

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(2) 過塩素酸塩負荷試験による甲状腺機能に及ぼす影響試験

(資料 41)

試験機関:

(GLP 対応)

報告作製年:

試験の目的: 本剤の甲状腺機能への直接的な作用(甲状腺でのヨウ素有機化阻害作用)の有無を知るため、検体投与後、直接的な作用を有する過塩素酸塩を投与し負荷試験を行った。又、血清チロキシン濃度を低下させ甲状腺細胞中のヨウ素有機化を低下させることがわかっている Noxyflex を同時に検討した。

検体及び純度: フィプロニル、

供試動物: CrI: CD(SD)BR 系ラット雄、27 匹/群(6 週令)、3 匹/ケージ

投与方法: 次表のようにフィプロニルとプロピルチオウラシル(PTU)は 0.5%メチルセルロース懸濁液とし、容量 5mL/kg で強制経口投与し、また Noxyflex(50mg/kg)は 0.9%生理食塩水に溶解して、容量 1mL/kg で、各動物に腹腔内投与した。各投与を 14 日間反復投与した後、24 時間後に 0.9%生理食塩水に溶解した Na¹²⁵I を容量 1mL/kg で、各動物に腹腔内投与した。その 6 時間後に、過塩素酸カリウムの 0.9%生理食塩水溶液を 2mL/kg の容量で腹腔内投与した。なお、各投与液は投与前日に毎回調製し、投与容量は直近の体重に基づき算出した。

群(溶媒)	動物数	用量 (mg/kg)	投与方法/回数	Na ¹²⁵ I 投与	6 時間後過塩素酸カリウム投与 (mg/kg)							
対照 (0.5%MC)	9 匹	0	経口/14 日	+	+							
	9 匹					0						
	9 匹					10						
検体 (0.5%MC)	9 匹	10	経口/14 日			+	+					
	9 匹							0				
	9 匹							10				
PTU (0.5%MC)	9 匹	200	経口/14 日					+	+			
	9 匹									0		
	9 匹									10		
Noxyflex (0.9%生理食塩水)	9 匹	50	腹腔/14 日							+	+	
	9 匹											0
	9 匹											10
					25							

MC: メチルセルロース

観察・検査項目及び結果:

一般状態の観察: 毒性症状あるいは生死について毎日観察した。

Noxyflex 群の 1 例が投与 2 日目に死亡したのみであった。

毒性症状は検体投与群及び Noxyflex 群では認められなかったが、PTU 群では流涎、口周囲の褐色汚染、被毛の汚染、泌尿生殖器部の湿潤が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

体重：投与 0 日(投与開始時)、その後週 1 回測定した。

いずれの投与群とも有意な体重増加の抑制が認められた。PTU 群の体重増加の抑制が最も顕著であった。検体投与群の抑制は軽度であった。

群(溶媒)	用量(mg/kg)	2週までの体重増加%
対照	0	100
検体	10	85↓
PTU	200	37↓
Noxyflex	50	75↓

統計学的方法：Student t-検定 ↓：P≤0.001

体重増加は対照群に対する比率%

摂餌量：ケージ別摂餌量を毎週測定し、1日当たり摂餌量(g/ラット/日)を算出した。また、食餌効率(g 飼料/g 体重増加)も算出した。

群(溶媒)	用量(mg/kg)	2週までの平均摂餌量%	食餌効率
対照	0	100	4.6
検体	10	92↓	5.0
PTU	200	73↓	9.0
Noxyflex	50	86↓	5.3

統計学的方法：Student t-検定 ↓：P≤0.01 ↓：P≤0.001

体重増加は対照群に対する比率%

いずれの投与群とも有意な平均摂餌量の減少が認められた。PTU 群の摂餌量の減少が最も顕著であった。検体投与群の減少はわずかであった。

食餌効率の低下が PTU 群で顕著であった。

過塩素酸負荷試験：

試験 15 日に過塩素酸カリウム及び 0.9%生理食塩水を腹腔内投与直後に神経弛緩性鎮痛剤を筋注 2.5 分後、心穿刺により採血し、ガンマカウンターで放射能を測定した。採血直後に屠殺して、直ちに、甲状腺を摘出して重量を測定し、放射能を測定した。

ついで、血液及び甲状腺の全試料をガンマカウンターで ^{125}I 量を計測した。全甲状腺カウント数、血液カウント数、甲状腺重量及び血液重量から、 ^{125}I の甲状腺 g 及び血液 g あたりカウント数、並びに甲状腺/血液比を計算した。

血中 ^{125}I 濃度(表-1)：投与終了後、血中放射濃度が対照群より有意に高かったのは、PTU 投与群のみであり、PTU による遊離 ^{125}I の放出が認められた。

表-1 血中 ¹²⁵I 濃度 (投与放射能に対する割合%/g)

投与群 (用量 mg/kg)	血中 ¹²⁵ I 濃度 (%)			
	生理食塩水	過塩素酸塩		投与群全平均
		10mg/kg	25mg/kg	
対照	0.142	0.131	0.145	0.139
検体 10	0.147	0.143	0.142	0.144
PTU 200	0.203	0.229	0.214	0.215 [↑] (155)
Noxyflex 50	0.160	0.142	0.155	0.152

統計学的方法: Student t-検定 [↑]: P ≤ 0.01 ()内は対照群に対する比率%

甲状腺の放射能濃度及び甲状腺重量(表-2): 検体及び Noxyflex 群では、有意な増加がみられたが、一方 PTU 群では減少がみられ、甲状腺へのヨウ素の摂取が阻害されたと考えられた(表-2)。いずれの化合物も甲状腺重量を有意に増加させたが、その程度は PTU 群で最も大であった。

表-2、甲状腺重量及び甲状腺 ¹²⁵I 濃度

投与群 (用量 mg/kg)	甲状腺 ¹²⁵ I 濃度 (%)			甲状腺重量 (g)			投与群全平均
	生理食塩水	過塩素酸塩		生理食塩水	過塩素酸塩		
		10mg/kg	25mg/kg		10mg/kg	25mg/kg	
対照	3.078	3.191	2.795	0.0189	0.0178	0.0164	0.017
検体 10	5.541 [↑] (108)	5.245 [↑] (164)	7.086 [↑] (253)	0.0205	0.0175	0.0248	0.021 [↑] (124)
PTU 200	1.388 [↓] (45)	0.316 [↓] (10)	0.237 [↓] (8)	0.0518	0.052	0.0594	0.054 [↑] (318)
Noxyflex 50	6.355 [↑] (206)	7.627 [↑] (239)	7.777 [↑] (278)	0.0224	0.0235	0.0238	0.023 [↑] (135)

統計学的方法: Student t-検定 ^{↑↓}: P ≤ 0.01 ()内は対照群に対する比率%

血中放射能/甲状腺重量比及び血中放射能/甲状腺放射能比(表-3):

表-3 血中放射能/甲状腺重量比(dpm/g)及び血中放射能(%/g)/甲状腺放射能比(%/g)

投与群 (用量 mg/kg)	血中放射能/甲状腺重量比			血中放射線/甲状腺放射線比		
	生理食塩水	過塩素酸塩		生理食塩水	過塩素酸塩	
		10mg/kg	25mg/kg		10mg/kg	25mg/kg
対照	256246 (100)	255956 (100)	308833 (100)	1151 (100)	1423 (100)	1307 (100)
検体 10	238035 (93)	277128 (108)	195627 [↓] (63)	1834 [↑] (159)	2141 [↑] (150)	2053 [↑] (157)
PTU 200	137050 [↓] (53)	148611 [↓] (58)	124161 [↓] (40)	134 [↓] (12)	27 [↓] (2)	19 [↓] (1)
Noxyflex 50	259677 (101)	198997 (78)	224626 [↓] (73)	1821 [↑] (158)	2218 [↑] (156)	2165 [↑] (166)

統計学的方法: Student t-検定 ^{↑↓}: P ≤ 0.01
()内は対照群に対する比率%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

血中放射能濃度/甲状腺重量比：PTU 群では投与後食塩水投与、過塩素酸塩投与のいずれでも、対照群と比べ有意な低下が認められた。一方、検体群及び Noxyflex 群では、投与後過塩素酸塩投与 (25 mg/kg) の場合のみ、対照群と比べ有意な低下がみられた。

血中放射線濃度/甲状腺放射線濃度比：検体群と Noxyflex 群は約 60%上昇したが、PTU 群は逆に大幅に低下した。

検体群では甲状腺へのヨウ素摂取の増加、甲状腺重量の増加がみられ、これは連投により甲状腺機能が亢進していることを示している。しかしながら、甲状腺への遊離ヨウ素の放出作用を有する過塩素酸塩を投与しても、血中ヨウ素濃度の上昇や甲状腺中のヨウ素濃度の減少は認められなかったことより、過塩素酸塩の投与によっても甲状腺から血中へのヨウ素放出の増加はないと考えられる。

一方、甲状腺中でヨウ素の有機化阻害作用を有する PTU 投与群では、連投後甲状腺への摂取が減少し、また、過塩素酸塩投与後には、甲状腺中のヨウ素濃度が更に減少したことより、甲状腺から血中への顕著なヨウ素放出が生じた。これは、血中放射能/甲状腺放射能比の過塩素酸塩の用量依存的な減少により裏付けられる。Noxyflex は甲状腺へのヨウ素摂取の増加、甲状腺重量の増加がみられ甲状腺濾胞の刺激がみられた。過塩素酸塩投与後で甲状腺からヨウ素の放出がみられなかったことから、この用量ではヨウ素の有機化反応にほとんど関与していない(高濃度では阻害が起こることが明らかとなっている)ことが示唆された。

以上の結果から、検体フィプロニルは比較剤 PTU と異なり、甲状腺へのヨウ素取り込み及びヨウ素の有機化反応には何ら阻害作用を有しないことが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(3) ラット 4 週間連投試験による甲状腺ホルモン濃度への影響

(資料 42)

試験機関:

(GLP 対応)

報告作製年:

試験の目的: 本剤をラットに 4 週間混餌投与した時の甲状腺ホルモン、甲状腺刺激ホルモン濃度への影響を検討する。

検体純度:

供試動物: CrI: CD(SD)BR ラット、約 5 週齢、体重: 雄 177~220g; 雌 140~163g、1 群雌雄各 10 匹

試験期間: 4 週間(4 月 26 日~5 月 25 日)

方法: 検体をアセトンに溶解し飼料に分散、ロータリーエバポレーターで 40°C で乾燥したプレミックスを基礎飼料に混合して、0(対照)、0.1、1.0、5.0、30ppm の濃度として 4 週間、ラットに自由摂取させた。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に起因すると考えられる変化はみられなかったが、採血後、一般状態の悪化のために対照群の雌 1 例を切迫殺した。

体重変化: 群への割付時、投与開始日より、以降毎週 1 回測定した。

試験期間を通じて対照群と同等であった。

摂餌量及び食餌効率: ケージ毎の摂餌量を毎週 1 回測定し、1 匹当たり摂餌量(g/ラット/週)を算出した。また、食餌効率を算出した。

検体投与による影響はなかった。

検体摂取量: 体重、摂餌量及び実投与濃度より算出した 1 日当りの平均検体摂取量(mg/kg/日)は、下表のとおりである。

性別	投与量(ppm)			
	0.1	1	5	30
雄	0.01	0.10	0.49	2.85
雌	0.01	0.10	0.48	2.86

飲水量: 毎日給水瓶の目視検査を行った。

投与関連性の変化はなかった。

臓器重量: 投与終了後、各群の全生存例を対象として、剖検後肝臓及び甲状腺重量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

最終体重を共変量として補正した臓器重量について対照群と比較した結果、30ppm 群雌の肝臓のみ有意に増加していた。

性別 用量 (ppm)	雄				雌			
	0.1	1	5	30	0.1	1	5	30
甲状腺			107	115			101	107
肝臓				108				116 [‡]

統計学的方法: William's Test †: P<0.01 矢印のない数値は有意差なし。
変動の目安として対照群に対する変動率%を示した。

生化学的検査: 投与前週、投与7日及び28日に、眼窩洞から採血した。甲状腺刺激ホルモン (TSH) 測定用の採血は照明点灯開始約2時間後に、甲状腺ホルモン (T3、T4) 測定用は点灯約8時間後に行った。

次表に甲状腺ホルモンの濃度推移を示す。

投与濃度		チロキシン (T4) ($\mu\text{g}/\text{dl}$)			トリヨードチロニン (T3) (ng/dl)			甲状腺刺激ホルモン (TSH) (ng/ml)		
		投与前	7日目	28日目	投与前	7日目	28日目	投与前	7日目	28日目
対照群	雄	5.48	5.80	4.99	89.2	76.6	46.7	1.53	2.22	2.89
	雌	4.65	4.08	3.72	96.3	76.3	76.5	1.16	0.83	0.93
0.1ppm	雄	6.02	5.62	4.91	87.6	70.8	43.8	1.17	2.51	3.13
	雌	4.97	4.44	4.00	91.0	79.5	82.7	0.7	0.98	0.79
1ppm	雄	5.63	5.62	4.61	88.6	66.1↓ ^{a)}	43.2	2.31	2.87	3.54
	雌	4.99	4.27	3.88	89.6	82.3	86.3	0.94	0.77	0.67
5ppm	雄	5.56	5.14 [‡]	4.63	81.6	65.5↓	47.9	1.85	3.05	4.84
	雌	5.10	4.28	3.69	91.3	79.5	86.0	0.68	1.02	1.00
30ppm	雄	5.77	4.41 [‡]	3.54 [‡]	87.1	65.3↓	51.1	1.24	3.34↑	6.27 [‡]
	雌	4.84	3.32 [‡]	3.69	82.8	66.7	91.3↑	1.05	1.13	1.72 [‡]

統計学的方法: William's Test により、投与前値を共分散分析の共変量として解析した。

↓ ↑: P<0.05 ††: P<0.01

a) 対照群内のバラつきが非常に大きかったので、再解析した結果、有意差は認められなかった。

雄において、投与7日の30及び5ppm群で、また28日の30ppm群でT4の有意な低下がみられ、投与7日に30及び5ppm群でT3の有意な低下がみられた。TSHは投与7及び28日の30ppm群で有意な上昇がみられた。

雌において、投与7日の30ppm群でT4の有意な低下がみられた。投与28日の30ppm群でT3の有意な増加がみられた。TSHは投与28日に有意な上昇がみられた。

肉眼的病理検査: 全生存動物を対照として検査した。

投与に起因する肉眼的異常は認められなかった。

病理組織学的検査: 全動物の甲状腺、上皮小体及び肝臓について、病理組織標本を作製し、検鏡した。肝臓はヘマトキシリン・エオジン染色の他にオイル赤O染色も行った。

主要な所見(各群10例中の発生頻度)を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

性別/用量 (ppm)	雄					雌				
	0	0.1	1	5	30	0	0.1	1	5	30
肝臓：小葉中心性肝細胞肥大 門脈周囲脂肪沈着					3				2	3
甲状腺：濾胞上皮の高さの増加				1	3					1

肝臓では 30ppm 雄で軽度な小葉中心肝細胞肥大、30 及び 5ppm 群の雌で門脈周囲脂肪沈着がみられた以外毒性学的変化はなかった。甲状腺では 30(雌雄)及び 5(雄)ppm 群の一部に濾胞細胞上皮の高さの軽微な増加がみられた。

フィプロニルを 30ppm までの用量で 4 週間投与した結果より、30ppm 群では雌雄で T3 及び T4 の減少ないし減少傾向並びに TSH の増加がみられ、肝臓及び甲状腺重量の軽微な増加(雌の肝臓のみ有意)が、又肝臓に雄では小葉中心性肝細胞肥大、雌では門脈周囲脂肪沈着及び雌雄で甲状腺の濾胞上皮の高さの軽微な増加がみられた。

5ppm 群では雄でのみ T3 及び T4 の減少ないし減少傾向並びに TSH の増加傾向がみられ、甲状腺重量が有意ではないが軽微ながら増加した。雌で肝臓の門脈周囲脂肪沈着及び雄で甲状腺の濾胞上皮の高さの軽微な増加がみられた。

これらの所見は血中からのチロキシシンクリアランス促進により甲状腺機能に及ぼすチロキシンのフィードバック阻害機構が低下していることを示している。

ラットにおける無影響量は雌雄とも 1ppm(0.1mg/kg)であった。

申請者注) 単回経口投与等により生じる可能性のある影響は認められなかった。

雄では投与 7 日に 30 及び 5ppm 群で T4 および T3 の有意な低下が、また 30ppm 群で TSH の有意な上昇が認められた。雌では投与 7 日の 30ppm 群で T4 の有意な低下が認められた。しかしながらこれらは 7 日反復投与の結果であり、単回投与等によって生じるとは考え難い。加えて、甲状腺に対するこれらの影響はラットにおいてより感受性が高く、ヒトへの外挿性に乏しいメカニズムであると示唆されることから、これら甲状腺ホルモン単独の変動を急性参照用量 (ARfD) 設定のエンドポイントとすることは適切でないと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(4) チロキシンの胆汁排泄に及ぼす影響試験

(資料 43)

試験機関:

(GLP 対応)

報告作製年:

試験の目的: ラットにおける本剤の単回又は反復投与が甲状腺ホルモン(チロキシン T4)の胆汁排泄におよぼす影響を検討することであった。比較として、作用が公知のフェノバルビタール(PB)を用いた。

検体及び純度: フィプロニル、

供試動物: CrI: CD(SD)BR 系ラット雄、3 匹/群(6-8 週令)

投与期間: 1 及び 14 日間

方法: 検体は 0.5%メチルセルローズに懸濁して経口投与し、フェノバルビタール Na 塩(PB)は蒸留水に溶解して腹腔内投与した。

チロキシン(T4)は ^{125}I -チロキシン(比放射能: $50 \mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 、放射化学的純度: 98.8%)を生理食塩水に溶解し、全動物 ($10 \mu\text{Ci}/\text{匹}$) に静注した。

なお、検体及び PB は 5 日ごとに調製した。

試験群の構成は以下のとおりである。

群	供試物質	投与量 (mg/kg)	投与 経路	投与 回数	胆管カニューレ挿 入法	^{125}I -T4 の 投与
A	検体	1 10	経口 経口	1	最終投与直後に、 胆管カニューレを 挿入し、挿入直後、 且つ ^{125}I -T4 の投与 前に $1\text{mg}/\text{匹}$ のヨウ 化ナトリウムを直 接胃に注入した。	最終投与 4 時間後に 約 $10 \mu\text{Ci}/$ 匹を静注
	PB	80	腹腔			
	対照(0.5%MC)		経口			
B	検体	1 10	経口 経口	14	最終投与直後に、 胆管カニューレを 挿入し、挿入直後、 且つ ^{125}I -T4 の投与 前に $1\text{mg}/\text{匹}$ のヨウ 化ナトリウムを直 接胃に注入した。	最終投与 4 時間後に 約 $10 \mu\text{Ci}/$ 匹を静注
	PB	80	腹腔			
	対照(0.5%MC)		経口			

試料の採取:

胆汁: ^{125}I -T4 投与前、投与後 5 時間まで 15 分ごとに採取した。

血液: ^{125}I -T4 投与後 5 時間まで 30 分ごとに尾静脈から採取した。

肝臓: 投与 5 時間後に摘出した。

放射能の測定: 胆汁は直接、肝臓は均質化後、 γ -シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

胆汁試料の β -グルクロニダーゼ処理: 採取した胆汁を 1 時間ごとにプールし、代表的試料を得た。 β -グルクロニダーゼを酢酸緩衝液に溶解し、プール胆汁試料と混合し、 37°C で 4 時間インキュベーションした。

HPLC 分析：プール胆汁はβ-グルクロニダーゼ処理の前後に分析した。

結果：

肝重量、胆汁量への影響：肝臓重量の変化は反復投与後のフェノバルビタール(PB)のみ有意に増加した。胆汁量は反復投与後の検体 10mg/kg群、PB 群で有意な増加がみられた(表 1)。

表 1 検体投与による肝重量、胆汁量への影響

群 (用量)	投与期間			
	単回		14 日間反復	
	肝重量(g)	胆汁量(g)	肝重量(g)	胆汁量(g)
溶媒対照群	8.66	2.91	12.32	4.28
検体(1mg/kg)	9.14	3.29	11.78	4.23
検体(10mg/kg)	8.28	3.31	13.54	6.02 (141) ↑
PB (80mg/kg)	8.10	3.72	14.80 (120) ↑	6.06 (142) ↑

統計学的方法：Student t-検定 ↑：P<0.05 †：P<0.01 ‡：P<0.001

統計学的有意差が認められた場合のみ対照群に対する比率を()内に示した。

胆汁排泄、肝臓及び全血への分布割合(表 2)：単回投与群では、胆汁排泄への有意な増加は PB 群のみであったが、検体群でも増加の傾向がみられた。反復投与群では、胆汁への排泄は検体群及び PB 群ともに有意な増加が認められた。

肝臓中の放射能の残留は単回投与群において、有意差はなかったが、反復投与群ではいずれの投与群とも有意に高かった。血液中では単回投与群は PB 群のみが有意に少なく、反復投与群で検体 1mg/kg 及び PB 群では有意に多かった。

表 2 ¹²⁵I-T4 投与後、0~5 時間の胆汁への累積排泄量、5 時間後の肝臓及び全血への放射能の分布

群(用量)	投与期間							
	単回				14 日間反復			
	肝	胆汁	血液	合計	肝	胆汁	血液	合計
溶媒対照	8.42	6.48	17.45	32.35	4.58	3.78	8.48	16.84
検体(1mg/kg)	9.3	7.55	19.328	36.14 (112) ↑	8.23 (180) ↑	10.98 (291) ↑	12.14 (143) ↑	31.34 (186) ↑
検体(10mg/kg)	9.38	8.61	17.67	35.65	7.50 (164) †	13.58 (359) ‡	8.40	29.48 (175) ‡
PB (80mg/kg)	8.07	9.34 (144) †	12.95 (74) ‡	30.37	12.75 (278) ‡	14.88 (394) ‡	12.47 (147) †	40.10 (238) ‡

統計学的方法：Student t-検定 ↑：P<0.05 ††：P<0.01 ‡：P<0.001

統計学的有意差が認められた場合のみ対照群に対する比率を()内に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

T4 胆汁排泄量 (^{125}I -T4 当量) (表 3) : 胆汁中への放射能排泄量は 14 日間反復投与した群において、検体及び PB 群は対照群に比し 3~4 倍多かった。

胆汁クリアランス (表 3) : 単回投与群では検体群は対照群とほとんど差がなかったが、PB 群は高い傾向にあった。反復投与群では全群共対照群より高かったが、検体 10mg/kg 群のみ統計学的に有意であった。

表 3 検体による甲状腺ホルモン(T4)胆汁排泄速度への影響

群(用量)	投与期間			
	単回		14 日間反復	
	T4 胆汁排泄量 (ng)	T4 胆汁排泄速度 (ml/h)	T4 胆汁排泄量 (ng)	T4 胆汁排泄速度 (ml/h)
溶媒対照群	14.13	0.80	8.20	2.42
検体 (1mg/kg)	16.88 (120)	0.99 (124)	23.12 (282)	3.67 (152)
検体 (10mg/kg)	18.4 (130)	1.03 (129)	28.07 (342)	9.83 (406) †
PB (80mg/kg)	21.20 (150)	1.62 (203)	33.18 (405)	4.36 (180)

統計学的方法 : Student t-検定 † : $P < 0.05$

対照群に対する比率を () 内に示した。

薬物動態指標 : 全血中の平均薬物動態指標は表 4 に示す。

表 4 平均薬物動態指標

指標	検体 (1mg/kg)		検体 (10mg/kg)		PB (80mg/kg)		対照 0.5%MC	
	単回	14 日間 反復	単回	14 日間 反復	単回	14 日間 反復	単回	14 日間 反復
C_{max} (ng/mL) ^a	5.86	2.57	6.66	1.63	4.71	2.77	5.33	1.60
AUC (ng·h/mL)	16.74	7.38	15.65	4.46	12.5	7.32	15.23	4.70

a : 最大血中濃度は投与後 0.5 時間(最初の試料採取時)にみられた。

プール胆汁中の HPLC 分析 (表 5) : 胆汁中放射能のほとんど ($\geq 80\%$) が非遊離体であった。この試料を β -グルクロニダーゼ酵素処理した結果、遊離の T4 が生成した。この分析より胆汁中 T4 ホルモンは 49~59% が抱合体であったと考えられた。

^{125}I -T4 抱合体の量は単回投与において、対照群に比し、検体 1 及び 10mg/kg 群は 148 及び 156%、PB 群は 174% と増加し、反復投与ではさらに増加し、それぞれ 311%、401% 及び 446% であった。

表 5 胆汁中のチロキシンの存在形態

投与群	投与期間							
	単回				14 日間反復			
	総放射 エネルギー (ng-eq/h)	非遊離 放射能 (%)*	遊離 ¹²⁵ I-T4 (%)**	¹²⁵ I-T4 抱 合体の量 (ng/ ¹²⁵ I-T4)	総放射 エネルギー (ng-eq/h)	非遊離 放射能 (%)*	遊離 ¹²⁵ I-T4 (%)**	¹²⁵ I-T4 抱 合体の量 (ng/ ¹²⁵ I-T4)
溶媒対照	42.39	92.7	49.1 [48.6]	20.16 (100)	24.60	85.1	48.6 [48.6]	11.60 (100)
検体 (1mg/kg)	50.64	89.1	61.8 [58.7]	29.81 (148)	69.36	87.4	52.5 [49.6]	36.02 (311)
検体 (10mg/kg)	55.20	79.4	59.7 [56.5]	31.51 (156)	84.20	90.4	54.6 [54.6]	46.74 (401)
PB (80mg/kg)	63.61	90.7	57.1 [55.8]	35.01 (174)	99.51	93.5	51.6 [51.6]	51.73 (446)

*: 遊離の ¹²⁵I-T4、¹²⁵I とカウントされない放射能の試料中の割合 (%)

** : 酵素処理胆汁試料中の遊離 ¹²⁵I-T4 の試料中の放射能に対する割合 (%)。[] 内の数値は試料中の放射能に対する ¹²⁵I-T4 抱合体の割合。

() 内の数値は対照群に対する比率%

以上の結果より、フィプロニルの 14 日間投与は、ラットにおいてチロキシン (T4) の胆汁クリアランスを促進し、T4-抱合体を増加させた。検体の影響は 10mg/kg 投与が 1mg/kg 投与より強かった。T4 の胆汁クリアランスの増加は 血中 T4 の濃度を低下させ、これにより下垂体が刺激され TSH 分泌量が増加し、TSH が甲状腺濾胞細胞を刺激して T4 の産生量を増加させて、肥大、過形成等が発現すると考えられる。また、胆汁中の T4-抱合体が増加した事より、肝臓における T4 抱合酵素の誘導等が考えられる。

本剤の作用は比較剤フェノバルビタール (PB) と同様であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

2. 代謝物に関する試験成績

代謝物の毒性に関する別冊の抄録を参照のこと。

3. 製剤

3-1. フィプロニル 1%粒剤

(1) フィプロニル 1%粒剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 82)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: フィプロニル 1%粒剤

(組成) 原体	1.0%
鋳物質微粉	99.0%

試験動物: ウィスター系 (Slc: Wistar/ST) ラット、約 7 週齢、体重: 雄 194~238g; 雌 140~170g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して、20mL/kg を経口投与した。投与前に約 18 時間絶食した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与経路	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0, 3500, 4550, 5920, 7690, 10000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	6572	6236
(95%信頼限界)	(6025~7170)	(5633~6903)
死亡開始及び死亡終了	1 日に開始、2 日に終了	1 日に開始、3 日終了
症状の発現及び消失時間	3 時間から発現/3 日に消失	3 時間から発現/6 日に消失
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	4550	<3500

中毒症状として、自発運動の低下、よろめき歩行、口周囲の汚染が認められた。死戦期には痙攣も認められた。雌のみ反射の亢進が 3~5 日目に観察された。

剖検所見は生存例では特記すべき変化は認められなかったが、死亡例では主として胃の出血と糜爛が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(2) フィプロニル 1%粒剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 83)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: フィプロニル 1%粒剤

(組成)	原体	1.0%
	鋳物質微粉	99.0%

供試動物: ICR 系 (Slc: ICR) マウス、約 7 週齢、体重 雄 26.8~35.7g; 雌 22.3~26.89、
1 群 雌雄 各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して、20mL/kg を経口投与した。投与前に約 18 時間絶食した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	0, 3500, 4550, 5290, 7690, 10000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	5105	5645
(95%信頼限界)	(4062~6252)	(4329~7212)
死亡開始及び死亡終了	10 分から開始、1 日に終了	20 分から開始、3 日に終了
症状の発現及び消失時間	10 分から発現、1 日に終了	10 分から発現、1 日に終了
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	<3500	<3500

中毒症状として、自発運動の低下、よろめき歩行、腹臥位が認められた。死戦期には痙攣も認められた。

剖検所見は生存例では前胃の肥厚、死亡例では胃の出血、糜爛、胸腺の充血などが観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(3) フィプロニル 1% 粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 84)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: フィプロニル 1% 粒剤

(組成) 原体	1.0%
鋳物質微粉	99.0%

供試動物: ウィスター系 (Slc:Wister/ST) ラット、週齢: 雄 8 週齢、雌 10 週齢

体重: 雄 249~291g; 雌 192~227g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を粉碎し精製水で湿らせ、リント布 (4×5 cm) に塗布し、剪毛した背部皮膚に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目: 中毒症状及び生死を毎日観察した。試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与経路	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95% 信頼限界)	雌雄とも >2000
死亡開始及び死亡終了	死亡例なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量	毒性症状なし
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状の発現はなく、死亡も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、適用部位の皮膚に刺激性の変化及びその他の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 BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(4) フィプロニル 1% 粒剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 85)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: フィプロニル 1% 粒剤

(組成)	原体	1.0%
	鋳物質微粉	99.0%

供試動物: 日本白色種ウサギ、14~15 週齢、体重: 2.37~2.67kg、雄 6 匹

観察期間: 72 時間観察

投与方法: 粉碎・摩砕した検体 0.5g を 2×3 cm のリント布に広げ、精製水 0.5ml で湿らせた後、剪毛した右背部皮膚に 4 時間閉塞貼付した。被覆除去後、皮膚に残った検体は水で洗浄した。左背部皮膚には精製水で湿らせたリント布を同様に閉塞貼付して対照とした。

観察項目: 曝露終了後 1、24、48 及び 72 時間後に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮及び浮腫)の有無等を観察し、59 農蚕第 4200 号に従い採点した。なお、刺激性変化の採点基準は以下のとおりである。

紅斑及び痂皮形成:

- 0: 紅斑なし
- 1: 非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)
- 2: はっきりした紅斑
- 3: 中等度~高度の紅斑
- 4: 高度の紅斑(ビート赤色)~わずかな痂皮形成(深部損傷)まで

浮腫形成:

- 0: 浮腫なし
- 1: 非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)
- 2: 軽度の浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)
- 3: 中等度の浮腫(約 1mm の膨隆)
- 4: 高度の浮腫(1mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)

試験結果:

観察期間中、刺激性の変化は何ら認められなかった。

以上の結果から、フィプロニル 1% 粒剤はウサギの皮膚に対して、刺激性がないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(5) フィプロニル 1% 粒剤のウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 86)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: フィプロニル 1% 粒剤

(組成)	原体	1.0%
	鋳物質微粉	99.0%

供試動物: 日本白色種ウサギ、13~15 週齢、体重: 2.44~2.88kg、
雄 9 匹 (非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹)

観察期間: 72 時間観察

試験方法: 点眼前日検眼し、異常のないことを確認した。検体を小型粉碎機で粉碎し、その 0.1g を 9 匹のウサギの右眼結膜嚢内に適用し、約 1 秒間両眼瞼を合せ保持した。内 3 匹は洗眼群とし、適用 2 分後に洗眼した。左眼も同様の処置をし、無処理対照とした。

観察項目: 適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、59 農蚕第 4200 号に従い採点した。なお、採点基準は以下のとおりである。

角 膜

混濁—混濁の程度(最も濃い部分で判定する)

- 0: 潰瘍又は混濁を認めない
- 1: 散在性又は瀰漫性の混濁、虹彩の細部は明瞭に識別可能
- 2: 半透明部は容易に見分けられるが、虹彩の細部はやや不明瞭
- 3: 真珠様光沢部位、虹彩の細部不明で、瞳孔の大きさがかろうじて識別可能
- 4: 混濁角膜、混濁部位を通して虹彩は見分けられない

虹 彩

- 0: 正常
- 1: 著明な深いひだ、充血、腫脹、角膜周囲の充血、虹彩は光にまだ反応する
- 2: 対光反射消失、出血、著しい組織崩壊

結 膜

発 赤(眼瞼及び眼球結膜)

- 0: 血管正常
- 1: 多少の血管が明らかに充血
- 2: 瀰漫性の深紅色、個々の血管は容易に見分けられない

3: 瀰漫性の牛肉様赤色

結膜浮腫

- 0: 腫脹なし
- 1: 正常よりわずかな腫脹(瞬膜を含む)
- 2: 眼瞼の外反を伴う明らかな腫脹
- 3: 眼瞼の1/2の閉鎖を伴う腫脹
- 4: 眼瞼の1/2以上の閉鎖を伴う腫脹

結 果:

角膜、虹彩及び結膜の刺激性の変化は洗眼群、非洗眼群ともに何ら認められなかった。

以上の結果から、フィプロニル 1% 粒剤はウサギの眼粘膜に対して、刺激性がないものと思われる。

(6) フィプロニル 1% 粒剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 87)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: フィプロニル 1% 粒剤

(組成)	原体	1.0%
	鋳物質微粉	99.0%

供試動物: Hartley 系モルモット雄、約 5 週齢、体重: 323~402 g

検体感作群及び同対照群 各 15 匹

陽性物質感作群及び同対照群 各 10 匹

観察期間: 惹起終了後 48 時間観察

方法: [ビューラー法]

投与量設定根拠: 粉碎した検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁して 8、12、20、31 及び 50% (w/v) 液の 0.5mL をリント布に含浸させ、剪毛した腹側部に 6 時間貼付適用した結果、12%以上の濃度で刺激性の皮膚反応が観察されたが、50%でも壊死及び潰瘍は観察されなかったので、刺激性のある最高濃度として、50%溶液を感作濃度とし、惹起経皮投与には刺激性のない最高濃度として 8%溶液を設定した。

感作: 左腹側部を剪毛し、50%検体 0.5%CMC 水溶液 0.5ml をリント布 (6.25cm²) に含浸させ、剪毛部位に適用し、6 時間閉塞貼付した。さらに、その 1 及び 2 週間後に同様に再感作を 2 回行った。

陰性対照群の動物には検体処置群と同様の方法で、溶媒のみ適用した。

惹起: 最終感作 2 週間後に、検体処置群及び陰性対照群の腹側部を刈毛した動物に 8%検体 0.5%CMC 水溶液 0.5mL を感作と同様の方法で 6 時間閉塞貼付した。

陽性物質感作群: 感作では 0.5%ジクロロニトロベンゼン(DNCB) 70%エタノール液を、惹起では 0.1% DNCB 40%エタノール液を同様に処理した。陽性物質対照群には 70%エタノールのみを検体処置群と同様の方法で処理した。

観察項目: パッチ除去約 24 及び 48 時間後に、適用部位の紅斑及び痂皮形成の有無等を肉眼的に観察した。適用部位の紅斑及び痂皮形成の判定は以下の基準に従った。

紅斑及び痂皮形成:

0: 紅斑なし

- 1: 非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)
- 2: はっきりした紅斑
- 3: 中等度～高度の紅斑
- 4: 高度の紅斑(ビート赤色)～わずかな痂皮形成(深部損傷)まで

浮腫形成:

- 0: 浮腫なし
- 1: 非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)
- 2: 軽度の浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)
- 3: 中等度の浮腫(約 1 mm の膨隆)
- 4: 高度の浮腫(1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)

結果: 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	経皮感作	経皮惹起	供試動物数	感作反応動物数(上段は紅斑、下段は浮腫)											陽性率			
				24 時間後						48 時間後					24 時間	48 時間		
				0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4			計	
検体	50%検体	8% 検体	15	0					0	0					0	0	0	0
	0.5%CMC		15	15					0	15					0	0	0	0
陽性対照(DNCB)	0.5%DNCB	0.1% DNCB	10	0	1	7	2		10	0	6	2		2	10	100	100	
	溶媒		10	10					0	10					0	0	0	0

感作陽性率(%) = 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

検体群において感作性変化は認められなかった。

一方、陽性対照においては、全動物に明瞭な紅斑及び 7/10 例に浮腫がみられた。

以上の結果から、フィプロニル 1% 粒剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

3-2. プリンスフロアブル

(1) プリンスフロアブルのラットにおける急性経口毒性試験 (資料 88)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成)	原体	5.0%
	水、界面活性剤等	95.0%

試験動物: Sprague Dawley ラット、5~8 週齢、体重: 雄 120-156g、雌 121-153g、一群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を希釈せずに絶食後の体重に基づき単回経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg) (容量 mL/kg)	1000 (0.96)、1414 (1.36)、2000 (1.92)	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95% 信頼限界)	雄: 1498 (1076~2087) 雌: 2828 (979~8173) 雌雄: 1932 (1333~2800)	
死亡開始及び死亡終了	投与後 6 時間から 2 日目まで	
症状の発現及び消失時間	投与後 30 分から 2 日目まで	
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	<1000	1414

中毒症状として、蹲り、嗜眠、立毛、呼吸数の減少、口周囲の赤色/褐色汚染がみられた。

剖検所見は生存例では特記すべき変化は認められなかったが、死亡例では肺出血、肝臓及び腎臓の暗調化あるいは斑状退色、前胃上皮の脱落、小腸出血が認められた。

(2) プリンスフロアブルのマウスにおける急性経口毒性試験 (資料 89)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成) 原体 5.0%
水、界面活性剤等 95.0%

供試動物: CD1 マウス、5~8 適齢、体重: 雄 20~28g 雌 20~24g 一群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 検体を蒸留水に溶解し、10 mL/kg の容量で絶食後の体重に基づき単回経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与経路	経口	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	1000, 1414, 2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95% 信頼限界)	雄: 1366 (1153~1619) 雌: 1464 (1236~1735) 雌雄: 1414 (1260~1587)	
死亡開始及び死亡終了	投与後 30 分から 3 日目まで	
症状の発現及び消失時間	投与後 1 時間から 2 日目まで	
死亡の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1000	

中毒症状として、蹲り、嗜眠、呼吸数の減少、運動失調、眼瞼下垂、呼吸困難、間代性痙攣、強直性痙攣、振戦がみられた。

剖検所見は生存例では特記すべき変化は認められなかったが、死亡例では出血性あるいは異常に赤い肺、肝臓の暗調化/斑状退色、暗色腎臓、前胃上皮の脱落、大腸/小腸の出血が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(3) プリンスフロアブルのラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 90)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成) 原体 5.0%
水、界面活性剤等 95.0%

供試動物: Sprague Dawley ラット、10~14 週齢、体重: 雄 200~224g、雌 209~224g、
1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 未希釈検体を剪毛した背部皮膚(4×5 cm)に塗布し、24 時間半閉鎖貼付した。

試験項目: 中毒症状及び生死を毎日観察した。試験終了時の全生存動物について、適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

試験結果:

投与経路	経皮
投与量 (mg/kg)	2000 (1.92mL/kg)
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄とも >2000
死亡開始及び死亡終了	死亡例なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量	毒性症状なし
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状の発現はなく、死亡も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、適用部位の皮膚に刺激性の変化及びその他の異常は認められなかった。

(4) プリンスフロアブルのラットにおける鼻部暴露急性吸入毒性試験 (資料 91)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成) 原体	5.0%
水、界面活性剤等	95.0%

供試動物: Sprague-Dawley ラット、体重: 雄 232~246g、雌 217~234g、8-10 週齢、
1 群雌雄各 5 匹

暴露方法: 検体は集中型ジェット噴霧器を用いてエアゾールを発生させ、4 時間鼻部暴露させた。
暴露チャンバー内の検体濃度は曝露期間中に 15 分間隔で、一定の速度で暴露大気 2L を吸引し、ガラスファイバーフィルターに通して、吸引前後の重量差から求めた。
暴露大気の粒子径はカスケードインパクターを使用して曝露期間中、2 回測定した。

暴露条件:

名目濃度 (mg/L)	64.2	
実測濃度 (mg/L) ¹⁾	5.00	
粒子径分布 (累積%) ²⁾	10 μm 以上	100
	6 μm~10 μm	74.89
	3.5 μm~6.0 μm	49.33
	1.6 μm~3.5 μm	30.64
	0.9 μm~1.6 μm	4.48
	0.5 μm~0.9 μm	0.0
空気力学的質量中位径 (μm)	3.3	
吸入可能な粒子 (<4.0 μm) の割合 (%)	59.2	
チャンバー容積 (L)	30	
チャンバー内通気量 (L/分)	20	
暴露条件	エアゾール 4 時間 鼻部暴露	

¹⁾ 16 回測定の平均値、²⁾ 2 回測定の平均値

観察・検査項目: 暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状及び生死を毎日観察した。死亡動物及び観察期間終了時の全生存動物につき、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	吸入
投与量 (mg/L)	雌雄： 5.0
LC50	雌雄： >5.0
死亡開始及び終了時間	暴露終了後から終了後 1 日
症状発現及び消失時間	暴露開始直後から終了後 8 日目

雄 2/5 例が死亡し、雌 1/5 例を切迫殺した。

中毒症状として、蹲り、立毛、眼瞼下垂、爪先歩行、運動失調、下痢、嗜眠、鼻周囲の赤色／褐色汚染等が認められた。1 例の雌で全身状態が午前中に悪化し、喘ぎ呼吸、流涎過多、強直性痙攣を示した。生存動物の毒性症状は数日続いた。

肉眼的病理検査では生存 6 例には検体投与に起因する特記すべき変化は認められなかったが、生存雄 1 例では肺の暗色斑が認められた。死亡例では肺の異常な赤色/暗色巣が多くにみられ、腎臓の蒼白及び小腸の鬱血が各 1 例にみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

(5) プリンスフロアブルのウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料 92)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成) 原体	5.0%
水、界面活性剤等	95.0%

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、12~16 週齢、体重 2.56~3.03kg、雄 2 匹 雌 1 匹

観察期間: 72 時間観察

投与方法: 検体 0.5mL を剪毛した背部皮膚 (2.5 x 2.5 cm) に塗布し、4 時間閉塞被覆した。被覆除去後、皮膚に残った検体はジエチルエーテルで拭き取った。

観察項目: 曝露終了後 1、24、48 及び 72 時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮及び浮腫) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

紅斑及び痂皮形成:

- 0: 紅斑なし
- 1: 非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)
- 2: はっきりした紅斑
- 3: 中等度~高度の紅斑
- 4: 高度の紅斑 (ビート赤色) ~わずかな痂皮形成 (深部損傷) まで

浮腫形成:

- 0: 浮腫なし
- 1: 非常に軽度な浮腫 (かろうじて識別できる)
- 2: 軽度の浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)
- 3: 中等度の浮腫 (約 1mm の膨隆)
- 4: 高度の浮腫 (1mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)

皮膚一次刺激性指数 [= (24 時間後及び 72 時間後の紅斑及び浮腫の評点合計) / 6] を用いて刺激性を分類した。

一次刺激性指数 0	: 無刺激性物質
0~2	: 軽度刺激性物質
2~5	: 中等度刺激性物質
5~8	: 重度刺激性物質

結果：観察した刺激性の変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4				
	浮腫	4				
2	紅斑・痂皮	4	1			
	浮腫	4				
3	紅斑・痂皮	4	1			
	浮腫	4				
合計	紅斑・痂皮	12	2			
	浮腫	12	0			
平均	紅斑・痂皮	4	0.7			
	浮腫	4	0.0			

空欄は評点 0 (刺激性なし)

被覆除去 1 時間後、2 匹に非常に軽度の紅斑がみられたが、24 時間後には全て回復した。検体の一次刺激性指数は 0.0 であり、Draize の分類に基づき、ウサギの皮膚に対して非刺激性と分類される。

以上の結果から、フィプロニルフロアブルはウサギの皮膚に対して、刺激性がないものと思われる。

(5) プリンスフロアブルのウサギにおける眼一次刺激性試験 (資料 93)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成)	原体	5.0%
	水、界面活性剤等	95.0%

供試動物: ニュージーランド白色種ウサギ、12~16 週齢、体重 2.54~3.12kg、雄 2 匹雌 1 匹

観察期間: 72 時間観察

試験方法: 点眼直前に検眼し、異常のないことを確認した後、まず、1 匹の右眼結膜嚢内にそのままの検体 0.1mL を適用し、約 1 秒間両眼瞼を合せ保持した。初期疼痛反応を評価した後、さらに 2 匹に同様に点眼した。

観察項目: 適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って損傷及び刺激性を評価した。最大平均評点と刺激反応の持続時間から、改良 Kay and Clandra の分類法に従い、眼刺激性を分類した。なお、採点基準は以下のとおりである。

角 膜

混濁—混濁の程度(最も濃い部分で判定する)

- 0: 潰瘍又は混濁を認めない
- 1: 散在性又は瀰漫性の混濁、虹彩の細部は明瞭に識別可能
- 2: 半透明部は容易に見分けられるが、虹彩の細部はやや不明瞭
- 3: 真珠様光沢部位、虹彩の細部不明で、瞳孔の大きさがかろうじて識別可能
- 4: 混濁角膜、混濁部位を通して虹彩は見分けられない

角膜混濁部の面積

- 1: 0~1/4
- 2: 1/4~1/2
- 3: 1/2~3/4
- 4: 3/4~4/4

虹 彩

- 0: 正常

- 1; 著明な深いひだ、充血、腫脹、角膜周囲の充血、虹彩は光にまだ反応する
- 2; 対光反射消失、出血、著しい組織崩壊

結 膜

発 赤(眼瞼及び眼球結膜)

- 0; 血管正常
- 1; 多少の血管が明らかに充血
- 2; 瀰漫性の深紅色、個々の血管は容易に見分けられない
- 3; 瀰漫性の牛肉様赤色

結膜浮腫

- 0; 腫脹なし
- 1; 正常よりわずかな腫脹(瞬膜を含む)
- 2; 眼瞼の外反を伴う明らかな腫脹
- 3; 眼瞼の1/2の閉鎖を伴う腫脹
- 4; 眼瞼の1/2以上の閉鎖を伴う腫脹

分泌物

- 0; 分泌物なし
- 1; 分泌物を少し認める
- 2; 分泌物で眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす
- 3; 分泌物で眼瞼と周囲の毛のかなりの部分を濡らす

結 果:

個体別評点を次表に示す。

試験中、角膜あるいは虹彩に影響はみられなかった。

点眼1時間後、1匹に軽度の結膜発赤がみられたが、24時間後には回復した。最大平均評点は0.7であり Kay and Clandra の分類表によると非刺激性に分類される。

以上の結果から、フィプロニルフロアブルはウサギの眼粘膜に対して、刺激性がないものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

項目		最高 評点	適用後時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間		
非洗眼群	動物番号 1	角膜混濁	程度面積 4 4					
		虹彩	2					
		結膜	発赤	3				
			浮腫	4				
			分泌物	3				
	動物番号 2	角膜混濁	程度面積 4 4					
		虹彩	2					
		結膜	発赤	3	1			
			浮腫	4				
			分泌物	3				
	動物番号 3	角膜混濁	程度面積 4 4					
		虹彩	2					
		結膜	発赤	3				
			浮腫	4				
			分泌物	3				
平均	角膜混濁	程度面積 4 4						
	虹彩	2						
	結膜	発赤	3	0.33				
		浮腫	4					
		分泌物	3					
合計評点		110	0.7					

空欄は刺激性なし

(6) プリンスフロアブルのモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 94)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

検体の純度: フィプロニル フロアブル

(組成) 原体	5.0%
水、界面活性剤等	95.0%

供試動物: Hartley 系モルモット雄、約 8~12 週齢、体重 300~362g、
対照群 10 匹、投与群 20 匹

観察期間: 惹起終了後 48 時間観察

方 法: [ビューラー法]

投与量設定予備試験: 2 匹のモルモットに未希釈検体及び蒸留水で希釈した 3 濃度 (75、50 及び 25%v/v) の各 0.5ml をパッチ (15 x 35mm) に浸み込ませ、剪毛した胸部皮膚に 6 時間閉塞貼付した。24 及び 48 時間後に刺激性の変化を観察した結果、いずれの濃度でも刺激性が認められなかったため、未希釈検体を局所感作濃度とした。惹起時濃度選定のために、2 匹のモルモットに未希釈検体及び蒸留水で希釈した 75% (V/V) 液の各 0.5ml を 0、2、4、7、9、11、14、16 及び 18 日に同様に 6 時間閉塞貼付し、皮膚刺激性を観察した結果、いずれの濃度でも刺激性が認められなかったため、未希釈検体及び 75% 液を惹起濃度とした。

感作: 左腹側部を剪毛し、未希釈検体 0.5ml を 0、2、4、7、9、11、14、16 及び 18 日の合計 9 回、予備試験と同様に 6 時間ずつ閉塞貼付した。適用部位は各感作時に蒸留水で清拭した。

陰性対照群の動物には検体処置群と同様の方法で、蒸留水のみ適用した。

惹起: 28 日目に検体処置群及び陰性対照群の右腹側部のそれぞれ別の部位に、未希釈検体及び 75% 希釈液各 0.5ml を感作と同様の方法で 6 時間閉塞貼付した。

観察項目: パッチ除去約 24 及び 48 時間後に、適用部位の紅斑及び痂皮形成の有無等を肉眼的に観察した。適用部位の刺激性の判定は以下の基準に従った。

- 0: 反応なし
- 1: 散在性の軽度発赤
- 2: 中等度及び瀰漫性発赤
- 3: 高度の発赤及び浮腫

結果は感作陽性率及び反応の程度によって表し、検体の感作性を分類した。

程度の評点 = 各観察時の皮膚反応の強さの総評点 / 試験群の動物数

感作陽性率の評点 = 感作反応を示した動物の総数 / 試験群の動物数

感作陽性率%	感作性の分類
0	感作性なし
0 - 8	弱い感作性物質
8 - 28	軽度の感作性物質
28 - 64	中等度の感作性物質
64 - 80	強度の感作性物質
80 - 100	重度の感作性物質

結果: 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	経皮感作	経皮惹起	供試動物数	感作反応動物数										平均反応の程度		陽性率%	
				24時間後					48時間後					24時間	48時間	24時間	48時間
				0	1	2	3	計	0	1	2	3	計				
検体	100%検体	100%検体	20	17	3			3	20				0	0.2	0.0	15	0
		75%検体		20				0	20				0	0.0	0.0	0	0
	蒸留水	100%検体	9	9				0	9				0	0.0	0.0	0	0
		75%検体		9				0	9				0	0.0	0.0	0	0
陽性対照	0.5%DNCB	0.05%DNCB	20	1	9	10		19	7	10	3		13	1.5	0.8	95	65
	無水エタノール	%DNCB	10	10				0	10				0	0.0	0.0	0	0

陽性対照: 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) を用い、1992年7~8月に別途実施した結果である。

感作陽性率(%) = 感作陽性動物数 / 供試動物数 × 100

対照群の1匹が12日目に死亡したが、死因は不明であった。

局所感作後、散在性の発赤及び軽度、中等度の発赤が認められた。他に軽度浮腫、剥離、皮膚の表層亀裂及び散在性の小痂皮が認められた。試験群の1匹に一度だけ反応が適用部位を越えて認められた。

未希釈検体の惹起適用24時間後に、3匹に発赤反応(程度1)が認められたが、48時間後には回復した。75%(V/V)検体希釈液では皮膚反応は観察されなかった。対照群では皮膚反応は観察されなかった。

検体の感作陽性率は15%(3/20)であり、モルモットの皮膚に対して軽度の感作性ありと分類された。

3-3. フィプロニルベイト

(1) フィプロニルベイトのラットにおける急性経口毒性

(資料 95)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：

検体： フィプロニル 0.5% 粒剤 (ベイト剤)

[組成]	フィプロニル	0.5%
	穀粉等	99.5%

試験動物： ラット (Wistar ICG 系：WI (IOPS AF/HAN)、雌雄約 6 週齢、
雄 165-175g、雌 134-142g、1 群雌雄各 5 匹

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 検体を精製水に懸濁し、2000mg/kg の用量を一晩絶食(18 時間)させたラットに単回
強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間毎日観察し、生存動物を試験終了時に屠殺し、肉眼的病
理検査を行なった。体重は投与直前、その後は 8 及び 15 日に測定した。

試験結果：

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雌雄； 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄； > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
症状発現時間及び消失時間	症状なし

中毒症状及び死亡も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2) フィプロニルベイトのラットにおける急性経皮毒性

(資料 96)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：

検体： フィプロニル 0.5%粒剤 (ベイト剤)

[組成]	フィプロニル	0.5%
	穀粉等	99.5%

試験動物： ラット (WISTAR ICO系：WI (IOPS AF/HAN)、雌雄約 8 週齢、
雄 242-253g、雌 219-231g、1 群雌雄各 5 匹)

試験期間： 14 日間観察

試験方法： 検体を予め 2mL の水で湿らせた親水性ガーゼパッドに 2000mg/kg の用量となるように塗布し、動物の体表面積の約 10%に相当する刈毛した部位に 24 時間、半閉塞貼付した。

試験項目： 中毒症状及び生死を 14 日間、毎日観察し、投与 2 日目より局所皮膚反応を評価した。生存動物を試験終了時に屠殺し、肉眼的病理検査をおこなった。体重は投与直前、その後は 8 及び 15 日に測定した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
皮膚反応及び臨床症状の 発現時間及び消失時間	反応及び症状ともになし

雌 4 例に蓄積対照動物と比較して体重増加の抑制傾向が認められたが、その他の動物の体重増加は蓄積対照データと同等であった。

中毒症状及び死亡も認められなかった。適用部位の皮膚に刺激性は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(3) フィプロニルベイトのウサギにおける皮膚刺激性

(資料 97)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：

検体： フィプロニル 0.5% 粒剤 (ベイト剤)

[組成]	フィプロニル	0.5%
	穀粉等	99.5%

試験動物： ニュージーランド白色種ウサギ、 平均体重 2.4 ± 0.1 kg、 雄 3 羽

試験期間： 72 時間観察

試験方法： 検体 0.5g をそのままの状態ですらせたガーゼパッドに塗布し、前日に刈毛した動物の両腹側部のうち右側に 4 時間、半閉塞貼付した。無処置の左腹側部皮膚を対照とした。適用 4 時間後にパッドをはずし、残渣の検体は湿らせた木綿パッドで除去した。

試験項目： パッド除去 1、24、48 及び 72 時間後に皮膚の刺激性を観察し、OECD ガイドライン No. 404 及び EC No. 92/69/EEC, B. 4 に従って採点した。

刺激性の採点基準は以下のとおりである。

紅斑及び痂皮形成

- 0：紅斑なし
- 1：非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)
- 2：はっきりした紅斑
- 3：中等度又は重度の紅斑
- 4：重度の紅斑(深紅色)又は軽度の痂皮形成(障害は深部に)

浮腫

- 0：浮腫なし
- 1：軽度の浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)
- 2：中等度の浮腫(約 1mm の膨隆)
- 3：高度の浮腫(1mm 以上の膨隆と曝露範囲を超えた広がり)

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は以下のとおりである。表中の値は 3 羽の平均値。

皮膚反応	最高評点	貼付除去後時間			
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0
症状・その他		C	C	C	C

C: 2/3 例の皮膚に検体の着色によると考えられる緑色化が認められた。

以上の結果より検体はウサギの皮膚に対し刺激性はないと判断した。

(4) フィプロニルベイトのウサギにおける眼刺激性 (資料 98)

試験実施機関:

[GLP]

報告書作成年:

検体: フィプロニル 0.5% 粒剤 (ベイト剤)

[組成]	フィプロニル	0.5%
	穀粉等	99.5%

試験動物: ニュージーランド白色種ウサギ、平均体重 2.6±0.1kg、雄 3 羽

試験期間: 72 時間観察

試験方法: 検体を粉砕して動物の左結膜嚢に 0.1g を処置し、上下眼瞼を閉じて約 1 秒間保持した。処置後の洗眼は行わなかった。残りの右眼は無処置対照とした。

試験項目: 検体処置後、1、24、48 及び 72 時間後に角膜、結膜及び虹彩の刺激性変化を観察し、OECD ガイドライン No. 405 及び EC No. 92/69/EEC, B.5 に従って採点した。眼刺激性の採点基準は以下のとおりである。

結膜の病変及び分泌物

浮腫 (眼瞼及び又は瞬膜)

- 0: 腫脹なし
- 1: 正常を超える腫脹 (瞬膜を含む)
- 2: 眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹
- 3: 眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹
- 4: 眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹

発赤 (眼瞼及び又は結膜、角膜及び虹彩)

- 0: 血管正常
- 1: 一部の血管の明らかな充血亢進
- 2: びまん性の深紅色、個々の血管の識別困難
- 3: びまん性の牛肉様赤色

分泌物

- 0: 分泌物なし
- 1: 軽度の分泌物 (眼角内側にみられる少量は含まない)
- 2: 眼瞼及び眼瞼に隣接する被毛に湿潤を伴う分泌物

3 ; 眼瞼及び眼瞼周囲の広範な範囲に湿潤を伴う分泌物

虹彩病変

0 ; 正常

- 1 ; 明瞭な深いひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、これらのいずれか又は組み合わせ。虹彩は光に反応する(緩徐反応陽性)
- 2 ; 対光反射消失、出血、著しい組織崩壊(これらのいずれか又は全て)

角膜病変

混濁の程度(最も濃い部分で判定する)

0 ; 潰瘍又は混濁を認めない

- 1 ; 散在～びまん性の混濁(軽度の曇り、通常の光沢を除く)、虹彩の細部は明瞭にみられる
- 2 ; 透明な部分が残っているが、虹彩の細部がわずか不明瞭
- 3 ; 真珠様光沢あり、虹彩の細部不明、瞳孔の大きさがかろうじて識別できる
- 4 ; 角膜不透明、混濁を通して虹彩が見分けられない

角膜損傷域

- 1 ; 0～ 1/4
- 2 ; 1/4～ 1/2
- 3 ; 1/2～ 3/4
- 4 ; 3/4≤

試験結果 : 観察した刺激性変化の採点は次表に示す。

適用1及び24時間後の観察で、結膜に極めて軽度(評点1)の浮腫及び発赤ならびに透明ないし白色膿様分泌物が認められた。Draize法では合計評点は1時間後の6であった。

以上の結果より Draize 法では軽度刺激性物質に相当する。なお、EECの基準では眼刺激性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

動物 番号	項 目		最高 評点	適用後経過時間					採点の最高値
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	総平均	
394	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0.3	
		浮腫	4	1	1	0	0	0.3	
		分泌物	3	1	0	0	0	-	
395	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0.3	
		浮腫	4	1	1	0	0	0.3	
		分泌物	3	1	- ¹⁾	0	0	-	
396	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0.3	
		浮腫	4	1	1	0	0	0.3	
		分泌物	3	1	0	0	0	-	
平均	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0.3	1(1~4 時間後)
		浮腫	4	1	1	0	0	0.3	
		分泌物	3	1	- ¹⁾	0	0	-	
合 計			110	6	4.0 ²⁾	0	0	-	

¹⁾ 1例に白色膿様分泌物。採点の記載がなく計算しなかった。

²⁾ 分泌物を除いて計算。

総平均は24、48及び72時間の採点に基づき算出した。合計はDraizeの方法を用いて申請者が計算した。

試験第 29 日目に 25% (w/w) 濃度の試験液を染み込ませたチャンパー濾紙を全動物の右の後側腹側部に貼付し、絆創膏で 6 時間固定した。左の後側腹側部は対照として賦形剤を同様に処置した。チャンパー濾紙除去後、残渣を取り除いた。

観察項目：検体除去 24 及び 48 時間後に、以下の基準に従って、適用部位の紅斑及び痂皮形成の有無等を肉眼的に観察した。

皮膚反応基準 (評点)

- 0： 肉眼的変化なし
- 1： 散在性又は斑状の紅斑
- 2： 中等度瀰漫性紅斑
- 3： 強度の紅斑

結果：

感作： 以下に感作時の皮膚刺激性反応を示す。

感作	刺激反応の結果	
	試験群	対照群
第 1 回	刺激性反応なし	刺激性反応なし
第 2 回	刺激性反応なし	刺激性反応なし
第 3 回	刺激性反応なし	刺激性反応なし
第 4 回	刺激性反応なし	刺激性反応なし
第 5 回	雌 1 例に評点 2 の紅斑	刺激性反応なし
第 6 回	雌 2 例に評点 2 の紅斑 雌 1 例に評点 1 の紅斑	刺激性反応なし
第 7 回	雌 4 例に評点 1 の紅斑	刺激性反応なし
第 8 回	雄 2 例に評点 1 の紅斑 雌 4 例に評点 1 の紅斑	刺激性反応なし
第 9 回	雄 3 例に評点 1 の紅斑 雌 3 例に評点 2 の紅斑 雌 1 例に評点 1 の紅斑	刺激性反応なし

惹起： 以下に惹起時の皮膚刺激性反応を示す。

群	性	動物数	感作	惹起		感作反応動物数								陽性反応動物数	
						24 時間後				48 時間後					
				適用部位		0	1	2	3	0	1	2	3		
試験群	雄	10	検体 25%	右側	検体 25%	10	0	0	0	10	0	0	0	0	
				左側	賦形剤	10	0	0	0	10	0	0	0		
	雌	10	検体 25%	右側	検体 25%	10	0	0	0	10	0	0	0		0
				左側	賦形剤	10	0	0	0	10	0	0	0		
対照群	雄	5	賦形剤	右側	検体 25%	5	0	0	0	5	0	0	0	0	
				左側	賦形剤	5	0	0	0	5	0	0	0		
	雌	5	賦形剤	右側	検体 25%	5	0	0	0	5	0	0	0	0	
				左側	賦形剤	5	0	0	0	5	0	0	0		

賦形剤：精製水

惹起適用後、陽性反応動物は認められなかった。

試験群及び対照群のほとんどの動物に検体処置部位に検体の色が付着したと思われる軽度の緑色化が認められた。

以上の結果より、検体は皮膚感作性を有しないと判断する。

直近で実施した陽性対照物質(メルカプトベンゾチアゾール)の結果は次表のとおりである。

群	性	動物数	感作(9回)	惹起	感作反応動物数								陽性率(%)
					24 時間後(評点)				48 時間後(評点)				
					0	1	2	3	0	1	2	3	
試験群	雌	10	検体(1, 10, 20%)	右: 検体 20%	9	0	1	0	3	2	3	2	50%
				左: コーン油	10	0	0	0	10	0	0	0	
対照群	雌	5	コーン油	右: 検体 20%	4	1	0	0	3	2	0	0	0%
				左: コーン油	5	0	0	0	5	0	0	0	

陽性対照試験では陽性反応が確認された。

IX. 動植物及び土壌における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

試験機関の略号：

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法 処理量 試験結果	試験機関 (報告年)	頁
M1-4 GLP	動物代謝 トキシコキネティック 試験 代謝	ラット (M1) マウス (M2) ウサギ (M3) 分析 (M4)	方法 ¹⁴ C-非標識体を 0.5%MC に懸濁し、2 週間反復強制経口投与、投与終了後 7 日間回復させた。投与後、経時的に屠殺し 5 組織(血液、脳、脂肪、肝臓、甲状腺)を分析。 投与量 (mg/kg) : 低用量群 0.4、高用量群 4.0 (ウサギは 1.2) 結果: 親化合物 A は投与初期に各組織で散見され、脂肪以外は経時的に減少。脂肪は 3 動物で、肝臓/甲状腺ではウサギで投与期間を通して A を検出。代謝物 B は全動物の各組織中に分布/貯留する傾向。代謝物 C は数組織で微量検出。高用量では代謝物 B の組織内蓄積速度及び消失半減期に種差あり。	()	311
M5 GLP	動物代謝 種間差の比較	ラット マウス ウサギ	方法: ¹⁴ C-標識体を 0.5%MC に懸濁し、単回強制経口投与。投与 168 時間後まで経時的に排泄物を採取、屠殺し、組織(血液、肝臓、腎臓、脳、甲状腺、筋肉、脂肪)を分析。 投与量 (mg/kg) : 5 結果: 排泄は 3 動物とも糞が多く、尿の約 2 倍が排泄。体内残留はラットが最少、ついでマウス、ウサギは最大。血中濃度の T _{1/2} はウサギが 14 日、ラット/マウスは 3 日。主要代謝経路は共通、代謝物に量的差が種間にある。	()	316
M6	動物代謝 培養肝細胞 による代謝	ウサギ ラット (<i>in vitro</i>)	方法: ラット及びウサギより調製した肝細胞に細胞毒性のない濃度の ¹⁴ C-標識体を添加して 24 時間培養し、生成物を分析。 結果: いずれの肝細胞においても主代謝物は B で、種差なし。	()	322

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法 処理量 試験結果	試験機関 報告年	頁
M7 GLP	動物代謝 吸収、排泄、 組織内分布 (168 時間) 代謝	ラット	方法： ¹⁴ C-標識体の 0.5%MC 懸濁液を強制経口投与。 投与量 (mg/kg)：単回低用量 4、単回高用量 150、反復低用量 (14 日間非標識体+単回 ¹⁴ C-標識体) 結果：吸収、分布、排泄、代謝に顕著な性差なし。生物学的利用率は用量にほぼ比例し増加。吸収、排泄は、用量により異なり、低用量では吸収は速いが排泄は遅く、糞中排泄が主で、組織(主に脂肪組織)に多く貯留。高用量では低用量とは逆で、吸収が飽和。反復低用量投与はこれらの中間。吸収は受動的で、吸収速度は代謝と体内分布により律速。吸収された親化合物は急速に代謝され、Phase I 代謝物を経て Phase II 代謝物となり尿あるいは胆汁より排泄。		325
M8 GLP	動物代謝 血中動態 組織内分布 (4 時点)	ラット	方法： ¹⁴ C-標識体の 0.5%MC 懸濁液を強制経口投与。 投与量 (mg/kg)：単回低用量 4、単回高用量 40 血中動態：投与後 336 時間後まで採血。 組織内分布：1/2T _{max} 吸収相、T _{max} 、1/2T _{max} 消失相、168 時間後の 4 時点で 18 組織を採取し分析。 結果：薬物動態及び組織内分布に性差はなく、用量による差あり。低用量では吸収が速やか(平均 T _{max} 5.5 時間)で、消失は比較的遅い。高用量では吸収が遅く(平均 T _{max} 36 時間)、消失半減期(雌雄平均：高用量 153 時間、低用量は 214 時間)は低用量と差なし。組織中濃度はいずれの組織とも、血中濃度より高く、腸管とその内容物を除き、腹部脂肪が最も高く、ついで副腎、膵臓、甲状腺、皮膚及び被毛、卵巣、子宮、肝臓であった。	()	335
M9 GLP	動物代謝 胆汁排泄	ラット	方法： ¹⁴ C-標識体の 0.5%MC 懸濁液を胆管カニューレ挿入ラットに強制経口投与。 投与量 (mg/kg)：単回低用量 4、単回高用量 40 分析組織：投与 72 時間後まで尿/糞/胆汁を採取。72 時間後の組織内残留。 結果：吸収率は高用量で 75~80%、低用量で 87~90%で、胆汁への排泄率は高用量で 11~23%、低用量で約 7%であった。胆汁中から 16 種の代謝物を検出、内 4 種類を同定。未同定代謝物の一部はグルクロン酸/硫酸抱合体。	()	342
M10 GLP	動物代謝 胆汁排泄/ 再吸収	ラット	方法：群 1 には胆管カニューレ挿入ラットに ¹⁴ C-標識体の 0.5%MC 懸濁液を用量 4mg/kg で強制経口投与。群 2 には群 1 から採取の胆汁を胆管カニューレ経由で 24 時間注入投与。 試料：群 1 は投与 72 時間まで、群 2 は胆汁注入開始 96 時間まで尿、糞、胆汁を採取。 結果：群 1 で吸収率は 75%で、胆汁から 13%、尿(+ケージ洗液)から 3%、組織から 59%を回収。群 2 では吸収率は 73%で、胆汁から約 38%、尿(+ケージ洗液)から 9%、組織から約 27%を回収。腸管循環が相当高い。		346

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法 処理量 試験結果	試験機関 報告年	頁
M11 GLP	動物代謝 静注投与による体内動態	イヌ	方法： ¹⁴ C-標識体 1mg/kg をジメチルアセトアミド/プロピレングリコールに溶解し、静注投与。 試料：尿/糞/血液は 168 時間後まで採取。 結果：血漿中の半減期は 4-6 日、投与後 7 日間で 49% が主に糞経由で体外へ排泄。		350
M12 GLP	動物代謝 胆管カニューレ挿入 静注投与	イヌ	方法： ¹⁴ C-標識体 1mg/kg をジメチルアセトアミド/プロピレングリコールに溶解し、胆管カニューレ挿入に静注投与。 試料：胆汁/尿/糞/血液は 72 時間後まで採取。 結果：静注投与後 72 時間で、胆汁への排泄率は 15%、糞(含む直腸内容物)へは 9%、尿へは 3%。胆汁中の代謝物は未変化体(A)及びBの抱合体であった。		353
M13 GLP	動物代謝 高用量単回投与	イヌ	方法： ¹⁴ C-標識体 20 mg/kg を単回強制経口(カブセル)投与。 試料の採取：投与 168 時間後まで糞/尿/血液を採取。 結果：投与後 24 時間で血漿中最高濃度に達し、消失半減期 124 時間。主に糞(79%)から排泄、尿(2%)排泄は少ない。脂肪中の濃度が最高、ついで、皮膚。胆汁から非常に高濃度の放射能を検出、胆汁への排泄と腸肝循環が示唆された。		357
M14 GLP	動物代謝 低用量単回投与	イヌ	方法： ¹⁴ C-標識体 2mg/kg をビナガタイムに溶解し、単回強制経口投与。 試料の採取：投与 168 時間後まで糞/尿/血液を採取。 結果：投与放射能の血球への移行は少ない。吸収は速やかに 7 時間で最高血中濃度に達し、消失半減期 120 時間。主に糞(48%)から排泄、尿(2%)排泄は少ない。吸収後 A は速やかに B に代謝され、血液/糞中の主代謝物。		361
M15 GLP	動物代謝 排泄/代謝	泌乳ヤギ	方法： ¹⁴ C-標識体を 1 日に 2 回 7 日間反復カブセル投与。 投与量(mg/kg)：0.1, 4, 20/日(0.05, 2, 10ppm 相当量) 試料：尿/糞は 24 時間ごとに採取、ミルクは毎日午前/午後の 2 回採取、24 時間ごとにブール。血液は各投与前に頸静脈から採血。組織は最終投与約 23.5 時間後に屠殺し、骨格筋、脂肪、肝臓、腎臓、血液/血漿を採取。 結果：大量の放射能が主として糞から排泄。2ppm 投与では多くを体内に保持。ミルク中の濃度は 0.05ppm 群では ≤0.001 ppm。2 及び 10ppm 群では血中濃度以上に漸増し、それぞれ 0.107ppm 及び 0.166ppm に増加。多くの放射能を脂肪中に保持。主代謝物として、B、C、E を同定。		366
M15-2 GLP	動物代謝 排泄/代謝	産卵鶏	方法： ¹⁴ C-標識体を 28 日間反復カブセル投与。 投与量(mg/kg)：0.0075, 2, 10/日(0.05, 2, 10ppm 相当量) 試料：排泄物は 24 時間ごとに採取、卵は 24 時間ごとにブール。組織は最終投与約 23.5 時間後に屠殺し、骨格筋、脂肪、肝臓、皮膚を採取。 結果：最終投与後 23.5 時間までに投与放射能の約 52~58% を排泄物から回収。卵黄中の濃度は用量関連性のある増加を示し、組織中の残留は脂肪、皮膚が多い。主要な代謝物は B。		377

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法 処理量 試験結果	試験機関 報告年	頁
M16 GLP	植物代謝	稲	<p>方法：¹⁴C-標識体を用いて粒剤及び乳剤を調製し、粒剤は移植 20 日後の 1 回、乳剤は移植 20+50 日後の 2 回稲に茎葉処理。 処理量：5g a. i. /10a 相当量(1 回目の乳剤処理区は処理量の 6 割しか処理できず)</p> <p>結果：稲は ¹⁴C-標識体を酸化的機序と還元的機序により代謝。粒剤及び乳剤区とも残留は枝梗が最高、ついで藁、籾殻、根部で、玄米は最少。白米にも少量の残留あり。乳剤区は粒剤区に比し、約 1.6 倍の処理量で収穫までの期間が 41 日と短い(粒剤区は 72 日)が、枝梗/籾殻の残留は約 7 倍、玄米は約 4 倍、根部/藁は約 2 倍高かった。残留の主成分は親化合物 A で、代謝物として C, E, G, F, D, B を同定。</p>		384
M17 GLP	植物代謝	キャベツ	<p>方法：¹⁴C-標識体をアセトン/脱イオン水に溶解/希釈し、結球開始時とその 14 日後に葉の表面に噴霧処理し、経時的に試料を 1 回目処理後 35 日まで採取。 処理量：20g a. i. /10a</p> <p>結果：残留の主成分は親化合物 A で、収穫時総残留(外葉+球)の約 50%を占める。主要代謝物 F, G, E を同定。F/G は葉で生成した光分解物で、総残留の %、球では %を占めていた。E は総残留の %、球の %を占めていた。その他に微量の B, C を同定。結合残留は経時的に増加しなかった。</p>		394
M18 GLP	植物代謝	ヒマワリ	<p>方法：¹⁴C-標識体をアセトンに溶解/混合し、顆粒状白試料に含ませ顆粒製剤とした。土壤に小穴を開け、製剤を入れ、顆粒上に種子を置き、覆土。 処理量：20g a. i. /10a</p> <p>試料：処理 1, 2, 4.5 ヶ月後に採取。</p> <p>結果：収穫時(4.5 ヶ月後採取)試料では処理放射能の 4.8%が吸収され、その大部分は葉(総残留の 83%)に含まれ、種子では残留(総残留の 3%)は少なかった。茎葉中の主成分は A, B で、微量の C, E も同定。種子では他部位とは異なる代謝物のパターンで、微量で同定できなかったが、A, B は検出しなかった。</p>		399
M19 GLP	植物代謝	てんさい	<p>方法：¹⁴C-標識体をアセトンに溶解/混合し、顆粒状白試料に含ませ顆粒製剤とした。土壤に小穴を開け、製剤を入れ、顆粒上に種子を置き、覆土。 処理量：20(通常量)、200(10 倍量)g a. i. /10a</p> <p>試料：処理 2, 4, 6 ヶ月後に採取。</p> <p>結果：吸収された放射能は主に葉部に>90%、根部には<10%であった。根部の主要代謝物は B, A 及び E、この他に微量の C の存在も確認。葉部では B, E, I, D 及び C で、A は微量検出されたのみであった。</p>		406

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法 処理量 試験結果	試験機関 報告年	頁
M20 GLP	植物代謝	とうもろこし (1)	方法: ^{14}C -標識体をアセトンに溶解/混合し、顆粒状白試料に含浸させ顆粒製剤とした。播種後帯状に粒剤を処理し、覆土。 処理量: 42(通常量の2.5倍)、421(25倍量)g a. i./10a 試料: 青刈り(処理42日後)、成熟時(処理98/106日後)に収穫。 結果: 残留の大部分(約93%)は青刈り飼料及び成熟茎葉に分布、穀粒中には約7%のみであった。代謝物として親化合物Aの他にB、C、E、Jを同定。FもMSで同定。穀粒からはAの他に未知物質を1種検出。		412
M21 GLP	植物代謝 上記とうもろこし(1) の検証、分析法の比較	とうもろこし (2)	方法: ^{14}C -標識体のアセトリル溶液を、帯状の播種溝に処理後、播種、覆土。 処理量 14.6g a. i./10a 試料: 青刈り(処理35日後)、成熟時(処理98-106日後)に収穫。 結果: 分析法における差は最初に分析法1では100%を用いたのに対して、分析法2では用いなかった。分析法2がとうもろこしの分析法としてより適切であった。前回のJとした同定は明らかな間違いであった。		420
M22 GLP	好氣的潜水 土壌代謝	埴壤土	方法: 水深1cmとし、処理前35日間 CO_2 フリー-空気を通気し、酸化還元電位を確認後10g a. i./10a相当量の ^{14}C -標識体アセトリル溶液を滴下処理後、水層および土壌表層を穏やかに攪拌。181日間インキュベーション。 結果: 25°C、好氣的潜水条件下で半減期は87日、微生物により分解する。親化合物Aは水層から土壌に速やかに移動し、主としてC、Kに分解。微量のB、Eも生成。		430
M23 GLP	嫌氣的 土壌代謝	砂壤土	方法: 直径4.5cmの容器に土壌の深さ5cm、水深12cmの系を作製し、処理前52日間窒素ガスを通した。酸化還元電位を確認後、100g a. i./10a相当量の ^{14}C -標識体アセトリル溶液を水層に滴下処理。365日間インキュベーション。 結果: Aは嫌氣的条件下の潜水土壌中で徐々に分解、半減期は約123日。主要代謝物としてC、Eが徐々に増加。微量代謝物としてD、F、Bを同定。		439
M24 GLP	好氣的 土壌代謝	砂壤土 及び 砂土	方法: 乾土50gの土壌をガラス製容器にとり、20g a. i./10a(2ppm)相当量の ^{14}C -標識体アセトリル溶液を滴下処理後、均一に混合、圃場容水量の約75%に土壌水分を調整し365日間25°Cでインキュベーション。 結果: Aは好氣的畑条件下で徐々に分解し、半減期は砂壤土で128日、砂土で308日。主要代謝物としてE、B、Cが徐々に増加。微量代謝物としてD、Fを同定。		444
M25 GLP	加水分解	緩衝液	方法: pH 5, 7, 9、溶液濃度 ^{14}C -標識体0.9 $\mu\text{g/mL}$ 、温度25°C、期間30日 結果: pH5及び7では安定、pH9では半減期=28日で分解。分解物として、Eが生成し、経時的に増加した。		449

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法 処理量 試験結果	試験期間 報告年	頁																																		
M26 GLP	水中光分解	緩衝液	方法：pH5.0 緩衝液を滅菌後、90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように ^{14}C -標識体のアセトニル溶液を添加。水温 25°C で 6 時間擬似太陽光を照射。 結果：半減期は 3.63 時間、分解物として F、G を同定。		453																																		
M27 GLP	水中光分解	自然水	方法：pH8.0 の自然水を滅菌後、95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように ^{14}C -標識体のアセトニル溶液を添加。 結果：半減期は 0.21 日 (東京の自然太陽光換算 0.89 日)、主要分解物として F、G、微量代謝物 D、B、J を同定。		456																																		
M29 GLP	土壌吸脱着	5 土壌	方法：5 種の土壌を用い、 ^{14}C -標識体を 0.005M CaCl_2 溶液に溶解し、4 段階濃度の溶液を調製し、処理。各土壌について吸着及び脱着定数 K_F を求め、 K_{Foc} を算出。 結果： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">土性</th> <th colspan="2">吸着</th> <th colspan="2">脱着</th> </tr> <tr> <th>K_F</th> <th>K_{Foc}</th> <th>K_F</th> <th>K_{Foc}</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>壤質砂土</td> <td>89.6</td> <td>2671</td> <td>118.3</td> <td>3528</td> </tr> <tr> <td>砂壤土</td> <td>26.2</td> <td>7818</td> <td>93.7</td> <td>27951</td> </tr> <tr> <td>壤土</td> <td>148.6</td> <td>3493</td> <td>143.5</td> <td>3375</td> </tr> <tr> <td>砂質埴壤土 1</td> <td>58.1</td> <td>4991</td> <td>83.7</td> <td>7186</td> </tr> <tr> <td>砂質埴壤土 2</td> <td>67.2</td> <td>4214</td> <td>87.1</td> <td>5462</td> </tr> </tbody> </table>	土性	吸着		脱着		K_F	K_{Foc}	K_F	K_{Foc}	壤質砂土	89.6	2671	118.3	3528	砂壤土	26.2	7818	93.7	27951	壤土	148.6	3493	143.5	3375	砂質埴壤土 1	58.1	4991	83.7	7186	砂質埴壤土 2	67.2	4214	87.1	5462	()	461
土性	吸着		脱着																																				
	K_F	K_{Foc}	K_F	K_{Foc}																																			
壤質砂土	89.6	2671	118.3	3528																																			
砂壤土	26.2	7818	93.7	27951																																			
壤土	148.6	3493	143.5	3375																																			
砂質埴壤土 1	58.1	4991	83.7	7186																																			
砂質埴壤土 2	67.2	4214	87.1	5462																																			
M30	土壌吸着	4 土壌	方法：4 種の土壌を用い、検体を 0.01M の CaCl_2 溶液に溶解して 4 段階濃度の溶液を調製し、処理。各土壌について吸着定数 K_F を求め、 K_{Foc} を算出。 結果： <table border="1" style="margin-left: 20px;"> <thead> <tr> <th>土性</th> <th>K_F</th> <th>K_{Foc}</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>古川</td> <td>40.2</td> <td>1260</td> </tr> <tr> <td>新潟</td> <td>28.3</td> <td>1720</td> </tr> <tr> <td>牛久</td> <td>15.5</td> <td>548</td> </tr> <tr> <td>宮崎砂壤土</td> <td>9.55</td> <td>612</td> </tr> </tbody> </table>	土性	K_F	K_{Foc}	古川	40.2	1260	新潟	28.3	1720	牛久	15.5	548	宮崎砂壤土	9.55	612		465																			
土性	K_F	K_{Foc}																																					
古川	40.2	1260																																					
新潟	28.3	1720																																					
牛久	15.5	548																																					
宮崎砂壤土	9.55	612																																					
M31	魚濃縮性試験	ブルーギル サンフィッシュ	設定濃度 0.85 $\mu\text{g}/\text{L}$ の ^{14}C -標識体にブルーギルを 35 日間流水条件下で暴露、その後 14 日間の排泄期間を設けた。全部位において、取込まれた放射能は取込 14 日以内に定常状態に達し、定常状態での平均生物濃縮係数 BCF _{ss} は全魚体で 321 であった。 定常状態における魚では ^{14}C -標識体が最も主要な代謝物で、 ^{14}C -標識体及び ^{14}C -標識体が多く、 ^{14}C -標識体はこれらより少なかった。少量であるが ^{14}C -標識体の存在も確認された。全魚体において排泄 3 日で取込放射能の約 50% 以上、10 日で 90% 以上が排泄され、14 日後の残存率は 1% 以下であった。排泄期間中の代謝物も定常状態の代謝物と同じであるが、親化合物の割合が減少し、代謝物の割合に増加がみられ、被験物質は継続的に生体内で分解していることが示唆された。定常状態における親化合物に基づく BCF _{ss} は定常状態での親化合物の割合 23.75% を考慮して算出した 87.5 と考える。	()	467																																		

代謝物一覧表

略号	由来	コード番号 又は略称	化学名	構造式
A	親化合物		(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α , α -トリフルオロ- <i>p</i> -トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル	
B	動植土水光			
C	動植土水光			
D	動植土水光			
E	動植土加水			
F	植土水光			

動：動物、植：植物、土：土壌、水光：水中光、加水：加水分解

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

略号	由来	コード番号 又は略称	化学名	構造式
G	植 水光			
H	動 植			
I	植			
J	水光			
K	土			

動：動物、植：植物、土：土壌、水光：水中光、加水：加水分解

1. 動物における代謝分解

1-1 ラット、マウス及びウサギにおけるトキシコキネティック試験

(14日間反復投与/7日間回復)

(資料M1, 2, 3, 4)

試験機関： () (動物実験)

() (分析実験)

[GLP]

報告書作成：

検体純度：

供試動物：ラット；CD系、雌、1群30～40匹、開始時5～6週齢、体重144～189g

マウス；CD-1系、雌、1群12～40匹、開始時5～6週齢、体重20～25g

ウサギ；ニュージーランド系白色種、雌、1群30～40羽、開始時18～26週齢、
体重3.05～4.10kg

投与/回復期間：14日間投与/7日間回復

投与方法：検体を0.01%Tween 80含有0.5% (W/V) メチルセルロースに懸濁し、容量5mL/kgで、
下記用量で14日間、毎日強制経口投与した。投与液は毎日調製した。飼料及び水は
自由に摂取させた。

ラット及びマウス； 0(対照)、低用量(0.4mg/kg)、高用量(4.0mg/kg)

ウサギ； 0(対照)、低用量(0.4mg/kg)、高用量(1.2mg/kg)

試験群及び屠殺：対照群は各屠殺時期にラット5匹、マウス2匹、ウサギ1羽ずつ屠殺した。

低及び高用量群は各屠殺時期及び各動物とも各5匹ずつ屠殺した。

群	屠殺時期(x印)							
	投与開始後期間						回復期	
	6時間	24時間	48時間	5日*	10日*	15日*	4日	8日
対照			x	x	x	x	x	x
低用量	x	x	x	x	x	x		
高用量	x	x	x	x	x	x	x	x

*：前日に最終投与し、投与約24時間後に屠殺

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。

各動物とも投与に起因する徴候及び死亡は認められなかった。

体重変化：投与開始時及びその後は週2回すべての動物の体重を測定した。屠殺時体重も測定した。

各動物とも体重増加に投与による影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率：全動物の摂餌量を週1回測定し、食餌効率も算出した。

各動物とも摂餌量及び食餌効率ともに投与による影響はみられなかった。

血液及び臓器組織の採取：「試験群及び屠殺」に示した時期に、後眼窩洞から非絶食下で採血し、屠殺後、脳、脂肪、肝臓、甲状腺の組織を摘出し重量を測定後、速やかに冷凍し、分析のため、Rhone-Poulenc Agriculture 分析化学部門に送付した。

分析対象・分析方法：分析対象代謝物はラット代謝試験（資料 M5）の結果に基づいて、A（ ）、B（ ）、C（ ）及びE（ ）とした。Eについては、肝臓中にのみ存在する代謝物であったので、肝臓のみを分析対象とした。

各組織・試料は、解凍後、アセトニトリル中でホモジナイズ・抽出後、固相抽出等を用いて精製し、GC で定量分析した。

添加回収試験は甲状腺を除く全組織について実施した。但し、マウス及びラットについては、十分な試料量が得られた組織についてのみ実施した。

分析結果：各代謝物の組織中の濃度推移を、表 1(低用量)及び表 2(高用量)に示したが、代謝物 E は全動物で検出限界以下であったので記載しなかった。

全動物とも各組織中に分布・貯留する傾向が認められた代謝物は、各投与群とも代謝物 B であった。

親化合物(A)は、投与初期に各組織で散見され、脂肪組織以外は経時的に減少した。ウサギ及びラットの脂肪では低及び高用量群とも、又、ウサギの高用量群では肝臓及び甲状腺とも投与期間を通して A が検出された。

代謝物 C は、初期に幾つかの組織で微量検出されたのみで、一定の傾向はみられなかった。

低用量ではいずれの動物のいずれの組織とも投与期間の進行に伴い代謝物 B の濃度が上昇し、脂肪で 12~16mg/kg、血液で 0.13~0.20mg/kg、脳で 0.6~0.7mg/kg、肝臓で 1.6~7mg/kg、甲状腺で 3~9mg/kg に達した。

これに対し、高用量では代謝物 B の組織内蓄積速度に種差が認められ、最高濃度に達したのはウサギで血液、脂肪及び脳が投与終了 1 日（それぞれ、0.4、54 及び 2.4mg/kg）、肝臓及び甲状腺で回復 4 日（それぞれ、19 及び 35.6mg/kg）であったのに対し、ラットでは最高濃度に達するまでの時間が大幅に短く、血液では投与後 5 日にプラトーに達し、投与終了までこの濃度が維持された(0.84~0.85mg/kg)。脂肪及び甲状腺では投与後 5 日に最高(それぞれ 109 及び 119mg/kg)に達し、ラットが最も

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

高く、以降投与期間中漸減した。脳及び肝臓では投与後 10 日に最高に達した(それぞれ 3 及び 10mg/kg)。

マウスでは脂肪が投与後 10 日 (82mg/kg)、甲状腺が投与後 10~投与終了 1 日までプラトー (13mg/kg) で最高に達した。それ以外は投与終了 1 日に最高に達した(血液、脳及び肝臓でそれぞれ 1.2、4 及び 20mg/kg)。

表-1 組織中残留濃度推移(低用量投与群、0.4mg/kg/日) (単位: mg/kg)

投与後日数	代謝物	ラット					マウス					ウサギ				
		血液	脂肪	脳	肝臓	甲状腺	血液	脂肪	脳	肝臓	甲状腺	血液	脂肪	脳	肝臓	甲状腺
0.25	A	0.025	1.2	0.079	0.31	0.48	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.53	ND	0.15	0.1
	B															
	C															
1	A	ND	0.47	0.05	0.07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.12	ND	0.06	ND
	B															
	C															
2	A	0.01	0.49	ND	0.092	0.11	ND	0.21	ND	ND	ND	ND	0.4	ND	ND	ND
	B															
	C															
5	A	0.01	0.54	ND	0.081	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.22	ND	ND	ND
	B															
	C															
10	A	0.01	0.64	ND	0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.23	ND	ND	ND
	B															
	C															
15	A	ND	0.41	ND	ND	ND	ND	2.4	ND	ND	ND	ND	0.24	ND	0.05	ND
	B															
	C															

ND: 検出限界 (mg/kg) 以下 (各組織中の各分析対象化合物の検出限界は以下の通り)

	A	B	C		A	B	C
血液	<0.01	<0.01	<0.01	肝臓	<0.05	<0.1	<0.05
脂肪	<0.1	<0.1	<0.1	甲状腺	<0.1	<0.1	<0.1
脳	<0.05	<0.1	<0.05				

表-2 組織中残留濃度推移(高用量投与群、ラット・マウス：4mg/kg/日、ウサギ：1.2mg/kg/日)
(単位：mg/kg)

投与 後日 数	代 謝 物	ラ ッ ト					マ ウ ス					ウ サ ギ					
		血液	脂肪	脳	肝臓	甲状 腺	血液	脂肪	脳	肝臓	甲状 腺	血液	脂肪	脳	肝臓	甲状 腺	
0.25	A	0.17	6.6	0.63	0.86	2	0.021	0.94	0.066	0.43	0.5	ND	0.51	0.074	0.21	0.29	
	B																
	C																
1	A	0.01	1.2	0.08	0.13	0.54	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.29	ND	0.05	ND	
	B																
	C																
2	A	0.01	0.93	ND	0.06	0.24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.6	ND	0.088	0.15	
	B																
	C																
5	A	ND	0.61	ND	ND	1.4	ND	ND	ND	ND	0.2	ND	0.86	0.05	0.13	0.34	
	B																
	C																
10	A	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	0.15	ND	ND	ND	ND	1.3	0.05	0.21	0.47	
	B																
	C																
15	A	ND	0.36	ND	ND	ND	ND	0.44	ND	ND	ND	ND	1.7	0.05	0.38	0.22	
	B																
	C																
回 復 期	18	A	ND	0.3	ND	ND	ND	ND	0.17	ND	ND	ND	ND	0.34	ND	0.08	ND
		B															
		C															
	22	A	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1	ND	0.2	ND	ND	ND
		B															
		C															

ND：検出限界以下（各組織中の各分析対象化合物の検出限界は表1の注釈の通り）

代謝物Bの推定消失半減期：7日間の回復期間中の結果から推定した高用量投与群における各臓器中の代謝物Bの消失半減期を表3に示す。

表3 代謝物Bの消失半減期(日)

種	血液	脂肪	脳	肝臓	甲状腺
ウサギ	11	10	7	3	-
ラット	5	7	9	5	5
マウス	5	6	4	約4	5

-：明らかな動態が得られず、推定不可

ウサギの血液及び脂肪における半減期はそれぞれ11日及び10日であった。げっ歯類

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

では前者が5日、後者が6または7日であった。脳における半減期はマウスで4日、ウサギで7日、ラットで9日と差がみられた。肝臓は3~5日、甲状腺はげっ歯類で5日、ウサギは明確な動態データが得られなかったので推定できなかった。

ラット、マウス及びウサギに低(0.4mg/kg)及び高(げっ歯類 4.0mg/kg、ウサギ 1.2mg/kg)用量を14日間投与し、組織中のフィプロニル及びその代謝物の動態について検討した。さらに、7日間の回復期間を設け残留の消失について検討した。その結果、

親化合物(A)は、投与初期に各組織で散見され、脂肪組織以外は経時的に減少した。脂肪では3動物とも、又、肝臓及び甲状腺ではウサギで投与期間を通してAが検出された。

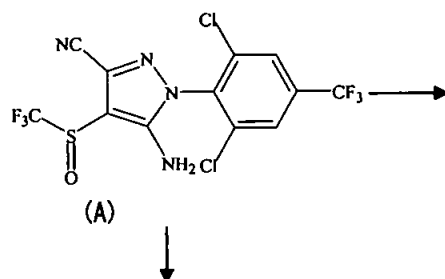
全動物とも各組織中に分布・貯留する傾向が認められた代謝物は、各投与群とも代謝物Bであった。

代謝物Cは、幾つかの組織で微量検出されたのみであった。

低用量ではいずれの動物のいずれの組織とも投与期間の進行に伴い代謝物Bの濃度が上昇した。これに対し、高用量では代謝物Bの組織内蓄積速度に種差が認められ、ウサギで血液、脂肪及び脳が投与終了1日、肝臓及び甲状腺で回復4日に最高濃度に達したが、ラットでは最高濃度に達するまでの時間が大幅に短く、血液では投与後5日、脂肪及び甲状腺では投与後5日に、脳及び肝臓では投与後10日に最高に達し、以降投与期間中漸減した。マウスでは脂肪が投与後10日、甲状腺が投与後10~投与終了1日まで、それ以外(血液、脳及び肝臓)は投与終了1日に最高に達した。

代謝物Bの投与後における消失半減期はウサギの血液及び脂肪はそれぞれ11日及び10日と最も長く、ラット及びマウスでは5あるいは6~7日と差がなかった。脳における半減期はマウスで4日、ウサギで7日、ラットで9日と種差がみられた。その他の組織は3~5日で差がなかった。

推定代謝経路を下記に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-2 ラット、マウス及びウサギにおける代謝の比較試験

(資料 M5)

試験機関： ()

[GLP]

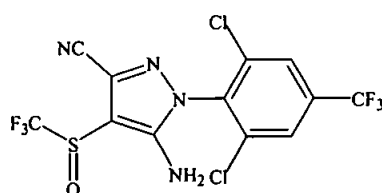
報告書作成：

試験目的：哺乳動物における代謝の種間差を比較し、毒性データの評価に資するために行った。

(実験は に行なわれ、最終報告書は に作成された)

供試標識化合物：(以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式：



* : ^{14}C 標識部位

化学名：(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α , α , α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名：フィプロニル

比放射能： mCi/mmol

放射化学的純度：

供試動物：ラット雌；CD系(SD由来)、1群5匹、体重142.8~151.3g

マウス雌；CD-1系、1群10匹、体重17.3~20.3g

ウサギ雌；ニュージーランド系白色種、1群2匹、体重3.62~3.64kg

投与方法：非標識体(純度99.3%)で希釈した検体を0.01% Tween 80含有0.5% (W/V) メチルセルロースに懸濁し、5mg/kgを投与前16時間絶食させた動物に単回強制経口投与した。投与液は投与日に調製した。なお、マウスは代謝ケージ当たり2匹ずつ収容した。

観察・検査項目及び結果：

試料の採取：

呼吸：ラット及びマウスでは投与48時間後まで捕集[2-エトキシエタノール：エタノールアミン(3:1, V/V)]したが、 $^{14}\text{CO}_2$ は検出されなかったため、その後の捕集はしなかった。ウサギは投与後、呼吸の捕集はしなかった。

尿及び糞：投与後168時間まで24時間ごとに採取した。

血液：投与1、3、6、24時間後に、その後は24時間ごとに168時間まで、ウサギは耳介静脈から、ラット及びマウスは尾静脈から採血し、血漿を分離した。

臓器組織：投与168時間後に屠殺後、肝臓、腎臓、脳、甲状腺、筋肉及び脂肪を摘出し採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

放射能の測定：液体試料(尿、 ^{14}C 捕集液、血漿、ケージ洗液、溶媒抽出液)はシンチレーションカクテルを添加して、LSC で直接放射能を計測した。血液は溶解剤+エタノール(1:2, v/v)を添加して溶解し、同様に計測した。固体試料は以下の処理をした後、LSC で放射能を計測した。なお、マウスはケージごとに 2 匹分の試料をプールして分析した。

糞：アセトニトリル中で均質化、抽出し、上清を分離した。抽出後の残渣は乾燥後、摩砕、粉末とし、セルロース末と共に燃焼し、 ^{14}C を捕集した。

ケージ残屑：抽出後の糞の残渣と同様に処理した。

組織：甲状腺はラット及びマウスでは全量を、ウサギはプール試料を直接燃焼した。

その他の組織は均質化した後、セルロース末と共に燃焼し、 ^{14}C を捕集した。

代謝物の同定：特定の尿及び糞抽出液は HPLC 及び TLC に供試、ラット尿、糞抽出液、血漿及び 3 動物の組織抽出液は GC-ECD に供した。単離代謝物及び 2 つ以上の成分を含む抽出液は MS/NMR に供した。

結果：

排泄：投与放射能の排泄率を表 1 に示す。

表 1. 投与放射能の尿、糞及び呼気中への排泄割合(投与量に対する回収率%)

排泄物	時間	ウサギ	ラット	マウス
尿	0~24	0.73	3.75	1.47
	0~48	3.00	9.27	2.70
	0~72	4.14	14.04	3.90
	0~96	4.65	16.32	4.33
	0~120	4.95	17.65	4.64
	0~144	5.26	17.45	5.07
	0~168	5.53	19.86	5.43
糞	0~24	0.96	9.76	8.59
	0~48	2.56	16.33	14.46
	0~72	4.61	24.38	16.69
	0~96	6.10	29.09	19.06
	0~120	8.30	32.03	20.86
	0~144	10.10	34.11	22.53
	0~168	11.95	36.77	23.64
呼気		NS	nsr	nsr
ケージ洗液		0.08	0.52	3.12
残屑		0.57	NS	7.22
合計		18.13	57.15	39.42

NS：試料を採取せず。 nsr：有意な量の放射能は検出されなかった。

投与放射能の排泄経路は 3 動物とも糞経路が主で、尿経路の排泄は相当少なかった。尿排泄はラットが最も多く、ウサギ及びマウスはラットの 1/3 以下であった、しか

し、マウスではケージ洗液及びケージ残屑中の放射能が多かったが、これはマウスが給餌器中に入っていたことが観察されていることから、尿汚染のためと考えられる。

糞中の排泄には明らかに種間差が認められ、ウサギが最も少なく、ついで、マウスで、ラットは最も多く、尿排泄の傾向と同じであった。

呼吸はラット及びマウスで投与 48 時間後まで捕集したが、呼吸への排泄はなかった。

投与 168 時間後の総排泄率はウサギで約 20%、マウスで約 40%、ラットで約 60%で、それぞれ約 80%、60%及び 40%が体内に残存しており、排泄は緩慢であった。

組織中の放射能：組織中の放射能を投与量に対する割合(%)として表 2 に、親化合物当量 ($\mu\text{g-eq/g}$ 組織)として表 3 に示す。

表 2. 組織中の回収放射能(投与量に対する割合%)

組織	投与量に対する回収率%		
	ウサギ	ラット	マウス
血液	0.06	0.06	0.17
脳	0.06	0.15	0.15
脂肪	2.06	1.45	1.21
腎臓	0.35	0.29	0.24
肝臓	3.09	2.24	1.89
筋肉	0.24	0.61	0.56
甲状腺	0.02	<0.01	0.03
合計	6.69	4.80	4.26

表 3. 組織中の回収放射能 ($\mu\text{g-eq/g}$ 組織)及び組織対血漿の放射能比

組織	組織中の回収放射能 $\mu\text{g-eq/g}$			組織対血漿比		
	ウサギ	ラット	マウス	ウサギ	ラット	マウス
全血	0.18	0.16	0.14	0.69	0.72	0.62
血漿	0.26	0.23	0.23	1.00	1.00	1.00
脳	1.04	0.66	0.35	4.04	2.89	1.48
脂肪	21.58	10.89	4.95	83.87	47.80	20.92
腎臓	3.92	1.33	0.70	15.25	5.81	3.00
肝臓	7.10	1.78	1.46	27.16	7.81	6.15
筋肉	1.33	0.93	1.01	5.27	4.01	4.27
甲状腺	12.80	1.97	1.41	49.54	8.36	6.19

ウサギでは全ての組織で濃度が最も高かった。3 動物とも脂肪の放射能が最高で、全て $>4.5 \mu\text{g-eq/g}$ 組織であった。甲状腺、肝臓及び腎臓の濃度は全て $>2 \mu\text{g-eq/g}$ 組織で、その他の組織は $<2 \mu\text{g-eq/g}$ 組織であった。マウスの組織中の濃度は一般に、ラットとほぼ同じかそれよりも低かった。

投与 168 時間後の血漿中の濃度は 3 動物ともほとんど同じで、全血対血漿比は<1 で血中に均一に放射能が分布していないことを示していた。その他の組織ではこの比率は全て>1 であった。

薬物動態：全血中放射能の推移を表 4、薬物動態パラメータを表 5 に示す。

表 4. 全血中放射能の推移 ($\mu\text{g-eq/g}$ 全血)

投与後時間	ウサギ	ラット	マウス
1	0.13	0.28	0.42
3	0.16	0.49	0.56
6	0.25	0.63	0.52
24	0.27	0.57	0.37
48	0.22	0.50	0.23
72	0.17	0.37	0.22
96	0.18	0.26	0.16
120	0.18	0.22	0.14
144	0.18	0.21	0.12
168	0.17	0.15	0.13

表 5. 薬物動態パラメータ

	ウサギ	ラット	マウス
C_{max} ($\mu\text{g/g}$)	0.31	0.64	0.58
T_{max} (時間)	12	9	4
$t_{1/2}$ (日)	14	3	3

3 動物とも排泄相は比較的長く、特にウサギは長く、 $t_{1/2}$ はウサギで約 14 日、ラット及びマウスで 3 日であった。 C_{max} はラット及びマウスはほぼ同じ(ラット $0.64\mu\text{g-eq/g}$ 、マウス $0.58\mu\text{g-eq/g}$)であるのに対して、ウサギはこれらの約 $1/2$ ($0.31\mu\text{g-eq/g}$) であった。 T_{max} はウサギが 12 時間で最も遅く、ラットが 9 時間、マウスが 4 時間であった。

代謝物の同定：各代謝物の試料中の放射能に対する割合を表 6 に示す。

尿：ウサギで少なくとも 8 代謝物が確認され、うち 4 個が主要成分であった。ラットでは主要代謝物 1 個、中程度の代謝物 1 個、微量代謝物 2 個が確認され、マウスでは主要及び中程度の代謝物が各 1 個、微量代謝物 2~3 個が確認された。3 動物に共通の代謝物として、これらの代謝物のうち 3 個 (M1、M2、M3) は 3 動物に共通であったが、標品との HPLC コクロマトグラフで一致するものはなかった。ラット及びウサギの尿のアセトン抽出液中に微量の代謝物 D () の存在が MS で確認された。

表 6. 各代謝物の試料(抽出液)中放射能に対する割合%

試料/分析試料(時間)/種		M1	M2	M3	A	C	B	その他
尿 (HPLC)	0-24	ウサギ						
	0-168							
	0-24	ラット						
	0-168							
	0-24	マウス						
	0-168							
糞 (HPLC)	0-24	ウサギ			45.8			
	24-48				17.0			
	0-24	ラット			66.6			
	24-48				5.3			
	0-24	マウス			60.7			
	24-48				10.1			
糞 (TLC)	0-24	ウサギ			47.4			
	24-48				49.1			
	0-24	ラット			74.3			
	24-48				8.1			
	0-24	マウス			57.5			
	24-48				12.2			

nr : 結果が得られなかった。 nd : 試料中で検出せず。

糞 : ウサギの糞抽出液には最も多くの代謝物があり、マウスは最も少なかった。主要な3成分は標品と一致し、代謝物B(), 親化合物A()及び代謝物C()がNMRで同定された。主要代謝物は、ウサギではC、ラット及びマウスではBであった。ほとんどの場合、TLCの結果はHPLCの結果を確認するものであったが、ウサギの24~48時間試料では親化合物Aと代謝物Cを分離できなかった。

組織 : 血漿、並びに肝臓、腎臓及び脳の抽出液を非標識体のGC分析法で分析し、主要代謝物としてB、微量の親化合物A及び代謝物Cも検出された。ウサギの肝臓では微量の代謝物E()も検出された。

検体の標識体5mg/kgをウサギ、ラット及びマウスに単回強制経口投与した結果、3動物とも排泄は緩慢であり、投与168時間後にウサギでは投与量の80%、マウスでは60%、ラットでは40%が体内に残存していた。尿排泄(尿汚染した残屑を含め)は3動物とも糞排泄より少なく、ウサギ、マウス、ラットでそれぞれ約5%、10%及び20%で、糞排泄は3動物とも尿排泄の約2倍であった。

血中濃度の消失半減期はウサギで約14日、ラット及びマウスで3日であった。Tmaxはウサギが12時間、ラットが9時間、マウスが4時間であった。Cmaxはラット及びマウスはほぼ同じ、ウサギはこれらの約1/2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 BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

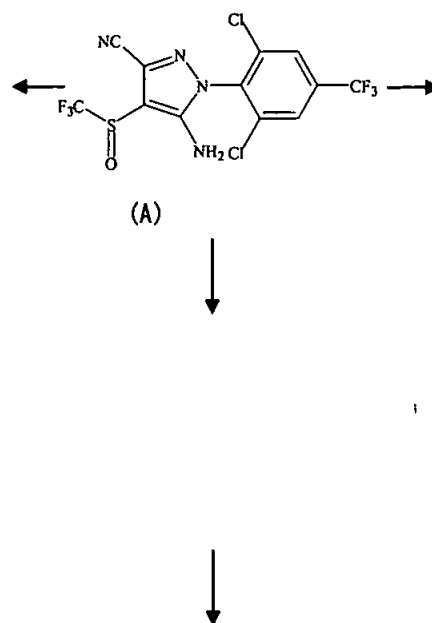
3 動物とも脂肪中の残留が最も高く、マウスは最も少なく約 $5 \mu\text{g-eq/g}$ 組織で、ラットはその約 2 倍、ウサギは 4 倍の残留であった。その他の組織においてもウサギは濃度が最も高く、マウスの組織中の濃度は一般に、ラットとほぼ同じかそれよりも低かった。全血対血漿比は 3 動物とも <1 で、血中に均一に放射能が分布していないことを示していた。

尿から 3 動物に共通の 3 個 (M1, M2, M3) の主要代謝物が検出されたが、同定できなかった。この他に、ラット及びウサギから微量の代謝物 D () の存在が MS で確認された。糞から親化合物 A の他に、主要代謝物 [B および C] が同定され、主要代謝物はウサギでは C、ラット及びマウスでは B であった。

組織中の主要代謝物として代謝物 B、微量の親化合物 A 及び代謝物 C も検出された。ウサギの肝臓では微量の代謝物 E () も検出された。

フィプロニルの基本的な主要代謝経路は 3 動物で共通しているが、ウサギの代謝がラット及びマウスよりいくらか広範に進行しているようであった。薬物動態に明瞭な種間差があり、フィプロニルの毒性の差を説明可能と考えられる。

推定代謝経路を下記に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-3 培養肝細胞によるフィプロニルの代謝

(資料 M6)

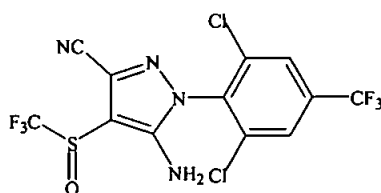
試験機関： () (培養及び TLC)
()

(代謝物の分析/定量) 報告書作成：

試験目的：ラット、ウサギより単離した肝細胞を用い、*in vitro*におけるフィプロニルの代謝生成物を把握し、これら動物における代謝の差を検討する。

供試標識化合物：(以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式：



* : ^{14}C 標識部位

化学名：(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α, α, α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名：フィプロニル

比放射能： mCi/mmol

放射化学的純度：

供試細胞：SD系ラット雄及びニュージーランド系ウサギ雄を麻酔後、ヘパリンを投与し、門脈にカニューレを挿入し、肝臓を最初にHepes緩衝液、ついでコラゲナーゼで灌流・洗浄した。次に、肝臓を摘出後、肝細胞を単離し、Leibovitz L15培地に懸濁・濾過・洗浄して計数した。細胞生存率が80%以上の細胞懸濁液を試験に供した。

細胞培養：単離細胞を60mmシャーレ (2.5×10^6 細胞) または96穴プレート (3×10^4 細胞/穴) に播種し、5% CO_2 含有空気中で4時間培養した後、 ^{14}C -標識体を添加した。

細胞毒性のない濃度を求めるために、以下の濃度の ^{14}C -標識体を培地に添加して、24時間培養し、細胞の形態を観察した。また、ニュートラルレッド50ppm添加培地で細胞を3時間培養した後、細胞を融解し、550nmで光学濃度を測定した。

ラットの細胞：100、50、25、12.5、6及び $3 \mu\text{M}$

ウサギの細胞：50、25、12.5、6、3及び $1.5 \mu\text{M}$

^{14}C -標識体の濃度が $12.5 \mu\text{M}$ (ラット細胞)及び $25 \mu\text{M}$ (ウサギ細胞)以上になると細胞形態がわずかに変化し、 $50 \mu\text{M}$ 以上になると明らかな細胞の変性がみられた。両細胞と

も、25 μM以上になるとニュートラルレッド取り込みが減少し、IC₅₀値は50 μMを上回っていた。この結果から、細胞毒性のない¹⁴C-標識体の濃度10 μM(4.4 μg/mL)を含む培地に細胞を播種して、0、1、3、5及び24時間培養し、代謝実験を行った。

代謝物の分析：24時間培養した試料について、直接薄層プレートにスポットし、2種類の溶媒系で展開し、標品のクロマトグラムと比較した。

さらに、培養液中の代謝物はHPLCで分析、定量し、標品との保持時間により同定した。試料中の放射能量は液体シンチレーションカウンターで定量した。代謝物の生成比率は培養液の放射能量とHPLCチャートの面積割合より算出した。

試験結果：HPLCによる分析結果を表1(ウサギの細胞)及び表2(ラットの細胞)に示す。

表1 ウサギ肝細胞培養により生成した分解物/代謝物

代謝物 (略号/コード番号)	培養時間(hr) / 生成率(%)					
	ブランク			肝細胞培養		
	0 hr	3 hr	24 hr	0 hr	3 hr	24 hr
B:						
C:						
F:						
A:フィプロニル	100	100	90.51	100	84.28	26.22
D:						
E:						
G:						
未知物質						

- : 検出されず。

表2 ラット肝細胞培養により生成した分解物/代謝物

代謝物 (代謝物略号)	培養時間(hr)/生成物(%)					
	ブランク			肝細胞培養		
	0 hr	3 hr	24 hr	0 hr	3 hr	24 hr
B:						
C:						
F:						
A:フィプロニル	100	100	92.86	100	65.09	-
D:						
E:						
G:						
未知物質						

- : 検出されず。

ラット、ウサギの肝細胞とも同じ代謝物を生成し、
が主要代謝物であったが、ラットの方がウサギより代謝速度がやや速い傾向がみられた。

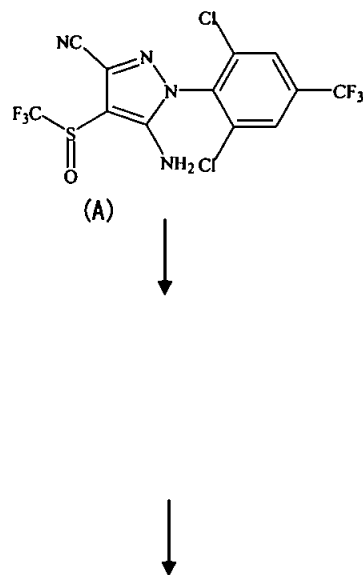
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

培養液中に が検出されたが、これは培養が散乱光下で行われたため、光分解により生じたと考えられる。

結論として、ラット及びウサギの培養肝細胞を用い、フィプロニルの代謝における種差を検討した結果、フィプロニルは容易に酸化され、代謝物Bを生じ、代謝に種差は認められなかったが、代謝速度はラットがウサギよりやや速かった。

推定代謝経路を下記に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-4 ^{14}C 標識体を用いたラット体内における代謝試験

(資料 M7)

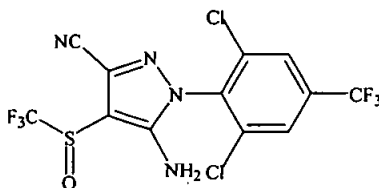
試験機関： ()

[GLP 対応]

報告書作成：

供試標識化合物：(以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式：



* : ^{14}C 標識部位

化学名：(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α , α , α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名：フィプロニル

比放射能： $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度：

供試動物： Sprague Dawley 系 (Cr1: CD(SD)BR) ラット、7-11 週齢、雌雄、体重 150-200g、

試験方法：

投与：

1) 投与液の調製：非標識体で希釈した ^{14}C -標識体を 0.01% Tween 80 含有 0.5% メチルセルロースに懸濁して投与液を調製した。

2) 投与；投与容量 5mL/kg で、動物当たり 25 μCi の放射能を投与し、低用量は 4mg/kg、高用量は 150mg/kg とし、強制経口投与した。

用量設定根拠；非標識体 50、100 及び 150mg/kg を強制経口投与し、8 日間観察した結果、150mg/kg で軽度の毒性症状が認められたが、実験には悪影響がなかったため、この用量を高用量として選定した。

3) 群の構成：

群	用量 (mg/kg)	回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時期(時間)
予備	低用量(4)	単回経口	雌雄各1匹	予備排泄	糞/呼気: 24時間ごとに5日間 尿: 投与0~6時間、6~24時間、以降24時間ごとに5日間
	高用量(150)				
A	低用量(4)	単回経口	雌雄各5匹	排泄/組織内分布	呼気: 採取しなかった 尿: 投与0~6時間、6~24時間、以降24時間ごとに7日間 糞: 24時間ごとに7日間 組織: 投与終了(168時間)後に採取 心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、副腎、血液、大腿骨、骨髓、大腿四頭筋、脳、腹部脂肪、胃腸管(内容物を含む)、生殖腺、子宮、甲状腺、皮膚、かか
B	低用量(4)	反復経口(非標識14回+標識1回)			
C	高用量(150)	単回経口			
D	低用量(4)	単回経口			
E	高用量(150)				

4) 試料の採取: 呼気は2-エトキシエタノール:エタノールアミン(3:1, V/V)で捕集した。
尿/糞の採取時期及び採取組織は群構成に記載のとおり採取した。
血中の動態用の血液は尾静脈から採血した。

5) 放射能の測定: 液体試料あるいは固体試料を可溶化処理した試料はシンチレーションカクテルを添加して、LSCで直接、又、一部の固体試料(糞、骨、骨髓)は燃焼して、発生した¹⁴C₂を捕集して、LSCで放射能を計測した。

6) 代謝物の同定: 群A~Cから採取した尿、糞、脂肪、肝臓、腎臓、筋肉及び子宮について、代謝物の性質とその量についてHPLCで分析した。

尿、糞は放射能 5×10^4 dpm/ml (g) 以上の試料について、性別、採取時期別にプールし、分析に供した。

尿は、直接 HPLC で分析、更に酵素(β -グルクロニダーゼ、アリルスルファターゼ)による脱抱合処理後、HPLC で分析した。

糞はジクロロメタンで抽出し、残渣をメタノールでソックスレー抽出した。両抽出液を合せ溶媒留去後、メタノールに溶解し、HPLC で分析した。

脂肪、筋肉、子宮、肝臓及び腎臓の組織試料については、ホモジェナイザーを用いてアセトニトリル又はアセトニトリル/ヘキサンの有機溶媒、固相抽出カラムを用いて抽出後、HPLC で分析した。

代謝物の同定は有機溶媒抽出後、アセトニトリルに再溶解し、質量分析(GC-MS)に供し、標品のスペクトルと比較した。

結果:

予備試験結果：予備試験結果を表 1 に示す。

低及び高用量とも呼気中への排出率は 0.24%以下であり、呼気中への排泄は無視できると考えられたので、本試験では呼気の採取は実施しなかった。

表 1 予備試験結果一回収率%

	単回低用量		単回高用量	
	雄	雌	雄	雌
尿	3.56	4.76	22.98	14.75
糞	23.5	26.57	63.95	57.55
呼気	0.14	0.13	0.24	0.22
ケージ洗液	0.80	0.80	3.40	1.74
ケージ残屑	0.18	0.35	nd	0.28
組織	74.48	43.46	na	na
合計回収率	102.7	106.1	90.57	74.52

nd：検出せず。 na：分析せず。

回収率：標識体投与 7 日後の回収率は表 2 のとおりである。

回収率は 98~107%の範囲にあった。

表 2 標識体投与 7 日後の回収率 (%)

	A 単回低用量		B 反復低用量 ^a		C 単回高用量	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	5.63	5.62	16.22	13.80	29.25	22.04
糞	45.62	46.01	56.06	61.36	66.90	75.10
ケージ洗液	0.88	1.20	1.62	2.87	3.80	2.99
ケージ残屑	0.02	nd	0.03	0.22	0.68	1.02
排泄物合計 ^b	52.15 (53)	52.82 (53)	73.93 (76)	78.25 (80)	100.63 (97)	101.1 5 (95)
組織	46.05	45.77	23.66	20.16	2.90	5.33
総回収率	98.20	98.59	97.59	98.41	103.53	106.48

nd：検出せず。 ^a：非標識体を 1 日 1 回 14 日間投与、最終投与 24 時間後に標識体を単回投与。

^b：ケージ洗液及び残屑を含めた合計。()の値は総回収率を 100 としたときの計算値。

尿/糞中への排泄：標識体投与 7 日後までの累積経時的排泄を表 3 に示す。

投与された放射能は、低及び高用量ともに、多くは糞中に排泄されたが、尿糞中への排泄比率は投与方法、投与量により異なり、尿/糞中排泄の合計で、各実験の総回収率を 100%としたとき、低用量単回投与(A 群)では約 53%(糞中へは 46~47%、尿中へは 6~7%)が排泄された。低用量反復投与(B 群)では、約 76~80%(糞中へは 57~62%、尿中へは 18~19%)が排泄された。また、高用量単回投与(C 群)では、約 95

～97% (糞中へは 65～71%、尿中へは 30～28%) が排泄された。低用量反復投与により尿中への排泄が約 3 倍増加した。高用量単回投与では尿/糞への排泄率が低用量単回投与に比し多く、組織中の残留が少なく、吸収が飽和されていることを示唆している。

尿糞排泄パターンに明らかな性差は認められなかった。

表 3 排泄物中の経時的放射能の累積排泄率%

排泄物	時間 (hr)	A 単回低用量		B 反復低用量 ^a		C 単回高用量	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0～ 6	0.61	0.78	0.43	0.87	0.48	0.48
	24	1.49	2.24	4.91	4.02	1.93	1.69
	48	2.32	3.29	10.31	8.44	10.26	6.50
	72	3.23	4.05	13.59	10.83	21.91	13.52
	96	4.03	4.44	14.81	12.23	27.32	17.98
	120	4.63	4.81	15.52	13.13	28.73	20.51
	144	5.20	5.21	15.93	13.55	29.13	21.64
	168	5.63 (5.7)	5.62 (5.7)	16.22 (16.6)	13.80 (14.0)	29.25 (28.3)	22.04 (20.7)
糞	24	20.37	21.70	21.86	21.82	13.66	22.80
	48	24.55	26.28	36.85	38.61	25.13	29.82
	72	30.42	32.23	45.39	47.24	44.73	49.51
	96	34.77	35.95	49.81	54.04	59.44	62.69
	120	38.38	39.00	52.67	56.78	64.51	69.56
	144	42.12	42.26	54.58	59.36	66.28	73.75
合計	0～168	51.25 (52.2)	51.63 (52.4)	72.28 (74.1)	75.16 (76.4)	96.15 (92.9)	97.14 (91.2)

()内の数値は総回収率を 100 としたときの計算値。

^a：非標識体を 1 日 1 回 14 日間投与、最終投与 24 時間後に標識体を単回投与。

組織内分布：標識体経口投与 7 日後における組織内分布を表 4 に示す。

臓器組織内分布は投与方法、投与量により異なり、各実験の総回収率を 100% としたとき、低用量単回投与 (A 群) では約 46%、低用量反復投与 (B 群) では約 22%、高用量単回投与 (C 群) では約 4% が組織とカーカスに残留した。ほとんどの組織で、血中濃度より残留が多く、特に腹部脂肪中の濃度は最高 (A 群: 15～18 μg/g、B 群: 6 μg/g、C 群: 29～55 μg/g)、中等度の残留が副腎、脾臓、皮膚、肝臓、腎臓、甲状腺、肺等に認められた。さらに、雌では卵巣及び子宮の残留も比較的多かった。低用量反復投与 (B 群) 後の残留は低用量単回投与 (A 群) より全般に少なかった。

表-4 標識体経口投与 7 日後における組織内分布 (単位: $\mu\text{g/g}$ 右欄は投与量に対する割合%)

投与量	A 単回低用量				B 反復低用量 ^a				C 単回高用量			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%
副腎	4.25	0.02	4.67	0.03	1.54	<0.01	1.40	0.01	7.61	<0.01	14.55	<0.01
血液	0.18		0.21		0.08		0.10		1.33		2.20	
骨	0.24		0.27		0.10		0.08		0.69		1.44	
骨髓	0.72		0.86		0.28		0.34		2.37		6.85	
脳	0.82	0.17	0.99	0.21	0.29	0.05	0.30	0.07	1.60	<0.01	3.42	0.02
脂肪(腹部)	14.70		18.84		5.76		5.76		29.40		54.48	
消化管*	1.37	4.14	1.70	4.24	1.14	2.86	0.89	2.81	3.68	0.31	10.49	0.90
心臓	0.99	0.11	1.19	0.11	0.36	0.04	0.41	0.04	2.29	<0.01	4.53	0.01
腎臓	1.30	0.31	1.52	0.31	0.50	0.12	0.50	0.13	4.09	0.03	6.57	0.04
肝臓	2.53	3.46	2.72	3.02	1.10	1.54	0.97	1.44	6.46	0.25	11.15	0.46
肺	1.25	0.18	1.42	0.20	0.60	0.08	0.50	0.08	3.26	0.01	5.88	0.03
筋肉	0.83		0.98		0.39		0.31		1.80		3.20	
膵臓	3.64	0.26	5.97	0.41	2.14	0.17	1.98	0.16	8.89	0.02	15.03	0.05
皮膚	2.54		3.67		1.30		1.09		7.85		17.51	
脾臓	0.63	0.04	0.77	0.05	0.33	0.02	0.28	0.02	1.60	<0.01	3.71	<0.01
胃*	0.41	0.26	0.61	0.27	0.49	0.13	0.31	0.13	0.67	0.01	2.28	0.04
精巣	0.85	0.28	-		0.23	0.07	-		1.58	0.02	-	
卵巣	-		5.06	0.08	-		1.66	0.03	-		15.63	<0.01
甲状腺	2.27	<0.01	3.48	<0.01	0.88	<0.01	1.52	<0.01	1.45	<0.01	7.71	<0.01
子宮	-		2.30	0.11	-		1.11	0.08	-		10.47	0.01
カーカス	1.72	36.81	1.93	36.74	0.77	18.57	0.68	15.17	3.82	2.23	6.25	3.76
合計		46.05 (46.9)		45.77 (46.4)		23.66 (24.2)		20.16 (20.5)		2.90 (2.8)		5.33 (5.0)

* : 内容物を含む。

()内の数値は総回収率を 100 としたときの計算値。

^a: 非標識体を 1 日 1 回 14 日間投与、最終投与 24 時間後に標識体を単回投与。

吸収率: 尿中排泄 + 組織残留の合計としての吸収率を表 5 に示す。

表 5 吸収率の算定

	A 単回低用量		B 反復低用量 ^a		C 単回高用量	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
吸収率	51.68 (52.6)	51.39 (52.1)	39.88 (40.9)	33.96 (34.5)	32.15 (31.1)	27.37 (25.7)

()内の数値は総回収率を 100 としたときの計算値。

本剤の吸収率は投与方法、投与量に依存し、低用量単回投与では約 50% 以上であるが、反復投与では約 35% まで低下し、高用量単回投与では約 25% まで低下した。

薬物動態(血中濃度推移): 低用量(D 群)及び高用量(E 群)を単回投与した場合の血中における放射能の経時的推移を表 6 に、薬動学的パラメーターを表 7 に示す。

表 6 単回投与後の血中における放射能 ($\mu\text{g/g}$) の経時的推移

投与後時間 (hr)	D 単回低用量		E 単回高用量	
	雄	雌	雄	雌
0.5	0.142	0.254	2.993	4.151
1	0.246	0.401	4.593	5.909
2	0.503	0.483	6.409	9.072
4	0.614	0.573	8.122	12.79
6	0.678	0.599	9.435	13.71
24	0.470	0.456	14.1	17.81
48	0.397	0.374	19.56	19.36
72	0.364	0.368	13.48	14.01
96	0.317	0.339	7.402	8.535
120	0.276	0.316	3.830	4.982
144	0.259	0.284	2.657	3.268
168	0.229	0.253	1.912	2.492

血中濃度に用量間の差はあるが、性差は認められなかった。低用量では投与後 4~6 時間で最高濃度 (0.6~0.7 $\mu\text{g/g}$) に達したが、低下速度は遅く、投与 168 時間後でも C_{max} の約 40% が血中に残っていた。これは脂肪からの放射能の消失が遅いためと考えられた。

高用量では血中濃度の最高値 (約 20 $\mu\text{g/g}$) は用量にほぼ比例して上昇したが、 T_{max} は低用量に比し遅延した (投与後 48~72 時間)。最高血中濃度に達した後、低用量でみられたよりも速く低下したが、投与 168 時間後でも C_{max} の約 10~12% が血中に残っていた。

表 7 薬動態力学パラメーター

投与量	性別	T_{max} (時間)	C_{max} ($\mu\text{g/g}$)	$T_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-168} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/g}$)	$AUC_{0-\text{inf}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/g}$)
低用量 4mg/kg	雄	4~6	0.68	149.4	60.4	109.7
	雌		0.60	200.2	61.2	133.6
高用量 150mg/kg	雄	48~72	19.56	54.4	1570	1716
	雌		19.72	51.2	1790	1968

T_{max} : 最高血中濃度到達時間 C_{max} : 最高血中濃度 $T_{1/2}$: 血中濃度半減期

AUC_{0-168} : 血中濃度/時間 (0~168h) 曲線下面積

$AUC_{0-\text{inf}}$: 血中濃度/時間 (0~無限時間) 曲線下面積

バイオアベイラビリティは用量にほぼ比例し、低用量 (4 mg/kg) から、高用量 (150mg/kg) に用量が 37 倍増加した時、雌雄の平均で C_{max} は約 31 倍、 AUC_{0-168} は約 28 倍に増加した。

代謝物:

尿・糞中の代謝物: 表 8 に示す。

表 8 尿、糞中の代謝物（投与量に対する%）

投与量	分析プール試料 (時間 h)		代謝物										
			A	B	C	D	E	未同定代謝物					
								UK1	UK2	UK3	UK4		
A 群 単回 低用量	尿	雄(48-72h)	0.1										
		雌(0-24h)	<0.1										
	糞	雄(0-120h)	13.1										
		雌(0-120h)	10.5										
B 群 反復 低用量	尿	雄(0-72h)	0.7										
		雌(0-96h)	1.1										
	糞	雄(0-120h)	8.3										
		雌(0-120h)	6.4										
C 群 単回 高用量	尿	雄(0-96h)	2.9										
		雌(0-120h)	2.0										
	糞	雄(0-120h)	10.6										
		雌(0-120h)	18.6										

UK1: 未同定極性代謝物群、()内は成分数 → 報告書中の U1~U3、F1~F4 に対応。

UK2: 未同定代謝物() → 報告書中の U8 に対応。

UK3: 未同定代謝物() → 報告書中の U10 に対応。

UK4: 未同定極性代謝物群、()内は成分数 → 報告書中の U4~7、U9、U11~15、U18、F5~F6、F8 に対応。

- : 検出せず。

t : プールした尿を酵素処理後 GC-MS 分析で存在を確認した。

(表中の値は、本文中の数値下 2 桁を四捨五入した。)

代謝物 H: 本試験では代謝物 H は同定されなかったので表より除外した。

尿中には親化合物は検出されず、極性の高い 1 種類の画分のみであったが、酵素による脱抱合処理により、合計で 18 種類の成分が分離された。標準品とのクロマトグラフィー及び GC-MS 分析より、親化合物(A)と、(E)及び (D)が同定された。さらに、MS の特徴的イオンから (C)が微量検出された。これらの化合物は、主として として存在しているものと考えられた。更に 2 成分 (UK2、UK3) が 物質であると推定された。

糞中には合計で 11 種類の成分が分離され、親化合物及び (B)が、主要成分であった。少量代謝物として (C)及び (E)が同定された。

尿・糞中の代謝物のパターンに顕著な性差あるいは投与量並びに投与回数による差は認められなかった。

組織中の代謝物：組織内分布から残留が多く認められた脂肪、肝臓、腎臓、筋肉、子宮の各組織中の代謝物を抽出し、同定した結果を表 9 に示す。

組織中に残留した化合物はいずれの臓器でもすべて (B)であった。但し高用量投与群では、脂肪と腎臓中に未同定の極性代謝物が少量認められた。

表 9 組織中の代謝物 (数値は総抽出放射能に対する割合(%))

投与量	組織	性	代謝物					
			A	B	C	D	E	UK
4mg/kg (単回)	脂肪	雄	-					
		雌	-					
	肝臓	雄	-					
		雌	-					
	腎臓	雄	-					
		雌	-					
	筋肉	雄	-					
		雌	-					
	子宮	雌	-					
	4mg/kg (反復)	脂肪	雄	-				
雌			-					
肝臓		雄	-					
		雌	-					
腎臓		雄	-					
		雌	-					
筋肉		雄	-					
		雌	-					
子宮		雌	-					
150mg/kg (単回)		脂肪	雄	-				
	雌		-					
	肝臓	雄	-					
		雌	-					
	腎臓	雄	-					
		雌	-					
	筋肉	雄	-					
		雌	-					
	子宮	雌	-					

-: 検出せず。

(表中の値は、本文中の数値下 2 桁を四捨五入した。)

抽出率 : 組織からの総放射能の抽出率は、組織により変動がみられたが、一般に 50% 以上であった。変動は抽出操作中のロスによるものであり、代謝物の選択的抽出によるものではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

以上、低用量(4 mg/kg)及び高用量(150mg/kg)の単回経口投与、さらに、低用量の14回非標識体の反復経口投与後、1回標識体を経口投与して、吸収、排泄、組織内分布、血中の動態並びに代謝について検討した。その結果、

本剤の吸収、分布、排泄、代謝に顕著な性差は認められなかった。

バイオアベイラビリティは用量にほぼ比例し、低用量(4 mg/kg)から、高用量(150mg/kg)に用量が37倍増加した時、雌雄の平均で C_{max} は約31倍、 AUC_{0-168} は約28倍に増加した。

本剤の吸収、排泄は、投与量により異なり、低用量では吸収は速いが、排泄は遅く($T_{1/2}$ = 150~200時間)、尿中排泄(5%)より糞中への排泄(45%)が主であった。体内組織(主に脂肪組織)に貯留する割合は45%と高かった。一方、高用量では低用量投与と逆であり、吸収は遅く、排泄は速かった($T_{1/2}$ = 50時間)。また、尿/糞への排泄率が低用量単回投与に比し多く、組織中の残留が少なく(3~5%)、吸収が飽和されていることを示唆している。低用量反復投与では、両投与の間で、やや高用量に近い傾向であった。

尿中の代謝物は であったが、酵素による脱抱合処理により、多数の成分が分離され、親化合物(A)と、 (E)及び (D)が主要成分として、微量成分として (C)が同定された。更に、
 2物質が確認された。

糞中代謝物は親化合物(A)及び (B)、 (C)、 (E)以外に、多数の高極性代謝物が検出され、胆汁経由の排泄が示唆された。一方、組織内に貯留した代謝物は (B)のみであった申請者注。

吸収は受動的であり、吸収速度は代謝と体内分布により律速されている。一旦吸収された親化合物(A)は、急速に代謝され、Phase I、Phase II代謝物となる。Phase I代謝物は、
 (B)が主代謝物であるが、これは親油性が高い為、速やかに組織(主に脂肪)中に分布し、保持される。保持された (B)は、徐々に体内循環に放出され、代謝、抱合され、Phase II代謝物となる。Phase II代謝物は、尿あるいは胆汁より排泄される。

低用量投与時には体内の分布容量が飽和しない為、排泄速度が遅く、体内貯留割合は高いが、一方、高用量あるいは低用量反復投与後では、体内分布容量が飽和する為、吸収量のかなりの割合が体循環へ移行し、代謝、抱合され、Phase II代謝物となり、腎及び胆汁からの排泄が増加するので、体内組織に貯留する割合が低下すると考えられる。

.....

申請者注(代謝物Bの生成臓器と酵素について) :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

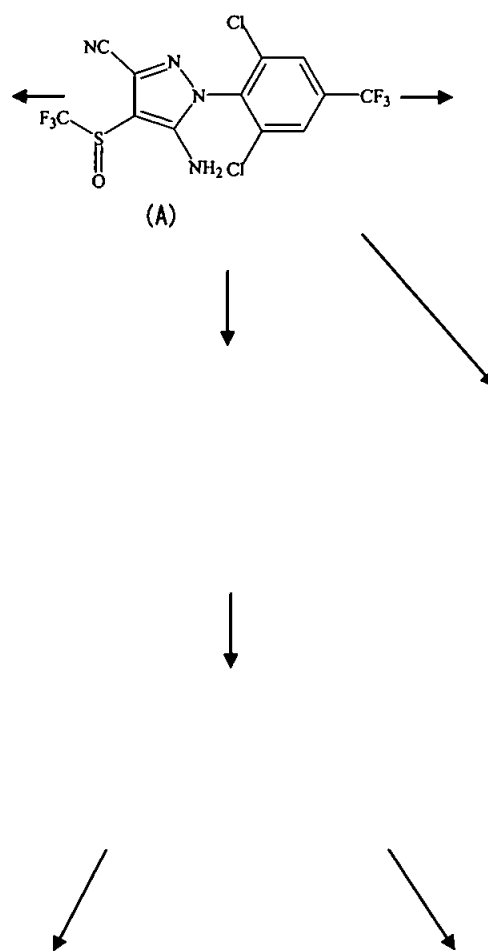
Fipronil

残留農薬安全性評価委員会から、「動物で認められた代謝物Bはどの臓器でどのような酵素により生じるのか」について口答指示があり、下記のように回答した。

回答の要旨

酸化反応で生成する代謝物Bは、種々の臓器の細胞ミクロソーム画分で生じる可能性はあるが、ラット及びウサギの肝細胞ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験で、代謝物Bが主成分であったことより、主に肝臓で酸化されると考えるのが妥当と思う。この酸化反応は上記ミクロソーム画分のチトクローム P-450 酵素によるものとする。

想定代謝経路を次頁に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-5 ラットを用いた組織内分布試験(血中薬物動態及び4時点における組織内分布)

(資料 M8)

試験機関 ()

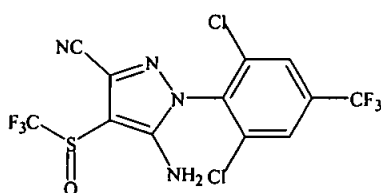
[GLP 対応]

報告書作成

試験目的: 本試験はラット代謝試験と同条件下でフィプロニルの単回経口投与後における組織内分布の経時的推移を明らかにすることを目的とした。

供試標識化合物: (以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式:



*: ^{14}C 標識部位

化学名: (±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α,α,α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名: フィプロニル

比放射能: $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度:

供試動物: Sprague Dawley 系 (Cr1:CD(SD)BR) ラット雌雄、6~10 週齢、体重 167~309g

試験方法:

投与:

- 1) 投与液の調製: 非標識体(純度:)で希釈した ^{14}C -標識体を 0.01% Tween 80 含有 0.5%メチルセルローズに懸濁して投与液を調製した。
- 2) 投与: 動物当たり $25\mu\text{Ci}$ の放射能を 16 時間絶食後の動物に投与し、低用量は $4\text{mg}/\text{kg}$ 、高用量は $40\text{mg}/\text{kg}$ とし、強制経口投与した。投与 1 時間後に給餌を再開した。

3) 群の構成

群	目的	投与量 (mg/kg)	供試動物数	採取試料	サンプリング 時点 (時間)	
1	血中薬物動態	高用量 40	5	雄、雌	血液	0~336
2		低用量 4	5	雄、雌	血液	0~336
3	組織内分布	高用量 40	3	雄	組織	3.0, 33.6, 77.0, 168
			3	雌	組織	4.0, 38.4, 78.0, 168
4		低用量 4	3	雄	組織	0.75, 4.8, 96.0, 168
			3	雌	組織	0.83, 6.2, 94.0, 168

4) 試料の採取 :

血液 投与後、0、0.5、1、2、3、4、6、8、24、以降 24 時間間隔で 336 時間後まで尾静脈より採血した。

組織 投与後、血中濃度推移の $1/2T_{max}$ 吸収相、 T_{max} (最高血中濃度時点)、 $1/2T_{max}$ 消失相及び 168 時間後 (上表に各群のサンプリング時点を記載) に、各群雌雄各 3 匹を屠殺し、肝臓、腎臓、心臓、肺、脳、脾臓、膵臓、筋肉、腹部脂肪、卵巣/精巣、消化管、胃とその内容物、骨 (大腿骨)、骨髓、副腎、子宮、甲状腺、皮膚及び被毛を採取した。心臓内血液を遠心分離し、血漿を調製した。

5) 放射能の測定 : 薬物動態用に採取した血液は可溶化処理した試料及び抽出液はシンチレーションカクテルを添加して、LSC で直接、放射能を測定した。

組織内分布用に採取した組織は直接燃焼あるいは均質化した後、一部にセルロース末を加えて燃焼して、発生した CO_2 を捕集後、液体試料と同様に測定した。皮膚及び被毛は可溶化処理後、液体試料と同様に測定した。

結果 :

血中薬物動態 : 血中濃度の推移を表 1、薬物動態パラメーターを表 2 に示す。

単回投与後、血中薬物動態にほとんど性差は認められなかったが、投与量による差が認められた。

高用量群の最高血中濃度 (C_{max}) は、雄が $6.684 \mu g\text{-eq/g}$ 、雌が $7.584 \mu g\text{-eq/g}$ を示し、それぞれ T_{max} は 33.6 時間と 38.4 時間に到達した。血中濃度は、それ以後 336 時間まで低下したが、336 時間後でも C_{max} の約 4% が残留していた。

低用量群の C_{max} は、雄が $0.519 \mu g\text{-eq/g}$ 、雌が $0.394 \mu g\text{-eq/g}$ を示し、それぞれ投与後 4.8 時間と 6.2 時間で T_{max} に到達した。血中濃度は、それ以後 336 時間まで低下したが、低下速度は高用量群よりも遅く、336 時間後でも C_{max} の約 20% が残留していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

吸収相における $1/2T_{max}$ は高用量で投与 3~4 時間後、低用量で投与 0.75~0.83 時間後、消失相における $1/2T_{max}$ は高用量で投与 77~78 時間後、低用量で投与 94~96 時間後に達したと推定された。

消失半減期は、高用量で投与後 135~171 時間、低用量で 183~245 時間と比較的遅かった。これは脂肪等の深部コンパートメントからの放射能の消失遅延のためと考えられた。

表 1 投与後の血液中放射能の推移 (5匹の平均値、単位: $\mu\text{g} \cdot \text{eq/g}$)

時間 (h)	高用量(40mg/kg)		低用量(4mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌
0	0	0	0	0
0.5	1.36	1.43	0.18	0.15
1	2.48	2.20	0.34	0.22
2	2.88	2.96	0.43	0.28
3	3.37	3.66	0.46	0.34
4	3.48	3.82	0.49	0.33
6	3.81	4.47	0.51	0.39
8	4.11	5.03	0.50	0.38
24	6.28	6.65	0.42	0.31
48	6.31	7.12	0.35	0.25
72	3.64	4.24	0.29	0.24
96	2.11	2.41	0.26	0.19
120	1.31	1.51	0.22	0.17
144	0.91	1.09	0.19	0.16
168	0.70	0.76	0.17	0.14
192	0.57	0.70	0.15	0.14
216	0.45	0.59	0.14	0.12
240	0.39	0.53	0.13	0.11
264	0.33	0.45	0.11	0.11
288	0.29	0.39	0.10	0.09
312	0.26	0.35	0.09	0.09
336	0.23	0.32	0.09	0.09

表 2 薬物動態パラメーター

性別	投与量	C_{max} ($\mu\text{g} \cdot \text{eq/g}$)	$1/2T_{max}$ 吸収相 (時間)	T_{max} (時間)	$1/2T_{max}$ 消失相 (時間)	消失半減期* (時間)
雄	高用量	6.684	3	33.6	77	135.4
	低用量	0.519	0.75	4.8	96	182.5
雌	高用量	7.584	4	38.4	78	170.6
	低用量	0.394	0.83	6.2	94	245

*: TOPFIT プログラムで推定。

組織内分布：投与後 4 時点 ($1/2T_{max}$ 吸収相、 T_{max} 、 $1/2T_{max}$ 消失相及び 168 時間後)における組織内分布を表 3(高用量)及び 4(低用量)に示す。

組織中の放射能濃度は、高用量では胃、消化管及び雌の肝臓では $1/2T_{max}$ 吸収期で最高濃度に達し、その他の組織では T_{max} 時点で最高濃度に達した。低用量では雄は高用量と同様の推移を示した。雌では筋肉、脂肪及び子宮は T_{max} 時点で最高濃度に達したが、その他の組織では $1/2T_{max}$ 吸収期で最高濃度に達した。その後、放射能濃度は全ての組織で経時的に漸減し、投与 168 時間後まで組織に残留した総放射能量は、高用量 (40 mg/kg) 群では投与量の約 9%で、低用量 (4mg/kg) 群の約 55%に比べ、非常に少なかった。

組織中の濃度はいずれの組織とも、血中濃度よりも高く、腸管とその内容物を除き、腹部脂肪の濃度が最も高く、ついで副腎、脾臓、甲状腺、皮膚及び被毛、卵巣、子宮、肝臓で、ほとんどの組織で組織中濃度にほとんど性差はなかった。しかし、生殖腺では卵巣が精巣に比べ高濃度であった (T_{max} 時に高用量群で雄が $9.3 \mu\text{g-eq/g}$ に対し、雌が $44.0 \mu\text{g-eq/g}$ 、低用量で雄が $1.7 \mu\text{g-eq/g}$ に対し、雌が $5.6 \mu\text{g-eq/g}$)。胃腸管とその内容物の放射能濃度は高及び低用量とも吸収相における $1/2T_{max}$ 時点で最も高かったが、高用量では消失期における $1/2T_{max}$ 時点でも依然として高濃度であった。これは消失過程における消化管の役割を反映していると考えられた。

168 時間後の組織中の残留は高用量群で高く、低用量群と比較したとき、甲状腺は約 5 倍、その他の組織は 2~3 倍の高い濃度であった。168 時間後に平均濃度の高かった組織は、高用量群では脂肪(雄 32.1、雌 38.5 $\mu\text{g-eq/g}$)、副腎(雄 15.8、雌 13.5 $\mu\text{g-eq/g}$)、甲状腺(雄 10.5、雌 12.9 $\mu\text{g-eq/g}$)、卵巣(雌 9.9 $\mu\text{g-eq/g}$)であった。低用量では脂肪(雄 15.8、雌 22.5 $\mu\text{g-eq/g}$)、副腎(雄 5.2、雌 3.9 $\mu\text{g-eq/g}$)、脾臓(雄 4.5 $\mu\text{g-eq/g}$)、卵巣(雌 4.6 $\mu\text{g-eq/g}$)及び皮膚と被毛(雄 3.3、雌 3.9 $\mu\text{g-eq/g}$)であった。

表 3 高用量 (40mg/kg) 投与後における組織内分布の推移

(3匹の平均値、単位: $\mu\text{g} \cdot \text{eq/g}$ 、分布割合: 投与量に対する割合%)

試料	1/2Tmax 吸収期		Tmax (最高血中濃度)		1/2Tmax 消失期		168 時間後		
	濃度	分布割合	濃度	分布割合	濃度	分布割合	濃度	分布割合	
雄	肝臓	30.96	2.76	35.68	3.78	16.88	2.18	5.76	0.73
	腎臓	14.38	0.32	17.21	0.35	8.84	0.20	3.31	0.07
	心臓	10.59	0.10	12.17	0.11	6.79	0.06	2.37	0.02
	肺	14.06	0.16	17.01	0.18	8.76	0.11	3.36	0.04
	脳	8.72	0.15	9.68	0.16	4.50	0.07	1.59	0.03
	脾臓	6.35	0.03	8.25	0.04	4.59	0.03	1.28	0.01
	膵臓	31.46	0.23	37.69	0.21	12.95	0.09	6.15	0.04
	筋肉	7.55	0.11	10.01	0.14	4.56	0.07	1.50	0.02
	脂肪	68.63	1.16	228.61	3.65	114.85	1.81	32.05	0.37
	生殖腺*	6.05	0.21	9.30	0.31	4.24	0.16	1.47	0.05
	胃+胃内容物	380.32	34.46	64.41	5.83	10.28	0.34	0.88	0.07
	GIT**+内容物	421.88	55.45	73.26	11.89	49.11	10.88	4.89	1.08
	骨+骨髄	3.39	0.08	4.56	0.11	3.13	0.05	0.96	0.02
	副腎	34.49	0.02	53.93	0.03	19.77	0.01	15.79	0.01
	心臓血	2.09	0.09	3.76	0.27	2.33	0.14	0.65	0.04
	血漿	2.89	0.04	5.71	0.12	3.34	0.08	0.76	0.02
	甲状腺	25.14	0.01	29.37	0.01	16.54	0.01	10.45	<0.01
	か-か	9.87	14.27	17.37	25.27	8.21	13.14	2.70	3.55
	皮膚及び被毛	16.95	9.42	29.26	16.14	15.97	9.86	6.36	3.00
雌	肝臓	32.14	2.96	32.11	3.89	19.55	2.37	6.33	0.72
	腎臓	15.68	0.35	16.04	0.38	10.73	0.26	3.71	0.07
	心臓	11.61	0.10	11.86	0.12	8.40	0.08	2.84	0.02
	肺	13.71	0.17	16.32	0.24	10.49	0.15	3.38	0.04
	脳	8.75	0.18	9.68	0.23	5.56	0.13	1.97	0.04
	脾臓	7.24	0.04	7.67	0.05	5.21	0.03	1.63	0.01
	膵臓	26.11	0.19	32.43	0.26	19.70	0.14	5.59	0.03
	筋肉	7.36	0.13	8.83	0.19	5.85	0.10	1.95	0.02
	脂肪	79.88	1.29	201.24	2.80	134.88	1.94	38.54	0.25
	生殖腺*	20.04	0.04	43.97	0.09	20.16	0.04	9.85	0.02
	胃+胃内容物	184.86	15.68	147.9	16.08	8.74	0.21	1.31	0.06
	GIT**+内容物	359.97	66.24	64.87	13.79	56.46	12.53	5.57	1.23
	骨+骨髄	3.25	0.09	4.66	0.11	2.58	0.05	1.36	0.03
	副腎	39.15	0.03	47.13	0.07	28.75	0.03	13.54	0.01
	子宮	17.72	0.12	30.49	0.22	10.9	0.11	7.15	0.04
	心臓血	2.16	0.14	5.07	0.35	2.93	0.22	0.92	0.05
	血漿	2.88	0.08	6.23	0.15	4.24	0.13	1.06	0.02
	甲状腺	15.52	0.01	15.72	0.01	23.06	0.01	12.85	<0.01
	か-か	11.64	18.00	14.07	21.46	9.13	14.06	2.99	3.90
皮膚及び被毛	19.82	10.05	29.43	14.78	18.74	9.98	6.15	2.32	

*: 生殖腺 (雄: 精巣、雌: 卵巣) **: GIT = 消化管

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

表 4 低用量(4mg/kg)投与後における組織内分布の推移

(3匹の平均値、単位: $\mu\text{g} \cdot \text{eq/g}$ 、分布割合: 投与量に対する割合%)

試料	1/2Tmax 吸収期		Tmax(最高血中濃度)		1/2Tmax 消失期		168時間後		
	濃度	分布割合	濃度	分布割合	濃度	分布割合	濃度	分布割合	
雄	肝臓	9.17	6.81	6.84	6.76	3.38	5.05	2.36	3.87
	腎臓	3.32	0.66	3.47	0.86	2.10	0.52	1.48	0.36
	心臓	2.28	0.20	2.45	0.24	1.46	0.16	0.88	0.11
	肺	2.76	0.31	3.22	0.43	1.70	0.23	1.47	0.22
	脳	1.82	0.38	2.08	0.49	1.13	0.24	0.78	0.16
	脾臓	1.28	0.08	1.45	0.11	0.88	0.06	0.69	0.06
	膵臓	5.17	0.28	6.68	0.41	6.50	0.59	4.45	0.36
	筋肉	1.81	0.24	2.98	0.40	0.91	0.11	0.76	0.10
	脂肪	10.91	0.51	30.93	2.03	23.60	5.67	15.83	2.48
	生殖腺*	1.44	0.48	1.74	0.62	0.98	0.36	0.96	0.37
	胃+胃内容物	146.67	28.57	0.50	0.54	0.33	0.34	0.56	0.42
	GIT**+内容物	45.62	50.84	13.36	31.37	3.25	8.77	2.14	6.04
	骨+骨髄	0.69	0.09	0.84	0.18	0.47	0.12	0.36	0.07
	副腎	9.01	0.07	11.3	0.08	8.28	0.07	5.24	0.04
	心臓血	0.62	0.23	0.62	0.42	0.26	0.13	0.22	0.08
	血漿	0.81	0.11	0.79	0.22	0.34	0.07	0.27	0.04
	甲状腺	3.67	0.01	5.08	0.01	2.72	0.01	2.16	0.01
	か-か	1.53	16.55	2.24	31.02	1.69	28.40	1.34	20.76
	皮膚及び被毛	1.87	7.14	5.09	26.46	4.09	28.02	3.30	19.58
雌	肝臓	11.71	8.89	7.73	8.64	3.17	4.36	2.89	3.62
	腎臓	4.09	0.70	3.39	0.80	1.75	0.43	1.59	0.31
	心臓	2.92	0.22	2.73	0.26	1.40	0.14	1.25	0.11
	肺	3.27	0.35	3.10	0.42	1.64	0.23	1.54	0.18
	脳	2.35	0.50	2.31	0.57	1.13	0.24	0.98	0.22
	脾臓	1.67	0.10	1.55	0.10	0.86	0.07	0.78	0.05
	膵臓	6.14	0.28	5.27	0.32	3.24	0.22	2.60	0.14
	筋肉	1.79	0.63	2.12	0.55	0.99	0.25	1.27	0.59
	脂肪	12.93	0.59	30.76	3.16	24.67	3.36	22.48	2.26
	生殖腺*	5.88	0.09	5.55	0.09	5.43	0.10	4.57	0.08
	胃+胃内容物	53.13	8.43	0.73	0.64	0.40	0.30	0.57	0.31
	GIT**+内容物	46.22	71.51	9.37	22.66	3.58	9.93	2.87	7.14
	骨+骨髄	0.93	0.18	0.81	0.19	0.51	0.12	0.41	0.08
	副腎	10.09	0.07	9.65	0.08	5.10	0.05	3.91	0.03
	子宮	2.07	0.20	3.87	0.33	3.34	0.29	2.48	0.16
	心臓血	0.68	0.22	0.56	0.44	0.25	0.14	0.23	0.10
	血漿	0.86	0.10	0.68	0.20	0.33	0.07	0.30	0.06
	甲状腺	4.15	0.01	4.13	0.01	2.67	0.01	2.86	0.01
	か-か	1.91	19.87	2.66	37.36	1.66	27.65	1.61	21.96
皮膚及び被毛	2.40	8.66	5.44	27.90	3.76	20.19	3.85	17.52	

*: 生殖腺(雄: 精巣、雌: 卵巣) ** : GIT = 消化管

以上、雌雄ラットにフィプロニルの低用量 (4 mg/kg)、高用量 (40 mg/kg) を単回経口投与し、血中の動態と投与後 4 時点 ($1/2T_{max}$ 吸収相、 T_{max} 、 $1/2T_{max}$ 消失相及び 168 時間後) における放射能の組織内分布を検討した。その結果、

薬物動態及び組織内分布に性差はみられなかったが、投与量による差が認められた。低用量群では、放射能の吸収が速やか (雌雄平均 T_{max} 5.5 時間) で、その後の消失は比較的遅かったが、高用量群では、吸収/分布がはるかに遅く (雌雄平均 T_{max} 36 時間)、その後、血中濃度が一時急速に低下した後、ゆっくり消失し、消失半減期は低用量群と差がなかった (雌雄平均: 高用量群 153 時間、低用量群は 214 時間)。このように消失が比較的遅いのは、脂肪等の深部コンパートメントからの放射能放出が遅いためと考えられた。

組織中の放射能濃度は胃及び消化管、並びに肝臓の低用量を除き、いずれの用量とも雌雄に係らず T_{max} 時点で最高濃度に達した後、全ての組織で放射能濃度は経時的に減少した。投与 168 時間後まで組織に残留した総放射能量は、高用量群では投与量の約 9% で、低用量群の約 55% に比べ、非常に少なかった。

組織中の濃度はいずれの組織とも、血中濃度よりも高く、腸管とその内容物を除き、腹部脂肪の濃度が最も高く、ついで副腎、脾臓、甲状腺、皮膚及び被毛、卵巣、子宮、肝臓で、ほとんどの組織で組織中濃度にほとんど性差はなかった。しかし、生殖腺では卵巣が精巣に比べ高濃度であった。胃腸管とその内容物は消失過程における消化管の役割を反映して残留の多い組織の一つであった。

1-6 フィプロニルのラットにおける胆汁排泄試験

(資料M9)

試験機関

()

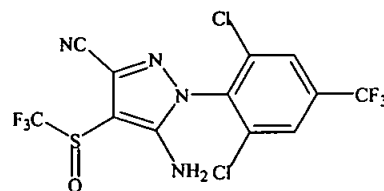
[GLP 対応]

報告書作成

試験目的: 本試験はラット代謝試験と同条件下で、フィプロニルを単回経口投与したときの胆汁排泄と代謝についてデータを得ることを目的とした。

供試標識化合物: (以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式:



*: ^{14}C 標識部位

化学名: (±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α,α,α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名: フィプロニル

比放射能: $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度:

供試動物: Sprague Dawley 系 (Cr1:CD (SD) BR) ラット雌雄、体重雄 286~341g、雌 220~283g
1 群雌雄各 4 匹

試験方法:

投与:

- 1) 投与液の調製: 非標識体 (純度: 99.4%) で希釈した ^{14}C -標識体を 0.01% Tween 80 含有 0.5% メチルセルロースに懸濁して投与液を調製した。
- 2) 投与: 16 時間絶食後の胆管カニューレ挿入動物に投与し、低用量は 4mg/kg、高用量は 40mg/kg として強制経口投与した。投与 1 時間後に給餌を再開した。
- 3) 試料の採取:
尿糞: 投与後 0、0~10、10~24、24~48、48~72 時間
胆汁: 投与後 0、0~5、5~10、10~24、24~48、48~72 時間

組織：投与 72 時間後屠殺し、腸管及び腸管内容物、胃及び胃内容物、心臓内血液、皮膚及び被毛並びにカーカス(高用量群の雌雄各 1 例及び低用量群の雄 1 例が屠殺数時間前に死亡)

ケージ洗液：投与後 0~10、10~24、24~48、48~72 時間

5) 試料の処理/放射能の測定：糞はメタノールで抽出後、抽出液と抽出残渣に分けた。血液は乾燥させ、皮膚及び被毛は可溶化処理した。液体試料は直接液体シンチレーションカクテルを添加、固体試料はセルローズ末を添加(糞)あるいは直接(血液)燃焼して発生した CO₂ を捕集した後、液体試料と同様に測定した。

6) 胆汁中の代謝物の分析：同性の動物間で質的に差がないことを、個別試料を用い HPLC で確認した。その上で、性別及び採取時期別にプールし、固相抽出で精製・濃縮後、HPLC で分析した。また、一部試料はβ-グルクロニターゼ、あるいはスルファターゼで酵素処理後、HPLC で分析した。代謝物の同定は標品との HPLC 保持時間及び TLC でコクロマトグラフィーを行った。

結果：

排泄/回収率：投与72時間までの尿、糞及び胆汁の排泄経路別累積回収率及び総組織残留を表1に示す。

表1 排泄経路別累積排泄率 (%：投与量に対する累積回収率)

排泄物	投与後経過時間	高用量(40mg/kg)		低用量(4mg/kg)	
		雄	雌	雄	雌
尿	0~10	0.03	0.14	0.09	0.25
	0~24	0.15	0.41	0.26	0.78
	0~48	0.81	1.49	0.54	1.30
	0~72	4.66(4.3)	2.58(2.4)	0.85(0.8)	1.62(1.6)
糞	0~10	4.73	0.01	<0.01	<0.01
	0~24	14.55	22.95	7.33	6.44
	0~48	18.92	24.13	11.8	8.56
	0~72	21.43(19.8)	26.88(24.9)	13.72(13.4)	9.74(9.6)
胆汁	0~5	0.30	0.45	0.99	0.74
	0~10	0.64	0.96	1.77	1.92
	0~24	2.49	3.14	3.58	3.96
	0~48	12.71	6.69	5.81	5.55
	0~72	24.92(23.1)	11.6(10.7)	7.60(7.4)	6.76(6.6)
ケージ洗液		1.22(1.1)	1.27(1.2)	0.09(0.1)	0.37(0.4)
組織		55.75(51.6)	66.32(61.4)	80.17(78.3)	83.36(81.8)
総回収率		107.99(100.0)	108.65(100.0)	102.42(100.0)	101.86(100.0)

()内の数値は総回収率を100としたときの比率%。

総回収率は102~109%の範囲にあった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

総回収率を100としたとき、尿中排泄率は高用量群では2~4%、低用量群では1~2%と少なかった。糞中への直接排泄率は高用量群では、20~25%、低用量群では10~13%で、胆汁への排泄率は高用量群では11~23%、低用量群では7%であった。

組織内残留：投与72時間後における組織内残留は表2に示す。

表2 組織内残留 数値： $\mu\text{g-eq/g}$ -組織(%:投与量に対する割合)

組織	高用量(40mg/kg)		低用量(4mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌
腸管内容物	31.96(5.7%)	30.61(9.3%)	0.64(1.6%)	0.84(2.3%)
腸管	19.46(1.1)	23.47(1.6)	4.97(2.9)	5.65(3.7)
胃内容物	95.59(14.8)	135.49(14.8)	0.59(0.6)	0.91(0.9)
胃	81.91(1.1)	101.61(1.4)	3.98(0.4)	3.48(0.5)
カーカス	17.55(27.3)	18.58(30.0)	3.51(54.3)	3.39(54.0)
血液	5.82(0.2)	4.25(0.2)	0.37(0.2)	0.35(0.1)
血漿	9.86(0.1)	7.27(0.1)	0.54(0.1)	0.54(0.1)
皮膚・被毛	15.92(5.7)	27.68(9.5)	4.88(20.1)	6.47(21.9)
組織合計	55.75(51.6)	66.32(61.4)	80.17(78.3)	83.36(81.8)

組織中の総残留は非常に高く、総回収率を100としたとき、高用量群では52~61%、低用量群では78~82%であった。高用量群において、胃腸管内容物の放射能濃度が個体差はある(胃:雄で投与量の0.85~275.08 $\mu\text{g-eq/g}$ 、雌で43.14~323.56 $\mu\text{g-eq/g}$ ；腸管:雄で16.54~22.07 $\mu\text{g-eq/g}$ 、雌で17.42~28.02 $\mu\text{g-eq/g}$)ものの比較的高値であった。胃腸管のそのものの残留は高用量及び低用量共に高かった。これは腸管が排泄・代謝に大きく関与していることを示唆している。

吸収率の算定：尿及び胆汁排泄率+組織内残留として算定した吸収率は高用量群では75~80%、低用量群では87~90%と低用量での吸収率が高かった。

胆汁中の代謝物：胆汁中の代謝物の種類は雌雄、投与量に係らず、同様であり16種の代謝物が検出され、内、4種の代謝物A(投与量の0.1~0.3%)、B(0.1~0.5%)、D(0.1~0.3%)、H(0.6~1.4%)が標品との比較で同定された。他は極性代謝物で同定できなかった。

主代謝物は未同定のBMET/3及びBMET/5(報告書中画分N0)で、それぞれ、BMET/3は高用量群の雌8.1%、雄22.0%、低用量群の雌1.4%、雄3.1%、及びBMET/5は高用量群の雌1.7%、雄0.7%、低用量群の雌3.0%、雄1.0%であった。その他ほとんどの未同定代謝物は0.6%以下であった。

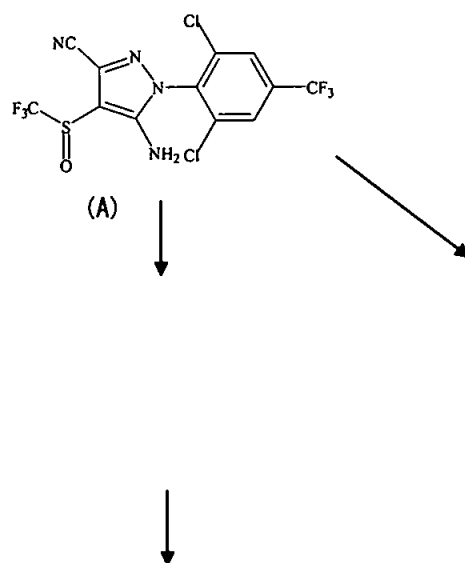
表3 胆汁中の代謝物 (%: 投与量に対する割合)

代謝物画分	高用量群		低用量群	
	雄	雌	雄	雌
A: フィプロニル	0.09%	0.15%	0.25%	0.26%
B:				
D:				
H:				
未同定 (BMET/3)				
未同定 (BMET/5)				
未同定の 10 種の 微量代謝物合計				

酵素加水分解処理により、未同定代謝物の内4種はグルクロン酸、未同定のBMET/3を含む 3種は硫酸抱合体として存在すると推定された。

以上、胆管カニューレ挿入ラットに高用量 (40mg/kg) 及び低用量 (4mg/kg) を単回経口投与した結果、吸収率は高用量群では75~80%、低用量群では87~90%で、胆汁への排泄率は高用量で11 (雌) ~23% (雄)、低用量で約7% (雌雄) であった。胆汁中に16種の代謝物が検出され、内4種類 (A、B、D、H) が同定されたが、残りの極性代謝物は同定できなかった。未同定代謝物の一部はグルクロン酸または硫酸抱合体であると考えられた。

推定代謝経路を示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-7 フィプロニルのラットにおける胆汁排泄/再吸収試験

(資料M10)

試験機関： ()

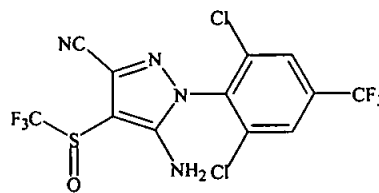
[GLP 対応]

報告書作成：

試験目的：本試験は単回投与した¹⁴C-フィプロニルの腸肝循環について検討することを目的とした。

供試標識化合物：(以下¹⁴C-標識体と言う)

構造式：



*：¹⁴C 標識部位

化学名：(±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α, α, α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名：フィプロニル

比放射能： MBq/nmol

放射化学的純度：

供試動物： Sprague Dawley 系 Cr1:CD(SD)ラット雄、体重 236~257g、1 群各 4 匹 (1 匹は予備動物とし、分析試料は 3 匹から採取)

動物に胆管カニューレを 2 つ挿入し、1 つは胆汁の採取用とし、他の 1 つは 0.15M 塩化ナトリウム及び 28mg/mL タウロコール酸ナトリウム溶液を 0.9mL/時間の流速で連続注入とした。

試験方法：

投与：

- 1) 投与液の調製：¹⁴C-標識体を 0.01% Tween 80 含有 0.5%カルボキシメチルセルロースに懸濁して投与液を調製した。
- 2) 投与： 群 1 の動物には容量 5mL/kg で用量 4mg/kg (平均実投与量: 3.26mg/kg) を強制経口投与した。群 2 の動物には群 1 の動物から採取したプール胆汁を 0.9mL/時間の流速で 24 時間胆管カニューレ経由で連続注入した。
- 3) 試料の採取： 試料は以下の時期に採取した。

試料	採取時期(投与後時間)			
	24	48	72	96(群2のみ)
胆汁	x	x	x	x
尿	x	x	x	x
糞	x	x	x	x
ケージ洗液	x	x	x	x
組織			x(群1)	x(群2)

組織：尾静脈から採血後、屠殺し、副腎、脳、脂肪、胃腸管(内容物を含む)、心臓、腎臓、肝臓、筋肉、脾臓、皮膚、甲状腺、残部体組織を採取。

- 4) 試料の処理/放射能の測定：液体試料は直接、シンチレーションカクテルを加え、放射能を測定した。糞は水を加えて均質化した後、燃焼して発生した CO₂ を捕集した後、液体試料と同様に測定した。副腎、甲状腺、皮膚、脂肪及び筋肉は全量あるいは一部を溶解して、その他の組織は水を加えて均質化した後、一部を溶解して液体試料と同様に放射能を測定した。

結果：

排泄/回収率：¹⁴C-標識体投与後72時間(群1)及び群1から採取したプール胆汁の連続注入開始後96時間(群2)までの尿、糞及び胆汁の排泄経路別排泄率及び総組織残留を表1に示す。

総回収率は群1及び2とも91%であった。

群1では投与後72時間までに胆汁から12.7%が24時間ごとに約4%づつ排泄された。尿からの排泄はケージ洗液を含めても少なく約3%であった。糞からは16.0%が排泄され、24時間までにその半分が、以降24時間ごとに3ないし4%づつ排泄された。

これに対し、群2では注入開始96時間までに胆汁から37.6%(注入期間である24時間の間に約26%、その後の24時間に8%)が排泄された。尿からの排泄はケージ洗液を含めて約9%で、糞からは18%排泄され、それらの多くは48時間までに排泄された。

表1 排泄経路別排泄率及び組織残留 (%: 投与量に対する回収率)

		群 1 ^a	群 2 ^b
		投与放射能比%	投与放射能比%
実投与量	(mg/kg)	3.26	0.13
尿	24 時間	1.86	4.02
	48 時間	0.29	1.87
	72 時間	0.46	0.27
	96 時間	-	0.23
	計	2.61	7.39
糞	24 時間	8.59	5.4
	48 時間	3.36	11.11
	72 時間	4.05	1.4
	96 時間	-	2.12
	計	16.00	17.96
ケージ洗液	24 時間	0.12	0.59
	48 時間	0.04	0.21
	72 時間	0.16	0.05
	96 時間	-	0.21
	計	0.33	1.15
胆汁	24 時間	4.62	25.51
	48 時間	4.34	8.16
	72 時間	3.77	1.45
	96 時間	-	1.11
	計	12.73	37.64
組織	計	59.33	26.63
合計		91.00	90.76

a: 3例の平均値

b: 注入開始24~48時間間に1例のカニユーレが外れたので、この動物は48時間後に屠殺した。そのため、24時間の値は3例、48、72及び96時間の値は2例の平均値である。

組織内残留: ¹⁴C-標識体投与72時間後(群1)及び胆汁注入開始96時間後(群2)における組織内残留は表2に示す。

群1では投与72時間後に組織中に59.3%が残留していた。胃腸管に7.3%、肝臓に7.8%、皮膚に7.2%、残部体組織に34%が残留していた。屠殺時の血中濃度は417 ng-eq/gで組織中の濃度(1424~18028 ng-eq/g)は血中濃度より高かった。フィプロニルは親油性が高く、脂肪の濃度が最も高かった。

群2では注入開始96時間後に組織中に26.6%が残留し、皮膚及び残部体組織の残留はそれぞれ4.5%及び22.1%であった。屠殺時の血中濃度は8.1 ng-eq/gで組織中の濃度(皮膚35.1 ng-eq/g、残部体組織43.2 ng-eq/g)は血中濃度より高かった。

表2 組織内残留

	群 1 ^a		群 2 ^b	
	投与放射能比%	ng-eq/g 組織	投与放射能比%	ng-eq/g 組織
実投与量 (mg/kg)	3. 26		0. 13	
組織				
副腎	0. 08	11227		
脳	0. 54	2321		
脂肪	0. 62	18028		
胃腸管 ^c	7. 34	2562		
心臓	0. 22	1883		
腎臓	0. 75	2846		
肝臓	7. 75	5986		
筋肉	0. 22	1509		
脾臓	0. 61	5896		
皮膚	7. 17	1424	4. 51	35. 1
甲状腺	0. 00	5965		
残部体組織	34. 03	2043	22. 12	43. 2
血液	-	416. 7	-	8. 1
計	59. 33		26. 63	
合計	91. 00		90. 76	

a: 3例の平均値

b: 注入開始24~48時間の間に1例のカニューレが外れたので、この動物は48時間後に屠殺した。そのため、値は2例の平均値である。

^c: 内容物を含む。

吸収率及び腸肝循環：尿及び胆汁排泄率+ケージ洗液+組織内残留として算定した吸収率は¹⁴C-標識体投与72時間後で平均75%であった。うち12.7%が胆汁から排泄された。投与72時間後でも内容物を含む胃腸管に約7%の残留があり、この放射能の多くは循環胆汁に由来していると思われ、胆汁は重要な排泄経路と考えられる。

胆汁注入投与による吸収率は約73%であった。胆汁中に排泄された37.6%のうち、約26%が胆汁の注入期間である24時間内に排泄され、以降排泄量は減少した。このことはフィプロニル関連物質の腸肝循環が相当あることを示唆している。糞から約18%が排泄されたが、これは胆汁中にはいった放射能が吸収されないで直接糞中に排泄、あるいは再度吸収され循環した放射能が糞中に排泄されているものと考えられる。

以上、¹⁴C-標識体約4mg/kgを胆管カニューレ挿入動物に投与、また採取した放射能含有胆汁を胆管カニューレ挿入動物に24時間連続注入投与し、吸収、排泄及び組織内分布について検討した。

¹⁴C-標識体投与72時間後で吸収率は平均75%で、胆汁から13%、ケージ洗液を含め尿から3%、組織から59%が回収された。

胆汁注入投与で吸収率は73%で、胆汁から約38%、ケージ洗液を含め尿から約9%、組織から約27%が回収された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-8 イヌに静脈内投与 (1mg/kg 投与) したときの体内動態 (資料 M11)

試験機関: ()

[GLP 対応]

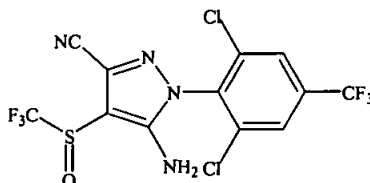
報告書作成:

報告書中の化合物番号は他の報告書の番号と異なっているため、混乱を避ける為、本抄録では下記の様に対応するコード番号に換えて記載した。

抄録中の記号	本報告書中のコード番号	他の報告書中のコード番号
A		
B		
C		

供試標識化合物: (以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式:



*: ^{14}C 標識部位

化学名: (±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α, α, α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名: フィプロニル

比放射能: $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度:

供試動物: 雄ビーグル犬、8ヶ月齢、1群3頭、体重約12kg

試験方法:

投与:

- 1) 投与液の調製: 非標識体で希釈した ^{14}C -標識体をジメチルアセトアミド/プロピレングリコール (40:60, V/V) に溶解し、1%溶液とした。
- 2) 投与: 投与容量 0.1mL/kg で、用量は 1mg/kg を橈骨静脈に挿入したカテーテルから静脈内投与した
- 3) 試料の採取: 以下の時点で採取した。血液は頸静脈から採取した。

尿・糞・ケージ洗液: 投与後 0、投与後 168 時間まで 24 時間ごとに採取。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

血液：投与後 0、2、5、10、20、30、45 分、1、2、4、6、8、10、24、32、48、72、96、120、144 及び 168 時間

5) 試料の処理/放射能の測定：液体試料（血漿及び尿）は直接、シンチレーションカウテルを加え、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。糞は蒸留水中でホモジナイズした後、溶解剤を添加して溶解し、液体試料と同様に測定した。

試験結果：

血中濃度の推移：血漿中の放射能濃度の推移を表 1 に示す。

表 1 ^{14}C -標識体 (A) を静脈内投与後の血漿中放射能濃度の推移

投与後時間 (分または時間)	血漿中濃度 ($\mu\text{g-eq/mL}$)	投与後時間 (分または時間)	血漿中濃度 ($\mu\text{g-eq/mL}$)
0 分	ND	8 時間	0.238
2 分	0.978	10 時間	0.231
5 分	0.839	24 時間	0.257
10 分	0.770	32 時間	0.200
20 分	0.670	48 時間	0.215
30 分	0.311	72 時間	0.176
45 分	0.574	96 時間	0.156
1 時間	0.534	120 時間	0.120
2 時間	0.410	144 時間	0.112
4 時間	0.261	168 時間	0.095
6 時間	0.282		

ND: 検出限界以下

血漿中濃度は投与後、急速に低下したが、24 時間以降、減少は遅くなり、168 時間後の濃度は $0.095 \mu\text{g-eq/mL}$ であった。

薬物動態パラメータ：血漿中の薬物動態パラメータを表 2 に示す。

表 2 血漿中の薬物動態パラメータ

パラメータ	イヌ A	イヌ B	イヌ C	平均
投与直後の血漿中濃度 ($\mu\text{g-eq/mL}$)	0.98	1.37	0.90	1.08
半減期 $T_{1/2}$ (時間)	113.6	144.4	99.0	119.0
曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-168 \text{ 時間}}; \mu\text{g-eq. h. /mL}$)	25.5	33.1	29.0	29.2
曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-72 \text{ 時間}}; \mu\text{g-eq. h. /mL}$)	14.4	18.4	17.0	16.6

投与直後に最高血中濃度 ($\mu\text{g-eq/mL}$) を示した。

$\text{AUC}_{0-168 \text{ 時間}}$ は $29.2 \mu\text{g-eq. h. /mL}$ 、血漿からの放射能の消失半減期は 119 時間であった。

尿及び糞中排泄率：尿及び糞中への放射能の排泄率の推移を表 3 に示す。

表 3 尿及び糞中への放射能の累積排泄率の推移 (投与量に対する割合%)

投与後時間	尿	糞	ケージ洗液	合計
0~24	0.8	4.3	0.033	5.1
0~48	1.3	13.9	0.045	15.2
0~72	1.7	22.2	0.051	24.0
0~96	2.0	30.7	0.054	32.8
0~120	2.2	36.5	0.055	38.8
0~144	2.3	42.1	0.055	44.5
0~168	2.5	46.3	0.055	48.9

168 時間後の総排泄率は約 49%で、内、尿中からの排泄は 3%未満と少なく、ほとんどが糞に排泄された。

¹⁴C-標識体 (A) を 1mg/Kg を静脈内に投与し、血中の動態及び排泄について検討した結果、放射能の血漿中消失半減期は 4~6 日と長かった。主要排泄経路は糞で、7 日間で投与量の 46%が排泄され、尿からの排泄は 3%未満と少なかった。放射能の体内排泄は遅く、糞中へ徐々に胆汁経由で排泄されることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

1-9 イヌに静脈内投与したときの胆汁中へ排泄試験

(資料 M12)

試験機関: ()

[GLP 対応]

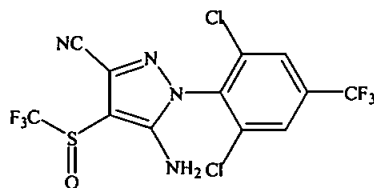
報告書作成:

報告書中の化合物番号は他の報告書の番号と異なっているので、混乱を避けるため、本抄録では下記のように対応するコード番号に換えて記載した。

抄録中の記号	本報告書中のコード番号	他の報告書中のコード番号
A		
B		
C		

供試標識化合物: (以下 ^{14}C -標識体と言う)

構造式:



*: ^{14}C 標識部位

化学名: (±)-5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- α, α, α -トリフルオロ-p-トルイル)-4-トリフルオロメチルスルフィニルピラゾール-3-カルボニトリル

一般名: フィプロニル

比放射能: $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度:

供試動物: 雄ビーグル犬、17ヶ月齢、1群1頭、

体重: 投与動物 15.77kg(動物A)、胆汁ドナー動物 17.38kg(動物B)

試験方法:

投与:

- 1) 投与液の調製: 非標識体で希釈した ^{14}C -標識体をジメチルアセトアミド/プロピレングリコール (40:60, V/V) 2.0ml に溶解し、1%溶液とした。
- 2) 投与: 胆管カニューレ 2本を挿入した動物に容量 0.1mL/kg で、用量 1mg/kg を絶食・麻酔下、橈骨静脈から静脈内投与した。

3) 試料の採取：以下の時点で動物 A から採取した。血液は頸静脈から採取した。胆汁採取時に胆汁量を測定し、無投与のイヌ (動物 B) から採取した同容量の対照胆汁を投与した。

尿・糞・ケージ洗液：投与後 0、0~24、24~48、48~72 時間

胆汁：投与後 0、投与後 1.5 時間間隔で 72 時間まで

血液：投与後 0、2、5、10、20、30、45 分、1、2、4、6、8、10、24、32、48 及び 72 時間

膀胱内容物及び結腸内容物を採取し、それぞれ尿及び糞試料として分析した。

5) 試料の処理/放射能の測定：液体試料 (血漿、尿及び胆汁) は直接、シンチレーションカクテルを加え、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。糞は蒸留水中でホモジナイズした後、溶解剤を添加して溶解し、液体試料と同様に測定した。

6) 胆汁中の代謝物の分析：胆汁試料をそのまま、及び β -グルクロニターゼとスルファターゼの酵素処理後、HPLC で分析した。代謝物の同定は 2 つの溶媒系を用いた標品との HPLC 保持時間の比較で行った。

試験結果：

血中濃度の推移：血漿中の放射能濃度の推移を表 1 に示す。

表 1 ^{14}C -標識体を静脈内投与後の血漿中放射能濃度 ($\mu\text{g-eq/mL}$) の推移

投与後時間	カニューレ挿入	カニューレ未挿入 a
0 分	ND	ND
2 分	1.117	0.978
5 分	1.133	0.839
10 分	1.105	0.770
20 分	0.923	0.670
30 分	0.860	0.311
45 分	0.790	0.574
1 時間	0.691	0.534
2 時間	0.610	0.410
4 時間	0.354	0.261
6 時間	0.351	0.282
8 時間	0.324	0.238
10 時間	0.323	0.231
24 時間	0.308	0.257
32 時間	0.257	0.200
48 時間	0.275	0.215
72 時間	0.246	0.176

a：資料 M11 から引用

ND：検出限界以下

投与後最初の 4 時間は急速に低下したか、以後 72 時間目までは低下速度が遅くなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Fipronil

0~72 時間目の曲線下面積 (AUC) は、 $21.5 \mu\text{g}\cdot\text{eq}\cdot\text{h}/\text{mL}$ であった。血漿中放射能の消失半減期は、133 時間 (5.5 日) であった。

胆管カニューレ未挿入イヌを用いた試験 (資料 M11) で投与後 72 時間までの AUC は $16.6 \mu\text{g}\cdot\text{eq}\cdot\text{h}/\text{mL}$ で、本試験の AUC との比較 (比=1.3) から腸肝循環に入る ^{14}C -標識体 (A) は少ないことが示唆された。

尿・糞及び胆汁中排泄率： ^{14}C -標識体 (A) を静脈内投与後の尿、糞及び胆汁中への排泄率を表 2 に示す。

表 2 ^{14}C -標識体 (A) を静脈内投与後の尿、糞及び胆汁中への累積排泄放射能の推移

投与後 時間	カニューレ挿入				カニューレ未挿入 a		
	胆汁	尿	糞	ケージ洗液	尿	糞	ケージ洗液
0~3	2.3	0	0	0	0.8	4.3	0.033
0~6	3.68						
0~12	5.29						
0~24	7.24						
0~36	9.7	2.19	0.78	0.02	1.3	13.9	0.045
0~48	11.42						
0~60	13.55						
0~72	15.15	2.94	3.95	0.03	1.7	22.2	0.051
膀胱内容物 b		3.05					
直腸内容物 b			8.77				

a：資料 M11 から引用

b*：投与後 72 時間後採取+0~72 時間までの尿または糞を含む

静脈内投与後 3 日間で、投与量の 15.2% が胆汁、8.8% が糞 (直腸内容物を含む)、3.1% が尿中 (膀胱内容物を含む) から回収された。ケージ洗液中の回収率は 0.03% に過ぎなかった。

投与後 72 時間で、胆汁及び糞中に回収された総放射能は 24% であった。この結果は主要排泄経路が胆汁と考えられ、胆管カニューレ未挿入イヌを用いた試験 (資料 M11) で得られた結果 (投与 72 時間までの糞中回収率 (22.2%) と差がなかった。

胆汁中の代謝物の組成：胆汁の酵素処理前後における HPLC による分析結果を表 3 に示す。

表 3 胆汁中の代謝物の組成

代謝物	0-3 時間		3-6 時間		36-48 時間	
	酵素処理前	酵素処理後	酵素処理前	酵素処理後	酵素処理前	酵素処理後
保持時間約 2.5 分 極性代謝物 (2種の合計)						
保持時間約 10 分 親化合物 A	2.3	2.9		11.2		
保持時間約 13 分 代謝物 B						

大部分は 2 種の極性代謝物として排泄された。極性代謝物は、酵素処理により、少量の未変化体 (A) と B () を遊離する事が示唆された。

以上、胆管カニューレ挿入イヌに 1mg/kg を静注投与した。0~72 時間目までの血漿中の濃度曲線下面積 (AUC) を胆管カニューレ未挿入イヌと比較したとき、この比率は 1.3 であり、腸肝循環に入る ¹⁴C-標識体 (A) は少ないことが示唆された。

放射能の尿中排泄率は低く、投与量の 3% であった。糞から投与量の約 4% が排泄されたほか、屠殺時の直腸内容物にも約 5% が存在していたことから、わずかではあるが、代謝物が腸管から排泄されている事が示唆された。胆汁から 15% が排泄されたことから、主要排泄経路は胆汁であると結論された。

胆汁及び糞中排泄を合わせると消化管からの総排泄率は、直腸内容物も含めると 24% であった。この結果は胆管カニューレ未挿入イヌの試験結果の排泄率 22% と良く一致していた。

胆汁中の代謝物は大部分が 2 種の極性代謝物として排泄された。極性代謝物は、酵素処理により、少量の未変化体 (A) と B () を遊離した。

推定代謝経路を下記に示す。

