

(7) フルミオキサジン原体のラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期DNA合成
(UDS) 試験

(資料9-7)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体：フルミオキサジン原体

純度：

試験方法：検体を単回経口投与した7~8週齢のSD系雄ラット (3匹/群、体重；222~302g)

の肝細胞を用いてUDS誘発を調べることによりDNA損傷性を検定した。

検体はコーンオイルに懸濁して用いた。

・投与量および処理時間設定根拠

検体は急性毒性が低いことから5000mg/kgを最高投与量とし、以下2500および1250mg/kgとした。また、経時変化試験の結果から処理時間は12時間とした。

・肝細胞の調製

検体を投与したラットの肝臓をコラゲナーゼ溶液で灌流した後摘出した。肝細胞を分離し、氷冷したウイリアムスE培地 (WME、10%牛胎児血清を含む) 中に懸濁した。

・肝細胞生存率測定および培養

肝細胞浮遊液の一部を同容量の0.5%トリパン青と混合し、血球計算板を用いて顕微鏡下で生細胞数を計数した。細胞濃度を 2.5×10^5 細胞/mLに調製した後、サーマノックス円形カバーグラスを1枚ずつ含む6穴培養プレートの各穴に細胞浮遊液を2mLずつ播種し、細胞をカバーグラス上に付着させた。

・UDS試験

1.5時間培養した肝細胞をWMEで洗浄した後、 ^3H -チミジンを370kBq/mLの濃度で含むWME中で4時間培養した。 ^3H -チミジン処理後、細胞を非標識チミジンを0.25mM含むWMEで2回洗浄し、さらにこの培地中18時間培養した。培養後、細胞は洗浄 (ハンクス液)、低張処理 (1%クエン酸ナトリウム溶液) し、氷冷固定液 (エタノール：酢酸 = 3 : 1) で固定した。

得られた細胞標本を写真用乳剤に浸して乳剤被膜を形成させ、暗箱中で1週間露出

(4℃) した後、現像した。 ^3H -チミジン取り込み部位を銀粒子として検出し、さらに細胞をヘマトキシリンおよびエオジンYで染色し、UDSの測定を行った。

UDSの測定は標本当り細胞を50個ずつ観察した。観察は顕微鏡下で行い、銀粒子の測定にはコロニーカウンターを用いた。各々の細胞について核銀粒子面積と細胞質銀粒子面積 (核に隣接した核と同じ面積分の細胞質上に現れた銀粒子面積) を測定し、銀粒子

面積と銀粒子数との相関式を用いて、核銀粒子数と細胞質銀粒子数を求めた。核内銀粒子数 (NG) は核銀粒子数から細胞質銀粒子数を引いて求め、NGが5以上の細胞はUDS陽性細胞とみなし、その細胞数を計数した。

試験結果：試験結果を次頁にまとめた。

・経時変化試験

検体は3時間後および12時間後において肝細胞生存率を有意に低下させたが、いずれの処理時間においても検体投与群のNGおよびUDS陽性細胞数に増加を認めなかった。

・用量反応性試験

上記の結果から、本試験の処理時間は12時間とし、UDSを測定した。いずれの検体投与群のNGおよびUDS陽性細胞数に増加を認めなかった。

一方、陽性対照の2-アセチルアミノフルオレンはNG値およびUDS陽性細胞数の両方を顕著に増加させた。

以上の結果から、フルミオキサジン原体は本試験条件下においてラット肝細胞に対して不定期DNA合成を誘発せず、DNA損傷性を示さないと結論した。

経時変化試験

化合物	投与量 (mg/kg)	処理時間 (hr)	細胞生存率 (%±SD)	核内銀粒子数 ^{a)} (±SD)	UDS陽性細胞数 ^{b)}
コーンオイル	- ^{c)}	12	82.0±7.1	-4.0±0.5	0/150
フルミオキサジン 原体	5000	3	59.5±7.3**	-2.5±0.8	4/150
フルミオキサジン 原体	5000	12	60.8±1.3**	-2.6±2.0	0/130
フルミオキサジン 原体	5000	24	74.5±13.9	-4.2±1.5	1/150
2-AAF ^{d)}	50	12	69.7±7.0*	17.4±5.1**	142/150

- a) 1動物当たり50細胞ずつ、計150細胞を観察した。
 b) 核内銀粒子数を5個以上もつ細胞数/観察した細胞数。
 c) 20ml/kg。
 d) 2-アセチルアミノフルオレン。

*: p<0.05, **: p<0.01.

用量反応性試験

化合物	投与量 (mg/kg)	処理時間 (hr)	細胞生存率 (%±SD)	核内銀粒子数 ^{a)} (±SD)	UDS陽性細胞数 ^{b)}
コーンオイル	- ^{c)}	12	69.0±5.1	-6.0±0.2	1/150
フルミオキサジン 原体	1250	12	70.5±9.3	-4.8±2.3	3/150
フルミオキサジン 原体	2500	12	59.3±7.1	-3.9±1.1	3/150
フルミオキサジン 原体	5000	12	45.0±10.8*	-4.0±0.2	2/150
2-AAF ^{d)}	50	12	38.8±15.4*	10.7±7.0**	111/150

- a) 1動物当たり50細胞ずつ、計150細胞を観察した。
 b) 核内銀粒子数を5個以上もつ細胞数/観察した細胞数。
 c) 20ml/kg。
 d) 2-アセチルアミノフルオレン。

*: p<0.05, **: p<0.01.

10. 生体の機能におよぼす影響

フルミオキサジンにおける一般薬理試験

(資料 10)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1991年

検 体：フルミオキサジン原体

純 度：

(1) 一般状態および行動におよぼす影響

① 一般状態

供試動物：ICR (SPF) マウス、6週齢、体重 21.9～31.7g、1群雌雄各3匹

方 法：溶媒（1% 昇糖液）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、投与前および投与後、30分、1、2、4および24時間にIrwinの方法に準じ行動観察を行った。

結 果：5000 mg/kg投与では投与30分後に軽度の自発運動減少を雌雄ともに認めたが、60分後には回復した。

(2) 中枢神経系におよぼす影響

① 自発運動量

供試動物：ICR (SPF) 雄マウス、6週齢、体重 28.7～31.5 g、1群3匹

方 法：溶媒（1% 昇糖液）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、動物を入れたケージを自発運動量測定装置に載せ、投与直後より10分間ごとに4時間までの運動量を測定した。試験は別の動物を用いて3回行った。

結 果：5000 mg/kg投与群では、投与後10～20分に有意な運動量の減少を認めた。

② 睡眠

供試動物：ICR (SPF) 雄性マウス、6週齢、体重 26.1～31.4 g、1群10匹

方 法：溶媒（1% 昇糖液）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、その60分後にペントバルビタールナトリウム 45 mg/kgを腹腔内投与した。正向反射消失が20秒以上持続した時を入眠とし、側臥位または背臥位から自発的に腹臥位に戻るまでの時間を睡眠時間として測定した。

結 果：1500 mg/kg投与群では延長傾向がみられたが有意な差ではなかった。5000 mg/kg投与群においては140%以上の有意な延長作用を認めた。

③抗痙攣

供試動物：ICR (SPF) 雄性マウス、6週齢、体重 25.7~29.6 g、1群10匹

方 法：溶媒（1% 昇糖液）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、その60分後にペンチレンテトラゾール100 mg/kgを腹腔内投与し、間代性痙攣および死亡発現の有無を30分間観察した。

結 果：1500および5000 mg/kg投与ではペンチレンテトラゾールによる痙攣および死亡の発現において溶媒対照群との間に差を認めなかった。

④鎮痛

供試動物：ICR (SPF) 雄性マウス、6週齢、体重 28.2~32.9 g、1群9~10匹

方 法：溶媒（1% 昇糖液）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、その60分後に0.7%酢酸10 mL/kgを腹腔内投与した。酢酸投与後5分から10分間に発現する苦悶反応の回数を計測した。

結 果：0.7%酢酸によるWrithingの発現回数において5000 mg/kg投与により有意な発現回数の減少を認めた。

⑤体温

供試動物：New Zealand White雄性ウサギ、15週齢、体重 2.3~2.9 kg、1群3匹

方 法：溶媒（1% 昇糖液）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与した。検体投与2時間前より1時間間隔で3回、投与後1、2、3、4時間にサーミスタ温度集録装置を用いて直腸体温を測定した。

結 果：1500および5000 mg/kg投与群は、投与後4時間までの体温に対して変化を認めな

かった。

⑥脳波

供試動物：New Zealand White雄性ウサギ、15週齢、体重 2.3～2.9 kg、1群3匹

方 法：エーテル麻酔下に気管カニューレを挿入し、脳定位固定装置に動物を固定した。左大脳皮質運動領および左側海馬より単極誘導にてアンプを介して記録した。エーテル麻酔から醒めた後、溶媒（1%メチルサリチル酸）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、投与前、投与後30分、1および2時間の脳波を測定した。

結 果：1500および5000 mg/kg投与では、大脳皮質および海馬のいずれの脳波に対しても影響を認めなかった。

(3) 自律神経系および平滑筋におよぼす影響

①摘出回腸

a. ウサギ

供試動物：New Zealand White雄性ウサギ、13週齢、体重 2.0～2.5 kg

方 法：回腸を摘出し、回腸標本を作製した。標本を混合ガス（95% O₂、5% CO₂）を通気したタイロード液（37℃）を満たしたマグヌス槽中に懸垂し、約1 gの負荷を加えた。収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。溶媒（ジメチルホルムジド）および検体を最終濃度が10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶および10⁻⁵ g/mlとなるように添加し、自動収縮に対する作用を添加後5分間調べた。

結 果：10⁻⁵ g/mlでは収縮の振幅抑制を認め、筋の緊張度の低下もみられた。また、溶媒のジメチルホルムジド0.001～0.1%では自動収縮に影響を認めなかったが、1%液では検体と同程度の振幅抑制が見られた。したがって、検体において認められた振幅抑制については溶媒による影響と考えられたが、筋緊張の低下については検体の作用と考えられた。

b. モルモット

供試動物：Hartley雄性モルモット、7週齢、体重 363～770 g

方法：回腸を摘出して回腸標本を作製した。標本を混合ガス（95% O₂、5% CO₂）を通気したタイロード液（30℃）を満したマグナス槽中に懸垂し、約0.5 gの負荷を加えた。収縮をアイソトニックトランスデューサーを介して記録した。溶媒（ジメチルホルムジド）および検体を最終濃度が10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶および10⁻⁵ g/mlとなるように添加し、直接作用を添加後5分間調べた。また、検体を添加して3分後にアゴニスト溶液（アセチルコリン10⁻³、10⁻⁹ g/ml、セロトニン10⁻⁶ g/ml、ヒスタミン10⁻⁸ g/ml、塩化バリウム10⁻⁴、2×10⁻⁴ g/ml）を添加し、アゴニストに対する影響を検討した。

結果：

直接作用；10⁻⁵ g/mlでは収縮作用を認めた。また、溶媒のジメチルホルムジドでは0.001～0.1%で直接的な作用は認めなかったが、1%濃度では3例中1例において一過性の収縮作用を認めた。

アゴニスト収縮に対する作用；アセチルコリン収縮に対して、10⁻⁵ g/mlでは収縮の抑制を示した。

また、溶媒のジメチルホルムジドではそのような作用は認めなかった。ヒスタミン収縮に対して、10⁻⁵ g/mlでは収縮の抑制もしくは消失も認めた。また、溶媒のジメチルホルムジド0.001～0.1%では作用を認めなかったが、1%においては収縮の抑制を認めた。セロトニン収縮に対して、10⁻⁵ g/mlでは収縮の顕著な抑制もしくは消失が認められた。また、溶媒のジメチルホルムジド0.001～0.1%では作用を認めなかったが、1%においては収縮の軽度抑制を認めた。塩化バリウム収縮に対して、10⁻⁵ g/mlでは収縮の顕著な抑制もしくは消失が認められた。また、溶媒であるジメチルホルムジドの0.001～0.1%では作用を認めなかったが、1%においては収縮の軽度な抑制を認めた。

(4) 呼吸・循環器系におよぼす影響

① 呼吸・血圧・心拍数・心電図・血流量

供試動物：雄性ビーグル犬、5ヶ月齢、体重 9.5～10.2 kg、1群3匹

方法：動物をベントバルビタールナトリウムで麻酔後、背位にて固定した。呼吸は気管チューブを装着したピックアップよりアンプを介して、血圧は圧トランスデューサーおよび圧カアンプを介して、心電図は第Ⅱ誘導によりアンプを介して、心拍数は心電図より瞬時心拍数ユニットを介して、また血流量は左大腿動脈に接続した血流プローブより血流計を介して、それぞれ記録した。溶媒（グリセロール）および検体（0.3、1、3、10、30 mg/kg）を0.5 ml/kgの割合にて大腿静脈カニュー

ーレを介して漸増投与し、30分もしくは60分間にわたり呼吸、血圧、心拍数、心電図および血流量を測定した。

結果：0.3、1および3 mg/kg投与では一過性で軽度の血圧の低下および心拍数の増加を認めた。しかし、これらの作用は溶媒であるジメチルホルムジド投与によっても同様に認められ、溶媒による影響と考えられた。また、3 mg/kg投与では一過性の呼吸促進を認め、10 mg/kg投与ではそれに加えて血圧および心拍数の一過性低下に引き続く上昇および血流量の低下を認めたがいずれも10分後には回復した。30 mg/kg投与では呼吸の一過性促進後の停止、血圧、血流量の低下および心拍数の減少を認め、5~20分後に全3例死亡した。心電図については、10 mg/kg投与においてT波の増大を3例中1例で認めた。また、30 mg/kg投与では全3例において、心臓の収縮異常が認められその後に死亡した。

②摘出心房

供試動物：Hartley雄性モルモット、7週齢、体重 379~447 g

方法：心臓を摘出し、心房標本を作製した。心房標本を混合ガス（95% O₂、5% CO₂）を通気したクレブス-ヘンゼライト液（32℃）を満たしたマグヌス槽中に懸垂し、約1 gの負荷を加えた。収縮力はFDピックアップを介して、心拍数は瞬時心拍計ユニットを介してそれぞれ記録した。溶媒（ジメチルホルムジド）および検体を最終濃度が10⁻⁸、10⁻⁷、10⁻⁶および10⁻⁵ g/mLとなるように添加し、直接作用を添加後5分間調べた。

結果：10⁻⁵ g/mLにおいては適用直後に一過性の収縮幅の減少に引き続きわずかな増加がみられた。また、適用後にわずかな拍動数の増加もみられた。これらの作用については、溶媒であるジメチルホルムジド適用によっても同様な作用を認めたので、溶媒による影響と考えられた。

(5) 消化器系におよぼす影響

①腸管輸送能

供試動物：ICR (SPF) 雄性マウス、6週齢、体重 27.6~32.4 g、1群10匹

方法：溶媒（1%メチルセルロース）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与し、その60分後に10% 骨炭末懸濁液（20% アラビアゴム添加）10 mL/kg

を経口投与した。その30分後に動物を屠殺し、直ちに全腸管を摘出して全長および骨炭末移動距離を測定し、輸送率を求めた。

結果：1500および5000 mg/kgの経口投与ともに、マウス腸管の骨炭末輸送能において、溶媒対照群との間に差は認めなかった。

(6) 体性神経系におよぼす影響

① 摘出横隔膜神経筋

供試動物：SD (SPF) 雄性ラット、10週齢、体重 274.9~499.9 g

方法：横隔膜を摘出し、横隔膜神経筋標本を作製した。標本を混合ガス (95% O_2 、5% CO_2) を通気したクレブス-ヘンゼライト液 (32℃) を満たしたマグヌス槽中に懸垂した。筋および神経を10秒毎交互に電気刺激装置を用いて刺激した。筋収縮はFDピックアップを介して記録した。溶媒 (ジメチルホルムジド) および検体を最終濃度が 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} および 10^{-5} g/mLとなるように添加し、神経および筋の電気刺激による筋収縮反応に対する作用を添加後10分間調べた。

結果： 10^{-5} g/mLでは無影響の例も認めしたが、両刺激による収縮反応をわずかに抑制する例も認められた。しかし、この収縮抑制作用は溶媒であるジメチルホルムジドの適用 (1%液) によっても認められたので、溶媒による作用と考えられた。

② 局所麻酔作用

供試動物：New Zealand White雄性ウサギ、13週齢、体重 2.4~2.7 kg、1群3匹

方法：ウサギを頸部固定器に固定した。溶媒 (GF) および検体 (0.6、6%) および陽性対照物質 (オキシプロカイン) を左眼に0.1 mL点眼し、投与後10、30、60、120分後に角膜刺激を5回行い、瞬目反応の回数を測定した。

結果：0.6および6%では、溶媒対照群と同様に作用は認めなかった。陽性対照の0.4%塩酸オキシプロカインでは、適用後10、30分に全例、60分で2例に角膜反射の減少もしくは消失を認めた。

(7) 水および電解質代謝におよぼす影響

①尿量および尿中電解質

供試動物：SD (SPF) 雄性ラット、7週齢、体重 227.8～256.1 g、1群10匹

方 法：溶媒（1% 昇糖加-ス）および検体（100、500、1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合で単回経口投与し、その30分後に生理食塩液20 mL/kgを経口投与した。その後ラットを1匹ずつ採尿ケージに入れ、生理食塩液投与後5時間までの尿を採取して尿量、 Na^+ 、 K^+ および Cl^- の測定を行った。

結 果：500 mg/kgでは変化の程度はわずかながら Na^+ および Cl^- の有意な低下がみられた。また、5000 mg/kgでは、尿量の減少および Na^+ 、 K^+ の有意な上昇がみられた。

(8) 血液におよぼす影響

①血液凝固

供試動物：SD (SPF) 雄性ラット、7週齢、体重 210.3～236.8 g、1群5匹

方 法：溶媒（1% 昇糖加-ス）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与した。その4時間後に採血し、3.8%クエン酸ナトリウムを加えた後、血漿を採取し、プロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量の測定を行った。

結 果：1500および5000 mg/kg投与ともに、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量のいずれにおいても溶媒対照群との間に差を認めなかった。

②溶血

供試動物：SD (SPF) 雄性ラット、7週齢、体重 210.3～236.8 g、1群5匹

方 法：溶媒（1% 昇糖加-ス）および検体（1500、5000 mg/kg）を20 mL/kgの割合にて単回経口投与した。その4時間後に採血し、ヘパリン加血漿を得た。シアンメトヘモグロビン法により血漿中のヘモグロビン濃度を求めた。

結 果：1500および5000 mg/kg投与ともに、溶血作用は認めなかった。

以上、フルミオキサジン原体は哺乳動物に対して、大量適用にて自発運動減少作用、麻酔増強作用、鎮痛作用、呼吸促進作用および血圧低下作用を示し、尿量および尿中電解質に影響をおよぼした。摘出臓器においては、高用量にて平滑筋の収縮作用、収縮抑制作用および筋緊張作用を示した。一方、血液に関しては、溶血作用はなく、血液凝固作用への影響も認められなかった。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)		投与経路 (溶媒)	適用量 (mg/kg)	例数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果
中枢神経系 一般状態 (マウス)	行動観察	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	3	5000	1500	5000mg/kg投与で30分後に軽度の自発運動減少を認めたが60分後には回復した。
中枢神経系 自発運動量 (マウス)	自発運動量測定装置	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	3	5000	1500	5000mg/kg投与で10~20分後に有意な減少。
中枢神経系 睡眠 (マウス)	投与60分後にベンゾヘキサメーゼルを投与し、睡眠時間を測定	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	10	5000	1500	5000mg/kg投与で有意な延長作用。
中枢神経系 抗痙攣 (マウス)	投与60分後にベンゾヘキサメーゼルを投与し間代性痙攣の発現を観察	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	10	-	5000	影響なし。
中枢神経系 鎮痛 (マウス)	投与60分後に酢酸を投与しwrithingの発現の回数を計測	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	9~10	5000	1500	5000mg/kg投与で有意な苦悶反応の抑制。
中枢神経系 体温 (ウサギ)	直腸体温を測定	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	3	-	5000	影響なし。
中枢神経系 麻酔 (ウサギ)	無麻酔下で大脳皮質運動領および海馬より誘導	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	3	-	5000	影響なし。
自律神経系 摘出回腸 (ウサギ)	マウス法:直接作用	in vitro (ブドウ糖ブドウ糖液)	10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} , 10^{-5} 10^{-6} , 10^{-5}	3	10^{-5} (g/ml)	10^{-6} (g/ml)	10^{-5} g/mlで筋の緊張度低下。
自律神経系 摘出回腸 (モルモット)	マウス法:直接作用、アセチルコリン、ヒスタミン、セトリン、塩化バリウムとの相互作用	in vitro (ブドウ糖ブドウ糖液)	10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} , 10^{-5} 10^{-6} , 10^{-5}	3	10^{-5} (g/ml)	10^{-6} (g/ml)	10^{-5} g/mlで収縮作用、アセチルコリン、ヒスタミン、セトリン、塩化バリウムによる収縮反応の抑制もしくは消失。
呼吸・循環器系 呼吸・血圧・心拍数・心電図・血流量 (イヌ)	麻酔下で呼吸モニター、圧トランスデューサー、第II誘導、心拍数エレクト、血流計で測定	I. V. (ブドウ糖ブドウ糖液)	0.3, 1, 3 10, 30	3	3	1	3mg/kg以上で呼吸促進、10mg/kg以上で血圧、心拍数および血流量の低下、30mg/kgで全3例死亡。
呼吸・循環器系 摘出心房 (モルモット)	マウス法:直接作用	in vitro (ブドウ糖ブドウ糖液)	10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} , 10^{-5} 10^{-6} , 10^{-5}	3	-	10^{-5} (g/ml)	影響なし。
消化器系 腸管輸送能 (マウス)	投与60分後に骨炭末懸濁液を投与し、骨炭末移動距離を測定	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	10	-	5000	影響なし。
体性神経系 摘出横隔膜神経筋 (ラット)	マウス法:横隔膜神経筋の電気刺激による収縮を測定	in vitro (ブドウ糖ブドウ糖液)	10^{-8} , 10^{-7} 10^{-6} , 10^{-5} 10^{-6} , 10^{-5}	3	-	10^{-5} (g/ml)	影響なし。
体性神経系 局所麻酔作用 (ウサギ)	角膜刺激を行い瞬目反応の回数を測定	点眼 (ブドウ糖ブドウ糖液)	0.6, 6 (%)	3	-	6 (%)	影響なし。
水・電解質代謝 尿量・尿中電解質 (ラット)	投与30分後に生理食塩液を経口投与し、尿量、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- を測定	P. O. (1%ブドウ糖)	100, 500 1500, 5000	10	5000	1500	5000mg/kg投与で尿量の減少、 Na^+ 、 K^+ の有意な上昇。
血液 血液凝固 (ラット)	投与4時間後に採血し、PT、APTT、フィブリノーゲン量を測定	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	5	-	5000	影響なし。
血液 溶血 (ラット)	投与4時間後に採血し、ジメチルソルビトール法により血漿中のヘモグロビン濃度を測定	P. O. (1%ブドウ糖)	1500, 5000	5	-	5000	影響なし。

1.1. 反復投与免疫毒性

フルミオキサジン原体のラットを用いた 28 日間反復経口投与免疫毒性試験

(資料 1.1)

試験機関：WIL Research Laboratories, LTD
ImmunoTox[®], Inc.¹⁾

[GLP 対応]

報告書作成年：2011 年

検体：フルミオキサジン原体

検体純度：

供試動物：CD (SD) 系雌ラット、TDAR (T 細胞依存性抗体産生検査) 群 1 群 10 匹、血液学的検査群 1 群 5 匹、

投与開始時週齢：約 7 週齢、投与開始時体重：TDAR 群 150～189 g、血液学的検査群 157～187 g

投与期間：28 日間 (2010 年 5 月 10 日～2010 年 6 月 7 日)

投与方法：検体を 0 (対照群および TDAR 群の陽性対照群)、500、1500 および 4500 ppm の濃度で飼料に混入し、28 日間にわたって随時摂食させた。陽性対照群には投与 24～27 日に 4 日間連続で免疫抑制剤シクロホスファミド (CPS) を 50 mg/kg/日 (投与液量；10 mL/kg/日、溶媒；リン酸緩衝生理食塩水) の投与量で腹腔内投与した。なお、検体を混入した飼料はおよそ 1 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

死亡率；全動物について生死および瀕死状態を 1 日 2 回 (午前、午後) 観察した。

すべての動物が計画的屠殺時まで生存していた。

一般状態および詳細な状態の観察；全動物について、一般状態の観察を 1 日 1 回実施した (但し、詳細な状態観察の実施日を除く)。観察項目には皮膚、被毛の外観変化、眼、粘膜、呼吸器、循環器、自律神経および中枢神経系機能、身体運動活性および行動パターンの変化を含む。また、詳細な状態の観察を週 1 回行った。動物をケージから取り出して、オープンフィールドで歩行、姿勢の変化、間代

1) 免疫毒性検査のみ

性あるいは強直性の動き、常同行動（過度の身づくろい、旋回）、異常行動（自傷、後ずさり）、および皮膚の損傷および脱毛のような持続性の徴候について観察した。

検体投与に関連した症状は認められなかった。

体重変化；すべての動物の体重測定を週2回行った。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査時期を次表に示す。

性別 群		投与量 (ppm)	雌				陽性対照 CPS 50 mg/kg/日
			検体				
			0	500	1500	4500	
体重 増加量	TDAR 群	24~28 日	9	4 (44)	3 (33)	4 (44)	↓-13
		0~21 日	58	↓45 (78)	52 (90)	49 (84)	52 (90)
		0~28 日	73	61 (84)	66 (90)	61 (84)	↓51 (70)
	血液学的検査群	10~14 日	12	↓5 (42)	7 (58)	↓5 (42)	

対照群との有意差検定は検体投与群については Dunnett 検定、陽性対照群については Student の t 検定を用いて行った (↑ ↓: P < 0.05, ↑ ↓: P < 0.01)。

表中の数値は実測値 (g)

() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

体重に検体投与による影響は認められなかった。

TDAR 群の 500 ppm 群における試験 0~21 日の累積体重増加量、ならびに血液学的検査群の 500 および 4500 ppm 群における試験 10~14 日の体重増加量に、対照群と比較して統計学的に有意な低値が認められたが、用量相関性がないことから、検体投与に関連したものではないと考えられた。

なお、陽性対照群では試験 24~28 日の体重増加量および 0~28 日の累積体重増加量に統計学的に有意な低値が認められ、その結果、試験 28 日目の体重は対照群と比較して 9.5% の低値 (統計学的有意差なし) であった。

摂餌量；全動物の摂餌量を群分けの約 1 週間前から計画的屠殺時直前まで、約週 1 回測定し、g/匹/日を算出した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査時期を次表に示す。

性別			雌			
群			検体			陽性対照
投与量 (ppm)			500	1500	4500	CPS 50 mg/kg/日
摂餌量 (g/匹/日)	TDAR 群	14~21 日	↓90	↓90	↓85	100

対照群との有意差検定は検体投与群については Dunnett 検定、陽性対照群については Student の t 検定を用いて行った (↑ ↓: P < 0.05、↑ ↓: P < 0.01)
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

検体投与による影響は認められなかった。

TDAR 群の 500、1500 および 4500 ppm 群で試験 14~21 日の摂餌量 (g/匹/日) において、統計学的に有意な低値が認められたが、この期間、対照群でわずかな摂餌量の高値が認められていることから、この変化は検体投与に関連するものではないと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		500	1500	4500
検体摂取量 (mg/kg/日)	TDAR 群	44	127	375
	血液学的検査群	42	126	371

摂水量；全動物について、群分けの約 1 週間前から計画的屠殺時の直前まで、約週 1 回摂水量を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査時期を次表に示す。

性別			雌			
群			検体			陽性対照
投与量 (ppm)			500	1500	4500	CPS 50 mg/kg/日
摂水量 (g/匹/日)	TDAR 群	0~7 日	↑141	131	↑134	↑141
		21~28 日	110	93	87	↑160
	血液学的検査群	-10~-4 日	121	↑159	103	

対照群との有意差検定は検体投与群については Dunnett 検定、陽性対照群については Student の t 検定を用いて行った (↑ ↓: P < 0.05、↑ ↓: P < 0.01)
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

摂水量に検体投与による影響は認められなかった。

TDAR 群の 500 および 4500 ppm 群において試験開始時 (試験 0~7 日) に摂水量の統計学的に有意な高値が認められたが、用量相関性が認められないことから、検体投与に関連するものではないと考えられた。また、血液学的検査群の 1500

ppm 群において摂水量の統計学的に有意な高値が認められたが、試験前（試験-10~-4日）であった。

なお、陽性対照群では試験開始時（試験0~7日）と試験終了時（試験21~28日）に、摂水量の統計学的に有意な高値が認められた。

血液学的検査；計画的剖検時（試験28日）に血液学的検査群のすべての動物を対象として、後眼窩洞から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、網赤血球数（比率および絶対数）、白血球分類（比率および絶対数）および赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

1500 および 4500 ppm において、以下のような検体投与に関連した変化が認められた。

1500 ppm 群で統計学的有意差が認められたのは平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の低値のみであった。4500 ppm 群では統計学的に有意な変化として、白血球数、網赤血球数（比率および絶対数）、好中球絶対数およびリンパ球絶対数の高値、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度の低値が認められた。

性別	雌			
	投与量 (ppm)			
	500	1500	4500	
総白血球数	105	107	↑175	
ヘモグロビン濃度	101	95	↓84	
ヘマトクリット値	101	95	↓88	
平均赤血球容積	99	↓93	↓91	
平均赤血球血色素量	98	↓92	↓86	
平均赤血球血色素濃度	100	99	↓95	
網赤血球比率	112	147	↑294	
網赤血球絶対数	113	152	↑277	
白血球分類	好中球絶対数	98	123	↑213
	リンパ球絶対数	105	107	↑175

対照群との有意差検定は Dunnett 検定を用いて行った（両側検定、↑ ↓ : P < 0.05、↑ ↓ : P < 0.01）

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

臓器重量；計画的剖検時（試験 28 日）に、TDAR 群の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脾臓および胸腺

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

性別		雌			
群		検体			陽性対照
投与量 (ppm)		500	1500	4500	CPS 50 mg/kg/日
最終体重		95	97	95	↓91
脾臓	重量	110	103	↑125	↓48
	対体重比	117	109	↑135	↓52
胸腺	重量	111	105	111	↓19
	対体重比	119	106	119	↓25

対照群との有意差検定は検体投与群については Dunnett 検定、陽性対照群については Student の t 検定を用いて行った（↑↓：P < 0.05、↑↓：P < 0.01）
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

最終体重および胸腺重量に検体投与による影響は認められなかった。

検体投与による影響として、4500 ppm 群において、対照群と比較して、脾臓の絶対重量および対体重比の統計学的に有意な高値が認められた。

なお、陽性対照群では、最終体重、脾臓および胸腺の重量および対体重比において、対照群と比較して統計学的に有意な低値が認められた。

肉眼的病理検査；投与期間終了後（試験 28 日）、全生存動物について剖検を行った。

検体投与に関連した肉眼的所見は認められなかった。

免疫機能検査；TDAR 群の全動物について、摘出した脾臓を用いてヒツジ赤血球（sRBC）に対する脾臓における IgM 抗体産生細胞反応を検査した。sRBC 特異的 IgM 抗体産生細胞（IgM AFC）数を測定し、脾臓細胞 10⁶ 個あたりの IgM AFC 数（IgM AFC/脾臓細胞 10⁶ 個）および脾臓あたりの IgM AFC 数（IgM AFC/脾臓）を算出した。結果を下表に示す。

性別 群	雄			陽性対照 CPS 50 mg/kg/日
	検体			
投与量 (ppm)	500	1500	4500	
脾臓細胞数	118	105	118	↓14
IgM AFC/脾臓細胞 10 ⁶ 個	↑168	87	74	↓6
IgM AFC/脾臓	↑207	91	101	↓1

対照群との有意差検定は検体投与群については Dunnett 検定あるいは Wilcoxon 検定、陽性対照群については Student の t 検定を用いて行った (↑↓: P < 0.05, ↑↓: P < 0.01) 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

検体投与群では、脾臓細胞数、IgM AFC/脾臓細胞 10⁶個および IgM AFC/脾臓に検体投与による影響は認められず、いずれの投与量においても、T 細胞依存性抗原ヒツジ赤血球に対する脾臓における IgM 抗体産生細胞 (AFC) 反応に、検体投与による影響は認められなかった。

500 ppm 群において、対照群と比較して、IgM AFC/脾臓細胞 10⁶個および IgM AFC/脾臓に統計学的に有意な高値が認められ、AFC 反応の高値が認められた。しかし、これらの群平均値の高値は 500 ppm 群の 1 匹の高値に起因したものであった。また、1500 および 4500 ppm 群では IgM AFC/脾臓細胞 10⁶個および IgM AFC/脾臓のいずれにおいても統計学的に有意な変化は認められず、用量相関性が認められないことから、検体投与との関連性はなく、非近交系ラットの免疫反応における個体差に起因するものと考えられた。

一方、陽性対照群では脾臓細胞数、IgM AFC/脾臓細胞 10⁶個および IgM AFC/脾臓のいずれにおいても、対照群と比較して、統計学的に有意な低値が認められた。

以上の結果から、フルミオキサジン原体をラットに反復経口投与した影響として、血液学的検査において検体投与に関連した変化 (ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および/あるいは平均赤血球血色素濃度の低値、白血球数、網赤血球数、好中球数および/あるいはリンパ球数の高値) が 1500 および 4500 ppm の血液学的検査群で認められた。4500 ppm 群で検体投与に関連した脾臓重量の高値が認められたが、脾臓における IgM 抗体産生細胞 (AFC) 反応に検体投与による影響は認められず、免疫機能に関する無影響量 (NOEL) ^{申請者注} は 4500 ppm (371 mg/kg/日) であると判断された。

申請者注：免疫毒性に関する無毒性量 (NOAEL) について

報告書中には無毒性量 (NOAEL) について記載していないが、免疫機能に関する毒性が認められなかったことから、無毒性量は 4500 ppm (371 mg/kg/日) であると判断した。

B. 製剤を用いた試験成績

1. フルミオキサジン1.2%混合水和剤 (WDG)

(1) グランドボーイWDGのラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 製1-1)

試験機関：ボソリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1998年

検 体：グルホシネート・フルミオキサジン水和剤
(商品名；グランドボーイWDG)

組 成：グルホシネート 12%
フルミオキサジン 1.2%
鉱物質微粉、界面活性剤等 残量

試験動物：Crj:CD(SD)系ラット (7週齢、開始時体重：雄 238~261g、雌 154~174g)、1群
雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を0.5%カプシメチルセルロース(カルローストリウム)水溶液に懸濁し、16時間絶食させた動物に1回強制経口投与した。対照群には0.5%カプシメチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。

体重は投与開始時、投与後1、2、3、7、10及び14日に測定し、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。

結 果：

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、1600、2300、3300、4600、6500	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	2940 (2240~3870)	3420 (2580~4360)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後約6時間から開始 投与後3日に終了	
症状発現時期 及び消失時期	投与後約30分から発現 投与後4日に消失	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1600	2300

中毒症状としては、雌雄で自発運動の減少、腹臥、振戦、間代性痙攣、粗毛が観察された。

体重変化では、雌雄で投与翌日もしくは死亡するまでに減少あるいは増加抑制が認められた。

剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

(2) グランドボーイWDGのマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 製1-2)

試験機関：ボソリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1998年

検 体：グルホシネート・フルミオキサジン水和剤
(商品名；グランドボーイWDG)

組 成：グルホシネート 12%
フルミオキサジン 1.2%
鉱物質微粉、界面活性剤等 残量

試験動物：Crl:CD-1 (ICR) 系マウス (7週齢、開始時体重：雄 27.7~31.5g、雌 21.0~25.5g)、
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を0.5%カルボキシル化カチオン(カルボ-ナトリウム)水溶液に懸濁し、16時間絶食させた動物に1回強制経口投与した。対照群には0.5%カルボキシル化カチオン水溶液のみを同様に投与した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。

体重は投与開始時、投与後1、2、3、7、10及び14日に測定し、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。

結 果：

投 与 方 法	経 口	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	0、600、1000、1500、2400、 3800、6000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	1620 (1160~2240)	1900 (1430~2580)
死亡開始時間 及び終了時間	投与後約6時間から開始 投与後2日に終了	
症状発現時期 及び消失時期	投与後約4時間から発現 投与後4日に消失	
最大無作用量 (mg/kg)	1000	1000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1000	1000

中毒症状としては、雌雄で自発運動の減少、腹臥、振戦、間代性痙攣、粗毛が観察された。

体重変化では、雌雄で投与翌日もしくは死亡するまでに減少あるいは増加抑制が認められた。

剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

(3) グランドボーイWDGのラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 製1-3)

試験機関：ボソリサーチセンター

[GLP 対応]

検 体：グルホシネート・フルミオキサジン水和剤
(商品名；グランドボーイWDG)

組 成：グルホシネート 12%
フルミオキサジン 1.2%
鉱物質微粉、界面活性剤等 残量

試験動物：Crj:CD (SD)系ラット (7週齢、開始時体重：雄 262~284g、雌 190~217g)、1群
雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方 法：検体を蒸留水で湿らせて、刈毛した背部皮膚に24時間塗布した。対照群には蒸留水のみを同様に塗布した。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。

体重は投与開始時、投与後1、2、3、7、10及び14日に測定し、試験終了時の全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。

結 果：

投 与 方 法	経 皮	
	雄	雌
性 別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、2000	
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現時期 及び消失時期	発現例なし	
最大無作用量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

中毒症状、体重変化並びに投与部位の皮膚を含めた剖検所見に特記すべき変化は認められなかった。

(4) グランドボーイWDGのウサギにおける眼および皮膚に対する刺激性試験

(資料 製1-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検体：グルホシネート・フルミオキサジン水和剤
(商品名；グランドボーイWDG)

組成：グルホシネート 12%
フルミオキサジン 1.2%

鉱物質微粉、界面活性剤等 残量

試験動物：ニュージーランドホワイト系雄ウサギ (15週齢、体重；3.08~3.48kg)

[眼に対する刺激性試験]

観察期間：4週間観察

試験方法：1匹当たり0.1gの検体を9匹の雄ウサギ (非洗浄群：6匹、洗浄群：3匹) の片側下眼
眼結膜嚢に適用し、1秒間眼瞼を閉じさせた後、経時的に観察した。洗浄群について
は適用2分後に水道水で30秒間洗眼した後、経時的に観察した。

尚、他眼は対照とした。

観察：検体適用後1、24、48、72、96時間、1、2、3及び4週間目に角膜、虹彩および結
膜を観察し、Draizeの判定基準に従い、眼の局所反応を点数化して記録した。

刺激性の評価はKay and Calandraの方法に従った。

試験結果：Draizeらの判定基準による局所反応の平均点は以下の通りであった。

[非洗浄群：6匹]

組 織	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間					
		1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	1週間
角 膜	80	0.0	11.7	7.5	3.3	1.7	0.8
虹 彩	10	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
結 膜	20	6.3	8.7	5.7	3.0	1.3	0.3
(潮紅)	(6)	(2.7)	(2.0)	(2.0)	(1.7)	(1.0)	(0.3)
(浮腫)	(8)	(3.7)	(2.0)	(1.7)	(1.0)	(0.3)	(0.0)
(眼脂)	(6)	(0.0)	(4.7)	(2.0)	(0.3)	(0.0)	(0.0)
合 計	110	6.3	21.2	13.2	6.3	3.0	1.1

組 織	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間		
		2週間	3週間	4週間*
角 膜	80	0.8	0.8	0.0
虹 彩	10	0.0	0.0	0.0
結 膜	20	0.7	0.0	0.0
(潮紅)	(6)	(0.3)	(0.0)	(0.0)
(浮腫)	(8)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
(眼脂)	(6)	(0.3)	(0.0)	(0.0)
合 計	110	1.5	0.8	0.0

*：適用後3週間目の観察で局所反応が認められた1例のみ観察した。

[洗浄群：3匹]

組 織	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間					
		1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	1週間
角 膜	80	6.7	8.3	3.3	0.0	0.0	0.0
虹 彩	10	0.0	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0
結 膜	20	6.0	10.7	4.0	2.7	0.7	0.0
(潮紅)	(6)	(2.0)	(3.3)	(2.0)	(2.0)	(0.7)	(0.0)
(浮腫)	(8)	(4.0)	(2.6)	(1.3)	(0.7)	(0.0)	(0.0)
(眼脂)	(6)	(0.0)	(4.7)	(0.7)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
合 計	110	12.7	20.7	7.3	2.7	0.7	0.0

非洗浄群：

適用後1時間目に6例全例に強さ1～2の結膜潮紅及び結膜浮腫を認めた。

適用後24時間目では6例全例に強さ1、広さ1～3の角膜混濁、強さ1の結膜潮紅及び結膜浮腫、強さ1～3の眼脂分泌が認められ、その内1例に強さ1の虹彩充血を認めた。これらの局所反応はその後徐々に軽減したが、適用後3週間目に6例中1例に強さ1、広さ1の角膜混濁及び血管新生を認めた。尚、この1例の局所反応は適用後4週間目には消失した。

洗浄群：

適用後1時間目に3例全例に強さ1、広さ1～2の角膜混濁、強さ1の結膜潮紅及び強さ2の結膜浮腫を認めた。適用後24時間目では3例全例に強さ1、広さ1～2の角膜混濁、強さ1～2の結膜潮紅、強さ1～2の結膜潮紅及び結膜浮腫、強さ1～3の眼脂分泌が認められ、その内1例に強さ1の虹彩充血を認めた。尚、これらの局所反応はその後徐々に軽減し、適用後1週間目には消失した。

以上の結果から、本剤はウサギの眼に対して中等度の刺激性があり、洗浄効果はあると結論した。

[皮膚に対する刺激性試験]

観察期間：3日間観察

試験方法：雄6匹のウサギの背部を剪毛し、適用部位とした。生理食塩水で湿らせたリント布(2.5×2.5cm)に粉碎した検体0.5gを塗布後、適用部位に貼布し、サージカルテープで4時間閉塞適用した。適用後、リント布を取り除き、皮膚に付着した検体を水を含ませた脱脂綿で拭き取った後、経時的に観察した。

観察：検体除去後1, 24, 48, 72時間, 1及び2週間目に適用部位を観察し、Draizeの判定基準に従い、皮膚の局所反応を点数化して記録した。

試験結果：Draizeらの判定基準による局所反応の平均点は以下の通りであった。

反応の種類	刺激反応の最高評点	適用後の経過時間					
		1時間	24時間	48時間	72時間	1週間	2週間
紅斑	4	1.17	1.0	0.83	0.67	0.0*	0.0
浮腫	4	1.0	0.67	0.17	0.17	0.0	0.0
合計	8	2.17	1.67	1.00	0.84	0.0	0.0

*：1例に鱗屑が観察された。

検体除去後の観察で6例全例に強さ1～2の紅斑が認められ、その内、5例に強さ1～2の浮腫を認めた。これらの局所反応は適用後2週間目に消失した。

以上の結果から算出した一次刺激率は1.4となり、本剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があると結論した。

(5) グランドボーイWDGの実使用濃度液のウサギにおける眼に対する刺激性試験

(資料 製1-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検 体：グルホシネート・フルミオキサジン水和剤の実使用濃度液
[20mg製剤/ml水] (商品名；グランドボーイWDG)

組 成：グルホシネート 12%
フルミオキサジン 1.2%
鉍物質微粉、界面活性剤等 残量

試験動物：ニュージランド' 杓付系雄ウサギ (13週齢、体重；2.60~2.90kg)

観察期間：3日間観察

試験方法：1匹当たり0.1mLの検体を6匹の雄ウサギの片側下眼瞼結膜嚢に適用し、1秒間眼瞼を閉じさせた後、経時的に観察した。尚、他眼は対照とした。

観 察：検体適用後1、24、48及び72時間目に角膜、虹彩および結膜を観察し、Draizeの判定基準に従い、眼の局所反応を点数化して記録した。

刺激性の評価はKay and Calandraの方法に従った。

試験結果：Draizeらの判定基準による局所反応の平均点は以下の通りであった。

組 織	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
角 膜	80	0.0	0.0	0.0	0.0
虹 彩	10	0.0	0.0	0.0	0.0
結 膜	20	0.0	0.0	0.0	0.0
(潮紅)	(6)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
(浮腫)	(8)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
(眼脂)	(6)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)
合 計	110	0.0	0.0	0.0	0.0

適用後の観察において、6例全例に局所反応は認められなかった。

以上の結果から、本剤の実使用濃度液はウサギの眼に対して刺激性はなしと結論した。

(6) グランドボーイWDGのモルモットにおける皮膚感作性試験 (Maximization Test)

(資料 製1-6)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1998年 [GLP対応]

検体：グルホシネート・フルミオキサジン水和剤
(商品名；グランドボーイWDG)

組成：グルホシネート 12%
フルミオキサジン 1.2%
鉱物質微粉、界面活性剤等 残量

試験動物：Hartley 系雌モルモット(6週齢、体重；280~393g)、1群10匹または20匹

試験方法：Maximization Testにより実施した。

①感作

[皮内] モルモットの背部肩甲骨上を剪毛し、正中線をはさんだ皮膚(2×4cm)の両側各3箇所(上部、中間部、下部)を投与部位とし、以下の試料を1箇所当り0.1mLずつ皮内投与した(一次感作)。

上部；蒸留水とFreund complete adjuvant (FCA)との等量乳化液

中間部；検体の0.5%懸濁液または α -Hexylcinnamaldehyde (HCA)の5%
コーンオイル溶液

下部；検体の1%懸濁液とFCA溶液と蒸留水との等量乳化液またはHCAの10%FCA溶液と蒸留水との等量乳化液

[経皮] 皮内感作の1週間後、検体の10%懸濁液またはHCA原液0.4mLを一次感作部位(2×4cm)に適用後、48時間閉塞貼布し、二次感作を行った。

非感作群は蒸留水(HCA非感作群にはリント布のみ)を用いて同様の処置を行った。

②誘発

二次感作の2週間後、剪毛したモルモットの右腹側部に検体1%懸濁液またはHCAの10%アセトン溶液0.2mLを含ませたリント布(2×2cm)を24時間閉塞貼布した。貼布除去後、皮膚に付着した検体は水(HCAはアセトン)を用いて、拭き取った。

観察：誘発の貼布除去後、24および48時間目に貼布部位の皮膚反応の強さを紅斑と浮腫に分けて判定した。評価はMagnusson and Kligmanの判定基準に従った。体重は感作開始時と最終観察終了時の2回測定した。

試験結果：観察した皮膚感作性反応は以下の通りであった。

群	グランドボーイWDG				HCA											
	感作群		非感作群		感作群		非感作群									
誘発後の時間	24	48	24	48	24	48	24	48								
局所反応 ^{a)}	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S						
反応の 程度 ^{b)}	0	20	20	20	20	20	20	20	3	4	4	5	10	10	10	10
	1	0	0	0	0	0	0	0	2	3	1	3	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	5	3	4	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
陽性率 (%)	0		0		70		0									

a) E ; 紅斑、S ; 浮腫

b) 0 ; 変化なし、1 ; 軽度、2 ; 中等度、3 ; 強度

検体感作群および非感作群ともいずれの観察においても紅斑、浮腫等の局所反応を認めなかった。一方、陽性対照のHCA感作群では誘発貼布除去の観察において、10例中7例に軽度から強度の紅斑、うち6例に軽度から中等度の浮腫が認められた。

以上の結果から、グランドボーイWDGは本試験条件下 (Maximization法) で皮膚感作性なしと結論した。

2. フルミオキサジン 50%水和剤 (WDG)

(1) フルミオキサジン水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製2-1)

試験機関: Huntingdon Research Centre Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検 体: フルミオキサジン水和剤 (フルミオ WDG、ダイロード WDG)

検体純度: 50%水和剤

[組成] フルミオキサジン 50.0%
界面活性剤、鉱物質微粉等 50.0%

供試動物: CD (SD) 系ラット、約 4~6 週齢、体重 104~127 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に溶解して 50% w/v の溶液を調製し、単回強制経口投与した。投与液量は 10.0 mL/kg とした。投与前一晚および投与後約 4 時間は絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与日、投与後 7 および 14 日に測定した。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実施した。

結 果:

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	投与後 3 分以内に発現 投与後 1 日までに消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 < 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

中毒症状としては、投与後 3 分以内に全動物に立毛が観察され、投与後 1 日までに消失した。その他の症状および死亡は認められなかった。

体重および剖検では特記すべき変化は認められなかった。

(2) フルミオキサジン水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製2-2)

試験機関: Huntingdon Research Centre Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体: フルミオキサジン水和剤 (フルミオ WDG、ダイロード WDG)

検体純度: 50%水和剤

[組成] フルミオキサジン 50.0%
界面活性剤、鉱物質微粉等 50.0%

供試動物: CD (SD) 系ラット、約 7~10 週齢、体重 230~250 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に溶解して 114.3% w/v の溶液を調製し、刈毛した背腰部皮膚の約 50 × 50 mm の範囲に 2000 mg/kg の用量 (投与液量 1.75 mL/kg) で塗布した。適用部位はガーゼで覆い、不浸透性の包帯で固定した。塗布 24 時間後、適用部位を温水で洗浄し、皮膚に残った検体は吸い取り紙で拭き取って除去した。

観察・検査項目: 中毒症状、生死および適用部位の皮膚の刺激性変化を 14 日間観察した。体重は投与日、投与後 7 および 14 日に測定した。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実施した。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 > 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状、体重および剖検においても特記すべき変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に刺激性変化は認められなかった。

(3) フルミオキサジン水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製 2-3)

試験機関 : Huntingdon Research Centre Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検 体 : フルミオキサジン水和剤 (フルミオ WDG、ダイロード WDG)

検体純度 : 50%水和剤

[組成]	フルミオキサジン	50.0%
	界面活性剤、鉱物質微粉等	50.0%

供試動物 : ニュージーランドホワイト種雄ウサギ、1群 6匹

使用時週齢 ; 約 12~13 週齢、使用時体重 ; 2.8~3.0 kg、

観察期間 : 4 日間

投与方法 : 0.5 g の検体を刈毛した動物の無傷の背腰部皮膚に適用し、0.5 mL の蒸留水で湿らせたガーゼで覆い、半閉塞貼付した。曝露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は水で洗浄して除去した。

観察項目 : 貼付除去後約 30 分、1、2、3、および 4 日に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、以下の評価基準に従って採点した。

評価基準

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表に示す。

貼付除去の約 30 分後、6 例全例に紅斑 (評点 1)、内 1 例に浮腫 (評点 1) が認められた。6 例中 5 例の皮膚反応は貼付除去後 1 日に、残りの 1 例は貼付除去後 4 日に消失した。

従って、本検体をウサギの無傷皮膚に適用した結果、一過性の軽度の皮膚刺激反応が認められた。申請者注 1

申請者注 1 : Draize¹⁾ の方法をもとに、皮膚刺激性の評価を行なった結果、フルミオキサジン水和剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性ありと判定した。

1) Draize, J. H., Woodard, G and Calvery, H. O. ; J. Pharmacol. Exp. Therap., 82, 377-390 (1944)

表 フルミオキサジン水和剤のウサギの皮膚に対する局所反応の強さ

動物 番号	項 目	最高 評点	検体除去後の経過時間				
			約 30 分	1 日	2 日	3 日	4 日
2809	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2810	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2811	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
	浮腫	4	1	1	1	0	0
2812	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2813	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
2814	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	1	1	1	0
	浮腫	24	1	1	1	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.00	0.17	0.17	0.17	0.00
	浮腫	4	0.17	0.17	0.00	0.00	0.00

(4) フルミオキサジン水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製2-4)

試験機関 : Huntingdon Research Centre Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検 体 : フルミオキサジン水和剤 (フルミオ WDG、ダイロード WDG)

検体純度 : 50%水和剤

[組成]	フルミオキサジン	50.0%
	界面活性剤、鉱物質微粉等	50.0%

供試動物 : ニュージーランドホワイト種雌ウサギ、1群 6匹

使用時週齢 ; 約 12~13 週齢、使用時体重 ; 2.8~3.0 kg、

観察期間 : 7 日間

投与方法 : 片側の眼瞼結膜嚢に 1匹あたり 0.1 mL 容量 (約 50 mg) 適用した。無処置の他眼を対照とした。

観察項目 : 適用 1 時間、1、2、3、4 および 7 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、FIFRA の試験基準に従って採点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点の結果を表に示す。

角膜および虹彩には観察期間を通して刺激性変化は認められなかった。

適用 1 時間後、6 例中 2 例の結膜に評点 2 の発赤、残りの 4 例に評点 1 の発赤、6 例全例に評点 1 の結膜浮腫および評点 1 の眼脂分泌が認められた。これらの局所反応は適用 48 時間後には全て消失した。

従って、FIFRA の試験基準によれば、本検体をウサギの眼に適用した結果、6 例中 2 例に陽性反応が認められた。申請者注 1

申請者注 1 : Kay and Calandra らの方法¹⁾をもとに、眼刺激性の評価を行なった結果、フルミオキサジン水和剤はウサギの眼に対してごく軽度の刺激性ありと判定した。

1) Kay, J.H. and Calandra, J.C. ; J. Soc. Cosmet. Chem., 13, 281-289 (1962)

表 フルミオキサジン水和剤のウサギの眼に対する局所反応の強さ

項目	最高 評点*	適用後の経過時間							
		1時間	1日	2日	3日	4日	7日		
動物 番号 2730	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	1	0	0	0	0
動物 番号 2742	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	1	0	0	0	0
動物 番号 2743	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	1	0	0	0	0
動物 番号 2744	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	1	0	0	0	0
動物 番号 2746	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	0	0	0	0	0
動物 番号 2748	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	1	0	0	0	0
合 計		660	40	22	0	0	0	0	
平 均		110	6.67	3.67	0	0	0	0	

*: 判定基準の最高評点

(5) フルミオキサジン水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製2-5)

試験機関 : Huntingdon Research Centre Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検 体 : フルミオキサジン水和剤 (フルミオ WDG、ダイロード WDG)

検体純度 : 50%水和剤

[組成]	フルミオキサジン	50.0%
	界面活性剤、鉍物質微粉等	50.0%

供試動物 : Dunkin/Hartley 系雌モルモット、入荷時週齢 : 5~7 週齢、

投与開始時体重 435~578 g、検体処理群 20 匹、対照群 10 匹

観察期間 : 感作開始後 25 日間

試験操作 : [Maximization 法]

投与量設定根拠

検体処理群

感作 ; 肩甲部を刈毛し、3 対 (等量の注射用水とフロイント完全アジュバント (FCA) の混合物、注射用水中 1% w/w の検体、FCA と注射用水の割合 50 : 50 の混合物で 1% w/w の検体) の皮内注射をした (0.1 mL/箇所)。その 1 週間後、刈毛、剃毛した肩甲間部に検体約 0.4 mL を含ませた濾紙 (2 × 4 cm) を 48 時間閉塞貼付した。

惹起 ; 最終感作の 2 週間後、刈毛、剃毛した左腹側部の前方部に、蒸留水中 60% w/w の検体約 0.2 mL を濾紙 (2 × 2 cm) に含ませて 24 時間閉塞貼付した。同様の方法で、蒸留水中 30% w/w の検体を後方に適用した。

対照群

感作段階で検体を省いて処置した以外は、全て検体処理群と同様に処置した。

観察項目 : パッチ除去後 24、48 および 72 時間に適用部位の紅斑および浮腫の程度を観察し、評価基準に従って採点した。惹起で観察された皮膚反応が対照群の動物で

認められた最大の反応に比べて、明らかに顕著な、または、持続性の反応であった場合に陽性、わずかであるがより顕著な、または、持続性の反応であった（しかし明瞭に区別できない）場合に確定的ではない、同程度であるか、軽度な、または、持続性のない反応であった場合に感作性なしと判断した。その他、全動物について一般症状を毎日観察し、体重を投与開始時および最終観察終了時に測定した。

結果：観察時に皮膚反応が認められた動物数およびその評点を次頁の表に示した。皮膚反応は、検体処理群 20 例中 18 例と対照群で同様であった。その他の 2 例については、確定的ではない反応が認められた^{申請者注 2}。陽性対照としては 1986～1990 年に年 2～3 回、試験実施施設で行ったホルマリンを用いた実験結果を用いた。

従って、検体がモルモットにおいて皮膚感作性を示すいかなる証拠も得られなかったと結論した。

申請者注 2：確定的ではないと判定された検体処理群 2 例で認めた反応（惹起部位の小さな範囲に限定された軽度の紅斑）については、対照群 1 例でも同様の反応を認めていることから、この試験の結論としては皮膚感作性なしと判断した。

群	感作	惹起	供試動物数	皮膚反応	感作反応動物数												陽性率 (%)						
					24時間後					48時間後					72時間後								
					皮膚反応評点 ^{a)}					皮膚反応評点 ^{a)}					皮膚反応評点 ^{a)}								
					0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計		0	1	2	3	4	計
検体	皮内： 1%検体 経皮： 検体	30%検体	20	紅斑	18	2 ^{b)}	0	0	0	2/20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	10
				浮腫	20	0	0	0	0	2/20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	
		60%検体	20	紅斑	18	2 ^{b)}	0	0	0	2/20	18	2 ^{b)}	0	0	0	2/20	19	1 ^{b)}	0	0	0	1/20	10
				浮腫	20	0	0	0	0	2/20	20	0	0	0	0	2/20	20	0	0	0	0	1/20	
	皮内： 溶媒 経皮： 濾紙のみ	30%検体	10	紅斑	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0
				浮腫	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	
		60%検体	10	紅斑	9	1 ^{b)}	0	0	0	1/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	10
				浮腫	10	0	0	0	0	1/10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	

検体：フルミオキサジン水和剤

a) 紅斑： 0 紅斑なし、 1 軽度の紅斑、 2 はっきりした紅斑、 3 中等度紅斑、 4 重度紅斑からわずかな痂皮形成
 浮腫： 0 浮腫なし、 1 軽度浮腫、 2 はっきりした浮腫、 3 中等度浮腫、 4 重度浮腫

b) 局所的な皮膚反応（惹起部位の小さな範囲に限定された皮膚反応）

IX. 動植物および土壌等における代謝・分解

<代謝・分解試験一覧表>

資料No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
I-1	代謝・分解 (動物) [吸収・ 排泄]	ラット	経口投与	7α-EG標識体: 1回投与: 低用量 1 mg/kg 高用量 100 mg/kg 連続投与: 非標識体1 mg/kgを14日間, その後標識体1 mg/kgを 1回投与	・7α-EGは速やかに糞、尿中に排泄され(7日後 ¹⁴ C排泄: 97.9~102.3%), 雌は尿への排泄多い。高用量では糞への排泄多い。 ・組織残留値は全般的に低く、比較的高濃度で検出された血球、血液、 肝臓及び腎臓で各々2.8~3.0 ppm、1.5~1.7 ppm、0.52~0.71 ppm、 0.40 ppm 7α-EG相当量(高用量群)。 ・糞・尿中の代謝物として35種類以上生成。 ・主要代謝反応はイミド結合及びベンゾキソリン環のアミド結合の開裂、シロキソ 環あるいよシロキソリン環の水酸化、3,4,5,6-テトラドローキソリンの1,2位二重結合 の還元、アミノ誘導体のアミノ基のアセチル化、3,4,5,6-テトラドローキソリンの 1,2位二重結合への亜硫酸の付加。	住友化学 (1993年)	275
I-2	代謝・分解 (動物) [吸収・ 排泄]	ラット	経口投与	7β-EG標識体: 1回投与: 低用量 1 mg/kg 高用量 100 mg/kg 連続投与: 非標識体1 mg/kgを14日間, その後標識体1 mg/kgを 1回投与	・7β-EGは速やかに糞、尿中に排泄され(7日後 ¹⁴ C排泄: 96.4~99.4%), 雌は尿への排泄多い。 ・組織残留値は全般的に低く、比較的高濃度で検出された血球、血液、 肝臓及び腎臓で各々2.2~2.3 ppm、1.0~1.1 ppm、0.30~0.32 ppm、 0.39~0.46 ppm 7β-EG相当量(高用量群)。 ・糞・尿中の代謝物として29種類以上生成。 ・主要代謝反応はイミド結合及びベンゾキソリン環のアミド結合の開裂、シロキソ 環あるいよシロキソリン環の水酸化、3,4,5,6-テトラドローキソリンの1,2位二重結合 の還元、アミノ誘導体のアミノ基のアセチル化、3,4,5,6-テトラドローキソリンの 1,2位二重結合への亜硫酸の付加。	住友化学 (1994年)	286
I-3	代謝・分解 (動物) [胆汁排泄]	ラット	経口投与	7β-EG標識体: 1回投与: 1.0 mg/kg	・ ¹⁴ C排泄は雌雄ともに速やかで、3日後に90%以上が尿・糞、胆汁に。 尿中 ¹⁴ C: 41~43%, 胆汁中 ¹⁴ C: 39~43%。性差なし。 ・吸収率: 80(雌)~85(雄)%。	住友化学 (1997)	296
I-4	代謝・分解 (動物) [胆汁排泄]	雌ラット	経口投与	7α-EG標識体: 1回投与: 1000 mg/kg	・投与後3日までに投与した放射能のほとんど(84.7%)が糞中に排泄され た。 ・投与後3日までに、胆汁中(5.2%)および尿中(6.8%)に排泄され、 一部、残屍体(0.3%)および消化管内容物中(0.6%)に残存した。 ・吸収率: 12.3%(尿、胆汁および残屍体中の放射能の合計より算出)。	住友化学 (2012)	302
I-5	代謝・分解 (動物) [薬物動態]	ラット	経口投与	7β-EG標識体: 1回投与: 低用量 1.0 mg/kg 高用量 100 mg/kg	・血中 ¹⁴ C濃度 <低用量> 雄: T _{max} =4時間, C _{max} =0.255 ppm, T _{1/2} =12時間 雌: T _{max} =4時間, C _{max} =0.213 ppm, T _{1/2} =12時間 <高用量> 雄: T _{max} =16時間, C _{max} =5.534 ppm, T _{1/2} =28時間 雌: T _{max} =8時間, C _{max} =4.714 ppm, T _{1/2} =46時間	住友化学 (1997)	304

資料No. 欄: アンダーラインは未評価の試験成績を示す。

資料No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投 与 量	結 果 概 要	試験機関 (報告年)	頁
I-6	代謝・分解 (動物) [組織分布]	ラット	経口投与	THP標識体: 1回投与: 低用量 1.0 mg/kg 高用量 100 mg/kg	・組織14C濃度 <低用量> Tmax=4時間(雄、雌) 肝臓: Cmax=0.612(雄)~0.761(雌) ppm 血漿: Cmax=0.246(雄)~0.204(雌) ppm 腎臓: Cmax=0.340(雄)~0.483(雌) ppm 全血: Cmax=0.186(雄)~0.179(雌) ppm その他: Cmax=0.026~0.349(雄雌) ppm <高用量> Tmax=16(雄)~8(雌)時間 肝臓: Cmax=7.265(雄)~11.010(雌) ppm 血漿: Cmax=3.393(雄)~3.981(雌) ppm 腎臓: Cmax=4.622(雄)~5.881(雌) ppm 全血: Cmax=3.500(雄)~3.320(雌) ppm その他: Cmax=0.440~5.685(雄雌) ppm	住友化学 (1997)	307
I-7	代謝・分解 (動物) [経皮吸収]	雌ラット	経口投与 経皮投与	7α ₁₂ H標識体: 1回経口投与; 1, 30mg/kg 1回経皮投与; 200, 800 mg/kg	・経皮投与48時間後の体内吸収は4.0~8.3%であった。 ・血液中14C濃度(最高用量) 経口 Tmax 2時間 Cmax 1.87ppm 経皮 Tmax 24時間 Cmax 1.96ppm	住友化学 (1990)	318
I-8	代謝・分解 (動物) [経皮吸収]	妊娠ラット	経皮投与	7α ₁₂ H標識体: 1回経皮投与; 100 mg/kg	・経皮投与48時間後の体内吸収は7%以下であった。	住友化学 (1991)	323
I-9	代謝・分解 (動物) [経皮吸収]	雄ラット	経皮投与	7α ₁₂ H標識体: 1回経皮投与; 0.02~1mg/10cm ² /ラットの割合で 投与	・経皮投与24時間後の体内吸収は5.46~8.91%であった。	住友化学 (1992)	328
I-10	代謝・分解 (動物) [胎盤透過 性]	妊娠ラット 妊娠ウサギ	経口投与	7α ₁₂ H標識体: 1回経口投与; 30 mg/kg	・投与後24時間目までの排泄 ラット: 76.6% (糞:54.9%, 尿:21.7%) ウサギ: 30.2% (糞:18.3%, 尿:12.0%) ・胎仔、母獣中の最高14C濃度 ラット: 投与後2-4時間、血液:2.73ppm、羊水:1.46ppm、 胎仔:0.782ppm、胎盤:2.03ppm ウサギ: 投与後4時間、血液:1.2ppm、羊水:0.30ppm、 胎仔:0.2ppm、胎盤:0.42ppm	住友化学 (1993)	334

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

資料No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投 与 量	結 果 概 要	試験機関 (報告年)	頁
I-11 (GLP)	代謝・分解 (動物) [胎盤透過性]	妊娠ラット 妊娠マウス	経口投与	7α- ¹⁴ C標識体： 1回経口投与；30 mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> ・¹⁴C排泄ラット 0～24時間：79.7% (糞:60.9%、尿:18.8%) 0～48時間：94.7% (糞:74.0%、尿:20.7%) 0～72時間：95.7% (糞:74.7%、尿:21.0%) マウス 0～24時間：95.8% (糞:72.9%、尿:22.9%) ・胎仔、母獣中の最高¹⁴C濃度 ラット：血液:3.30 ppm (8時間)、血漿:2.80 ppm (4時間)、 羊水:1.19 ppm (4時間)、胎仔:1.05 ppm (1時間)、 胎盤:2.34 ppm (4時間)、子宮:2.08 ppm (4時間) マウス：血液:8.24 ppm (1時間)、血漿:9.07 ppm (1時間)、 羊水:4.80 ppm (1時間)、胎仔:1.72 ppm (1時間)、 胎盤:3.17 ppm (1時間)、子宮:3.73 ppm (1時間) ・組織中放射能濃度の生物学的半減期 ラット：9～69時間 マウス：4～12時間 ・代謝 ラットおよびマウスの糞中の主要成分は未変化体 (投与量の約40%) であり、尿および糞中にはほぼ同様の代謝物が認められた。 	住友化学 (1992)	344
I-12	代謝・分解 (動物) [薬物動態]	妊娠ラット 妊娠ウサギ	経口投与	7α- ¹⁴ C標識体： 反復経口投与；30 mg/kg/日、 1日1回7日間	<ul style="list-style-type: none"> ・血中濃度 血液および血漿中放射能濃度は、妊娠ラットにおいてはそれぞれ4日目 および2日目には概ね定常状態に達することが、また妊娠ウサギにおい ては7日目までに定常状態に達しないことが示唆された。 ・排泄 妊娠ラットおよび妊娠ウサギに投与された放射能は、速やかに尿およ び糞中へ排泄され、ラットは主として糞中へ、ウサギは尿および糞中 へ同程度排泄された。 ・組織内分布 ラットにおいて、7回投与後7時間には子宮、羊水および胎児を除いた すべての組織が血漿より高い放射能濃度を示したが、24時間後には全 ての組織で7時間後と比べて減少した。血球については、放射能の消失 は緩やかであることが示唆され、血液中放射能濃度の結果と一致した。 胎児への放射能の移行は僅かであった。 ・代謝 妊娠ラットおよびウサギの1回・3回・7回投与後24時間以内の尿および 糞においては、未変化のフルミオキサジン、APF、3-OH-S-53482、 4-OH-S-53482、3-OH-S-53482-SA、4-OH-S-53482-SAおよびAc-APFAが検 出された (いずれも2.5KTAR以下)。血漿、血球、肝臓、胎児および羊 水においてもフルミオキサジンと尿および糞と同様の代謝物が検出さ れた (いずれも2.97 ppm以下)。 	ネト・サイエンス (2009)	355

資料 No. 欄：アンダーラインは未評価の試験成績を示す。

資料No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投 与 量	結 果 概 要	試験機関 (報告年)	頁
I-13	代謝・分解 (動物) [薬物動態] PBPKモデル	ラットおよび ヒトの肝ミク ロゾーム	<i>in vitro</i>	<p>7x10⁶標識体： 雌ラット(3匹)より調製した肝ミ クロゾーム ヒト(男性8名および女性7名)の肝 ミクロゾーム(購入品)</p> <p>上記肝ミクロゾーム(1mg/mL)に NADPH(3mM)存在下、¹⁴C-フルミ オキサジンを5、6、20、50および100 μM添加</p>	<p>・ <i>in vitro</i>代謝実験 雌ラットおよびヒトで同様の代謝物の生成が認められ、¹⁴C-フルミオキ サジンの <i>in vitro</i>での代謝に種差は認められなかった。 代謝速度パラメーター： K_m(ng/L)；雌ラット 34.79、ヒト 202.40 V_{max}(ng/h/bw kg)；雌ラット 84.75、ヒト 207.77</p> <p>・ ヒトでの生理学的薬物動態(PBPK)モデル 妊娠ラットのPBPKモデルから妊娠ヒトのPBPKモデルを外挿した。1000 ng/kgの用量におけるラットの吸収率推定値(9%)、<i>in vitro</i>代謝実験 におけるヒトのK_m値(202.40 ng/L)およびV_{max}値(207.77 ng/h/bw kg)、 および文献から得られた生理学的パラメーターを用い、妊娠ヒトの PBPKモデルを開発し、経口投与後の血中および胎児中のフルミオキサ ジン濃度を予測した。 その結果、経口投与後の血中および胎児中フルミオキサジンの最高濃 度は、それぞれ0.61 ppm(1.72 μM)および0.49 ppm(1.38 μM)であ った。1000 ng/kgの用量においても、妊娠ヒトの血中および胎児中の フルミオキサジンは比較的低濃度であり、肝臓のクリアランスが高く、 吸収率が低いことと関連すると考えられた。</p>	住友化学 (2012)	370
I-14	代謝・分解 (動物) [薬物動態] PBPKモデル	ラットおよび ヒトの肝ミク ロゾーム	<i>in vitro</i>	<p>7x10⁶標識体： 雌ラット(3匹)より調製した肝ミ クロゾーム ヒト(男性8名および女性7名)の肝 ミクロゾーム(購入品)</p> <p>上記肝ミクロゾーム(1mg/mL)に NADPH(3mM)存在下、¹⁴C-フルミ オキサジンを5、6、20、50および100 μM添加</p>	<p>・ <i>In vitro</i>代謝実験 雌ラットおよびヒトで同様の代謝物の生成が認められ、¹⁴C-フルミオキ サジンの <i>in vitro</i>での代謝に種差は認められなかった。 代謝速度パラメーター：K_m(ng/L)；雌ラット 34.8、ヒト 202.4 V_{max}(ng/h/bw kg)；雌ラット 84.7、ヒト 207.8</p> <p>・ ヒトでの生理学的薬物動態(PBPK)モデル 妊娠ラットのPBPKモデルから妊娠ヒトのPBPKモデルを外挿した。1000 ng/kgの用量におけるラットの吸収率(12%)、<i>in vitro</i>代謝実験にお けるヒトのK_m値(202.4 ng/L)およびV_{max}値(207.8 ng/h/bw kg)、 および文献から得られた生理学的パラメーターを用い、妊娠ヒトの PBPKモデルを開発し、経口投与後の血中および胎児中のフルミオキサ ジン濃度を予測した。 その結果、経口投与後の血中および胎児中フルミオキサジンの最高濃 度は、それぞれ0.86 ppm(2.43 μM)および0.68 ppm(1.92 μM)であ った。1000 ng/kgの用量においても、妊娠ヒトの血中および胎児中の フルミオキサジンは比較的低濃度であり、肝臓のクリアランスが高く、 吸収率が低いことと関連すると考えられた。</p>	住友化学 (2012)	378

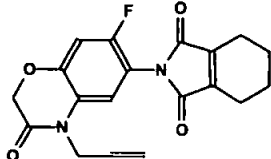
資料No. 欄：アンダーラインは未評価の試験成績を示す。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量 (処理量)	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
II-1	代謝・分解 (植物)	みかん	土壌処理	7-エニル標識体, THP標識体: 処理量 36g a.i./10a/回, 収穫60日前に1回処理 処理時期 果実形成期	・処理した ¹⁴ Cのほとんどが土壌表層に残存し、みかん果実への移行は なく、果肉・果皮中 ¹⁴ C濃度は0.001ppm未満であった。	住友化学 (1997)	385
II-2	代謝・分解 (植物)	ぶどう	土壌処理	7-エニル標識体, THP標識体: 処理量 60g a.i./10a/回, 収穫91日前に1回処理 処理時期 果実形成期	・処理した ¹⁴ Cのほとんどが土壌表層に残存し、ぶどう果実への移行は なく、果実中 ¹⁴ C濃度は0.01ppm未満であった。	Hazleton (1994)	390
II-3 (GLP)	代謝・分解 (植物)	だいず	土壌処理	7-エニル標識体, THP標識体: 処理量 10g a.i./10a/回, 収穫138日前に1回処理 処理時期 播種3日後(発芽前)	・いずれのだいず試料においても検出された ¹⁴ Cは添加量の1.7%以下と僅か であり、土壌から植物への移行は殆ど無かった。 ・青刈り、子実およびさやの ¹⁴ C残留濃度は0.055~0.069ppm, 0.033~0.245 ppmおよび0.060~0.326ppmであった。 ・未変化のフルミオキサジンは青刈りで6.1%TRR (0.004ppm)、子実では 検出限界 (0.004ppm) 未満であった。 ・主要代謝物は1-OH-HPAであり、青刈りおよび子実で遊離体もしくは植物 構成成分との結合型の含量値としてそれぞれ15.3% (0.011ppm) およ び42.2%TRR (0.092ppm) 生成した。 ・主要代謝経路は環状イミドの開環およびアミド結合の開裂に続くテトラ ヒドロフタロイル環の水和であり、最終的に植物構成成分に取り込まれ た。	住友化学 (1993)	393
III-1 (GLP)	代謝・分解 (土壌)	砂土壌 (カリフォルニア州)	土壌混和	7-エニル標識体: 0.26μg/g (乾土重量当たり)	・フルミオキサジンはカリフォルニア州土壌において、消失半減期11.9日で減少 した。 ・フルミオキサジンはpH7.0の酸化または脱7-エニル化により482-CAまた は1MOXAを生成し、環状イミドの開環を経て、それぞれ482-HAおよびAPPを 生成した。 ・これらの代謝・分解物は最終的には ¹⁴ C O ₂ にまで無機化され、処理181 日後には添加 ¹⁴ Cの11.5%に達した。	Hazleton (1991)	403
III-2 (GLP)	代謝・分解 (土壌)	砂土壌 (カリフォルニア州)	土壌混和	THP標識体: 0.25μg/g (乾土重量当たり)	・フルミオキサジンはカリフォルニア州土壌において、消失半減期17.5日で減少 した。 ・フルミオキサジンはpH7.0の酸化または脱7-エニル化により482-CAまた は1MOXAを生成し、環状イミドの開環およびそれに続くアミド結合の開裂を 経て、THPAを生成した。THPAはΔ ¹ -TPAと平衡状態を保った。 ・これらの代謝・分解物は最終的には ¹⁴ C O ₂ にまで無機化され、処理91 日後には添加 ¹⁴ Cの55.1%に達した。	Hazleton (1993)	409

資料No. 欄: アンダーラインは未評価の試験成績を示す。

資料No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量 (処理量)	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
III-3	土壌吸着性	畑地土壌 (十勝/和歌山/岡山/熊本)	土壌-水系 に添加	フェニル標識体： 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 土壌-水系において、¹⁴C-フルミオキサジンは25±2℃の暗所において24時間以内に平衡に達した。 吸着係数 (K_{oc}^{ad}) : 5.35~60.9 有機炭素吸着係数 (K_{oc}^{ad}) : 239~775 K_{oc}^{ad}値 : 464 	住友化学 (1996)	415
IV-1	分解要因 (水中 光分解)	蒸留水 自然水 (兵庫県 武庫川)	水に添加	フェニル標識体, THP標識体 : 1.0 ppm	<ul style="list-style-type: none"> フルミオキサジンは光により速やかに分解され、蒸留水および自然水中における光分解半減期は各々6.5~7.9時間および1.0~1.4時間であった。 暗条件下での半減期は蒸留水中で73~79時間、自然水中で1.6時間であった。 主要分解反応はイミド環の開裂、フェニル環の開裂、アミド環の開裂並びにシロキサンの開裂、さらに二酸化炭素にまで無機化。 	住友化学 (1997)	420
IV-2 (GLP)	分解要因 (加水分解)	各種緩衝液： pH 5, 7, 9	各種緩衝液に添加	フェニル標識体 : 0.1 ppm (pH 5, 7, 9)	<ul style="list-style-type: none"> フルミオキサジンの加水分解半減期はpH 5で5.06日、pH 7で24.6時間、pH 9で22.0分であった。 pH 5, 7における主要分解物はAPFであり、処理30日後に86.8%、80.0%に達した。pH 9においては、482-HAが唯一の分解物で処理30日後に98.5%となった。 主要分解反応は環状イミドの開裂及びそれにつづくアミド結合の開裂。 	住友化学 (1990)	433
IV-3 (GLP)	分解要因 (加水分解)	各種緩衝液： pH 5, 7, 9	各種緩衝液に添加	THP標識体 : 0.1 ppm (pH 5, 7, 9)	<ul style="list-style-type: none"> フルミオキサジンの加水分解半減期はpH 5で3.43日、pH 7で21.4時間、pH 9で14.6分であった。 pH 5, 7における主要分解物はTHPAであり、処理30日後に95.5%、83.6%に達した。pH 9においては、482-HAが唯一の分解物で処理30日後に96.2%となった。 主要分解反応は環状イミドの開裂及びそれにつづくアミド結合の開裂。 	住友化学 (1990)	439

代謝分解試験に使用した検体の標識位置選定理由：

由来	名称(略称)	化学名	構造式
親化合物	フルミオキサジン S-482 S-53482, V-53482 SB-1855	N-(7-fluoro-3,4-dihydro-3-oxo-4-prop-2-ynyl-2H-1,4-benzoxazin-6-yl)cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximide	
動物 植物 土壌 加水分解 水中光分解	482-HA		
動物	SAT-482		
動物	SAT-482-HA		
動物	SAT-482-HA-2		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
動物	3-OH-S-53482 3-OH		
動物	3-OH-SAT-482		
動物	3-OH-S-53482-SA 3-OH-SA		
動物	4-OH-S-53482 4-OH		
動物	4-OH-SAT-482		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

由来	名称(略称)	化学名	構造式
動物	4-OH-S-53482-SA 4-OH-SA		
土壌	482-CA		
土壌	IMOX A		
水中光分解	482-PHO		
水中光分解	PHO-HA		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

由来	名称(略称)	化学名	構造式
動物	3-OH-S-53482A-SA 3-OH-A-SA		
動物 植物 土壌 加水分解 [水中光分解] ^{*)}	APF		
動物	Ac-APFA		
動物 土壌 加水分解 水中光分解	Δ^1 -TPA		

*) 分解経路より中間体として生成することが推測される。

由来	名称(略称)	化学名	構造式
動物 植物 土壌 加水分解 水中光分解	THPA		
動物 植物	1-OH-HPA		
水中光分解	アジピン酸		

1. 動物における代謝分解

(1) フルミオキサジンのラットにおける代謝

(資料 I-1)

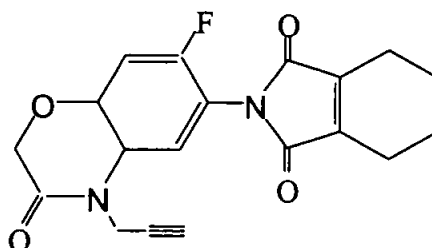
試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年（改訂：1996年）

標識化合物

化学名：N-(7-fluoro-3,4-dihydro-3-oxo-4-prop-2-ynyl-2H-1,4-benzoxazin-6-yl)
cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximide

化学構造：



放射化学的純度：

比放射能：

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

1回投与試験：7週齢、体重；雄238~255g、雌166~186g

連続投与試験：5週齢、体重；雄127~130g、雌117~128g

試験方法：

《代謝》

[1回投与試験]

phenyl基¹⁴Cで標識したフルミオキサジン（溶媒：コーンオイル）をSD(Sprague-Dawley)系雌雄ラット（7週齢）に1mg/kg（低用量群）、あるいは100mg/kg（高用量群）の割合で1回経口投与し、投与後7日目までの糞尿中¹⁴C排泄量、および7日目の組織中¹⁴C残留量の定量ならびに糞尿中代謝物の同定、定量を行った。

[連続投与試験]

非標識フルミオキサジンをSD(Sprague-Dawley)系雌雄ラット（5週齢）に1mg/kg/日の割合で14日間、1日1回経口投与し、最終投与24時間後に標識したフルミオキサジンを1mg/kgの割合で1回経口投与した。標識したフルミオキサジンを投与後の検討内容は、1回投与試験の場合と同様に行った。

なお、呼気への排泄については予備試験の結果、呼気中 ^{14}C 排泄量が投与量の 0.1% 以下であったので、本試験では検討しなかった。

【投与量設定根拠】

試験結果：

【一般症状】

すべての群において、どの観察時点においてもラットに異常行動や毒性症状は認められなかった。

【 ^{14}C 排泄】

すべての群において、 ^{14}C は速やかに、ほぼ完全に尿糞中に排泄された。投与後 7 日間の総 ^{14}C 回収率は、低用量群において雄 102.3% (糞: 71.5%、尿 30.8%)、雌 99.2% (糞: 56.4%、尿 42.8%)、高用量群において雄 98.2% (糞: 85.2%、尿 13.0%)、雌 101.5% (糞: 78.1%、尿 23.4%)、連続投与群において雄 97.9% (糞: 69.3%、尿 28.6%)、雌 98.9% (糞: 59.6%、尿 39.3%) であった (表 1)。

高用量群の糞中への ^{14}C 排泄の比率は、低用量群および連続投与群と比較して雌雄どちらも有意に高かった ($p < 0.001$) が、低用量群および連続投与群の間には ^{14}C 排泄パターンに統計学的な有意差は認められなかった。

すべての群において、雌の尿中への ^{14}C 排泄は雄と比較して有意に高かった ($p < 0.001$)。

[組織中 ^{14}C 残留濃度]

投与後7日目の ^{14}C 残留量は概して非常に低く、すべての組織において、低用量群および連続投与群では50 ng フルミタジン相当/g 湿組織 (ppb) 以下であり、高用量群では3100 ppb 以下であった。すべての群で血球が ^{14}C 残留レベルの最高値を示し、その値は低用量群で48.3-48.7 ppb、連続投与群で35.9-39.7 ppb、また高用量群では2820-3040ppbであった。さらに、すべての群の雌雄ともに、血液、心臓、腎臓および肝臓において他の組織と比べて ^{14}C 残留レベルが高かった。血液、心臓、腎臓および肝臓の ^{14}C 残留レベルは、低用量群においてそれぞれ22.3-22.4、13.3-13.6、14.6-16.0 および12.2-19.4 ppb、高用量群においてそれぞれ1533-1675、239-271、397、および523-713ppb、連続投与群においてそれぞれ20.5-23.4、8.9-9.9、11.2-11.9、および13.2-24.3 ppb であった(表2、3)。すべての群において、雌雄間の肝臓の ^{14}C 残留レベルに統計学的有意差が認められ(低用量群および連続投与群で $P < 0.001$ 、高用量群で $P < 0.05$) 雌よりも雄のほうが高レベルであった。しかし、肝臓中の ^{14}C 残留レベルは低く、血球に比べて約1/3から1/5程度であった。13週間連続投与の亜急性毒性試験(資料4-1)における雄の1000 ppm 以上および雌の3000ppm において、肝臓対屠殺時の体重の比率が増加する傾向が見られたが、肝臓中 ^{14}C 残留レベルは非常に低かったので、この性差による毒性学的意義は考えられない。

[糞、尿中代謝物]

投与後2日間の糞および尿中の代謝物をそれぞれ少なくとも27および24種類、合計35種類を見だし、そのうち7種類の代謝物を同定し、代謝経路を推定した(図1)。

フルミタジンは広範囲にわたり代謝されており、全投与群に共通して投与量5%以上を占める代謝物は、3-OH-S-53482-SA (7-fluoro-6-(1-sulfo-3-hydroxy-1,2-cyclohexanedicarboximido)-4-(2-propynyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)one、

6.9-18.6%)のみであった。この他に低用量群では、

APF (6-amino-7-fluoro-4-(2-propynyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)one、1.8-6.8%) および Ac-APFA (4-acetylamino-5-fluoro-2-(2-propynylamino)phenoxyacetic acid、2.0-5.9%) が、投与量5%以上を占める代謝物として認められた。また、低用量群と連続投与群において、

4-OH-S-53482-SA (7-fluoro-6-(1-sulfo-4-hydroxy-1,2-cyclohexanedicarboximido

)-4-(2-propynyl)-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)one、2.9-7.0%) が、投与量 5%以上を占める代謝物として認められた (表 4)。各代謝反応の割合を表 5 に示す。

主要な代謝反応は 1) 3, 4, 5, 6-tetrahydrophthalimide 側の cyclohexane 環または cyclohexene 環の水酸化、2) imide の開裂、3) benzoxazinone 環の amide 結合の開裂、4) aniline 誘導体の amino 基におけるアセチル化、

5) 3, 4, 5, 6-tetrahydrophthalimide 側への亜硫酸の付加であった。

糞中の主要代謝物は亜硫酸誘導体であり、尿中では、亜硫酸誘導体、アルコール誘導体、およびアセトアニリド誘導体であった。

性差や投与量の違いによって量的に異なる代謝物が、少量ではあるがいくつか検出された。しかし、これらの代謝物の量は非常に少ないため、この違いは実際には安全性上問題がないと考えられる。

高用量群においては親化合物の糞中排泄率が高かったが、おそらくフルミタジンの投与量が多かったため、ラットの体内に完全には吸収されなかったからであろう。

また、このことが、高用量群は、低用量群および連続投与群に比べて、フルミタジンの糞中排泄率が高いという理由であろう。

表1 [phenyl-¹⁴C]カサチザンをラットに1回あるいは
連続経口投与後7日間の糞および尿中への累積¹⁴C排泄量^{a)}

性別	投与後の 時間	1回投与						連続投与 ^{b)}		
		1 (mg/kg)			100 (mg/kg)			1 (mg/kg/日)		
		糞	尿	計	糞	尿	計	糞	尿	計
雄	6時間	---	8.8	8.8	---	2.6	2.6	---	14.6	14.6
	1日	56.9	29.4	86.3	70.6	11.7	82.3	59.8	27.3	87.1
	2日	70.4	30.3	100.7	84.7	12.8	97.4	68.4	28.1	96.5
	3日	71.0	30.5	101.5	85.0	12.9	97.9	68.9	28.3	97.2
	5日	71.3	30.6	101.9	85.1	12.9	98.0	69.2	28.4	97.6
	7日	71.5	30.8	102.3	85.2	13.0	98.2	69.3	28.6	97.9
雌	6時間	---	11.4	11.4	---	6.2	6.2	---	16.4	16.4
	1日	45.1	41.1	86.2	52.8	20.0	72.8	46.6	37.2	83.8
	2日	55.2	42.3	97.5	76.8	22.9	99.7	58.4	38.8	97.3
	3日	55.9	42.5	98.5	77.8	23.2	101.0	59.2	39.0	98.2
	5日	56.2	42.7	98.9	78.0	23.3	101.3	59.4	39.1	98.6
	7日	56.4	42.8	99.2	78.1	23.4	101.5	59.6	39.3	98.9

数字は5匹の平均値を示す。

a) : 投与量に対する割合

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

表2 [phenyl-¹⁴C]フルニチザンをラットに1回あるいは
連続経口投与後7日目の組織中¹⁴C残留量^{a)}

組織	1回投与				連続投与 ^{b)}	
	1 (mg/kg)		100 (mg/kg)		1 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	6.4	5.5	228	212	5.0	4.7
血液	22.3	22.4	1675	1533	20.5	23.4
血球	48.3	48.7	3040	2823	35.9	39.7
骨	0.8	0.8	42	37	0.9	0.7
骨髓	2.8	2.0	256	192	3.5	2.9
脳	4.1	3.7	73	93	2.6	2.7
屍体残渣	6.3	4.9	265	280	6.3	4.8
脂肪	1.0	1.3	84	68	0.9	1.5
心臓	13.6	13.3	239	271	9.9	8.9
腎臓	16.0	14.6	397	397	11.9	11.2
肝臓	19.4	12.2	713	523	24.3	13.2
肺	8.9	8.4	273	332	7.4	7.7
筋肉	4.9	4.4	117	149	4.2	3.9
卵巣	---	2.4	---	111	---	2.4
膵臓	3.9	3.1	102	173	2.9	3.6
血漿	0.5	0.5	53	37	0.7	0.5
脾臓	7.3	6.1	243	280	6.1	5.5
精巣	4.2	---	115	---	3.3	---
甲状腺	9.9	10.5	326	807	9.5	15.8
子宮	---	1.2	---	80	---	1.5

数字は5匹の平均値を示す。

a) : ng フルニチザン相当量/g 湿組織

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

--- : 測定しなかった。

表3 [phenyl-¹⁴C]ガミホサジンをラットに1回あるいは連続経口投与後7日目の組織中¹⁴C残留量^{a)}

組織	1回投与				連続投与 ^{b)}	
	1 (mg/kg)		100 (mg/kg)		1 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
血液	0.17	0.17	0.13	0.12	0.16	0.15
脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
屍体残渣	---	---	---	---	---	---
脂肪	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
心臓	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01
肝臓	0.09	0.05	0.03	0.02	0.08	0.05
肺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
卵巣	---	0.00	---	0.00	---	0.00
膵臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精巣	0.00	---	0.00	---	0.00	---
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子宮	---	0.00	---	0.00	---	0.00

数字は5匹の平均値を示す。

a) : 投与量に対する割合 (%)

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

--- : 測定しなかった。

表4 [phenyl-¹⁴C]ファミリザンをラットに1回あるいは連続経口投与後2日間の糞尿中代謝物の量^{a)}

代謝物	1回投与								連続投与 ^{b)}			
	1 (mg/kg)				100 (mg/kg)				1 (mg/kg/日)			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿
未知-1	1.0	---	0.9	---	0.1	---	0.0	---	0.4	---	0.4	---
ファミリザン	0.2	0.1	0.2	0.2	50.9	0.1	46.2	0.4	0.2	0.1	5.0	0.2
未知-2	0.5	0.1	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2
未知-34	---	0.4	---	0.6	---	---	---	---	---	0.3	---	0.6
APF	1.6	0.9	1.4	5.4	0.9	0.9	0.7	3.3	1.0	2.8	0.9	3.5
3-OH	1.1	2.1	0.9	3.0	0.8	1.5	0.6	2.5	1.5	1.6	1.0	3.5
4-OH	0.9	1.1	0.9	2.1	0.8	1.0	1.0	2.2	1.4	0.9	1.7	2.0
未知-3	1.2	1.8	1.2	2.4	0.3	0.4	0.3	0.7	0.6	1.5	0.5	2.6
未知-4	1.3	1.8	1.0	2.0	1.3	0.8	1.1	1.5	2.1	1.2	2.2	2.3
未知-5	1.1	---	1.3	---	0.7	---	0.5	---	1.3	---	1.0	---
未知-6	---	2.1	---	2.2	---	0.6	---	1.0	---	1.9	---	2.7
未知-7	0.9	---	0.8	---	0.4	---	0.5	---	1.1	---	1.1	---
未知-8	0.9	2.2	0.9	2.0	0.5	0.9	0.4	1.4	1.3	1.5	1.1	2.2
未知-9	0.8	1.8	0.5	3.1	0.7	0.6	0.6	1.2	1.0	1.7	1.4	3.4
未知-10	1.8	1.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.3	0.6	1.1	0.9	0.7	0.7
Ac-APFA	1.6	4.3	0.7	3.3	0.9	1.3	0.5	1.5	1.5	3.8	1.0	3.5
未知-12	0.9	---	0.4	---	0.4	---	0.2	---	0.9	---	0.5	---
未知-13	---	0.9	---	1.0	---	0.2	---	0.4	---	0.8	---	0.9
未知-14	1.1	---	1.0	---	0.4	---	0.3	---	1.0	---	0.7	---
未知-15	4.3	1.0	4.2	1.8	2.3	0.3	1.9	0.5	4.9	1.0	3.5	1.3
未知-16	2.4	0.4	1.4	0.6	1.1	0.2	0.8	0.3	2.3	0.3	1.5	0.3
3-OH-SA	12.3	2.1	12.9	5.7	5.7	1.2	6.0	2.1	11.1	2.3	8.5	3.1
4-OH-SA	4.1	1.1	4.9	2.1	2.4	0.5	2.4	0.7	4.9	1.1	3.4	1.3
未知-19	3.7	0.4	2.2	0.7	1.4	0.2	0.8	0.3	3.4	0.3	2.8	0.7
未知-20	1.2	---	0.9	---	0.3	---	0.4	---	0.9	---	0.5	---
未知-21	1.6	---	1.3	---	0.6	---	0.8	---	1.7	---	1.2	---
3-OH-A-SA	3.0	1.0	1.4	1.0	1.4	0.4	0.9	0.5	2.8	1.0	1.4	0.5
未知-23	1.9	---	0.5	---	0.6	---	0.6	---	2.3	---	1.4	---
未知-24	1.3	---	1.3	---	0.8	---	0.9	---	1.5	---	1.3	---
未知-25	1.9	---	2.5	---	1.1	---	1.3	---	2.2	---	1.8	---
未知-26	1.9	---	1.3	---	0.9	---	0.7	---	1.8	---	1.2	---
未知-27	---	0.6	---	0.7	---	0.2	---	0.3	---	0.5	---	0.7
未知-29	---	0.8	---	0.5	---	0.2	---	0.4	---	0.6	---	0.6
未知-30	---	0.6	---	0.5	---	0.2	---	0.2	---	0.6	---	0.6
未知-31	---	0.4	---	0.4	---	0.2	---	0.3	---	0.5	---	0.4
未知-32	---	0.4	---	0.2	---	0.2	---	0.2	---	0.4	---	0.5
その他	5.1	0.5	4.1	0.3	2.6	0.3	2.4	0.3	4.5	0.6	3.8	0.6
未抽出物	8.9	---	2.8	---	3.9	---	3.6	---	7.8	---	6.9	---
合計	70.4	30.3	55.2	42.3	84.7	12.8	76.8	22.9	68.4	28.1	58.4	38.8

数字は5匹の平均値を示す。

- a) : 投与量に対する割合
- b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。
- : 検出されなかった。

フルミオキサジン : N-(7-fluoro-3,4-dihydro-3-oxo-4-prop-2-ynyl-2H-1,4-benzoxazin-6-yl)
cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximide

APF :

3-OH :

4-OH :

Ac-APFA :

3-OH-SA :

4-OH-SA :

3-OH-A-SA :

表5 ラットにおける [phenyl-¹⁴C] フルミタジンの代謝反応割合^{a)}

代謝反応	1回投与				連続投与 ^{b)}	
	1 (mg/kg)		100 (mg/kg)		1 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
イミド結合の開裂	8.4	10.8	4.0	6.0	9.1	8.9
アミド結合の開裂	9.9	6.4	4.0	3.4	9.1	6.4
水酸化反応	28.8	34.9	15.7	18.9	28.6	26.4
アセチル化反応	5.9	4.0	2.2	2.0	5.3	4.5
亜硫酸の付加	23.6	28.0	11.6	12.6	23.2	18.2

数字は5匹の平均値を示す(表4より算出した)。

a) : 投与量に対する割合 (%)

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

(2) フルミオキサジンのラットにおける代謝

(資料 I-2)

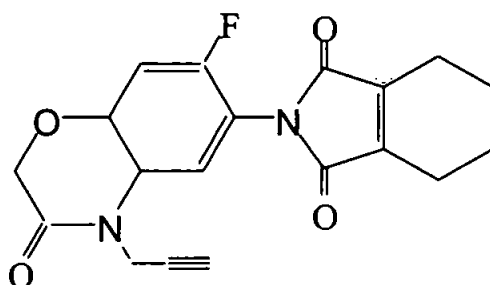
試験機関:住友化学工業株式会社

報告書作成年:1994年

標識化合物

化学名: N-(7-fluoro-3,4-dihydro-3-oxo-4-prop-2-ynyl-2H-1,4-benzoxazin-6-yl)
cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximide

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹

1回投与試験: 7週齢、体重; 雄 217~246g、雌 178~206g

連続投与試験: 5週齢、体重; 雄 117~134g、雌 101~115g

試験方法:

《代謝》

[1回投与試験]

tetrahydrophthaloyl 基を ^{14}C で標識したフルミキサジン (溶媒: コーンオイル) を SD (Sprague-Dawley) 系雌雄ラット (7週齢) に 1mg/kg (低用量群)、あるいは 100mg/kg (高用量群) の割合で 1回経口投与し、投与後 7日目までの糞尿中および投与後 2日目までの呼気中 ^{14}C 排泄量、および 7日目の組織中 ^{14}C 残留量の定量ならびに糞尿中代謝物の同定、定量を行った。

[連続投与試験]

非標識フルミキサジンを SD (Sprague-Dawley) 系雌雄ラット (5週齢) に 1mg/kg/日の割合

で14日間、1日1回経口投与し、最終投与24時間後に標識したフルニチザン[®]を1mg/kgの割合で1回経口投与した。標識したフルニチザン[®]を投与後の検討内容は、1回投与試験の場合と同様に行った。

【投与量設定根拠】

試験結果：

【一般症状】

すべての群において、どの観察時点においてもラットに異常行動や毒性症状は認められなかった。

【¹⁴C 排泄】

すべての群において、¹⁴C は速やかに、ほぼ完全に尿糞中に排泄された。

すべての群において投与後2日間の呼気中¹⁴C 排泄量は投与¹⁴C の0.0%であった。

投与後7日間の総¹⁴C 回収率は、低用量群において雄96.5% (糞:65.8%、尿30.7%)、雌96.4% (糞:59.6%、尿36.8%)、高用量群において雄99.4% (糞:87.5%、尿11.8%)、雌97.5% (糞:83.4%、尿14.1%)、連続投与群において雄97.5% (糞:65.7%、尿31.7%)、雌97.8% (糞:62.5%、尿35.3%) であった(表1)。

高用量群では尿中への¹⁴C 排泄の比率が、低用量群および連続投与群に比較して雌雄どちらも統計学的に有意に低かった($p < 0.001$)。

また、低用量群および高用量群において、雌の尿中への¹⁴C 排泄は雄と比較して有意に高かった(低用量群: $p < 0.005$ 、高用量群: $p < 0.01$)。

【組織中¹⁴C 残留濃度】

投与後7日目の¹⁴C 残留のレベルは概して非常に低く、すべての組織において、低用量群および連続投与群では50 ng フルニチザン[®]相当/g 湿組織(ppb)以下であり、高用量群では2300ppb以下であった。すべての群で血球が¹⁴C 残留レベルの最高値を示し、その値は低用量群で45.5-46.6ppb、連続投与群で41.2-44.8ppb、また高用量群では2175-2268ppbであった。さらに、すべての群の雌雄ともに、血液、心臓、腎臓、肝臓および皮膚において他の組織と比べて¹⁴C 残留濃度が高かった。血液、心臓、腎臓、肝臓および皮膚の¹⁴C 残留濃度は、低用量群においてそれぞれ24.0-24.7、13.6-14.6、16.1-19.2、13.6-14.6および32.1-65.8ppb、高用量群においてそれぞれ1025-1137、226-227、394-461、299-317 および358-1726ppb、連続投与群においてそれぞれ

24.5-25.0、9.0-9.3、12.7-13.9、10.3-12.4 および 8.5-13.8ppb であった (表 2、3)。しかし、高用量群における組織中および血液中の ^{14}C 濃度は投与量に比例して増加しているわけではなかった。

[糞、尿中代謝物]

投与後 2 日間のび尿中の代謝物を少なくとも合計 29 種類見だし、そのうち 10 種類の代謝物を同定し、代謝経路を推定した (図 1)。

高用量群においてフルミタジンは主要化合物であったが、低用量群および連続投与群では少量であった。その値は、低用量群、高用量群および連続投与群でそれぞれ雄 2.8% および雌 1.9%、雄 66.1% および雌 63.0%、雄 1.2% および雌 1.3% であった。全投与群に共通して投与量の 5% 以上を占める代謝物は、3-OH-S-53482-SA (5.7-17.6%) のみであった。代謝物 3-OH-S-53482 (2.5%-6.4%)、4-OH-S-53482 (2.1%-7.0%) および 4-OH-S-53482-SA (2.3%-8.3%) は、低用量群および連続投与群では投与量の 5% 以上を占めたが、高用量群では 5% 以下であった (表 4)。各代謝反応の量を表 5 に示す。

主要な代謝反応は 1) 3, 4, 5, 6-tetrahydrophthalimide 側の cyclohexene 環の水酸化、
2) imide 結合の開裂、3) benzoxazine 環の amide 結合の開裂、
4) 3, 4, 5, 6-tetrahydrophthalimide 部分の二重結合の還元、
5) 3, 4, 5, 6-tetrahydrophthalimide 部分への亜硫酸の付加であった。

主要代謝物は糞中においては亜硫酸誘導体および還元体であり、尿中では亜硫酸誘導体、アルコール誘導体およびジカルボン酸誘導体であった。

高用量群においては、親化合物の糞中排泄率が高かったが、おそらくフルミタジンの投与量が多かったため、ラットの体内に完全には吸収されなかったからであろう。

また、このことが、高用量群は、低用量群および連続投与群に比べて、フルミタジンの糞中排泄率が高いという理由であろう。

表1 [tetrahydrophthaloyl-1,2-¹⁴C]ファミリザンをラットに1回あるいは連続経口投与後7日間の糞および尿中への累積¹⁴C排泄量^{a)}

投与後の 時間		1回投与								連続投与 ^{b)}			
		1 (mg/kg)				100 (mg/kg)				1 (mg/kg/日)			
		糞	尿	呼気	計	糞	尿	呼気	計	糞	尿	呼気	計
雄	6時間	---	16.2	---	16.2	---	3.4	---	3.4	---	10.2	---	10.2
	1日	47.2	29.0	0.0	76.3	72.8	10.8	0.0	83.6	55.8	30.2	0.0	86.0
	2日	64.3	30.0	0.0	94.3	87.1	11.6	0.0	98.7	64.9	31.1	0.0	96.0
	3日	65.3	30.2	---	95.5	87.3	11.7	---	99.0	65.3	31.3	---	96.7
	5日	65.7	30.6	---	96.2	87.5	11.8	---	99.3	65.6	31.6	---	97.2
	7日	65.8	30.7	---	96.5	87.5	11.8	---	99.4	65.7	31.7	---	97.5
雌	6時間	---	19.9	---	19.9	---	4.5	---	4.5	---	16.9	---	16.9
	1日	36.1	34.5	0.0	70.6	56.5	12.5	0.0	69.0	53.1	33.3	0.0	86.5
	2日	57.4	35.8	0.0	93.2	82.6	13.7	0.0	96.2	61.4	34.5	0.0	95.9
	3日	59.1	36.1	---	95.2	83.3	13.8	---	97.1	62.1	34.8	---	96.9
	5日	59.5	36.6	---	96.1	83.4	14.0	---	97.3	62.4	35.1	---	97.5
	7日	59.6	36.8	---	96.4	83.4	14.1	---	97.5	62.5	35.3	---	97.8

数字は5匹の平均値を示す。

a) : 投与量に対する割合

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を 1mg/kg 投与した。

--- : 測定しなかった。(呼気は投与後2日目まで採取した)

表2 [tetrahydrophthaloyl-1, 2-¹⁴C]フルミチザンをラットに1回あるいは連続経口投与後7日目の組織中¹⁴C残留量^{a)}

組織	1回投与				連続投与 ^{b)}	
	1 (mg/kg)		100 (mg/kg)		1 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	7.1	7.8	200	125	5.6	5.0
血液	24.7	24.0	1025	1137	25.0	24.5
血球	45.5	46.6	2175	2268	44.8	41.2
骨	1.5	1.5	39	49	1.9	1.9
骨髓	3.6	3.7	118	154	3.4	4.9
脳	4.0	4.0	63	53	2.5	2.5
屍体残渣	6.8	6.3	241	212	6.2	5.5
眼	2.2	2.1	66	< 60*	1.7	1.6
脂肪	0.9	1.1	< 73*	< 82*	< 0.8*	0.8
心臓	14.6	13.6	226	227	9.3	9.0
腎臓	16.1	19.2	394	461	12.7	13.9
肝臓	14.6	13.6	317	299	12.4	10.3
肺	9.8	10.1	245	291	7.9	7.8
筋肉	6.1	5.7	139	137	4.9	4.8
卵巣	---	3.8	---	118	---	2.9
脾臓	4.4	4.2	108	113	3.5	3.3
下垂体	6.9	< 8.3*	< 979*	< 791*	< 9.4*	< 7.6*
血漿	5.0	7.9	238	307	6.0	6.1
皮膚	32.1	65.8	1726	358	13.8	8.5
脾臓	7.5	7.6	200	209	5.8	5.5
顎下腺	5.3	5.5	113	118	4.1	4.1
精巣	5.1	---	124	---	3.7	---
胸腺	1.3	1.4	39	47	1.0	1.0
甲状腺	11.4	9.8	< 330*	< 446*	6.9	8.8
子宮	---	4.0	---	127	---	3.1

数字は5匹の平均値を示す。

a) : ng フルミチザン相当量/g 湿組織

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

--- : 測定しなかった。

* : 検出限界以下

表3 [tetrahydrophthaloyl-1,2-¹⁴C]フミタジンをラットに1回あるいは連続経口投与後7日目の組織中¹⁴C残留量^{a)}

組織	1回投与				連続投与 ^{b)}	
	1 (mg/kg)		100 (mg/kg)		1 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
血液	0.19	0.18	0.08	0.08	0.21	0.19
脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
屍体残渣	0.65	0.55	0.21	0.16	0.60	0.51
眼	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脂肪	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
心臓	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.01	0.02	0.00	0.00	0.01	0.01
肝臓	0.08	0.07	0.02	0.01	0.07	0.06
肺	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
卵巣	---	0.00	---	0.00	---	0.00
膵臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
下垂体	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
顎下腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精巣	0.01	---	0.00	---	0.00	---
胸腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子宮	---	0.00	---	0.00	---	0.00

数字は5匹の平均値を示す。

a) : 投与量に対する割合 (%)

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

--- : 測定しなかった。

表4 [tetrahydrophthaloyl-1,2-¹⁴C]フamicサジンをラットに1回あるいは連続経口投与後2日間の糞尿中代謝物の量^{a)}

代謝物	1回投与								連続投与 ^{b)}			
	1 (mg/kg)				100 (mg/kg)				1 (mg/kg/日)			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿
フamicサジン	2.2	0.6	1.4	0.5	65.9	0.2	62.7	0.3	0.5	0.7	0.5	0.7
SAT-482	0.6	---	0.6	---	0.2	---	0.3	---	0.6	---	0.5	---
3-OH	2.1	4.1	1.4	3.9	0.4	2.1	0.4	2.0	1.6	4.8	1.4	4.9
4-OH	1.5	4.2	1.5	4.6	0.5	1.6	0.4	2.3	1.5	5.0	1.6	5.4
3-OH-SAT-482	1.0	1.2	0.8	1.2	0.3	0.4	0.3	0.5	0.7	1.2	0.6	1.0
4-OH-SAT-482	2.3	---	2.0	---	0.5	---	0.5	---	1.5	---	1.5	---
THPA	0.3	1.6	0.2	1.1	0.1	0.3	0.1	0.4	0.4	1.0	0.3	1.1
1-OH-HPA-1	0.5	0.8	0.4	1.0	0.2	0.5	0.2	0.6	0.7	1.1	0.7	1.3
3-OH-SA	11.4	4.8	11.5	6.1	3.8	1.9	3.9	2.3	11.5	5.0	11.1	5.7
4-OH-SA	5.2	2.2	5.4	2.4	1.6	0.7	1.5	0.9	6.1	2.1	5.8	2.5
3-OH-A-SA	2.5	0.7	1.5	1.0	0.7	0.1	0.5	0.2	2.9	0.5	2.1	0.5
未知-1	0.3	0.2	0.2	0.3	0.1	0.0	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1
未知-6	1.1	0.8	0.9	1.2	0.3	0.4	0.2	0.4	1.0	0.7	0.8	1.1
未知-7	0.6	---	0.6	---	0.2	---	0.2	---	0.4	---	0.5	---
未知-9	2.4	1.1	1.9	1.4	0.5	0.4	0.6	0.5	2.5	0.9	2.7	1.5
未知-10 (M132)	1.7	1.8	1.7	1.9	0.7	0.7	0.6	0.5	2.2	1.8	1.8	1.4
未知-11	0.7	---	0.9	---	0.1	---	0.1	---	0.6	---	0.6	---
未知-12	4.7	1.1	4.1	2.6	1.3	0.6	1.3	1.0	4.6	1.1	5.0	2.4
未知-13	2.2	---	2.1	---	0.7	---	0.6	---	2.0	---	1.7	---
未知-14	2.7	0.9	1.8	1.4	0.9	0.2	0.5	0.2	2.9	0.6	2.2	0.6
未知-15	0.8	---	0.7	---	0.3	---	0.2	---	0.8	---	0.8	---
未知-16	2.1	---	1.7	---	0.6	---	0.5	---	2.2	---	2.4	---
未知-17	1.6	0.7	1.5	0.8	0.6	0.2	0.3	0.3	2.1	0.7	2.0	1.1
未知-18	1.6	---	1.4	---	0.8	---	0.8	---	2.7	---	3.3	---
未知-19	1.8	---	1.8	---	0.7	---	0.8	---	2.5	---	3.1	---
未知-20	1.1	---	1.1	---	0.4	---	0.3	---	1.3	---	1.2	---
未知-21	---	1.0	---	1.0	---	0.3	---	0.2	---	0.8	---	0.6
未知-22	---	0.8	---	1.1	---	0.3	---	0.2	---	0.6	---	0.5
未知-23	---	0.7	---	1.1	---	0.2	---	0.2	---	0.6	---	0.7
未知-24	---	0.5	---	0.4	---	0.2	---	0.2	---	0.3	---	0.4
その他	3.5	1.4	3.3	1.1	1.0	0.5	1.0	0.4	2.7	1.2	1.8	1.0
未抽出物	5.7	---	4.8	---	3.6	---	3.7	---	6.1	---	5.5	---
合計	64.3	30.0	57.4	35.8	87.1	11.6	82.6	13.7	64.9	31.1	61.4	34.5

数字は5匹の平均値を示す。

- a) : 投与量に対する割合
 - b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。
- : 検出されなかった。

フルミキサジン : N-(7-fluoro-3,4-dihydro-3-oxo-4-prop-2-ynyl-2H-1,4-benzoxazin-6-yl)
cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximide

SAT-482 :

3-OH :

4-OH :

3-OH-SAT-482 :

4-OH-SAT-482 :

THPA :

1-OH-HPA-1 :

3-OH-SA :

4-OH-SA :

3-OH-A-SA :

表5 ラットにおける [tetrahydrophthaloyl-1, 2-¹⁴C] フルミタジンの代謝反応割合^{a)}

代謝反応	1回投与				連続投与 ^{b)}	
	1 (mg/kg)		100 (mg/kg)		1 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
イミド結合の開裂	2.2	2.7	1.1	1.3	3.3	3.5
アミド結合の開裂	3.2	2.4	0.8	0.7	3.4	2.6
水酸化反応	44.5	44.6	15.4	16.4	46.2	46.1
還元反応	6.5	5.9	2.2	2.3	5.8	5.6
亜硫酸の付加	26.7	27.8	8.8	9.2	28.1	27.7

数字は5匹の平均値を示す(表4より算出した)。

a) : 投与量に対する割合 (%)

b) : 非標識体 1mg/kg/日を14日間投与し、その翌日に標識体を1mg/kg投与した。

(3) フルミオキサジンのラットにおける胆汁排泄

(資料 I - 3)

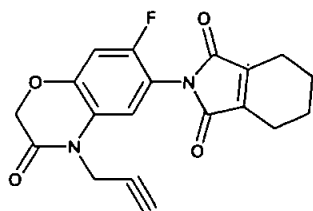
試験機関 : 住友化学工業株式会社

報告書作成年 : 1997 年

標識化合物

化学名 : N-(7-フルオロ-3,4-ジヒドロ-3-オキソ-4-プロパ-2-ニル-2H-1,4-ベンゾキサジン-6-イル)シロヘキサ-1-エン-1,2-ジカルボキシル

化学構造 :



放射化学的純度 : 比放射能 :

試験動物 : SD 系ラット (入荷時に既にカニュレーションを施し胆管導出したもの)、
雌雄各 3 匹。

雄 : 7 週齢、体重 ; 164~183 g

雌 : 7 週齢、体重 ; 165~186g

試験方法 :

《胆汁中および排泄物中の総放射能残留 (TRR) 濃度》

tetrahydrophthaloyl 基を ^{14}C で標識したフルミオキサジンのコーンオイル懸濁液を雌雄ラットに 1.0mg/kg の割合で 1 回経口投与し、投与後 72 時間目までの胆汁、尿、糞、および 72 時間目 (屠殺時点) の消化管内容物を採取した。燃焼法により各試料中の放射能測定し、試料中の総放射能残留 (Total radioactive residue; TRR) 濃度を定量した。

《胆汁中および排泄物中の代謝物の同定》

雌雄別に同一群 3 匹分の各試料をプールし、尿および胆汁試料は直接、糞試料は溶媒で抽出後、HPLC を用いて ^{14}C 代謝物の分析を行った。また、尿および胆汁試料は TLC で展開、分画後、代謝物を各標準物質との HPLC によるクロマトグラフィーによって分析した。

【投与量設定根拠】

試験結果：

《動物の臨床所見》

雄ラットについては、投与時およびどの試料採取（観察）時点においても、異常行動や毒性症状は認められなかった。雌ラットについては、最終試料採取時点（投与後 72 時間）以前に 2 匹が死に、1 匹が瀕死状態であったが、その理由は（1）外科的処置（胆管カニューレション）によるストレス（2）大量の胆汁採取による脱水症状（3）使用した動物の日齢が低く、比較的軽体重だったためと考えられた。これらの事柄を除くと、3 匹の雌ラットすべてから最終採取時間の胆汁はある程度の量が得られた。また、最終的に得られた結果では、放射能の残留分布や物質収支は雌雄間に差はなかったことから、雌ラットにおいて瀕死状態がみられたが、投与後かなり時間経過してからであったので、本試験で得られた知見には何も影響を及ぼさなかったと考えられる。

《胆汁中および排泄物中の総放射能残留（TRR）濃度》

試験の結果、投与した放射性炭素のほとんどが投与後 24 時間以内に尿または胆汁中に排泄された。投与後 72 時間までに尿中へ排泄された TRR 濃度の平均値の投与量に対する割合は、雄および雌ラットでそれぞれ 43 および 41%であった。同様に、胆汁中へ排泄された割合は 43 および 39%であり、糞中へは 6 および 9%であった。また、消化管に残留していた割合は、雄および雌ラットについてそれぞれ 1 および 2%のみであった。これらの分析試料の結果から、投与量に対する放射能の総回収率は、雄および雌ラットについてそれぞれ 92 および 91%であった（表 1）。

本試験で得られた結果から、ラットにおいて経口投与したフルミオキサジン、ほぼ完全に体内に吸収された。また、尿および胆汁に排泄されたものは体内吸収されたと考えられ、その割合が雌雄ほぼ同様であったことから、フルミオキサジンに関連した残留化合物の分布パターンには雌雄間の差は認められなかった。

《胆汁中および排泄物中の代謝物の同定》

ラットにおいて経口投与したフルミオキサジンは、すみやかに、また、広範囲にわたって代謝され、尿、胆汁および糞中に排泄された。

HPLC での分析結果から、個々の代謝物の割合に違いはあったが、これらの試料中の代謝プロファイルはよく似ていることがわかった。尿、胆汁および糞試料において雌雄間の差は認められなかった（表 2）。

尿、胆汁および糞中に 16 個の代謝物が共通して検出された。そのうちの主要代謝物について同定した。主要代謝物は tetrahydrophthalimide 部分の二重結合に亜硫酸基が付加した型の水酸化亜硫酸抱合体（3-OH-S-53482-SA）であった。その類似体である 4-OH 体も認められた。phthalimide 部分が加水分解された型の 482-HA や、それが還元された類似体である SAT-482-HA-2 も少量検出された。

tetrahydrophthalimide 部分が還元された型の 3-OH および 4-OH-SAT-482 も検出された。tetrahydrophthalimide 基が完全に加水分解されて脱離した型の TPA や THPA も認められた。酸性基を 2 つ持つ 3-OH-S-53482A-HA も少量認められた。フルミオキサジンは糞中にのみ、投与量の 1% 以下とごく少量検出された。フルミオキサジンの代謝経路は、主に水酸化、加水分解および tetrahydrophthalimide 部分の二重結合の還元であり、亜硫酸基の付加も見られた。1 種類で投与量の 13% 以上を占める代謝物は認められず、代謝物のほとんどの種類は投与量に対する割合が 1~7% であった。

《経口吸収率》

本試験での経口吸収率は、投与後 7 2 時間目までの尿および胆汁への排泄率の合計値として算出することとした。その結果、経口吸収率は、雄で 85.1%、雌で 80.4% であった。

表1 [tetrahydrophthaloyl-1, 2-¹⁴C] フルミオキサジンをラットに 1.0mg/kg の割合で 1 回経口投与後 72 時間の尿、糞および胆汁への累積 ¹⁴C 排泄量

性	投与後の時間 (hr)	投与量に対する割合 (%)				
		尿 ^{a)}	糞	胆汁	消化管内容物 ^{b)}	合計
雄	6	16.3	0.5	29.0	---	45.6
	24	37.1	2.4	40.8	---	80.3
	48	40.4	3.9	42.2	---	86.5
	72	42.5	6.1	42.6	0.8	92.0
雌	6	23.8	1.4	24.8	---	49.5
	24	37.2	4.1	37.2	---	78.5
	48	39.1	5.7	38.9	---	83.7
	72	41.2	8.7	39.2	1.7	90.8

数字は 3 匹の平均値を示す。

a) は尿+ケージ洗浄液の値を示す。

b) は試料採取最終時点で屠殺した際にのみ採取した。

表2 [tetrahydrophthaloyl-1, 2-¹⁴C] フルミオキサジンをラットに 1.0mg/kg の割合で 1回経口投与後 72 時間の尿、糞および胆汁中代謝物 ^{a)}

代謝物		投与量に対する割合 (%)							
		尿		糞		胆汁		合計	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	NA	0.7	1.3	0.2	0.2	ND	ND	0.9	1.5
2	3-OH-S-53482A-SA	3.8	3.0	ND	ND	ND	ND	3.8	3.0
3	482-HA	4.3	2.8	0.4	0.5	1.4	1.2	6.1	4.5
4	THPA	3.4	3.8	0.5	0.6	2.3	1.4	6.2	5.3
5	NA	1.1	ND	0.1	0.2	3.7 ^{b)}	2.0 ^{b)}	4.9	2.2
6	3-OH-S-53482-SA	8.2	5.9	1.1	1.6	3.3	4.8	12.6	12.3
7	4-OH-S-53482-SA	2.0	3.2	0.2	0.3	3.9	3.3	6.1	6.8
7A	NA	ND	1.6	ND	0.3	ND	ND	0.0	1.9
8	NA	4.3	3.6	0.4	0.4	7.0	6.2	11.7	10.2
9	NA	0.6	0.9	ND	0.2	1.0	1.0	1.6	1.2
10	TPA	1.2	ND	0.2	0.2	2.9	2.2	4.3	3.3
11	4-OH-SAT-482	1.4	1.6	0.2	0.3	5.4	2.7	7.0	4.6
12		ND	ND	ND	ND	2.5	2.1	ND	ND
13	NA	ND	ND	ND	ND	1.0	2.0	1.0	2.0
14	3-OH-SAT-482	0.8	2.4	0.3	0.3	2.0	2.2	3.1	4.9
15	SAT-482-HA-2	0.7	1.2	0.1	0.1	ND	ND	0.9	1.3
16	フルミオキサジン	0.2	0.6	0.8	0.2	ND	<0.1	1.0	0.8
小計		32.7	31.9	4.6	4.9	36.4	30.1		
他成分 (未抽出分も含む)		9.8	9.3	1.5	3.8	6.2	9.1		
合計		42.5	41.2	6.1	8.7	42.6	39.2		

a) : 各試料を雌雄別に同一群 3 匹分をプールした。

b) : HPLC での分解能が低かったため、およその値となっている。

NA : 帰属せず

ND : 検出されず (数値としては 0.0 扱いとした)

3-OH-S-53482A-SA :

482-HA :

THPA :

3-OH-S-53482-SA :

4-OH-S-53482-SA :

TPA :

4-OH-SAT-482 :

3-OH-SAT-482 :

SAT-482-HA-2 :

フルミオキサジン : N-(7-fluoro-3,4-dihydro-3-oxo-4-prop-2-ynyl-2H-1,4-benzoxazin-6-yl)cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximide

(4) フルミオキサジンの雌ラットにおける胆汁排泄試験

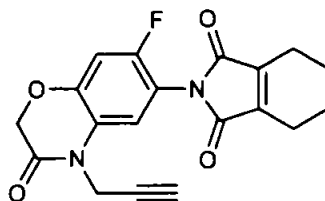
(資料 I-4)

試験機関：住友化学株式会社

報告書作成年：2012年

供試標識化合物：[フェニル-¹⁴C]フルミオキサジン

構造式：



化学名： M-(7-フルオロ-3,4-ジヒドロ-2H-1,4-ベンゾキサジン-6-イル)シクロヘキサ-1-エン-1,2-ジカルボキシミド

放射化学的純度：

比放射能：

供試動物：CD (SD) 系雌ラット (胆管カニューレション) 入荷時 9 週齢、体重：178.20～191.66 g、1 群 3 匹

試験方法：

投与液の調製：[フェニル-¹⁴C]フルミオキサジンと非標識フルミオキサジン (純度：99.4%) をアセトニトリルに溶解させて同位体希釈を行い、比放射能を 3.7 kBq/mg とした。溶媒を留去させた後、コーンオイルを加えて、投与液を調製した。

投与方法：投与液を 1000 mg/kg 体重の用量になるように胆管カニューレションラットに単回経口投与した。投与液量は 5 mL/kg 体重、投与放射能量は 3.7 MBq/kg 体重に設定した。

試料の採取：投与後、0～24、24～48 および 48～72 時間の間隔で胆汁、尿および糞を採取した。尿を採取した後、ケージを水で 2 回洗浄し、洗浄液も回収した。ラットは投与後 72 時間にジエチルエーテルを用いて安楽死させ、消化管を摘出し、消化管内容物を採取した。消化管は残屍体に合わせた。

分析方法：尿、ケージ洗浄液および胆汁は、直接 LSC 測定を実施し、放射能を定量した。
ケージ洗浄液中の放射エネルギーは尿に含めた。糞および消化管内容物はそれぞれ水を加え、ホモジナイズし、燃焼後、LSC により放射能を定量した。残屍体は 3 M KOH に溶解させ、30%過酸化水素水を用いて脱色後、LSC により放射能を定量した。

結果： [フェニル-¹⁴C]フルミオキサジンを雌ラットに 1000 mg/kg 体重で投与後の胆汁、尿および糞への排泄放射エネルギーおよび、消化管内容物および残屍体中の残存放射エネルギーを表 1 に示す。

投与後 3 日までに投与した放射能のほとんどが糞中に排泄され、糞中からは 84.7%TAR (%TAR：投与量に対する割合)の放射能が回収された。また胆汁および尿からは、それぞれ 5.2%TAR および 6.8%TAR が回収された。残屍体および消化管内容物中には、それぞれ 0.3%TAR および 0.6%TAR の放射能が残存した。投与後 3 日までのフルミオキサジンの吸収率を尿、胆汁および残屍体中の放射エネルギーの合計より算出すると、12.3%であった。

以前行った胆汁排泄試験(資料 I-3 参照)で、1 mg/kg 体重で投与した雌ラットの投与後 3 日までの吸収率は 80.4%であったが、今回求めた吸収率がこれよりも低い値を示したのは、フルミオキサジンの低い水溶解度に起因すると考えられた。

表 1 [フェニル-¹⁴C]フルミオキサジンを雌ラットに 1000 mg/kg 体重で投与後の胆汁、尿および糞への排泄放射エネルギー、および消化管内容物および残屍体中の残存放射エネルギー

試料	投与量に対する割合 (%TAR)		
	0~1 日	0~2 日	0~3 日
胆汁	4.2	5.0	5.2
尿	5.6	6.7	6.8
残屍体	NA	NA	0.3
小計	9.8	11.7	12.3
消化管内容物	NA	NA	0.6
糞	31.2	82.9	84.7
合計	41.0	94.6	97.6

数値は 3 匹のラットの平均値

NA：分析せず。

(5) フルミオキサジンのラットにおける薬物動態

(資料 I - 5)

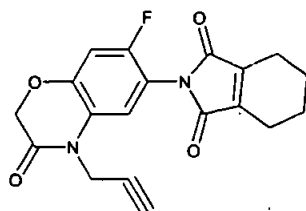
試験機関 : 住友化学工業株式会社

報告書作成年 : 1997 年

標識化合物

化学名 : N-(7-フルオロ-3,4-ジヒドロ-3-オキソ-4-プロパノ-2-イル-2H-1,4-ベンゾキサジン-6-イル)シロヘキサ-1-エン-1,2-ジカルボキシル

化学構造 :



放射化学的純度 :

比放射能 :

試験動物 : SD 系ラット (入荷時に既に頸動脈カニューレーションを施したもの)、

1 群 5 匹 (1 群 / 用量)。雄 : 7 週齢、体重 ; 189 ~ 241 g

雌 : 7 週齢、体重 ; 173 ~ 207 g

試験方法 : tetrahydrophthaloyl 基を ^{14}C で標識した S-53482 のコーンオイル懸濁液を雌雄ラットに、1.0mg/kg (低用量群)、あるいは 100mg/kg (高用量群) の割合で 1 回経口投与した。低用量群では投与後 0、1、2、4、8、24、48、72 時間に、高用量群では投与後 0、2、4、8、16、24、48、72 時間に、頸動脈のカニューレーションからヘパリン処理した血液試料を採取して、血液中 ^{14}C 残留濃度を測定し (表 1)、薬物動態学的パラメーターを算出した。

【投与量設定根拠】

試験結果：

《血液中¹⁴C濃度推移》

フルミオキサジンの薬物動態学的パラメーターを求めた結果を以下の表に示す。

投与量	性別	Cmax (ppm)	Tmax (hrs)	T1/2 ¹⁾ (hrs)	AUC ²⁾	1/2Cmax (ppm)	1/2Tmax (hrs)	1/4Cmax (ppm)	1/4Tmax (hrs)
低用量	雄	0.255	4	12	6.7	0.128	16	0.064	30
	雌	0.213	4	12	6.0	0.107	16	0.053	44
高用量	雄	5.534	16	28	319	2.767	44	1.384	99
	雌	4.714	8	46	344	2.357	54	1.179	90

1) T1/2：生物学的半減期 (1/2Tmax-Tmax)

2) AUC：血中濃度曲線下面積 (単位：ppm・hours)

試験の結果、低用量群において、血液中残留濃度は雌雄ほぼ同様の推移を示し、雄雌ともに投与後4時間 (Tmax) に最高値 (Cmax) に達した。高用量群においても、血液中残留濃度は雌雄ほぼ同様の推移を示し、雄ラットは投与後16時間および雌ラットは投与後8時間に最高値に達した。低用量群、高用量群ともに、血液中残留量は単純なクリアランス機構から考えられるよりもゆるやかに減少していることから、ラットにおけるフルミオキサジンの代謝および薬物動態には腸肝循環が関係していると考えられる。

同じ用量群内においては、各採血時点における血液中残留濃度は雌雄にほとんど差は認められなかったが、高用量群の投与量は低用量群の投与量の100倍であるにもかかわらず、血液中残留濃度は高用量群が低用量群の約20倍にとどまった。これらの知見に基づいて、1) 血液中残留濃度と投与量に相関性はなかった、2) フルミオキサジンおよびその代謝物の血液中生物学的半減期は、低用量群 (12hr) に比較して高用量群 (28~46hr) のほうが長かった、ということから、高用量群では吸収および排泄の過程が飽和状態になっていると結論づけられた。

表1 ^{14}C フルミオキサジンをラットに1回経口投与後の血液中 ^{14}C 残留濃度推移

投与量	投与後の時間 (hr)						
性別	血液中 ^{14}C 残留濃度 (ppm)						
低用量群	1	2	4	8	24	48	72
雄	0.151	0.209	0.255	0.189	0.072	0.047	0.033
雌	0.127	0.167	0.213	0.156	0.059	0.049	0.036
高用量群	2	4	8	16	24	48	72
雄	2.363	3.037	4.315	5.534	4.245	2.560	2.018
雌	3.483	3.948	4.714	4.677	3.835	2.559	1.744

数字は5匹の平均値を示す。