒性量は親動物、児動物に対する影響をもとに、3000ppm (P 世代/雄 : 233mg/kg/日, 雌 : 219mg/kg/日, F1 世代/雄 : 289mg/kg/日, 雌 : 350mg/kg/日) とした。

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グロップサイエンス株式会社にある。

表 4 総括表(親動物)

世代	親 : P				親 : F1			
	0	3000	10000	30000	0	3000	10000	30000
動物数 ♂	25	25	25	25	25	25	25	25
♀	25	25	25	25	25	25	25	25
摂餌量 ♂				↓			↓	↓
♀								
検体摂取量# ♂		233	778	2375		289	968	3057
(mg/kg 体重/日) ♀		219	794	2378		350	1204	3863
死亡/屠殺動物	0	0	0	0	2*	1*	0	0
一般観察					*	*		
体重・交配前期間				↓♂↓♀			↓♀	↓♀
妊娠期間			↓(7,14日)	↓			↓	↓
哺育期間			↓(0日)	↓			↓	↓
発情周期回数(5日間)	1.2	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2	1.1	1.0
交尾率(%)	100	100	100	100	100	96.0	96.0	100
受胎率(%)	92.0	100	96.0	100	92.0	91.7	95.8	100
出産率(%)	95.7	100	100	100	95.7	90.9	100	100
妊娠期間(日)	22.1	22.0	22.0	22.0	22.0	22.2	22.0	21.9
剖検								
病理組織学的検査								
臓器重量 /								
体重				↓♂♀				↓♀
下垂体 ♀				↓A				↓A
精巣 ♂				↑R				↑R

空欄；異常所見ないしは有意差なし

#: 交配前期間の平均摂取量

\*: 全身状態の悪化により切迫屠殺（検体の投与とは考えられない）

Student-t 検定；体重，摂餌量，臓器重量，妊娠期間（↑↓：p<0.05，↑↓：p<0.01，↑↓：p<0.001）

Fisher 直接確率検定；交尾率，受胎率，妊娠率，出産率，発情周期回数

A: 実重量，R: 対体重比

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 5-3 総括表(児動物)

	世代	児:F1				児:F2			
	投与用量(ppm)	0	3000	10000	30000	0	3000	10000	30000
児動物	新生児総数(出生時)	322	355	352	345	297	275	293	260
	死亡児総数(出生時)	11	7	10	10	29	38	19	18
	出生率(%) <sup>§</sup>	94.5	98.3	96.6	97.0	90.8	87.4	93.2	93.1
	性比(%) 雄	46	48	50	48	51	52	47	47
	同腹児数	14.0	14.2	14.7	13.8	13.5	12.5	12.7	↓10.4
	4日生存率(%) <sup>§</sup>	88.2	95.7	95.6	95.2	76.3	81.9	68.8	79.0
	哺育率(%) <sup>§</sup>	97.4	100	100	100	99.3	100.0	95.2	98.2
	累積生存率	81.8	94.0	92.6	92.3	69.2	72.7	65.8	76.2
	体重0日 ♂	6.3	6.5	6.4	6.4	5.8	5.8	5.8	6.0
	♀	6.1	6.1	6.0	6.0	5.6	5.6	5.5	5.8
	4日(選抜後)♂	9.9	10.8	10.4	9.3	9.3	9.0	8.0	8.3
	♀	9.5	10.6	9.8	9.4	8.7	8.6	7.7	8.1
	7日 ♂	16.5	↑18.0	17.4	15.3	15.1	14.6	↓13.3	↓12.4
	♀	16.0	17.1	16.3	↓14.6	14.4	14.0	↓11.8	↓12.2
	14日 ♂	34.1	↑37.0	↑36.5	↓31.0	32.5	31.5	↓29.6	↓26.4
	♀	33.4	↑35.7	34.9	↓30.1	31.1	30.6	↓27.0	↓25.8
	21日 ♂	59.9	63.1	59.9	↓49.9	56.0	55.5	↓50.8	↓45.6
	♀	57.6	59.8	57.3	↓48.1	53.1	53.6	↓47.6	↓43.5
	発育の指標 <sup>§</sup>								
	開耳(生後3日)	72.6	88.2	87.1	77.6	67.8	66.9	60.1	68.5
	正向反射(生後5日)	88.0	94.5	90.6	93.3	98.7	97.9	97.4	98.2
	驚愕反応(生後15日)	95.4	98.5	97.9	93.5	93.5	93.8	85.4	92.3
	開眼(生後15日)	72.5	89.5	73.8	61.3	75.1	75.1	↓47.8	↓38.6
瞳孔光反射 (生後121日)	97.2	99.0	99.0	98.0	100	100	100	100	
剖検									

空欄；異常所見なし，1)

§；各群の指標の算出は母動物平均に基づく

Student-t 検定；体重，出生児数，開耳，開眼，正向反射，驚愕反応，瞳孔光反射(↑↓：p<0.05，↑↓：p<0.01，↑↓：p<0.001)

Kruskal-Wallis 検定；出生率，4日後生存率，哺育率，累積生存率，同腹児数，性比

## エトフメセートのラットを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No. 原体-28)

試験機関：

報告書作成年：1991年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物：SD系ラット[(Cr1:CD(SD)BR] 1群交尾雌 24匹、  
(交配時雌体重；218～288g)

試験期間：1990年3月～1990年4月  
投与期間；10日間(妊娠6～15日)

### 【試験方法】：

検体を、1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、動物に10 mL/kgの容量で0(対照群)、10、100、1000mg/kgの投与量を、妊娠6日目から15日目までの10日間毎日1回経口投与した。

無処理の雄1匹に雌1～2匹のラットを一晩同居させ交配させた。交尾の確認は、交配の翌朝に採取した膣スミアの精子検査により行った。交尾が観察された雌を、体重による層別に乱数表を用いて対照群と投与群に配分した。ラックの配置は無作為にした。精子が確認された日を妊娠0日とし、妊娠20日目に動物を屠殺し検査した。

### 試験項目：

妊娠動物について、一般症状は交配後から屠殺までの間毎日観察した。体重は妊娠0、3、6、7、8、9、12、18、20日に測定し、妊娠0～6、3～6、6～9、9～12、12～15、15～18及び18～20日の摂餌量及び飲水量の測定を行った。

屠殺時(帝王切開時)には、肉眼的病理検査、黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、死亡胎児数について検査した。非妊娠と考えられた子宮については10%硫化アンモニウムで着床痕を染色した。

生存胎児については性別、外表奇形を観察し、体重を測定した。約半数の胎児をブアン液で固定し内臓検査用、残りの半数の胎児を骨染色による骨格検査用とした。

【試験結果】

1. 母動物に対する所見

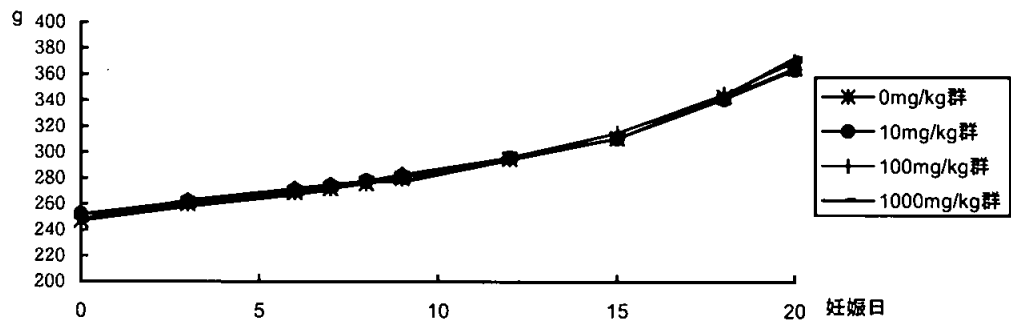
1-1. 死亡及び一般症状

母動物の死亡例はみられなかった。また、検体投与に関連した症状は認められなかった。

1-2. 体重

体重の推移を図に示す。体重の推移は全群でほぼ同様であった。

体重推移



1000mg/kg 群の増体重が妊娠 18-20 日に有意 ( $p < 0.01$ ) に増加したが、投与終了後の所見であり、妊娠後期は体重の個体差が大きいことから、直接投与によるものとは考えられなかった。

体重増加量推移 (g)

妊娠日	0-3	3-6	6-7	7-8	8-9	9-12	12-15	15-18	18-20
対照群	13	9	3	4	4	15	16	32	22
10mg/kg 群	10	9	3	4	4	14	15	30	23
100mg/kg 群	14	9	3	3	5	13	19	30	25
1000mg/kg 群	11	9	4	7	-1	17	17	33	29**

\*\*: $p < 0.01$  (Dunnett の方法)

1-3. 摂餌量及び飲水量

1000mg/kg 群で投与開始後 3 日間(妊娠 6-9 日)に摂餌量の低下が統計学的有意差を伴ってみられた(対照群に比べ 84%、 $p < 0.01$ 、Dunnett 検定)。しかし同群の摂餌量は投与開始前期間も対照群に比べ低値(対照群に比べ 92%)であったこと、また投与開始 4 日後以降低下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。その他の群にも変化はみられなかった。

#### 1-4. 剖検

剖検時にいずれの投与群でも、投与に関連する変化は認められなかった。

### 2. 子宮内発育に対する所見

妊娠率、着床後死胚数、生存胎児数、胎児の性比に、対照群と各投与用量群の間で有意な差はみられなかった。

表に示すように、胎児体重及び黄体数と用量との間に統計学的に有意な用量相関性 ( $p < 0.05$ , Terpstra-Jonckheere 検定) が認められた。しかし、黄体形成は投与開始前に起こる事象であることから、投与との関連性はないものと考えられた。また、投与群における平均胎児体重の増加の程度は対照群からの差異は小さく、体重の低下ではなく増加であり、またいずれの群についても対照群との有意な群間差は認められないことから、検体の毒性を示唆するものではない。外表検査、内臓及び骨格検査において、奇形として、対照群に肋骨の癒合と分岐の合併例が1例、10mg/kg 群に大動脈弓が食道の後に位置した1例、動脈幹遺残1例、浮腫2例、100mg/kg 群に内臓逆位1例がみられた。これらは発生頻度が低いこと及び用量との関連がないことから、検体投与との関連はないものと考えられた。

骨化遅延及び変異に関する検査で観察され所見は対照群にも認められ、毒性学的関連はないものと考えられた。

以上の結果、本検体を妊娠ラットに 1000mg/kg の用量で投与したとき、母動物に検体投与に関連した変化は認められなかった。子宮内発育の検査項目にも投与に関連する影響は認められなかった。また胎児の骨化段階への影響はなく、さらに外表、内臓及び骨格の検査所見に検体投与に起因する変化は認められず、1000mg/kg/日までの用量に催奇形性は認められなかった。以上の結果から、母動物に対する無毒性量は 1000 mg/kg/日、児動物に対する無毒性量は 1000 mg/kg/日であった。

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

投与用量 (mg/kg/day)		0	10	100	1000	
交配動物数		24	24	24	24	
受胎動物数		24	21	22	22	
妊娠維持動物数		24	21	22	22	
親動物	一般症状					
	流産					
	全吸収胚雌数					
	体重 (増体重)				↑131%(妊娠18-20日)	
	摂餌量				↓84%(妊娠6-9日)	
	飲水量					
	剖検所見					
	着床所見★	黄体数 *	15.0	14.4	15.9	16.4
		着床数	13.9	13.0	14.1	14.4
		着床前死胚	1.1	1.4	1.7	2.0
	着床後死胚	0.5	0.4	0.8	0.6	
	生存胎児数	13.4	12.6	13.4	13.8	
胎児動物◆	雄の割合(%)	50.8	46.8	48.6	51.2	
	生存胎児体重(g) *	3.38	3.40	3.46	3.51	
	内臓検査胎児数	321	265	294	303	
	内臓奇形を有する胎児数	0	3	1	0	
	奇形 浮腫	0	2	0	0	
	動脈幹遺残	0	1	0	1	
	大動脈弓位置異常	0	1	0	0	
	内臓逆位	0	0	1	0	
	変異 出血:皮下 a	40	19	46	23	
	出血:虹彩	0	0	1	1	
	心房肥大	0	0	0	1	
	腕頭動脈の欠損	0	2	0	0	
	尿管拡張	36	34	38	43	
	腎盂拡張	4	9	7	7	
	骨格検査胎児数	167	139	152	159	
	骨格奇形を有する胎児数	1	0	0	0	
	奇形 肋骨の分岐及び癒合	1	0	0	0	
化骨遅延:頭蓋骨	127	79	100	93		
: 胸骨;未化骨を含む	147	120	135	130		
: 肋骨;未化骨を含む	5	5	9	4		
: 椎骨;未化骨を含む	9	3	4	3		
: 骨盤;未化骨を含む	14	14	7	10		
: 指骨/趾骨;未化骨を含む	92	90	60	59		
変異: 胸骨の非対称	1	3	1	2		
: 余剰肋骨	2	6	2	2		
: 肋骨 波状/曲がり	6	6	10	4		
: 胸椎化骨核二分	4	1	3	1		
: 余剰化骨核	28	18	27	17		

↑↓: p<0.01 (Dunnett 検定)

★: 1匹の妊娠動物あたり ◆: 所見の見られた胎児数。空欄は異常なし

\* 統計学的に有意な用量相関性が認められた。p<0.05 (Terpstra-Jonckheere 検定)

a いずれかの部位に皮下出血が観察された胎児動物数。



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

## エトフメセートのウサギを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No. 原体-29)

試験機関：

報告書作成年：1986年

[GLP 対応]

検体の純度 :  
試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ 1群交尾雌 25匹  
(妊娠0日雌体重；2.9～4.5kg)  
試験期間 : 1985年5月～1985年7月  
投与期間；13日間(妊娠6～18日)

### 【試験方法】

0.5%カルボキシメチルセルロース脱イオン水懸濁液を用いて検体投与液を調製した。動物に10mL/kgの容量で0(対照群)、30、300、3000mg/kgの投与量を、妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回経口投与した。

無処理のウサギ雌雄各1匹を同居させ交配し、交尾が観察された雌を、無作為に対照群と投与群に配分した。交尾が確認された日を妊娠0日とし、妊娠28日目に動物を屠殺し検査した。

### 【試験項目】

妊娠動物について、交配後から屠殺までの間、一般症状を毎日観察した。体重を妊娠0日及び6、13、18及び28日に測定した。妊娠0～29日までの増体重から、妊娠28日の子宮重量を差し引いて、補正増体重を計算した。

屠殺時には、内臓の肉眼的検査、黄体数、着床数、子宮重量、胎盤の外観と重量、早期及び後期吸収胚数、死亡胎児数、生存胎児数及び胎盤の外観と重量について検査した。

生存胎児については性別、体重、肉眼的外表異常を観察した。約半数の胎児については頭部をブアン固定し脳の横断切片を作製して検査をおこない、頭部以外は内臓観察後にアリザリンレッドSで染色後骨格検査に供した。残りの半数については脳を切断せず、内臓検査後、同様に骨格検査に供した。

## 【試験結果】

### 母動物に対する毒性

以下の妊娠母動物の死亡が全群でみられた。

投与量 mg/kg	0	30	300	3000
死亡時期 (妊娠日;死亡数)	12日;1例	26日;1例 22日;1例 19日;1例	27日;1例	16日;3例、19日;2例、 17日;1例、18日;1例、20日;1例、 21日;1例、22日;1例、24日;1例
合計	1例	3例	1例	11例

3000mg/kg 群では 11 例が投与期間終了付近から投与終了後に死亡あるいは切迫屠殺した。30mg/kg 群では 3 例、300mg/kg 群では 1 例がいずれも投与期間終了後に死亡した。3000mg/kg 群の死亡例の剖検では共通の所見はみられず明確な死因は不明であったが、これらの死亡は投与によるものと考えられた。

3000mg/kg 群の生存例 9 例は投与開始時(妊娠 6-13 日)に体重が減少し(増体重 -0.3kg)、その後回復はみられず、これは母動物に対する明らかな毒性と考えられた。

### 子宮内発育に対する毒性

3000mg/kg 群に統計学的に有意差な着床後死胚数の増加が見られた。また同群では生存胎児数も低下し投与による影響と考えられた。これらの子宮内死亡はいずれも生殖に及ぼす特異的な影響というよりも、むしろ全身性の母動物毒性によるものと考えられた。300mg/kg 群でも着床後死胚数の増加が見られたが、統計学的有意差は認められず、毒性学的に意義はないと考えられた。

3000mg/kg 群の胎児体重は、統計学的有意差は伴わないものの対照群とくらべ 11% 低下し、投与に関連したものと考えられた。

胎児の性比に差異はみられなかった。

外表奇形として臍帯ヘルニアが対照群と 3000mg/kg 群に各 1 例、内臓奇形として水頭症が 300mg/kg 群に 1 例見られたが、いずれも 1 例のみであり検体の投与が奇形の発生率又は種類に影響を及ぼしたとは考えられなかった。内臓変異として腎盂拡張が 30mg/kg 群及び 300mg/kg 群で増加したが用量との関連がみられず検体によるものとは考えられなかった。

骨格の奇形はみられなかった。骨格変異として 13 肋骨、化骨遅延としていずれかの指趾骨の化骨遅延を有する胎児数が、30mg/kg 群及び 3000mg/kg 群で対照群に比べ統計学的有意差を伴って増加した。本所見は 3000mg/kg 群については母動物に

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。

影響がみられたことから、検体投与に関連したものと考えられたが、30mg/kg 群での変化は同様の変化が300mg/kg 群ではみられないこと及び背景データの範囲内に含まれることから、偶発的なものと考えられた。また、3000mg/kg 群のみでみられた第4胸骨の変異及び頭頂骨あるいは舌骨の化骨遅延も、この群における母動物毒性を示すものと考えられた。

椎骨弓の化骨遅延が全投与群でみられた。30mg/kg 群の発生頻度は

であったことから、投与との関連はないものと考えられた。300mg/kg 群の発生頻度は背景データを逸脱していた。しかしこの群にはその他の部位に化骨遅延は認められず、本検体が胎児の化骨段階あるいは発育段階を遅延させるとは考えられず、また、椎体の化骨遅延を含めなかったことから、脊椎の発育に特異的に作用するものではない。従って本所見は毒性学的に重要なものとは考えられなかった。

以上の本試験の結果より、本検体を妊娠ウサギに投与したとき、3000mg/kg 群で死亡例、一時的な体重減少、流産及び着床後死胚数の増加が認められ、全身性の母動物毒性によるものと考えられた。300mg/kg 以下の群では検体投与による影響は認められなかった。従って母動物及び胎児に対する無毒性量はいずれも 300mg/kg/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

#### 申請者註)

変異とした判断基準は以下のとおりと記載されている。

「一般的な軽度の先天性の構造変化であり、ほぼ可逆的であり、個体に機能的制限を引き起こすことはない。対照胎児にも一定の割合で発生する。」

胸骨について骨格変異を有すると分類された胎児は、1個以上の胸骨分節が、骨化していないか完全に骨化していないあるいはわずかに非対称を示す場合と記載されていた。従って、第4胸骨分節の骨格変異は、不完全化骨、未化骨あるいはわずかに非対称であることを示すものであった。

13肋骨については報告書には「Present」という記載しかなく、痕跡程度であるのか、長い過剰埋骨であるかなどの情報は得られなかった。

過剰肋骨の長さが不明であること、3000mg/kg 群では本検体による母毒性が認められていることから、3000mg/kg での胎児あたりの頻度の増加が検体による母毒性の影響を反映した可能性を完全には否定できないが、本系統のウサギで通常みられる所見であり、明らかな母毒性のみられた3000mg/kg であってもその頻度は背景データ範囲内にあること、その頻度が胎児単位、腹単位ともに30mg/kg で示された頻度より低いことなどから、検体投与による毒性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。

### 結果の概要

投与群 (mg/kg/日)		0	30	300	3000	
1 群当たり交配動物数		25	25	25	25	
1 群当たり受胎母動物数		23	24	25	23	
母動物	全胎児死亡/全吸収母動物数	2	1	4	2	
	流産した母動物数	1	1	1	3	
	死亡した母動物数	1	3	1	11	
	生存胎児を有する母動物数	19	19	19	7	
	体重変化				↓交配後6-13日に 0.3kg減少	
	着床所見★	検査母動物数	21	20	23	9
		黄体数	9.4±1.7	10.1±2.3	10.0±2.6	9.8±2.8
		着床数	7.2±2.7	8.3±2.1	8.7±3.0	7.2±3.2
着床後死胚数		1.1±2.4	1.1±1.7	1.9±2.9	2.3±2.7↑	
生存胎児数		6.1±3.3	7.2±3.4	6.7±3.9	4.9±3.4	
胎児動物	検査胎児数	128	144	155	44	
	雄の割合 (%)	47.7	50.7	53.5	61.4	
	生存胎児体重 (g)	37.1±6.3	36.6±8.3	37.9±5.0	33.2±4.2	
	外表：奇形：臍帯ヘルニア	1/128 (0.8%)	0	0	1/44 (2.3%)	
	内臓：奇形：水頭症	0	0	1/155 (1.3%)	0	
	変異：腎盂拡張	1/128 (0.8%)	15/144 (10.4%↑)	8/155 (5.2%↑)	1/44 (2.3%)	
	骨格：変異：13肋骨	48/128 (37.5%)	90/144 (62.5%↑)	71/155 (45.8%)	25/44 (56.8%↑)	
	骨格：変異：第4胸骨	19/128 (14.8%)	13/144 (9.0%)	14/155 (9.0%)	13/44 (29.5%↑)	
	骨格：化骨遅延：頭頂骨	2/63 (3.2%)	1/72 (1.4%)	4/78 (5.1%)	4/22 (18.2%↑)	
	骨格：化骨遅延：舌骨	1/63 (1.6%)	5/72 (6.9%)	1/78 (1.3%)	6/22 (27.3%↑)	
	骨格：化骨遅延：椎骨弓	8/128 (6.3%)	23/144 (16.0%↑)	38/155 (24.5%↑)	11/44 (25.0%↑)	
骨格：いずれかの指趾骨の化骨遅延	15/128 (11.7%)	46/144 (31.9%↑)	29/155 (18.7%)	24/44 (54.2%↑)		

★：母動物あたりの平均値、空欄：異常なし

胎児の外表、内臓および骨格所見：所見を有する児動物数/検査児動物数。かっこ内は%表示。

↑：P<0.05 体重変化：ANOVA検定，その他：Fisher検定

#### (背景データ)

13肋骨： 24.3-64.3%

化骨遅延：椎骨弓： 0-18.4%

いずれかの指趾骨の化骨遅延： 11.7-39.0%

### (13) 変異原性

#### エトフメセートの細菌を用いた復帰突然変異性試験

(毒性資料 No. 原体-30)

試験機関：

報告書作成年：1994年[GLP 対応]

検体の純度：

試験系：細菌 (サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537)、  
大腸菌 (CM881;WP2 trp uvr /pKM101、CM891;WP2 trp uvrA /pKM101) )

#### 【試験方法】

##### 試験用量設定の理由及び試験液の調製方法

0、5、50、500、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度で、S9-Mix の非存在下と存在下で予備試験を行った。その結果、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量で細菌に対する生育阻害がみられたため、本試験の用量として、S9-Mix の非存在下と存在下ともに最高用量を5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ とし、以下 1500、500、150、50、15 (サルモネラ菌のみ)  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ を設定した。溶媒として DMSO を用いた。

##### Ames 試験 (インキュベーション法及びプレインキュベーション法)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の4株およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) の2株を用いた。Aroclor 1254 で薬物代謝系を誘導したラット肝臓から調製した S9 の非存在及び存在の条件下で、Ames らの方法により変異原性を検定した。

第一試験:インキュベーション法。S9-Mix 又は緩衝液 0.5mL と菌懸濁液 0.1mL、検体溶液 0.1mL さらにトッパアガー2mL を試験管に加えて混合し、最少グルコース寒天平板培地に広げた。この培地を 37°C で 72 時間培養後、生育阻害の有無を調べた後、復帰変異コロニー数を計測した。各濃度とも 3 プレートを用いた。

第二試験:プレインキュベーション法。S9-Mix 又は緩衝液 0.5mL と菌懸濁液 0.1mL、さらに検体溶液 0.1mL を試験管に加え、37°C で 60 分間プレインキュベーション後、トッパアガー2mL を試験管に加えて混合し、最少グルコース寒天平板培地に広げた。この培地を 37°C で 48 時間培養後、生育阻害の有無を調べた後、復帰変異コロニー数を計測した。各濃度とも 3 プレートを用いた。

各菌株について各濃度ごとの復帰変異コロニー数の平均値を算出し、溶媒対照の値と比較した。各菌株共に各濃度ごとの平均復帰変異コロニー数が、溶媒対照の数の2倍以上で用量相関性のある増加を示した場合を、変異原性陽性と判定した。

#### 【結果及び考察】

表 1、2 に示したように、2 回の試験共に検体を用いた全用量において代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性を伴った増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた非代謝活性化条件下での ENNG<sup>1)</sup>、9-AA<sup>2)</sup>、NF<sup>3)</sup>では、溶媒対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、代謝活性化条件下での 2-AA<sup>4)</sup>は、試験に用いたすべての菌株に明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において、復帰変異誘発作用は有さないものと判断された。

1) : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

2) : 9-aminoacridine

3) : 2-Nitrofluorene

4) : 2-aminoanthracene

[表 1]

復帰変異試験成績 (1回目、インキュベーション法)

検体：エトフメセート

代謝 活性化 系の有無	検体 濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	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			
		TA 100		TA 1535		CM 881		CM 891		TA 98		TA 1537	
S9 Mix (-)	溶媒 対照	135	133	9	15	72	77	228	246	20	19	12	7
		116	(128)	11	(12)	96	(82)	230	(235)	21	(20)	7	(9)
	15	112	80	13	15	/		/		18	24	4	9
		97	(96)	12	(13)					19	(20)	7	(7)
	50	120	118	6	9	80	89	208	232	15	16	10	9
		115	(118)	11	(9)	57	(75)	189	(210)	19	(17)	12	(10)
	150	114	108	16	11	73	68	182	248	15	19	4	3
105		(109)	9	(12)	75	(72)	223	(218)	22	(19)	9	(5)	
500	116	113	16	11	63	76	238	211	18	16	4	7	
	105	(111)	15	(14)	64	(68)	249	(233)	16	(17)	11	(7)	
1500	109	137	9	12	68	58	234	221	20	30	11	10	
	132	(126)	16	(12)	54	(60)	202	(219)	16	(22)	7	(9)	
5000	§	§	§	§	79	80	173	160	§	§	§	§	
	§	(§)	§	(§)	80	(80)	137	(157)	§	(§)	§	(§)	
S9 Mix (+)	溶媒 対照	142	118	18	15	95	96	232	214	24	29	15	15
		118	(126)	20	(18)	76	(89)	235	(227)	20	(24)	12	(14)
	15	73	94	20	11	/		/		19	20	11	9
		111	(93)	8	(13)					20	(20)	6	(9)
	50	124	120	10	14	92	77	218	234	15	26	6	15
		103	(116)	11	(12)	100	(90)	189	(214)	23	(21)	c	(11)
	150	105	117	13	15	82	71	201	206	21	27	8	9
114		(112)	20	(16)	71	(75)	225	(211)	21	(23)	6	(8)	
500	109	132	15	15	74	74	191	245	18	25	9	6	
	123	(121)	9	(13)	81	(76)	201	(212)	20	(21)	6	(7)	
1500	141	129	17	16	82	77	180	200	27	20	10	3	
	118	(129)	17	(17)	78	(79)	186	(189)	25	(24)	15	(9)	
5000	§	§	§	§	54	92	160	134	§	§	§	§	
	§	(§)	§	(§)	94	(80)	180	(158)	§	(§)	§	(§)	
陽 性 対 照	S-9 Mix を必要 としな いもの	名称	ENNG		ENNG		ENNG		NF		9-AA		
	( $\mu\text{g}$ /プレート)	3	5		2		2		1		80		
対 照	S-9 Mix を必要 とする もの	名称	2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		2-AA		
	( $\mu\text{g}$ /プレート)	1	2		20		20		0.5		2		
	コロニー数	420	452	303	312	1147	1058	1067	897	306	332	コロニー数が 多く計測不能	
	/プレート	424	(432)	328	(314)	1090	(1098)	1023	(996)	305	(314)		
	コロニー数	434	441	240	179	520	453	871	889	264	272	109	105
	/プレート	434	(436)	177	(199)	371	(448)	912	(891)	293	(276)	76	(97)

§：生育阻害 c：コンタミネーション (数値)：平均値

[表 2]

復帰変異試験成績 (2回目、プレインキュベーション法)

検体：エトフメセート

代謝 活性化 系の有無	検体 濃度 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	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					
		TA 100		TA 1535		CM 881		CM 891		TA 98		TA 1537	
S9 Mix (-)	溶媒 対照	141	115	11	11	73	75	227	207	22	28	13	9
		111	(122)	12	(11)	79	(76)	221	(218)	23	(24)	10	(11)
	15	127	108	12	12	/		/		19	27	6	10
		111	(115)	9	(11)					19	(22)	11	(9)
	50	111	114	19	10	86	100	238	220	21	18	8	16
		105	(110)	18	(16)	72	(86)	189	(216)	21	(20)	12	(12)
	150	134	111	21	17	72	86	236	221	26	20	10	11
		119	(121)	15	(18)	82	(80)	218	(225)	31	(26)	9	(10)
	500	92	96	§	§	77	102	237	212	§	§	§	§
		106	(98)	§	(§)	97	(92)	218	(222)	§	(§)	§	(§)
	1500	§	§	§	§	104	106	209	171	§	§	§	§
		§	(§)	§	(§)	95	(102)	216	(199)	§	(§)	§	(§)
	5000†	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
		§	(§)	§	(§)	§	(§)	§	(§)	§	(§)	§	(§)
S9 Mix (+)	溶媒 対照	126	119	16	22	92	75	223	228	26	28	11	16
		138	(128)	16	(18)	79	(82)	197	(216)	26	(27)	16	(14)
	15	126	136	10	14	/		/		28	27	17	7
		139	(134)	13	(12)					31	(29)	8	(11)
	50	144	108	13	18	74	103	216	200	25	20	13	10
		92	(115)	11	(14)	99	(92)	215	(210)	21	(22)	8	(10)
	150	135	126	17	14	86	80	212	188	22	20	11	10
		128	(130)	18	(16)	98	(88)	219	(206)	18	(20)	18	(13)
	500	116	119	8	8	101	81	248	201	17	25	10	9
		116	(117)	15	(10)	94	(92)	204	(218)	22	(21)	6	(8)
	1500	§	§	8	11	83	81	225	226	§	§	§	§
		§	(§)	8	(9)	87	(84)	206	(219)	§	(§)	§	(§)
	5000†	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§	§
		§	(§)	§	(§)	§	(§)	§	(§)	§	(§)	§	(§)
陽 性 対 照	S-9 Mix を必要 としな いもの	名称	ENNG	ENNG	ENNG	ENNG	NF	9-AA					
		( $\mu\text{g}$ /プレート)	3	5	2	2	1	80					
	コロニー数 /プレート	855	747	780	670	1071	1100	1011	1004	205	192	コロニー数が 多く計測不能	
		720	(774)	673	(708)	1041	(1071)	1150	(1055)	215	(204)		
S-9 Mix を必要 とする もの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA						
	( $\mu\text{g}$ /プレート)	1	2	20	20	0.5	2						
コロニー数 /プレート	329	335	82	92	238	231	955	958	135	118	145	154	
	359	(341)	92	(89)	209	(226)	977	(963)	91	(115)	153	(151)	

†: 沈殿析出 §: 生育阻害 (数値) : 平均値



## エトフメセートのマウスリンパ腫細胞-HGPRT (前進突然変異) 法による in vitro 変異原性誘発試験

(毒性資料 No. 原体-31)

試験機関 :

報告書作成年 : 1986 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

試験系 : マウスリンパ腫由来培養細胞 (L5178Y)

試験方法 :

マウスリンパ腫細胞の HGPRT 座における突然変異原性を in vitro 条件下で評価した。S-9 mix 非存在下及び存在下で、0.079 $\mu$ g/mL から 250 $\mu$ g/mL の検体濃度範囲で 8 濃度を設定しこの条件での細胞毒性を検討した。その後変異原性について 2 回の試験を行い、1 回目の試験では 7.9 $\mu$ g/mL 以上について、2 回目の試験では 100 $\mu$ g/mL 以上について観察した。

その他、溶媒対照群 1 群、陽性対照群として、4-nitroquinoline-N-oxide (NQO ; 非代謝活性化)、Benzo(a)pyrene (BP ; 代謝活性化)それぞれ 1 群を設定した。検体および陽性対照物質の調製にはジメチルスルホキシド(DMSO)を用いた。

### 生存率試験と突然変異試験

プラスチック試験管あたり  $10^7$  細胞以上のマウスリンパ腫細胞を、50mL 容のプラスチック試験管にいれ、検体溶液を添加し、非代謝活性下及び代謝活性下条件で 2 時間各濃度の検体に暴露させた。各対照群は同じ条件下で培養した。その後、遠心し、細胞を培地で洗浄して、コールターカウンターで細胞数を測定した。生存率を確認するため、各 0.1mL を希釈し 96 穴のタイタープレートに各 2 細胞/well の濃度で播種し 1-2 週間培養して、生存細胞を判定した。

一方、フラスコに再播種した細胞は、細胞増殖と誘発変異株の発現のために 7 日間培養した。その後、突然変異株細胞分離のために、最終濃度 15 $\mu$ g/mL の 6-チオグアニン(6-TG)を添加したヒポキサンチン無含有培養液の 96 穴のタイタープレートに  $2 \times 10^4$  細胞/穴を播種した。約 5%炭酸ガスを含んだ加湿された空気中で、37°C で 1-2 週間の培養後、肉眼にて細胞が生育した well 数を計測した。

結果の評価；

生存率は以下の数式によった；

TW は総 well 数。 CW は細胞増殖の見られた well 数。

EW は生存細胞を有さない well の数。 すなわち TW-CW

$$P = -\ln(EW/TW) \quad \ln \text{ は自然対数}$$

$$PE = P/2$$

$$\% \text{ 生存率} = \frac{PE(\text{処理群})}{PE(\text{対照群})} \times 100$$

変異率 (MF: mutation frequency) は、生存数 (viable)  $10^6$  当たりの変異株数として表し、以下の数式により算出した；

$$MF = \frac{PE(\text{変異株})}{PE(\text{生存株})} \times 10^6$$

ここで、各 well に播種した細胞数から、

$$\begin{aligned} MF &= \frac{P(\text{変異株})}{2 \times 10^4} \times \frac{2}{PE(\text{生存株})} \times 10^6 \\ &= \frac{-\ln[EW/TW(\text{変異株})]}{-\ln[EW/TW(\text{生存株})]} \times 100 \end{aligned}$$

統計学的な有意差は Furth et al (1981) の方法により 95% 信頼限界を求め、処理群の変異率の 95% 信頼限界が、溶媒対照の変異率の 95% 信頼限界からはずれた場合 (処理群の下限が溶媒対照群の上限を越えた場合) に有意とした。

Furth, E. E., et al. Quantitative assay for mutation in diploid human lymphoblasts using microtitre plates. Anal. Biochem., (1981), 110, 1-8.

変異原性の評価は、変異率が用量相関的に増加しており、また、別途実施された試験で再現性が確認されたときに陽性と判断した。

試験結果：

#### 1. 細胞毒性

相対生存率を指標とした細胞毒性は最高濃度である 250 $\mu$ g/mL で最も強くみられ、代謝活性化系存在下で対照群の 59 及び 75%、非存在下で対照群の 67 及び 82% であった。

## 2. 非代謝活性化条件における突然変異原性試験

1 回目の試験では S-9mix 非存在下での試験した全ての検体処理群 (7.9、25、79、250 $\mu$ g/mL) で変異率の 95%信頼限界が、溶媒対照の変異率の 95%信頼限界 (0~0.8 変異体/10<sup>6</sup> 生存細胞) の上限を越えた。しかしながら、変異率の増加と検体濃度との間に関連性はみられず、個々の変異率は溶媒対照群の背景データ (0.2~14.1 変異体/10<sup>6</sup> 生存細胞) 内であった。従ってこれらは、溶媒対照群での変異率が低かったためと判断した。また、第 2 試験 (100、150、200、250 $\mu$ g/mL) では再現性はみられなかった。

従って、検体は本非代謝活性化試験において非変異原性物質と判断された。陽性対照群の NQO は、すべての試験で明らかに変異原性を誘発した。

## 3. 代謝活性化条件における突然変異原性試験

2 回の試験とも処理した濃度のいずれにも突然変異の頻度に有意な増加は認められなかった。従って、検体は本代謝活性化試験において非変異原性物質と判断された。

陽性対照物質の BP は、すべての試験で明らかに変異原性を誘発した。

以上の結果より、本検体は代謝活性化の有無にかかわらず、マウスリンパ腫由来培養細胞 HGPRT 前進突然変異原性試験において非変異原性物質であると判断された。

試験①

群	濃度 µg/mL	S-9 mix-		S-9 mix+	
		相対増殖 <sup>A</sup>	変異率×10 <sup>6</sup> (95%信頼限界) <sup>B</sup>	相対増殖 <sup>A</sup>	変異率×10 <sup>6</sup> (95%信頼限界) <sup>B</sup>
溶媒対照 (DMSO)	0	100	0.2(0-0.8)	100	2.0(1.3-3.2)
検体	0.079	113	—	81	—
	0.25	99	—	114	—
	0.79	92	—	89	—
	2.5	111	—	96	—
	7.9	92	5.9(4.5-7.8) ↑	100	0.8(0.4-1.7)
	25	114	2.4(1.6-3.7) ↑	96	1.2(0.7-2.2)
	79	97	3.1(2.1-4.5) ↑	80	0.2(0-0.8)
	250	82	1.7(1.1-2.7) ↑	59	2.5(1.7-3.8)
陽性対照 NQO	0.15	82	33.8(26.1-43.8) ↑		
	0.2	58	46.6(36.9-58.8) ↑		
陽性対照 BP	2			69	61.4(49.1-76.7) ↑
	3			50	167.1(134.1-208.2) ↑

試験②

群	濃度 µg/mL	S-9 mix-		S-9 mix+	
		相対増殖 <sup>A</sup>	変異率×10 <sup>6</sup> <sup>B</sup> (95%信頼限界)	相対増殖 <sup>A</sup>	変異率×10 <sup>6</sup> <sup>B</sup> (95%信頼限界)
溶媒対照 (DMSO)	0	100	2.8(2.0-3.9)	100	2.2(1.5-3.2)
検体	50	96	—	93	—
	100	70	1.2(0.8-1.9)	90	0.9(0.5-1.6)
	150	73	1.6(1.0-2.5)	66	0.9(0.5-1.6)
	200	67	0.4(0.2-1.0)	83	1.3(0.8-2.1)
	250	67	3.4(2.5-4.6)	75	0.9(0.5-1.6)
陽性対照 NQO	0.15	28	28.8(22.7-36.5) ↑		
	0.2	20	31.8(25.2-40.1) ↑		
陽性対照 BP	2			22	34.1(27.0-43.1) ↑
	3			17	57.3(45.9-71.6) ↑

NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide BP: Benzo(a)pyrene

A: 溶媒対照に対する百分率 B: 10<sup>6</sup>個の細胞あたりの変異細胞数

↑ 当該処理群の95%信頼限界が溶媒対照の95%信頼限界から逸脱していることを示す。

—: 試験を行わなかった。

エトフメセートのラット初代肝培養細胞を用いた in vitro 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験  
(毒性資料 No. 原体-32)

試験機関 :

報告書作成年 : 1988 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

試験系 : ラット肝臓の初代培養細胞

試験方法

ラットの初代肝培養細胞を用い、in vitro 系において検体あるいはその代謝物の DNA に及ぼす影響を、UDS を指標として評価した。これは、核内の粒子数を計測し、DNA に対する障害の存在とその程度を推定することによった。200 $\mu$ g/mL $\sim$ 1.56 $\mu$ g/mL の用量において UDS を評価した。

1. 供試液の調製

検体は DMSO に溶解した。陽性対照の 4,4'-bismethylaminobenzophenone はエタノールに溶解した。

2. 肝細胞の単離

試験毎に無処理の F344 系雄ラット 1 例の肝をコラゲナーゼ液を用いて生体灌流し、摘出してから肝細胞を単離調製した。

3. 用量

200 $\mu$ g/mL は検体の溶解上限であった。用量は 200 $\mu$ g/mL から 1.56 $\mu$ g/mL の 8 用量とし、曝露させた。20 $\sim$ 24 時間後にトリパンブルー色素を排除した細胞数を生存細胞数とした細胞毒性試験では 200 $\mu$ g/mL で強い細胞毒性がみられた。溶媒対照は 2 反復とした。陽性対照は 4、5、16 $\mu$ g/mL の 3 濃度区を設けた。

4. UDS 検査用標本の作製と観察

単離した肝細胞は、牛胎児血清を添加した Williams E 培養液 (WME) で培養した。まず、単層細胞を得るために、多穴プレートに  $1 \times 10^5$  個の肝細胞を加え、2 時間 5% 炭酸ガス下の加湿された空気中で 37 $^{\circ}$ C で培養した。培養皿中にカバースリップを置き、その後 WME での洗浄によりカバースリップに未接着の細胞を除去した。

単層細胞を得てから、多穴プレートを用いて所定の検体液とともに 10 $\mu$ Ci/mL の  $^3$ H-チミジンを含む培養液で 18 $\sim$ 20 時間培養した。実験は各用量 4 連 (4 穴) 実施し、そのうち 1 穴はトリパンブルー色素を添加して細胞毒性の評価に用いた。細胞毒性は色素を排除した細胞の割合を生存率とした。

一方、UDS 試験では培養後チミジン含有 WME で 3 回洗い、1%クエン酸ナトリウムでの核の膨化処理に続いて、氷酢酸と純エタノール混液(1:3)での細胞の固定を行い、風乾した。オートラジオグラフィ処理のために、スライドガラスに置き、カバーガラスをのせ、写真用乳剤での処理を行い、暗箱中において-20°Cで7日間の保持感光後に現像した。さらに、スライドガラスを methyl green/pyronin Y で染色した。各動物、各濃度あたり 3 枚のスライドガラスを作製し、各スライドガラスごとに 50 細胞を観察した。従って、各濃度あたり 150 細胞を評価した。<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みを反映する細胞中の粒子を、顕微鏡を用いて計測した。150 細胞それぞれの核に存在する粒子数を計測した。次に核の周辺部を 3 視野観察して細胞質中の粒子数を計測し、その平均値を算出した。先の核に存在する粒子数から、細胞質中の粒子数の平均値を差し引いて、核にとりこまれた <sup>3</sup>H-チミジンによる正味の粒子数を算出した。計算上、細胞質中の粒子数が核中の粒子数を上回る場合、正味の核粒子数がマイナスになることがある。これらの結果から、正味の核粒子数、6 個以上及び 20 個以上の粒子を有する核数を求めた。

判定基準：以下の条件のいずれかが満たされるとき陽性とした：

1. 平均正味核粒子数が核あたり平均値で 6 以上、溶媒対照値を上回る。
2. 10%以上の細胞において、正味粒子数が溶媒対照値を 6 以上上回る。
3. 2%以上の細胞において正味粒子数が 20 以上である。
4. 再現性がある。
5. 用量上昇と共に反応が増強する傾向がある。

試験結果：

核粒子数、6 個以上及び 20 個以上の粒子を有する核数、生存率の要約を表に示した。第一試験では 100 及び 200µg/mL で、第二試験では全ての検体処理区で細胞生存率の低下がみられた。第二試験では用量とともに低下の度合いが大きくなった。十分な生存細胞数が得られなかった試験区では、粒子の計測はできなかった。いずれの試験でも処理によって UDS を示唆する兆候は認められなかった。

従って、検体はラット初代肝培養細胞において、不定期 DNA 合成を誘発しなかったものと評価した。

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。

試験 1

試験群	核当たりの 粒子数*	6個以上の粒子 を有する核(%)	20個以上の粒子を 有する核(%)	生存率 (%)
溶媒対照群 (DMSO: 1%) A	0.66	0.67	0	93
B	0.50	0	0	86
陽性対照群: 4µg/mL	4.71	37.33	0	96
8µg/mL	4.33	26.00	0	91
16µg/mL	12.35	96.00	9.33	99
検体 1.56 µg/mL	0.41	0	0	96
3.125 µg/mL	0.53	0	0	96
6.25 µg/mL	0.42	0	0	96
12.5 µg/mL	0.41	0	0	89
25 µg/mL	0.42	0	0	92
50 µg/mL	0.51	0	0	91
100 µg/mL	0.56	0	0	76
† 200 µg/mL	-§	-§	-§	41

試験 2

試験群	核当たりの 粒子数*	6個以上の粒子 を有する核(%)	20個以上の粒子を 有する核(%)	生存率 (%)
溶媒対照群 (DMSO: 1%) A	0.79	0.67	0	84
B	0.08	0	0	85
陽性対照群: 4µg/mL	16.97	100	30.00	72
8µg/mL	17.91	100	33.33	70
16µg/mL	20.24	100	56.67	60
検体 1.56 µg/mL	-0.01	0	0	80
3.125 µg/mL	0.06	0	0	67
6.25 µg/mL	0.08	0	0	73
12.5 µg/mL	-0.26	1.33	0	60
25 µg/mL	0.63	0	0	51
50 µg/mL	0.11	0	0	59
100 µg/mL	-§	-§	-§	25
† 200 µg/mL	-§	-§	-§	9

† : 沈澱析出。 § : 生育阻害。 \* : 150細胞の平均値。

DMSO : ジメチルスルホキシド

陽性対照 : 4,4'-bismethylaminobenzophenone

エトフメセートの染色体異常誘発作用を評価するための  
ヒトのリンパ球の培養における in vitro 細胞遺伝学的試験

(毒性資料 No. 原体-33)

試験機関：

報告書作成年：1986年(英国) [GLP 対応]

検体の純度：

試験系： 健常人の血液のリンパ球

試験期間： 72時間 (1986年6月30日～9月2日：培養・処理・標本作成)

試験方法：

・検体の調製方法

検体、陽性対照の Ethylmethane sulfonate 及び Cyclophosphamide はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

・染色体異常試験

健常人の血液を無菌的に採取し、RPMI 1640 組織培養培地で希釈した。リンパ球を密度勾配遠心分離にて得た。洗浄及び遠心分離を3回繰り返した後、2%フィトヘムアグルチニン、ウシ胎児血清を含む RPMI 1640 培地に細胞を  $1 \times 10^6$  細胞/ml になるように懸濁し、この細胞懸濁液 1 ml を多穴プレートにて、5%二酸化炭素を含有する加湿気中 37°C で 48 時間培養した。

予備試験

48 時間の培養後に検体を S-9 Mix 存在下及び非存在下ともに、0.21、0.43、0.86、1.72、3.44、6.88、13.75、27.5、55 及び 110 µg/mL の濃度になるように培養液に加えた。溶媒対照群は DMSO のみを加えた。処理は 2 時間おこない、溶媒対照は 4 穴、検体処理群は 2 穴設けた。処理後、細胞を検体を含まない培地で洗浄し、再度 22 時間培養した。コルヒチンを添加し、2 時間培養後、低張状態に 11 分おき、細胞を遠心して集め固定した。各濃度についてスライド 2 枚を作成し、ギムザ染色して顕微鏡下で中期細胞分裂像を観察した。

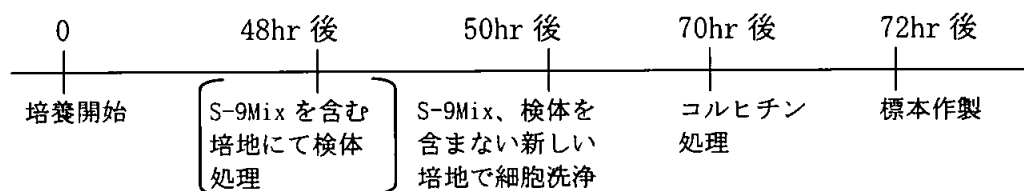


### 本試験

48時間の培養後に検体を S-9 Mix 存在下及び非存在下ともに、11、55 及び 110 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度になるように培養液に加えた。陽性対照群は S-9 Mix 非存在下は Ethylmethane sulfonate を、及び S-9 Mix 存在下 Cyclophosphamide を用いた。処理は 2 時間おこない、溶媒対照は 4 穴、その他は 2 穴設けた。処理後、細胞を検体を含まない培地で洗浄し、再度 20 時間培養した。コルヒチンを添加し、2 時間培養後、低張状態に 11 分おき、細胞を遠心して集め固定した。ギムザ染色して観察した。

試験は下記手順のように処理を行い各培養液毎に 5 枚の標本を作製した。

### 実験の実施手順



染色体異常の評価は溶媒対照は約 400 個、その他の群は各濃度毎に約 200 個の中期細胞の染色体を観察した。染色体の分類はギャップ、切断、断片、欠失、交換、重複異常とした。

### 試験結果：

#### 1. 予備試験 分裂頻度の観察

S-9 Mix 存在下及び非存在下ともに 検体投与群の細胞分裂指数は溶媒対照群に比べ実質的に減少がみられなかった。

表 1. 細胞分裂頻度

試験群	濃度 µg/mL	細胞分裂			
		S-9 Mix-		S-9 Mix+	
		絶対数 <sup>1</sup>	分裂指数(%) <sup>2</sup>	絶対数 <sup>1</sup>	分裂指数(%) <sup>2</sup>
無処理対照群	0	84, 84, 85, 77	8.25	134, 109, 115, 113	11.63
溶媒対照群	0	76, 62, 78, 64	7	109, 131, 105, 99	11.1
検体投与群	0.21	62, 88	7.5	102, 95	9.35
	0.43	73, 68	7.05	110, 98	10.4
	0.86	93, 80	8.65	91, 101	9.6
	1.72	65, 69	6.7	72, 99	8.55
	3.44	47, 65	5.6	105, 86	9.55
	6.88	46, 65	5.55	119, 129	12.27
	13.75	84, 59	7.15	107, 120	10.99
	27.5	67, 69	6.8	109, 122	11.17
	55	97, 82	8.95	118, 104	11.1
	110	198, 164	18.1	89#, 83#	8.6

<sup>1</sup>検査した 1000 個の核のうち、中期分裂像がみられた核数。 #:核濃縮した細胞がみられた。

<sup>2</sup>検査した 1000 個の核のうち、中期分裂像がみられた核の割合(%)。

## 2. 染色体の評価

表 2 に結果を示す。

### S-9 Mix 非存在下

検体処理群に異常はみられなかった。陽性対照群は異常割合に、明らかで統計学的に有意な増加を引き起こした。

### S-9 Mix 存在下

検体処理群は染色体異常数の増加をもたらさなかった。評価に重要なパラメーター(ギャップを含める場合と含めない場合の異常を有する中期細胞及び交換を有する中期細胞)に関して、統計学的に有意な増加は認められなかった。陽性対照群は異常所見に明白な統計学的に有意な増加をもたらした。

結論として検体は S-9 Mix 非存在下および存在下とも構造的にも数的にも染色体異常誘発作用を示さなかった。

表 2. 染色体異常細胞数

実験群 濃度 µg/mL	S9- Mix	観察 細胞数	異常細胞数				構造異常の分類												
			ギャップを含む		ギャップを含まない		ibf	bwf	bf	i	c	sm	r	d	a	gt	p	chr	
			実数 <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>	実数 <sup>1</sup>	% <sup>2</sup>													
溶媒対照	-	400	1	0.25	1	0.25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
11		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
110		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照 <sup>A</sup>		200	19	9.5***	19	9.5***	0	5	3	1	0	5	0	0	15	0	0	0	2
溶媒対照	+	400	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無処理(蒸留水)		200	1	0.5	1	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
11		200	1	0.5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
55		200	1	0.5	1	0.5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
110		200	1	0.5	1	0.5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照 <sup>B</sup>		200	60	30***	60	30***	0	25	1	15	4	20	1	1	72	5	1	14	

処理時間 ; 2 時間      <sup>1</sup>細胞 100 個当たり      <sup>2</sup> 検査した核のうち、中期分裂像がみられた核の割合(%). \*\*\* : p ≤ 0.001(Fisher の正確確率検定)

A : Ethylmethane sulfonate (500µg/mL), B : シクロホスファミド(20µg/mL)

- |                     |                   |
|---------------------|-------------------|
| ibf: 染色体切断、断片を伴う    | r : 染色体環          |
| bwf: 染色分体切断、断片を伴う   | d : 二動原体          |
| bf : 染色分体切断、断片を伴わない | a : 無動原体          |
| i : 交換              | gt : 10 個以上の異常の重複 |
| c : 複合した再構成         | p : 細胞細粉化         |
| sm : 単鎖の微小染色体       | chr: 染色分体ギャップ     |

## エトフメセートのマウスを用いた小核試験

(毒性資料No. 原体-34)

試験機関：

報告書作成年：1985年 [GLP対応]

検体の純度：

試験動物：CD-1マウス、1群 雌雄各15匹、陽性対照群は雌雄各5匹、体重雌雄 22～24g

試験方法：検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁した。

本試験；検体8100mg/kgの用量を1回強制経口投与した。陽性対照群にはマイトマイシンC 4mg/kgを同様に投与した。陰性対照群には溶媒として用いた1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。検体投与群及び溶媒対照群は投与後24、48及び72時間目に雌雄各5匹ずつの動物を屠殺し、大腿骨より骨髓塗抹標本作製した。陽性対照群は投与後24時間に屠殺し、骨髓塗抹標本作製した。

塗抹標本はSchmid法により作製し、以下の項目を鏡検した。

- (i) 各動物につき、1000個の多染性赤血球(PCE)における小核を有する多染性赤血球(MNPCE)出現頻度
- (ii) 各動物につき、多染性赤血球1000個当たり正染赤血球数
- (iii) 各動物につき、1000個の正染性赤血球(NCE)における小核を有する正染赤血球数

評価基準として小核を有する多染性赤血球数が統計学的に有意に増加した場合を陽性と判定した。

結果：

死亡例は認められなかった。

検体投与群で小核を有する多染性赤血球数の有意な増加は認められなかった。

多染性赤血球及び正染性赤血球比は検体投与群と溶媒対照群で同等であった。

陽性対照であるマイトマイシンCでは、小核を有する多染性赤血球の有意な増加が認められた。赤血球生成阻害はいずれの試験でも認められなかった。

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。

試験結果

処理時間	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	MNPCEの出現頻度/1000細胞	PCE/NCE/1000細胞	MNNCEの出現頻度/1000細胞
24	陰性対照 (1%メチルセルロース液)	0 mg/kg	雌	10	0.7	0.833	0.2
48			雄	10	0.3	0.994	0
72			雌	10	0.6	1.084	0.2
24	検体	8100 mg/kg	雌	10	0.3	0.752	0.3
48			雄	10	0.2	1.035	0
72			雌	10	0.3	1.083	0
24	陽性対照 (マイトマイシンC)	4 mg/kg	雌	10	58.4***	0.484***	1.1

\*\*\* :  $p < 0.001$  (Wilcoxon検定)

MNPCE : 多染性赤血球1000個あたりの小核を有する細胞数

MNNCE : 正染性赤血球1000個あたりの小核を有する細胞数

以上の結果、本試験条件下において、検体は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判断された。

## (14) 生体機能への影響

### エトフメセートにおける薬理試験

(毒性資料 No. 原体-35)

試験機関：

報告書作成年：2005年[GLP 対応]

検体の純度：

#### 1. 一般状態観察

##### 1-1. マウスにおける一般状態観察

供試動物：Cr1j:CD1(ICR)系雌雄マウス，5週齢，雄24.1～28.5g，雌20.0～23.0g  
一群各3匹

投与方法：検体を乳鉢でよく磨砕した後、1w/v%メチルセルロース#400(MC)水溶液を加えて懸濁させた。0(溶媒対照)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。投与前日から一晩絶食させ、給餌は投与6時間後の観察終了時に再開した。Irwinの多次元観察法に準じた方法で行動変化、神経症状等の中毒症状を評価した。投与開始前、これらの検査は、検体投与1、2、4、6及び24時間後に行った。投与開始前と24時間後の観察終了時に体重測定を実施した。

結果：一般症状についてはいずれの測定時間においても雌雄ともに溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。また24時間後に測定した体重においても影響は雌雄ともに認められなかった。

##### 1-2. ラットにおける一般症状の観察

供試動物：Cr1j:CD(SD)系雄ラット，5週齢，101.2～116.9g，一群各5匹

投与方法：検体を乳鉢でよく磨砕した後、1w/v%メチルセルロース#400(MC)水溶液を加えて懸濁させた。0(溶媒対照)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。投与前日から一晩絶食させ、給餌は投与6時

間後の観察終了時に再開した。機能観察総合評価法(FOB)に準じた方法で行動変化、神経症状等の中毒症状を評価し、併せて体温及び瞳孔径も測定した。これらの検査は、投与開始前、検体投与1、2、4、6及び24時間後に行った。投与開始前と24時間後の観察終了時に体重測定を実施した。

結果：一般症状、体温及び瞳孔径について、いずれの測定時間においても溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。また24時間後に測定した体重においても影響は雌雄ともに認められなかった。

## 2. 中枢神経系に対する作用

### 2-1. ラットの自発運動量測定

供試動物：Cr1j:CD(SD)系雄ラット，5週齢，107.9～134.5g，一群各5匹

投与方法：検体を乳鉢でよく磨砕した後、1w/v%メチルセルロース#400(MC)水溶液を加えて懸濁させた。投与前日から一晩絶食させたラットに0(溶媒対照)、200、600、2000mg/kgを経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。検体投与1、2、4、6及び24時間後に自発運動量を測定した。自発運動量は、ラットを1匹ずつプラスチック製平底ケージ(215mm(W)×320mm(D)×130(H))に入れ、各々3分間の運動量を受動型赤外線センサー方式による自発運動量計測システムで測定した。

結果：自発運動量に対し、いずれの用量においても影響はみられなかった。

### 2-2. マウスのヘキソバルビタール誘発睡眠に対する作用

供試動物：Cr1j:CD1(ICR)系雄マウス，5週齢，雄25.1～31.9g，一群各8匹

投与方法：検体を乳鉢でよく磨砕した後、1w/v%メチルセルロース#400(MC)水溶液を加えて懸濁させた。投与前日から一晩絶食させたマウスに検体<sup>1</sup>を経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。検体投与1時間後にヘキソバルビタール80mg/kgを腹腔内投与した。ヘキソバルビタール投与後、正向反射消失から回復までの時間(睡眠時間)を測定した。

結果：200mg/kg群以上で睡眠時間に統計学的に有意な延長作用が認められたが、60mg/kg以下の用量では有意な作用を及ぼさなかった。FOBを含めた一般状態の観察や、自発運動量の測定において、2000mg/kgまで影響を示唆する変化が認められなかったことから、200mg/kg以上で認められた睡眠時間の延長は中枢神経系への影響を示唆するものではなく、ヘキソバルビタールの代謝系に影響を

<sup>1</sup> 0(溶媒対照)、200、600、2000mg/kgを投与した。この結果無作用量が設定できなかったため、更に、0(溶媒対照)、2、6、20、60、200mg/kgを追加設定した。

及ぼした可能性が示唆された。従って本検体は中枢神経系へ影響を及ぼさないものと考えられた。

ヘキソバルビタール誘発睡眠時間の延長

用量(mg/kg)	睡眠時間(分)	#	用量(mg/kg)	睡眠時間(分)	#
0(溶媒対照)	64±7	—	0(溶媒対照)	87±8	—
200	127±21*	↑198	2	82±10	94
600	137±18**	↑214	6	103±14	118
2000	154±14**	▲240	20	81±10	93
			60	99±10	114
			200	201±26*	↑231

睡眠時間；平均±S.E.，#；変動の目安として対照群を100としたときの値を示したもの  
↑/\*：p<0.05，▲/\*\*：p<0.01 (Dunnett's test)

3. 循環器系に対する作用：無麻酔ラットの血圧、心拍数に対する作用

供試動物：Cr1j:CD(SD)系雄ラット，6週齢，158.4～189.9g，一群各5匹

投与方法：検体を乳鉢でよく磨砕した後、1w/v%メチルセルロース#400(MC)水溶液を加えて懸濁させた。投与前日から一晩絶食させたラットに0(溶媒対照)、200、600、2000mg/kgを経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。検体投与1、2及び4時間に無加温型非観血式血圧計を用いてTail-cuff法で収縮期血圧及び心拍数を測定した。各測定ポイントについて5回測定し、収縮期血圧の最高値と最低値を除いた3回分の平均を各個体の測定値とした。尚、試験実施に当たってラットを測定器にならすため2回以上の馴化測定を実施した。

結果：無麻酔下血圧及び心拍数に対し、いずれの用量においても影響はみられなかった。

4. 腎機能に対する作用：ラットの尿量及び尿中電解質に対する作用

供試動物：Cr1j:CD(SD)系雄ラット，6週齢，151.6～165.2g，一群各5匹

投与方法：検体を乳鉢でよく磨砕した後、1w/v%メチルセルロース#400(MC)水溶液を加えて懸濁させた。投与前日から一晩絶食させたラットに0(溶媒対照)、200、600、2000mg/kgを経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。検体投与直後に生理食塩水を2.5mL/100g体重の割合で投与し、1匹ずつ採尿ケージ入れた。検体及び溶媒投与後6時間までの尿を採取して、遠心分離(約4°C、1500rpm、10分間)し、上清を採取するとともに尿量を測定した。尿中のNa<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>及びCl<sup>-</sup>濃度及び浸透圧をそれぞれ電解質自動分析装置及び多検体用全自動浸透圧測定装置を用いて測定した。Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>比を求めた。尚、蓄尿中は絶食、絶水とした。



結果：検体のいずれの用量においても尿量、電解質に対して影響を及ぼさなかった。尚、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 比において、200mg/kg で対照群に対して統計学的に有意な上昇が認められたが、600 及び 2000mg/kg では影響は認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

用量	$\text{Na}^+/\text{K}^+$ 比
0(溶媒対照)	$3.20 \pm 0.35$
200	$5.00 \pm 0.66^*$
600	$3.32 \pm 0.49$
2000	$2.39 \pm 0.19$

睡眠時間；平均±S.E.

\* :  $p < 0.05$  (Dunnett's test)

以上の結果から、本検体は症状、中枢神経系、循環器系、腎機能および自律神経系に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

本試験の結果ならびに別に実施された急性毒性試験の結果は、本検体の経口、経皮および吸入経路からの急性毒性は非常に弱いことを示しており、本検体が散布作業に伴って暴露された場合や誤って摂取された場合に、急性中毒が発現する可能性は極めて低いものと推測された。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

項目		投与経路	投与量 mg/kg	動物数/ 群	無作用量 mg/kg	作用量 mg/kg	結果の 概要
中 枢 神 経 系	ラットの一般症状 (FOB)	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
	マウスの一般症状 (Irwin)	経口	0, 200, 600, 2000	♂♀:各3	♂:2000	—	影響なし
	ラットの自発運動量	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
	マウス睡眠作用	経口	0, 2, 6, 20, 60, 200, 600, 2000	♂:8	♂:60	≥200	睡眠時間の延長#
	ラットの体温 (FOB に含む)	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
循環系	無麻酔ラット 血圧, 心拍数	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
自律神経系	ラットの瞳孔径 (FOB に含む)	経口	0, 200, 600, 2000	♂: 5	♂:2000	—	影響なし
腎機能	ラットの尿量, 尿中 電解質, 尿浸透圧	経口	0, 200, 600, 2000	♂: 5	♂:2000	—	影響なし

#200mg/kg 以上で認められた睡眠時間の延長は中枢神経系への影響を示唆するものではなく、ヘキソバルビタールの代謝系に影響を及ぼした可能性が示唆された。

## 1. 代謝物

### (1) 急性毒性

代謝物 のラット及びモルモットにおける急性毒性(経口及び腹腔内投与)試験  
(毒性資料 No. 代謝物-1)

試験機関：

報告書作成年：1973年

検体の純度：

供試動物：ウイスター系アルビノ雌ラット、体重；200～250g、  
Dunkin-Hartley系雌モルモット、体重；750～850g  
1群雌2匹

観察期間：7日間

投与方法：検体を glycerol formal に加えて有効成分 30% の溶液を調製し経口及び腹腔内投与液とした。経口投与はラットあるいはモルモットに胃ゾンデを用いて単回経口投与した。腹腔内投与はラットに腹腔内注射により行った。投与量は以下のとおりである。

動物種	経路	投与量(mg/kg 体重)
ラット	経口	1200
ラット	腹腔内	300
モルモット	経口	600、1200

観察・検査項目：

- 一般症状の観察及び体重の測定  
一般症状の観察は7日間行った。体重測定は、検体投与直前、投与後7日に行った。
- 剖検  
観察終了時の全生存動物を屠殺し、剖検した。

結果：

投与方法	経口	経口	腹腔内
動物種	ラット	モルモット	ラット
投与量 (mg/kg)	1200	600、1200	300
LD50 (mg/kg)	雌：>1200	雌：900	雌：300
死亡開始時間及び終了時間	雌：—	雌：2日	雌：4日
症状発現時間及び消失時間	雌：—	雌：—	雌：10分～3時間
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：1200	雌：600	雌：—
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：1200	雌：600	雌：—

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。

ラットの経口投与では中毒症状及び死亡は認められなかった。モルモットの経口投与では 1200mg/kg 群の全例が、投与後 2 日に死亡した。600mg/kg 群では中毒症状及び死亡は認められなかった。

ラットの腹腔内への 300mg/kg 投与では投与後 4 日に 1 例が死亡した。残りの 1 例では頻呼吸が投与後 10 分～3 時間にかけて認められた。

体重増加に影響は認められなかった。

剖検において、検体に起因する所見は認められなかった。

代謝物 のラット及びモルモットにおける急性毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物-2)

試験機関：

報告書作成年：1973年

検体の純度：

供試動物：ウイスター系アルビノ雌ラット、体重；190～220g、  
Dunkin-Hartley系雌モルモット、体重；480～900g  
1群雌2匹

観察期間：7日間

投与方法：検体を glycerol formal に加えて有効成分 27.5% の溶液を調製し経口及び腹腔内投与液とした。経口投与はラットあるいはモルモットに胃ゾンデを用いて単回経口投与した。腹腔内投与はラットに腹腔内注射により行った。投与量は以下のとおりである。

動物種	経路	投与量(mg/kg 体重)
ラット	経口	1100
ラット	腹腔内	275
モルモット	経口	550、1100

観察・検査項目：

- ・ 一般症状の観察及び体重の測定  
一般症状の観察は7日間行った。体重測定は、検体投与直前、投与後7日に行った。
- ・ 剖検  
観察終了時の全生存動物を屠殺し、剖検した。

結果：

投与方法	経口	経口	腹腔内
動物種	ラット	モルモット	ラット
投与量 (mg/kg)	1100	550、1100	275
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌：>1100	雌：>1100	雌：>275
死亡開始時間及び終了時間	雌：-	雌：-	雌：-
症状発現時間及び消失時間	雌：-	雌：-	雌：-
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：1100	雌：1100	雌：275
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：1100	雌：1100	雌：275

いずれの動物種、投与経路でも中毒症状及び死亡は認められなかった。

## 2. 製剤毒性

### (1) エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤の ラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤

組成	エトフメセート原体	10.0%
	デスメディファム原体	6.4%
	フェンメディファム原体	8.2%
	有機溶剤、乳化剤等	75.4%

供試動物：ラット、SD系 (Hsd:Sprague-Dawley(CD)) 雌雄、1群雌雄各5匹、  
試験開始時8~11週齢、体重 雄219~227g、雌200~213g

試験期間：14日間観察

試験方法：検体を希釈せず、雌雄各5匹に5000mg/kgとなるよう単回経口投与した。その結果、雄1例、雌4例が死亡したため、雌についてのみ一群5匹からなる2群を設け、各々2000及び1260 mg/kgを単回経口投与した。

観察・検査項目：毎日1回以上注意深く14日間観察した。体重を投与直前、投与後7日及び14日目に測定した。試験終了時、全生存動物について剖検した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：5000, 雌：5000, 2000, 1260
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄：>5000 雌：3255 (2122~4994)
死亡開始時間及び終了時間	死亡開始：5時間 終了時間：25時間
症状発現時間及び消失時間	症状発現：12分後 消失時間：10日後
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌：—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：— 雌：1260

5000 mg/kg の雌 4 匹と雄 1 匹、2000 mg/kg 体重の雌 1 匹が死亡した。中毒症状は雌雄共に 12 分以内に全動物で立毛が観察され、その後全用量群で円背、よろめき歩行、嗜眠、異常呼吸が認められた。生存動物ではこれらの症状は 10 日目までに消失した。体重変化に、投与の影響は認められなかった。

死亡例の剖検では、全身の臓器の大部分がうっ血しており 5000 mg/kg の雄 1 匹および雌 3 匹では、肝臓あるいは脾臓の表面に斑点も観察された。生存例の剖検では影響はみられなかった。

(2) エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤の  
ラットにおける急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

報告書作成年：1999年

[GLP 対応]

検体：エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤  
組成 エトフメセート原体 10.0%  
デスメディファム原体 6.4%  
フェンメディファム原体 8.2%  
有機溶剤、乳化剤等 75.4%

供試動物：ラット、SD系 (Hsd:Sprague-Dawley(CD)) 雌雄、1群雌雄各5匹、  
試験開始時8~11週齢、体重 雄222~244g、雌212~227g

観察期間：14日間観察

試験方法：投与前日に動物の背部中央を体表の約10%刈毛し、約5×5cmの面積へ検体をそのまま5000mg/kgとなるよう塗布した。投与容量は体重1kg当たり4.66mL(検体の比重：1.073g/mL)とした。投与部位を多孔ガーゼで覆い包帯で固定し、さらに防水性包帯を巻いて固定した。処理後24時間に処理部位を微温湯で洗浄した。

観察・検査項目：毎日1回以上注意深く14日間観察した。また塗布部位の皮膚の状態を観察した。体重を処理直前、処理後7日及び14日目に測定した。終了時の生存動物について屠殺剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄雌： 5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄雌： >5000
死亡開始時間及び終了時間	—
症状発現時間及び消失時間	—
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mL/kg)	雄雌： 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mL/kg)	雄雌： 5000

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。雄1例で軽度な紅斑及び痂皮(いずれも評点1)が投与翌日のみに認められた。体重への影響は認められなかった。剖検では雌雄共に異常は認められなかった。



(3) エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤の  
ラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

試験成績の提出除外

本薬についての吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について」の「第4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(4) エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤の  
ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤  
組成 エトフメセート原体 10.0%  
デスメディファム原体 6.4%  
フェンメディファム原体 8.2%  
有機溶剤、乳化剤等 75.4%

供試動物：ウサギ（ニュージーランドホワイト系）1群雄3匹、  
試験開始時約13週齢以上、投与日体重 2.5～2.8kg

試験期間：7日間観察

試験方法：投与約24時間前に動物の背部から腰部を約10×10cmの広さを剃毛した。  
検体0.5mLをガーゼパッド(2.5×2.5cm)に塗布し、剃毛部位に貼布した。  
処理部位は伸縮性絆創膏で覆い、4時間暴露した。暴露終了時に絆創膏、  
ガーゼパッドを取り除き、残存した検体を洗浄して除去した。

観察項目：除去後30、60分及び投与後24、48、及び72時間に皮膚を検査し、紅斑/痂  
皮の形成と浮腫の有無についてDraizeの評点表に従って採点した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

パッチの除去1時間後から全動物で、評点1～2の紅斑及び浮腫がみられた。  
1匹にのみ、5日目以降に落屑が見られた。皮膚反応は1匹では4日  
目までに、残りの2匹では7日目までに消失した。

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。

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間						
			60分	2日	3日	4日	5日	6日	7日
1	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	2a	1a	0a
	浮腫	4	2	1	1	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	1	1	0
	浮腫	4	1	1	1	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	2	1	1	0	-	-	-
	浮腫	4	1	0	0	0	-	-	-
合計	紅斑・痂皮	12	5	4	4	3	3	2	0
	浮腫	12	4	2	2	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.67	1.33	1.33	1	1	0.67	0
	浮腫	4	1.33	0.67	0.67	0	0	0	0

a 落屑を伴っていた。

以上の結果、本剤はウサギの皮膚に対し軽度の刺激性を有すると判断された。

(5) エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤の  
ウサギを用いた眼刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関：

報告書作成年：1999年

[GLP 対応]

検体：エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤

組成	エトフメセート原体	10.0%
	デスメディファム原体	6.4%
	フェンメディファム原体	8.2%
	有機溶剤、乳化剤等	75.4%

供試動物：ウサギ（ニュージーランドホワイ系）1群雄3匹、  
試験開始時約11週齢以上、投与日体重 2.2～3.5kg

観察期間：7日間観察

試験方法：被験物質滴下前に、角膜の損傷や結膜の炎症などが無いことを検査した。

動物の片方の眼の下側を開いて検体をそのまま0.1mL滴下し、約1秒間上下の眼瞼を合わせ保持した。もう片方の眼は無処置で対照眼とした。処置から1時間、動物を固定器で固定した。洗眼群は設定しなかった。

観察項目：処置後1時間、2、3、4及び7日後に眼を検査した。Draizeの方法に従い、眼の変化について採点した。

試験結果：処置後1時間に全例で結膜の発赤が認められ、浮腫も認められた。2、4または7日後には消失した。処置後1時間のみで3例のうち2例で軽度の分泌物が認められた。観察結果を下表に示す。

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

項目		最高 評点	処理後時間						
			1時間	1日	2日	3日	4日	7日	
1	角膜 混濁	程度 (A)	4	0	0	0	0	0	0
		面積 (B)	4	0	0	0	0	0	0
	虹彩 (C)		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤 (D)	3	2	2	2	2	1	0
		浮腫 (E)	4	2	0	0	0	0	0
		分泌物 (F)	3	1	0	0	0	0	0
2	角膜 混濁	程度 (A)	4	0	0	0	0	0	—
		面積 (B)	4	0	0	0	0	0	—
	虹彩 (C)		2	2	0	0	0	0	—
	結膜	発赤 (D)	3	2	2	1	1	0	—
		浮腫 (E)	4	0	1	0	0	0	—
		分泌物 (F)	3	0	0	0	0	0	—
3	角膜 混濁	程度 (A)	4	0	0	0	0	—	—
		面積 (B)	4	0	0	0	0	—	—
	虹彩 (C)		2	0	0	0	0	—	—
	結膜	発赤 (D)	3	2	1	0	0	—	—
		浮腫 (E)	4	1	1	0	0	—	—
		分泌物 (F)	3	1	0	0	0	—	—
合計		330	22	14	6	6	2	0	
平均		110	7.33	4.67	2	2	0.67	0	

\*表の合計および平均は眼刺激指数 (IOI)  $= A \times B \times 5 + C \times 5 + (D+E+F) \times 2$  の値である。

以上の結果、本剤はウサギの眼に対し軽度の刺激性を有するものと判断された。

(6) エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤の  
モルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 製剤-6)

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP 対応]

検体：エトフメセート・デスメディファム・フェンメディファム乳剤

組成	エトフメセート原体	10.0%
	デスメディファム原体	6.4%
	フェンメディファム原体	8.2%
	有機溶剤、乳化剤等	75.4%

供試動物：モルモット Hartley系 (Hartley/Dunkin) 雌、1群10匹 (体重 428～520g)

観察期間：約5週間

試験方法：(Buehler法)

投与量設定根拠：予備試験の結果、原液をそのまま貼付した場合にも、明白な皮膚反応が認められなかったことから、感作及び惹起は原液をそのまま用いた。モルモットの感受性の確認は、本試験機関で定期的にHexyl cinnamic aldehydeを用いて実施している。

感作：各感作の前に電気バリカンでモルモットの左肩甲部を毛刈りした。原液0.5mLを2×2cmのガーゼパッチに塗布し、皮膚に貼付して絆創膏で覆い、伸縮性自着包帯でしっかりと固定した。各感作について6時間適用した。対照群は被験物質を除いて、同様に処置した。

惹起：3回目の感作が終了した2週間後に感作及び非感作群に惹起した。各動物の右側腹部を5×5cmの広さに毛刈りし、原液0.5mLを感作と同様に適用した。

観察項目：惹起貼付除去後24、48及び72時間に皮膚反応をDraizeの基準に従って評価した。

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。

試験結果：感作群及び対照群のいずれにおいても、皮膚反応は認められなかった。

群	感作 惹起		供試動物数	皮膚反応	除去後24時間						除去後48時間						陽性率 (%)	
					評点						評点							
					0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計	24h	48h
感作群	100% 検体	100% 検体	20	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10		
対照群	-	100% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10		

定期的に実施した陽性対照物質 (Hexyl cinnamic aldehyde) のBuehler法による試験結果を次に示す。(1999/3/16 ~ 4/15実施)

群	感作 惹起		供試動物数	皮膚反応	除去後24時間						除去後48時間						陽性率 (%)	
					評点						評点							
					0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計	24h	48h
感作群	100%	50%	10	紅斑	0	0	9	1	0	21/10	0	0	9	1	0	21/10	100	100
				浮腫	0	4	6	0	0	16/10	0	8	2	0	0	12/10		
		25%		紅斑	0	2	8	0	0	18/10	0	6	4	0	0	14/10	100	100
				浮腫	0	8	2	0	0	12/10	0	9	1	0	0	11/10		
対照群	-	50%	10	紅斑	0	10	0	0	0	10/10	0	10	0	0	0	10/10	100	100
				浮腫	0	10	0	0	0	10/10	0	10	0	0	0	10/10		
		25%		紅斑	10	0	0	0	0	0/10	7	3	0	0	0	3/10	0	30
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	7	3	0	0	0	3/10		

\*溶媒はココナツ油(Alembical D)

陽性対照物質であるHexyl cinnamic aldehydeは明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性が確認された。

以上の結果から、本剤はモルモットに対して感作性を有しないと判断された。

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

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解  
 <代謝分解試験一覧表>

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関(報告年)	記載頁																				
代謝 I GLP	動物代謝	ラット	被験物質： <sup>14</sup> C-エトフメート[ I ]  試験群の設定： 予備試験 500mg/kg体重 1回経口 低用量 10mg/kg体重 1回経口 高用量 500mg/kg体重 1回経口 反復 10mg/kg体重 非標識14回+標識1回  検討項目：尿、糞への排泄。血液、臓器/組織への分布。代謝物の同定及び定量。	(1992年)	代謝 12																				
			結果の概要： 排泄経路： 5日間で尿に70.4～91.7%、糞に5.8～27.6%が排泄され、その大部分が24時間後には排泄されていた。尿が主排泄経路であった。尿と糞の合計では、95.7～98.6%が排泄された。呼気へは排泄されなかった (<0.1%)。排泄に用量、性による差はほとんど無かった。																						
			<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">排泄% (5日間)</th> </tr> <tr> <th>尿</th> <th>糞</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">低用量 10mg/kg</td> <td>♂ 82.4</td> <td>♂ 13.3</td> </tr> <tr> <td>♀ 88.9</td> <td>♀ 6.2</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">高用量 500mg/kg</td> <td>♂ 70.4</td> <td>♂ 27.6</td> </tr> <tr> <td>♀ 80.2</td> <td>♀ 17.1</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">反復</td> <td>♂ 81.3</td> <td>♂ 16.1</td> </tr> <tr> <td>♀ 91.7</td> <td>♀ 5.8</td> </tr> </tbody> </table>		排泄% (5日間)		尿	糞	低用量 10mg/kg	♂ 82.4	♂ 13.3	♀ 88.9	♀ 6.2	高用量 500mg/kg	♂ 70.4	♂ 27.6	♀ 80.2	♀ 17.1	反復	♂ 81.3	♂ 16.1	♀ 91.7	♀ 5.8		
	排泄% (5日間)																								
	尿	糞																							
低用量 10mg/kg	♂ 82.4	♂ 13.3																							
	♀ 88.9	♀ 6.2																							
高用量 500mg/kg	♂ 70.4	♂ 27.6																							
	♀ 80.2	♀ 17.1																							
反復	♂ 81.3	♂ 16.1																							
	♀ 91.7	♀ 5.8																							
			臓器への残留量： 低用量単回投与の5日後において検出限界以上の放射能濃度が確認された組織は、肝臓 (雄：0.015 mg/kg)、胃消化管 (雄：0.045 mg/kg及び雌：0.066 mg/kg)、カーカス (雌：0.018 mg/kg)、及び脳 (0.072 mg/kg) であった。																						
			代謝物： 尿： 尿中の主代謝物はであり、約58～87%であった。 は5%未満、は1%未満であった。尿中放射能の86～94.5%を同定した。 糞： 低用量単回及び反復投与の糞中代謝物は尿の代謝物と類似していた。高用量ではエトフメート[ I ]が主残留物であった。																						



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は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	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																									
代謝2	動物代謝	ビーグル犬	<p>被験物質： <math>^{14}\text{C}</math>-エトフメート[ I ]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>経口投与 10、50、250mg/kg 体重</li> <li>血漿中放射能濃度、血漿中エトフメート濃度</li> <li>尿、糞中の代謝物</li> </ul>	<p>エトフメートをビーグル犬に経口投与した。血漿中におけるCmax、Tmaxは次のとおり。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>用量 (mg/kg)</th> <th></th> <th>Cmax (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</th> <th>Tmax (hr)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">10</td> <td>♂</td> <td>7.2</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>♀</td> <td>16.5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">50</td> <td>♂</td> <td>22.4</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>♀</td> <td>33.0</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">250</td> <td>♂</td> <td>100.5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>♀</td> <td>161.8</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table> <p>排泄半減期<math>T_{1/2}</math>は2.0~2.6時間、CLは4.1~8.8で投与量によらなかった。</p>	用量 (mg/kg)		Cmax ( $\mu\text{g/mL}$ )	Tmax (hr)	10	♂	7.2	2	♀	16.5	1	50	♂	22.4	2	♀	33.0	3	250	♂	100.5	1	♀	161.8	2	(1977年)	代22
用量 (mg/kg)		Cmax ( $\mu\text{g/mL}$ )	Tmax (hr)																												
10	♂	7.2	2																												
	♀	16.5	1																												
50	♂	22.4	2																												
	♀	33.0	3																												
250	♂	100.5	1																												
	♀	161.8	2																												
代謝3 GLP	動物代謝	泌乳牛	<p>被験物質： <math>^{14}\text{C}</math>-エトフメート[ I ]</p> <p>200mg/頭/日 (10ppm含有飼料10kg 摂食相当)</p> <p>ゼラチンカプセルを用いて1日1回7日間連続経口投与した。</p> <p>尿、乳、血液、組織を採取し、残留量及び代謝物の検索を行なった。</p>	<p>乳牛においても主排泄経路は尿であり、7日後では平均1日投与量の61.6%を含んでいた。乳中の放射能量は総投与量の0.01%、屠殺時の肝臓及び腎臓は、それぞれ0.02%及び0.01%であった。</p> <p>乳中の放射能量はほぼ一定で0.002~0.003<math>\mu\text{g/mL}</math>であった。</p> <p>全血及び血漿中の放射能濃度はほぼ等しく約0.01ppmの一定値であった。屠殺後、濃度の最も高い組織は腎臓(0.122ppm)及び肝臓(0.027ppm)であった。筋肉及び脂肪における残留値は検出限界付近又は未満であった。</p> <p>尿及び腎臓における主代謝物は、各試料中の約90%以上を占めた。肝臓中にはエトフメート[ I ]が17.7%と最も多く、次いで が12.6%であった。</p>	(1992年)	代28																									

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	供試動物植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代謝4 GLP	動物代謝	産卵鶏	<p><u>被験物質:</u> <math>^{14}\text{C}</math>-エトフゼート[I]</p> <p><u>投与量:</u> 1. 04mg/羽/日 (飼料中の濃度として10ppm相当)</p> <p>ゼラチンカプセルを用いて1日1回14日間連続投与</p> <p><u>採取試料:</u> 卵、排泄物、ケージ洗浄液、血液、組織(肝臓、胃消化管及び内容物、筋肉、脂肪、皮膚)を採取して、残留量、代謝物を検索</p>	<p><u>排泄量:</u> 0-14日間で全投与量の82.3%が排泄物中に認められ、3.5%がケージ洗浄液中に認められた。また投与1日後単独で見ても、82.5%が排泄されており、排泄は速やかであった。</p> <p><u>組織残留:</u> 14日後、残留が認められた組織は胃消化管(0.04<math>\mu\text{g/g}</math>、0.028%)、胃消化管の内容物(0.16<math>\mu\text{g/g}</math>、0.058%)、肝臓(0.03<math>\mu\text{g/g}</math>、0.008%)及び全血(0.004<math>\mu\text{g/g}</math>、0.001%)であった、その他の筋肉、脂肪、皮膚は&lt;0.0001%であった。</p> <p><u>卵への残留:</u> 試験期間中、&lt;0.01<math>\mu\text{g/g}</math>であった。</p> <p><u>排泄物中の代謝物:</u> [I](1日後:16.8%、7日後:3.9%)、  が認められた。</p>	(1992年)	代謝34
代謝5 GLP	植物代謝	てんさい	<p><u>被験物質:</u> <math>^{14}\text{C}</math>-エトフゼート[I]</p> <p><u>処理量:</u> 1. 13 kg ai/ha (推奨使用量相当)</p> <p><u>採取:</u> 2~3葉期のてんさいへ散布処理した。処理後0日、10日、30日、81日後及び収穫期に植物体試料を採取し、茎葉部と根部とした。</p>	<p><u>総残留濃度及び抽出画分:</u> 茎葉部の残留濃度は収穫期で、0.41ppm、うち溶媒抽出は79%、未抽出が12%。 根部の収穫期残留はわずか0.02ppmであった、うち溶媒抽出が50%、水抽出が21%、未抽出が29%。</p> <p><u>代謝物と分布:</u> 収穫期の茎葉部の溶媒抽出中にはTLCの原点を含む高極性物質が57%、 が認められた。 加水分解後には、</p>	(1992年)	代謝39

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。

				<p>酸性条件下で <span style="float: right;">であった。</span>  <span style="float: right;">が生じたも</span>          のと考えられ、恐らく分解前の高          極性物質は <span style="float: right;">であろうと</span>          考えられた。 <span style="float: right;">であった。</span></p> <p>収穫期の根部は残留量が少なく、          代謝物の確認は困難であったの          で、5倍処理量の10日後の根部試料          を用いた。酸加水分解後の結果と          して、          エトフェート[ I ] (10.5%)、          であった。</p>		
代謝 6 G L P	植物 代謝	ライグ ラス	<p><u>被験物質：</u>  <sup>14</sup>C-エトフェート[ I ]</p> <p><u>処理量：</u>          2.09 kg ai/ha (推奨使          用量相当)</p> <p><u>処理及び採取：</u>          2-3葉期のライグラスへ散          布処理。処理後0日、7          日、28日(サレージ期)、          成熟期(16週後)に植          物体を採取</p>	<p><u>総残留量及び抽出画分への分布</u>          28日後、総残留量は3ppm、そのう          ち95.5%は表面洗浄または抽出画          分であった。成熟期(16週後)の          総残留量は1.37ppm、そのうち          83.8%が表面洗浄または抽出画分          であった。</p> <p>成熟期試料の通常の溶媒抽出にお          ける代謝物分布は、          [ I ] (8.7%)、  <span style="float: right;">原点を含む高極性物質</span>          (38.3%) であった。</p> <p>酸加水分解後の代謝物分布は  <span style="float: right;">、エトフェート[ I ] (17.5%)、</span>  <span style="float: right;">であっ</span>          た。</p>	(1992年)	代 46

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	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関(報告年)	記載頁																									
代謝 7 G L P	土壌運命 (好気条件)	砂壤土 (Abington) 及び 壤土/シルト質壤土 (Terling) の2 種土壌	被験物質: $^{14}\text{C}$ -エトフメート [I] 温度: 25°C 処理濃度: 0.48mg/100g乾土 (4.8 kg有効成分/ヘクタール相当) 試験時の土壌水分量: 砂壤土 33 kPa容水量の75% (湿潤条件) 及び1.75% W/W (乾燥条件) 壤土/シルト質壤土 33 kPa容水量の75% (湿潤条件) 試験期間: 365日間	(1992年)	代 53																									
	<p>結果の概要</p> <p>湿潤条件の土壌(砂壤土、壤土/シルト質壤土)においてトルエン抽出画分は経時的に減少し、365日後には3.15~12.03%であった。アセトニトリル/水によるソックスレー抽出画分は10日後~180日後までは約11~12%で一定であったが、その後減少した。未抽出画分は経時的に増加し、365日後には57.30~54.59%であった。揮発性物質の内、エタンジオール画分及び硫酸画分では放射能が検出されなかった (&lt;0.01%)、CO<sub>2</sub>は処理3日後から検出され、経時的に増加し365日後には21.95及び24.78%であった。</p> <p>乾燥土壌における分解は比較すると緩やかであった。</p> <p>3条件とも親化合物 [I] を除いて、10%を超えた代謝物はCO<sub>2</sub>及び結合性残留物のみであった。いずれも365日後が最大であった。</p> <table border="1" data-bbox="290 1367 769 1510"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">365日後の%</th> </tr> <tr> <th>CO<sub>2</sub></th> <th>結合性残留物</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>湿潤条件</td> <td>22、26</td> <td>54、57</td> </tr> <tr> <td>乾燥条件</td> <td>12</td> <td>41</td> </tr> </tbody> </table> <p>その他の代謝物は、 が同定されたが最大でも1.82%であった。エトフメート [I] の好気土壌におけるDT<sub>50</sub>及びDT<sub>90</sub>は次の通り。</p> <table border="1" data-bbox="290 1648 1035 1812"> <thead> <tr> <th colspan="2">土壌</th> <th>DT<sub>50</sub></th> <th>DT<sub>90</sub><sup>1)</sup></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">湿潤</td> <td>砂壤土</td> <td>122</td> <td>417</td> </tr> <tr> <td>壤土/シルト質壤土</td> <td>83</td> <td>264</td> </tr> <tr> <td>乾燥</td> <td>砂壤土</td> <td>253</td> <td>856</td> </tr> </tbody> </table>						365日後の%		CO <sub>2</sub>	結合性残留物	湿潤条件	22、26	54、57	乾燥条件	12	41	土壌		DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub> <sup>1)</sup>	湿潤	砂壤土	122	417	壤土/シルト質壤土	83	264	乾燥	砂壤土	253
	365日後の%																													
	CO <sub>2</sub>	結合性残留物																												
湿潤条件	22、26	54、57																												
乾燥条件	12	41																												
土壌		DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub> <sup>1)</sup>																											
湿潤	砂壤土	122	417																											
	壤土/シルト質壤土	83	264																											
乾燥	砂壤土	253	856																											

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	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関(報告年)	記載頁				
	土壌運命(嫌気条件)	砂壤土 (Abington)	被験物質: $^{14}\text{C}$ -エトフメート[I] 温度: 25°C 処理濃度: 0.48mg/100g乾土 (4.8 kg有効成分/ヘクタール相当) 嫌気条件: 好気条件下の土壌に被験物質を添加し、30日後に湛水、湛水39日後(添加69日後)に空気気流を窒素気流とした。 試験期間: 被験物質添加後221日(嫌気条件達成後: 152日)	1992年					
代謝8 GLP	<p>結果の概要</p> <p>好気条件の間、未抽出結合残留物が増加し放射能の<math>\text{CO}_2</math>への無機化が継続した。湛水開始時、処理放射エネルギーの約24%が水層へ脱着した。これは湛水期間中、約19~25%で比較的一定であった。結合性残留は嫌気条件達成前が約19%であり、達成後が約23%~約25%と僅かに嫌気条件期間中に増加したが、試験期間の最後には減少した。</p> <p>好気条件とほぼ同様の代謝物が代謝経路をとると考えられた。嫌気条件におけるエトフメートの分解は非常に緩やかであった。</p> <p>エトフメート [I] の嫌気土壌半減期 (日)</p> <table border="1" data-bbox="288 1453 596 1537"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th><math>\text{DT}_{50}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>砂壤土</td> <td>758.9</td> </tr> </tbody> </table>				土壌	$\text{DT}_{50}$	砂壤土	758.9	代謝64
土壌	$\text{DT}_{50}$								
砂壤土	758.9								

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	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関(報告年)	記載頁										
代謝9	加水分解	緩衝液 pH4.97:フタル酸塩緩衝液 pH6.99:リン酸塩緩衝液 pH9.23:ホウ酸塩緩衝液	被験物質: $^{14}\text{C}$ -エトフメート[I] 試験温度: 25°C及び35°C 試験濃度: 100 ppm及び10ppm 試料採取: 0、3、7、14、21及び36 (あるいは37) 日後	(1978年)	代 73										
	<p>結果の概要: エトフメートは加水分解に対して安定であった。</p> <p>緩衝液中における加水分解半減期</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>pH</th> <th>25°C</th> <th>35°C</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4.97</td> <td>2050 日</td> <td>940 日</td> </tr> <tr> <td>6.99</td> <td>分解せず</td> <td>分解せず</td> </tr> <tr> <td>9.23</td> <td>分解せず</td> <td>分解せず</td> </tr> </tbody> </table>					pH	25°C	35°C	4.97	2050 日	940 日	6.99	分解せず	分解せず	9.23
pH	25°C	35°C													
4.97	2050 日	940 日													
6.99	分解せず	分解せず													
9.23	分解せず	分解せず													
代謝10 G L P	水中光分解(緩衝液)	pH7 TRIS-マレイン酸緩衝液(0.01M、ろ過滅菌して使用) キセノン光源	被験物質: フェニル $^{14}\text{C}$ -エトフメート[I] 光強度: 443W/m <sup>2</sup> (波長範囲290~800nm) 温度: 20±3°C 0、1、3、5、10及び15日後に試料を採取	(2000年)	代 75										
	<p>結果の概要:</p> <p>回収率は95~103%。CO<sub>2</sub>及び揮発性物質は0.01%以下であった。 エトフメートは経時的に減少し5日後には61.37%、15日後には23.54%に減少した。他には が1~3日にかけて認められたが、最大で約5%であった。 は1日後の2.58%から増加し15日後には17.61%となった。 は3日後から10日後に渡って認められ、5%以下であった。極性代謝物画分(保持時間 約5分)は時間が経過すると増加し、15日後には約50%であった。 エトフメートの環境中の水中光分解におけるDT<sub>50</sub>は31日と求められた。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>DT<sub>50</sub></th> <th>DT<sub>90</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>連続照射</td> <td>7 日</td> <td>23 日</td> </tr> <tr> <td>北緯 35°C (東京) 春 換算<sup>1)</sup></td> <td>31 日</td> <td>103 日</td> </tr> </tbody> </table>						DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>	連続照射	7 日	23 日	北緯 35°C (東京) 春 換算 <sup>1)</sup>	31 日	103 日	
	DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>													
連続照射	7 日	23 日													
北緯 35°C (東京) 春 換算 <sup>1)</sup>	31 日	103 日													

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	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関(報告年)	記載頁											
代 謝 11 G L P	水中光分解(自然水)	池水(ろ過滅菌して使用) キセノン光源	被験物質: <sup>14</sup> C-エトフメート[I] 光強度: 338W/m <sup>2</sup> (波長範囲290~750nm) 温度: 25±2℃ 0、4、24、28、48、72、96、144、168時間後に試料を採取	(2004年)	代 80											
	<p>結果の概要 試料溶液の回収放射エネルギーは92.67~100.8%であり、容器洗浄液中の放射エネルギーは0.64%以下、揮発性物質は経時的増加したが1.46%以下であった。</p> <p>エトフメート[I]は0時間の96.18%から、72時間後には61.52%、168時間後には15.56%に減少した。4種の代謝物が同定されたが、いずれも少量であった。各代謝物の最大値は、  (1.51%、0時間後)、  (2.41%、24時間後)であった。  は0時間でも認められたため、エトフメートが分解して生成したとは考えられなかった。</p> <p>エトフメート[I]の自然水中の光分解における半減期は、環境中において14.8日と計算された。</p> <table border="1" data-bbox="300 1238 1094 1431"> <thead> <tr> <th colspan="2">実験条件下</th> <th colspan="2">北緯 35℃ (東京) 春 太陽光換算</th> </tr> <tr> <th>DT<sub>50</sub> (日)</th> <th>DT<sub>90</sub> (日)</th> <th>DT<sub>50</sub> (日)</th> <th>DT<sub>90</sub> (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>3.02</td> <td>10.05</td> <td>14.8</td> <td>49.1</td> </tr> </tbody> </table>					実験条件下		北緯 35℃ (東京) 春 太陽光換算		DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	3.02	10.05	14.8
実験条件下		北緯 35℃ (東京) 春 太陽光換算														
DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)													
3.02	10.05	14.8	49.1													

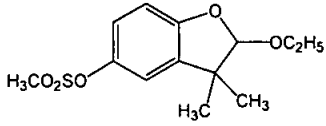
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験機関(報告年)	記載頁																														
	土壌吸着	4種土壌 00-02 宮崎 (OECD 5) 00-05 北海道 (OECD 4) 00-06 岡山 (OECD 3) 00-10 日植防研 (OECD 2;火山灰)	被験物質： 非標識エトフメート [I]  土壌：水比 1：2 (10g乾土：溶液20mL) 平衡化時間： 48時間 試験濃度： 2、1、0.5、0.2mg/L 温度： 25℃	(2005年)																															
代 謝 12 G L P	<p>結果の概要</p> <p>4種土壌における吸着係数 (K) はそれぞれ 1.4、5.5、6.8 及び 5.4、相関係数 (r) は全ての土壌において 0.996 以上で直線性が認められた。吸着係数を有機炭素含有率で割って求められる有機炭素吸着係数 (K<sub>oc</sub>) は 84、289、405 及び 141 であり、低い移動性～中間の移動性に分類される。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>供試土壌</th> <th>吸着係数 (K)</th> <th>1/n</th> <th>相関係数 (r)</th> <th>有機炭素含有率 (%)</th> <th>有機炭素吸着係数 (K<sub>oc</sub>)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>00-02 宮崎</td> <td>1.4</td> <td>0.902</td> <td>0.9967</td> <td>1.63</td> <td>84</td> </tr> <tr> <td>00-05 北海道</td> <td>5.5</td> <td>0.933</td> <td>0.9979</td> <td>1.90</td> <td>289</td> </tr> <tr> <td>00-06 岡山</td> <td>6.8</td> <td>0.896</td> <td>0.9982</td> <td>1.68</td> <td>405</td> </tr> <tr> <td>00-10 日植防研</td> <td>5.4</td> <td>0.880</td> <td>0.9994</td> <td>3.81</td> <td>141</td> </tr> </tbody> </table>				供試土壌	吸着係数 (K)	1/n	相関係数 (r)	有機炭素含有率 (%)	有機炭素吸着係数 (K <sub>oc</sub> )	00-02 宮崎	1.4	0.902	0.9967	1.63	84	00-05 北海道	5.5	0.933	0.9979	1.90	289	00-06 岡山	6.8	0.896	0.9982	1.68	405	00-10 日植防研	5.4	0.880	0.9994	3.81	141	代 86
供試土壌	吸着係数 (K)	1/n	相関係数 (r)	有機炭素含有率 (%)	有機炭素吸着係数 (K <sub>oc</sub> )																														
00-02 宮崎	1.4	0.902	0.9967	1.63	84																														
00-05 北海道	5.5	0.933	0.9979	1.90	289																														
00-06 岡山	6.8	0.896	0.9982	1.68	405																														
00-10 日植防研	5.4	0.880	0.9994	3.81	141																														



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。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
I	親化合物	エトフメート NC 8438 SN 49913 AE B049913	(RS)-2-ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran-5-yl methanesulfonate (RS)-2-エトキシ-2,3-ジヒドロ-3,3-ジメチルベンゾフラン-5-イルメタンスルホネート	

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。

## 1. 動物における動態と代謝試験

### (1) ラットにおける $^{14}\text{C}$ エトフメセートの代謝

(資料番号：代謝1)

試験機関：

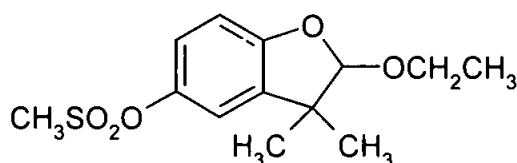
(英国)

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1992年6月4日

供試標識化合物

構造式：



化学名： (RS)-2-エトキシ-2,3-ジヒドロ-3,3-ジメチルベンゾフラン-5-イルメタンサルホナート

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

$^{14}\text{C}$  で標識した。

供試動物： Sprague-Dwaley (CRL:CD/BR ラット)

週齢：約5週齢(雄)、約9週齢(雌)

体重：180~220g

#### 【試験方法】

投与：

$^{14}\text{C}$ -エトフメセート[I]を非標識エトフメセート[I]で希釈し、1%カルボキシメチルセルロースへ懸濁し、ラット(雄：約5週齢、雌：約9週齢)へ強制経口投与した。ラットは投与後代謝ケージに収容した。

用量設定及び試験区：

低用量として10mg/kg体重、高用量として500mg/kg体重で実施し、高用量の予備試験及び、低用量1回経口投与、高用量1回経口投与、低用量の反復投与試験(非標識[I]14日間連続投与+標識[I]1回投与)の4試験群を設け、5日間

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。

で試験した。尿と糞は経時的に採取し、血液及び臓器/組織は5日後の屠殺時に採取した(表1)。

表1 供試試験群と採取試料

試験群	用量	投与回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時間
予備試験	500mg/kg 体重	1回経口	雄1頭 雌1頭	尿、糞、呼気への排泄予備検討	尿: 0.25, 1, 2, 3, 4, 5日 糞: 1, 2, 3, 4, 5日 呼気: 1, 2, 3, 4, 5日
低用量	10 mg/kg 体重	1回経口	雄5頭 雌5頭	尿、糞への排泄、血液及び臓器/組織の分布	尿: 0.25, 1, 2, 3, 4, 5日 糞: 1, 2, 3, 4, 5日 血液及び臓器/組織: 5日(屠殺時)
高用量	500mg/kg 体重				
反復 (低用量)	10 mg/kg 体重	非標識体を1日1回14日連続投与後+15日後に標識体1回投与			

分析方法:

3種の溶媒系<sup>1</sup>を用いたTLC及びHPLC分析を行い標準品との比較により、代謝物をクロマトした。放射エネルギーの測定は組織などは溶解あるいは燃焼して液体シンチレーション計測を行なった。

尿及び糞の抽出物については、5N塩酸あるいはβグルクロニダーゼによる分解後にTLC分析を行なった。主代謝物についてはGC-MSを用いて同定した。

### 【結果】

#### 1. 予備試験

雄及び雌ラットそれぞれ5日間で合計98.3%及び89.4%が排泄された。呼気中への排泄は0.1%未満であった。

<sup>1</sup> A トルエン: 酢酸エチル (4:1); D ジクロロメタン  
E トルエン: 酢酸エチル: 酢酸: 水 (25:50:20:3)

## 2. 尿及び糞への排泄量及び回収率

### 2.1 尿 (表 2)

低用量 (10mg/kg 体重) 1 回経口投与において 5 日間で投与量の 82.4% (雄)、及び 88.9% (雌) が尿中へ排泄された。排泄は速やかで、24 時間までにその大部分が排泄された。高用量 1 回投与及び低用量反復投与でも、それぞれ 5 日後までに 70.4% (高用量、雄)、80.2% (高用量、雌)、81.3% (反復、雄)、91.7% (反復、雌) が排泄された。高用量では僅かに尿への排泄率が低かったものの、その差は約 10% であった。尿への排泄量から吸収量は最低でも約 70% と考えられる。

### 2.2 糞 (表 2)

低用量 1 回経口投与では 5 日間で、投与量の 13.3% (雄)、6.2% (雌) が糞へ排泄され、その大部分が 48 時間後までに排泄された。高用量 1 回投与及び低用量反復投与でも、5 日間後までに、27.6% (高用量、雄)、17.1% (高用量、雌)、16.1% (反復、雄)、5.8% (反復、雌) が排泄された。

尿と糞を合わせた回収率は投与放射エネルギーに対して、95.7%~98.6% であった。排泄のパターンは低用量と高用量で類似していた。

表 2 尿及び糞への経時的な排泄量 (投与量に対する%)

	採取時間	低用量 1 回経口 (10mg/kg 体重)		高用量 1 回経口 (500mg/kg 体重)		低用量反復経口 (10mg/kg 体重) <sup>1)</sup>	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0 - 6	72.6	78.0	45.4	43.7	64.5	74.7
	6 - 24	8.1	7.8	22.6	32.4	14.6	14.8
	24 - 48	0.9	1.7	1.2	2.4	1.1	1.3
	48 - 72	0.4	0.7	0.6	0.8	0.5	0.4
	72 - 96	0.2	0.4	0.3	0.6	0.3	0.3
	96 - 120	0.1	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2
	計	82.4	88.9	70.4	80.2	81.3	91.7
ケージ 洗浄液		0.2	0.5	0.4	0.4	0.3	0.2
糞	0 - 24	12.2	4.6	25.6	13.7	14.2	3.9
	24 - 48	0.8	1.4	1.6	2.7	1.4	1.5
	48 - 72	0.2	0.2	0.2	0.5	0.3	0.2
	72 - 96	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	96 - 120	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	<0.1
	計	13.3	6.2	27.6	17.1	16.1	5.8
合計		96.0	95.7	98.6	97.8	97.9	97.9

1) 非標識体を 1 日 1 回 14 日連続投与後+15 日後に標識体 1 回投与

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。

### 3. 臓器・組織における残留量 (表 3、表 4)

#### 3.1 低用量 1 回経口投与

5 日後の屠殺時に雄ラットにおいては肝臓、胃消化管及びカーカスそれぞれに平均で投与量の 0.012%、0.072%及び 0.089%が認められ、雌ラットにおいてはそれぞれ投与量の 0.003%、0.065%及び 0.157%であった。

検出限界以上の放射能濃度が確認された組織は、肝臓 (雄: 0.015  $\mu\text{g/g}$ )、胃消化管 (雄: 0.045  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.066  $\mu\text{g/g}$ )、カーカス (雌: 0.018  $\mu\text{g/g}$ )、及び脳 (0.072  $\mu\text{g/g}$ ) であった。

#### 3.2 高用量 1 回経口投与

5 日後の屠殺時に、雄ラットで肝臓及び胃消化管それぞれで平均して投与量の 0.019%及び 0.202%が認められ、雌ラットではそれぞれ投与量の 0.008%及び 0.072%が認められた。

5 日後において明らかな濃度の放射能が存在する組織は、脂肪 (雌: 0.382  $\mu\text{g/g}$ )、脾臓 (雄: 0.216  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.271  $\mu\text{g/g}$ )、骨 (雄: 0.232  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.247  $\mu\text{g/g}$ )、全血 (雄: 0.665  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.703  $\mu\text{g/g}$ )、血漿 (雌: 0.167  $\mu\text{g/g}$ )、腎臓 (雄: 0.506  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.5422  $\mu\text{g/g}$ )、肝臓 (雄: 1.50  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.891  $\mu\text{g/g}$ )、胃消化管 (雄: 7.43  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 4.32  $\mu\text{g/g}$ ) 及びカーカス (雌: 0.753  $\mu\text{g/g}$ ) であった。

#### 3.3 低用量反復経口

5 日後に雄ラットで肝臓及び胃消化管それぞれ、投与量の 0.016%及び 0.228%、雌ラットではそれぞれ投与量の 0.005%、0.100%であった。

ラットの組織における放射能の平均濃度は 1 回投与したラットにおいて認められた濃度と非常に類似しており、最高濃度が肝臓 (雄: 0.026  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.011  $\mu\text{g/g}$ )、胃消化管 (雄: 0.216  $\mu\text{g/g}$  及び雌: 0.124  $\mu\text{g/g}$ ) 及びカーカス (雌: 0.013  $\mu\text{g/g}$ ) であった。

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

表3 投与5日後の各臓器・組織における放射能残留量 (投与量に対する%)

	低用量1回経口 (10mg/kg体重)		高用量1回経口 (500mg/kg体重)		低用量反復経口 <sup>1)</sup> (10mg/kg体重)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
筋肉	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
脂肪	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
脾臓	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
脳	<0.001	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
肺	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
卵巣	- <sup>2)</sup>	<0.001	- <sup>2)</sup>	<0.001	- <sup>2)</sup>	<0.001
精巣	<0.002	- <sup>2)</sup>	<0.001	- <sup>2)</sup>	<0.001	- <sup>2)</sup>
骨	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
心臓	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
全血	<0.001	<0.001	0.001	0.001	<0.001	0.001
血漿	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
腎臓	<0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
肝臓	0.012	0.003	0.019	0.008	0.016	0.005
胃消化管	0.072	0.065	0.202	0.072	0.228	0.1
カーカス	0.089	0.157	<0.068	0.151	<0.096	0.114

1) 非標識体を1日1回14日連続投与後+15日後に標識体1回投与。2) 試料なし

表4 投与5日後の各臓器・組織における放射能残留量 (µg/g)

	低用量1回経口 (10mg/kg体重)		高用量1回経口 (500mg/kg体重)		低用量反復経口 <sup>1)</sup> (10mg/kg体重)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
筋肉	<0.011	<0.011	<0.305	<0.304	<0.009	<0.010
脂肪	<0.011	0.016	<0.336	0.382	<0.010	<0.010
脾臓	0.009	<0.012	0.216	0.271	<0.007	<0.010
脳	<0.011	0.072	<0.304	<0.302	<0.009	<0.010
肺	<0.012	0.013	<0.305	<0.310	<0.010	<0.010
卵巣	- <sup>2)</sup>	<0.027	- <sup>2)</sup>	<0.452	- <sup>2)</sup>	<0.019
精巣	<0.011	- <sup>2)</sup>	<0.307	- <sup>2)</sup>	<0.010	- <sup>2)</sup>
骨	<0.007	<0.009	0.232	0.247	0.005	0.006
心臓	<0.011	0.018	<0.307	<0.305	<0.010	<0.010
全血	0.005	<0.005	0.665	0.703	0.006	0.006
血漿	0.005	<0.004	<0.115	0.167	0.004	<0.004
腎臓	<0.011	0.012	0.506	0.542	0.012	0.010
肝臓	0.015	0.007	1.50	0.891	0.026	0.011
胃消化管	0.045	0.066	7.43	4.32	0.216	0.124
カーカス	0.008	0.018	<0.343	0.753	<0.010	0.013

2) 非標識体を1日1回14日連続投与後+15日後に標識体1回投与。2) 試料なし

#### 4. 代謝物の分布

##### 4.1 尿中代謝物

48 時間までの尿を用いて各試験群の代謝物を雌雄別及び採取時間別に 3 種の TLC 及び HPLC を用いて確認した。3 種の TLC 及び HPLC の分析結果に大きな違いは認められなかったため、以下には TLC A 系の結果を示した。

低、高、反復の各試験群及び雌雄における代謝物分布は類似しており、主代謝物は  $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 で投与量の約 67%~87%、 $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 が 0.6%~1.32%、 $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 であった。その他には  $\text{Rf}$  値 0.09 あるいは 0.13 の未同定代謝物が最大で 0.02% 認められた。未変化のエトフメセート [I] は 1.0% であった。

表 5 尿における代謝物分布 (TLC 溶媒系 A (投与量に対する%))

代謝物/成分	低用量 (10mg/kg体重) 1 回経口投与		高用量 (500mg/kg体重) 1 回経口投与		低用量 (10mg/kg 体重) 反復経口投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
その他 <sup>1)</sup>	1.3	1.68	0.97	2.18	1.79	1.73

1)  $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 及びその他の合計

##### 4.2 尿試料の $\beta$ グルクロニダーゼ処理

尿試料の  $\beta$  グルクロニダーゼによる分解を行なったが、コントロール試料との間に差が認められず、代謝物の分布に影響を及ぼさなかった。

##### 4.3 尿試料の酸加水分解

尿中の成分を 5N 塩酸を用いて酸加水分解すると、 $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 の画分が約 70~76% から約 7~17% へ大きく減少し、 $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 の画分が約 50~64% へと大きく増加した (表 6)。反復及び高用量の各試験群についても酸処理によって同様に  $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 の画分が大きく減少し  $\text{Rf}$  値 0.16、0.13、0.09 の画分が大きく増加した。



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 6 尿の酸処理前後の代謝物パターン (TLC 溶媒系 A)

代謝物/成分	低用量 1 回投与 (10mg/kg体重) 尿 (0-6時間)			
	雄		雌	
	酸加水 分解前	酸加水 分解後	酸加水 分解前	酸加水 分解後
エトフメセート		0.37		1.35
その他	1.04	0.54	1.51	1.61

NR:十分に分離せず。 ND:検出せず。

#### 4.4 主代謝物の GC-MS による同定

尿試料の一部を TLC 溶媒系 A を用いて展開し、主代謝物 Met 1 に対応するシリカをかきとってメタノールを用いて抽出した。抽出後、再度 TLC 展開し、得られた画分を直接あるいはトリメチルシリル化あるいはアルキル化して GC-MS 分析した結果、この主代謝物を  として同定した。

#### 4.5 糞抽出物中の代謝物

0-48 時間合計における糞抽出物中の主代謝物は、高投与量を除き、尿と同様であった。  は低用量 1 回投与で 7.30% (雄)、2.9% (雌)、高用量で 3.99% (雄)、4.85% (雌)、反復投与で 8.59% (雄)、2.81% (雌)であった。高用量では親化合物エトフメセート [I] が 12.78% (雄)、6.15% (雌)認められ、反復投与試験群においてもエトフメセート [I] が、わずかに認められた。その他に少量代謝物として  が認められた (表 7)。

糞抽出物においても酸処理により、  画分が減少するとともに、  画分が増加することが確認された (表 8)。

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 7 糞抽出物の代謝物分布 (TLC 溶媒系 A、投与量に対する%)

代謝物/成分	低用量 (10mg/kg 体重)		高用量 (500mg/kg 体重)		低用量 (10mg/kg 体重)	
	1 回経口投与		1 回経口投与		反復経口投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
エトフメート [I]	ND	ND	12.78	6.15	0.09	0.08
その他	0.91	0.94	0.58	2.18	1.66	1.07

表 8 酸分解前後の糞抽出物中の代謝物の変化 (TLC A系)

代謝物/成分	低用量 1 回投与 (10mg/kg 体重) 糞 (0-24 時間)			
	雄		雌	
	分解前	分解後	分解前	分解後
エトフメート [I]		0.30		0.05
-				0.09

経口投与した  $^{14}\text{C}$ -エトフメート [I] は、低用量、高用量及び反復投与後、全てにおいて速やかに吸収され、吸収量が投与量に依存しないことを示している。また、反復投与が代謝に顕著な影響を与えないことが示された。いずれの投与群においても、最も濃度の高かった組織は肝臓、胃消化管、及びカーカスであった。

$^{14}\text{C}$ -エトフメート [I] は全用量において投与量の約 74% に達する主要代謝物に代謝された。未変化のエトフメート [I] は、わずかに検出されたのみであった。低用量及び反復投与の糞抽出物において、主要代謝物は

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

尿と同様であった。高用量の糞抽出物では主要成分は未変化のエトフメセート [I] であった。β-グルクロニダーゼ処理は尿あるいは糞抽出物の放射能成分の数あるいは特性に影響を与えなかった。

エトフメセート [I] は

が生成し、  
として尿へ排泄さ

れる。

エトフメセートの推定代謝経路を図1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。

図1 エトフメセートのラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利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。

## 1. 動物における動態と代謝試験

### (2) $^{14}\text{C}$ -エトフメセートのビーグル犬における薬物動態及び代謝

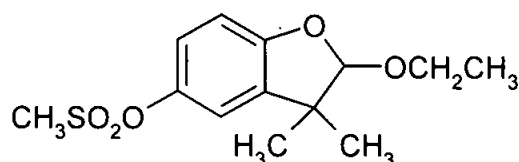
(資料番号：代謝2)

試験機関：

報告書作成年月日：1977年3月24日

供試標識化合物

構造式：



化学名： (RS)-2-エトキシ-2,3-ジヒドロ-3,3-ジメチルベンゾフラン-5-イルメタンсульホナート

比放射能： 放射化学的純度：

標識位置の設定理由：最も安定であると考えられる  $^{14}\text{C}$  で標識した。

供試動物： ビーグル犬 成犬

体重：10.2～11.7kg

(当試験は、イヌを用いた慢性毒性試験のための予備試験として実施された)

### 【試験方法】

投与及び試料採取：

$^{14}\text{C}$ -エトフメセート[I]をゼラチンカプセルへ充填し、10、50及び250mg/kg体重の用量でビーグル犬(各用量 雄：1頭、雌：1頭)へ1回経口投与した。ビーグル犬は投与後代謝ケージに収容した。

血液試料(0.5～12時間まで)、及び尿、糞(48時間まで)を表1に示した間隔で各ビーグル犬から採取した。

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

表 1 供試試験群と採取試料

用量	投与回数 ・経路	動物数	検討項目	試料採取時間
10mg/kg 体重	1 回経口	雄 1 頭 雌 1 頭	血漿中濃度 尿、糞への排泄 尿、糞の代謝物	血漿：0.5、1、2、3、4、6、 8、10、12 時間後 尿及び糞： 0-12、12-24、24-48 時間
50mg/kg 体重		雄 1 頭 雌 1 頭		
250mg/kg 体重		雄 1 頭 雌 1 頭		

分析方法：

尿、糞抽出液及び血液試料の放射エネルギーは液体シンチレーション計測し、糞の抽出残渣は燃焼して放射エネルギーを求めた。血漿はジエチルエーテルを用いて抽出し、濃縮して GC/MS を用いて分析した。尿及び糞の抽出液は濃縮し、2 種の溶媒系<sup>1</sup>を用いて TLC 分析した。TLC は放射能スキャナーで位置を確認後、かきとり、抽出して、シンチレーション計測した。

尿試料については、6M 塩酸あるいはサルファターゼ、β グルクロニダーゼによる分解後に TLC 分析を行なった。

## 【結果】

### 1. 放射能の排泄

投与 12 時間と 24 時間後の累積排泄量にはほとんど違いが無く、放射能の排泄は速やかで、12 時間後にはほぼ排泄が終了していた。主な排泄経路は尿で、48 時間後の排泄量は 10mg/kg で投与量の約 82~85%が、50mg/kg で約 71~73%が、250mg/kg で約 62~63%が尿へ排泄された。糞への排泄は 48 時間後に 10mg/kg で約 8~13%が、50mg/kg で約 23~26%が、250mg/kg で約 27~30%が排泄された。雌雄による排泄量に差は無く、48 時間後には尿及び糞の合計で 88.6~96.6%が排泄された (表 2)。

<sup>1</sup> イソプロパノール/水/トルエン/0.88 アンモニア 50 : 10 : 10 : 2  
トルエン/酢酸エチル/エタノール/酢酸 80 : 10 : 5 : 0.5

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 ビーグル犬の尿及び糞における累積放射能排泄量 (投与量に対する%)

	投与量	10mg/kg 体重		50mg/kg 体重		250mg/kg 体重	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0-12 時間	78.7	83.8	67.3	70.8	60.9	59.0
	12-24 時間	81.7	84.9	70.8	73.1	62.4	61.2
	24-48 時間	82.0	85.1	71.0	73.4	62.7	61.5
糞	0-12 時間	11.7	7.8	23.1	13.2	21.7	24.3
	12-24 時間	13.4	8.4	25.5	22.2	30.1	26.8
	24-48 時間	13.6	8.6	25.6	22.8	30.1	27.1
総回収率		95.6	93.7	96.6	96.2	92.8	88.6

## 2. 血漿中の放射能濃度、エトフメセート [I] 残留量及び薬物動態パラメータ

血漿中の放射能濃度を表3に示した。血漿中最高濃度は10mg/kgの雄で7.2 $\mu$ g/mL (2時間後)、雌で16.5 $\mu$ g/mL (1時間後)、50mg/kgの雄で22.4 $\mu$ g/mL (2時間後)、雌で33.0 $\mu$ g/mL (3時間後)、250mg/kgの雄で100.5 $\mu$ g/mL (1時間後)、雌で161.8 $\mu$ g/mL (2時間後)であった。いずれも最高濃度到達時間は3時間以内であった (表3、図1)。

血漿中のエトフメセート [I] 濃度は250mg/kgの雌を除き0.01 $\mu$ g/mLを超えなかった。250mg/kgの雌におけるエトフメセート [I] の最大濃度は0.12 $\mu$ g/mL (2時間後)で、同時点の血漿中の総放射能濃度 (161.8  $\mu$ g/mL) の0.1%より少なかった (表4)。エトフメセートの代謝変換が速やかであることが確認された。

表3 血漿中の放射能濃度推移 ( $\mu$ g/mL)

投与量	10mg/kg 体重		50mg/kg 体重		250mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.5 時間	0.61	6.5	2.8	0.47	87.0	ND
1 時間	3.8	16.5	17.3	2.9	100.5	130.0
2 時間	7.2	5.8	22.4	26.2	52.2	161.8
3 時間	6.7	2.2	13.0	33.0	22.4	96.1
4 時間	4.1	1.2	7.0	13.4	19.6	67.1
6 時間	2.7	0.44	3.2	2.7	11.7	28.0
8 時間	1.1	0.22	1.2	1.4	6.8	13.0
10 時間	0.46	0.13	0.71	0.90	3.7	6.9
12 時間	0.28	0.09	0.36	0.71	2.9	4.4

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。

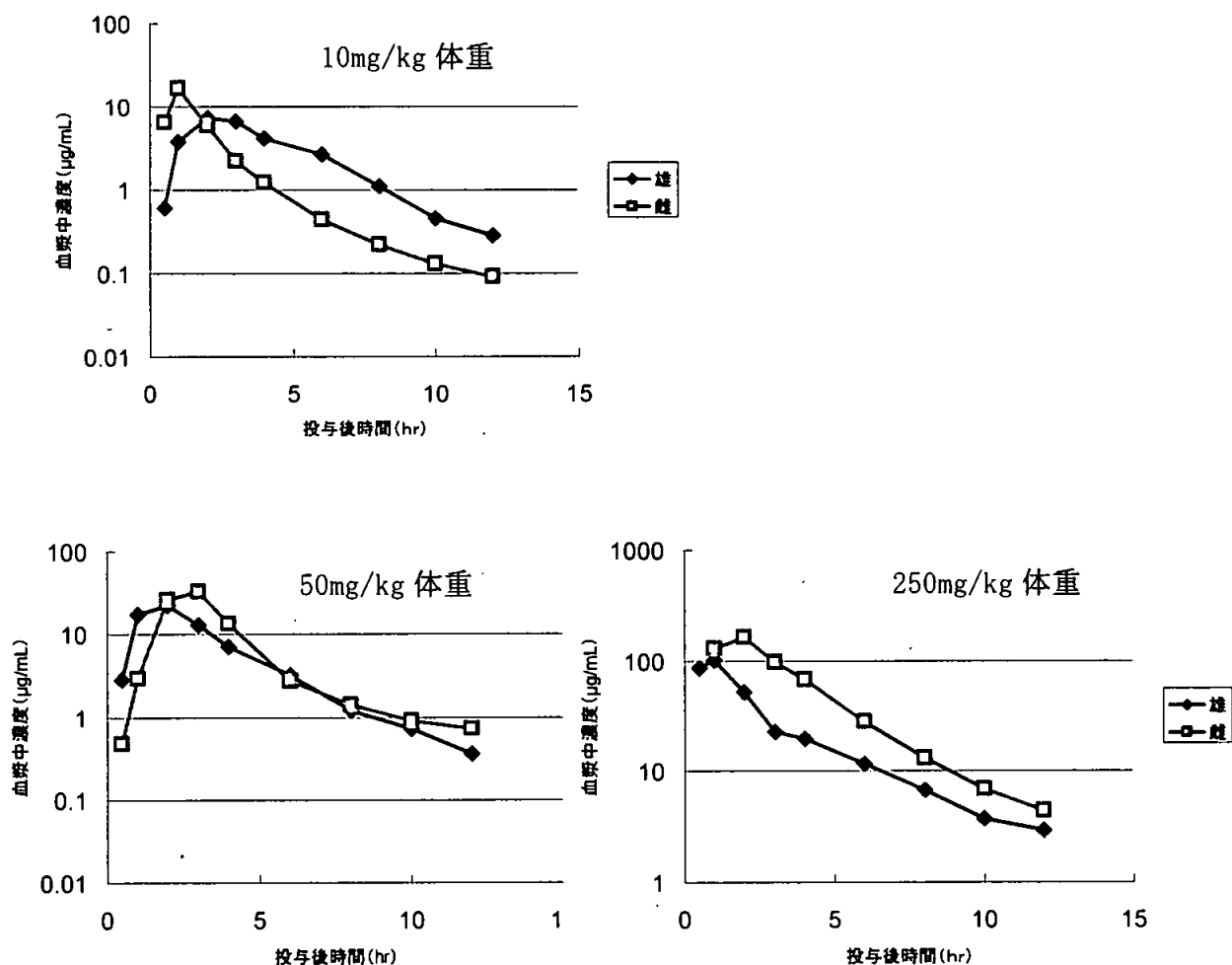


図1 各用量における血漿中放射能濃度

表4 雌ビーグル犬 (250mg/kg 体重) の血漿中におけるエトフメセート濃度 (µg/mL)、

	エトフメセート [I]
0.5 時間	-
1 時間	0.08
2 時間	0.12
3 時間	0.07
4 時間	0.05
6 時間	0.02

投与された放射能の血漿中における半減期は 2.0~2.6 時間で、用量及び性に依



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。

存しなかった。用量の増加に伴う全身クリアランスの減少は認められず、250mg/kg までの投与量では薬物動態に影響を与えなかった (表 5)。

表 5 薬物動態パラメータ

	10mg/kg 体重		50mg/kg 体重		250mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
体重	11.7kg	10kg	11.2kg	11kg	10.7kg	10.2kg
吸収量 mg	95.8	85.6	395.5	401.7	1498.9	1571.2
AUC ( $\mu\text{g 分 mL}^{-1}$ )	1997	1605	5476	5982	17050	37196
$T_{1/2}$ (時間)	2.1	2.2	2.0	2.5	2.6	2.1
全身クリアランス (mL/分/kg 体重)	4.2	5.1	6.4	6.1	8.8	4.1
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ; 実測)	7.2	16.5	22.4	33.0	100.5	161.8

吸収量 mg = 投与用量 × 体重 × 尿における回収率

### 3. 尿及び糞における代謝物

0~12 時間の尿においてエトフメセート [I] は存在しなかった。極性の代謝物が認められ、6M 塩酸で 12 時間処理した後の TLC 分析から

2 成分が確認された。酵素処理及び TLC 分析の結果からは、

が確認された。尿における各代謝物

の割合を表 6 に示した。

糞のメタノール抽出物中には未変化のエトフメセート [I] のみが認められ、恐らく胆汁排泄は無いと考えられた。

表 6 0-12 時間尿試料で認められた代謝物のパーセント

	10mg/kg 体重		50mg/kg 体重		250mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
未同定	5	3	2	3	3	8

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。