

(資料 No. T-38)

エトキサゾール代謝物

の細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames test)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：

(代謝分解物一覧表および代謝分解経路図中の記号：R7)

方 法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535およびTA 1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検討した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験菌株を用いた予備試験において、5000 µg/プレートにおいて毒性を示したので、これを最高処理濃度とした。陽性対照物質および処理濃度は結果の表中に示した。

本試験はプレインキュベーション法を用い、37°C、60分間プレインキュベーションを行った後、37°Cで3日間培養後、コロニー数をコロニーカウンターで計数した。試験は3連制で実施した。

第1回目試験でTA 100で 312.5 µg/プレート以上の用量で毒性が認められ、十分な結果が得られなかったので2回目はTA 100について処理濃度を下げて試験した。3回目はすべての菌株で試験を実施したがTA 100の直接法において156.25 µg/プレート以上の用量で再度十分な結果が得られなかった。そこで、4回目試験としてTA 100の直接法の試験をさらに低濃度で実施した。

結 果：結果を次頁の表に示した。

本検体はS-9 mixの有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰突然変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照ではS-9 mixの存在下および非存在下で、復帰突然変異コロニー数が顕著に増加した。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

第1回試験

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート							
			塩基置換型			フレームシフト型				
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537			
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	116	15	88	16	9			
検体	-	0.00**	139	16	82	21	8			
		78.13	97	12	93	15	7			
		156.25	96	11	76	18	11			
		312.50	IL	10	86	20	5			
		625.00	IL	14	88	15	6			
		1250.00	IL	IL	78	IL	IL			
		2500.00	IL	IL	66	IL	IL			
		5000.00	IL	IL	IL	IL	IL			
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	125	17	68	25	7			
検体	+	0.00***	129	14	74	24	7			
		78.13	111	22	78	18	8			
		156.25	93	18	78	21	9			
		312.50	107	10	87	28	9			
		625.00	IL	17	91	25	7			
		1250.00	IL	13	76	IL	8			
		2500.00	IL	IL	66	IL	IL			
		5000.00	IL	IL	IL	IL	IL			
陽性対照	ENNG	-	3.0	499	/	/	/	/		
			5.0	/	812	/	/	/		
			2.0	/	/	626	/	/		
			1.0	/	/	/	260	/		
	9-AC	-	80.0	/	/	/	/	X		
			AA	+	1.0	686	/	/	/	/
					2.0	/	247	/	/	248
					10.0	/	/	322	/	/
0.5	/	/			/	394	/			

数値は3連の平均値 X: コロニー数が過剰 (3500 以上) で計数不能

IL: 使用菌株の生育阻害

*: $\mu\text{L}/\text{プレート}$ **: リン酸緩衝液のみを添加 ***: S-9 mixのみを添加

ENNG: *N*-Ethyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine 9-AC: 9-Aminoacridine

NF: 2-Nitrofluorene AA: 2-Aminoanthracene

陽性対照物質はすべてDMSOに溶解して使用

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

第2回試験

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537	
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	103					
検体	-	0.00**	121					
		19.53	104					
		39.06	105					
		78.13	105					
		156.25	119					
		312.50	IL					
		625.00	IL					
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	120					
検体	+	0.00***	119					
		19.53	110					
		39.06	114					
		78.13	122					
		156.25	128					
		312.50	113					
		625.00	IL					
陽性 対照	ENNG	-	3.0	445				
	AA	+	1.0	338				

数値は3連の平均値

IL : 使用菌株の生育阻害

* : $\mu\text{L}/\text{プレート}$ ** : リン酸緩衝液のみを添加 *** : S-9 mixのみを添加

ENNG : *N*-Ethyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine

AA : 2-Aminoanthracene

陽性対照物質はすべてDMSOに溶解して使用

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

第3回試験

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	115	17	75	26	12
検体	-	0.00**	129	17	72	27	10
		19.53	116	NT	NT	NT	NT
		39.06	100	NT	NT	25	NT
		78.13	135	17	NT	22	8
		156.25	IL	15	69	18	15
		312.50	IL	16	72	20	10
		625.00	IL	13	79	IL	13
		1250.00	NT	IL	62	IL	IL
		2500.00	NT	IL	71	NT	IL
		5000.00	NT	NT	IL	NT	NT
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	125	14	68	28	14
検体	+	0.00***	137	16	8	27	8
		19.53	118	NT	NT	NT	NT
		39.06	131	NT	NT	31	NT
		78.13	116	15	NT	27	11
		156.25	117	18	74	27	12
		312.50	122	19	77	19	10
		625.00	IL	17	71	23	15
		1250.00	NT	14	74	IL	13
		2500.00	NT	IL	66	NT	IL
		5000.00	NT	NT	IL	NT	NT
陽性対照	ENNG	-	3.0	619			
			5.0		1417		
			2.0			850	
			1.0				367
	NF						
	9-AC					1100	
	AA	+	1.0	328			
			2.0		88		52
10.0					281		
0.5						175	

数値は3連の平均値

IL : 使用菌株の生育阻害 NT : 試験せず

* : $\mu\text{L}/\text{プレート}$ ** : リン酸緩衝液のみを添加 *** : S-9 mixのみを添加

ENNG : *N*-Ethyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine 9-AC : 9-Aminoacridine

NF : 2-Nitrofluorene AA : 2-Aminoanthracene

陽性対照物質はすべてDMSOに溶解して使用

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

第4回試験

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537	
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	136					
検体	-	0.00**	145					
		4.88	129					
		9.77	125					
		19.53	140					
		39.06	141					
		78.13	IL					
		156.25	IL					
		312.50	IL					
陽性対照	ENNG	-	3.0	465				

数値は3連の平均値

IL : 使用菌株の生育阻害

* : $\mu\text{L}/\text{プレート}$ ** : リン酸緩衝液のみを添加

ENNG : *N*-Ethyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine

陽性対照物質はDMSOに溶解して使用

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-39)

エトキサゾール代謝物
test)

の細菌を用いた復帰突然変異性試験 (Ames

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検 体:

(代謝分解物一覧表および代謝分解経路図中の記号: R8)

方 法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535およびTA 1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検討した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験菌株を用いた予備試験において、1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で生育阻害が認められたので、これを最高処理濃度とした。陽性対照物質および処理濃度は結果の表中に示した。本試験はプレインキュベーション法を用い、37°C、20分間プレインキュベーションを行った後、37°Cで48時間培養後、コロニー数を自動コロニーカウンターで計数した。試験は3連制で行った。

結 果: 結果を次頁の表に示した。

本検体はS-9 mixの存在下で、TA100に対し、156 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で陰性対照の2.2~3.2倍の平均復帰突然変異コロニー数の増加が認められた。その作用には、用量依存性が認められ、再現性を示した。

他の菌株では、S-9 mixの有無にかかわらず、いずれの処理濃度においても復帰突然変異コロニー数を増加させなかった。

なお、1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の濃度で、S-9 mixの有無にかかわらず、すべての菌株に対して生育阻害を示した。

一方、陽性対照ではS-9 mixの存在下および非存在下で、復帰突然変異コロニー数が顕著に増加した。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系の存在下で、TA100 株に対し復帰突然変異誘発性を示し、塩基対型変異原性を示すものと思われる。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果表

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	148	15	28	23	7
検体	-	20	154	17	27	21	7
		39	150	13	30	24	10
		78	145	10	35	28	9
		156	124	16	34	27	7
		313	114	13	22	18	6
		625**	/	/	/	/	/
		1250***	0	4	7	0	0
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	130	15	32	32	14
検体	+	39	198	15	38	31	16
		78	205	18	35	37	15
		156	290	9	40	46	18
		313	413	16	40	41	17
		625	417	11	28	41	19
		1250***	62	8	12	8	7
		陽性対照	AF-2	-	0.01	662	/
-	0.1			/	/	675	/
NaN ₃	-		0.5	/	627	/	/
	-		80	/	/	/	338
2-AA	+		1	982	/	/	/
			2	/	341	/	169
			10	/	/	906	/
			0.5	/	/	/	431

数値は3連の平均値 * : $\mu\text{L}/\text{プレート}$

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン 2-AA : 2-アミノアントラセン

AF-2, 9-AA, 2-AAはDMSOに溶解して使用, NaN₃は注射用蒸留水に溶解して使用

** : 濃度設定試験において1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の濃度で生育阻害を示し, また, 313 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の濃度でコロニー数の減少を認めたため省略した。

*** : 菌の生育阻害が認められた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-40 参考資料)

エトキサゾール代謝物
試験 (Ames test)

(高純度品) の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験機関:

報告書作成年:

の細菌を用いた復帰突然変異性試験において、純度 % の検体を用いて試験を行ったところ、薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下で TA 100 菌株が陽性を示した (資料 No. T-39)。検体中の不純物は、本来エトキサゾールの代謝過程で生成するものとは考えられず、代謝物としてのフェニルグリシノールの復帰突然変異誘発性を検索するにはより高純度の検体を用いるべきであると考え、本試験を行った。

検 体:

(代謝分解物一覧表および代謝分解経路図中の記号: R8)

方 法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535 および TA 1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検討した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。オリンパス光学で実施したフェニルグリシノールを用いた試験で、1250 µg/プレート以上で生育阻害が認められたので、これを最高処理濃度とした。陽性対照物質および処理濃度は結果の表中に示した。

本試験はプレインキュベーション法を用い、37°C、20分間プレインキュベーションを行った後、37°Cで48時間培養後、コロニー数を計数した。試験は2連制で行った。

結 果: 結果を次頁の表に示した。

本検体はS-9 mixの有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰突然変異コロニー数を増加させなかった。

なお、S-9 mixの非存在下で、TA 100菌株に対し313 µg/プレート以上の濃度で、TA 98菌株に対しては625 µg/プレートの濃度で生育阻害を示した。また、その他の菌株に対しては1250 µg/プレートの濃度で生育阻害を示した。

S-9 mixの存在下では、1250 µg/プレートの濃度ですべての菌株に対して生育阻害を示した。

一方、陽性対照ではS-9 mixの存在下および非存在下で、復帰突然変異コロニー数が顕著に増加した。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さなかった。

試験結果表

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	104	8	21	19	5
検体	-	78	108	9	24	26	5
		156	112	4	23	25	5
		313***	72	7	23	27	4
		625**	49	6	19	7	3
		1250**	4	2	10	0	1
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	107	7	20	22	7
検体	+	78	98	7	21	23	7
		156	92	6	22	24	6
		313	116	7	23	21	4
		625	106	7	19	18	6
		1250**	21	1	5	0	0
陽性対照	AF-2	-	0.01	343	/	189	/
		-	0.1	/	/	459	/
	NaN ₃	-	0.5	/	239	/	/
		-	80	/	/	/	421
	2-AA	+	1	743	/	/	/
			2	/	206	/	/
			20	/	/	333	/
			0.5	/	/	/	222

数値は2連の平均値 * : $\mu\text{L}/\text{プレート}$

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン 2-AA : 2-アミノアントラセン

AF-2, 9-AA, 2-AAはDMSOに溶解して使用, NaN₃は注射用蒸留水に溶解して使用

** : 菌の生育阻害が認められた。

*** : TA 100のみ生育阻害が認められた。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-41)

エトキサゾール代謝物

の細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames test)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検 体:

(代謝分解物一覧表および代謝分解経路図中の記号: R10)

方 法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535 および TA 1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い, ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) 存在下および非存在下で, Amesらの方法を用いて変異原性を検討した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験菌株を用いた予備試験において, 5000 µg/プレートにおいても毒性を示さなかったため, これを最高処理濃度とした。陽性対照物質および処理濃度は結果の表中に示した。本試験はプレインキュベーション法を用い, 37°C, 20分間プレインキュベーションを行った後, 37°Cで48時間培養後, コロニー数を自動コロニーカウンターで計数した。試験は3連制で行った。

結 果: 結果を次頁の表に示した。

本検体はS-9 mixの有無にかかわらず, いずれの菌株, いずれの処理濃度においても復帰突然変異コロニー数を増加させなかった。

一方, 陽性対照ではS-9 mixの存在下および非存在下で, 復帰突然変異コロニー数が顕著に増加した。

以上の結果より, 本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず, 本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果表

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537	
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	98	11	18	21	4	
検体	-	313	110	12	19	22	5	
		625	117	9	16	22	3	
		1250	118	11	17	16	5	
		2500	110	11	13	23	3	
		5000	109	13	12	23	4	
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	104	11	21	33	10	
検体	+	313	110	11	18	37	9	
		625	111	10	21	33	10	
		1250	111	10	18	39	11	
		2500	120	10	14	31	12	
		5000	107	8	15	36	7	
陽性 対照	AF-2	-	0.01	601	/	67	/	
		-	0.1	/	/	608	/	
	NaN ₃	-	0.5	/	418	/	/	
	9-AA	-	80	/	/	/	290	
	2-AA	+	1	880	/	/	/	/
			2	/	323	/	/	162
			10	/	/	789	/	/
			0.5	/	/	/	444	/

数値は3連の平均値 * : $\mu\text{L}/\text{プレート}$

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン 2-AA : 2-アミノアントラセン

AF-2, 9-AA, 2-AAはDMSOに溶解して使用, NaN₃は注射用蒸留水に溶解して使用

(資料 No. T-42)

エトキサゾール代謝物

の細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames test)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年 :

検 体 :

(代謝分解物一覧表および代謝分解経路図中の記号 : R11)

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535およびTA 1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い, ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で, Amesらの方法を用いて変異原性を検討した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験菌株を用いた予備試験において, 5000 µg/プレートにおいても毒性を示さなかったため, これを最高処理濃度とした。陽性対照物質および処理濃度は結果の表中に示した。本試験はプレインキュベーション法を用い, 37°C, 20分間プレインキュベーションを行った後, 37°Cで48時間培養後, コロニー数をコロニーアナライザーで計数した。試験は3連制とし, 2反復で行った。

結 果 : 結果を次頁の表に示した。

本検体はS-9 mixの有無にかかわらず, いずれの菌株, いずれの処理濃度においても復帰突然変異コロニー数を増加させなかった。

一方, 陽性対照ではS-9 mixの存在下および非存在下で, 復帰突然変異コロニー数が顕著に増加した。

以上の結果より, 本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず, 本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

第1回試験

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	97	7	15	21	4
検体	-	313	106	10	13	20	4
		625	117	8	17	20	3
		1250	98	5	21	24	5
		2500	114	8	20	30	2
		5000	104	8	17	15	3
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	87	5	19	29	9
検体	+	313	72	6	21	31	11
		625	71	6	16	35	6
		1250	91	8	23	33	12
		2500	92	7	26	26	5
		5000	77	6	17	26	8
陽性対照	AF-2	-	0.01	552		199	
		0.1				718	
	NaN ₃	-	0.5		636		
		80					676
	2-AA	+	1	500			
			2		154		73
			10			302	
			0.5				420

数値は3連の平均値 * : $\mu\text{L}/\text{プレート}$

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン 2-AA : 2-アミノアントラセン

AF-2, 2-AAはDMSOに溶解して使用

NaN₃, 9-AAは注射用蒸留水に溶解して使用

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

第2回試験

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	95	10	21	16	5
検体	-	313	86	10	25	15	4
		625	93	8	23	19	4
		1250	97	9	23	15	7
		2500	92	12	21	12	6
		5000	85	11	15	18	5
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	73	5	23	21	12
検体	+	313	72	9	23	24	10
		625	72	8	22	32	11
		1250	70	8	21	28	8
		2500	71	8	20	29	8
		5000	74	5	24	24	8
陽性 対照	AF-2	-	0.01	642	/	189	/
		-	0.1	/	/	688	/
		-	0.5	/	622	/	/
	NaN ₃	-	80	/	/	/	720
		-	80	/	/	/	720
	2-AA	+	1	555	/	/	/
			2	/	221	/	98
			10	/	/	478	/
0.5			/	/	/	438	

数値は3連の平均値 * : $\mu\text{L}/\text{プレート}$

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン 2-AA : 2-アミノアントラセン

AF-2, 2-AAはDMSOに溶解して使用

NaN₃, 9-AAは注射用蒸留水に溶解して使用

(資料 No. T-43)

エトキサゾール代謝物
test)

の細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検 体 :

(代謝分解物一覧表および代謝分解経路図中の記号 : R14)

方 法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535 および TA 1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 uvrA) を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検討した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験菌株を用いた予備試験において、5000 µg/プレートにおいても毒性を示さなかったため、これを最高処理濃度とした。陽性対照物質および処理濃度は結果の表中に示した。本試験はプレインキュベーション法を用い、37°C、20 分間プレインキュベーションを行った後、37°C で 48 時間培養後、コロニー数を自動コロニーカウンターで計数した。試験は 3 連制で行った。

結 果 : 結果を次頁の表に示した。

本検体は S-9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰突然変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照では S-9 mix の存在下および非存在下で、復帰突然変異コロニー数が顕著に増加した。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さなかった。

試験結果表

供試物質	S-9 mix	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537	
溶媒対照 (DMSO)	-	100*	133	13	25	33	8	
検体	-	313	129	11	25	35	13	
		625	130	13	24	37	7	
		1250	118	10	22	27	10	
		2500	124	15	24	28	7	
		5000	129	16	19	25	7	
溶媒対照 (DMSO)	+	100*	107	10	25	42	17	
検体	+	313	121	10	27	40	15	
		625	119	11	30	44	18	
		1250	128	13	32	41	13	
		2500	120	13	23	29	15	
		5000	105	10	24	34	8	
陽性 対照	AF-2	-	0.01	617		86		
		-	0.1			694		
		-	0.5		473			
	NaN ₃	-	80				486	
	2-AA	+	1	685				
			2		279			126
			10			708		
			0.5				398	

数値は3連の平均値 * : $\mu\text{L}/\text{プレート}$

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン 2-AA : 2-アミノアントラセン

AF-2, 9-AA, 2-AA は DMSO に溶解して使用

NaN₃ は注射用蒸留水に溶解して使用

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

3. 製剤の毒性

(資料 No. T-3)

エトキサゾール10%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール10%水和剤 (ロット番号)
[組成]	エトキサゾール 10.0%
	水・界面活性剤等 90.0%
	100.0%

供試動物：Sprague-Dawley系ラット 4~7週齢
開始時体重 雄；113~125 g, 雌；106~139 g
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

投与方法：検体をそのまま、一晩絶食させたラットに1回強制経口投与した。給餌は投与後4時間目から行った。

観察項目：一般状態および死亡の有無を14日間観察した。体重は投与直前、投与後8および15日に測定した。
試験終了時に全ての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果：下表に示す。

投与方法	経 口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	>5000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および 消失時間	5分 2日	5分 2日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

すべての供試動物で投与直後から立毛が認められたがその他の臨床症状は認められなかった。雌の4例で投与後8日に僅かな体重増加量の減少が認められ、また、雄の1例で投与後15日に僅かな体重増加量の減少が認められた。剖検において肉眼的異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-4)

エトキサゾール10%水和剤の Maus における急性経口毒性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：エトキサゾール10%水和剤（ロット番号 ）

[組成]	エトキサゾール	10.0%
	水・界面活性剤等	90.0%
		100.0%

供試動物：ICR系 Maus 4~7週齢

開始時体重 雄；21~22 g, 雌；16~18 g, 1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

投与方法：検体をそのまま、一晩絶食させた Maus に1回強制経口投与した。給餌は投与後4時間から行った。

観察項目：一般状態および死亡の有無を14日間観察した。体重は投与直前、投与後8および15日に測定した。

試験終了時に全ての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果：下表に示す。

投与方法	経 口	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	>5000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および 消失時間	5分 2日	5分 2日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

すべての供試動物で投与直後から立毛が認められた。雌雄各1例で投与後1時間から5時間まで円背位および嗜眠が認められた。体重増加量は順調に推移した。剖検において肉眼的異常は認められなかった。

(資料 No. T-6)

エトキサゾール10%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール10%水和剤 (ロット番号)	
[組成]	エトキサゾール	10.0%
	水・界面活性剤等	90.0%
		100.0%

供試動物：Sprague-Dawley系ラット 7~10週齢

開始時体重 雄：218~240 g, 雌：212~229 g, 1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

投与方法：ラットの背部の皮膚約50 mm×50 mmを除毛し、翌日、検体をそのまま均一に塗布した。その上をガーゼおよび無刺激性の包帯で覆い、検体と皮膚を24時間接触させた。その後残存する検体を除去した。

観察項目：一般状態および死亡の有無を14日間観察した。紅斑と痂皮および浮腫を数値化して評価した。体重は投与直前、投与後8および15日に測定した。

試験終了時に全ての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果：下表に示す。

投与方法	経 皮	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>2000	>2000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および消失時間	症状発現なし	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

観察期間を通じ、雌雄とも死亡および臨床症状は観察されなかった。また適用部位に紅斑および浮腫は認められなかった。剖検において肉眼的異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-8)

エトキサゾール10%水和剤のラットにおける急性吸入毒性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール10%水和剤 (ロット番号)
[組成]	エトキサゾール 10.0%
	水・界面活性剤等 90.0%
	<hr/>
	100.0%

供試動物：Fischer系ラット 8週齢

開始時体重 雄：191~216 g, 雌：139~149 g

1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

暴露方法：チュービングポンプを用いて検体をアトマイザーへ供給しミストを発生させ、4時間全身暴露させた。

設定濃度：空気力学的質量中位径 (MMAD) が 4.0 μm 以下の条件下での最高達成濃度

実際濃度：1.09 mg/L

暴露条件：次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

設定濃度 (mg/L)	MMADが4.0 μm以下の 条件下での最高達成濃度
実際濃度 (mg/L)	1.09
粒子径分布 (%) ¹⁾	
>11.0	7.7
7.0 ~ 11.0	7.5
4.7 ~ 7.0	24.1
3.3 ~ 4.7	26.5
2.1 ~ 3.3	15.0
1.1 ~ 2.1	11.1
0.65 ~ 1.1	5.6
0.43 ~ 0.65	1.7
<0.43	0.8
空気力学的質量中位径 (μm)	3.9 μm
吸入可能な粒子(10 μm以下)の割合 (%)	92% 以上
チャンバー容積	380 L
チャンバー内通気量	100 L/分

¹⁾アンダーセンサンプラーにより2回測定した平均値

観察項目：暴露中および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。暴露直前、暴露後7および14日に体重を測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：下表に示す。

投与方法	吸入 (全身暴露)
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄ともに 1.09 以上
死亡開始時間および終了時間	雌雄とも死亡例なし
症状発現および 消失時間	2時間 1日
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 1.09

臨床症状としては、鼻吻部周囲の赤色付着物と下腹部被毛の汚れが雄の各一例に観察された。体重は雌雄ともに全例で増加した。肉眼的病理検査では、雌雄とも何ら異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-12)

エトキサゾール10%水和剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：エトキサゾール10%水和剤（ロット番号 ）

[組成]	エトキサゾール	10.0%
	水・界面活性剤等	90.0%
		100.0%

供試動物：ニュージーランド白色ウサギ 10～12週齢，雄6匹

開始時体重 2.3～2.8 kg

試験期間：72時間観察

投与方法：6匹のウサギの背部から腹側部にかけての約100 mm×100 mmを適用24時間前に除毛した。検体 0.5 mLを除毛部位に適用し，25 mm×25 mmのガーゼのパッチで覆い，検体と皮膚を4時間接触させた。その後残存する検体を温水で除去した。

観察項目：塗布終了後30分，24，48および72時間に皮膚の変化（紅斑および浮腫）を観察した。

刺激性変化の採点はEPA法に準拠した。

結 果：観察された刺激性変化の評価を下表に示した。

項 目	最高 評点	観 察 時 間			
		0.5時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

いずれの観察時間においても紅斑・痂皮および浮腫は認められなかった。観察期間を通じ，死亡および臨床症状は観察されなかった。

以上の結果から，本検体は，ウサギの皮膚に対して刺激性はないものと判断される。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-10)

エトキサゾール10%水和剤のウサギにおける眼刺激性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール10%水和剤（ロット番号	）
[組成]	エトキサゾール	10.0%
	水・界面活性剤等	90.0%
		100.0%

供試動物：ニュージーランド白色ウサギ，10～14週齢，雄7匹
開始時体重 2.3～3.3 kg

試験期間：7日間観察

投与方法：検体 0.1 mLを6匹のウサギの片眼に適用し，他眼は無処理対照とした。
1匹のウサギには，検体を水で 20%に希釈した液を同様に適用した。

観察項目：検体適用後1時間，1，2，3，4および7日に角膜，虹彩および結膜の変化を観察した。
刺激性変化は，EPA法に準拠し数値化して評価した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

結果：観察された刺激性変化の評価を下表に示した。

観察項目		最高 評点	観察時間							
			1時間	1日	2日	3日	4日	7日		
非洗眼群	原液	角膜 程度	4	0	0	0	0	0	0	
		混濁 面積	4	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1.2	1	0.7	0.2	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0
	分泌物		3	1.3	0	0	0	0	0	
	合計	20	3.5	1	0.7	0.2	0	0		
	20%希釈液	角膜 程度	4	0	0	0	0	0	0	
		混濁 面積	4	0	0	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	0	0	
合計		20	0	0	0	0	0	0		

原液を用いた試験群の数値は6匹の平均値

20%希釈液群の供試動物数は1匹

角膜、虹彩には刺激性反応は認められなかった。

一時的でわずかな結膜の発赤、浮腫および分泌物が適用1時間後から全例のウサギで認められたが、浮腫は1日後、発赤は4日後、分泌物は1日後にすべて消失した。観察期間を通じ、死亡および臨床症状は観察されなかった。

20%希釈液を処理したウサギでは刺激性反応は認められなかった。

以上の結果から、本検体は、ウサギの眼の結膜に対して、わずかな刺激性を示すと判断される。

(資料 No. T-14)

エトキサゾール10%水和剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール10%水和剤（ロット番号	）
[組成]	エトキサゾール	10.0%
	水・界面活性剤等	90.0%
		100.0%

供試動物：Dunkin/Hartley系モルモット 6~7週齢

開始時体重 274~379 g

1群雌20匹（陽性対照群 1群雌10匹）

試験期間：感作14日間，惹起24時間，観察72時間

試験操作：Maximization法

投与量設定根拠：投与量設定のため皮内注射には2匹，局所施用には4匹のモルモットを用いて予備試験を実施した。

皮内注射では，検体を注射用蒸留水で10，7.5，5.0，2.5，1.0，0.5，0.25および0.1%の濃度に希釈し皮内に注射した。その結果，投与後24時間および48時間のいずれの観察でも注射部位に紅斑および浮腫が認められ，5%以上では壊死も認められた。

局所施用では，検体原液および蒸留水で検体を80，70，50および30%濃度に希釈した液を施用した結果，いずれの濃度でも皮膚反応は観察されなかった。

以上の結果より本試験には以下の濃度を設定した。

感作皮内注射：2.5% (w/v) 溶液 (注射用蒸留水)

感作局所施用：検体原液

惹起局所施用：検体原液および 50% (w/v) 溶液 (蒸留水)

感 作：肩部の背部を40 mm×60 mmの範囲に除毛し，その部位に以下のように調製した注射液を3対，各0.1 mLを皮内注射した。

- 1) 同量の注射用蒸留水で希釈したFCA[#]
- 2) 検体を蒸留水で2.5%に希釈した溶液
- 3) FCAと同量の注射用蒸留水で調製した検体の2.5%溶液

陽性対照としては同様に以下の注射液を用いた。

- 1) 同量の注射用蒸留水で希釈したFCA[#]
- 2) 注射用蒸留水で調製したホルマリンの 0.1%溶液

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

3) 同量のFGAと注射用蒸留水で調製したホルマリンの 0.1%溶液
感作局所施用は、皮内注射6日後に注射部位を再度除毛後、剃毛し、10%ラウリル硫酸ナトリウム含有ワセリンで24時間前処理し、検体の80%アセトン溶液を約 0.4 mLしみこませた20 mm×40 mmの濾紙を48時間閉鎖塗布した。陽性対照群には前処理をせず、10%ホルマリン水溶液を同様に適用した。

#; Freund's complete adjuvant (申請者注)

惹起：感作局所施用2週間後にモルモットの側腹部を除毛後、剃毛し、検体原液および検体を蒸留水で50%に希釈した水溶液 0.2 mLをしみこませた20 mm×20 mmの濾紙のパッチを24時間閉鎖塗布した。陽性対照として、5および1%ホルマリン水溶液を同様に適用した。

観察項目：惹起暴露のパッチ除去後24、48および72時間に紅斑、浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

結果：各観察時間における感作性変化が認められた動物数を次頁の表に示した。

検体の感作群および対照群では惹起暴露のパッチ除去後24、48および72時間の観察においていずれも全例皮膚反応は認められなかった。
一方、陽性対照群では感作陽性率は100%であった。

以上の結果から、本検体のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断される。

群	供試動物数	惹起暴露濃度 (%)	皮膚反応の種類	感作反応動物数															平均評価点 ^a			感作陽性率 (%)	
				24 時間					48 時間					72 時間					24 時間	48 時間	72 時間		
				皮膚反応評点					皮膚反応評点					皮膚反応評点									
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4					
検体	感作群	20	100	浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0
			紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		
		50	浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0	
			紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		
	刺激性対照群	20	100	浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0
			紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		
		50	浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0	
			紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		
陽性対照	感作群	10	5	浮腫	0	0	8	2	0	0	0	8	2	0	0	0	8	2	0	2.2	2.2	2.2	100
			紅斑	1	4	5	0	0	0	5	5	0	0	0	5	5	0	0	1.4	1.5	1.5		
		1	浮腫	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	2.0	2.0	2.0	100	
			紅斑	3	7	0	0	0	3	7	0	0	0	3	7	0	0	0	0.7	0.7	0.7		
	刺激性対照群	10	5	浮腫	9	1	0	0	0	9	1	0	0	0	9	1	0	0	0	0.1	0.1	0.1	10
			紅斑	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		
		1	浮腫	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0	
			紅斑	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		

^a : (各観察時における各評点の動物数 × 評点) / 総評価動物数 × 100

^b : 作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 T-3-1)

エトキサゾール 7.5%くん煙剤のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール 7.5%くん煙剤 (ロット番号)
[組成]	エトキサゾール 7.5%
	鉱物質微粉・発熱剤等 92.5%
	100.0%

供試動物：Sprague-Dawley 系ラット 5~7 週齢

開始時体重 雄：90~97 g, 雌：97~105 g, 1 群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体は 1%メチルセルロース水溶液で 25%に調製し、一晚絶食させたラットに 20 mL/kg 体重の容量で 1 回強制経口投与した。

観察項目：一般状態および死亡の有無を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 8 および 15 日に測定した。

試験終了時にすべての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果：下表に示す。

投与方法	経 口	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	>5000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および 消失時間	症状発現なし	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

投与による一般状態の変化は認められなかった。

すべての動物は試験期間を通して正常な体重増加量を示した。

投与後 15 日に屠殺した動物の肉眼的検査において異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 T-6-1)

エトキサゾール 7.5%くん煙剤のラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検 体：エトキサゾール 7.5%くん煙剤 (ロット番号)

[組成] エトキサゾール 7.5%

鉍物質微粉・発熱剤等 92.5%

100.0%

供試動物：Sprague-Dawley 系ラット 8~11 週齢

開始時体重 雄：244~267 g, 雌：214~230 g, 1 群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

方 法：ラット背部の皮膚において全体表面積の約 10%に相当する部分を除毛し、翌日検体を蒸留水で調製し、50 mm×50 mm の範囲に均一に塗布した。その上をガーゼおよび無刺激性の包帯で覆い、検体と皮膚を 24 時間接触させた。その後残存する検体を除去した。

観察項目：一般状態および死亡の有無を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 8 および 15 日に測定した。試験終了時にすべての生存動物を屠殺・剖検した。

結 果：下表に示す。

投与方法	経 皮	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>2000	>2000
死亡開始および 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および 消失時間	症状発現なし	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

観察期間を通じ、雌雄とも死亡及び臨床症状は観察されなかった。すべての雄で評点1から2の紅斑が投与後3日まで認められ、1匹では4日まで認められた。雄では評点1の紅斑が投与後2日まですべての動物で認められ、1匹では試験終了時まで持続した。また、4匹の雄で評点1から2の浮腫が3日まで認められ、雌では15日まで紅斑の持続した動物で評点1の浮腫が9日まで認められた。

3匹の雄で投与後8日に体重増加量の低下が認められ、2匹の雌で試験15日に体重増加量の低下が認められた。

肉眼的病理検査では、1匹の雌に痂皮形成が認められたが、その他の動物では肉眼的異常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協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-8-1)

エトキサゾール7.5%くん煙剤のラットにおける急性吸入毒性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール7.5%くん煙剤（ロット番号	）
[組成]	エトキサゾール	7.5%
	鋳物質微粉・発熱剤等	92.5%
		100.0%

供試動物：Sprague-Dawley系ラット 7~8週齢
開始時体重 雄；368~461 g, 雌；222~264 g
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

暴露方法：試験動物を入れ、密閉したチャンバー内で、検体の通常使用量（10 g/100 m³）の10倍量をくん煙させ、4時間吸入させた（全身暴露）。

測定方法：時間毎にチャンバー内の空気を2 L/分で吸引後ガラス繊維ろ紙にトラップし、試験煙霧の重量を測定した。また、エトキサゾールをHPLC分析した。

暴露条件：

最大濃度* (mg/L)	0.02608
空気力学的質量中位径 (μm)	1.0
チャンバー内濃度*の推移 (mg/L)	
3分	0.02608
65分	0.01373
129分	0.00421
230分	0.00124
粒子径7 μm以下の粒子の占める割合 (%)	99%以上
チャンバー容積	2.4 m ³

*：有効成分値

観察項目：暴露中および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。暴露直前および暴露後3日、7日および14日目に体重を測定した。飲水量は毎日肉眼的に観察した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行い、肺の重量を測定した。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

結 果：下表に示す。

投与方法 性 別	全身暴露	
	雄	雌
投与量 (くん煙量)	1 g/m ³	1 g/m ³
チャンバー内最高暴露濃度 (mg/L)	0.02608*	0.02608*
LC ₅₀ (mg/L)	>0.02608*	>0.02608*
	>1 g/m ³ (くん煙量)	>1 g/m ³ (くん煙量)
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現および 消失時間	症状発現なし	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	0.02608*	0.02608*
	1 g/m ³ (くん煙量)	1 g/m ³ (くん煙量)

*：有効成分値

検体2.4 g (約1 g/m³チャンバー内空気) に点火後発生した煙霧に暴露したところ、死亡および暴露に関連した毒性兆候は認められなかった。

(資料 No. T-14-1)

エトキサゾール7.5%くん煙剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検 体：	エトキサゾール7.5%くん煙剤 (ロット番号)
[組成]	エトキサゾール 7.5%
	鉱物質微粉・発熱剤等 92.5%
	100.0%

供試動物：Dunkin/Hartley系モルモット 4~7週齢

開始時体重 333~420 g

1群雌20匹 (陽性対照群 1群雌10匹)

試験期間：感作20日間，惹起24時間，観察48時間

試験操作：Maximization法 (Magnusson and Kligman法)

投与量設定根拠：投与量設定のため皮内注射には2匹，局所施用には4匹のモルモットを用いて予備試験を実施した。

皮内注射では，検体を注射用蒸留水で5.0，2.5，1.0，0.5，0.25および0.1% (w/v) の濃度に懸濁し皮内に注射した。その結果，投与後24時間および72時間のいずれの観察でも注射部位に紅斑および浮腫が認められた。

局所施用では，滅菌水で75，50，25および10% (w/v) の懸濁液を調製し施用した結果，いずれの濃度でも皮膚反応は観察されなかった。

以上の結果より本試験には以下の濃度を設定した。

感作皮内注射：2.5% (w/v) 懸濁液

感作局所施用：75% (w/v) 懸濁液

惹起局所施用：75および37.5% (w/v) 溶液

感 作：肩部の背部を40 mm×60 mmの範囲に除毛し，その部位に以下のように調製した注射液を3対，各0.1 mLを皮内注射した。

1) 同量の注射用蒸留水で希釈したFCA#

2) 検体を注射用蒸留水で希釈した2.5% (w/v) 懸濁液

3) FCAと同量の滅菌水で調製した検体の2.5% (w/v) 溶液

陽性対照としては同様に以下の注射液を用いた。

1) 同量の注射用蒸留水で希釈したFCA

2) アレンビコールDで調製したHCA##の10% (v/v) 溶液

3) FCAと同量のアレンビコールDで調製した検体の10%溶液

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

感作局所施用は、皮内注射6日後に注射部位を再度除毛後、剃毛し、10%ラウリル硫酸ナトリウム含有ワセリンで24時間前処理し、検体の75%懸濁液を約 0.4 mLしみこませた20 mm×40 mmの濾紙を48時間閉鎖塗布した。陽性対照群には前処理をせず、10%HCA溶液を同様に適用した。

申請者注：

#； Freund's complete adjuvant

##； hexyl cinnamic aldehyde

惹起：感作局所施用2週間後にモルモットの側腹部を除毛後、剃毛し、除毛部前部には検体75% (w/v) 懸濁液を、後部には、検体37.5% (w/v) 懸濁液をしみこませた20 mm×20 mmの濾紙のパッチを24時間閉鎖塗布した。陽性対照として、HCA原液および50%溶液を同様に適用した。

観察項目：惹起暴露のパッチ除去後24および48時間に紅斑、浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

結果：各観察時間における感作性変化が認められた動物数を次頁の表に示した。

数匹の試験動物で軽度の皮膚反応が認められたが、皮膚反応の多くは被覆を除去する際の皮膚に固着した検体によるものと考えられた。対照動物でも軽度の皮膚刺激反応が認められたので、試験動物で認められた皮膚反応は、皮膚感作性によるものとは考えられなかった。

陽性対照群では感作陽性率は100%であった。

以上の結果から、本検体のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断される。

群	供試動物数	惹起暴露濃度 (%)	皮膚反応の種類	感作反応動物数										平均評価点 ^a		^b 感作陽性率 (%)	
				24 時間					48 時間					24 時間	48 時間		
				皮膚反応評点					皮膚反応評点								
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4				
検体	感作群	20	75	紅斑	18	2	0	0	0	19	1	0	0	0	0.1	0.05	10
				浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	
		37.5	紅斑	16	4	0	0	0	17	3	0	0	0	0.2	0.1		
			浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0		
	刺激性対照群	20	75	紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
				浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	
		37.5	紅斑	19	1	0	0	0	20	0	0	0	0	0.05	0	5	
			浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0		
陽性対照	感作群	10	100	紅斑	1	9	0	0	0	0	10	0	0	0	0.9	1.0	100
				浮腫	3	7	0	0	0	7	3	0	0	0	0.7	0.3	
		50	紅斑	3	7	0	0	0	4	6	0	0	0	0.7	0.6	70	
			浮腫	7	3	0	0	0	7	3	0	0	0	0.3	0.3		
	刺激性対照群	10	100	紅斑	10	0	0	0	0	8	2	0	0	0	0	0.2	20
				浮腫	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	
		50	紅斑	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	
			浮腫	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0		

^a : Σ (各観察時における各評点の動物数 × 評点) / 総評価動物数 × 100

^b : 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

資料 No.	試験種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																							
M-4 (GLP)	植物における代謝	オレンジ	被験物質： フェニル標識体とトリチウム標識体 施用液： 7077 ¹⁴ C製剤 施用量と施用： 0.4 kg a. i. /ha 相当を散布 栽培環境： 屋外栽培 採取時点： 0, 21, 30, 60, 90日後 に果実と葉を採取	果実と葉のいずれにおいても浸透性は低く、90日後においても果実TRRの約40~70%、葉TRRの約60~80%が表面洗浄液に回収された。トリチウムはに代謝された。 収穫期成熟果実におけるTRRレベル： 0.07~0.11 mg eq./kg 収穫期成熟果実における主な残留物： ・未変化体：TRRの約4割~6割 ・抽出残渣：		420																																							
M-5 (GLP)	土壌における代謝	畑土壌 (壇塚土) 非滅菌条件 および 滅菌条件	被験物質： フェニル標識体とトリチウム標識体 施用量： 1 mg/kg インキュベーション条件： 25°C, 暗所 最大容水量の50% 試験期間： 359日 分析： 土壌および揮発性物質	[¹⁴ C]トリチウムは土壌微生物の作用で急速に代謝分解され、1年で処理量の20~60%が無機化された。主要な代謝分解物は、 であった。 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>項目</th> <th>フェニル標識体</th> <th>トリチウム標識体</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>DT₅₀</td> <td>18.6日</td> <td>18.6日</td> </tr> <tr> <td>DT₉₀</td> <td>61.8日</td> <td>61.9日</td> </tr> <tr> <td>¹⁴CO₂</td> <td>19.8%</td> <td>61.0%</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>40.1%</td> <td>17.1%</td> </tr> </tbody> </table>	項目	フェニル標識体	トリチウム標識体	DT ₅₀	18.6日	18.6日	DT ₉₀	61.8日	61.9日	¹⁴ CO ₂	19.8%	61.0%	抽出残渣	40.1%	17.1%		431																								
項目	フェニル標識体	トリチウム標識体																																											
DT ₅₀	18.6日	18.6日																																											
DT ₉₀	61.8日	61.9日																																											
¹⁴ CO ₂	19.8%	61.0%																																											
抽出残渣	40.1%	17.1%																																											
M-6	土壌吸着			トリチウムは水溶性が低く、ガイトランに示されている試験を行うことが困難なため本試験は実施しなかった。	未実施	439																																							
M-7 (GLP)	加水分解	滅菌緩衝液 pH1.2, 5.0, 7.0, 9.0	被験物質： フェニル標識体 試験濃度： 0.037 mg/L 溶解補助剤： 1%7077 ¹⁴ C 試験温度： 20, 50, 60, 70°C (pH1.2は37°C, pH5.0は20°C)	トリチウムは中性および塩基性条件では安定であったが、酸性条件では比較的容易に加水分解された。 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">温度 (°C)</th> <th colspan="4">加水分解半減期 (日)</th> </tr> <tr> <th>pH1.2</th> <th>pH5.0</th> <th>pH7.0</th> <th>pH9.0</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>37</td> <td>0.7時間</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>—</td> <td>9.6</td> <td>161</td> <td>165</td> </tr> <tr> <td>25</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>(88)</td> <td>(124)</td> </tr> <tr> <td>50</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>8.0</td> <td>9.5</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>3.2</td> <td>3.9</td> </tr> <tr> <td>70</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>1.5</td> <td>1.6</td> </tr> </tbody> </table> () : 計算値, — : なし	温度 (°C)	加水分解半減期 (日)				pH1.2	pH5.0	pH7.0	pH9.0	37	0.7時間	—	—	—	20	—	9.6	161	165	25	—	—	(88)	(124)	50	—	—	8.0	9.5	60	—	—	3.2	3.9	70	—	—	1.5	1.6		440
温度 (°C)	加水分解半減期 (日)																																												
	pH1.2	pH5.0	pH7.0	pH9.0																																									
37	0.7時間	—	—	—																																									
20	—	9.6	161	165																																									
25	—	—	(88)	(124)																																									
50	—	—	8.0	9.5																																									
60	—	—	3.2	3.9																																									
70	—	—	1.5	1.6																																									

資料 No.	試験種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																					
M-8 (GLP)	水中光分解-1	滅菌緩衝液 (pH9.3) および 滅菌河川水 (pH8.4)	被験物質： フェニル標識体とイソプロパニル標識体 試験濃度： 0.005 mg/L 溶解補助剤： 10% 7-ヒトトリル 試験温度： 室温 (約20°C) 光源： キセノン光 (26100 μW/cm ² ; 250 ~ 800 nm) 連続照射	水中におけるイソプロパニルは直接的な光分解により速やかに分解された。また、量子収率 (Φ ^o) は0.026であり、これより求めた北緯40°、東経140°および水深30 cm における半減期は5.56日であった。 水中光分解半減期 (日、照射区) <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">被験物質</th> <th colspan="2">イソプロパニル標識体</th> <th colspan="2">フェニル標識体</th> </tr> <tr> <th>河川水</th> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> <th>緩衝液</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>遠測照射</td> <td>247.5</td> <td>121.6</td> <td>533.1</td> <td>138.6</td> </tr> <tr> <td>太陽光換算*</td> <td>28.6</td> <td>15.9</td> <td>59.7</td> <td>17.4</td> </tr> </tbody> </table> *：北緯35°における太陽光換算半減期 イソプロパニルは、 に分解すると考えられた。 主要な分解生成物 (最大値：%) <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">分解物</th> <th colspan="2">イソプロパニル標識体</th> <th colspan="2">フェニル標識体</th> </tr> <tr> <th>河川水</th> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> <th>緩衝液</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>DFB</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R12</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R11</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R4/R15*</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R3</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> *：イソプロパニル標識体ではR4として検出、nd：未検出	被験物質	イソプロパニル標識体		フェニル標識体		河川水	緩衝液	河川水	緩衝液	遠測照射	247.5	121.6	533.1	138.6	太陽光換算*	28.6	15.9	59.7	17.4	分解物	イソプロパニル標識体		フェニル標識体		河川水	緩衝液	河川水	緩衝液	DFB					R12					R11					R4/R15*					R3						446
被験物質	イソプロパニル標識体		フェニル標識体																																																								
	河川水	緩衝液	河川水	緩衝液																																																							
遠測照射	247.5	121.6	533.1	138.6																																																							
太陽光換算*	28.6	15.9	59.7	17.4																																																							
分解物	イソプロパニル標識体		フェニル標識体																																																								
	河川水	緩衝液	河川水	緩衝液																																																							
DFB																																																											
R12																																																											
R11																																																											
R4/R15*																																																											
R3																																																											
M-8	水中光分解-2	滅菌緩衝液 (pH7.0) および 滅菌河川水 (pH7.1)	被験物質： 非標識イソプロパニル 試験濃度： 0.005 mg/L 溶解補助剤： 10% 7-ヒトトリル 試験温度： 室温 (約28°C) 光源： キセノン光 (145 W/m ² ; 290 ~ 800 nm) 連続照射	イソプロパニルの直接的な光分解速度は遅いが、河川水中では光増感効果によって分解が促進された。 <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">試験区</th> <th colspan="2">水中光分解半減期 (日)</th> </tr> <tr> <th>緩衝液</th> <th>河川水</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>暗所対照</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>連続照射</td> <td>94.5</td> <td>66.3</td> </tr> <tr> <td>太陽光換算*</td> <td>169</td> <td>119</td> </tr> </tbody> </table> -：試験期間中に有意な分解は認められず。 *：1994年5月の東京地方太陽光換算	試験区	水中光分解半減期 (日)		緩衝液	河川水	暗所対照	—	—	連続照射	94.5	66.3	太陽光換算*	169	119		456																																							
試験区	水中光分解半減期 (日)																																																										
	緩衝液	河川水																																																									
暗所対照	—	—																																																									
連続照射	94.5	66.3																																																									
太陽光換算*	169	119																																																									
M-9 (GLP)	ガラス表面光分解	ガラス表面	被験物質： フェニル標識体とイソプロパニル標識体 試験濃度： 3.1~3.5 μg/cm ² 光源： 10月の自然太陽光に2日間、次いで作物栽培環境内人工光 (>200 nm) 下に40日間人工光照射方式： 15時間照射/日	イソプロパニルは自然太陽光または人工光下で比較的容易に分解された。光照射区での主要な揮発性の分解生成物はであり、微量分解生成物としてが生成した。は暗所対照区と0時点の光照射区でのみ検出された。 イソプロパニルは 光分解された。 <table border="1"> <thead> <tr> <th>照射時間</th> <th>イソプロパニルの残存率</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>48時間</td> <td>74.9 ~ 77.5%</td> </tr> <tr> <td>42日間</td> <td>1.3 ~ 1.6%</td> </tr> </tbody> </table>	照射時間	イソプロパニルの残存率	48時間	74.9 ~ 77.5%	42日間	1.3 ~ 1.6%		459																																															
照射時間	イソプロパニルの残存率																																																										
48時間	74.9 ~ 77.5%																																																										
42日間	1.3 ~ 1.6%																																																										
M-10 水-11	魚類生物濃縮性	ニジマス 30匹/区	流水式 水中検体濃度：10 ppb 取込期間：21日 排泄期間：10日	BCF _{ss} ：860 (報告書より申請者が計算) BCF _k ：920 生物学的半減期：2.6日		464																																																					
M-11 水-12	魚類生物濃縮性	ブルーギル 30匹/区	流水式 水中検体濃度：8.5 ppb 取込期間：11日 排泄期間：10日	BCF _{ss} ：1200 (報告書より申請者が計算) BCF _k ：1200 生物学的半減期：2.5日		466																																																					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

資料 No.	試験種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-12 (GLP)	その他 (植物における代謝)	ワタ	被験物質： フェニル標識体と ジフルオロフェニル標識体 施用液： 7077 [®] 製剤 施用量と施用： 0.1 kg a. i./ha 相当を2回散布 栽培環境： スクリーンハウス内 採取時点： 2回目散布から21日後に種子とジントラッシュを採取	本試験は米国でのワタ用途登録申請のために実施された。国内ではワタ用途の登録はない。 種子において、TRRの約77～78%がメノール（表面洗浄）および有機溶媒などに回収された。エチゾールは、最終的には植物構成成分（セルロース、リグニン、タンパク質、ヘミセルロースなど）に取り込まれた。 種子におけるTRRレベル： 0.02～0.03 mg eq./kg ジントラッシュにおけるTRRレベル： 4.47～5.93 mg eq./kg 種子における主な残留物： ・未変化体（フェニル標識体）：TRRの20%、 <0.01 mg eq./kg ・抽出残渣： ジントラッシュにおける主な残留物： ・未変化体：TRRの36～44%、1.96～2.15 mg eq./kg ・最終残渣：		468

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

<代謝分解物一覧表-1>

記号	由来	名称 (略称)	化 学 名	構 造 式
YI-5301 S-1283	親化合物	エトキザール etoxazole	5- <i>tert</i> -butyl-2-[2-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-1,3-oxazol-4-yl]phenetole	
R2				
R3				
R4				
R5				
R6				
R7				

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

<代謝分解物一覧表-2>

記号	由来	名称 (略称)	化 学 名	構 造 式
R8				
R9				
R10				
R11				
R12				
R13				
R14				
R15				

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

<代謝分解物一覧表-3>

記号	由来	名称 (略称)	化 学 名	構 造 式
R16				
R24				
DFB				
Met1				
Met4				
1B				
CO ₂				

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

<代謝分解試験に用いた標識化合物>

本代謝試験では、

2種類の¹⁴C標識化合物を用いた。以下に化学名、名称、構造式、標識位置および略称を示す。

化学名および名称	5- <i>tert</i> -butyl-2-[2-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-1,3-oxazol-4-yl]phenetole	
化学構造式および標識位置 (*で表示)		
略 称	フェニル標識体	オキサゾール標識体

標識位置の選定について